



**T.C.
OSMANİYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğçe KAYAR

**OSMANİYE, HATAY VE ADANA'DA
TÜKETİLEN POLENLERİN
BİYOAKTİVİTELERİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

OSMANİYE – 2016

**T.C.
OSMANIYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**OSMANIYE, HATAY VE ADANA'DA TÜKETİLEN
POLENLERİN BİYOAKTİVİTELERİ**

TUĞÇE KAYAR

**BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**OSMANIYE
MAYIS-2016**

TEZ ONAYI

OSMANİYE, HATAY VE ADANA'DA TÜKETİLEN POLENLERİN BİYOAKTİVİTELERİ

Tuğçe KAYAR tarafından Prof. Dr. Zeynep ULUKANLI danışmanlığında Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalı'nda hazırlanan bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği/çokluğu ile **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Zeynep ULUKANLI
Biyoloji Anabilim Dalı, OKÜ

Üye: Prof. Dr. Hüsniye AKA SAĞLIKER
Biyoloji Anabilim Dalı, OKÜ

Üye: Doç. Dr. Uğur ÇÖMLEKÇİOĞLU
Biyoloji Anabilim Dalı, KSÜ

Yukarıdaki jüri kararı Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve /..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali GÜRTEN
Enstitü Müdürü, **Fen Bilimleri Enstitüsü**

Bu Çalışma OKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: OKÜ.BAP-2014-PT3-012

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, bu çalışma sonucunda elde edilmeyen her türlü bilgi ve ifade için ilgili kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını ve bu tezin Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Tuğçe KAYAR



ÖZET

OSMANİYE, HATAY VE ADANA'DA TÜKETİLEN POLENLERİN BİYOAKTİVİTELERİ

Tuğçe KAYAR
Yüksek Lisans, Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Zeynep ULUKANLI

Mayıs 2016, 114 sayfa

Osmaniye, Adana ve Hatay illerinden toplam 14 polen örneği analiz edilmiştir. L değeri (49,99-67,96), a değeri (2,34-8,59), b değeri (32,08-51,4), Chroma değeri (32,23-51,65), Hue değeri (78,19-85,99), kuru madde (%) (90,8-93,5) nem (%) (6,14-9,19) pH değeri (3,81-5,82), Klorofil a (9,68-49,03 mg/kg), klorofil b (1,39-25,14 mg/kg), karotenoid (91,44-232,69 mg/kg), toplam fenolik (398,43-529,61 mg/kg) toplam flavonoid (341,56 ile 717,69 mg/kg) miktarları tayin edilmiştir. Polenlerin etanol ekstraktlarının antioksidan testlerinde, 5 mg/ml'de DPPH% inhibisyonu (80,43-94,78), indirgeme gücü (1,73-2,47), %NO aktivitesi (38,92-93,46), H₂O₂ süpürme aktivitesi (42,99-100) değişik düzeylerde olduğu belirlenmiştir. 14 polen örneğinde toplam aerobik bakteri sayısının (log kob/g) 2,87 ile 6,35, 10 örnekte maya ve küf sayısının 2,35 ile 4,28, 4 polen örneğinde *E. faecalis* 'in 2,6 ile 2,86, 7 örnekte *B. cereus*'un 2,07 ile 3,27 ve 2 örnekte ise *S. aureus* 'un 2,4 ile 2,75 arasında değiştiği saptanmıştır. Bu çalışmada ise 5 polen örneğinde tespit edilen toplam aerobik bakteri sayısının 10⁵kob/g'dan ve 1 örnekte küf ve maya sayısının 10⁴ kob/g'dan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca 2 örneğin *S. aureus* bakımından pozitif olması Avrupa Birliği tarafından önerilen kritere uygun olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Polen, Antioksidan, Toplam Bakteri, Koliform

ABSTRACT

BIOACTIVITIES OF THE EDIBLE POLLENS IN OSMANIYE, HATAY AND ADANA

Tuğçe KAYAR
PhD / M.Sc., Department of Biology
Supervisor: Prof. Dr. Zeynep ULUKANLI

May 2016, 114 pages

A total of 14 pollen samples were collected from the regions of Osmaniye, Adana and Hatay. L values (49,99-67,96), a values (2,34-8,59), b values (32,08-51,4), Chroma (32,23-51,65), Hue (78,19-85,99), dry matter (%) (90,8-93,5), moisture content (%) (6,14-9,19) pH values (3,81-5,82) chlorophyll a (9,68-49,03 mg/kg), chlorophyll b (1,39-25,14 mg/kg) caretonid (91,44-232,69 mg/kg), phenolics (398,43-529,61 mg/kg) and flavonoid contents (341,56 717,69 mg/kg) were determined. Antioxidant assays of the ethanol extracts of pollens, at 5 mg/ml, DPPH (% inhibition) (80,43-94,78), reducing power capacity (1,73-2,47), % NO scavenging activity (38,92-93,46), H₂O₂ scavenging activity (42,99-100) showed different antioxidant powers. Total aerobic bacterial counts ranged from 2,87 to 6,35 log cfu/g in all samples, yeast and fungi ranged from 2,35 to 4,28 in ten samples, *Enterococcus faecalis* ranged from 2,6 to 2,86 in 4 samples, *B. cereus* ranged from 2,07 to 3,27 in seven samples, *Staphylococcus aureus* ranged from 2,4 to 2,75 in two samples. Some samples were unsuitable to according to European Union Criteria as five samples and one sample had total bacterial counts and yeast/fungi counts above 10⁵ and 10⁴ log cfu/g, respectively, and two pollen samples had *S. aureus*.

Key Words: Pollen, Antioxidant, Total Bacteria, Coliform



Babam ve Annem'e...

TEŞEKKÜR

Tecrübesi ve sabrı ile benim bu noktaya ulaşmamda, gerek lisans gerekse lisansüstü çalışmalarında bana her konuda destek olan, bilgi ve deneyimini her daim aktaran ve üzerimde büyük emeği olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Zeynep Ulukanlı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarında ve Gıda Mühendisliği laboratuvarındaki cihazları kullanmamda bana imkan sağlayan hocalarım Sayın Doç. Dr. Bahri Devrim Özcan ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Adnan Bozdoğan hocalarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamın deneysel basamaklarında bana yardımcı olan ve eğitim dönemim boyunca bana her zaman pozitif enerji verip, büyük sabır gösterip manevi destek olan hocalarım Dr. Gökhan Sezer, Arş Gör. Fuat Bozok, Arş Gör. Tülin Eker, Arş Gör. Özlem Erdoğan ve Dr. İdris Karakaya'ya özel teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve Yüksek Lisans dönem arkadaşım Tuğçe Altan'a deneyler boyunca bana yardım etmesi, sabrı ve benim bu noktaya ulaşmamda çok büyük destek olmasından dolayı özel teşekkürlerimi sunarım.

Bu başarıya ulaşmamda, bana her zaman sonsuz maddi ve manevi destek olan, büyük sabır ve anlayış gösteren, annem Aynur, babam Özcan ve kardeşim Gökçe'ye gönülden teşekkür ederim.

Tez çalışmamı desteklemesinden dolayı OKÜ-BAP'a özel teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	iii
TEZ BİLDİRİMİ.....	iv
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İTHAF SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Çiçek ve Yapısı.....	4
1.2 Bal Arısı ve Sınıflandırılması.....	7
1.3 Bal Arıları ve Polen Toplama İşlemleri.....	11
1.4 Polenin Besin İçeriği ve Diğer Ürünler ile Karşılaştırılması.....	13
1.5 Polenin Saklanma Şekilleri ve Kullanım Alanları.....	20
1.6 Gıdalar ve Mikroorganizmalar.....	21
1.6.2 Gıdalarda Yapılan Mikrobiyolojik Analizler.....	22
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	29
2.1 Tezin Amacı.....	37
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	38
3.1 Çalışma Materyallerinin Toplandığı Alanlar.....	38
3.1.1 Osmaniye İli Hakkında Genel Bilgiler.....	39
3.1.2 Hatay İli Hakkında Genel Bilgiler.....	42
3.1.3 Adana İli Hakkında Genel Bilgiler.....	45
3.2 Çizelge Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	48
3.3 Polen Örneklerinin Toplanması.....	49
3.4 Polen Granüllerinin Renk Analizi.....	49
3.5 Kuru Madde ve Nem Tayini.....	51
3.6 pH Analizi.....	51
3.7 Toplam Klorofil a, b ve Karotenoid Tayini.....	51

3.8 Polen Örneklerinin Etanol Ekstraktlarının Hazırlanması.....	52
3.9 Polen Etanol Ekstraktlarının Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarları ve Antioksidan Testleri	52
3.10 Mikrobiyolojik Analizler	60
3.10.1 Besiyerleri ve Hazırlanışları.....	61
3.10.2 Polenlerin Mikrobiyolojik Analizleri.....	71
3.10.3 Teşhis İçin Kullanılan Bazı Tanımlayıcı Testler	79
3.10.3.2 Oksidasyon ve Fermentasyon Testi (Hugh ve Leifson).....	81
3.10.3.3 Nitrat İndirgeme Testi	82
3.10.3.4 Katalaz Testi.....	83
3.10.3.5 Koagülaz Testi	83
3.11 İstatistik Analiz Yöntemler	83
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	84
4.1 Renk	84
4.2 Kuru Madde, Nem ve pH.....	90
4.3 Toplam Klorofil a, Klorofil b ve Karotenoid	91
4.4 Etanol Ekstraktlarının Verimi (%)	91
4.5. Toplam Fenolik, Flavonoid Madde Miktarları ve Antioksidan Testleri	95
4.6 Mikrobiyolojik Analizler	102
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	107
KAYNAKLAR	108
ÖZGEÇMİŞ	114

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Arı yetiştiriciliği ve ürünleri konusunda elde edilen ilk belgeler	2
Çizelge 1.2 Çiçeğin kısımları ve işlevleri	5
Çizelge 1.3 Bal arısının taksonomik hiyerarşisi.....	7
Çizelge 1.4 Ana arının, yaşam alanı olan kovadaki sayısı, yaşam süresi, beslenmesi ve kovadaki temel görevleri	9
Çizelge 1.5 İşçi arının yaş aralığı (güne göre) ve görevleri	10
Çizelge 1.6 Farklı uygulama alanları ve polenin kullanım amaçları	20
Çizelge 1.7 Polenin muhafazası ve saklama süresi.....	20
Çizelge 1.8 Gıdalara çeşitli kaynaklardan mikroorganizmaların bulaşma yolları.	21
Çizelge 1.9 Gıdalar ve mikroflorası, mikrofloranın gruplandırılması ve fonksiyonları	21
Çizelge 1.10 Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri sayımının yapılma amaçları.	22
Çizelge 1.11 Laktik Asit Bakterileri	23
Çizelge 1.12 Enterobacteriaceae familyasının genel özellikleri ve bu familyada bulunan bazı bakteriler	23
Çizelge 1.13 Koliform Grubu bakteriler	24
Çizelge 1.14 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Çizelge 1.15 <i>Bacillus cereus</i>	25
Çizelge 1.16 <i>Enterococcus faecalis</i>	25
Çizelge 1.17 <i>Listeria monocytogenes</i>	25
Çizelge 1.18 <i>Clostridium perfringens</i>	26
Çizelge 1.19 <i>Aeromonas hydrophila</i>	26
Çizelge 1.20 <i>Pseudomonas aureginosa</i>	26
Çizelge 1.21 <i>Salmonella</i>	26
Çizelge 1.22 Arı poleninde mikrobiyolojik ve diğer kirletici etkenlerin sınırları	28
Çizelge 2.1 Türkiye'nin farklı şehirlerinden temin edilen polenlerin antioksidan aktiviteleri	36
Çizelge 2.2 <i>Typha domigensis</i> Pers.'in poleni ve antioksidan aktiviteleri.....	36
Çizelge 2.3 Güney Brezilya'nın 3 farklı eyaletinden toplanmış polen örneklerinin etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi.....	36

Çizelge 3.1 Osmaniye'nin barajları, göletleri, akarsuları, iklim ve bitki örtüsü, düzlükleri, dağları ve ovaları	40
Çizelge 3.2 Hatay'ın dağları, ovaları, akarsuları, çayları, barajlar, göller ve gölcükleri.....	43
Çizelge 3.3 Adana'da bulunan dağ sistemleri ve dağ dizileri en önemli nehirler, barajlar ve gölleri	46
Çizelge 3.4 Renk değerlendirilmesi ve kullanılan formüller	50
Çizelge 3.5 Toplam fenol tayini	54
Çizelge 3.6 Toplam flavonoid analizi	55
Çizelge 3.7 DPPH yöntemi	56
Çizelge 3.8 Reducing power yöntemi	57
Çizelge 3.9 Hidrojen peroksit yöntemi	58
Çizelge 3.10 Nitrit oksit yöntemi	59
Çizelge 3.11 Maximum Recovery Diluent, Plate Count Agar ve Potato Dextrose Agar besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları	62
Çizelge 3.12 Baird Parker Besiyeri, Violet Red Bile (Glukoz) Agar besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları	63
Çizelge 3.13 MRS Agar ve Kanamycin Esculine Azide Agar besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları	64
Çizelge 3.14 Bacillus cereus Agar Base ve Pseudomonas Agar Base besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları.....	65
Çizelge 3.15 Tamponlanmış peptonlu su, Salmonella Enrichment Broth ve Salmonella-Shigella Agar besiyerlerinin hazırlanışları.....	66
Çizelge 3.16 Aeromonas Medium Base besiyerinin bileşenleri ve hazırlanışları.....	67
Çizelge 3.17 Listeria selective agar base ve Chromocult Coliform Agar besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları	68
Çizelge 3.18 Perfringens Agar Base besiyerinin bileşenleri ve hazırlanışları	69
Çizelge 3.19 Kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları	76
Çizelge 3.20 İdentifikasyonda kullanılan bazı testleri	79
Çizelge 3.21 Kristal viyoleto boyası, iyot çözeltisi ve safranin boyasının hazırlanışları. 79	
Çizelge 3.22 Gram Boyamasında takip edilen yöntem.....	80
Çizelge 3.23 Endospor boyamada kullanılan boyaların hazırlanışları	80
Çizelge 3.24 Malachite Green ile Spor Boyamasında takip edilen yöntem.....	80
Çizelge 3.25 OF Besiyeri	81
Çizelge 3.26 Oksidasyon ve fermentasyon testinin yapılışı.....	81

Çizelge 3.27 Nitrat indirgeme testi için gerekli besin ortamı ve ayraçlar.....	82
Çizelge 4.1. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin renk parametreleri	89
Çizelge 4.2. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin	92
kuru madde, nem ve pH değerleri.....	92
Çizelge 4.3. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin	92
klorofil a, klorofil b ve toplam karotenoid miktarları	93
Çizelge 4.4. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin	96
toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları.....	96
Çizelge 4.5. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin % DPPH aktivitesi	97
Çizelge 4.6. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin Reducing Power kapasitesi.....	98
Çizelge 4.7. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin % NO giderme kapasitesi	99
Çizelge 4.8. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin % H ₂ O ₂ giderme kapasitesi.....	100
Çizelge 4.9. Polen örneklerinin fenolik, flavonoid ve antioksidan aktivitelerinin istatistiksel olarak değerlendirme aralığı	101
Çizelge 4.10. Önceki yapılan polen çalışmalarında fenolik, flavonoid ve antioksidan aktiviteleri	101
Çizelge 4.11. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin	103
mikrobiyal yükleri ve bazı patojenlerin varlığı.....	103
Çizelge 4.12. Önceki polen çalışmalarının mikrobiyolojik analiz sonuçları ve değerlendirmeleri	105

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Yaygın olarak tüketilen arı ürünleri	1
Şekil 1.2 Kovanda arı yetiştiriciliği konusunda tespit edilmiş ilk belge.....	3
Şekil 1.3 Eski Mısır'da bal arısının çizilmiş tasviri.....	3
Şekil 1.4 Eski Mısır'da tasvir edilen bir hiyeroglifte, bir Mısırlının, bir kova balı diğer bir kovaya boşaltırken çizilmiş tasviri.	3
Şekil 1.5 Çiçeğin kısımları.....	6
Şekil 1.6 Çiçekte meydana gelen döllenme	6
Şekil 1.7 Anterin yarılması ile açığa çıkan polenler.	6
Şekil 1.8 Kovanda farklı görevlere sahip olan arılar,	8
Şekil 1.9 Bal arılarının yaşam evreleri.....	8
Şekil 1.10 Bal arısının polen toplaması ve taşınması.....	12
Şekil 1.11 Polenin temel bileşenleri.....	14
Şekil 1.12 Polende bulunan mineraller ve iz elementler.....	14
Şekil 1.13 Polende bulunan vitaminler	15
Şekil 1.14 Polende bulunan amino asitlerin çeşitliliği.....	15
Şekil 1.15 Polene ait protein içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması	16
Şekil 1.16 Polene ait lipit içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması).....	16
Şekil 1.17 Polene ait potasyum içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması	17
Şekil 1.18 Polene ait kalsiyum içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması	17
Şekil 1.19 Polene ait sodyum içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması	18
Şekil 1.20 Polene ait demir içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması.	18
Şekil 1.21 Polene ait Vitamin A içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması.	19
Şekil 1.22 Polene ait Vitamin C içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması.	19
Şekil 2.1 Cezayir'den toplanan polen örneklerinde tespit edilen pH, nem, toplam aerobik mezofilik mikroorganizma , maya ve küf sayısı	30

Şekil 2.2 Cezayir’den toplanan polen örneklerinde tespit edilen <i>S. aureus</i> ve Enterobacteriaceae sayısı	31
Şekil 2.3 Douro Uluslararası Doğal Parkından (Portekiz) toplanmış 22 adet organik polen örneğinin aerobik mezofil ve küf/maya sayısı	32
Şekil 2.4 Portekiz’de yapılmış olan bir çalışmada, 8 adet polen örneğinde tespit edilmiş aerobik mezofil ve küf/maya sayısı.....	33
Şekil 2.5 Douro Doğal Parkı-Portekiz organik polen örneklerinin.....	35
pH, fenolik, flavanoid madde ve antioksidan aktivite ve antioksidan kapasiteleri	35
Şekil 2.6 Portekiz’in 5 doğal parkından toplanan polenlerin antioksidan kapasiteleri	35
Şekil 3.1 Türkiye’nin coğrafi bölgeleri haritası	38
Şekil 3.2 Akdeniz Bölgesi haritası.....	38
Şekil 3.3 Osmaniye ili haritası	39
Şekil 3.4 Osmaniye’nin genel bitki örtüsü.....	41
Şekil 3.5 Osmaniye’nin çeşitli yükselti alanları.....	41
Şekil 3.6 Osmaniye’nin aylara göre meteorolojik verileri.....	41
Şekil 3.7 Hatay ili ve ilçeleri.....	42
Şekil 3.8 Hatay topraklarının genel bitki örtüsü	44
Şekil 3.9 Hatay’ın meteorolojik verileri.....	44
Şekil 3.10 Adana ili ve ilçeleri	45
Şekil 3.11 Adana ilinin genel coğrafik özellikleri	46
Şekil 3.12 Adana’nın yükselti bakımından en yüksek tepe, dağlık alanlar ve dorukları	47
Şekil 3.13 Adana’nın aylara göre meteorolojik verileri.....	47
Şekil 3.14 Laboratuvarlarda kullanılan cihazlara ait görüntüler	48
Şekil 3.15 Çalışmada kullanılan bazı polen örneklerine ait görüntüler	49
Şekil 3.16 Polenlerin etanol ekstraktlarının hazırlanması esnasında yapılan işlemler	53
Şekil 3.17 Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerlerine ait görünüşler	60
Şekil 3.18 <i>Perfringens</i> Agar Base besiyerinin hazırlanmasında kullanılan kitler, katkı maddeleri ve anaerobik jar’a ait görünüşler	69
Şekil 3.19 Hazırlanan besiyerlerinin steril polipropilen petri kutularına aktarıldıktan sonraki görünümü	70
Şekil 3.20 Osmaniye ilinden toplanan polen örneklerinin mikrobiyolojik analizler için hazırlanması	72

Şekil 3.21 Hatay ilinden toplanan polen örneklerinin mikrobiyolojik analizler için hazırlanması	73
Şekil 3.22 Adana ilinden toplanan polen örneklerinin mikrobiyolojik analizler için hazırlanması	74
Şekil 3.23 Mikrobiyolojik analizler için örneğin seyreltilmesi ve homojenizasyonu için yapılan işlemlerden bazı görüntüler	75
Şekil 3.24 <i>Salmonell sp.</i> 'in ön ve selektif zenginleştirme işlemi ve katı besiyerlerine aktarımları	77
Şekil 3.25 Mikrobiyolojik analizlerde ekim sonucu yapılmış olan bazı sonuçlara ait görünümeler	78
Şekil 4.1. Adana'dan toplanan polen granüllerinin renk çeşitliliği ve ağırlıkları	85
Şekil 4.2. Osmaniye'den toplanan polen granüllerinin renk çeşitliliği ve ağırlıkları	86
Şekil 4.3. Hatay'dan toplanan polen granüllerinin renk çeşitliliği ve ağırlıkları	87
Şekil 4.2. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinde antioksidan deneylerinde kullanılacak.....	94
etanol ekstraktının % verim sonuçları.....	94

SİMGELER VE KISALTMALAR

AOAC: Association of Analytical Chemists

°C: Santigrat

cm: Santimetre

DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

FRAP: Fe (III) indirgeme kapasitesi

Kcal: Kilokalori

km: Kilometre

l: Litre

m: Metre

mg: Miligram

µg: Mikrogram

µm: Mikrometre

ml: Mililitre

mm: Milimetre

mM: Milimolar

mmol: Milimol

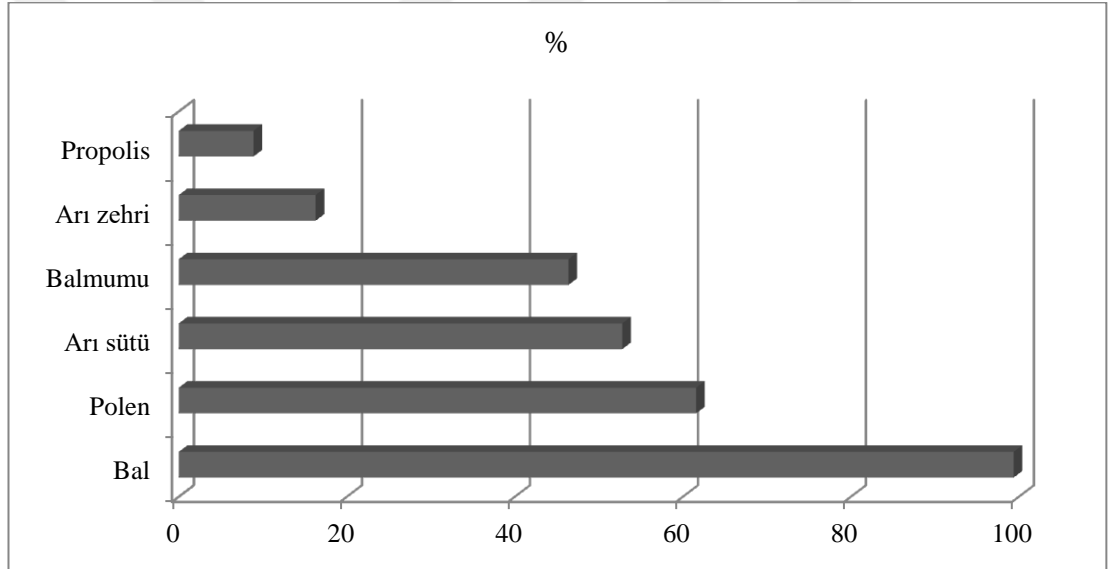
MÖ: Milattan önce

nm: Nanometre

rpm: Dakikada dönüş hızı

1. GİRİŞ

Tüm dünyada, en yaygın tüketilen arı ürünleri arasında balın ilk sırada yer aldığı kabul edilmektedir. Baldan sonra, toplumlar arasında yaygınlık bakımından en fazla oranla tüketilen arı kovanı ürünleri arasında ikinci sırada polenin yer aldığı ve bunu takiben arı sütü, balmumu, arı zehri ve propolis olduğu görülmektedir (Şekil 1.1) (Anonim1, 2016). Günümüzde, ticari olarak satışa sunulan polen, bal arısı *Apis mellifera* tarafından larvalarını beslemek için doğal florada bulunan çiçeklerden toplamış olan temel bir besin kaynağıdır. Bal arıları tarafından toplanan polenin insanoğlunun sağlığı açısından önemli olan besin içeriği ve tedavi edici özelliklerine sahip olduğu çeşitli araştırmalarda tespit edilmiştir.



Şekil 1.1. Yaygın olarak tüketilen arı ürünleri (Anonim1, 2016)

Çizelge 1.1 ve Şekil 1.2,1.3 ve 1.4 incelendiğinde, insanoğlunun var olduğundan beri besin, ilaç vb. gibi çeşitli gereksinimlerini karşılamak amacıyla arıcılık yaptığı ve arı kovanı ürünlerinin kullanımının ise Milattan önceki devirlere kadar uzandığı çeşitli kaynaklara dayanarak belirlenmiştir. Bitkilerin tozlaşmasında önemli görev yapan arıların toplamış oldukları polenler, insanoğlunun besin kaynağı dışında gençlik, uzun ve sağlıklı bir hayata sahip olma arzusu ile kullanıldığı da tespit edilmiştir (Anonim2, 2016).

Çizelge 1.1. Arı yetiştiriciliği ve ürünleri konusunda elde edilen ilk belgeler

	İlk insan, ağaç kovuklarında ya da kaya oyuklarında doğal olarak bulunan yuvalarda arıları öldürerek ballarını almışlar ve tüketmişlerdir. Zamanla, tüm arıları yok etmeden kendilerine yetecek kadar balı almak ve geri kalan balın ise arı topluluğuna bırakılmasıyla, asıl anlamda üreticiliğe başlandığı düşünülmektedir.	(Anonim3, 2016)
M.Ö. 7000	İspanya’da, ilkel insanın mağaralarda çizmiş olduğu resim ve tasvirler, arı ile ilgili fosiller ve çeşitli buluntular	(Anonim3, 2016) (Anonim4, 2016)
M.Ö 4000 ve öncesi	Eski Mısırda Nil Nehri kenarındaki bir tapınakta çizilmiş arı tasvirlerinin bulunması Eski Mısır medeniyetinde, manevi açıdan yüksek değeri olan polenin firavunlara ait mezarlarda tespit edilmesi, gelecek dünyada firavun ruhlarının besin gereksinimlerini sağlaması amacıyla yerleştirildiği görüşü öne sürülmüştür. Mısır, arı kültürünün yapıldığı yer olması Mısırda, alış ve satışlarda para yerine bir değişim aracı olması Mısır Tıp kitaplarında balın yara tedavisinde ve mumyalama işlemlerinde kullanılması	(Anonim5, 2016) (Anonim2, 2016) (Anonim4, 2016)
M.Ö. 3000	Mezopotamya bölgesinde yaşamış olan Sümerlilerin balı, çeşitli hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanması	(Anonim4, 2016)
2500 yıl ve öncesi	Antik Yunan medeniyetine ait kayıtlı belgelerde Olimpiyat yarışmalarına katılan atletlere güç vermek amacıyla polen takviyesinin yapılması Hipokrat, Pliny the Elder ve Pythagoras adlı bilim adamları polenin tedavi edici etkisini belirtilmesi ve kullanılması	(Anonim2, 2016)
M.Ö. 2400	Arı yetiştiriciliğinde, ilk başlangıç olan kovan oluşturma amacıyla çeşitli kaynakların (mantar ve ağaç kütükleri, toprak veya kil kovan) kullanılması Kahire yakınlarında Yahudi Tapınağında bulunan tasvirler	(Anonim3, 2016) (Anonim7, 2016) (Anonim6, 2016)
M.Ö. 1300	Hitit medeniyetine ait Boğazköy de taştan oluşmuş yazıtların üzerinde arılar ile ilgili tasvirlerin bulunması	(Anonim3, 2016)
Bazı Ortadoğu Ülkeleri	Tespit edilmiş en eski kayıtlarda, İspanya’da, yaşamış olan Arap asıllı ve Yahudi asıllı hekimlerce polenin ilaç amacıyla kullanılmış olması	(Anonim7, 2016)
Mısır Sultanlığı	Maimonides (1135–1204) adlı Yahudi bir doktorun poleni yatıştırıcı bir tonik olarak kullanılması	(Anonim8, 2016)
Ibn el-Beithar, (1200’lü yılların başında	Polenin afrodisyak olarak kullanılabileceği gibi gastrointestinal ve kardiyovasküler sistem için faydalı olması	(Anonim8, 2016)
Çin ve Diğer Medeniyetler	Polenin, tıbbi alanlarda yaygın bir şekilde kullanılması	(Anonim2, 2016)
Hindistan, Kuzey ve Güney Amerika	Sağlığa olan faydaları nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılması	(Anonim2, 2016)



Şekil 1.2. Kovanda arı yetiştiriciliği konusunda tespit edilmiş ilk belge
(Anonim6, 2016)



Şekil 1.3. Eski Mısır'da bal arısının çizilmiş tasviri (Anonim8, 2016)




Şekil 1.4. Eski Mısır'da tasvir edilen bir hiyeroglifte, bir Mısırlının, bir kova balı diğer bir kovaya boşaltırken çizilmiş tasviri
(Anonim5, 2016)

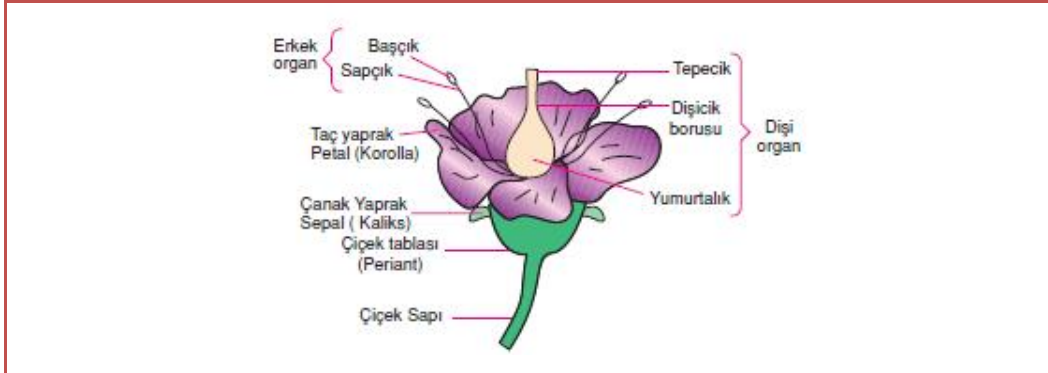
1.1 Çiçek ve Yapısı

Kapalı tohumlularda çiçek, çok çeşitli kısımlardan meydana gelmiş bir organdır. Bir çiçekte bulunan yapılar ve işlevleri ile ilgili bilgiler Şekil 1.5, 1.6 ve 1.7’de verilmiştir. Canlı varlığının devamını sağlayan ve erkek üreme hücreleri olarak bilinen polen, çeşitli vektörler aracılığıyla taşınmakta, bitkilerin döllenmesini, çoğalmasını ve neslinin devam etmesini sağlayan çok önemli mikroskobik yapıda olan bir hücredir (Anonim2, 2016).

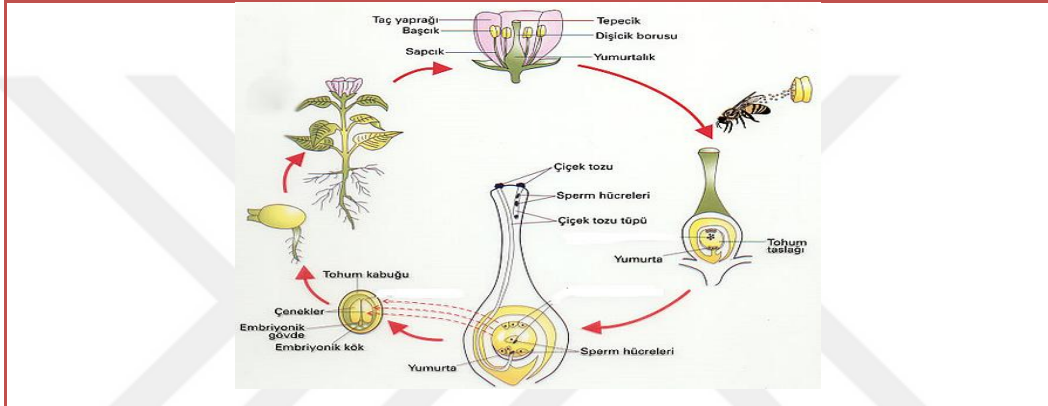
Polen kelimesi, ilk kez Binomial adlandırma kapsamında, İsveçli bir bilim adamı olan Carl Von Linneaus tarafından 1760 yılında kullanmıştır. Latince kökenli olan polen ince toz ya da un manasına geldiği de bilinmektedir (Anonim7, 2016). Çiçeğin yapısında bulunan erkek üreme organında, polen hücrelerinin oluşumu ile ilgili bilgiler Çizelge 1.2 ve Şekil 1.6 ve 1.7’de verilmiştir. Eğer bu döngü, çeşitli abiyotik ve biyotik faktörler vasıtasıyla engellenirse, tüm canlılığın geri dönüşümü olmayan tehditler altında maruz kalmasına neden olacağı bilinmektedir.

Çizelge 1.2. Çiçeğin kısımları ve işlevleri

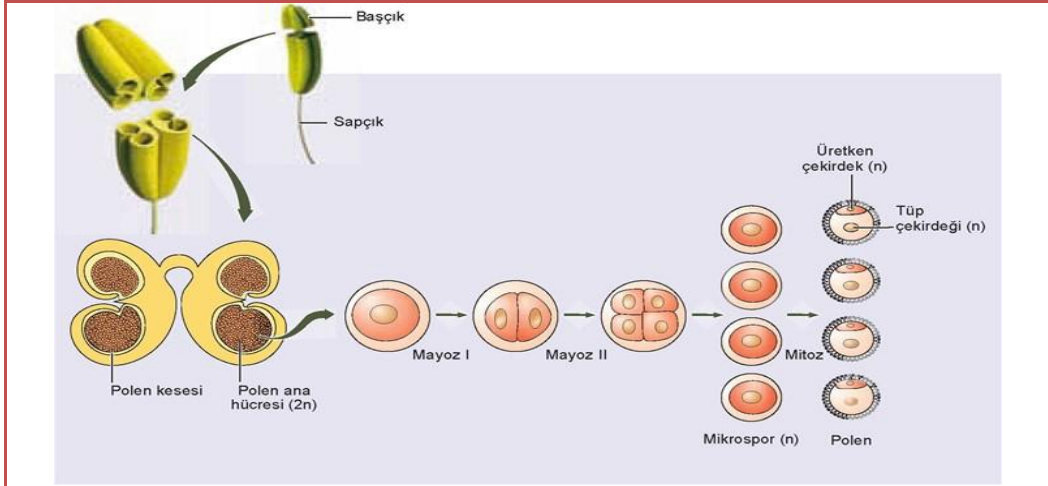
Çiçeğin kısımları			Son Ürün/Görevleri
Çiçek sapı			Tohum ve meyve oluşumu
Çanak yapraklar			
Taç yapraklar			
Üreme organları			
Çiçeğin kısımları	Bağlantı /diğer alt kısımlar	Son Ürün/Görevleri	
Çiçek sapı (=pedisel)	Çiçek ile bitki dalı arasında bağlantı		
Çiçek tablası (=reseptakulum)	Çiçek sapının genişleyen üst kısmı	Çiçeğe ait yapıları taşıması	
Çanak yapraklar (=kaliks)	Çiçeğe karakteristik yeşil rengi veren kısımları	Tomurcuk halde olan çiçeğin iç kısımda bulunan yapılara koruma görevi yapması Fotosentez yapabilmesi	
Taç yapraklar (=korolla)	Çiçeğin çekici özelliği veren parlak ve renkli olan kısımları	Üreme organlarını koruması Polinasyon için böcekleri cezbetmesi	
Dişi üreme organı	Tepecik		
	Boyuncuk		
	Yumurtalık	Dişi üreme hücresinin geliştiği kısım	
Erkek üreme organı (=stamen)	Sapçık (=filament)		
	Başçık (=anter) sapçığın ucunda yer alan ve polen keseleri içeren ve her bir kesede de çok fazla miktarda erkek üreme hücresi=polen içeren bir yapıdır.	Anter'de, mayoz bölünme sonucunda diploid mikrospor ana hücreleri haploid mikrosporlar haline gelir (n=4) ve bu bölünme sonucunda ise her bir hücrenin de tek bir polen tanesi haline gelmesine neden olur. Anter'in yarılarak açılması ile polen taneleri serbest kalır. Her bir polen tanesinde polen metabolizmasını kontrol eden vejetatif çekirdek ve dölleme oluşumu yapacak jeneratif bir çekirdek bulunmaktadır.	



Şekil 1.5. Çiçeğin kısımları (Anonim9, 2016)



Şekil 1.6. Çiçekte meydana gelen döllenme (Anonim10, 2016)



Şekil 1.7. Anterin yarılması ile açığa çıkan polenler (Anonim11, 2016)

1.2 Bal Arısı ve Sınıflandırılması

Bal arısının, tür düzeyinden başlayarak tüm sınıflandırma basamakları Çizelge 1.3’de verilmiştir. Bir kovanda koloni halinde bulunan arılar 3 grupta sınıflandırılır (Şekil 1.8). Cinsiyet bakımından farklılık gösteren bal arılarının yaşam evreleri ise Şekil 1.9’da gösterilmiştir.

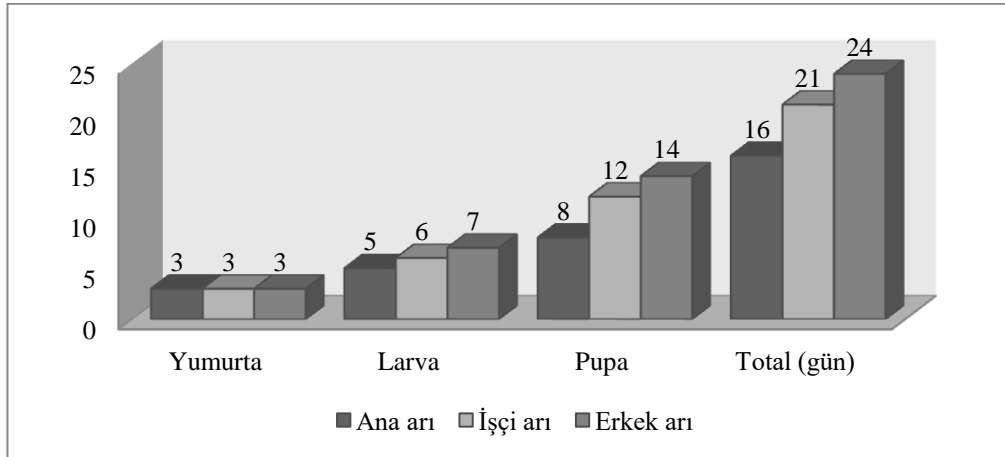
Arı kovanı üyelerinden birisi olan erkek arının temel ve tek görevi, kovanın kraliçesi olan ana arıyı dölleme işlevine sahip olmasıdır (Anonim12, 2016). Çizelge 1.4’de ana arının, yaşam alanı olan kovandaki sayısı, yaşam süresi, beslenmesi ve kovandaki temel görevleri ve işçi arının yaş aralığı (güne göre) ve görevleri ise Çizelge 1.5’te verilmiştir.

Çizelge 1.3. Bal arısının taksonomik hiyerarşisi (Anonim13, 2016)

Alem :	Animalia
Alt alem:	Bilateria
Ara alem:	Protostomia
Üst şube:	Ecdysozoa
Şube:	Arthropoda
Alt şube:	Hexapoda
Sınıf:	Insecta
Alt sınıf:	Pterygota
Ara sınıf:	Neoptera
Üst takım:	Holometabola
Takım:	Hymenoptera
Alt takım:	Apocrita
Ara takım:	Aculeata
Üst aile:	Apoidea
Aile:	Apidae
Alt aile:	Apinae
Oymak:	Apini
Cins:	<i>Apis</i> Linnaeus (1758)
Tür:	<i>Apis mellifera</i> Linnaeus (1758)

Arı Tipi ve Cinsiyeti Oluşumu	İşçi Arı ♀ Döllenmiş Yumurta	Erkek Arı ♂ Döllenmemiş Yumurta	Ana Arı ♀ Döllenmiş Yumurta

Şekil 1.8. Kovanda farklı görevlere sahip olan arılar (Anonim14, 2016)



Şekil 1.9. Bal arılarının yaşam evreleri (Anonim12, 2016)

Çizelge 1.4. Ana arının, yaşam alanı olan kovandaki sayısı, yaşam süresi, beslenmesi ve kovandaki temel görevleri (Anonim12, 2016)

Kovandaki sayısı (adet)	Ortalama yaşam süresi (yıl)	Beslenmeleri	<u>Ana görevi</u>	<u>Diğer görevleri</u>	
1	3-5	İşçi arılar tarafından ağzlarına arı sütü verilmesiyle	Yumurtlama	Koloninin sürekliliğini sağlaması	*Ana arı, salgılamış olduğu fenomen adlı hormon ile kolonide bulunan işçi arıların kendi çevresinde toplanmasını sağlaması
			*Ana arı çiftleşmek ve oğul vermek amacıyla kovandan dışarıya çıkması *Gelişimin 23. gününde, güneşli ve sıcak bir günde öğleden sonra erkek arılar ile çiftleşmek için uçuşa çıkması *Kovana geldikten sonra 2-3 gün içerisinde yumurtlaması (yumurta sayısı: 1500-2000/gün)		*Kovan içi işlerin regülasyonu *Fenomen hormonu ile işçi arıları yumurtalıkları gelişimini engellediği ve kendine rakip olacak diğer yeni bir ana arının oluşumunu da otomatik olarak engellemesi

Çizelge 1.5. İşçi arının yaş aralığı (güne göre) ve görevleri (Anonim12, 2016)

İşçi Arının Kolonideki sayısı	Kış 10.000- 20.000	Yaz 70.000- 80.000				
İşçi Arının Yaşam Ömrü	Kış (7-8 ay)	İlkbahar Sonbahar (35-40 gün)				
Yaşa Bağlı Fonksiyonları			0 İLE 3. GÜNLÜK	TEMİZLEME		
				Kendisi	Kovandaki Petek Gözleri	
				BESLEME		
				Besin almak için Kullandığı Kaynak:	Petek Gözlerinden Almış Olduğu Besinler ve İşlevi	Besledikleri Arı Tipi
				Petek Gözleri	Arıların işleme uğrattıkları Bal ve Polen	Larva
				5 İLE 15. GÜNLÜK	BESLEME	
					ÜRETİM	
					Olusturduğu Ürün	Besledikleri Arı Tipi
					Arı Sütü	Genç Larvalar
				12 İLE 18. GÜNLÜK	ÜRETİM	İNŞAAT
					Olusturduğu Ürün	BESLEME
					Bal Mumu	Ürettikleri Balmumunun Peteğin Örülmesinde Kullanılması
				18 İLE 20. GÜNLÜK	KORUYUCULUK	TEMİZLEME
				Kovanın uçuş deliği ve tahtası	Kovan Temizliği	
				BESİN TAŞIYICILIĞI		
			21. GÜN VE SONRASI	Nektar, Polen Propolis ve Su		

1.3 Bal Arıları ve Polen Toplama İşlemleri

Sabahın çok erken saatlerinin, işçi arılar bakımından, polen toplamak için elverişli bir zaman olduğu ve Haziran Temmuz ve Ağustos aylarını kapsayan yaz döneminin de polen toplama işlevinin en elverişli dönemler olduğu belirtilmektedir. İşçi arının, tohumlu bitkilerdeki bir çiçeğin yapısında bulunan erkek organı üzerine konması ve arı vücudunun çeşitli kısımlarının çiçek tozuna bulaşmasıyla polen toplama işlevi başlamış olur (Anonim4, 2016).

Arı, orta ve arka bacaklarda bulunan fırça tipi yapıları ile polen toplama işlemine başlar ve ağzında bulunan bal ile nemlendirdikten sonra arka bacağına yer alan polen sepetinde birikmesini sağlar ve bu sepete polen doldurma işleminin 6 ile 10 dakika arasında olduğu saptanmıştır. Belirtilen bu biriktirme işlemlerinin, uçuş durumunda bile yapılabildiği tespit edilmiştir. Arının, polen dışında nektar da taşıyarak, kovana geldiği rapor edilmiştir.

Arıların, tüm kovanın sürdürülebilirliği açısından önemli olan poleni, petekdeki boş gözlere ya da polen bulunan gözlere yerleştirdiği belirlenmiştir. Toplayıcı arıları takiben kovanda bulunan diğer arılar, gözlere yerleştirilmiş olan bu polenleri, hava girişini engellemek amacıyla, alın kısımları ile baskı yaparak iyice yerleşmesini sağladığı tespit edilmiştir. İlkbahar ve sonbahar ayları dışında yani kış döneminde tüketim amacıyla kullanılacak olan polenlerin, dış kısımları kalın olmayacak şekilde kaplama yapılarak ya da bal ile doldurularak, kapatılması sağlanmaktadır. Polen toplamak için uçuşa çıkan arının her bir uçuş döngüsünde ağırlık olarak 12 ile 30 mg arasında değişebilen ve ortalama 15 mg olan polen yükü taşıdığı ve taşınan bu ağırlığın kendi vücut ağırlığının 1/3'lük kısmını teşkil ettiği belirlenmiştir. Arının, polen toplamak için başladığı uçuş ve kovadaki gözlere toplanan yükün yerleştirilmesi işlemlerinin ise 30 dakikalık bir süreçte yapıldığı ve bu toplama ritimlerinin 5 ile 20 arasında değişebilen uçuşlarla gerçekleştirildiği belirlenmiştir. İşçi arının topladığı polen yükünün çiçek kaynağına bağlı olarak değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Bir kovanda bulunan işçi arılar tarafından toplam olarak 20 ile 30 kg arasında değişebilen polen biriktirildiği belirlenmiştir (Anonim4, 2016).

Polen yükü ile gelen arı, diğer arılara mevcut bu besininin nerede olduğu göstermek amacıyla dans şeklindeki uçuşlara başlar (Anonim4, 2016). Polen hasadına çıkmış bir işçi arının çiçekten poleni toplarken ve polen topladıktan sonra kovana dönüş amacıyla yapmış olduğu uçuşa ait bazı görünümle Şekil 1.10’da verilmiştir.



Şekil 1.10. Bal arısının polen toplaması ve taşınması (Anonim15, 2016, Anonim16, 2016, Anonim17, 2016)

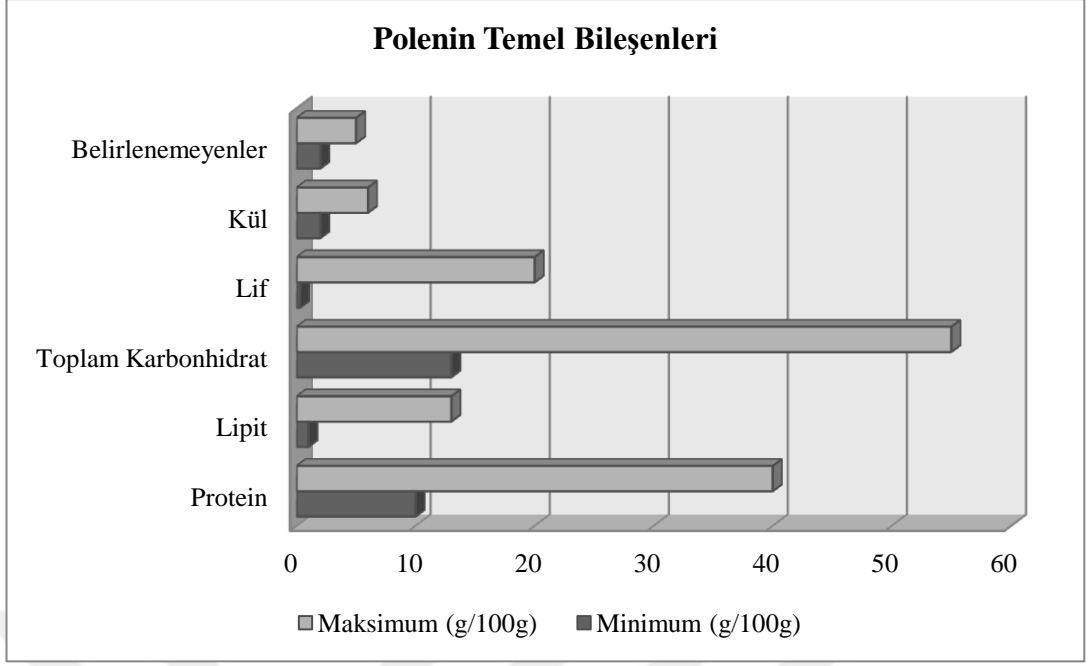
1.4 Polenin Besin İçeriği ve Diğer Ürünler ile Karşılaştırılması

Şekil 1.11’de görüldüğü gibi polenin temel bileşenlerinin oranı değişmekle birlikte, bileşenler arasında en fazla oranda karbonhidrat olduğu ve bunu takiben diğer bileşenlerin ise sırasıyla protein, lif, lipit ve kül olduğu tespit edilmiştir (Bogdanov, 2012). Mineraller ve iz elementler bakımından polen içeriği incelendiğinde ise potasyum, magnezyum, kalsiyum, fosfor, demir, çinko, bakır ve mangan gibi elementlerin miktarlar bakımından değişim gösterdiği belirlenmiş olmakla birlikte en fazla oranda bulunan elementlerin potasyum, mangan ve fosfor olduğu Şekil 1.12 incelendiğinde görülmektedir (Bogdanov, 2012).

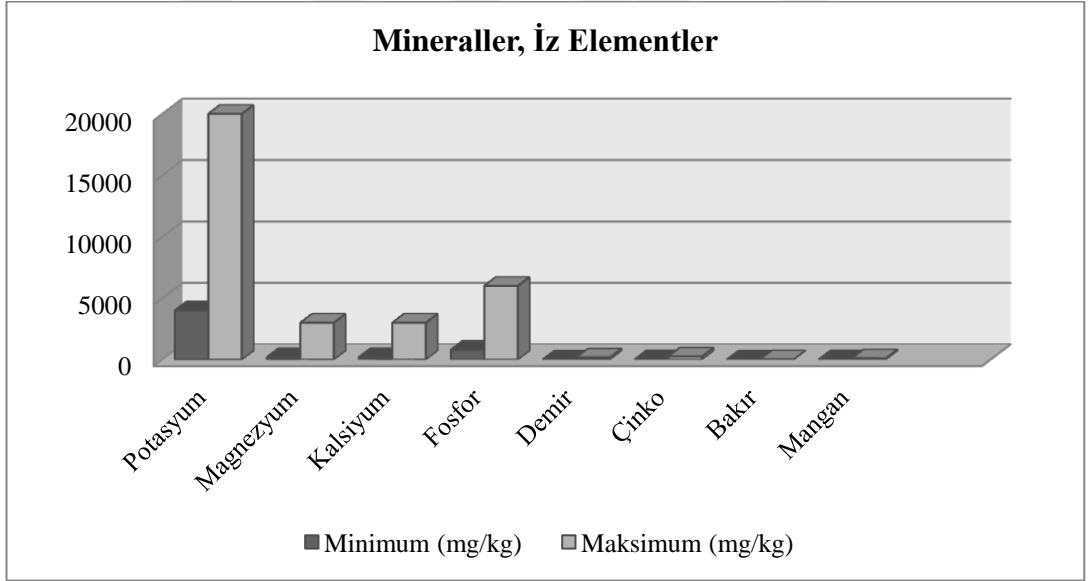
Polenin, suda çözülebilir ve çözülmeyen vitamin içeriğinin de değişim gösterdiği ve en fazla oranda bulunan vitaminlerin ise sırasıyla, C Vitamini, E Vitamini ve Vitamin A’nın öncül maddesi olan β -karoten olduğu tespit edilmiştir. B vitamini türevlerinin (B1, B2, B3, B5, B6) değişik miktarlarda bulunduğu tespit edilmiş olmakla birlikte en fazla oranda bulunanın ise B vitamin çeşidinin B3 olduğu saptanmıştır (Bogdanov, 2012). Polende bulunan diğer vitaminlerin ise Biotin ve Folik asit olduğu belirlenmiş ve oranları Şekil 1.13’de verilmiştir.

Şekil 1.14’de görüldüğü gibi, polenin amino asit çeşitliliği analiz edildiğinde 17 çeşit amino asit içerdiği saptanmıştır. Belirtilen bu amino asitlere ait oranlar Şekil’de verilmiş olup, polende en fazla miktarda bulunan amino asitlerin ise prolin, aspartik asit ve glutamik asit olduğu tespit edilmiştir (Bogdanov, 2012).

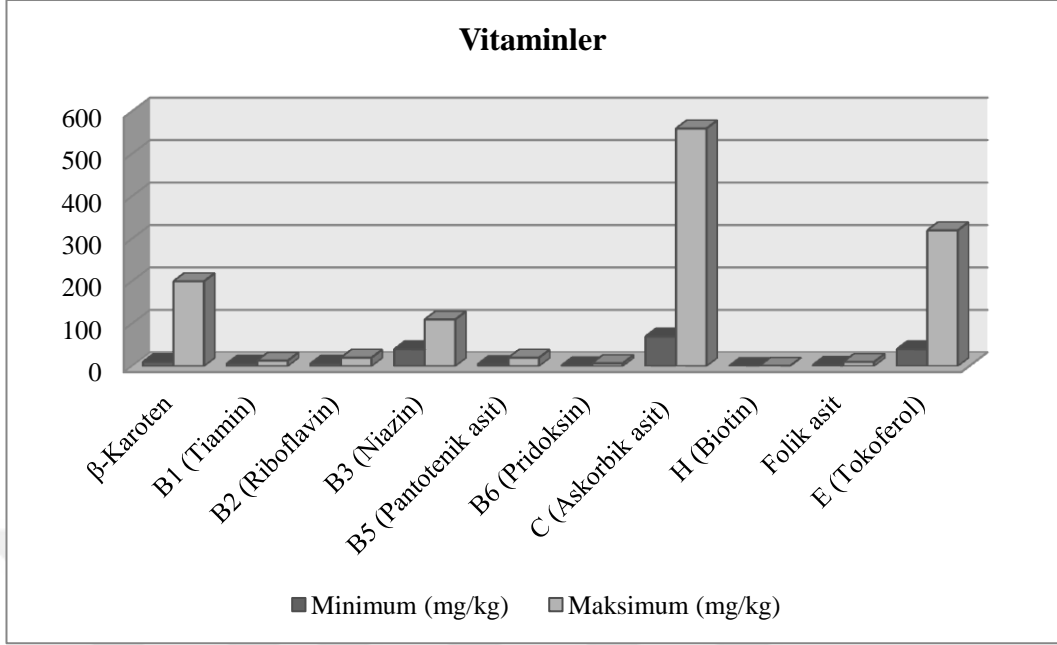
Şekil 1.15’de görüldüğü gibi, polenin protein içeriğinin diğer temel besinler olan kırmızı ve beyaz et, sebze ve meyveler ile karşılaştırıldığında proteinin en fazla oranda tavuk eti ve polende olduğu belirlenmiştir (Anonim4, 2016). Lipit içeriği bakımından polen ve diğer ürünler karşılaştırıldığında ise en fazla lipit miktarının, biftek, tavuk eti ve polende olduğu Şekil 1.16’ da görülmektedir (Anonim4, 2016).



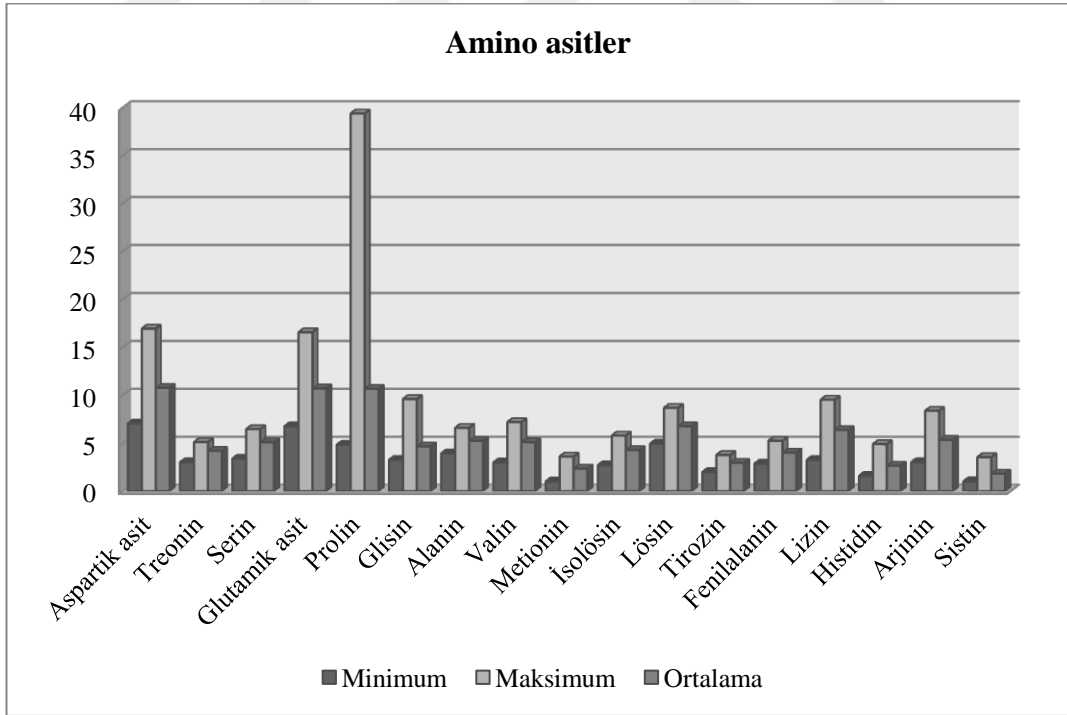
Şekil 1.11. Polenin temel bileşenleri (Bogdanov, 2012)



Şekil 1.12. Polende bulunan mineraller ve iz elementler (Bogdanov, 2012)

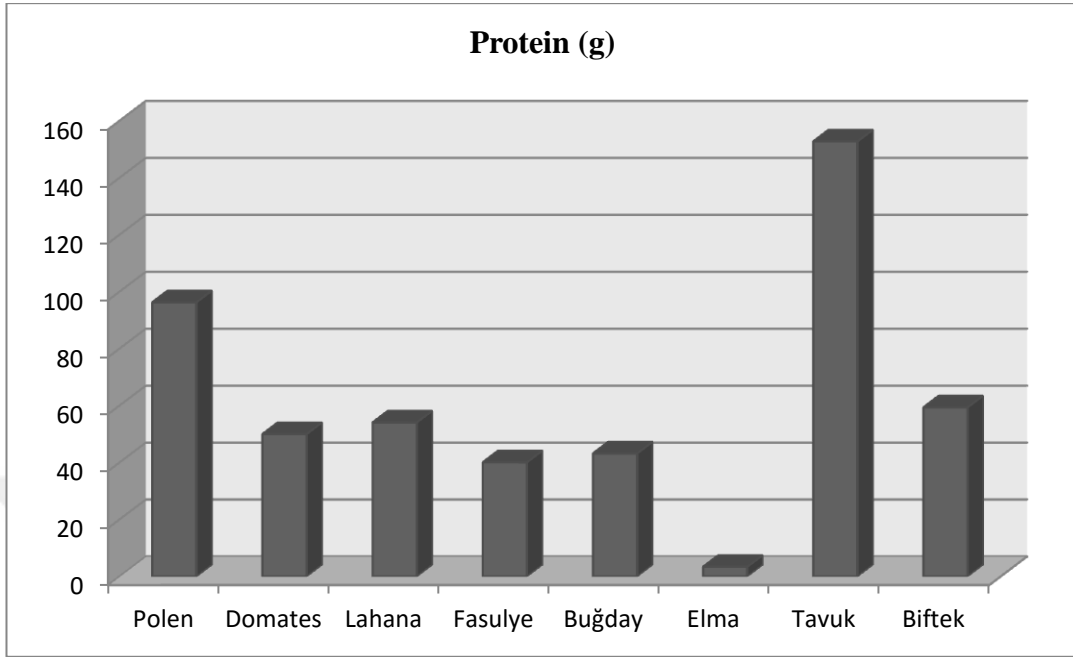


Şekil 1.13. Polende bulunan vitaminler (Bogdanov, 2012)

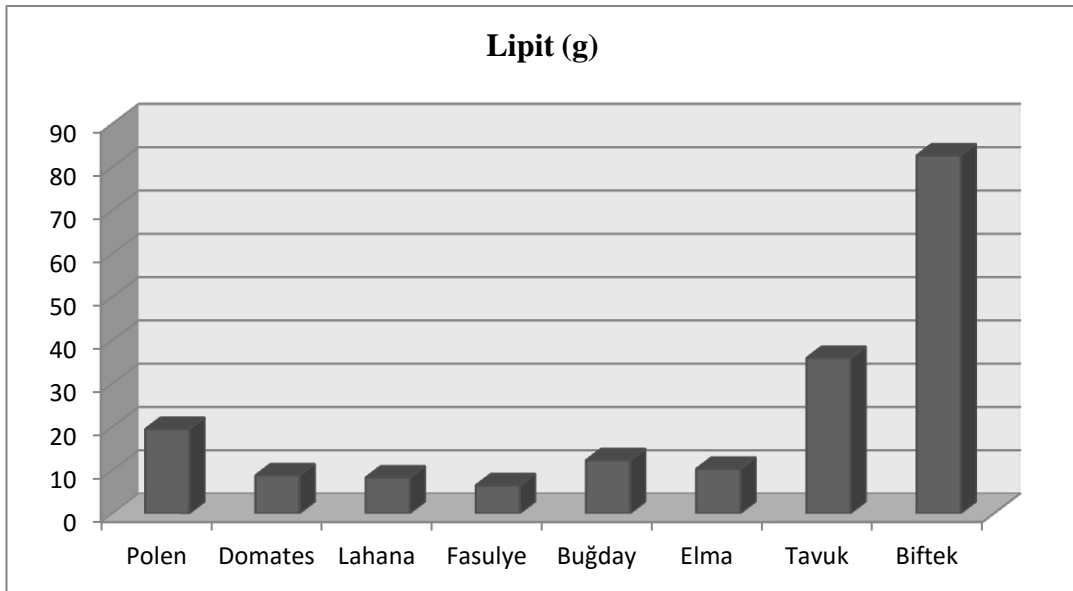


Şekil 1.14. Polende bulunan amino asitlerin çeşitliliği

(Amino asitler, gramdaki serbest amino asitler/ Azotun 16 g'ı) (Anonim18, 2016)

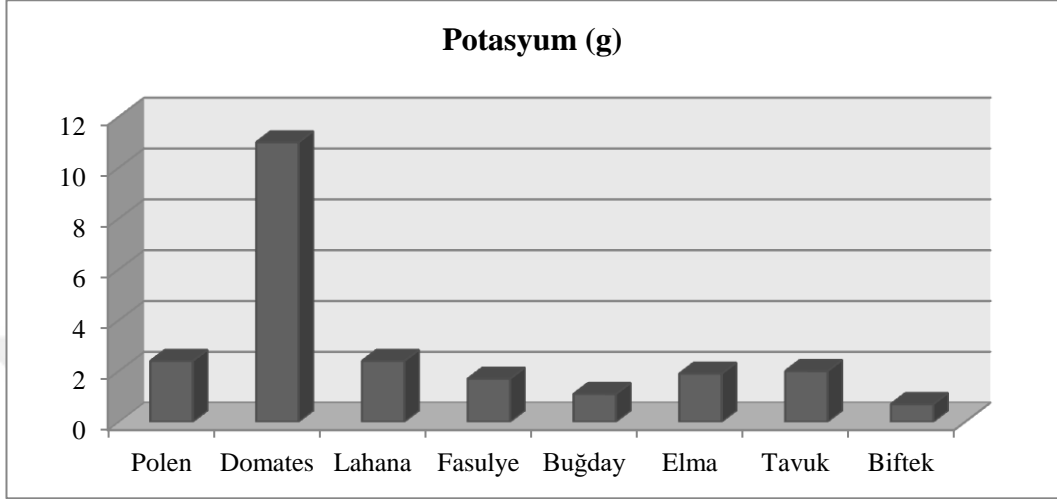


Şekil 1.15. Polene ait protein içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması (Anonim4, 2016)



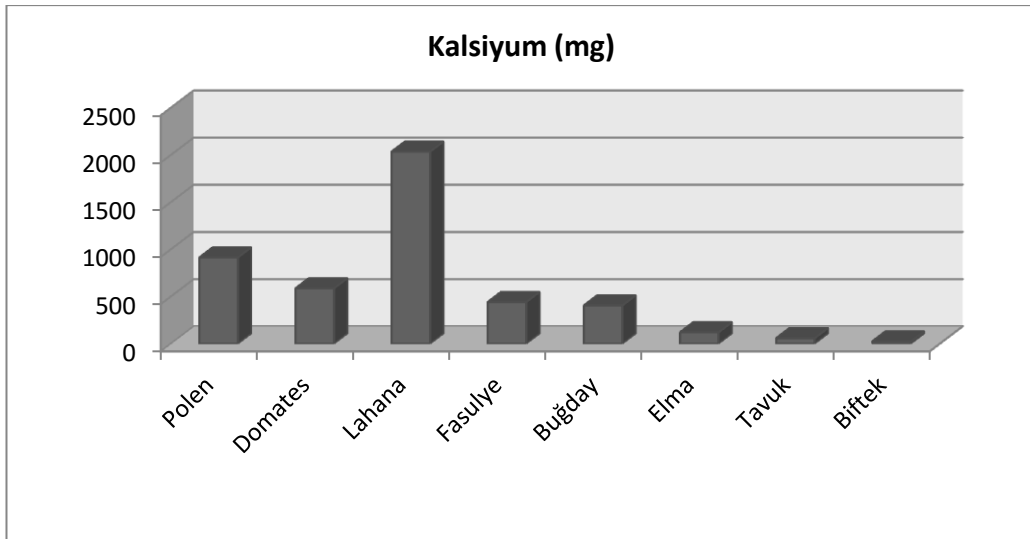
Şekil 1.16. Polene ait lipit içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması (Anonim4, 2016)

Şekil 1.17’de görüldüğü gibi potasyum elementinin en fazla domateste ve bunu takiben eşit miktarda polen ve lahana’da olduğu belirlenmiştir (Anonim4, 2016).



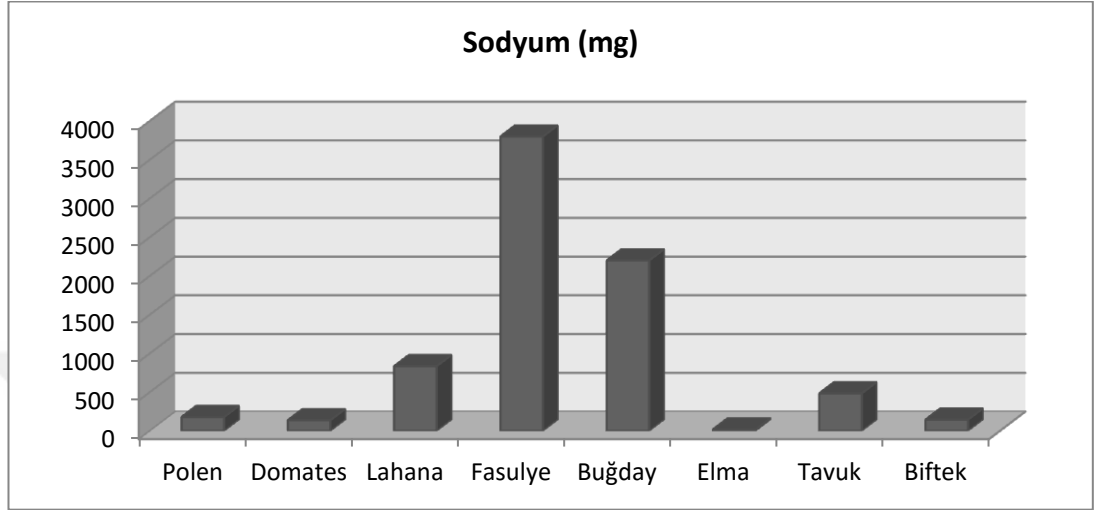
Şekil 1.17. Polene ait potasyum içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması (Anonim4, 2016)

Şekil 1.18’de görüldüğü gibi kalsiyum elementinin en fazla lahana’da ve polende olduğu belirlenmiştir (Anonim4, 2016).



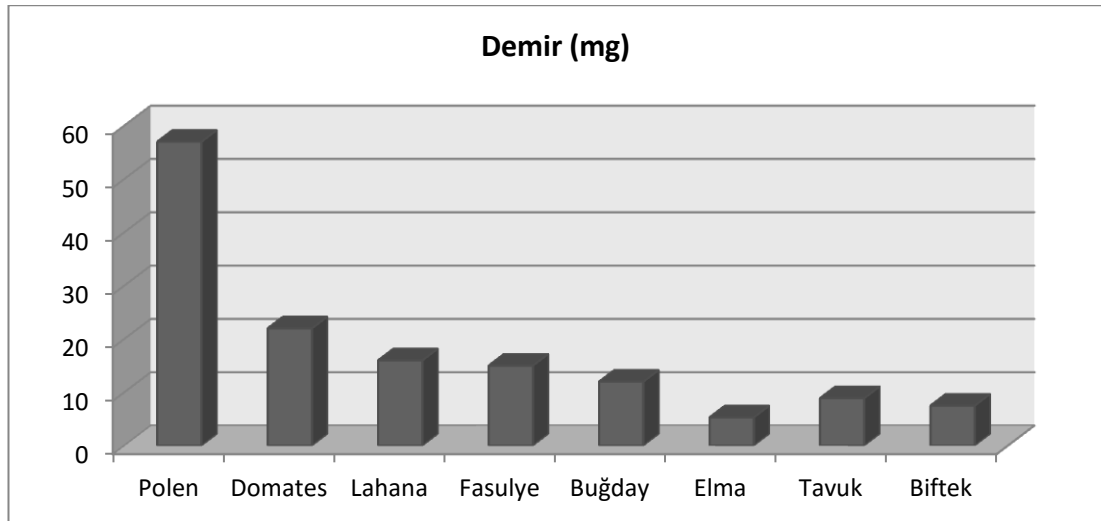
Şekil 1.18. Polene ait kalsiyum içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması (Anonim4, 2016)

Şekil 1.19’da görüldüğü gibi polenin sodyum içeriğinin, domates, elma ve biftekten daha fazla, lahana, fasulye, buğday ve tavuktan daha düşük oranda içerdiği belirlenmiştir (Anonim4, 2016).

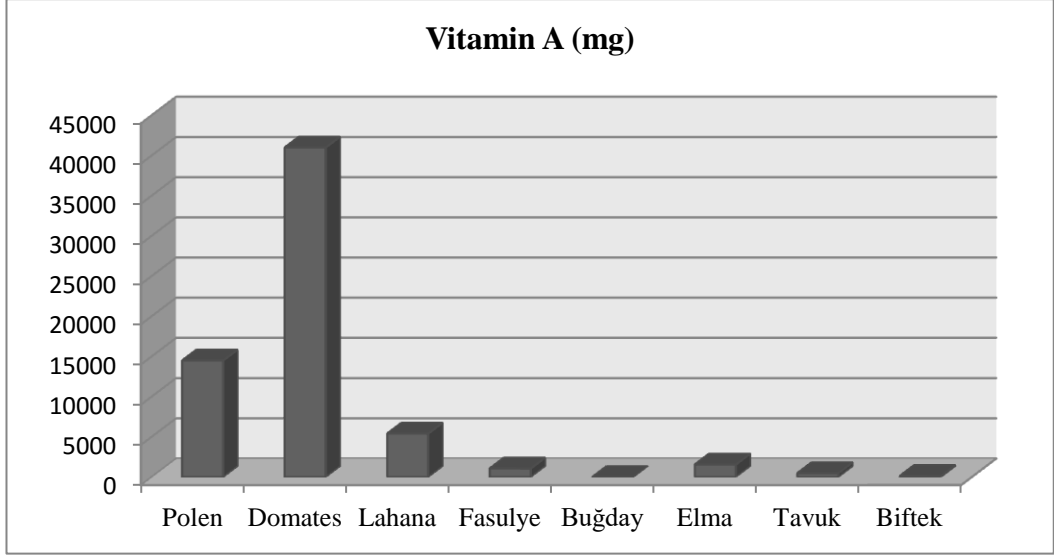


Şekil 1.19. Polene ait sodyum içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması (Anonim4, 2016)

Şekil 1.20’de görüldüğü gibi, demir içeriği bakımından tüm ürünler incelendiğinde en fazla demir elementinin polende olduğu tespit edilmiştir (Anonim4, 2016).

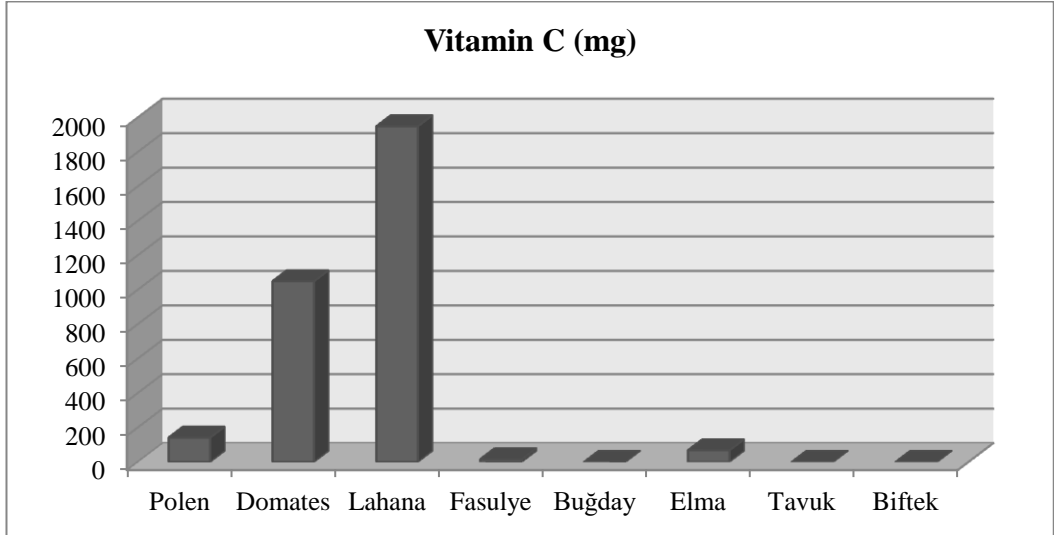


Şekil 1.20. Polene ait demir içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması (Anonim4, 2016)



Şekil 1.21. Polene ait Vitamin A içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması (Anonim4, 2016)

Vitamin A içeriği incelendiğinde ise polenin domatesten daha az, fakat lahana, fasulye, elma, tavuk ve biftekten daha fazla oranda içerdiği, Vitamin C'nin ise en fazla lahana, domates ve polende olduğu rapor edilmiştir (Şekil 1.21 ve Şekil 1.22) (Anonim4, 2016).



Şekil 1.22. Polene ait Vitamin C içeriğinin diğer et, sebze ve meyve ürünleri ile karşılaştırılması (Anonim4, 2016)

1.5 Polenin Saklanma Şekilleri ve Kullanım Alanları

Polen, direk olarak tüketilebildiği gibi değişik işlemlere maruz bırakıldıktan sonra piyasada satışa sunulmaktadır. Uygulanan bu yöntemler arasında en iyi saklama şeklinin kurutularak ve dondurularak yapılan işlemler olduğu tavsiye edilmektedir (Çizelge 1.6 ve 1.7) (Anonim4, 2016).

Çizelge 1.6. Polenin uygulama alanları ve farklı kullanım amaçları
(Anonim4, 2016)

BESLENME	İnsan vücudu bakımından dinçlik vermesi ve dengeli beslenmenin sağlanması İştah açıcı özelliklere sahip olması
TIP	Tedavi edici maddeler içermesi Polene bağlı gelişen alerjik durumlarda tedavi edici olarak kullanılması
ECZACILIK	İlaç endüstrisi
GIDA ENDÜSTRİSİ	Unlu mamuller
HAYVAN BESLEME	Arı yetiştiriciliği At yarışlarında besin takviyesi Böceklerin yemlerine ilave edilmesiyle büyüme oranlarının hızlandırılması
KOZMETİK	Kozmetik endüstrisi
TARIM	Ziraat ile ilgili çalışmalar
ÇEVRE	Çevre kirliliği ile ilgili araştırmalar

Çizelge 1.7. Polenin muhafazası ve saklama süresi
(Anonim19, 2016, Anonim20, 2016)

Uygulamalar	Muhafaza Süresi
1) Granül haldeki mutfak şekeri ile karıştırılmasıyla	
2) Hamur kıvamına getirilmesiyle	
3) Vakum işlemine maruz bırakılarak paketlenmesiyle	
4) Dondurma işlemine (derin dondurucu) maruz bırakılmasıyla	Dondurarak 1 kaç yıl saklanabileceği Buzdolabında 1 yıl
5) *Oda koşullarında, havadar bir ortamda gölgede kurutulmasıyla *30 °C ya da 35 °C'ye sıcaklığı ayarlanmış bir fırında 5 ile 6 saat arasında değişen bir süre ile kurutulması Kurutma işleminde polenin içerdiği nem miktarı % 5 yada % 10 oranında olması gerekliliği bildirilmiştir.	Oda koşullarında 1 kaç ay

1.6 Gıdalar ve Mikroorganizmalar

Gıdanın doğal yapısında çeşitli mikroorganizmalar olduğu gibi, gıdalara çeşitli etkenler vasıtasıyla temas edilmesi, hazırlanmaları esnasında yapılan işlemler, depolama koşulları ve süreci, taşınma ve ticari olarak satışa sunulması gibi çeşitli basamaklar aracılığıyla da gıdalara çeşitli mikroorganizmaların bulaşabildiği bilinmektedir. Bu bulaşma kaynakları Çizelge 1.8’de verilmiştir (Akın ve Akın, 2010).

Çizelge 1.8. Gıdalara çeşitli kaynaklardan mikroorganizmaların bulaşma yolları
(Akın ve Akın, 2010)

Çevresel Kaynaklar	Biyolojik Kaynaklar	Diğer Kaynaklar
Toprak	Hayvansal kaynaklı	Kanalizasyon
Su	Bitkisel kaynaklı	Ekipmanlar
Hava	İnsan kaynaklı	Katkı Materyalleri
		Ambalaj İşlemleri

1.6.1 Gıdalardaki mikroorganizma grupları ve işlevleri

Çizelge 1.9’da görüldüğü gibi, gıda ürünlerinde bulanabilecek mikroorganizmalar, ürün kalitesi, raf ömrü ve insan tüketimi açısından uygunluğu vb. gibi özelliklere göre, 4 temel grupta sınıflandırılmaktadır (Ayhan, 2000).

Çizelge 1.9. Gıdalar ve mikroflorası, mikrofloranın gruplandırılması ve fonksiyonları (Ayhan, 2000)

Gruplama	Sınıflandırma	Fonksiyonları
Grup I	Bozulma oluşturmaması	Belirli seviyelere ulaştıklarında gıdalarda fiziksel kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin değişimine neden olması, raf ömrünün azaltılması ve ürünün tüketim açısından uygun olmayan hale gelmesine neden olması
Grup II	Yararlı özelliklerinin olması	Üretmiş olduğu metabolitler ile üründe istenilen lezzet ve aroma oluşumu ve tüketici açısından arzu edilen diğer yapısal değişikliklere sebep olması
Grup III	Sağlık açısından risk teşkil etmesi	Üretmiş oldukları toksinler ile gıda kaynaklı zehirlenme durumlarının oluşumuna neden olması Üreme periyodu esnasında ya da direk olarak mikroorganizmanın yapmış olduğu hastalık durumuna neden olması
Grup IV	Fayda ve zarar bakımından etkilerinin olmaması	Nötral fonksiyonda olması

1.6.2 Gıdalarda Yapılan Mikrobiyolojik Analizler

Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı

Bu analiz, tüketilen gıdaların, kriterlere uygun olup olmadığının tespit edilmesi dışında Çizelge 1.10'de belirtilen nedenlerden dolayı yapılmaktadır (Doğan ve Tükel, 2000).

Çizelge 1.10. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri sayımının yapılma amaçları

(Doğan ve Tükel, 2000)

Gıdalarda bozulmanın başlayıp başlamadığının tespit edilmesi	Gıda hammaddeleri
Raf ömrünün saptanması	Yardımcı hammaddeleri
	Ambalaj materyali
	Genel olarak işleme koşulları

Maya ve Küfler

Maya ve Küfler, 2 ile 9 arası pH'da, 10 ile 35 °C sıcaklıklarda, 0,85 ile daha yüksek su aktivitesi bulunan ortamlarda üreyebilen bir grup organizmadır. Tuz ve şeker bakımından yüksek olan ortamlarda bile çok rahatlıkla gelişebilen bu organizmalar, karbonhidrat, protein ve lipitler gibi makromolekülleri ve ayrıca organik asitleri de parçalama özelliğine sahip olan canlılardır. Bulunduğu ortamlarda istenilmeyen duysal özellikler oluşturmaları ve hatta bazı türlerin ise sekonder metabolit olarak toksinler oluşturmaları ve enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir. Ürünün bu grup mikroorganizmalar açısından incelenmesi gıdalarda temel olarak kabul edilen kalite parametrelerinden birisidir. Bu amaçla, ürünün hava ile temasını, ambalajdan önce öğütülme işlemine tabi tutulan ürünlerin yıkama işlemlerinin yeterli yapıp yapılmadığı, düşük sıcaklıklarda (soğutarak ya da dondurarak) muhafaza edilen ürünlerde sıcaklık kriterlerin yeterli olup olmadığının kontrolü amacıyla yapılmaktadır. Bu grup mikroorganizmaların gelişeceği besin ortamlarının pH'sı asidik hale getirilmekte (3,5 ile 5,4 arası), istenilmeyen bakterilerin gelişmelerini engellemek amacıyla besin ortamlarına çeşitli antibiyotikler konulabilmekte (penisilin, streptomisin, oksitetrasiklin, kloramfenikol vb. gibi) ya da inhibe edici renk maddeleride (rose bengal) ilave edilebilmektedir (Durlu-Özkaya ve Kuleşan, 2000).

Laktik asit bakterileri

Laktik asit bakterilerinin genel özellikleri, bulunduğu habitatlar ve oluşturduğu hastalıklar Çizelge 1.11’de verilmiştir (Anonim21, 2016).

Çizelge 1.11. Laktik asit bakterileri (Anonim21, 2016)

Genel Özellikleri	Habitatları	Oluşturduğu Hastalıklar ya da Diğer Aktiviteleri
Kok ya da çubuk şekilli	Süt	Bulunduğu gıda ortamında asitlik artışına neden olabilmesi
Gram (+)	Et	Probiyotik olarak kullanılabilmesi
Spor (-)	Sebzeler	
Katalaz (-)		
Sitokro (-)		
Asit tolerasyonu (+)		
Laktik asit oluşumu (+)		
Grupta bulunan organizmalar: Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus ve Lactococcus		

Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae familyasının genel özellikleri ve bu familyada hakkında bazı bilgiler Çizelge 1.12’de verilmiştir (Anonim22, 2016).

Çizelge 1.12. Enterobacteriaceae familyasının genel özellikleri ve bu familyada bulunan bazı bakteriler (Anonim22, 2016)

Genel Özellikleri	Üyeleri
Genel olarak hijyen indeksi olarak kabul edilmekle beraber, ulusal ya da uluslararası standartlar ve tüzüklerde belirli gıda maddeleri için konulmuş limit değerler yoktur. toplam Enterobacteriaceae sayımı da hijyen indeksi olarak giderek önem kazanmaktadır.	Koliformlar (total ve fekal)
	<i>E. coli</i> tip 1 ve O157:H7
	<i>Salmonella sp.</i>
	<i>Shigella sp.</i>
	<i>Y. enterocolitica</i>

Koliformlar ve *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasında sınıflandırılan bu grup bakteriler, 2 alt gruba ayrılmaktadır: I) feçes kaynaklı olmayan (örneğin, biyotik (bitkiler) ve abiyotik (toprak vb.) kaynaklı) II) feçes kaynaklı olan (hayvanlar aleminde gruplandırılan canlıların sindirim sistemleri aracılığıyla). Feçes kaynaklı olanlar, fekal (dışkı) koliformlar olarak tanımlanmakta ve bu gruba ait üyeler ve/veya *E. coli*'nin gıda da tespit edilmesi gıdanın fekal kaynaklı kirleticilerle maruz kaldığı ve tifo, dizanteri gibi hastalıklara neden olan bazı patojen bakterilerin muhtemel indikatörü olarak kabul edilmektedir. Gerek gıda materyalleri ve gerekse çeşitli kaynaklı sularda bulunmasına kesinlikle izin verilmemektedir. Ancak bazı gıda çeşitlerinde koliformların sayısı konusunda belirli bir düzeye kadar toleransın olduğu rapor edilmiştir. Çok çeşitli gıdalarda yaygın olarak bulunan bir gruptur. Bu grubun gıdalarda varlığının tespit edilmesi iyi olmayan santitasyonun, yeterli ve doğru olmayan pastörizasyon işlemlerinin yapıldığı, pişirme işlemleri sırasında bulaşmanın olduğu ve pastörize edilmiş olan bir materyalin yapılan işlem sonucunda tekrar mikroorganizmalar ile bulaştığının göstergesi olarak kabul edilmektedir (Çakır, 2000). Koliform grubu bakterilerin genel özellikleri, bulunduğu habitatlar ve oluşturduğu hastalıklar Çizelge 1.13'de verilmiştir (Çakır, 2000).

Çizelge 1.13. Koliform grubu bakteriler (Çakır, 2000)

Koliformlar	Genel Özellikleri	Oluşturduğu hastalıklar
<i>C. freundii</i>	Çubuk	Çeşitli
<i>E. aerogenes</i>	Fakültatif Anaerob	
<i>E. cloacae</i>	Gram (-)	
<i>E. coli</i>	Spor (-)	
<i>K. pneumoniae</i>	Laktoz (gaz ve asit)	

Gıda mikrobiyolojisi açısından önemli olan diğer bakterilerin genel özellikleri, bulunduğu habitatlar ve oluşturduğu hastalıklar Çizelge 1.14-1.21'de verilmiştir (Doğan ve Tükel, 2000, Kaleli ve Durlu-Özkaya, 2000, Doğan, 2000, Kuleaşan, 2000, Çakır, 2000, Akın ve Akın, 2010, Ayhan, 2010,).

Çizelge 1.14. *Staphylococcus aureus* (Doğan ve Tükel, 2000)

Genel Özellikleri	Habitatlar	Oluşturduğu hastalıklar
Micrococcaceae familyası	İnsan ve Hayvanları doğal florası	Gastroenterit
Gram (+)	Hava, toz, yağm, su	
Kok	Et ve et ürünleri	
Spor oluşturma (-)	Süt v süt ürünleri	
Hareket (-)	Çeşitli gıdalar	
Katalaz (+)		
Fakültatif anaerob		

Çizelge 1.15. *Bacillus cereus* (Kaleli ve Durlu-Özkaya, 2000)

Genel Özellikleri	Habitatlar	Oluşturduğu hastalıklar
Bacillaceae	Toprak ve bitki örtüsü	Akut kusma
Gram (+)	Pişmiş pirinç, makarna	Kronik diyare
Spor (+)	Kırmızı ve beyaz etler	
Hareketli	Sebzelerden hazırlanan yemekler	
Aerobik	Çorba, puding, sos, baharat	
Tuz'da (%7,5) üreme (+)	Süt ürünleri	
Hemolizin (+), lesitinaz, jelatinaz, proteaz, amilaz (+) Polimiksine dirençli		

Çizelge 1.16. *Enterococcus faecalis* (Kaleli ve Durlu-Özkaya, 2000, Ayhan, 2010)

Genel Özellikleri	Habitatları	Oluşturduğu Hastalıklar
Kokus şeklinde	Yaygın olarak her yerde	Klinik enfeksiyonlar
Gram (+)	İnsan ve memeli dışkısı	Endokardit
Spor (-)	Toprak, su, bitki ve böcek	
Hareketlilik (değişken)	Süt ürünleri	
Kapsül (-)	Diğer gıdalar	
Fakültatif Anaerob		
Tuz ortamında (% 6,5 NaCl) gelişme (+)		
Safra tuzunda gelişme (+)		
Gıdaların dışkı ile doğrudan kontamine olduğu fakat diğer enterik patojenlerin bulunması anlamına gelmemektedir.	Bitkilerde yaygın olarak bulunması sanitasyon indikatörü olarak değerini büyük ölçüde azaltmaktadır.	

Çizelge 1.17. *Listeria monocytogenes* (Doğan, 2000)

Genel Özellikleri	Habitatları	Oluşturduğu Hastalıklar
Fakültatif anaerob ve mikroaerofil	Doğada çok yaygın	Ürettiği hemolizine bağlı olarak hastalık oluşturur.
Gram (+)	Çürüten sebzeler	
Spor (-)	Toprak, su, yağm, silaj, hayvan yemi,	
Hareket (değişken)	Taze dondurulmuş kanatlı etleri	
Katalaz (+)	Taze ve işlenmiş et ürünleri	
Oksidaz (-)	Çiğ süt ve yumuşak peynirler	
	Böcekler	

Çizelge 1.18. *Clostridium perfringens* (Kuleaşan, 2000)

Genel Özellikleri	Habitatları	Oluşturduğu Hastalıklar
Bacillaceae		Ürettiği toksinler ile hastalık oluşturur.
Gram (+)		Gıda zehirlenmeleri sadece Toksin A ile oluşur.
Çubuk şeklinde	Kırmızı ve beyaz etler	Gazlı gangren
Spor (+)		Nekrotik enteritidis
Anaerobik		Diyare
Kapsül (+)		
Hareket (-)		

Çizelge 1.19. *Aeromonas hydrophila* (Çakır, 2000)

Genel Özellikleri	Habitatlar	Oluşturduğu hastalıklar
Vibrionaceae	Tatlı ve tuzlu su kaynakları	Gastroenterit
Fakültatif anaerob	Toprak	Septisemi
Gram (-)	Kanalizasyon suları	Pneumoni
Çubuk şeklinde	Klorlu ve klorlu olmayan içme suları	Menenjit
Hareketli	Midye, balık gibi deniz ürünleri	
Amilaz, proteaz, fosfolipaz ve DNase (+)	Sığır etleri, tavuk ve balıklar	
	İnek, koyun, keçi sütü ve ürünleri	

Çizelge 1.20. *Pseudomonas aureginosa* (Ayhan, 2010, Akın ve Akın, 2010)

Genel Özellikleri	Habitatları	Oluşturduğu Hastalıklar
Oksidaz	Toprak ve su	Gastroenterit
	Sebzeler	
Katalaz (+)	Soğukta saklanan et ve et ürünleri	
Gram (-)	Deniz ürünleri	
Aerobik		
Çubuk şeklinde		
Proteolitik ve lipolitik aktivite (+)		

Çizelge 1.21. *Salmonella* (Durlu-Özkaya, 2000)

Genel Özellikleri	Habitatları	Oluşturduğu Hastalıklar
Enterobacteriaceae	İnsan dışkı	Ateş
Gram negatif	Hayvan dışkı	Septisemi
Çubuk şekli	Lağım suları	Gastro enteritis
Motil (genel olarak)	Su ve Gıda	Tifo
Fakültatif anaerob	Doğrudan kontaminasyon	Paratifo
NO ₃ 'ü NO ₂ 'ye indirgeme		
Glukozdan gaz oluşturma		
H ₂ S (+)		
İndol (-)		
Genellikle Sakkaroz fermentasyonu (-)		
Genellikle Salisin fermentasyonu (-)		

Polen Tüketiminin Standartlar Bakımından Uygunluğu

Diğer gıdalarda olduğu gibi, polen yüklerinde de patojen mikroorganizmaların ve küflerin bulunmaması gereklidir. Polen, için en tehlikeli kontaminantların, tarımsal uygulamalar ve çevreden gelen ağır metaller ve pestisitlerin olduğu bildirilmektedir. Optimum polen kalitesi için yoğun trafik veya pestisit uygulanan tarım alanlarından en az 3 km uzaklıkta olan alanlardan polen toplanması gerekliliği önerilmektedir. Polen yükünde ağır metal miktarının, kadmiyum için kg'da 0,1 mg, kurşun için 0,5 mg, arsenik için 0,5 mg, cıva için 0,03 mg'ın üzerinde olmaması gerekliliği bildirilmiştir. Polende incelenmesi gerekli olan diğer bir parametrenin ise mikotoksinler olduğu bildirilmiştir. Mantarlar ile kontamine olan polenlerde mikotoksin gelişmesi doğal olarak oluşacağından, analizlerinin yapılması ve değerlendirilmesinin gerekli olduğu önerilmiştir (Campos, vd., 2008). Genetik olarak modifiye olan organizmaların (GMO) polene olan etkisinin henüz araştırılmamış bir konu olduğu rapor edilmiştir. Günümüzde ise bu organizmaların çok sayıda olduğu dikkate alındığında bu tip ürünlere ait polenlerin bulunma ihtimalinin çok yüksek olabileceği konusunda tahminler bulunmaktadır (Campos, vd., 2008).

Polenin sağlık üzerine negatif bir etki yaptığı konusunda hiçbir araştırma bulunmamaktadır. Avrupa Birliği Yürürlüğüne (EC 1829/2003) göre ürünlerde GMO miktarının %1'i aşmaması konusunda bir zorunluluğun olduğu bildirilmiştir. Belirtilen bu kriterin aynı zamanda polen için de geçerli olduğu rapor edilmiştir (Campos, vd., 2008). Orijinal formda toplanan arı poleninde su miktarı % 20 ile 30 arasında değişmektedir. Yüksek nem, polende bakteriler, mantarlar ve akarların gelişimi için uygun bir ortam oluşturduğu tespit edilmiştir (Campos, vd., 2008).

Toplanan polen, bakteri ve küf bulaşmasının engellenmesi ve iyi muhafazası için polenin günlük olarak toplanması ve toplandıktan hemen sonra derin dondurucu koşullarında depolanması gerektiği bildirilmiştir. Buzdolabı koşullarından, dış ortama alındığında, buzun çözülmesinin hemen ardından 1 kaç saat tutulabileceği ya da mümkün olur olmaz hemen işleme maruz bırakılması gerekliliği bildirilmiştir (Campos, vd., 2008).

42 °C'yi aşmayan sıcaklıklarda kurutulmuş polende su miktarının % 6'yı geçmemesi gerekliliği bildirilmektedir. Monofloral kaynaklı polende majör taksonun % 80'de az olmaması gerektiği rapor edilmiştir. Multifloral kaynaklı arı polenin farklı taksonlar içerdiği tespit edilmiştir. Ticari olarak satışa sunabilmesi için su miktarı ve çiçek kaynağının belirtilmesi gerekliliği rapor edilmiştir (Campos, vd., 2008).

Ürünün paketlerde, atmosferik nem girişini engelleyen ve gıda güvenliği açısından uyguna ambalajlarda paketlenmesi gerekmektedir. Bu işlemlerin esnasında santizasyon koşullarına uygun bir şekilde hazırlanması gerekmektedir. Polenin, hiçbir katkı materyali içermemesi gerekliliği de bildirilmiştir (Campos, vd., 2008).

Organik ya da inorganik kaynaklı kirleticilerin önerilen sınırlardan daha fazla olmaması gerektiği bildirilmiştir (Campos, vd., 2008). Avrupa Birliğinin polen için önerdiği mikrobiyolojik kalite ve diğer kalite parametreleri için AOAC'ın önerdiği diğer kriterler Çizelge 1.22'de verilmiştir.

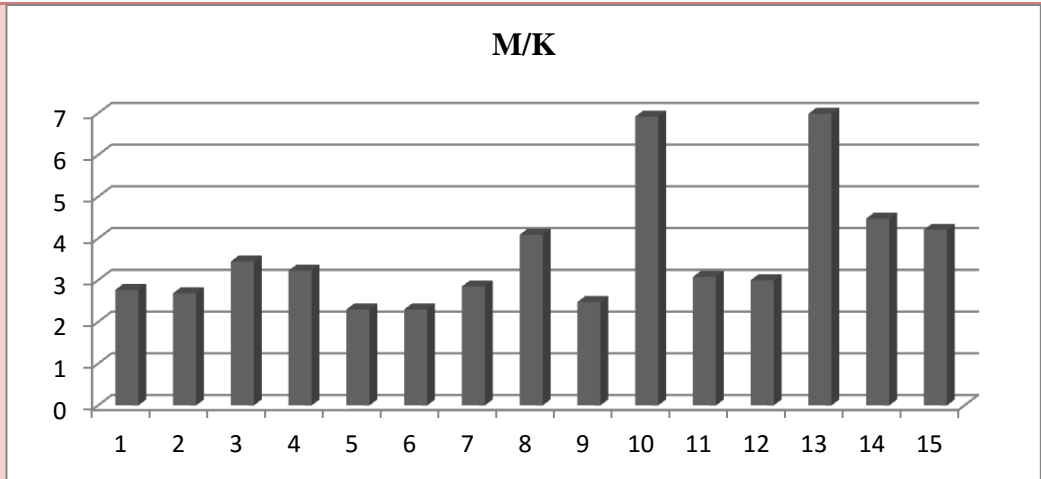
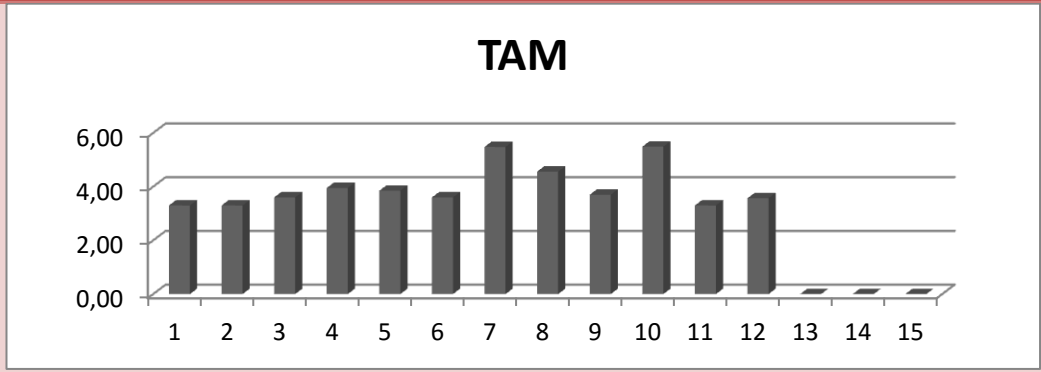
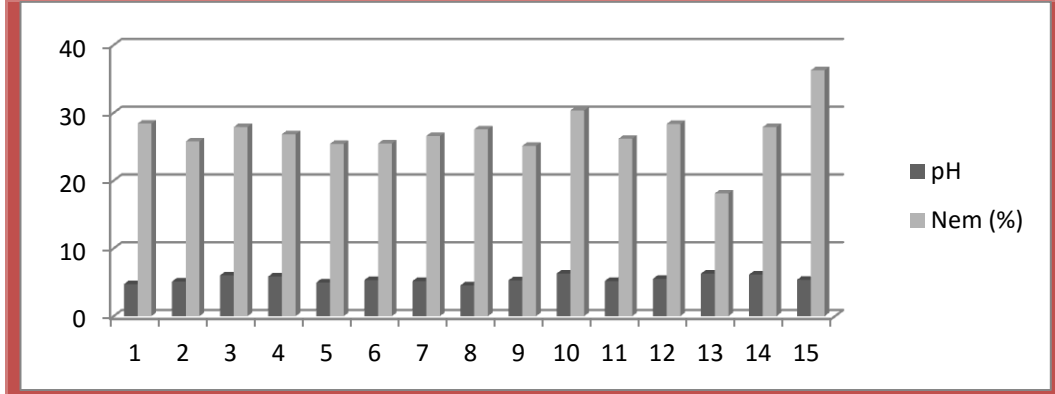
Çizelge 1.22. Arı poleninde mikrobiyolojik ve diğer kirletici etkenlerin sınırları (Campos, vd., 2008)

Mikrobiyolojik Analizler	
<i>Salmonella</i> sp.	Bulunmamalı (10g)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bulunmamalı (1g)
<i>Enterobacteriaceae</i>	Maksimum 100/g
<i>Escherichia coli</i>	Bulunmamalı (g)
Toplam Aerobik Bakteri Sayısı	<100000/g
Küf ve Maya	< 50000/g
Organoklor pentofosfor pestisitler	Balda önerilen limitlerden daha az olmalıdır.
Organofosfat pestisitler	Balda önerilen limitlerden daha az olmalıdır.
Piretroidler	Balda önerilen limitlerden daha az olmalıdır.
Aflatoksin B1	Maksimum 2 lg/kg
Aflatoksin B1 + B2 + G1 +G2	Maksimum 4 lg/kg
Kloramfenikol	Bulunmamalı
Nitrofuran metabolitler	Bulunmamalı
Sülfonamidler	Bulunmamalı
Ağır Metal (Kurşun)	Maksimum 0,5 mg/kg
Ağır Metal (Cıva)	Maksimum 0,01 mg/kg
Ağır Metal (Kadmiyum)	Maksimum 0,03 mg/kg
Radyoaktivite (Cs-134 ve Cs-137)	<600 Bq/kg

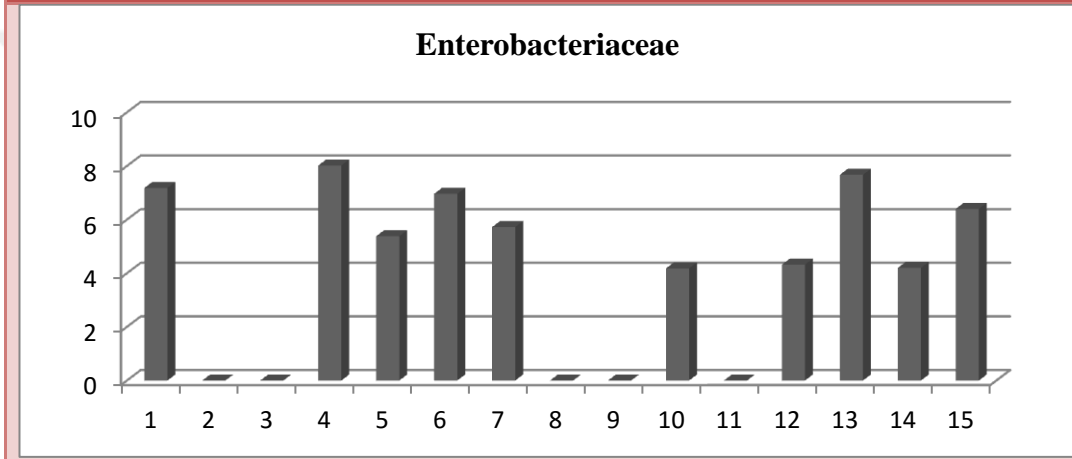
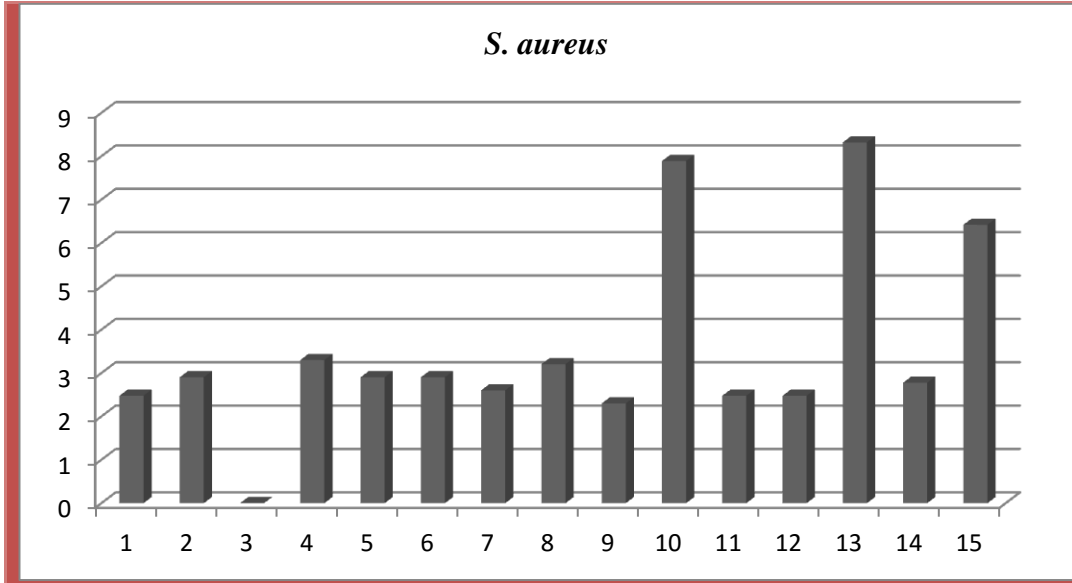
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

İspanya’da yapılmış olan bir çalışmada, bal arıları tarafından toplanan polenlerin yüksek düzeyde küf, koliform ve Lancefield group D Streptococci içerdiği bildirilmiştir (Serra ve Escola, 1997).

Cezayir’de yapılan bir çalışmada, lokal marketlerden temin edilen 13 polen ve arıcıdan temin edilen 2 adet polen örneği bazı kimyasal parametreler ve mikrobiyolojik açıdan kalite analizlerine tabi tutulmuştur (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2) (Belhadj, vd., 2014). Polen örneklerinde tespit edilen pH değerlerinin 4,55 ile 6,29, nem oranının (%) ise 18,11 ile 36,29, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının 3,00 ile 5,48 log kob/g, küf/maya sayısının 2,3 ile 6,99 log kob/g arasında değiştiği bildirilmiştir. *Staphylococcus aureus*’un 14 örnekte tespit edildiğini ve sayısının 8,32 log kob/g düzeyine kadar ulaştığını, Enterobacteriaceae sayısının 4.18 ile 8,01 log kob/g arasında değiştiğini, 7 polen örneğinin *Salmonella* spp. ve 10 polen örneğinin ise *Listeria* spp. açısından pozitif olduğunu rapor etmişlerdir. Polende güçlü toksin oluşturan *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Aspergillus alliaceus*, *Penicillium* sp., *Alternaria alternata*, *Alternaria* sp., *Monila sitophilia*, *Rhizomucor pusillus* ve *Mucor hiemalis* gibi küflerin bulunduğunu rapor etmişlerdir. Enterobacteriaceae familyasında biyokimyasal yöntemler ile karakterize edilen bazı patojen mikroorganizmaların (*Salmonella* sp. *Shigella* sp., *Proteus mirabilis*, *Citrobacter diversus*, *Klebsiella* sp., *Escherichia coli*, *Providencia* sp. ve *Enterobacter cloacae*) bulunduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, Cezayir’de satışa sunulan polenlerin mikrobiyolojik kalite bakımından kabul edilemeyen bir kalitede olduğu ve tehlikeli bir gıda maddesi olduğu görüşüne varmışlardır.

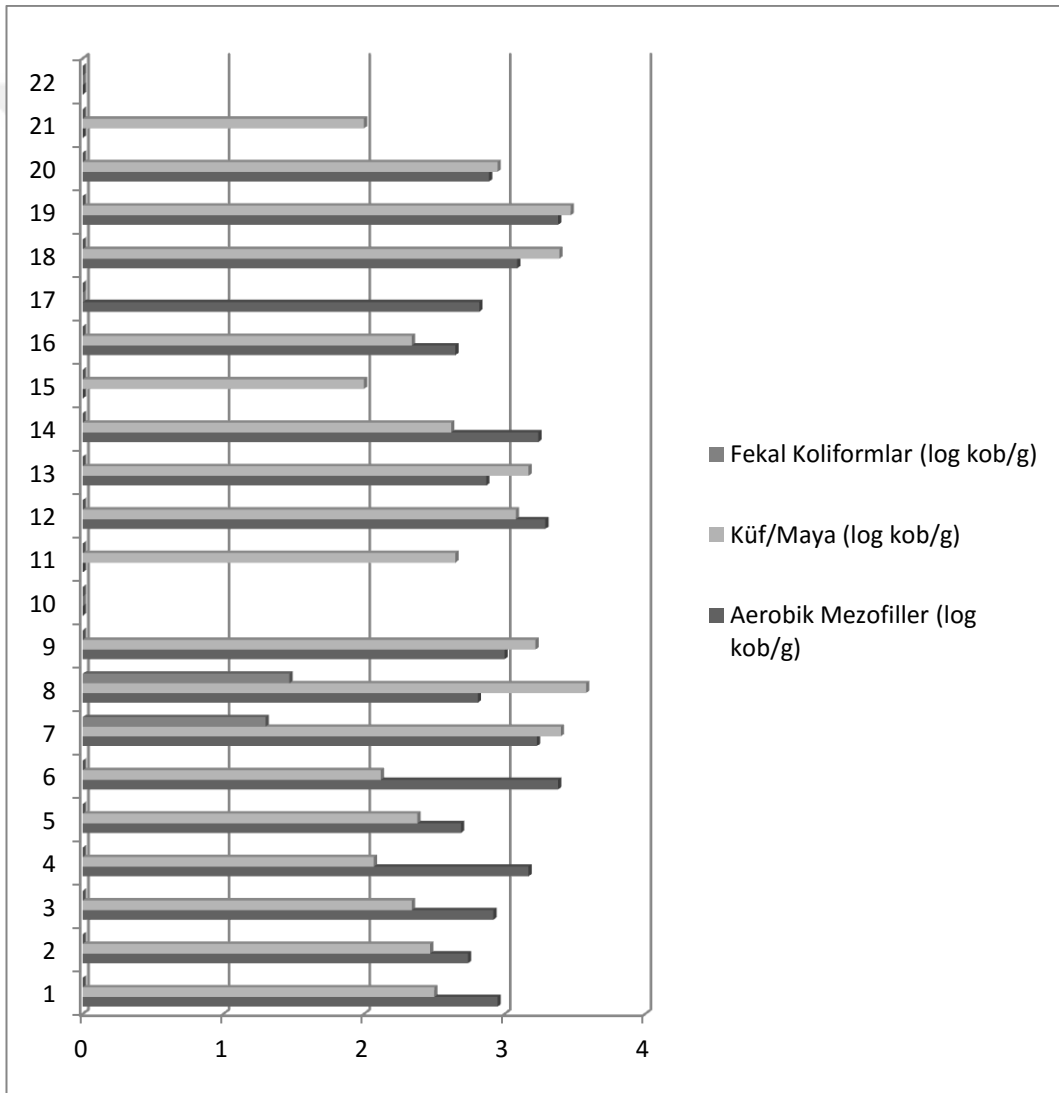


Şekil 2.1. Cezayir’den toplanan polen örneklerinde tespit edilen pH, nem, toplam aerobik mezofilik mikroorganizma (TAM), maya ve küf sayısı (M/K) (Belhadj, vd., 2014)



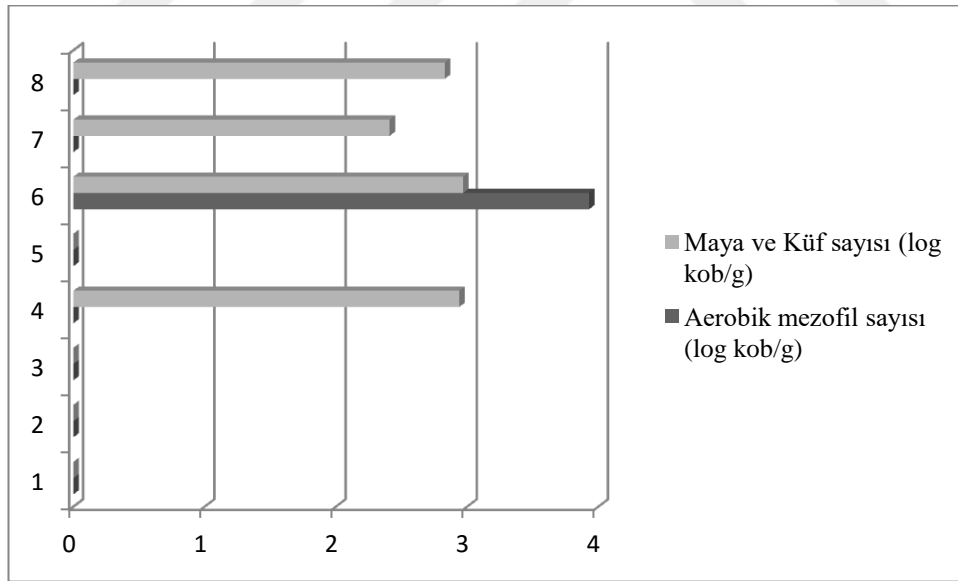
Şekil 2.2. Cezayir'den toplanan polen örneklerinde tespit edilen *S. aureus* ve Enterobacteriaceae sayısı (Belhadj, vd., 2014)

Portekiz’de yapılan bir çalışmada, Douro Uluslararası Doğal Parkından toplanmış 22 adet organik polen örneği çeşitli parametreler yönünden analiz edilmiştir (Feas, vd., 2012). Örneklerin mikrobiyolojik kalite (aerobik mezofil mikroorganizma ve küf/maya) bakımından son derece iyi olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Polen örneklerinin hiçbirisinin *E. coli*, sülfid indirgeyen *Clostridia*, *Salmonella* ve *S. aureus* içermediği, fakat sadece, 2 örneğin fekal koliformlar bakımından pozitif sonuç gösterdiğini rapor etmişlerdir (Şekil 2.3). Araştırmacılar, elde etmiş oldukları iyi sonuçların, örneğin doğal yapısına, işlemler esnasında yapılan iyi uygulamalarla bağlantılı olduğu görüşüne ulaşmışlardır.



Şekil 2.3. Douro Uluslararası Doğal Parkından (Portekiz) toplanmış 22 adet organik polen örneğinin aerobik mezofil ve küf/maya sayısı (Feas, vd., 2012)

Portekiz’de yapılan diğ er bir çalışmada, marketlerden satın alınmış Portekiz kaynaklı 4 adet, İspanyol kaynaklı 3 adet ve kaynağı belirli olmayan 1 adet polen örneği analiz edilmiştir (Nogueira, vd., 2012). Araştırılan polenlerde aerobik mezofil mikroorganizma sayısının 1 örnekte 3,93 log kob/g düzeyinde olduğu ve maya/küf sayısının 4 örnekte 2,41-2,97 arasında değiştiğini ve ayrıca örnekl erin hiçbirisinin koliform, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* ve sülf it indirgeyen *Clostridia* iç ermediğini rapor etmişlerdir (şekil 2.4) (Nogueira, vd., 2012). Araştırmacılar, çalışmada tespit edilen aerobik mezofil mikroorganizma ve maya/küf sayılarının standart kriterlere uygun olduğ unu ve güvenli bir şekilde tüketilebileceğ i görüşüne ulaşmışlardır. Ticari olarak satılan polenlerde tespit edilmiş yüksek düzeyde mikroorganizma varlığının, polenlerin iç ermiş olduğu su miktarı ile ilişkili olabileceğ i görüşüne ulaşmışlardır. Üretim zincirinde hijyenik uygulamaların optimizasyonun ürünün kalite ve güvenliğ ini geliştirmede gerekli olduğu vurgulamışlardır. Gıda kaynaklı hastalıklar ve bozulma riskini azaltılması için, tarımda, hijyende ve üretimde iyi uygulamaların yapılmasının zorunlu olduğu sonucuna varmışlardır (Nogueira, vd., 2012).



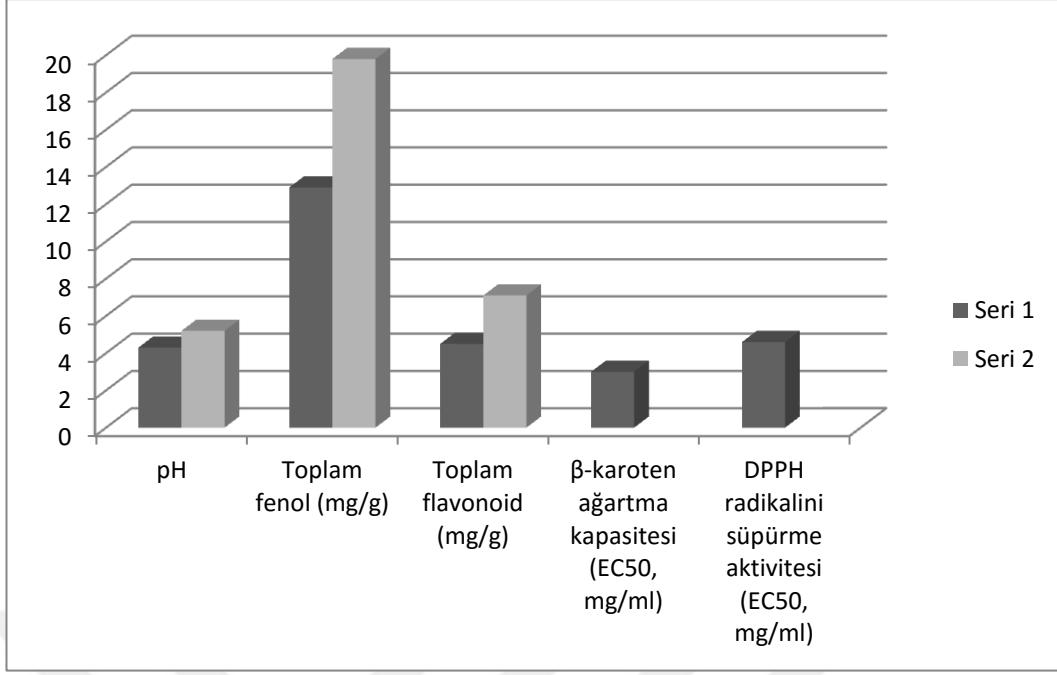
şekil 2.4. Portekiz’de yapılmış olan bir çalışmada, 8 adet polen örneğinde tespit edilmiş aerobik mezofil ve küf/maya sayısı (Nogueira, vd., 2012)

Literatür çalışmaları incelendiğinde, mikrobiyal kalite parametrelerinde olduğu gibi polenlerin antioksidan aktiviteleri konusunda da fazla araştırmaların yapılmamış olduğu görülmektedir. Portekiz’de yapılan bir çalışmada, Douro Uluslararası Doğal Parkından toplanmış 22 adet organik polen örneğinin pH, toplam fenol flavonoid miktarları belirlenmiş ve değişik düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.5) (Feas, vd., 2012).

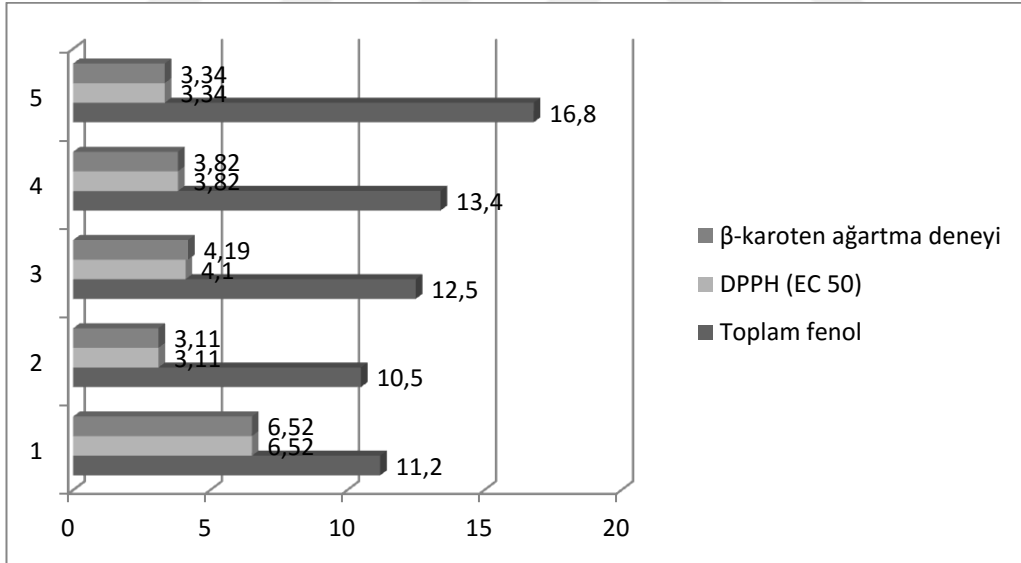
Yapılmış olan diğer bir araştırmada ise, Portekiz’in 5 doğal parkından (Peneda Geres, Montesinho, Alvao, Serra da Estrela, Douro Internacional) toplamış oldukları polenlerin fenol miktarlarını tespit etmişlerdir. Polen örnekleri ayrıca 2 farklı antioksidan yöntemi ile test edilmiştir. Analiz edilmiş tüm polenlerin farklı düzeylerde antioksidant etkinliklerinin olduğu sonucuna ulaşmışlardır (Şekil 2.6) (Morais, vd., 2011).

İstanbul (n=6), farklı şehirler (Türkiye) n=20, İspanya (n=2) ve Çin (n=1) ’den temin edilen 29 polen örneğinin toplam fenolik ve flavonoid miktarları tayin edilmiştir. Araştırmacılar 4 farklı antioksidan yöntemi ile biyoetkinliklerini de test etmişlerdir. Araştırılan polenlerin antioksidan kapasitelerinin mevcut olduğunu ve bu kapasitenin test yöntemlerine göre farklılık gösterdiğini rapor etmişlerdir (Çizelge 2.1) (Yeşiltaş, vd., 2012).

Typha domigensis Pers.’in polen taneciklerinin antioksidan aktiviteleri (Çizelge 2.2) (Sardar, vd., 2014) ve Güney Brezilya’nın 3 farklı eyaletinden toplanmış polen örneklerinin etanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri tespit edilmiş (Çizelge 2.3) (Carpes, vd., 2009) ve yapılan çalışmalar polenlerin önemli antioksidan etkinlikleri olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 2.5. Douro Doğal Parkı-Portekiz organik polen örneklerinin pH, fenolik, flavanoid madde ve antioksidan aktivite ve kapasiteleri (Feas, vd., 2012)



Şekil 2.6. Portekiz'in 5 doğal parkından toplanan polenlerin antioksidan kapasiteleri (Morais, vd., 2011)

Çizelge 2.1. Türkiye'nin farklı şehirlerinden temin edilen polenlerin antioksidan aktiviteleri (Yeşiltaş, vd., 2012)

Toplam fenolik madde (mg PC/100g) Min: 9,3 Mak: 49,9	Toplam flavonoid madde (mg QE/100g)	Test edilen Antioksidan metotları (mg/100g)	
		13,2-69,4	ABTS DPPH FRAP CUPRAC
		TEAC	*89,4 (en güçlü olanı)

Çizelge 2.2. *Typha domigensis* Pers.'in poleni ve antioksidan aktiviteleri (Sardar, vd., 2014)

<i>Typha domigensis</i> Pers.'in polen tanecikleri farklı bölgelerde bulunan göletik, kanal ve nehir kenarlarından toplanmıştır.	Toplam fenolik madde mg/l Gallic Acid	Toplam flavonoid madde (mg/L QE)	FRAP (mMol) (mg/L FeSO ₄)	TEAC (mMol)
Polen taneciklerinin n-hekzan, etil asetat, kloroform, metanol ve su ekstraktları	262-354	110-409	1,312-5,944	3,94-8,96

Çizelge 2.3. Güney Brezilya'nın 3 farklı eyaletinden toplanmış polen örneklerinin etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesi (Carpes, vd., 2009)

16'sı Parana, 10'u Santa Catarina ve 10'u Rio Grande do Sul Eyaletlerinden toplam 36 adet dehidre olmuş polen örneği arıcılardan toplanmıştır (Güney Brezilya).	Nem (%)	Toplam fenolik miktarı (GAE. g ⁻¹ polen)	Toplam flavonoid miktarı (mg (quercetin. g ⁻¹ polen)	DPPH (EC50) µg.mL ⁻¹ .
Polenlerin % 70'lik etanolde ekstrakte edilmiştir.	1,7-7,8	30,46-8,22 mg	8,92-5,5	810-4690

2.1 Tezin Amacı

Osmaniye-Hatay ve Adana illeri, Akdeniz Bölgesinin önemli bir bölgesinde yer alan önemli illerimizdir. Bu illerde tesadüfe dayalı toplanan polen örnekleri bitkisel ürünler satan marketlerden satın alınmış ve çeşitli parametreler yönünden incelenmiştir. Bu kapsamda,

- 1) pH, nem ve kuru madde miktarlarının belirlenmesi;
- 2) Renk analizlerinin yapılması;
- 3) Mikrobiyal kalite parametrelerin belirlenmesi;
- 4) İnsan sağlığı açısından önemli bazı fitokimyasal miktarlarının belirlenmesi;
- 5) Antioksidan aktivitelerinin çoklu yöntemler ile test edilmesi tezin amaçları kapsamındadır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Çalışma Materyallerinin Toplandığı Alanlar

Akdeniz Bölgesi'nde bulunan 3 farklı ilden (Osmaniye, Hatay ve Adana) toplanan toplam 14 adet polen örneği çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Akdeniz Bölgesinin haritası ve Şekil 3.1 ve 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Türkiye'nin coğrafi bölgeleri haritası (Anonim23, 2016)



Şekil 3.2. Akdeniz Bölgesi haritası (Anonim24, 2016)

3.1.1 Osmaniye İli Hakkında Genel Bilgiler

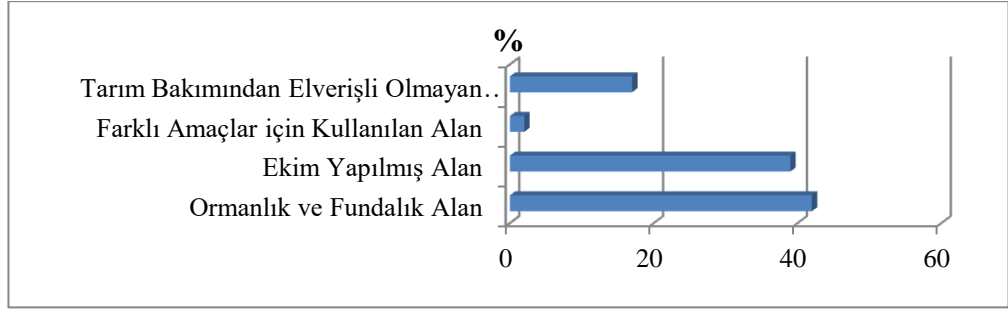
Osmaniye ili Akdeniz Bölgesi'nde yer alan ve çeşitli iller (Doğu Gaziantep, Güney Hatay, Batı Adana, Kuzey Kahramanmaraş) ile sınır komşuluğu olan bir ilimizdir (Şekil 3.3). İlçeler, barajlar, göletler/akarsuları, iklim ve bitkiler, düzlükler, dağlar ve ovaları ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1'de verilmiştir. Osmaniye iline ait toprak, yükselti ve meteorolojik veriler ile diğer genel bilgiler Şekil 3.4, 3.5 ve 3.6'da verilmiştir.



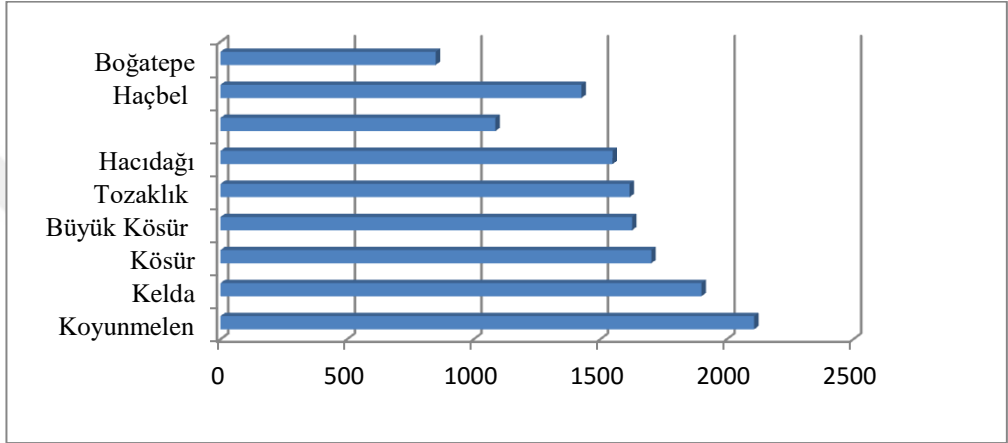
Şekil 3.3. Osmaniye ili haritası (Anonim25, 2016)

Çizelge 3.1. Osmaniye'nin barajları, göletleri, akarsuları, iklim ve bitki örtüsü, düzlükleri, dağları ve ovaları (Anonim25, 2016, Anonim26, 2016)

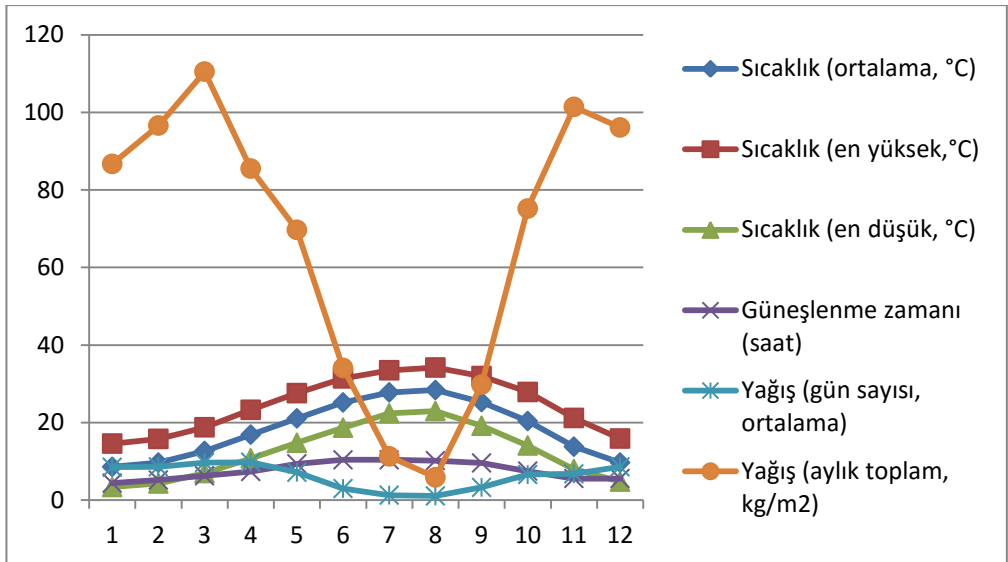
İlçeler	Bahçe	
	Düziçi	
	Hasanbeyli,	
	Kadirli	
	Sumbas	
	Toprakkale	
Akarsular	Ceyhan Nehri	
	Kalecik Deresi	
	Horu (Hamis) Çayı	
	Karaçay Deresi	
	Savrun Çayı	
	Kesiksuyu Deresi	
	Sabunsuyu Çayı	
	Yarpuz Çayı	
Barajlar, Göletler/Akarsuları	Kalecik Barajı/Kalecik Akarsuyu	
	Arıklıkış Göleti/Buğdaycık	
	Berke Barajı/Ceyhan	
	Aslantaş Barajı/Ceyhan	
	Kesiksuyu Brj/Kesiksuyu	
	Mehmetli Barajı/Kesiksuyu	
İklim ve Bitkiler	Akdeniz ve Akdeniz Bitkileri	
Düzlükler	Osmaniye Batı Yönü-Adana ovasına kadar	
Dağlar	Osmaniye Güney Yönü-İskendurun'dan Doğuya uzanan	Amanos Dağları
	Kuzeybatı-Osmaniye	Toros Dağları
	Doğu-Osmaniye	Dumanlı Dağları
		Düldül Dağları (2400 m)
		Turna Dağı (2285 m)
		Tırtıl Dağları
Ovalar	Merkez,	
	Toprakkale,	
	Kadirli	
	Düziçi ilçesi	



Şekil 3.4. Osmaniye'nin genel bitki örtüsü (Anonim25, 2016)



Şekil 3.5. Osmaniye'nin çeşitli yükselti alanları (Anonim25, 2016)



Şekil 3.6. Osmaniye'nin aylara göre meteorolojik verileri (Anonim27, 2016)

3.1.2 Hatay İli Hakkında Genel Bilgiler

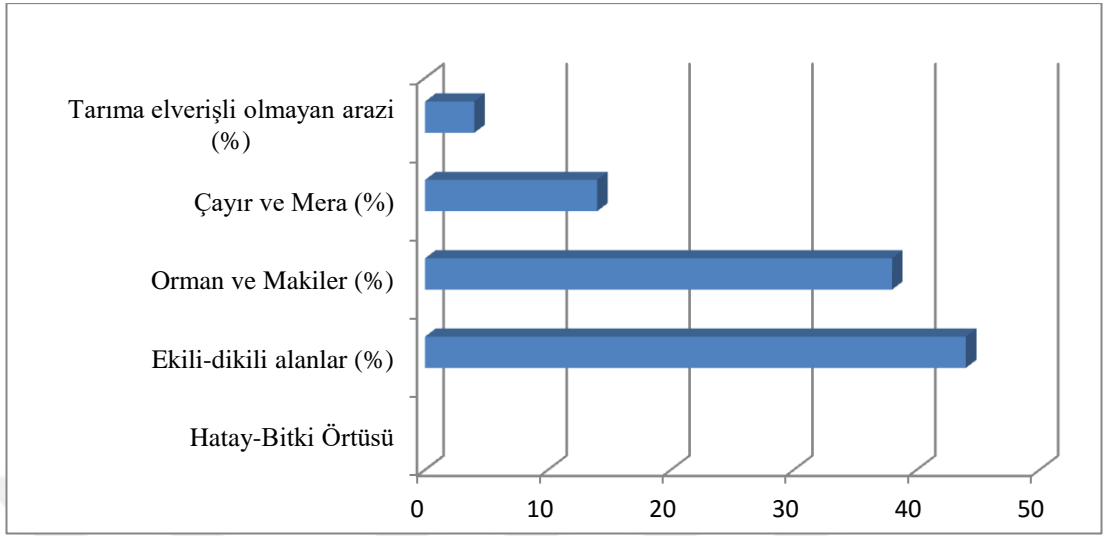
Hatay ili ve ilçelerinin genel haritası Şekil 3.7’de verilmiştir. Amik Ovası şehrin neredeyse tamamını kapsamaktadır. Akdeniz iklimine sahip olan bir ilimizdir. Genel bitki örtüsü olarak son derece çeşitlilik gösteren ve her çeşit bitki türünün olduğu bir konuma sahip olan il olarak rapor edilmiştir (Anonim26, 2016). Hatay ilinin dağları, ovaları, akarsuları, çayları, barajlar, göller ve gölcükleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Hatay ili topraklarının genel florası ve meteorolojisi ile ilgili bilgiler Şekil 3.8 ve 3.9’da verilmiştir.



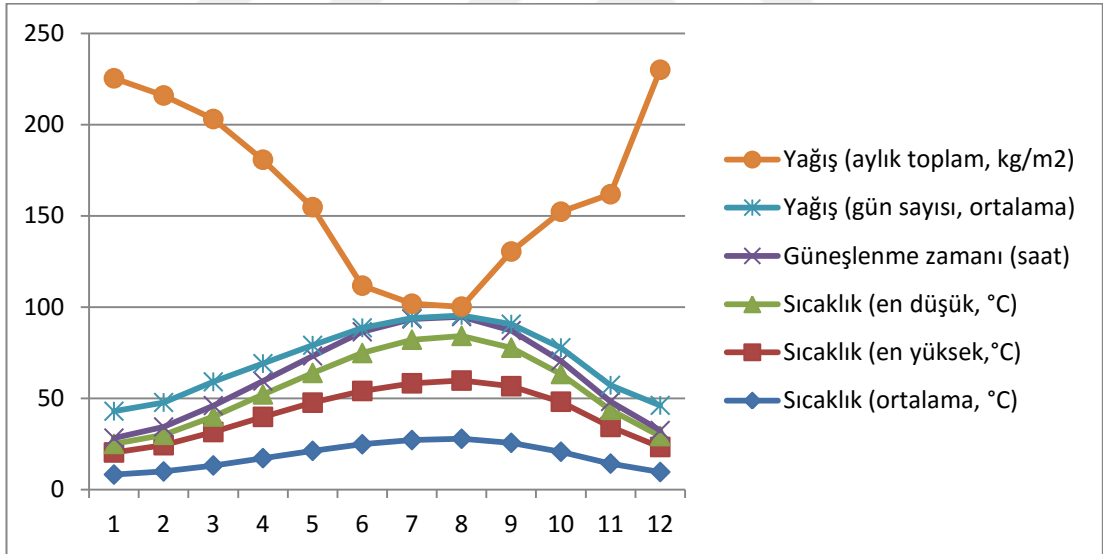
Şekil 3.7. Hatay ili ve ilçeleri (Anonim23, 2016)

Çizelge 3.2. Hatay'ın dağları, ovaları, akarsuları, çayları, barajlar, göller ve gölcükleri (Anonim26, 2016)

Hatay toprakları (%)	Dağlar (46) Ovalar (34) Yaylalar (20)				
Dağlar	Nur (Amanos =Gavur)	Uzunluk: 180 km Genişlik: 15-30 km	Amanos Dağları üzerinde ve Asi Nehrinin dirseği içinde kalan önemli dağlar	Amanos Dağlarının 800-1000 m yükseklikteki yamaçlarındaki yaylalar	Amanos Dağları en önemli geçidi
			Musa Daz=Mıgır Tepesi (rakım, 2,240 m), Kızıl Dağı (rakım, 1,735 m), İkiztepe (rakım, 1,700 m), Kanlık Tepe Keldağ=Cebel-i Akra (rakım, 1,730 m) Ziyâret Dağı (rakım, 1235 m)	Soğukoluk, Belen, Zorkun ve Atik Yaylaları,	Elmadağ-Belen Geçidi (rakım:660 m)
Ovalar		Amik Ovası	Yükseklik (m)	80	
			Alan (km ²)	900	
Akarsular		Asi Irmağı	uzunluk	380 km Hatay'm en önemli akarsuyudur	
Çaylar	Vadiler (Amanos ile Keldağ arası)	Büyük Akarçay			
		Küçük Akarçay			
		Hüseyinli Dereleri			
		Hupnik Çayı			
		Afrin Çayı			
		Karasu			
Barajlar	Tahta Köprü Baraj				
Göller	Tahta Köprü Baraj				
Gölcükler	Bağlama, Gülbaşı ve Yenişehir				



Şekil 3.8. Hatay topraklarının genel bitki örtüsü (Anonim26, 2016)



Şekil 3.9. Hatay'ın meteorolojik verileri (Anonim27, 2016)

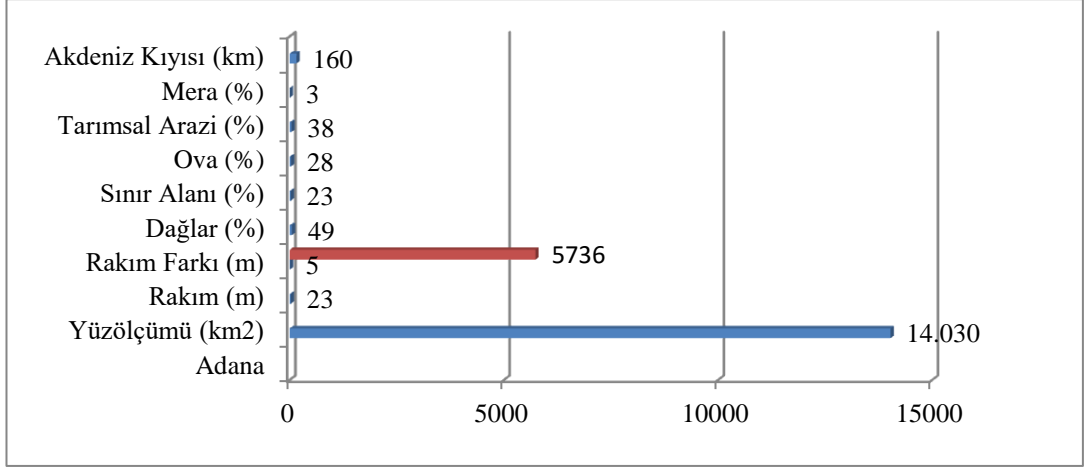
3.1.3 Adana İli Hakkında Genel Bilgiler

Ülkemizin güneyinde, Çukurova bölgesinde bulunan Adana ili, doğu kesiminde Osmaniye, Kahramanmaraş ve Gaziantep illeri, batısında İçel ili, kuzeybatısında Niğde, güneydoğusunda ise Hatay ile sınır komşuluğu yapan bir ildir. Güney kısmında bulunan ova Çukurova, kuzey kısmında bulunan ova ise Yukarıova (Anavarza) olarak tanımlanmaktadır. Orta Toros Dağlarının eteklerinden başlayıp Akdeniz'e kadar uzanan ve bilinen en geniş delta ovası olarak kabul edilen Adana ovası, 5 alt birime (Yüreğir, Misis, Ceyhan, Haruniye, ve Yumurtalık) ayrılmaktadır. Hektar bakımından en geniş olan ovalar Ceyhan (205.000) ve Yüreğir'dir (125,000). Rakım bakımından ise yükseltileri ise Ceyhan'da 20 ile 50 m, Yüreğir'de ise 0 ile 50 m arasında değişim göstermektedir. Adana ilinin nehirleri, barajları, baraj gölleri, kıyı, buzul ve karstik gölleri Çizelge 3.3'de verilmiştir. Akdeniz iklim özelliği taşıyan Adana ili, sıcak ve kurak geçen bir yaz mevsimi ve ılık ve yağışlı geçen tipik bir kış mevsimine sahiptir. Adana ilinin bitki örtüsü olarak tipik Akdeniz Bitki elementlerinden oluşmaktadır (Anonim28, 2016).

Adana ili ve ilçelerinin haritası Şekil 3.10'da, genel coğrafik durumu Şekil 3.11'de, dağ ve dağ dizeleri, en önemli nehirler, barajlar ve gölleri Çizelge 3.3'de, yükselti bakımından en yüksek tepeleri, dağlık alanları ve dorukları Şekil 3.12'de ve ilin meteorolojik verileri de Şekil 3.13'de verilmiştir.



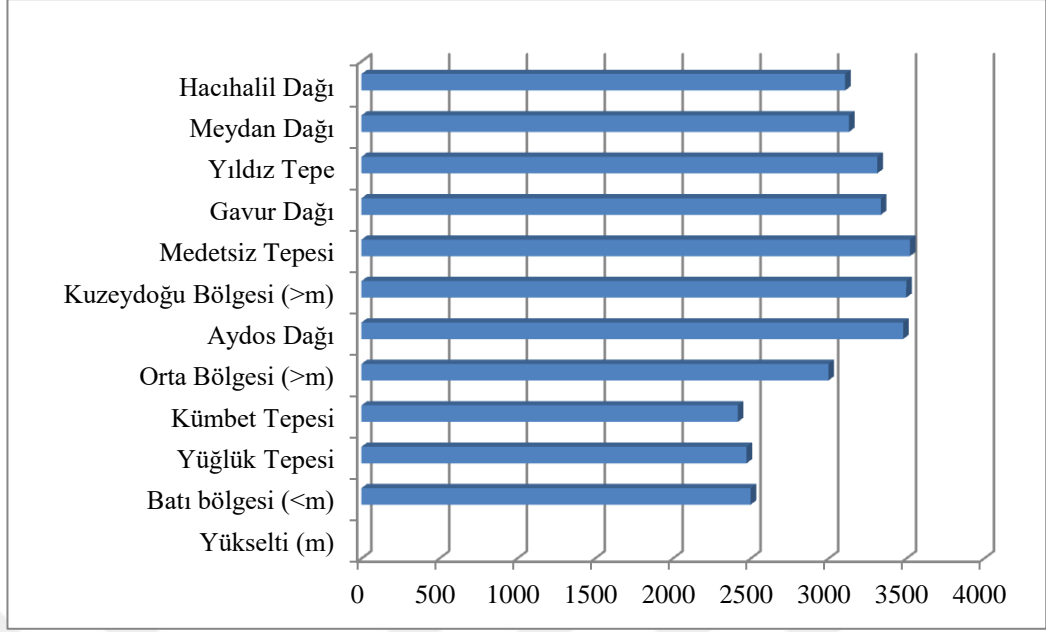
Şekil 3.10. Adana ili ve ilçeleri (Anonim28, 2016)



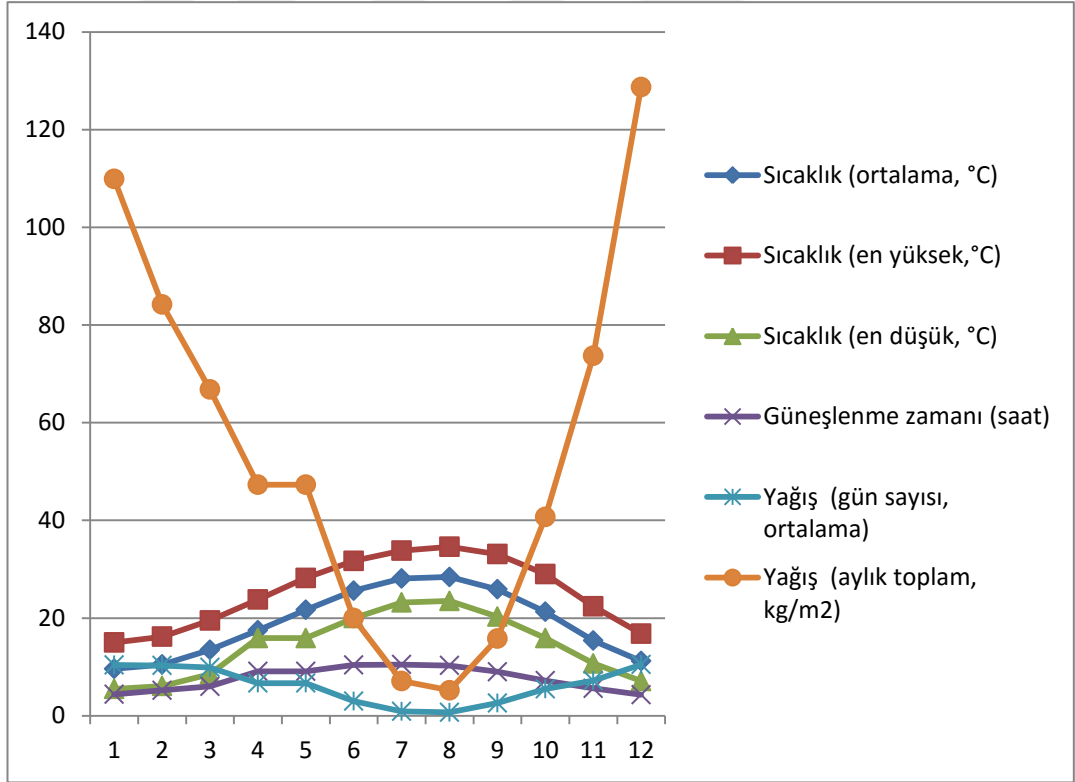
Şekil 3.11. Adana ilinin genel coğrafik özellikleri (Anonim28, 2016)

Çizelge 3.3. Adana’da bulunan dağ sistemleri ve dağ dizileri en önemli nehirler, barajlar ve gölleri (Anonim28, 2016)

Yön	Dağ Sistemleri	Yön	Çevreleyen Dağ Dizileri		
Kuzeybatı	Orta Toroslar (OT)	OT-Batı	Bolkar Dağları		
Kuzey		OT-Batı	Aladağlar		
Kuzeydoğu		OT-Batı	Tahtalı		
		OT-Kuzeydoğu	Binboğa Dağları		
Doğu	Amanos Dağları				
Nehirler	Barajlar	Baraj Gölleri	Kıyı Gölü	Buzul Göl	Karstik Dipsiz Göl
Seyhan (560 km)	Seyhan	Seyhan	Ağyatan	Yedigöller (Aladağlar)	Barak Köyü (Karaisalı)
Ceyhan (509 km)	Kozan	Kozan	Akyayan		
	Nergizlik	Nergizlik	Akyatan		
	Çatalan	Çatalan	Tuzla Gölü		



Şekil 3.12. Adana'nın yükselti bakımından en yüksek tepe, dağlık alanlar ve dorukları (Anonim28, 2016)



Şekil 3.13. Adana'nın aylara göre meteorolojik verileri (Anonim27, 2016)

3.2 Çizelge Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlara ait görüntüler Şekil 3.14’ de gösterilmiştir.



Şekil 3.14. Laboratuarda kullanılan cihazlara ait görüntüler

3.3 Polen Örneklerinin Toplanması

Çalışmada analiz edilen polen örnekleri, Osmaniye (n=5), Hatay (n=5) ve Adana (n=4) ilinde, bitkisel ürünler satışı yapan marketlerden satın alınmıştır.



Şekil 3.15. Çalışmada kullanılan bazı polen örneklerine ait görünümler

3.4 Polen Granüllerinin Renk Analizi

Polen örneklerinin renkleri görsel olarak yapıldığı gibi renk ölçer ile de yapılmıştır. Renk, numerik olarak, Amerikalı bir bilim adamı olan A. H. Munsell tarafından 1942’li yıllarında 3 ayrı kapsamda ele alınmıştır. Renk ölçer ile belirlenen, L, a ve b değerleri, incelenen materyale ait ana renk bileşenlerini teşkil etmektedir. Ancak bu 3 parametre tüketici açısından rengi algılamasını bütünüyle temsil edememektedir. Bu parametreler ile yapılan çeşitli değerlendirmeler (a/b, Hue açısı, ve Chroma değeri) tüketicinin rengi algılama biçimini daha belirgin bir şekilde ortaya koymaktadır (Mutlu ve Ergüneş, 2008, Polatçı, 2012, Trakyalı, 2013).

Adana ilinden toplanan 4 adet, Hatay ilinden toplanan 5 adet ve Osmaniye ilinden toplanan 5 adet polen örneğinin toplam renk analizleri yapılmıştır. Her bir polene ait örnekten hassas terazide 2 g tartılmış ve petri kutusuna aktarılmıştır. Minolta marka renk ölçer ile polen örneğinin rengi farklı noktalardan L, a, b ölçümleri yapılmıştır.

L, a, b değerleri esas alınarak polen örneklerinin Hue değeri ve Chroma değerleri Çizelge 3.4 'de verilen formüllere dayanarak hesaplanmıştır. Her bir örnekte bulunan polen granülleri farklı olduğu için 2 g polen örneğindeki tüm farklı renkteki granüllerin ayrımları yapılarak farklı petrilere transfer edilmiştir. Ayrımları yapılan her bir granülün sayımları yapıldıktan sonra renk ölçer ile renk verileri (L, a, b) tespit edilmiştir. Ayrılan örneklerin Hue değeri ve Chroma değerleri de hesaplanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Renk değerlendirilmesi ve kullanılan formüller
(Mutlu ve Ergüneş, 2008, Polatçı, 2012, Trakyalı, 2013)

Parametre	Sembolü	Renk Değerlendirilmesi	Formül
Hue	H*	Renk dairesi olarak tanımlanan Hue açısında 0 ile 360° arası değerler kırmızı-mor renkleri, 90° açı değeri sarı rengi, 180-270° açı değerleri ise mavimsi-yeşil renkleri kapsamaktadır.	$h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$
Chroma	C*	Yoğunluğu ya da doygunluğu Mat renklerde bu değer düşük değerler gösterirken canlı olan renklerde ise yüksek değerler göstermektedir.	$C^* = [(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$
Value	Lab	Parlaklık (açık veya koyu)	
	L: aydınlık ya da parlaklığı temsil eder ve koyu ile parlak değerler arasında değişim gösterir (0-100)	0:siyah (siyah renkte hiçbir yansımamın olmaması durumunda tespit edilen değer) 100:beyaz (yansımamın tam olduğu beyaz renkte tespit edilen değer) L değeri dikey yöndeki eksende değerlendirilmektedir.	
	a: kırmızılık yada yeşil değeri temsil etmekte	a ve b değeri yatay yöndeki eksende değerlendirilmektedir.	
		a+, a>0, kırmızı-mor yönü temsil etmekte a=0 renksiz yada griliği temsil etmekte	
		a-, a<0, mavi-yeşil yönü temsil etmekte	
	b: sarılık yada mavi değeri temsil etmekte	b+, b>0, sarı yönü temsil etmekte b=0 renksiz yada griliği temsil etmekte	
		b-, b<0, mor-mavi yönü temsil etmekte	

3.5 Kuru Madde ve Nem Tayini

Her bir polen örneğinden 10 g olacak şekilde petrilere tartılmıştır. Daha sonra petri kutuları 150°C'lik de etüve konulmuştur ve 1 saat bekletilmiştir. Etüvden alınan petri kutuları el değmeden maşa yardımıyla alınmış ve nem tutucuda birkaç dakika bekletilmiştir. Alınan örnekler tartım yapıldıktan sonra ve son ağırlık ile ilk tartılan arasındaki fark tespit edilerek nem ve kuru madde miktarları belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2010).

3.6 pH Analizi

Her bir polen örneği 10 gram olacak şekilde tartımları yapılmış ve stomacher poşetine aktarılmıştır. Her bir poşete 90 ml distile su ilave edildikten sonra 1 dakika süre ile çalkalanmıştır. Homojenize olan örneğin pH'sı, pH metre'de ölçülerek belirlenmiştir.

3.7 Toplam Klorofil a, b ve Karotenoid Tayini

Polen granüllerinde klorofil a ve b, karotenoid analizi Arnon (1949) ve Duxbury ve Yentsch'in (1956) önerdiği yöntemlere göre yapılmıştır. 100 mg polen örneği tartıldıktan sonra porselen bir havan içerisinde aktarılmıştır. Üzerine +4 °C'de soğutulmuş 2 ml % 80 Aseton çözeltisinden ilave edilmiş ve iyice ezilmiştir. Homojenat, dereceli santrifüj tüpüne aktarıldıktan sonra, toplam hacmi 10 ml oluncaya kadar %80'lik aseton ilave edilmiştir. Hazırlanan ekstratları içeren tüpler alüminyum folyo ile kapatıldıktan sonra +4 °C'de 48 saat boyunca bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra 4000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı spektrofotometre küvetine aktarılmış ve 480, 510, 645 ve 663 nm dalga boylarında köre (%80'lik aseton) karşı okuması yapılmıştır. Tespit edilen dalga boyları aşağıda verilen formüllere uygulanarak polen örneklerindeki klorofil a, b ve toplam karotenoid hesaplamaları yapılmıştır.

$$\text{Klorofil - a} = (11,75 \times A_{663} - 2,35 \times A_{645}) \times 0,1$$

$$\text{Klorofil - b} = (18,61 \times A_{645} - 3,96 \times A_{663}) \times 0,1$$

$$\begin{aligned} \text{Karoteneoid} = & [(1000 \times A_{480}) - (2,27 \times \text{Klorofil - a}) \\ & - (81,4 \times \text{Klorofil - b})]/227 \end{aligned}$$

3.8 Polen Örneklerinin Etanol Ekstraktlarının Hazırlanması

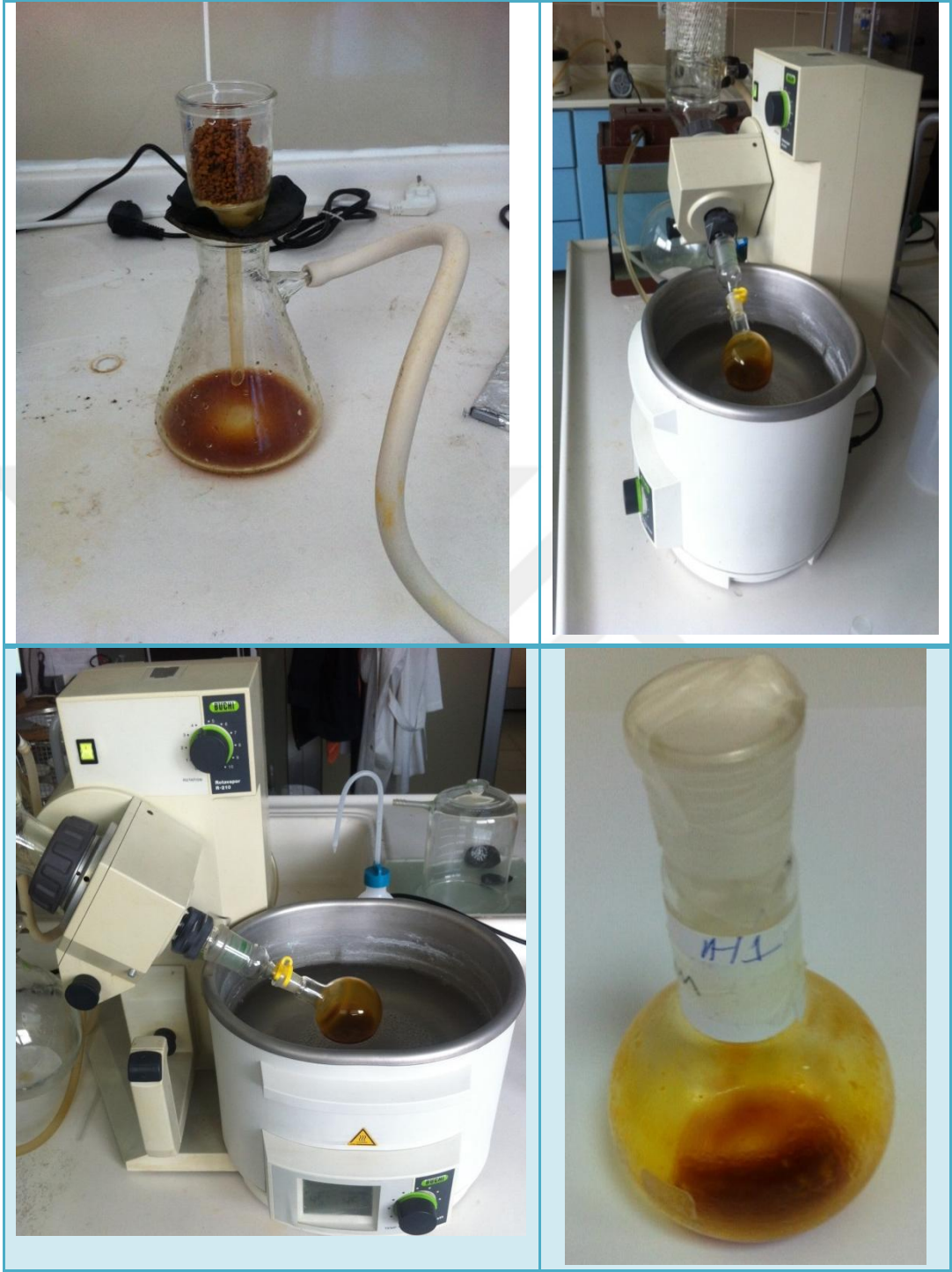
20 g polen tartıldıktan sonra 250 ml'lik vida kapaklı bir şişeye aktarılmıştır. Daha sonra üzerine 60 ml saf etanol ilave edilmiştir. Hazırlanan polen + etanol karışımı, su banyosunda 65 °C'de 3 gün boyunca inkübe edilmiştir. Hazırlanan ekstrakt filtre ile süzöldükten sonra, geride kalan etanol ağırlığı belirlenmiş bir balon jöjeye konulmuştur. Daha sonra, içerisinde etanol bulunan bu balon, döner buharlaştırıcıda 40 °C'de yaklaşık 30-35 dakika boyunca tutulmuş ve etanolün tamamen uzaklaştırıldığı emin olduktan sonra balonun ağırlığı tekrar tartılmıştır. Yapılmış olan işlemlere ait görüntüler Şekil 3.16'da gösterilmiştir.

Etanol uçurulduktan sonra geride kalan madde + balon'nunun ağırlığından, deneye başlamadan önce ağırlığı belirlenen boş balonun ağırlığı çıkarılmıştır. Ve elde edilen ekstrakt miktarı belirlenmiştir. Elde edilen etanol ekstraktının % verimi ise aşağıda verilen formüle göre belirlenmiştir.

$$\% \text{ verim} = \text{elde edilen ekstrakt (g)} \times 100/20$$

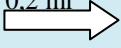

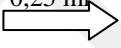



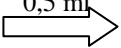



3.9 Polen Etanol Ekstraktlarının Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarları ve Antioksidan Testleri

Etanol ekstratlarının toplam fenolik, flavanoid yöntemlerinin yapılışı Çizelge 3.5 ve 3.6'da verilmiştir. DPPH giderici aktivite, indirgeme gücü, % NO ve H₂O₂ süpürme test yöntemleri ise Çizelge 3.7, 3.8, 3.9 ve 3.10'de verilmiştir. Antioksidan test yöntemlerinde standart olarak Butilated Hidroksi Toluen (BHT) kullanılmıştır.










Şekil 3.16. Polenlerin etanol ekstraktlarının hazırlanması esnasında yapılan işlemler







Çizelge 3.5. Toplam fenol tayini (Meda, vd., 2005)

0,5 mg polen etanol ekstraktı tartılmış ve toplam hacmi 1 ml oluncaya kadar metanol (CH ₃ OH) ilave edilmiştir.	0,2 ml		
0.2 N'lik Folin-Cicoleau reaktifi (F9252 Sigma Aldrich)	0,25 ml		
Distile Su	2,05 ml		
Yukarıda belirtilen hacimler sırasıyla cam bir tüpe ilave edildikten sonra vorteks edilmiş ve daha sonra oda koşullarında 3 dakika süre ile bekletilmiştir.			
Bu süre sonunda tüpe sırasıyla aşağıdaki maddeler ilave edilmiştir.			
Susuz sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃) (75 g/lt) çözeltisi	0,5 ml		
Distile su	2,5 ml		
Tüpler aliminyum folyo ile kapatıldıktan sonra, oda koşullarında 2 saat inkübe edilmiştir.			
Örneğin absorbansı, köre karşı (saf su) 725 nm dalga boyunda okutulmuştur. Gallik asit çözeltisinin kalibrasyon eğrisi hazırlandıktan sonra elde edilen grafik denklemleri ile polenlerde bulunan toplam fenol miktarları mg gallik asit/100 ml eşdeğeri olarak belirlenmiştir.			
Toplam fenol miktarı aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır. Toplam Fenol (mg/100ml)=Örneğin absorbansı+0,00960/0,0063			

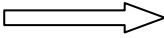



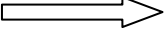




Çizelge 3.6. Toplam flavonoid analizi (Chen, vd., 2015)

5 mg polen etanol ekstraktı tartılır ve üzerine 1 ml oluncaya kadar Metanol (CH ₃ OH) ilave edilmiştir.	0,3 ml →		
% 60 Metanol (60:40, metanol:su)	4,7 ml →		
% 5 Sodyum Nitrit (NaNO ₂)	0,3 ml →		
			Oda koşullarında 6 dakika süreyle bekletilmiştir. 
%10 AlCl ₃	0,3 ml →		
			Oda koşullarında 10 dakika bekletilmiştir. 
1 M NaOH	4ml →		
			510 nm'de köre karşı okunmuştur. sonuçlar mg rutin/100g olarak hesaplanmıştır.
Kör	→		Metanol (60:Su:40)

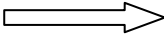



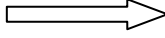



Çizelge 3.7. DPPH yöntemi (Williams, vd., 1995)

Bir cam tüp içerisine test maddesi ve DPPH solüsyonu aşağıdaki hacimlerde ilave edilmiştir.			
Aşama 1.	1,25mg/ml polen etanol ekstraktı 0,3 ml ↓ 	2,5mg/ml polen etanol ekstraktı 0,3 ml ↓ 	5mg/ml polen etanol ekstraktı 0,3 ml ↓ 
Aşama 2.	DPPH Çözeltisi 2,7 ml (0,012 g DPPH+500 ml metanol) ↓ 	DPPH Çözeltisi 2,7 ml ↓ 	DPPH Çözeltisi 2,7 ml ↓ 
Aşama 3.	Tüpler daha sonra vorteks edilmiştir.	Tüpler daha sonra vorteks edilmiştir.	Tüpler daha sonra vorteks edilmiştir.
Aşama 4.	Vortek edilen tüpler, alimünyum folyo ile kapatılmıştır.	Vortek edilen tüpler, alimünyum folyo ile kapatılmıştır.	Vortek edilen tüpler, alimünyum folyo ile kapatılmıştır.
Aşama 5.	Oda koşullarında, karanlıkta 1 saat bekletilmiştir.	Oda koşullarında, karanlıkta 1 saat bekletilmiştir.	Oda koşullarında, karanlıkta 1 saat bekletilmiştir.
Aşama 6.	Spektrofotometre küvetine sadece metanol (kör) konulup absorbansı ölçümü yapılmış ve küvet spektrofotometreden çıkartılmıştır. Daha sonra spektrofotometre sıfırlanmıştır. Sıfırlama işleminden sonra kontrolün (DPPH solüsyonu, 1 ml) absorbansı ve test maddesinin absorbans değerleri (köre karşı= Metanol (60:Su:40)) 517 nm'de ölçülmüştür.	Spektrofotometre küvetine sadece metanol (kör) konulup absorbansı ölçümü yapılmış ve küvet spektrofotometreden çıkartılmıştır. Daha sonra spektrofotometre sıfırlanmıştır. Sıfırlama işleminden sonra kontrolün (DPPH solüsyonu, 1 ml) absorbansı ve test maddesinin absorbans değerleri (köre karşı= Metanol (60:Su:40)) 517 nm'de ölçülmüştür.	Spektrofotometre küvetine sadece metanol (kör) konulup absorbansı ölçümü yapılmış ve küvet spektrofotometreden çıkartılmıştır. Daha sonra spektrofotometre sıfırlanmıştır. Sıfırlama işleminden sonra kontrolün (DPPH solüsyonu, 1 ml) absorbansı ve test maddesinin absorbans değerleri (köre karşı= Metanol (60:Su:40)) 517 nm'de ölçülmüştür. İnhibisyon = $\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$






Çizelge 3.8. İndirgeyici güç yöntemi (Oyaizu, 1986).

Polen Ekstraktı (1,25 mg/ml)	0,25 ml 	
0,2mol/l Fosfat Tamponu(pH:6,6) 10,88 g NaH ₂ PO ₄ ve 3,48 g NaHPO ₄ tartıldıktan sonra vida kapaklı dereceli bir şişeye aktarılmıştır. Şişe içerisine 450 ml distile su ilave edildikten sonra, manyetik bir karıştırıcı üzerinde çözülünceye kadar karıştırılmış ve çözeltinin pH'sı 1 M NaOH ile 6,6'ya ayarlanmıştır. Daha sonra toplam hacim 500 ml oluncaya kadar distile su konulmuştur.	2,5 ml 	
%1'lik Potasyum Ferrisiyanid (K ₃ Fe(CN) ₆) Çözeltisi 1g Potasyum ferrisiyanid tartıldıktan sonra bir şişeye aktarılmış ve içerisine 50 ml distile su ilave edilmiştir. Manyetik bir karıştırıcı üzerinde çözülünceye kadar karıştırıldıktan sonra, toplam hacim 100 ml oluncaya kadar distile su ile ilave edilmiştir.	2,5 ml 	
Su banyosunda (50 °C) 20 dakika bekletilmiştir.		
%10'luk Triklorasetik Asit (TCA) Çözeltisi 10g Triklorasetik asit tartımı yapıldıktan sonra vida kapaklı bir şişeye aktarılmıştır. Daha sonra şişeye, 50 ml distile su edilmiştir. Hazırlanan çözelti, manyetik bir karıştırıcı üzerinde çözülünceye kadar karıştırıldıktan sonra, toplam hacim 100 ml oluncaya kadar distile su ile ilave edilmiştir.	2,5 ml	
+ 4 °C'de 4500 rpm'de 13 dakika santrifüj edilmiştir		
Üst fazdan alınıp ayrı bir tüpe aktarıldıktan sonra 2,5ml distile su ilave edilmiştir.		
%0,1'lik Demir Klorür (FeCl ₃) Çözeltisi 0,1 g demir klorür tartımı yapıldıktan sonra dereceli vida kapaklı bir şişeye aktarılmış ve şişeye 50 ml distile su ilave edilmiştir. Manyetik bir karıştırıcı üzerinde çözülünceye kadar karıştırıldıktan sonra, toplam hacim 100 ml oluncaya kadar distile su ile ilave edilmiştir.	0,5 ml 	
İyice vortekslelendikten sonra karanlıkta 10 dakika bekletilmiştir. 700 nm'de metanole karşı okutma işlemi yapılmıştır.		

Çizelge 3.9. Hidrojen peroksit yöntemi (Ruch, vd., 1989)

Polen ekstraktı (1,25 mg/ml)	1 ml 	
2,4 mol/l Fosfat Tamponu (pH: 7,4) 10,88 g NaH ₂ PO ₄ ve 3,48 g NaHPO ₄ tartıldıktan sonra vida kapaklı dereceli bir şişeye aktarılmıştır. Şişe içerisine 450 ml distile su ilave edildikten sonra, manyetik bir karıştırıcı üzerinde çözülünceye kadar karıştırılmış ve çözeltinin pH'sı 1 M NaOH ile 7,4'e ayarlanmıştır. Daha sonra toplam hacim 500 ml oluncaya kadar distile su konulmuştur.	2,4 ml 	
40 mmol Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂): %30 H ₂ O ₂ 'den 0,409 ml H ₂ O ₂ alınıp vida kapaklı cam şişeye aktarılmıştır. Şişe içerisine toplam hacim 100 ml oluncaya kadar Fosfat Tamponu ilave edilmiştir.	0,6 ml 	
		İyice vortekslendikten sonra karanlık ortamda oda koşullarında 30 dakika bekletilmiştir.
		Test solüsyonunun absorbans değeri 230 nm'de köre karşı okuma işlemi yapılmıştır.
Kör: 1 ml Polen ekstraktı ve 3 ml Fosfat tamponu		

Çizelge 3.10. Nitrit oksit yöntemi (Cigremis, vd., 2010)

<p>0,1M Fosfat Tamponu (PBS) (pH:7,4)</p> <p>18,93 g NaCl, 3,075 g Na₂HPO₄.2H₂O ve 2,075 g NaH₂PO₄.2H₂O tartılıp vida kapaklı şişeye aktarılmıştır. Şişe içerisine 200 ml distile su ilave edildikten sonra, manyetik bir karıştırıcı üzerinde çözülünceye kadar karıştırılmış ve çözeltinin pH'sı 1 M NaOH ile 7,4'e ayarlanmıştır. Daha sonra toplam hacim 250 ml oluncaya kadar distile su konulmuştur.</p>		
<p>10 mM Sodyum Nitroprusside</p> <p>297,95 mg sodyum nitroprusside tartılıp vida kapaklı şişeye aktarılmış ve 0,1 M hazırlanmış olan Fosfat tamponu ile hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır.</p>		
<p>Greiss Reaktifinin Hazırlanması</p> <p>%5'lik Fosforik asit (H₃PO₄): 5 ml Fosforik asit vida kapaklı tüpe aktarılmış ve üzerine 95 ml distile su ilave ederek 100 ml'ye tamamlanmıştır.</p> <p>Greiss reaktifi (a) %1 lik p-aminobenzen sülfanilamid: vida kapaklı tüpe 1 g p-aminobenzen sülfanilamid tartılmış ve üzerine 100 ml %5'lik fosforik asit ilave edilmiştir.</p> <p>Greiss reaktifi (b) % 0,1 lik alfa-naphtlethylenediamin (HCl): 100 mg Alfa-naphtlethylenediamin tartılıp vida kapaklı tüpe aktarılmış ve üzerine 100 ml distile su ilave edilmiştir. Hazırlanan reaktifler karanlıkta muhafaza edilmiştir. Griess reaktifi a ve b kullanılmadan önce 1:1 oranında karıştırılmıştır.</p>		
<p>0,5 ml polen ekstraktı tüpe aktarılmıştır.</p>	<p>0,5 ml örnek</p> 	
<p>.Üzerine 0,5 ml 0,1M fosfat tamponu ve 2 ml Sodyum nitroprusside eklenmiş ve iyice vortekslenildikten sonra oda koşullarında karanlık ortamda 2,5 saat bekletilmiştir.</p>		
	<p>1,25 ml griess reaktif karışımı ilave edilmiştir.</p> 	
<p>KÖR= 0,5 ml polen ekstraktı ve 2,5 ml fosfat tamponu</p>	<p>Vortekslenir. 30dk oda koşullarında karanlıkta bekletilmiştir. Örneklerin absorbans değerleri köre karşı 548nm de okunmuştur.</p>	

3.10 Mikrobiyolojik Analizler

Polen örnekleri mikrobiyal yük ve bazı patojen varlıkları yönünden test edilmiştir. Çalışmalar boyunca kullanılan besiyerleri ve katkı maddelerine ait bazı görüntüler Şekil 3.17’de verilmiştir.



Şekil 3.17. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerlerine ait görüntüler

3.10.1 Besiyerleri ve Hazırlanışları

Çalışmada kullanılan Maximum Recovery Diluent, Plate Count Agar ve Potato Dextrose Agar besiyerlerine ait bilgiler Çizelge 3.11’de, çalışmada kullanılan diğer farklı tipteki besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları da Çizelge 3.12-3.18’te verilmiştir. Hazırlanan besiyerlerinin petri kutusuna aktarıldıktan sonraki görünümleri de Şekil 3.19’da gösterilmiştir.



Çizelge 3.11. Maximum Recovery Diluent, Plate Count Agar ve Potato Dextrose Agar besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları

Maximum Recovery Diluent	
Markası: Merck	Kodu: 1,12535,0500
Bileşenleri	g/l
Pepton	1,0
Sodyum klorür	8,5
pH:7,0	
<p>Hazırlanışı: Firmanın önerdiği miktar (9,5 g) tartıldıktan sonra üzerine 1 l distile su ilave edilmiştir. Kaynayan suda çözülünceye kadar tutulmuştur. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılacak ilk örneğin seyreltmesi için 90 ml hacımlar da vida kapaklı şişelere aktarılmıştır. Seyreltme sıvısı olarak, cam pipetle 9 ml alınarak, vida kapaklı tüplere aktarılmıştır. Aktarımdan sonra tüm tüplerin kapakları kapatılarak beherlere yerleştirilmiştir. Hazırlanan tüm seyreltme sıvıları, otoklavda 121 °C’de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir.</p>	
Plate Count Agar	
Markası: Merck	Kodu: 1,05463,0500
Bileşenleri	g/l
Pepton (kazein)	5,0
Maya özütü	2,5
D(+)-Glukoz	1,0
Agar-Agar	14,0
pH:7,0	
<p>Hazırlanışı: Besiyeri (22,5 g) tartıldıktan sonra üzerine 1 l distile su ilave edilmiştir. Kaynayan suda çözülünceye kadar tutulduktan sonra 121 °C’de 15 dk süreyle otoklavda sterilize edilmiştir. Besiyeri sıcaklığı, 50 °C’ye ulaşınca kadar su banyosunda tutulmuş ve analizlerde, besiyerinde mantar/maya gelişimini engellemek amacıyla filtre ile sterilize edilmiş 100 mg/l sikloheksimid ilave edilmiştir (Saftner, vd. 2006). Besiyeri antifungal maddenin ilave edilmesinden sonra iyice karıştırılarak petri kutularına aktarımları yapılmıştır.</p>	
Potato Dextrose Agar	
Markası: Merck	Kodu: 1,10130,0500
Bileşenleri	g/l
Patates infüzyonu (200 g patates)	4,0
D(+)-Glukoz	20,0
Agar-Agar	15,0
pH: 5,6	
<p>Hazırlanışı: Besiyeri (39 g) tartıldıktan sonra üzerine 1 l distile su ilave edilmiştir. Kaynayan suda çözülünceye kadar tutulduktan sonra 121 °C’de 15 dk süreyle otoklavda sterilize edilmiştir. Besiyeri sıcaklığı 50 °C’ye ulaşınca kadar su banyosunda tutulmuştur. Besiyerinde, bakteri gelişimini engellemek amacıyla 50 mg/l kloramfenikol ilave edilmiştir (Saftner, vd. 2006). Antibiyotik ilave edildikten sonra besiyeri iyice karıştırılmış ve petri kutularına aktarımları yapılmıştır.</p>	

Çizelge 3.12. Baird Parker Besiyeri, Violet Red Bile (Glukoz) Agar besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları

Baird Parker Besiyeri	
Markası: Merck	Kodu: 1,05406
Bileşenleri	g/l
Pepton (kazein)	10,0
Et ekstraktı	5,0
Maya özütü	1,0
Sodyum piruvat	10,0
Glisin	12,0
Lityum klorür	5,0
Agar-Agar	15,0
pH: 6,8	
<p>Hazırlanışı: Besiyeri (58 g) tartılmış ve vida kapaklı otoklav şişesine aktarılmıştır. Üzerine 950 ml oluncaya kadar distile su ilave edildikten sonra, kaynayan suda çözülünceye kadar tutulmuş ve otoklavda 121°C'de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir. Besiyeri sıcaklığı 45 °C'ye ulaşınca kadar, sıcaklığı 45 °C'ye ayarlanmış su banyosunda tutulmuştur. Besiyeri içerisine 50 ml Egg yolk tellurite emulsion (Merk 1.03785.0001) ilave edilip iyice karıştırıldıktan sonra, petri kutularına aktarımları yapılmıştır.</p>	
Violet Red Bile (Glucose) Agar	
Markası: Mast Diagnostics	Kodu: DM, 493, D
Bileşenleri	g/l
Pepton	7,0
Maya özütü	3,0
Glukoz	10,0
Sodyum klorür	5,0
Safra tuzu	1,2
Nötral kırmızısı	0,03
Kristal viyole	0,002
Agar	12,0
pH:7,4	
<p>Hazırlanışı: Besiyeri (38 g) tartıldıktan sonra, üzerine 1 l distile su ilave edilmiştir. Besiyeri kaynayan suda yaklaşık olarak 45-50 dk kadar tutulmuştur. Besiyerinin homojen olmasını sağlamak için 5 dk süreyle ara ara çalkalanmıştır. Besiyeri berrak bir hale gelince, petri kutularına aktarımları yapılmıştır.</p>	

Çizelge 3.13. MRS Agar ve Kanamycin Esculine Azide Agar besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları

MRS Agar	
Markası: Merck	Kodu: 1,10660,0500
Bileşenleri	g/l
Pepton (kazein)	10,0
Et ekstraktı	10,0
Maya özütü	4,0
D (+)-Glukoz	20,0
di-Potasyum hidrojen fosfat	2,0
Tween 80	1,0
di-Amonyum hidrojen sitrat	2,0
Sodyum asetat	5,0
Magnezyum sülfat	0,2
Manganez sülfat	0,04
Agar Agar	14,0
pH: 5,7	
Hazırlanışı: Besiyeri (68,2) tartıldıktan sonra üzerine 1 l distile su ilave edilmiştir. Kaynayan suda çözülünceye kadar tutulduktan sonra otoklavda 121°C de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası besiyeri sıcaklığı 50 °C'ye ayarlanmış su banyosunda tutulmuştur. Besiyerine, analizler esnasında gelişebilecek maya ve küf gelişimini engellemek amacıyla filtre ile sterilize edilmiş sorbik asit (S1626-100 g SIGMA) 1,4 g/l olacak şekilde ilave edilmiştir (Ragaert, vd., 2006).	
Kanamycin Esculine Azide Agar	
Markası: Merck	Kodu: 1,0522,0500
Bileşenleri	g/l
Pepton (kazein)	20,0
Maya özütü	5,0
Sodyum klorür	5,0
Sodyum sitrat	1,0
Sodyum azid	0,15
Kanamisin sülfat	0,02
Eskulin	1,0
Amonyum demir (III) sitrat	0,5
Agar Agar	15,0
pH: 7,1	
Hazırlanışı: Besiyeri (47,5 g) tartıldıktan sonra üzerine 1 l distile su ilave edilmiş ve kaynayan suda çözülünceye kadar tutulmuştur. Berrak hale gelen besiyeri, otoklavda 121°C'de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası, besiyeri sıcaklığı 50 °C'ye ayarlanmış su banyosunda tutulmuştur. Daha sonra petri kutularına aktarımı yapılmıştır.	

Çizelge 3.14. Bacillus cereus Agar Base ve Pseudomonas Agar Base besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışı

Bacillus Cereus Agar Base	
Markası: Oxoid	Kodu: CM, 0617
Bileşenleri	g/l
Pepton	1,0
Mannitol	10,0
Sodyum klorür	2,0
Magnezyum sülfat	0,1
Di-sodyum hidrojenfosfat	2,5
Potasyum dihidrojenfosfat	0,25
Sodyum piruvat	10,0
Bromtimol mavisi	0,12
Agar	15,0
pH:7,2	
Hazırlanışı: Besiyeri (20,5) tartıldıktan sonra üzerine 475 ml distile su ilave edilmiştir. Kaynayan suda çözününceye kadar tutulan besiyeri, otoklavda 121°C de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir. 50°C ye gelince bir şişe Oxoid Bacillus Cereus Selective Supplement (SR0099E) ve 25 ml sterile Egg Yolk Emulson (SR47) ilave edildikten sonra iyice karıştırılıp, petri kutularına aktarılmıştır.	
Pseudomonas Agar Base	
Markası: Oxoid	Kodu: CM, 0559
Bileşenleri	g/l
Jelatin peptonu	16,0
Kazein hidrolizati	10,0
Potasyum sülfat	10,0
Magnezyum klorür	1,4
Agar	11,0
pH: 7,1	
Hazırlanışı: Besiyeri (24,2 g) tartılmış ve üzerine 500 ml distile su ve 5 ml gliserol ilave edilmiş ve besiyeri çözününceye kadar kaynar suda tutulmuştur. Homojen hale geldikten sonra, 121°C de 15 dk süre ile sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası, besiyeri sıcaklığı 50 °C ye gelince 1 şişe Pseudomonas C-N supplement (Oxoid) ilave edilip, iyice karıştırılması yapılmış ve petri kutularına aktarımları yapılmıştır.	

Çizelge 3.15. Tamponlanmış peptonlu su, Salmonella Enrichment Broth ve Salmonella-Shigella Agar besiyerlerinin hazırlanışı

Tamponlanmış pepton su		g/l	Tüm kimyasallar tartılır ve üzerine 1 l distile su ilave edilmiş ve 121 °C'de 15 dk süre ile sterilize edilmiştir.
Pepton		10	
Sodyum klorür		5	
Disodyum fosfat		3,5	
Potasyum dihidrojen fosfat		1,5	
pH:7,2			
Salmonella Zenginleştirme Besiyeri (Rappaport ve Vassiliadis'e göre)			
Markası: Merck		Kodu: 1,07700,0500	
Bileşenleri		g/l	
Peptone (soya unundan)		4,5	
Magnezyum klorür heksahidrat		28,6	
Sodyum klorür		7,2	
di- potasyum hidrojen fosfat		0,18	
potassium di hidrojen fosfat		1,26	
Malaşit yeşili okzalit		0,036	
pH:5,2			
Hazırlanışı: Besiyeri (41,8 g) tartıldıktan sonra üzerine 1 l distile su ilave edilmiştir. Kaynayan suda çözününceye kadar tutulduktan sonra otoklavda 115°C de 15 dk süre ile sterilize edilmiştir.			
Salmonella-Shigella Agar			
Markası: Oxoid		Kodu: CM,99	
Bileşenleri		g/l	
Lab-Lemco özütü		5,0	
Pepton		5,0	
Laktoz		10,0	
Safra tuzu		8,5	
Sodyum sitrat		10,0	
Sodyum tiyosülfat		8,5	
Demir sitrat		1,0	
Brilliant yeşili		0,00033	
Nötral kırmızısı		0,025	
Agar		15,0	
pH:7,0			
Hazırlanışı: Besiyeri (63 g) tartıldıktan sonra üzerine 1 l distile su ilave edilmiştir. Besiyeri daha sonra, kaynayan suda iyice çözününceye kadar tutulmuştur. 45-50 dakika sonra petri kutularına aktarılmıştır.			

Çizelge 3.16. Aeromonas Medium Base besiyerinin bileşenleri ve hazırlanışı

Aeromonas Medium Base (RYAN)	
Markası: Oxoid	Kodu: CM,0833
Bileşenleri	g/l
Proteoz pepton	5,0
Maya özütü	3,0
L- Lizin monohidroklorür	3,5
L-Arjinin monohidroklorür	2,0
İnositol	2,5
Laktoz	1,5
Sorbitol	3,0
Ksiloz	3,75
Safra tuzu No:3	3,0
Sodyum tiyosülfat	10,67
Sodyum klorür	5,0
Demir amonyum sitrat	0,8
Bromtimol mavisi	0,04
Timol mavisi	0,04
Agar	12,5
pH: 8,0	
<p>Hazırlanışı: Besiyeri (29,5 g) tartıldıktan sonra üzerine 500 ml distile su ilave edilmiştir. Besiyeri, kaynayan suda çözülmeye kadar 45-50 dakika süreyle tutulmuştur. Daha sonra besiyeri içerisine Amfisilin Selective Supplementi (Oxoid Code SR0136) aseptik olarak ilave edilmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra petri kutularına aktarımları yapılmıştır.</p>	

Çizelge 3.17. Listeria selective agar base ve Chromocult Coliform Agar besiyerlerinin bileşenleri ve hazırlanışları

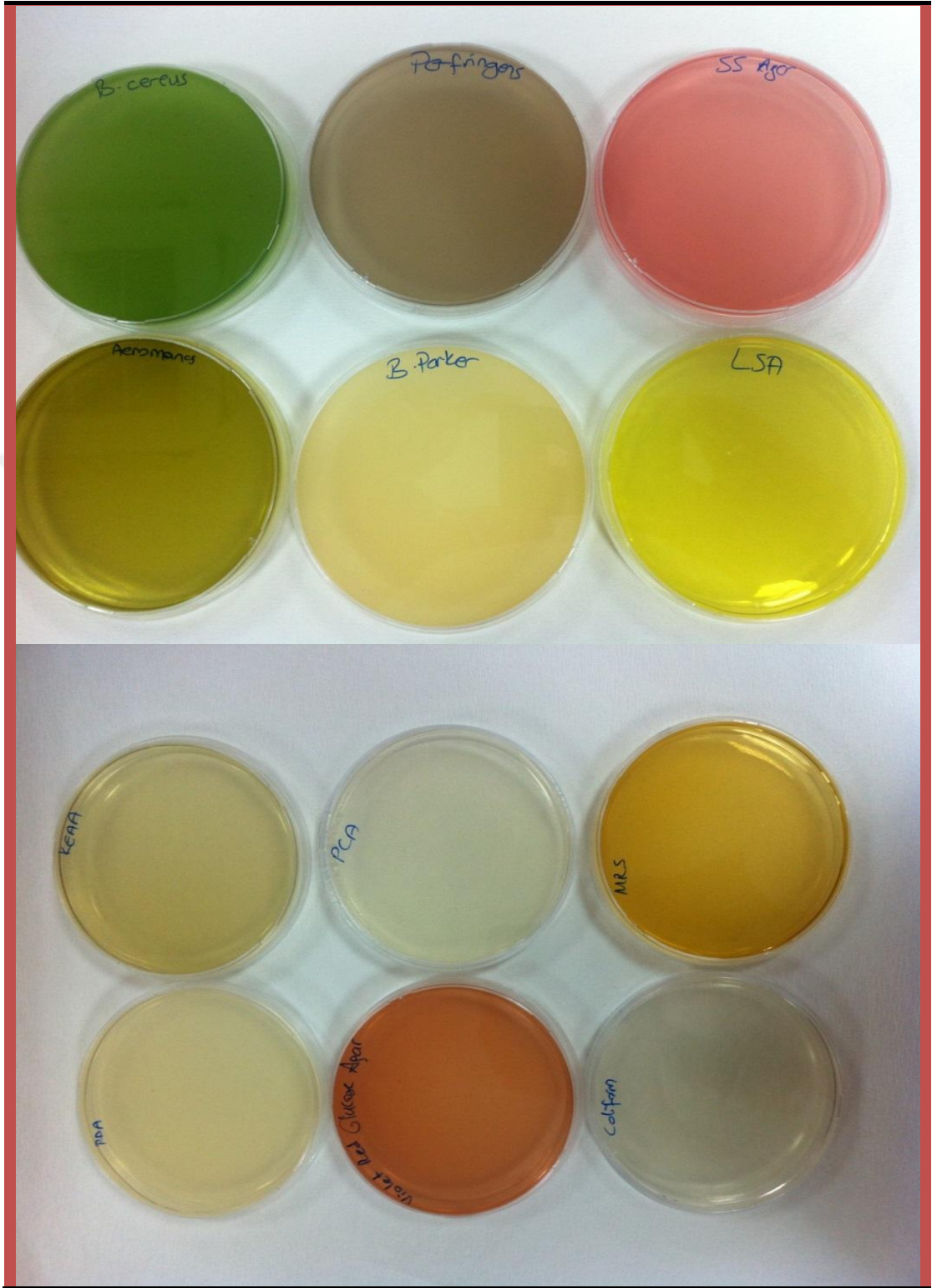
Listeria selective agar base	
Markası: Oxoid	Kodu: CM,0856
Bileşenleri	g/l
Columbia kanlı agar	39,0
Eskulin	1,0
Demir amonyum sitrat	0,5
Lityum klorür	15,0
pH: 7,0	
Hazırlanışı: Besiyeri (27,75 g) tartılmış ve üzerine 500 ml distile su ilave edilmiştir. Sıcak suda çözününceye kadar tutulmuş ve daha sonra otoklavda 121°C de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir. Besiyeri sıcaklığı 50°C ye ulaşınca içerisine Listeria Selective Supplementi (Oxford Formulation-SR140 ilave edilmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra petri kutularına aktarımları yapılmıştır.	
Chromocult Coliform Agar	
Markası: Merck	Kodu: 1,10426,0500
Bileşenleri	g/l
Kazein (enzimatik)	1,0
Maya özütü	2,0
Sodyum klorür	5,0
Sodium dihidrojenfosfat	2,2
di-sodyum hidrojenfosfat	2,7
Triptofan	1,0
Sodyum piruvat	1,0
Tergitol-7	0,15
Sorbitol	1,0
Kromojenik karışım	0,4 g
Agar Agar	10,0
pH: 6,8	
Hazırlanışı: Besiyeri (26,5 g) tartılmış ve üzerine 1 l distile su ilave edildikten sonra kaynayan suda 45-50 dk. boyunca tutulmuş ve daha sonra petri kutularına aktarımları yapılmıştır.	

Çizelge 3.18. Perfringens Agar Base besiyerinin bileşenleri ve hazırlanışı

Perfringens Agar Base (TSC & SFP)	
Markası: Oxoid	Kodu: CM,0587
Bileşenleri	g/l
Triptoz	15,0
Soya peptonu	5,0
özütüMaya	5,0
Sodyum metabisülfid	1,0
Demir amonyum sitrat	1,0
Agar	19,0
pH: 7,6	
Hazırlanışı: Besiyeri (23 g) tartıldıktan sonra üzerine 500 ml distile su ilave edilmiş ve daha sonra kaynayan suda iyice çözününceye kadar tutulmuştur. Besiyeri, otoklavda 121°C de 10 dk süre ile steril edilmiştir. Besiyerinin sıcaklığı 50°C ye ulaştınca 25 ml Oxoid Egg Yolk Emulsion ve 1 şişe Oxoid TSC Supplement (SR0088) ilave edilmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra petri kutularına aktarımları yapılmıştır.	



Şekil 3.18. Perfringens Agar Base besiyerinin hazırlanmasında kullanılan kitler, katkı materyalleri ve anaerobik jar'a ait görüntüler



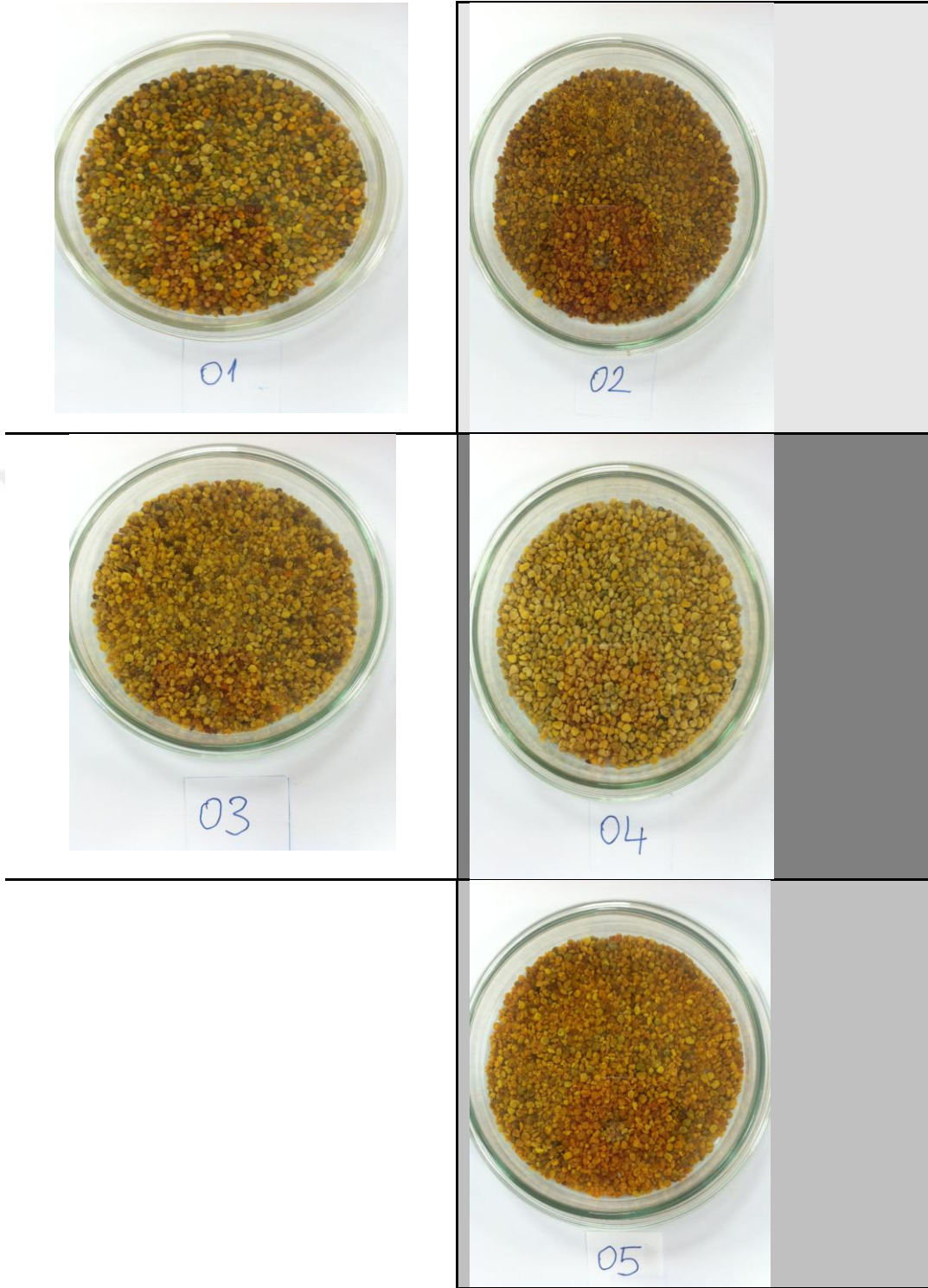
Şekil 3.19. Hazırlanan besiyerlerinin steril polipropilen petri kutularına aktarıldıktan sonraki görüntüsü

3.10.2 Polenlerin Mikrobiyolojik Analizleri

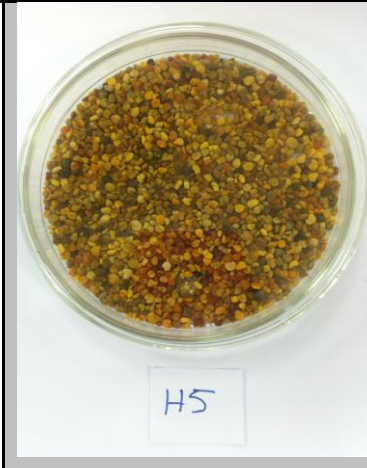
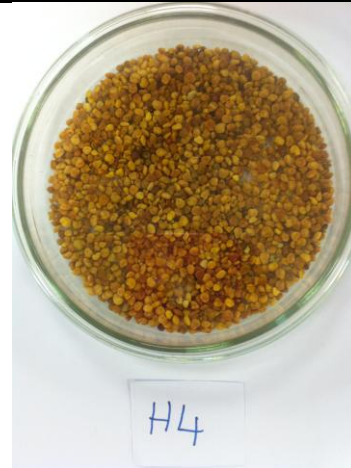
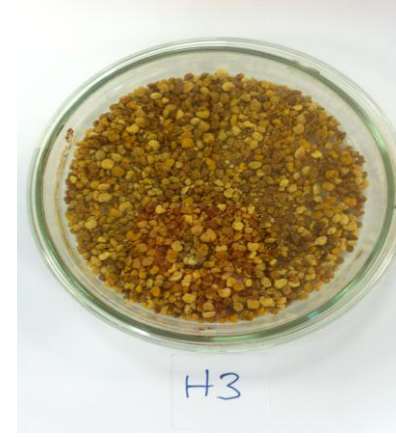
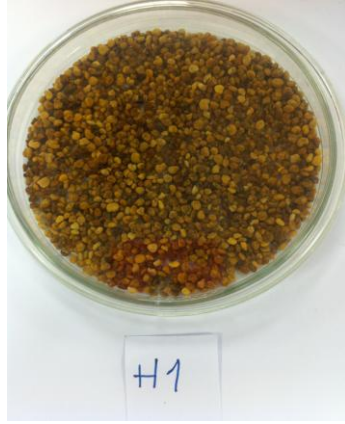
Her bir polen örneği, aseptik koşullarda 10 g olacak şekilde tartımları yapılmıştır (şekil 3.20-3.22). Petri kutularında tartımları yapılmış polen örnekleri, steril stomacher poşetlerine aktarılmıştır. Her bir poşete 90 ml Maximum Recovery Diluent seyreltme sıvısı konulmuştur. Stomacher'da 1 dakika süre ile şalkalanmıştır. Homojenize olan örnekten 1 ml alınıp 2.nci tüpe (9 ml seyreltme sıvısı olan) aktarılmıştır. Ve bu şekilde örneklere 10^6 düzeyine kadar seyreltmeleri yapılmıştır (şekil 3.23).

Seyreltmeden sonra her bir tüpten 0,1 ml alınıp test parametresi ile ilgili petrilere aktarılmış ve drigalski saptülü ile yayılmış ve inkübe edilmiştir. Kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları Çizelge 3.19'da verilmiştir. *Salmonella* sp.'in ön ve selektif zenginleştirme işlemi ve katı besiyerlerine aktarımları ise diğer yöntemlerden farklı olarak uygulanmış ve bu yöntemin yapılması ise şekil 3.24'de verilmiştir.

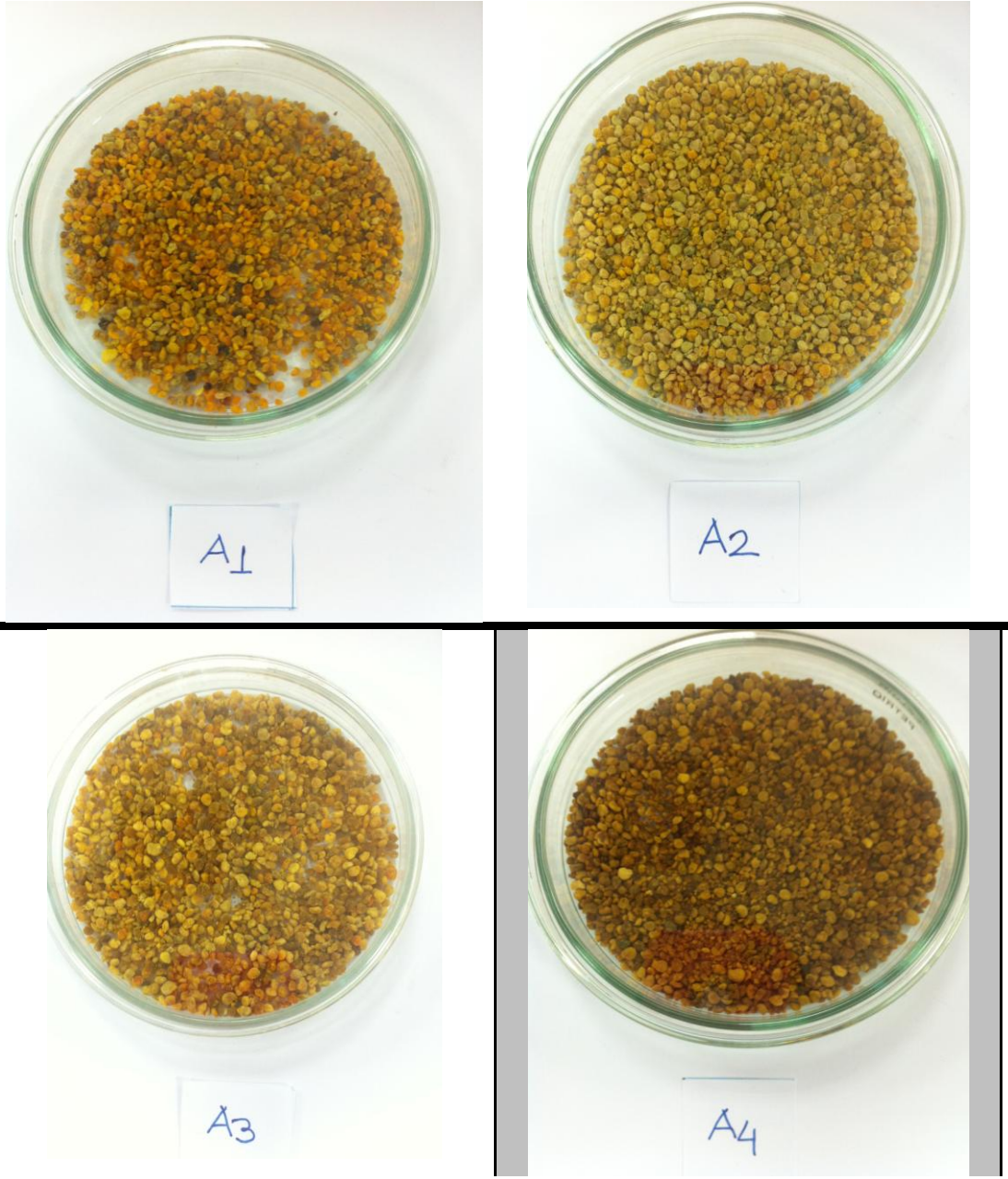
Çalışmada yapılmış olan bazı testlerin değerlendirmeleri esnasında tespit edilen görünümler ise şekil 3. 25'de gösterilmiştir.



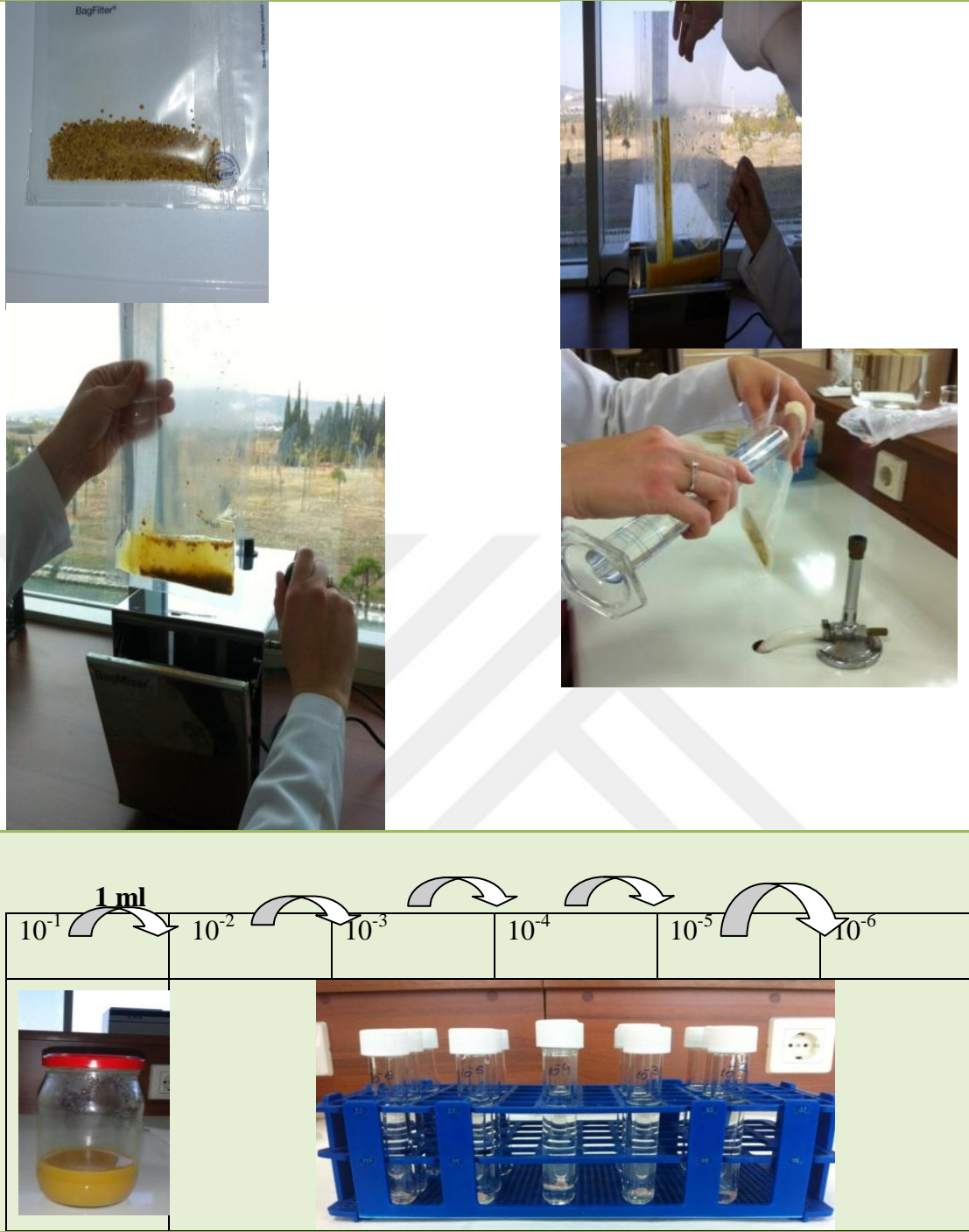
Şekil 3.20. Osmaniye ilinden toplanan polen örneklerinin mikrobiyolojik analizler için hazırlanması



Şekil 3.21. Hatay ilinden toplanan polen örneklerinin mikrobiyolojik analizler için hazırlanması



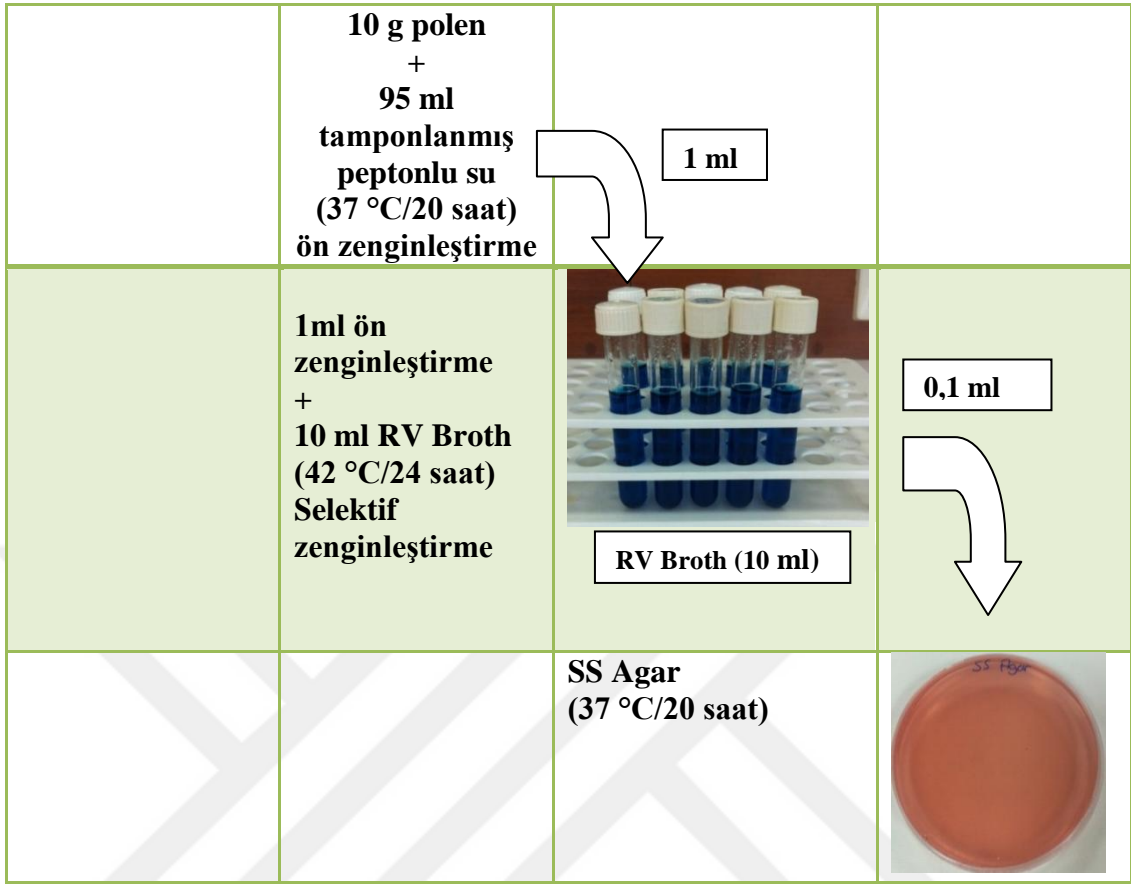
Şekil 3.22. Adana ilinden toplanan polen örneklerinin mikrobiyolojik analizler için hazırlanması



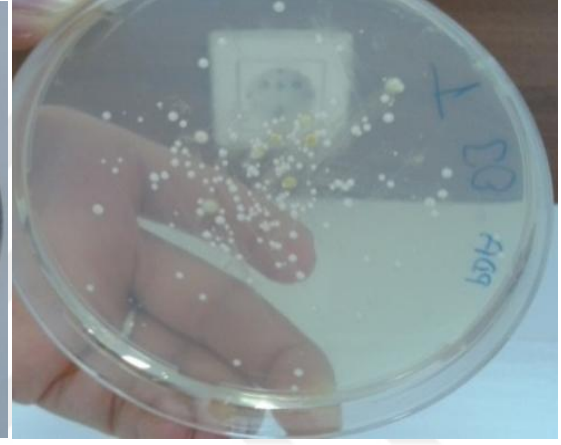
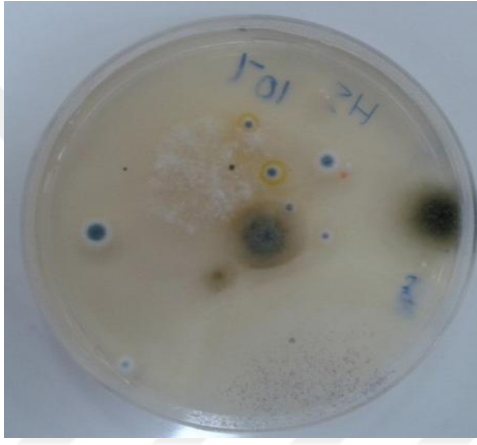
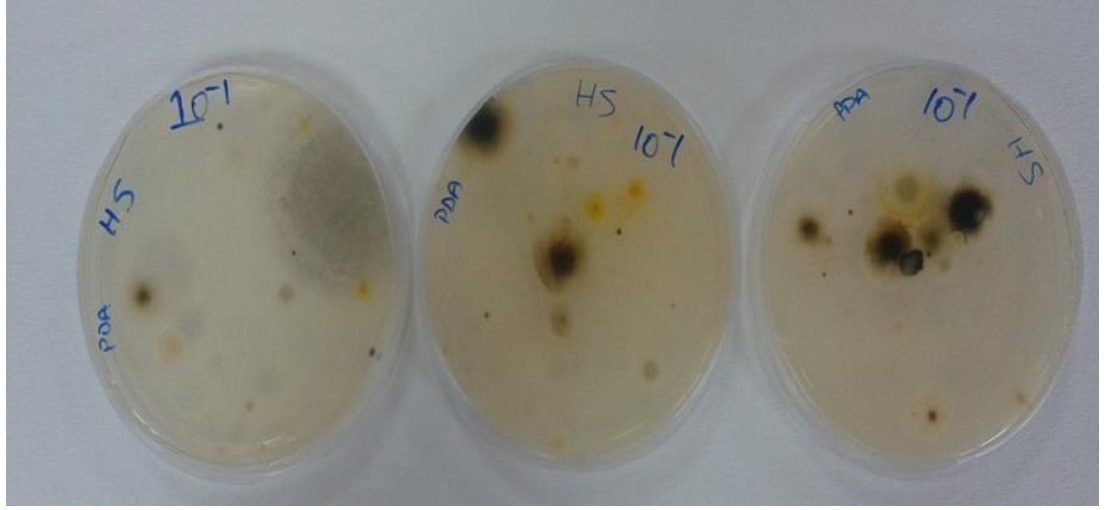
Şekil 3.23. Mikrobiyolojik analizler için örneğin seyreltilmesi ve homojenizasyonu için yapılan işlemlerden bazı görüntüler

Çizelge 3.19. Kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları

	Kullanılan Besiyeri	İnkübasyon Sıcaklığı	İnkübasyon Süresi	Aerobik /Anaerobik
Toplam Aerobik Bakteri Sayısı	PCA	37 °C	48 saat	Aerobik
Maya/Küf Sayısı	PDA	25 °C	120 saat	Aerobik
Laktik asit Bakterileri	MRS	37 °C	24-48 saat	Anaerobik
Enterobacteriaceae	VRBG	37 °C	24-48 saat	Aerobik
Koliform Sayısı	Coliform	37 °C	24-48 saat	Aerobik
<i>Escherichia coli</i>	Coliform	37 °C	24-48 saat	Aerobik
<i>Salmonella</i> sp.	TP+RVM +SS agar	37 °C/42 °C/ 37 °C	24/24/24-48 saat	Aerobik
<i>Aeromonas hydrophila</i>	AM	37 °C	24-48 saat	Aerobik
<i>Pseudomonas aeuruginosa</i>	PA	37 °C	24-48 saat	Aerobik
<i>Enterococcus faecalis</i>	KAA	37 °C	24-48 saat	Aerobik
<i>Bacillus cereus</i>	BCA	37 °C	24-48 saat	Aerobik
<i>Staphylococcus aureus</i>	BPA	37 °C	24-48 saat	Aerobik
<i>Listeria monocytogenes</i>	LSA	37 °C	24-48 saat	Aerobik
<i>Clostridium perfringens</i>	TSC	37 °C	24-48 saat	Anaerobik



Şekil 3.24. *Salmonella* sp.'in ön ve selektif zenginleştirme işlemi ve katı besiyerlerine aktarımları (Durlu-Özkaya, 2000)



Şekil 3.25. Mikrobiyolojik analizlerde ekim sonucu yapılmış olan bazı sonuçlara ait görüntüler

3.10.3 Teşhis İçin Kullanılan Bazı Tanımlayıcı Testler

S. aureus, *B. cereus* ve *E. faecalis* bazı temel spesifik identifikasyon testleri ile doğrulanması yapılmıştır (Çizelge 3.20).

Çizelge 3.20. İdentifikasyonda kullanılan bazı testleri

	Katalaz	Koagülaz	O/FGlukoz	OF/Mannitol
<i>S. aureus</i>	pozitif	pozitif	pozitif	pozitif
	Gram ve spor boyama	NO₃ indirgeme testi	O/FGlukoz	
<i>B. cereus</i>	pozitif		pozitif	
			O/F Melibioz	O/F Sorboz
<i>E. faecalis</i>			negatif	pozitif

3.10.3.1 Gram ve Spor Boyama

Gram ve Spor boyamada kullanılan boya ve çözeltilerin hazırlanışı Çizelge 3.21 ve 3.22’de, Çizelge 3.23 ve 3.24’te verilmiştir.

Çizelge 3.21. Kristal viyole boyası, iyot çözeltisi ve safranin boyasının hazırlanışı (Anonim29, 2016)

1) Kristal Viyole Boyasının Hazırlanışı:	
Kristal viyole	2 g
Etanol	20 ml
	Her 2 si karıştırılır.
Amonyum okzalit	0,8 g
Distile su	80 ml
	Her 2 si karıştırılır.
	Daha sonra her 2 çözelti birlikte karıştırılır.
2) Lugol’ün İyot Çözeltisinin Hazırlanışı:	
Potasyum İyodür +Distile su+İyot	2 g+100 ml+1g
3) Renk Giderici Solüsyon	
Aseton	
4) Safranin Boyasının Hazırlanışı	
Safranin O	0,25 g
Etanol	10 ml
Distile su	90 ml

Çizelge 3.22. Gram boyamasında takip edilen yöntem (Anonim30, 2016)

1)	Temiz bir lamın üzerine 2-3 damla distile su ilave edilmiş ve agar üzerinde gelişen bakteri kültüründen öze ile alınıp lam üzerindeki distile suda yayılmıştır.	
2)	Lam, oda koşullarında kuruması için bekletilmiştir.	
3)	Bakteriyi tespit etmek için bunzen bekinde yanan alevin ucundan lam 3-4 kez geçirilmiştir.	
4)	Lam, kristal boya ile kaplanmıştır.	30 sn-60 sn
5)	Lam çeşme suyu ile yıkanmıştır.	
6)	Lam lügol solüsyonu ile kaplanmıştır.	30 sn-60 sn
7)	Lam çeşme suyu ile yıkanmıştır.	
8)	Lam, Aseton ile yıkanmıştır.	30 sn
9)	Lam, safranin boyası ile kaplanmıştır.	30 sn
10)	Lam çeşme suyu ile yıkanmıştır.	
11)	Lam kuruduktan sonra immersiyon yağında 100x objektifte incelenmiştir.	

Çizelge 3.23. Endospor boyamada kullanılan boyaların hazırlanışı (Anonim31, 2016)

Malachite green boyasının hazırlanışı:	
Malachite green	0,5 g
Distile su	100 ml
Safranin Boyasının hazırlanışı:	
Safranin	2,5 g
Etanol (%95)	100 ml

Çizelge 3.24. Malachite Green ile spor boyamasında takip edilen yöntem (Anonim31, 2016)

1)	Temiz bir lamın üzerine 2-3 damla distile su ilave edilmiş ve agar üzerinde gelişen bakteri kültüründen öze ile alınıp lam üzerinde yayılmıştır.
2)	Lam, oda koşullarında kuruması için bekletilmiştir.
3)	Bakteriyi tespit etmek için bunzen bekinde yanan alevin ucundan 3-4 kez geçirilmiştir.
4)	Bir tencerede kaynayan suyun üzerine 2 metal çubuk yerleştirilmiş ve hazırlanan preparat bu düzeneğin üzerine konulmuştur. Lamın üzeri malaşit green ile kaplandıktan sonra lamın üzerine lamın boyutlarına uygun bir filtre kağıdı yerleştirilmiştir. Saturasyon için Malaşit green boyası ara ara lamın üzerine aktarılmıştır. Bu işlem 5 dakika süre boyunca bekletilmiştir.
5)	Lamın üzerinden filtre kâğıdı alınmıştır.
6)	Lam çeşme suyu ile yıkanmıştır.
7)	Safranin (0,5%) ile boyanmıştır (30 sn)
8)	Lam daha sonra distile su ile yıkanmıştır.
9)	Oda koşullarında kuruması için bekletilmiştir.
10)	Spor kısımlar yeşil ile boyanırken bakterinin diğer kısımları pembe boyandığı gözlemlenmiştir.

3.10.3.2 Oksidasyon ve Fermentasyon Testi (Hugh ve Leifson)

Bazı bakteriler karbonhidratları aerobik ortamda okside ederek kullanabilirler (örneğin *Pseudomonas*), bazılarında anaerobik ortamda fermente ederek kullanabilirler (fermentasyon, örneğin *Enterobacteriaceae*). OF Besiyeri ve oksidasyon ve fermentasyon testinin yapılışı Çizelge 3.25 ve 3.26'da verilmiştir.

Çizelge 3.25. OF Besiyeri (Anonim32, 2016)

	g/lt	
Pepton (Trypton)	2,0	
Sodyum klorür	5,0	
Bromtimol mavisi	0,03	
Agar	3,0	
Dipotasyum fosfat	0,30	
Hazırlanışı	Tüm maddeler tartıldıktan sonra üzerine 900 ml distile su ilave edilmiştir. İyiye çözünmesi sağlandıktan sonra pH'sı 7,1'e ayarlanmıştır. Daha sonra besiyerinin sterilizasyonu yapılmıştır (121°C/15 dk).	
Test edilecek karbonhidrat kaynağı (Glukoz ya da diğer karbonhidratlar)	10 g	Hazırlanışı: Test edilecek karbonhidrat kaynağı 10 g tartılmış ve üzerine 100 ml'ye tamamlayacak şekilde distile su ilave edilmiştir. İyiye çözünmesi sağlandıktan sonra filtre ile sterilize edilmiştir.
	Sterilizasyon sonucunda besiyerine test edilecek karbonhidrat kaynağı aseptik olarak aktarılmıştır. İyiye karıştırıldıktan sonra vida kapaklı tüplere aktarılır ve katılaşması için bekletilmiştir.	

Çizelge 3.26. Oksidasyon ve fermentasyon testinin yapılışı (Anonim32, 2016)

	Tüp 1	Tüp 2
1)		
2)	Batırma yöntemi ile tübün dibine kadar ekim yapılır.	Batırma yöntemi ile tübün dibine kadar ekim yapılır.
3)	Steril mineral yağ ilave edilmez.	Steril mineral yağ ilave edilir (O ₂ 'nin geçişini engellemek için).
4)	35 °C'de inkübe edilir (14 gün boyunca). Tüpler rutin olarak kontrol edilir.	35 °C'de inkübe edilir (14 gün boyunca). Tüpler rutin olarak kontrol edilir.
5)	Mavi'den Sarıya dönüşürse (Oksidatif metabolizmaya sahip olduğu) (+) Renk değişim yoksa yada yeşil ise bu karbonhidratın kullanılmadığını göstermektedir (-).	Mavi'den Sarıya dönüşüm (+) Besiyerinin renginde değişim yoksa ya da yeşil ise bu karbonhidratın kullanılmadığını (-) göstermektedir.

3.10.3.3 Nitrat İndirgeme Testi

Bu test ile ilgili besiyeri ve ayraçların hazırlanışı Çizelge 3.27’de verilmiştir.

Çizelge 3.27. Nitrat indirgeme testi için gerekli besin ortamı ve ayraçlar

NO₃ besiyeri	Bileşenler	
	Beef (Meat) extract	3g
	Gelatin peptone	5g
	KNO ₃	1g
	Distile su	100 ml
Ayraç I	Bileşenler	
	N-N-dimetil-alfa naftilamin	0,6 ml
	5 N Glasiyel Asetik asit	100 ml
Ayraç II	Bileşenler	
	Sulfanilik asit	0,8 g
	5 N Glasiyel Asetik asit	100 ml
5 N Glasiyel Asetik Asitin Hazırlanışı	Bileşenler	ml
	Glasiyel Asetik asit	287 ml
	Distile su	713 ml

Hazırlanan besiyeri, içerisinde Durham tüpü bulunan boş bir vida kapaklı test tüpüne aktarılmış ve 121 °C’de 15 dk sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonucunda soğumuş besiyerine öze ile bakteri aşılması yapılmış ve 35 °C’de 12-24 saat arası inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda Durham test tüpünde gaz oluşumu kontrol edilmiştir. Ayraç 1 ve Ayraç 2 eşit şekilde karıştırılmış ve küçük bir tüpe konulmuştur. Bu tüpün içerisine 1 ml Broth’dan ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Eğer bakteri NO₃’ü NO₂’ye indirgeme gücüne sahipse kırmızı rengin oluşumu 2 dk içerisinde gözlemlenen bir durum olarak kabul edilmiştir.

3.10.3.4 Katalaz Testi

Bazı mikroorganizmalar, hidrojen peroksidin oksidatif hasarını engelleyen yada tamir eden katalaz enzimine sahiptirler. Katalaz enzimi, hidrojen peroksidin bakterisidal etkisini nötralize etmektedir. Katı besiyerinde üreyen taze bakteri kolonisi agara değmeden dikkatli bir şekilde alınmış ve lam üzerine yayılmıştır. Üzerine pastör pipeti ile 1 damla % 3'lük hidrojen peroksit damlatılmış ve bekletilmiştir. Kabarcıkların oluşumu test bakterisinin hidrojen peroksidi parçalayacak katalaz enzimine sahip olduğunu göstermektedir. Eğer kabarcık durumu gözlenmediği durumda ise, test bakterisinin katalaz negatif olarak değerlendirilir.

3.10.3.5 Koagülaz Testi

S. aureus türünü ait olduğu genusun diğer üyelerin ayırt edilmesinde kullanılan bir testtir. Bu enzim bu tür tarafında üretilen ve pıhtı oluşumuna (fibrinojenin fibrine çevrilmesine) neden olan ısıya dayanıklı trombine benzeyen bir yapıdadır. Bir lam üzerine damlatılan distile su ile bakteri süspansiyonu edildikten sonra bir öze ucu kadar plasma ilave edilip hafif bir şekilde karıştırılır ve kümeleşmenin olup olmadığı (10 sn süresi içerisinde) kontrol edilmiştir. Kümeleşme varsa koagülaz pozitif, yoksa negatif olarak kabul edilmiştir (Anonim 33, 2016).

3.11 İstatistik Analiz Yöntemler

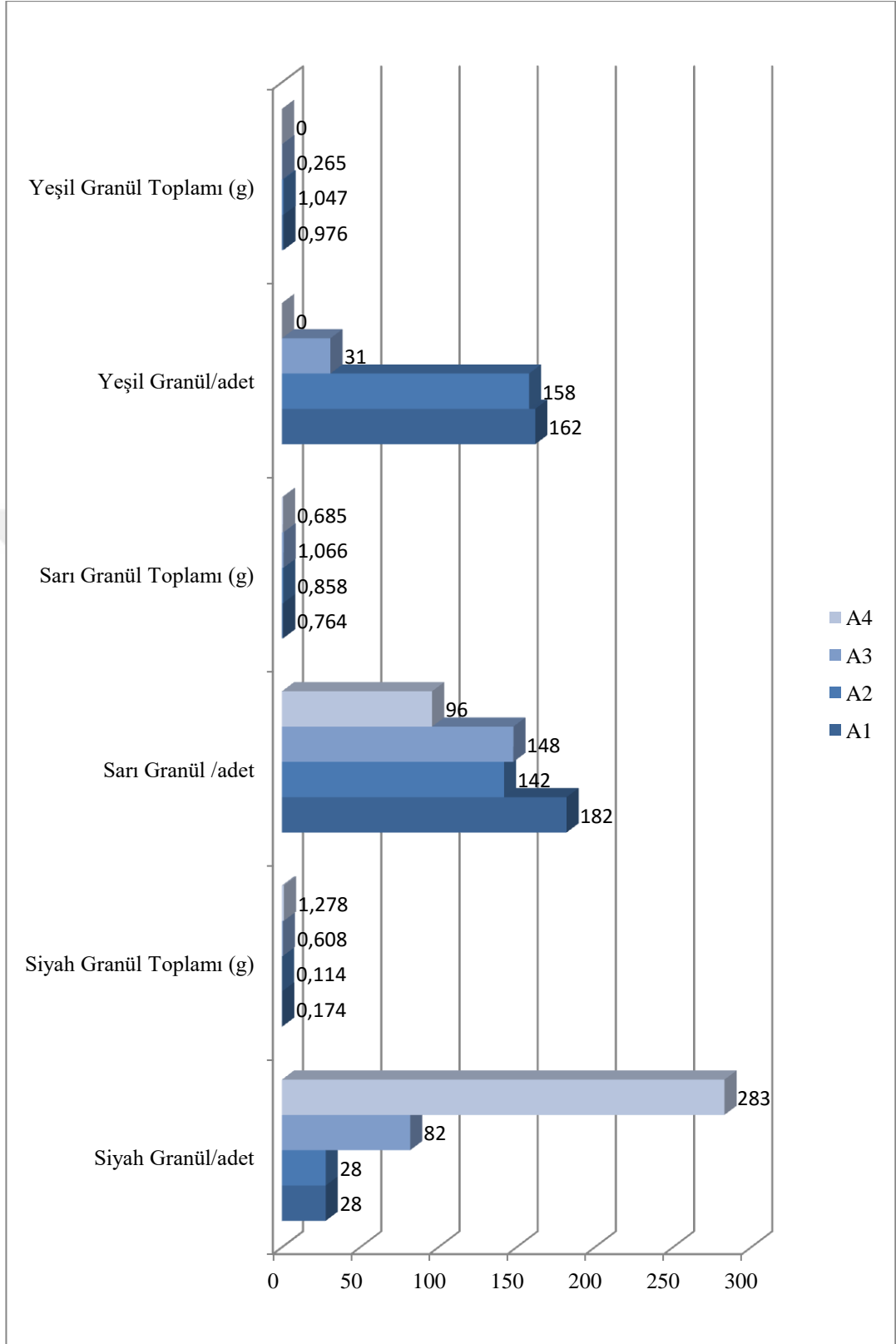
Ortalama değerler arasındaki farklılıkların tespit edilmesinde ANOVA varyans analizi ve Tukey HDS testi kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde ise SPSS istatistik programı kullanılmıştır. Karşılaştırmalarda önem düzeyi $p < 0.05$ olarak kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

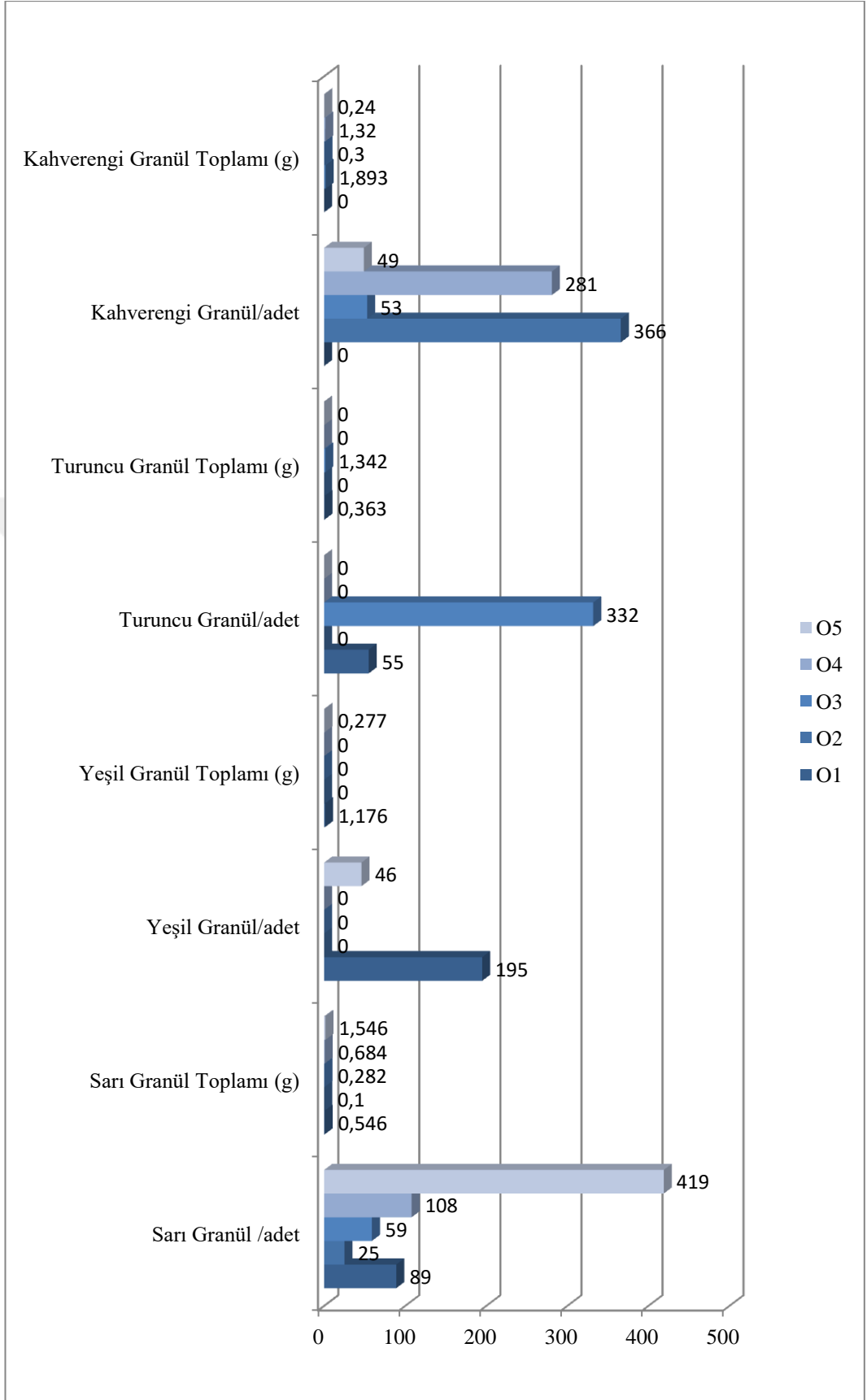
4.1 Renk

Polenler, arılar tarafından çeşitli çiçeklerden toplandığından dolayı değişik renkte olabilen biyolojik yapılardır. Yapılan bu tez çalışmasında polen granüllerinin farklı renkte oldukları görsel olarak tespit edilmiştir. Bu durum, arıların polen toplamak için farklı flora kaynaklarına doğru uçuş yaptığını göstermektedir. Tespit edilen polenler, renklerine göre gruplandırılmış ve sayımları yapılmıştır. Her bir renge ait granüllerin ağırlıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3).

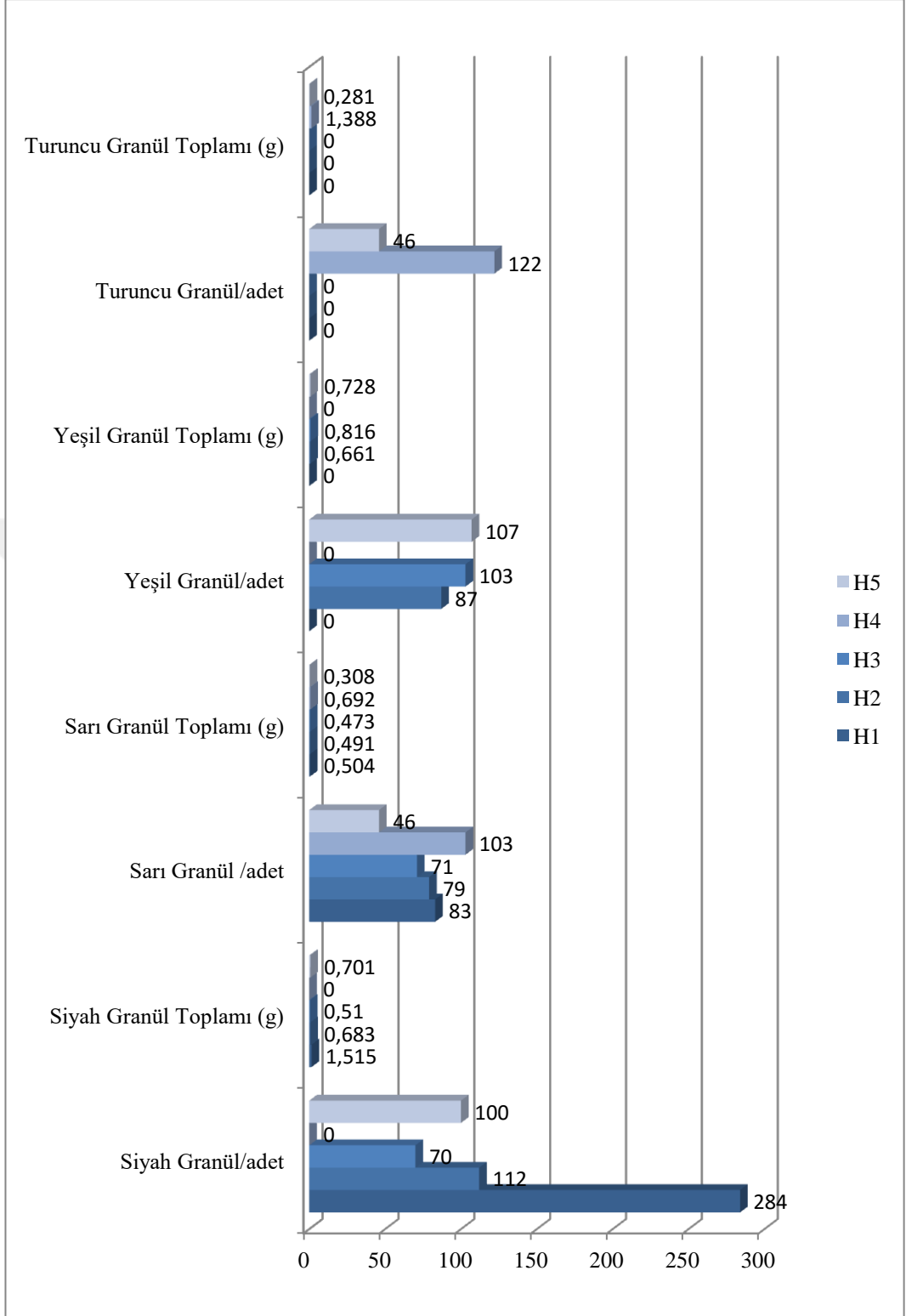
Adana'dan toplanan polen granüllerinin renk çeşitliliği incelendiğinde, yeşil sarı ve siyah; Osmaniye'den toplanan polenlerin yeşil, sarı, kahverengi ve turuncu; Hatay polenlerinin ise yeşil, sarı, turuncu ve siyah granüllerden oluştuğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Adana'dan toplanan polen granüllerinin renk çeşitliliği ve ağırlıkları



Şekil 4.2. Osmaniye’den toplanan polen granüllerinin renk çeşitliliği ve ağırlıkları



Şekil 4.3. Hatay'dan toplanan polen granüllerinin renk çeşitliliği ve ağırlıkları

Polen örneklerinde görsel olarak renk sınıflandırması dışında renk ölçer ile ana renk temel parametreleri olan L, a ve b değerleri ölçülmüştür (Mutlu ve Ergüneş, 2008, Polatçı, 2012, Trakyalı, 2013). L, a ve b parametreleri, tüketici açısından rengin algılanmasını bütünüyle temsil edemediği bildirilmiştir. Bu parametreler ile yapılan çeşitli değerlendirmeler (a/b, Hue açısı ve Chroma değeri) tüketicinin rengi algılama biçimini daha belirgin bir şekilde ortaya çıkardığı rapor edilmiştir. Polen örneklerinde L, a, b, Chroma ve Hue değerleri arasında istatistiksel olarak farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

L değerinin 49,99-67,96, a değerinin 2,34-8,59, b değerinin 32,08-51,4, Chroma değerinin 32,23-51,65, Hue değerinin 78,19-85,99 arasında değiştiği tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak polenlerde tespit edilen değerler arasındaki farklılıklar en yüksekten en düşüğe doğru şu şekilde bulunmuştur;

L değeri: O4>A2>A1= A3= O1= O3= O5=H3=H4> A4=H2=H5> O2= H1

a değeri: O5> A4=O2=H1=H4> A3> A1= H2> O1= O3=H3=H5> A2> O4.

b değeri: A1> O5> A3> H4> O1=O2=O3=H1=H3> A4=H2> A2=O4=H5

Chroma: A1=O5> A3> H4> O1=O2=O3=H1=H3>A4>A2=O4=H2=H5

Hue değeri: O4> A2> A1= A3= O1= O3= O5=H2=H3=H4=H5> O2= H1> A4

Çizelge 4.1. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin renk parametreleri

	L	a	b	Chroma	Hue
A1	60,76±1,26 ^{abc}	5,00±1,51 ^{abcd}	51,40±4,13 ^a	51,65±4,25 ^a	84,5±1,23 ^{abc}
A2	64,93±2,5 ^{ab}	2,83±1,56 ^{cde}	32,08±1,42 ^e	32,23±1,30 ^d	84,88±3,00 ^{ab}
A3	60,61±4,09 ^{abc}	6,25±1,72 ^{abc}	44,13±2,28 ^{abc}	44,59±2,19 ^{ab}	81,89±2,33 ^{abc}
A4	53,24±11,31 ^{bc}	7,18±0,93 ^{ab}	34,67±3,15 ^{de}	35,42±3,02 ^{cd}	78,19±2,13 ^c
O1	61,54±3,18 ^{abc}	4,77±1,19 ^{bcd}	38,83±4,99 ^{cde}	39,14±4,94 ^{bcd}	82,91±2,11 ^{abc}
O2	50,75±2,40 ^c	7,19±0,94 ^{ab}	38,66±1,99 ^{cde}	39,33±1,86 ^{bcd}	79,40±1,70 ^{bc}
O3	59,70±3,80 ^{abc}	4,53±1,19 ^{bcd}	36,04±3,53 ^{cde}	36,35±3,35 ^{bcd}	82,65±2,62 ^{abc}
O4	67,96±1,09 ^a	2,34±0,31 ^{de}	35,53±1,05 ^e	33,61±1,03 ^d	85,99±0,64 ^a
O5	60,68±1,35 ^{abc}	8,59±0,63 ^a	48,36±2,31 ^{ab}	49,11±2,32 ^a	79,91±0,67 ^{abc}
H1	49,99±2,04 ^c	6,97±0,92 ^{ab}	35,96±2,87 ^{cde}	36,64±2,88 ^{bcd}	79,00±1,38 ^{bc}
H2	55,88±5,00 ^{bc}	4,92±0,88 ^{abcd}	34,22±3,14 ^{de}	34,58±3,12 ^d	81,76±1,57 ^{abc}
H3	60,71±2,41 ^{abc}	4,67±1,70 ^{bcd}	37,5±3,64 ^{cde}	37,82±3,45 ^{bcd}	82,71±3,11 ^{abc}
H4	60,48±2,74 ^{abc}	7,34±0,51 ^{ab}	43,01±1,23 ^{bcd}	43,64±1,15 ^{abc}	80,27±0,88 ^{abc}
H5	55,55±3,95 ^{bc}	4,40±0,94 ^{bcd}	34,04±5,55 ^e	34,39±5,66 ^d	82,75±4,50 ^{abc}

SD (standart sapma), Standart sapma üzerinde verilen harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (Tukey HSD, P<0,05)

4.2 Kuru Madde, Nem ve pH

Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinde, tespit edilen kuru madde, nem ve pH değerleri arasında istatistiksel olarak farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2). İstatistiksel olarak polenlerde tespit edilen kuru madde, nem ve pH değerleri arasındaki farklılıklar en yüksekten en düşük değere doğru olan aralığın şu şekilde olduğu tespit edilmiştir.

Kuru madde (%): $A1=H1 > H3 = A2 = O1 > A4 = O2 = O3 = O5 = H2 = H4 > A3 = H5 > O4$

Nem (%): $O4 > H5 > A3 > A2 = A4 = O2 = O3 = O5 = H2 = H4 > O1 = H3 > H1 > A1$

pH: $A2 > O4 > H4 > O1 > O2 = H5 > O5 > A4 > H1 > A1 = H3 > O3 > A3 > H2$

Avrupa Birliği kriterine göre, polenlerin ticari olarak satışa sunulabilmesi için su miktarı ve çiçek kaynaklarının, tespit edilmesinin önemli parametreler olduğu rapor edilmiştir. 42 °C'yi aşmayan sıcaklıklarda kurutulmuş polende su miktarının % 6'yı geçmemesi gerektiği bildirilmiştir (Campos, vd., 2008). Önceki bir çalışmada polenlerde tespit edilen nem miktarının %7,8-11,7 arasında değiştiği (Carpes, vd., 2009), diğer bir çalışmada ise nem miktarının %18,11-36,29 arasında, pH değerinin ise 4,55-6,3 arasında değiştiği bildirilmiştir (Belhadj, vd., 2014). Diğer farklı iki çalışmada ise polenlerde tespit edilen pH değerinin 4,3-5,2 (Feas, vd., 2012), nem değerinin %6,02-8,40, pH değerinin 2,23-5,17 (Nogueira, vd., 2012) arasında dağılım gösterdiği rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise pH değerlerinin 3,81-5,82 arasında olduğu ve elde edilen sonuçların Belhadj vd. (2014), Feas vd. (2012) ve Nogueira vd. (2012)'nin bulgularına benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu durum, polenlerin pH değerinin asidik düzeyde olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada, örneklerde kuru madde miktarı %90,8-93,5 ve nem miktarının ise %6,14-9,19 arasında değiştiği belirlenmiştir. Ve çalışmada tespit edilen bu değerlerin Carpes vd. (2009)'nin bulgularıyla benzerlik gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmada tespit edilen tüm değerlerin, Avrupa Birliği'nin önerdiği değerden daha yüksek fakat Belhadj vd.'nin bulduğu değerlerden daha düşük olduğu saptanmıştır. Nem miktarının, önerilen değerlerden daha yüksek olduğu ve kurutma işlemlerinde yetersizlik olduğunu ya da depolama koşullarının iyi yapılmadığını göstermektedir.

4.3 Toplam Klorofil a, Klorofil b ve Karotenoid

Analiz edilen örneklerde, klorofil a, klorofil b ve toplam karotenoid miktarları (mg/kg) arasında istatistiksel olarak farklılıklar olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Klorofil a miktarı 9,68-49,03, klorofil b miktarlarının 1,39-25,14, karotenoid miktarının 91,44 ile 232,69 mg/kg arasında değiştiği tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak polenlerdeki klorofil a, klorofil b ve toplam karotenoid miktarları arasındaki farklılıklar en yüksekten en düşüğe doğru aşağıdaki şekilde bulunmuştur;

Klorofil a: A1= A4> H1= H5> A2= O2> A3=O1=O3=H4> O5= H3> H2> O4

Klorofil b: A2> A1> A3> A4=H1=H2> O3=H3> H4> O2> H5> O4> O1=O5

Karotenoid: A2> A1=A4=O4=H2=H3> H5> H1> A3= O1= O2= O3= O5= H4

Daha önceki çalışmalarda polenlerde klorofil varlığı konusunda hiçbir rapor bulunmamaktadır. Normal koşullarda klorofil çiçekte olmaması gereken bir durum olarak kabul edilmektedir. Klorofilin polen ürünlerine hangi vasıtalarla geçtiği bilinmemektedir. Daha önceki polen çalışmalarında klorofil miktarı ile ilgili bir çalışmanın bulunmadığı görülmüştür. Günümüzde yapılan pek çok araştırmada, gerek sebze gerekse meyvelerde ya da bitkisel kaynaklı ürünlerde flora kaynağına bağlı olarak değişik düzeyde karotenoid miktarı rapor edilmiştir.

4.4 Etanol Ekstraktlarının Verimi (%)

Çalışmada polenlerin etanol ekstraktının % verim sonuçları Şekil 4.2’de verilmiştir. Verimler arasındaki farklılıklar flora kaynağına bağlı olarak değişim gösterdiği sonucuna ulaşılabilir.

Çizelge 4.2. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin kuru madde, nem ve pH değerleri

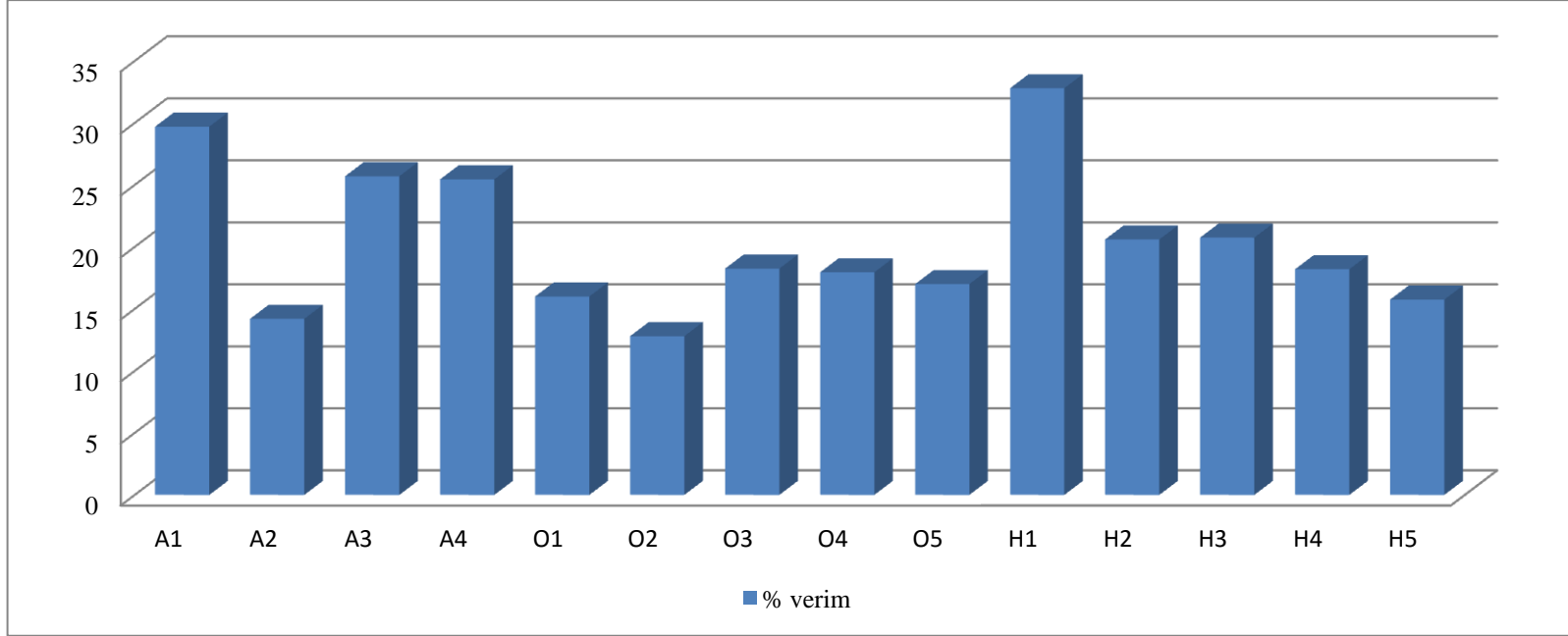
	Kuru Madde (%)	Nem (%)	pH
A1	93,05±0,82 ^a	6,94±0,82 ^d	4,10±0,01 ⁱ
A2	92,4±0,14 ^{ab}	7,93±0,71 ^{abcd}	5,80±0,09 ^a
A3	91,59±0,48 ^{bc}	8,40±0,48 ^{abc}	3,94±0,00 ^{jk}
A4	91,89±0,10 ^{abc}	8,11±0,10 ^{abcd}	4,57±0,08 ^g
O1	92,46±0,69 ^{ab}	7,53±0,69 ^{bcd}	5,06±0,05 ^d
O2	91,84±0,17 ^{abc}	8,16±0,17 ^{abcd}	4,92±0,02 ^e
O3	91,88±0,70 ^{abc}	8,11±0,70 ^{abcd}	4,01±0,02 ^{ij}
O4	90,80±0,21 ^c	9,19±0,21 ^a	5,60±0,01 ^b
O5	91,84±0,37 ^{abc}	8,15±0,37 ^{abcd}	4,75±0,00 ^f
H1	92,94±0,55 ^a	7,05±0,55 ^{cd}	4,22±0,03 ^h
H2	91,93±0,29 ^{abc}	8,06±0,29 ^{abcd}	3,91±0,01 ^k
H3	92,27±0,66 ^{ab}	7,72±0,66 ^{bcd}	4,06±0,02 ⁱ
H4	91,93±0,16 ^{abc}	8,07±0,16 ^{abcd}	5,22±0,01 ^c
H5	91,33±0,38 ^{bc}	8,66±0,38 ^{ab}	4,93±0,02 ^e

SD (standart sapma), Standart sapma üzerinde verilen harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (Tukey HSD, P<0,05)

Çizelge 4.3. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin klorofil a, klorofil b ve toplam karotenoid miktarları

	Klorofil a (mg/kg)	Klorofil b (mg/kg)	Toplam Karotenoid (mg/kg)
A1	49,03±4,26 ^a	22,11±2,03 ^b	147,99±3,20 ^b
A2	31,31±5,63 ^{bc}	25,14±1,20 ^a	232,69±3,65 ^a
A3	28,01±2,72 ^{bcd}	24,71±1,22 ^{ab}	76,06±9,46 ^d
A4	46,18±7,63 ^a	12,82±1,85 ^c	144,91±22,29 ^b
O1	27,3±1,24 ^{bcd}	2,37±0,02 ^{gh}	88,11±7,03 ^d
O2	31,03±0,58 ^{bc}	5,78±0,74 ^{def}	92,14±6,12 ^d
O3	26,9±0,72 ^{bcd}	8,41±1,41 ^d	82,68±8,44 ^d
O4	9,68±0,85 ^e	2,94±0,85 ^{fgh}	155,56±27,10 ^b
O5	25,15±0,74 ^{cd}	1,39±0,46 ^{gh}	87,73±10,00 ^d
H1	34,78±2,08 ^b	12,43±1,10 ^c	104,73±7,11 ^{cd}
H2	21,43±1,32 ^d	12,11±1,17 ^c	149,33±9,16 ^b
H3	25,79±3,03 ^{cd}	8,35±0,95 ^d	153,57±6,19 ^b
H4	27,44±1,06 ^{bcd}	6,37±1,05 ^{de}	91,44±1,92 ^d
H5	34,55±1,91 ^b	3,8±0,67 ^{efg}	125,30±10,16 ^{bc}

SD (standart sapma), Standart sapma üzerinde verilen harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (Tukey HSD, P<0,05)



Şekil 4.2. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinde antioksidan deneylerinde kullanılacak etanol ekstraktının % verim sonuçları

4.5. Toplam Fenolik, Flavonoid Madde Miktarları ve Antioksidan Testleri

Bu çalışmada, polenlerin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, % DPPH aktivitesi, indirgeyici güç, % NO giderme kapasitesi ve % H₂O₂ giderme kapasite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4-4.8).

Toplam fenolik madde miktarı incelenen örneklerde 398,43-529,61 mg/kg arasında değiştiği, toplam flavonoid'in ise 341,56 ile 717,69 mg/kg arasında değiştiği tespit edilmiştir. DPPH, indirgeyici güç, NO ve H₂O₂ süpürme aktiviteleri ise 1,25, 2,5 ve 5 mg/ml'de test edilmiş ve doz artışına bağlı olarak antioksidan aktivitenin artış gösterdiği belirlenmiştir. İncelenen tüm antioksidan yöntemleriyle polenlerin yüksek düzeyde antioksidan bileşenler içerdiği tespit edilmiştir. En yüksek doz olan 5 mg/ml'de DPPH % inhibisyonu 80,43-94,78 arasında, indirgeyici güç kapasitesi 1,73-2,47 arasında, % NO aktivitesi ise 38,92-93,46 arasında, H₂O₂ süpürme aktivitesi ise %42,99-100 arasında değiştiği bulunmuştur. Farklı konsantrasyonlar da test edilen polenlerin etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin günümüzde en güçlü antioksidan olarak bilinen BHT ile eşit ya da benzer aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel olarak polenlerde tespit edilen değerler arasındaki farklılıklar (en yüksek ile en düşük değer aralığı) Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.4. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları

	Toplam Fenolik Madde (mg/kg) (ort±SD)	Toplam Flavonoid Madde (mg/kg) (ort±SD)
A1	366,22±3,33 ^b	544,55±21,96 ^{bc}
A2	420,54±0,99 ^{ab}	496,91±6,67 ^{cd}
A3	483,65±14,12 ^{ab}	418,46±1,43 ^e
A4	414,02±26,77 ^{ab}	598,88±18,23 ^b
O1	400,213±82,26 ^{ab}	488,79±27,29 ^{cd}
O2	366,28±72,92 ^b	459,81±35,14 ^{de}
O3	364,657±9,94 ^b	426,30±11,67 ^e
O4	474,893±88,33 ^{ab}	717,69±1,60 ^a
O5	481,553±119,58 ^{ab}	588,45±59,93 ^b
H1	398,943±21,29 ^{ab}	422,03±9,32 ^e
H2	441,38±46,89 ^{ab}	466,92±20,35 ^{de}
H3	405,07±12,03 ^{ab}	341,56±1,84 ^f
H4	447,10±31,22 ^{ab}	547,77±15,92 ^{bc}
H5	529,61±31,74 ^a	494,45±14,12 ^{cd}

SD (standart sapma), Standart sapma üzerinde verilen harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (Tukey HSD, P<0,05)

Çizelge 4.5. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin % DPPH aktivitesi

% DPPH	1,25 (mg/ml) (ort±SD)	2,5 (mg/ml) (ort±SD)	5 (mg/ml) (ort±SD)
A1	58,01±2,74 ^{cd}	75,23±1,59 ^{cd}	88,07±6,03 ^{ab}
A2	45,42±6,14 ^d	55,88±4,96 ^f	80,43±0,50 ^b
A3	79,41±4,99 ^{ab}	85,33±1,09 ^{ab}	89,74±5,02 ^{ab}
A4	68,09±4,34 ^{bc}	83,45±1,43 ^{abc}	90,73±4,20 ^{ab}
O1	68,66±7,66 ^{bc}	89,33±3,05 ^a	91,33±4,04 ^{ab}
O2	49,00±4,58 ^d	60,66±1,52 ^{ef}	88,66±2,30 ^{ab}
O3	46,00±7,81 ^d	61,00±5,56 ^{ef}	89,00±2,64 ^{ab}
O4	47,00±3,60 ^d	64,66±1,52 ^{ef}	88,66±3,78 ^{ab}
O5	49,00±2,00 ^d	68,66±1,52 ^{de}	89,33±4,93 ^{ab}
H1	69,76±3,38 ^{bc}	86,98±0,93 ^{ab}	93,04±1,70 ^a
H2	70,53±0,78 ^{bc}	83,10±2,01 ^{abc}	94,16±1,54 ^a
H3	68,64±8,18 ^{bc}	81,63±3,16 ^{abc}	94,78±0,68 ^a
H4	71,01±1,18 ^{bc}	79,33±0,82 ^{bc}	92,63±5,49 ^{ab}
H5	81,57±1,51 ^{ab}	84,96±1,72 ^{ab}	94,67±0,58 ^a
BHT	88,66±9,45 ^a	89,66±9,29 ^a	90,33±8,96 ^{ab}

SD (standart sapma), Standart sapma üzerinde verilen harfler,örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (Tukey HSD, P<0,05)

Çizelge 4.6. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin İndirgeme gücü kapasitesi

RP	1,25 (mg/ml) (ort±SD)	2,5 (mg/ml) (ort±SD)	5 (mg/ml) (ort±SD)
A1	0,91±0,02 ^{def}	1,26±0,04 ^{gh}	2,02±0,04 ^d
A2	0,60±0,00 ^g	0,90±0,02 ^j	1,63±0,01 ^e
A3	1,03±0,01 ^d	1,41±0,03 ^{def}	2,31±0,02 ^{abc}
A4	0,96±0,03 ^{de}	1,33±0,02 ^{fg}	2,12±0,05 ^{cd}
O1	1,08±0,04 ^{cd}	1,76±0,05 ^b	2,32±0,14 ^{abc}
O2	0,82±0,01 ^{ef}	1,16±0,04 ^{hi}	1,98±0,06 ^d
O3	0,78±0,00 ^{ef}	1,19±0,04 ^{hi}	1,77±0,05 ^e
O4	0,77±0,07 ^f	0,95±0,02 ^j	1,71±0,08 ^e
O5	0,80±0,04 ^{ef}	1,14±0,04 ⁱ	1,73±0,13 ^e
H1	0,96±0,02 ^{de}	1,46±0,02 ^{cde}	2,15±0,04 ^{bcd}
H2	1,29±0,22 ^b	1,51±0,07 ^{cd}	2,37±0,13 ^{ab}
H3	1,07±0,02 ^{cd}	1,54±0,02 ^c	2,47±0,14 ^a
H4	1,07±0,02 ^{cd}	1,38±0,02 ^{ef}	2,05±0,02 ^d
H5	1,23±0,03 ^{bc}	1,51±0,08 ^{cd}	2,43±0,09 ^a
BHT	2,32±0,07 ^a	2,37±0,03 ^a	2,48±0,07 ^a

SD (standart sapma), Standart sapma üzerinde verilen harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (Tukey HSD, P<0,05)

Çizelge 4.7. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin % NO giderme kapasitesi

% NO	1,25 (mg/ml) (ort±SD)	2,5 (mg/ml) (ort±SD)	5 (mg/ml) (ort±SD)
A1	24,48±8,28 ^d	65,59±8,81 ^{bcd}	73,30±8,83 ^b
A2	2,86±0,05 ^g	28,00±1,68 ^f	61,36±2,16 ^{cd}
A3	36,62±4,05 ^b	72,94±2,65 ^{ab}	90,08±4,79 ^a
A4	36,9±1,43 ^b	62,70±2,22 ^{cd}	68,48±1,02 ^{bc}
O1	15,16±0,57 ^{ef}	77,72±1,12 ^a	91,23±1,88 ^a
O2	23,37±2,11 ^{de}	33,51±4,80 ^f	38,92±0,60 ^e
O3	9,43±2,28 ^{fg}	35,45±1,25 ^f	55,02±1,44 ^d
O4	65,32±4,05 ^a	76,08±8,56 ^a	89,69±3,54 ^a
O5	10,6±0,37 ^{fg}	51,61±1,19 ^e	54,17±0,96 ^d
H1	22,11±1,52 ^{de}	30,93±2,74 ^f	91,67±1,06 ^a
H2	33,34±1,56 ^{bc}	37,93±0,14 ^f	61,8±0,17 ^{cd}
H3	25,51±5,88 ^{cd}	31,44±4,88 ^f	62,93±0,66 ^c
H4	25,1±3,71 ^{cd}	57,38±0,62 ^{de}	63,63±1,20 ^c
H5	38,27±1,15 ^b	76,51±0,59 ^a	93,46±0,46 ^a
BHT	61,86±0,63 ^a	67,88±1,93 ^{abc}	75,53±0,63 ^b

SD (standart sapma), Standart sapma üzerinde verilen harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (Tukey HSD, P<0,05)

Çizelge 4.8. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin % H₂O₂ giderme kapasitesi

HO	1,25 (mg/ml) (ort±SD)	2,5 (mg/ml) (ort±SD)	5 (mg/ml) (ort±SD)
A1	48,32±0,68 ^d	63,69±0,39 ^d	79,62±2,04 ^{cd}
A2	49,63±1,72 ^b	57,38±4,57 ^{ef}	73,55±0,48 ^{de}
A3	37,71±0,34 ^{ef}	43,00±2,42 ^{hi}	49,09±1,56 ^{gh}
A4	51,36±0,66 ^{cd}	52,48±0,79 ^{fg}	71,95±0,31 ^e
O1	26,70±1,10 ^g	33,27±1,11 ^j	42,99±0,54 ^h
O2	39,51±2,45 ^{ef}	40,77±1,03 ⁱ	57,17±4,68 ^f
O3	50,10±1,46 ^{cd}	50,11±4,39 ^g	55,61±3,28 ^{fg}
O4	61,54±1,61 ^b	62,12±1,39 ^{de}	84,62±3,94 ^{bc}
O5	40,64±1,27 ^e	47,12±1,56 ^{gh}	90,58±3,09 ^b
H1	54,90±5,55 ^c	88,28±2,70 ^b	100,0±7,02 ^a
H2	66,35±1,80 ^b	88,02±3,16 ^c	100,00±4,23 ^a
H3	34,56±1,07 ^f	79,29±2,00 ^c	100,00±1,04 ^a
H4	65,98±3,97 ^b	58,67±0,34 ^{de}	100,00±1,27 ^a
H5	62,77±1,08 ^b	81,47±0,75 ^c	99,61±1,29 ^a
BHT	96,83±2,36 ^a	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a

SD (standart sapma), Standart sapma üzerinde verilen harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (Tukey HSD, P<0,05)

Çizelge 4.9. Polen örneklerinin fenolik, flavonoid ve antioksidan aktivitelerinin istatistiksel olarak değerlendirme aralığı

Test Parametresi	Örnekler
Fenolik madde (mg/kg):	H5> A1=O2= O3> A2=A3=A4=O1=O4=O5=H1=H2=H3=H4
Flavonoid (mg/kg):	O4> A4=O5> A1=H4> A2= O1=H5> O2=H2> A3= O3=H1> H3
DPPH (1,25 mg/ml)	BHT> A3=H5> A4=O1=H1=H2=H3=H4> A1>A2=O2=O3=O4=O5
DPPH (2,5 mg/ml)	BHT= O1> H5= A3=H1> A4= H2=H3> H4> A1> O5> O2=O3=O4> A2
DPPH (5 mg/ml)	H1=H2=H3=H5> A1= A3=A4=O1=O2=O3=O4=O5=H4=BHT> A2
RP (1,25 mg/ml)	BHT> H2> H5> O1=H3=H4> A3> A4=H1> A1> O2=O3=O5> O4> A2
RP (2,5 mg/ml)	BHT> O1> H3> H2= H5> H1> A3> H4> A4> A1> O2=O3> O5> A2=O4
RP (5 mg/ml)	H3=H5=BHT> H2> A3= O1> H1> A4> A1= O2=H4> A2= O3=O4=O5
%NO (1,25 mg/ml)	O4=BHT> A3=A4=H5> H2> H3=H4> A1> O2=H1> O1> O3=O5> A2
%NO (2,5 mg/ml)	O1=O4=H5> A3> BHT> A1> A4> H4> O5> A2= O2= H1=H2=H3
%NO (5 mg/ml)	A3=O1= O4= H1= H5> A1= BHT> A4> H3=H4> A2= H2> O3= O5> O2
HO-1,25 mg/ml:	BHT>H2=H4=H5=O4>H1>O3=A4=A2>A1>O5>O2=A3>H3>O1
HO-2,5 mg/ml:	BHT> H1> H5= H3=H2> A1> H4= O4> A2> A4
HO-5 mg/ml:	H1=H2=H3=H4=H5=BHT> O5> A1> A2> A4> O2> O3> A3> O1

Önceki polen çalışmalarını incelediğimizde fenol ve flavonoid miktarlarının ve DPPH aktivitesinin genel olarak tespit edildiği görülmektedir. Bu çalışmada belirlenen değerleri önceki çalışmalar ile karşılaştığımızda benzerlik ve farklılıkların olduğu görülmektedir. Bu durumda biyoçeşitliliğin bir yansıması olduğu düşüncesini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.10. Önceki yapılan polen çalışmalarında fenolik, flavonoid ve antioksidan aktiviteleri

Fenol	Flavonoid	DDPH (EC50)	Kaynak
12,9-19,8 (mg/g)	4,5-7,1 (mg/g)	EC50 4,6 (mg/ml)	(Feas, vd., 2012)
10,5-16,8 (mg/g)		EC50 3,11-6,52 (mg/ml)	(Morais, vd., 2011)
9,3-49,9 (mg/100 g)	13,2-69,4 (mg/100 g)		(Yeşiltaş, vd., 2012)
262-354 9,3- 49,9 (mg/lt)	110-409 (mg/lt)		(Sardar, vd., 2014)
30,46-8,22 (mg/g)	8,92-5,5 (mg/g)	810-4690 (µg/ml)	(Carpes, vd., 2009)

4.6 Mikrobiyolojik Analizler

Analiz edilen polen örneklerinin hiç birisinde total laktik asit bakterisi, Enterobacteriaceae, koliformlar, *E. coli*, *Salmonella* sp., *A. hydrophila*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *C. perfringens* tespit edilmemiştir. Dolayısıyla, belirtilen bu parametreler ile ilgili sonuçlar Çizelge olarak verilmemiştir. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin toplam aerobik bakterisi, maya/küf, *E. faecalis*, *B. cereus* ve *S. aureus*'a ait sayım sonuçları (log kob/g) Çizelge 4.11'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11). İstatistiksel olarak, polenlerde tespit edilen parametreler arasındaki farklılıklar, en yüksekten en düşüğe doğru sırasıyla aşağıdaki gibi bulunmuştur;

Toplam aerobik bakteri: O5> O3=H3=H5> O4> O1=O2> A2=A3=H1=H2> A1=A4=H4

Maya ve Küf: O3> A1> H5> A2=O1> O2> O4> A3=O5=H3> A4=H1= H2=H4

***E. faecalis*:** H1=H5> O4>O1=O5> A1=A2=A3=A4=O2=O3=H2=H3=H4

***B. cereus*:** O3>O4=O5=H3>A4>H5>H4>A1=A2=A3=O1=O2=H1=H2

***S. aureus*:** O3> O5> A1=A2=A3=A4=O1=O2=O4=H1=H2=H3=H4=H5

Çizelge 4.11. Adana, Osmaniye ve Hatay'dan toplanan polen örneklerinin mikrobiyal yükleri ve bazı patojenlerin varlığı (log kob/g)

	TAB	MK	Ef	Bc	Sa
A1	2,9±0,02 ^d	3,81±0,04 ^b	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e
A2	3,53±0,08 ^{cd}	3,02±0,61 ^{cd}	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e
A3	3,35±0,21 ^{cd}	2,35±0,04 ^e	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e
A4	2,94±0,60 ^d	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^c	2,42±0,03 ^c	0,00±0,00 ^e
O1	3,93±0,03 ^c	3,12±0,01 ^{cd}	2,60±0,18 ^b	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e
O2	4,08±0,63 ^c	2,78±0,07 ^{cde}	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e
O3	5,75±0,56 ^{ab}	4,28±0,06 ^a	0,00±0,00 ^c	3,27±0,21 ^a	2,75±0,14 ^a
O4	5,18±0,01 ^b	2,68±0,20 ^{de}	2,70±0,18 ^{ab}	2,89±0,43 ^b	0,00±0,00 ^e
O5	6,35±0,02 ^a	2,45±0,07 ^e	2,63±0,09 ^b	2,92±0,04 ^b	2,4±0,15 ^b
H1	3,30±0,12 ^{cd}	0,00±0,00 ^f	2,86±0,05 ^a	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e
H2	3,54±0,48 ^{cd}	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e
H3	6,11±0,73 ^{ab}	2,42±0,13 ^e	0,00±0,00 ^c	2,85±0,17 ^b	0,00±0,00 ^e
H4	2,87±0,09 ^d	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^c	2,07±0,07 ^d	0,00±0,00 ^e
H5	5,49±0,02 ^{ab}	3,19±0,11 ^c	2,89±0,08 ^a	2,25±0,15 ^{cd}	0,00±0,00 ^e

TAB: Toplam Aerobik Bakteri; MK: Maya/Küf; Ef: *E. faecalis*; Bc: *Bacillus cereus*; Sa: *Staphylococcus aureus*

Arıcılar polen hasadı için, polen tuzaklarını kullanmaktadır. Ancak, yapılan bu işlemler steril olmayan koşullarda yapılmaktadır. Bu işlemler (toplama, taşıma, depolama ve ticareti) esnasında çeşitli mikroorganizmalar ile bulaşabilme ihtimali ortaya çıkmaktadır. Çiçekten kovana doğru çeşitli basamaklarda (toz, hava, böcekler, hayvanlar ve insan kaynaklı) kirleticilerle maruz kalmaktadır. Arıcılar, şeker, su ve süttten oluşan bir şurup ile arılarını besleme yaptığı bildirilmiştir. Bu besin bileşiminin bakteriler ve küfler için uygun bir ortam oluşturduğu ve polendeki mikrobiyal yükün riskini arttıracığı görüşü bulunmaktadır (Belhadj, vd., 2014).

Tüketici açısından etkin hijyenik ve sanitize işlemleri yapılmadan, arı poleni toplama işlemi yapıldıktan sonra kurutma, saflaştırma, paketleme, depolama işlemleri yapılmakta ve satışa sunulduğu bildirilmiştir. Polen örnekleri 40 °C’de kurutulduğu zaman içerdiği mikrobiyal popülasyonun elimine edilmesinin mümkün olmadığını rapor edilmiştir (Belhadj, vd., 2014).

Polen oluşumu ve toplanması genellikle ılık ve nemli mevsimlerde yapılmaktadır. Bu çevre koşulları mikroorganizmaların gelişimleri ve çoğalması için ideal ortamları oluşturmaktadır. Bu sebeple, polen gerek tüketici gerekse raf ömrü bakımından muhtemel sağlık riskleri oluşturabilecek çeşitli mikroorganizmalar açısından önemli bir araç olarak bildirilmiştir (Belhadj, vd., 2014).

Bu çalışmada, 14 polen örneğinde toplam aerobik bakteri sayısının (log kob/g) 2,87 ile 6,35 arasında değiştiği bulunmuştur. İncelenen 10 örnekte maya ve küf sayısının 2,35 ile 4,28, 4 polen örneğinde *E. faecalis*’in 2,6 ile 2,86, 7 örnekte *B. cereus*’un 2,07 ile 3,27 ve 2 örnekte ise *S. aureus*’un 2,4 ile 2,75 arasında değiştiği saptanmıştır.

Avrupa Birliği kriterlerine göre, polen ile yapılan mikrobiyolojik çalışmalarda, *Salmonella* sp., *S. aureus*, Enterobacteriaceae ve *E. coli*’nin bulunmaması, toplam aerobik bakteri sayısının 10^5 kob/g’den düşük ve küf ve maya sayısının 10^4 kob/g’den daha düşük olması gerekliliği bildirilmiştir (Campos, vd., 2008). Bu çalışmada ise 5 polen örneğinde tespit edilen toplam aerobik bakteri sayısının 10^5 kob/g’den ve 1 örnekte küf ve maya sayısının 10^4 kob/g’den daha yüksek olduğu

saptanmıştır. Ayrıca 2 örneğin *S. aureus* bakımından pozitif olması Avrupa Birliği tarafından önerilen kritere uygun olmadığını göstermektedir.

Önceki çalışmalar ile bu çalışmada tespit edilen sonuçları karşılaştırdığımızda ise bazı örneklerde toplam aerobik bakteri ve maya/küf sayısının Belhadi vd. (2014)'nin bulduğu değerler ile benzerlik gösterdiği fakat Feas vd. (2012) ve Nogueira, vd. (2012)'nin bulduğu değerlerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca, bu çalışmada tespit edilen *S. aureus* sayısının Belhadi vd. (2014)'nin bulduğu değerlerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Belhadi vd. (2014)'nin yapmış olduğu çalışmada Enterobacteriaceae, koliformlar, *E. coli*, *Salmonella* sp., ve yine diğer bir araştırmada ise koliform bakterilerin 2 örnekte bulduklarını rapor edilmiştir (Feas, vd., 2012) (Çizelge 4.12). Önceki çalışmalardan farklı olarak, yapılan bu çalışmada polen örneklerinin Enterobacteriaceae, koliformlar, *E. coli* ve *Salmonella* sp. içermediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.12. Önceki polen çalışmalarının mikrobiyolojik analiz sonuçları ve değerlendirmeleri

Cezayir (n=15)	pH	4,55-6,29	Polenlerin mikrobiyolojik kalite bakımından kabul edilemeyen bir kalitede olduğu ve tehlikeli bir gıda maddesi olduğu belirtilmiştir.	(Belhadj, vd., 2014)
	nem (%)	18,11-36,29		
	Toplam aerobik mezofilik sayısı (log kob/g)	3,3-5,49		
	Küf/maya sayısı (log kob/g)	2,3-6,99		
	<i>S. aureus</i> (log kob/g)	2,30-8,32		
	Enterobacteriaceae (log kob/g)	4,18-8,06		
	<i>Salmonella</i>	(+, n=7)		
<i>Escherichia coli</i>	+			
Portekiz (n=22)	Toplam aerobik mezofilik sayısı (log kob/g)	3,38-2,65	Polenlerin mikrobiyolojik kalite bakımından son derece iyi olduğu rapor edilmiştir.	(Feas, vd., 2012)
	Küf/maya sayısı (log kob/g)	2,0-3,58		
	fekal koliformlar	1,3-1,47 (n=2)		
	<i>E. coli</i>	-		
	<i>Salmonella</i>	-		
	<i>S. aureus</i>	-		
Sülfid indirgeyen Clostridia	-			
Portekiz (n=8)	Toplam aerobik mezofilik sayısı (log kob/g)	3,93 (n=1)	Aerobik mezofil mikroorganizma ve maya/küf sayılarının standart kriterlere uygun olduğunu ve güvenli olarak tüketilebileceği rapor edilmiştir.	(Nogueira, vd., 2012)
	Küf/maya sayısı (log kob/g)	2,41-2,97 (n=4)		
	Koliform	-		
	<i>E. coli</i> ,	-		
	<i>S. aureus</i> ,	-		
	<i>Salmonella</i>	-		
Sülfid indirgeyen klostridia	-			

Bu çalışmada, örneklerin % 36'sında yani 5 polen örneğinde tespit edilen toplam aerobik bakteri sayısının 10^5 kob/g'dan ve örneklerin % 7'sinde yani 1 örnekte küf ve maya sayısının 10^4 kob/g'dan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Toplam aerobik bakteri sayısının yüksek olmasının nedeninin polenin doğal florasında bulunan saprofitler ya da gıda da bulunan doğal mikroorganizmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

E. faecalis, *B. cereus* ve *S. aureus*'un polenlerde tespit edilmesi, polenlerin çeşitli basamaklarda kontamine olduğunu göstermektedir. *E. faecalis*, feçes kaynaklı olan bir bakteri olup feçes dışında çeşitli çevrelerde (toprakta, suda, bitkilerde, böceklerde) bulunmaktadır. Gıdalarda bu bakterinin bulunması gıdanın feçes kaynaklı bir kirlenmeye ya da diğer Salmonella veya Listeria türleri gibi bakterilerin bulunacağı anlamına gelmediği bildirilmektedir Bu bakterinin genel olarak bitkilerde bulunmasından dolayı sanitasyon indikatörü olarak değerlendirilmemesi gerektiği bildirilmiştir (Kaleli ve Durlu-Özkaya, 2000). Örneklerin hiç birisinde enterik kaynaklı patojen mikroorganizmaların bulunmaması da bu bilgileri doğrulamaktadır.

B. cereus'un, toprakta ve bitkilerde genel olarak bulunan bir tür olduğu rapor edilmiştir. Bu bakterinin 10^6 'dan daha düzeyde çeşitli hazırlanmış gıdalarla alındığı zaman gıda kaynaklı zehirlenmelere sebep olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında analiz edilen 7 örnekte *B. cereus*'un 2,07 ile 3,27 arasında bulunduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara dayanarak, polenin direk olarak tüketildiği zaman analiz edilen bu bakteri bakımından risk oluşturmayacak bir sayıda olduğu, ancak çeşitli gıdaların hazırlanması ve bekletilmesi esnasında kullanıldığı zaman, risk teşkil etme ihtimalinin yüksek olacağı net bir şekilde görülmektedir.

S. aureus bakterisi doğal floramızda normal olarak bulunan bir bakteri olup gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilen ve gıdaya bulaşmasındaki en önemli etkenin ise insan kaynaklı olduğu bildirilmektedir. Gıdalara çevresel kaynaklar (toz, hava, su vb.) aracılığıyla da *S. aureus*'un bulaştığı bildirilmiştir (Tükel ve Doğan, 2000). Bu tez çalışmasında 2 örnekte tespit edilen bu bakterinin polene geçiş kaynağı bilinmemektedir. Sonuç olarak, bulaşmada rol oynayan zincirlerin kontrol edilmesi ve gerekli önlemlerin alınması gerekli olduğu görülmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Osmaniye, Adana ve Hatay illerinden toplanan 14 polen örneği çeşitli parametreler yönünden analiz edilmiştir. Bu analizler kapsamında renk hem kalitatif hem de kantitatif olarak belirlenmiştir. Kalitatif analizlerde polenin rengi görsel olarak incelenmiş ve farklı renkteki (yeşil, sarı, turuncu, kahverengi ve siyah) granüllerden meydana geldiği tespit edilmiştir. Farklı renkte olan bu biyolojik yapılar ayrıca renk ölçer ile çeşitli parametreler yönünden incelenmiştir. Temel renk bileşimleri kapsamında L, a ve b değerlerinin ölçümleri yapılmıştır. Bu değerler esas alınarak Chroma ve Hue değerleri de tespit edilmiştir. Polenlerin farklı renkler taşımasından dolayı bu aralıklarında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Polenlerin kuru madde, nem miktarı, pH değerleri, klorofil a ve b, karotenoid, fenolik ve flavonoid miktarları tayin edilmiştir. Belirtilen bu parametreler ile ilgili benzer veya farklı değerlerin analiz edilen polen örneklerinde mevcut olduğu görülmüştür. Polenlerin etanol ekstraktları, şimdide kadar test edilmemiş farklı antioksidan test yöntemleri (DPPH % inhibisyonu, indirgeyici güç kapasitesi, %NO ve H₂O₂ süpürme aktivitesi) ile denemeleri yapılmış ve anlamlı düzeyde oksidant maddeleri süpürücü özelliğe sahip oldukları belirlenmiştir. Polen örnekleri mikrobiyal kalite parametreleri ve patojen varlığı yönünden test edildiği zaman hiçbir örneğin total laktik asit bakterisi, Enterobacteriaceae, koliformlar, *E. coli*, *Salmonella* sp., *A. hydrophila*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, ve *C. perfringens* içermediği belirlenmiştir. 14 polen örneğinde toplam aerobik bakteri sayısının (log kob/g) 2,87 ile 6,35, 10 örnekte maya ve küf sayısının 2,35 ile 4,28, 4 polen örneğinde *E. faecalis* 'in 2,6 ile 2,86, 7 örnekte *B. cereus*'un 2,07 ile 3,27 ve 2 örnekte ise *S. aureus*'un 2,4 ile 2,75 arasında değiştiği saptanmıştır. Bu çalışmada ise 5 polen örneğinde tespit edilen toplam aerobik bakteri sayısının 10⁵kob/g'dan ve 1 örnekte küf ve maya sayısının 10⁴ kob/g'dan daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca 2 örneğin *S. aureus* bakımından pozitif olması Avrupa Birliği tarafından önerilen kritere uygun olmadığını göstermektedir. Bu tezin öneriler kapsamında;

- 1) Polen granüllerinin flora çeşitliliğinin belirlenmesi;
- 2) Etanol ekstraktının kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi;
- 3) Klorofil bulunması ile ilgili araştırmaların yapılması;
- 4) Önemli antioksidan kapasitelerine sahip olması nedeniyle bölgede arıcılık potansiyelinin teşvik edilmesi;
- 5) Polenlerin temel ana bileşenlerinin tespit edilmesi

KAYNAKLAR

- Akın, N., Akın, M., Gıda Mikrobiyolojisine giriş, önemli mikroorganizmalar ve mikroorganizma kaynakları, (Editör: Osman Erkmen), Gıda Mikrobiyolojisi, Elif Yayınevi, Ankara, Türkiye, 4-48, 2010.
- Anonim1, 2016 “Yüzyılları deviren Oganik Bir Gıda: Bal”, Erişim adresi: <http://www.dunyagida.com.tr/haber.php?nid=3895>, Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim2, 2016 “Polenin Tarihçesi”, Erişim adresi: <http://www.gercekpolen.com/index.php/79-gercek-polen/polen/78-polenin-tarihcesi> , Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim3, 2016 “Arıcılığın Tarihçesi ve Gelişmesi- Arıcılık Güner Kayral”, Erişim adresi: <http://www.aricilik.info/aricilik-bilgileri/aricilik/ariciligin-tarihcesi-ve-gelismesi.html> Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim4, 2016 “Arıcılık, Dr. Ali Korkmaz, Ziraat Yüksek Mühendisi SAMSUN/2010”, Erişim Adresi : www.samsun.tarim.gov.tr/Belgeler/Yayinlar/Kitaplarımız/aricilik.pdf , Erişim Tarihi: 08.03.2016.
- Anonim5, 2016 “Bee Humble Apiaries/Bee Products”, Erişim adresi: <http://beehumbleapiaries.com> , Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim6, 2016 “Ancient History of Bee Honey (ALO ELF)”, Erişim adresi: <http://www.aloelf.com>, Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim7, 2016 “Türkiye Arı Yetiştiricileri Merkez Birliği”, Erişim adresi: <http://www.tab.org.tr>, Erişim Tarihi: 08.03.2016.
- Anonim8, 2016 “Image of Temple Merneptah Ancient Egyptian Hieroglyphs Duck Sedge Bee Ankh Henen in Museum Annex for Pharagh who Reigned (Jim Henderson)”, Erişim adresi: <http://sc.theimagefile.co.uk>, Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim9, 2016 “Anteridyum Ne Demek”, Erişim adresi: <https://www.neolaki.net>, Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim10, 2016 “Polen”, Erişim adresi: <https://www.google.com.tr/search?q=polen>, Erişim Tarihi:08.03.2016.

- Anonim11, 2016 “Çiçekli Bitkilerde Üreme Hücrelerinin Oluşumu”, Erişim adresi:
<http://www.ebadersleri.com> Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim12, 2016 “Arı Ürünleri Polen Propolis pdf”, Erişim adresi:
[www.ibb.gov.tr/tr TR/kurumsal/Birimler/.../KoloniYapisi ve Görevleri.pdf](http://www.ibb.gov.tr/tr/TR/kurumsal/Birimler/.../KoloniYapisi_ve_Gorevleri.pdf), Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim13, 2016 “ITIS Standard Report Page: *Apis mellifera*”, Erişim adresi:
<http://www.itis.gov/servlet/>, Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim14, 2016 “Apiterapi-Bal Doktorum”, Erişim adresi: www.baldoktorum.com ,
Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim15, 2016 “Michigan Beekeepers Association”, Erişim adresi:
www.michiganbees.org , Erişim Tarihi: 08.03.2016.
- Anonim16, 2016 “Pollen-Why Do Bees Collect It?” Bees On The Net, Erişim
Adresi: www.bees-on-the-net.com , Erişim Tarihi: 08.03.2016.
- Anonim17, 2016 “Bee Pollen Granules”, Erişim adresi: www.peaceriverbees.com ,
Erişim Tarihi: 08.03.2016.
- Anonim18, 2016 “Nutritional. Value of Bee Collected. Pollens”, Erişim adresi:
<https://rirdc.infoservices.com.au/downloads/01-047>, Erişim
Tarihi:08.03.2016.
- Anonim19, 2016 “Arı Ürünlerin Üretilmesi ve Değerlendirilmesi ppt”, Erişim adresi:
[www.slideshare.net/taytanik/15-ar-rnlerinin-retimi-ve
değerlendirilmesi](http://www.slideshare.net/taytanik/15-ar-rnlerinin-retimi-ve-degerlendirilmesi) , Erişim Tarihi: 08.03.2016.
- Anonim20, 2016 “Arı Yetiştiriciliği Eğitimi”, Erişim adresi:
[www.ibb.istanbul/trTR/kurumsal/Birimler/VeterinerHizmetleriMd/Pages/AriY
etistiriciligiEgitimi.aspx](http://www.ibb.istanbul/trTR/kurumsal/Birimler/VeterinerHizmetleriMd/Pages/AriY
etistiriciligiEgitimi.aspx), Erişim Tarihi: 08.03.2016.
- Anonim21, 2016 “Laktik Asit Bakterilerinin Mikrobiyolojik Analizi”, Erişim adresi:
[http://www.diatek.com.tr/Makale-Yontem/Mikrobiyolojik-
Analiz/Laktik-Asit- Bakterilerinin-Mikrobiyolojik Analizi_214.htm](http://www.diatek.com.tr/Makale-Yontem/Mikrobiyolojik-Analiz/Laktik-Asit-Bakterilerinin-Mikrobiyolojik-Analizi_214.htm),
Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim22, 2016 “Enterobacteriaceae”, Erişim adresi:
<http://www.mikrobiyoloji.org/TR> , Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Anonim23, 2016 “Coğrafya Harita”, Erişim adresi: <http://www.cografyaharita.com> ,
Erişim Tarihi: 08.03.2016.

Anonim24, 2016 “Coğrafya Hocası” , Erişim adresi: <http://cografyahocasi.com> ,
Erişim Tarihi: 08.03.2016.

Anonim25, 2016 “Osmaniye İl Haritası”, Erişim adresi:
<http://www.osmaniye.gov.tr/osmaniye-haritasi>

Anonim26, 2016 “Coğrafya Dünyası, Osmaniye”, Erişim adresi:
<http://cografya.gen.tr/tr/Osmaniye> , Erişim Tarihi: 08.03.2016.

Anonim27, 2016 “Orman ve Su İşleri Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü” ,
Erişim adresi: <http://www.mgm.gov.tr> , Erişim Tarihi: 08.03.2016.

Anonim28, 2016 “Adana Valiliği”, Erişim adresi:
<http://www.adana.gov.tr/?act=cografya> , Erişim Tarihi: 08.03.2016.

Anonim29, 2016 “Performing a Gram Stain” , Erişim adresi:
<http://www.madsci.org/~lynn/micro/staining/GramStain/>, Erişim Tarihi:
08.03.2016.

Anonim30, 2016 “BSCI424-Pathogenic Microbiology-Fall 200, The Gram Stain” ,
Erişim adresi:
<http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/LabMaterials/Methods/GramStain.html>, Erişim Tarihi: 08.03.2016.

Anonim31, 2016 “Microbiology notes”, Erişim adresi:
<http://www.microbiologyinfo.com/endospore-staining-principle-reagents-procedure-and-result> , Erişim Tarihi: 08.03.2016.

Anonim32, 2016 “Oxidation Fermentation(OF) test: Principle, Procedure and Result
Inter pretation”, Erişim adresi:
<http://www.microbesininfo.com/2015/03/218>, Erişim Tarihi:
08.03.2016.

Anonim33, 2016 “Koagülaz testi”, Erişim adresi:
<http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr> , Erişim Tarihi: 08.03.2016.

Ayhan, K., Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Armar Matbaacılık, Ankara, 49, 2000.

Belhadj, H., Harzallah, D., Dahamna , S., Khennouf, S., Microbiological quality control of marketed pollen, Der Pharmacia Lettre, 6 (2), 37-42, 2014.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Food Science and Technology*, 28 (1), 25-30, 1995.
- Campos, M.R.G., Bogdanov, S., de Almeida-Muradian, L.M.B., Szczesna, T., Mancebo, Y., Frigerio, C., Ferreira, F., Pollen composition and standardisation of analytical methods, *Journal of Apicultural Research*, 47, 156–163, 2008.
- Carpes, S.T., Mourao, G.B., de Alencar, S.M., Masson, M.L., Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil, *Brazilian Journal of Food Technology*, 12 (3), 220-229, 2009.
- Cemeroğlu, B., Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 34, Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 2000.
- Chen, Q., Bi, J., Wu, X., Yi, J., Zhou, L., Zhou, Y. Drying kinetics and quality attributes of jujube (*Zizyphus jujuba* Miller) slices dried by hot-air and short- and medium-wave infrared radiation. China, *LWT-Food Science and Technology* 64 (2015) 759-766, 2015.
- Cigremis, Y., Ulukanli, Z., Ilcim, A., Akgoz, M., In vitro antioxidant and antimicrobial assays of acetone extracts from *Nepeta meyeri* Bentham, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 14 (8), 661-668, 2010.
- Çakır, İ., *Aeromonas hydrophila*, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 427-432, 2000.
- Doğan, H., *Listeria monocytogenes*, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 373-386, 2000.
- Doğan, H.B., Tükel, Ç., Toplam (Aerobik Mezofilik) Bakteri, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 323-324, 2000.
- Doğan, H.B., Tükel, Ç., *Staphylococcus aureus*, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 357-366, 2000.

- Durlu-Özkaya, F., Salmonella, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 345-356, 2000.
- Durlu-Özkaya, F., Kuleaşan, H., Maya ve Küf, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 329-334, 2000.
- Feas, X.X., Vazquez-Tato, M.P., Estevinho, L., Seijas, J.A., Iglesias, A., Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality, *Molecules*, 17, 8359-8377, 2012.
- Hervatin, H.L., Microbiológica e Físico-Química do Pólen Apícola in Natura e Desidratado sob Diferentes Temperaturas. Tese de Mestrado em Ciência de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil, 2009. <http://www.aricilik.info>, Erişim Tarihi:08.03.2016.
- Kaleli, D., Durlu-Özkaya, F., Enterokok Aranması, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 387-394, 2000.
- Kaleli, D., Durlu-Özkaya, F., *Bacillus cereus*, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 395-401, 2000.
- Kuleaşan, H., *Clostridium perfringens*, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Gıda Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 367-372, 2000.
- Morais, M., Moreira, L., Feas, X., Estevinho, L.M., Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity, *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1096– 1101, 2011.
- Nogueira, C., Iglesias, A., Feas, X., Estevinho, L.M., Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach, *International Journal of Molecular Science*, 13, 11173-11187, 2012.

- Oyaizu M., Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, Japanese Journal of Nutrition, 44, 307-315, 1986.
- Ruch, R.J., Cheng, S.J., Klaunig, J.E., Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea, Carcinogenesis, 10, 1003-1008, 1989.
- Sardar, A.A., Khan, Z.D., Perveen, A., Farid, S., Khan, I.U., In vitro antioxidant potential and free radical scavenging activity of various extracts of pollen of *Typha domigensis* Pers., Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 27 (2), 279-284, 2014.
- Serra, J., Escola, R., Nutrient composition and microbiological quality of honeybee-collected pollen in Spain, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 725-732, 1997.
- Yeşiltaş, B., Çapanoğlu, E., Durmuş Fıratlıgil, E., Boyacıoğlu, D., İstanbul'dan toplanan polen örneklerinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi. 3. Gıda Güvenliği Kongresi, 3-4 Mayıs, 2012, İstanbul, Türkiye, 2012.

ÖZGEÇMİŞ

1. Adı Soyadı : Tuğçe KAYAR
2. Doğum Tarihi : 10.12.1990
3. Ünvanı : Biyolog
4. Öğrenim Durumu : Lisans
5. e-mail : kayartugce90@hotmail.com

Derece	Bölüm/Program	Okul Adı	Bitirme Yılı
Lise	Fen Bilimleri	Adana Erkek Lisesi	2007
Lisans	Biyoloji	Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi	2013

6. İş Tecrübesi:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Biyolog	Adana Marsa Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi	2014-2015