

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**POLENDE BULUNAN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN ENKAPSÜLASYONU
İLE BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİN ARTIRILMASI VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aslı AKDAŞ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

TEMMUZ 2024

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**POLENDE BULUNAN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN ENKAPSÜLASYONU
İLE BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİN ARTIRILMASI VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Aslı AKDAŞ
(506211502)**

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER
Eş Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Gülay ÖZKAN**

TEMMUZ 2024

ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY★ GRADUATE SCHOOL

**INCREASING THE BIOACCESSIBILITY OF BIOACTIVE COMPONENTS IN
BEE POLLEN BY ENCAPSULATION AND EVALUATION OF
ANTIMICROBIAL PROPERTIES**

M.Sc. THESIS

**Aslı AKDAŞ
(506211502)**

Department of Food Engineering

Food Engineering Programme

**Thesis Advisor: Prof. Dr. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER
Co-Advisor: Assistant Professor Gülay ÖZKAN**

JULY 2024

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 506211502 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Aslı AKDAŞ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “POLENDE BULUNAN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN ENKAPSÜLASYONU İLE BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİN ARTIRILMASI VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER** .
İstanbul Teknik Üniversitesi

Eş Danışman : **Dr. Öğr. Üyesi. Gülay ÖZKAN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Nurullah DEMİR
Bingöl Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Merve YAVUZ DÜZGÜN.....
Altınbaş Üniversitesi

Teslim Tarihi : 23 Mayıs 2024
Savunma Tarihi : 9 Temmuz 2024





Aileme,



ÖNSÖZ

Bu tezde, Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinden elde edilen arı polenin ekstraktı değişik oranlarda beta siklodekstrin ile kapsüllendi. Elde edilen kapsüllerin karakterizasyonu enkapsülasyon verimi, zeta potansiyeli ve parçacık boyutu analizleri ile belirlendi. En yüksek enkapsülasyon verimine sahip kapsül *in vitro* sindirime tabi tutuldu. Sindirim öncesi enkapsüle polen ve *in vitro* sindirim ile mide ve bağırsak sindirimine uğramış enkapsüle polen örneklerinin toplam fenolik içeriği, toplam flavonoid içeriği ve toplam antioksidan kapasite değerleri belirlenerek biyoerişilebilirlikleri incelenmiştir. Aynı örneklerin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) tekniği kullanılarak, fenolik bileşen profilleri belirlenmiştir. Aynı zamanda en yüksek enkapsülasyon verimi gösteren kapsülün, kapsülün elde edilmesinde kullanılan polen ekstraktının ve yalnızca kaplama maddesi içeren kapsüllerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 0402 suşları seçilmiş, minimum inhibisyon konsantrasyonu ve minimum bakteriyosidal konsantrasyonu belirlenmiştir. Bu tez MYL-2022-44188 proje numarası ve “*Polende Bulunan Biyoaktif Bileşenlerin Enkapsülasyonu ile Biyoerişilebilirliğin Artırılması ve Antimikrobiyal Özelliklerin Değerlendirilmesi*” başlıklı BAP projesi kapsamında desteklenmiştir.

Tez çalışmam sürecince benden desteğini esirgemeyen, değerli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile beni yönlendiren sevgili danışmanım Prof. Dr. H. FUNDA KARBANCIOĞLU GÜLER ve eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Gülay ÖZKAN başta olmak üzere, analiz aşamam sürecinde ilgisini, önerilerini ve yardımlarını göstermekten kaçınmayan, hocam Araş. Gör. DİLARA DEVECİOĞLU'NA yardımlarından dolayı sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Temmuz 2024

ASLI AKDAŞ
(Gıda Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET	xix
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 Arı Ürünleri	3
2.2 Polen.....	3
2.3 Enkapsülasyon.....	6
2.4 Fenolik Bileşenlerin Biyoerişilebilirlik ve Biyoaktivite Özellikleri	7
3. MATERYAL VE METOD.....	11
3.1 Materyal	11
3.2 Polen Ekstraktlarının Hazırlanması.....	11
3.3 Spektrofotometrik Analizler	12
3.3.1 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi (TPM).....	12
3.3.2 Toplam flavanoid madde miktarının belirlenmesi (TFM)	12
3.3.3 Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi (TAK)	12
3.4 Enkapsülasyon için Toz Polen Ekstraktlarının Hazırlanması (PE).....	13
3.5 İnklüzyon Komplekslerinin Hazırlanması (EP)	13
3.6 Elde Edilen Kapsüllerin Karakterizasyonu	14
3.6.1 Zeta potansiyeli ve parçacık boyutu dağılımı ölçümü	14
3.6.2 Kapsülleme veriminin belirlenmesi	14
3.7 <i>In Vitro</i> Gastrointestinal Sindirim	15
3.8 HPLC Kullanılarak PE:BSD İnklüzyon Kompleksinin Fenolik Madde Kompozisyonunun Belirlenmesi	15
3.9 Antimikrobiyal Analiz.....	16
3.10 İstatistiksel Analiz	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	19
4.1 Polen Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçerik, Toplam Flavonoid İçerik ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	19
4.2 Polen Ekstraktlı ve Polensiz Kapsüllerin Karakterizasyonu	21
4.2.1 Polen ekstraktlı ve polensiz kapsüllerin parçacık boyutu ve zeta potansiyelinin belirlenmesi	21
4.2.2 Enkapsülasyon veriminin belirlenmesi	22
4.4 HPLC Kullanılarak Polen Kapsüllerindeki Fenolik Bileşiklerin Miktarının Belirlenmesi ve Tanımlanması	26
4.5 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	27

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR.....	39



KISALTMALAR

BSD	: Beta siklodekstrin
EP	: Enkapsüle Edilmiş Polen
MBK	: Minimal Bakterisidal Konsantrasyon
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller-Hinton Broth
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
PE	: Polen Ekstraktı
PE:BSD	: Polen Ekstraktı:Beta siklodesktrin
TAK	: Toplam Antioksidan Kapasite
TFM	: Toplam Flavonoid Madde Miktarı
TPM	: Toplam Fenolik Madde Miktarı



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 : İzotonik tuz çözeltisi kimyasal bileşimi.	17
Çizelge 4.1 : Polenin fenolik içeriği ve antioksidan potansiyeli.	19
Çizelge 4.2 : Polen ekstraktı içeren ve içermeyen PE:BSD kapsüllerinin parçacık boyutu ve zeta potansiyeli.....	21
Çizelge 4.3 : <i>İn vitro</i> gastrointestinal sindirimin EP'deki fenolik içerik ve antioksidan aktivite üzerine etkisi.....	24
Çizelge 4.4 : <i>İn vitro</i> sindirimin kapsüllenmiş EP'deki biyoaktif bileşiklerin üzerindeki etkisi.	26
Çizelge 4.5 : Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) and minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) (mg/mL).	28



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Arı polenin bal arıları tarafından toplanma süreci (Thakur & Nanda, 2020).....	4
Şekil 2.2 : Ticari polenin besin öğeleri ve metabolik yollar sonucu biyoaktivitesi (Li vd., 2018).....	5
Şekil 2.3 : Bir kaplama maddesi ve bir aktif madde arasında bir katılım kompleksinin oluşumunun şematik gösterimi (Kfoury vd., 2018).....	7
Şekil 4.1 : PE:BSD içeren kapsüllerin kapsülleme verimi (%) üzerindeki etkisi.....	23



ARı POLENİNDE BULUNAN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN ENKAPSÜLASYONU İLE BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİN ARTIRILMASI VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Arı ürünleri, yüksek kaliteli biyoaktif bileşikler açısından zengin olmaları ve güçlü iyileştirici özellikleri nedeniyle halk sağlığında önemli bir yer tutmaktadır. Arı poleni, arılar tarafından koloninin büyümesi ve bakımı için hayati öneme sahip bir besin maddesidir. Arı poleni, polifenoller, triterpenler, karotenoidler, fosfolipitler, fitosteroller, biyoaktif peptitler, organik asitler, prebiyotikler ve probiyotikler gibi birçok biyoaktif bileşik içerir. Bu bileşiklerin çoğu, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antioksidan, antikanser gibi terapötik özelliklere sahiptir.

Enkapsülasyon, aktif bir maddenin, kaplama malzemesi olarak adlandırılan bir diğer madde içine kapatılmasını sağlayan bir prosedürdür, bu süreç mikro veya nanopartiküllerin oluşmasına neden olur. Siklodekstrinler, aktif maddelerle birlikte inklüzyon kompleksleri oluşturabilirler. Arı polenin kapsüllemesi, biyoaktif bileşenlerin kullanılabilirliğini artırır ve bozulmasını önler, bu da etkin bir koruyucu yöntem olarak kabul edilir.

Bu çalışmada, Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinden alınan polen örneği 1:1, 1:2 ve 1:3 (w:w, polen ekstraktı:beta siklodekstrin, PE:BSD) oranlarında inklüzyon kompleksi oluşturmak amacıyla enkapsüle edilmiştir. Arı poleni ekstraktı içermeyen ve üç konsantrasyonda (1:1, 1:2 ve 1:3) arı poleni ekstraktı içeren inklüzyon komplekslerinin karakterizasyonu, enkapsülasyon verimi, parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Polen ekstraktı yüklendiğinde beta siklodekstrin kaplama materyalinin yüzey yükü pozitiften negatife dönmüştür. Polen ekstraktının yüklenmesiyle beta siklodekstrinlerin zeta potansiyeli, 1:1, 1:2 ve 1:3 oranları için sırasıyla $+3,66 \pm 0,4$ mV'den $24 \pm 1,3$, $-22 \pm 2,8$ ve $-23,5 \pm 4,7$ mV'ye düşmüştür. Kapsüllerin parçacık boyutu, içerdikleri polen konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık göstermiştir. Polen ekstraktı içermeyen kapsüllerin parçacık boyutu $173,1 \pm 1,5$ nm iken, 1:1, 1:2 ve 1:3 konsantrasyonlarıyla hazırlanan kapsüllerin boyutları sırasıyla $373,5 \pm 3,4$, $410,05 \pm 5$ ve $640 \pm 2,1$ nm olarak ölçülmüştür.

Enkapsülasyon verimi, %64'lük bir verimle 1:2 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonunda, %55'lik bir verimle 1:3 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonunda ve %48'lik bir verimle 1:1 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonunda ölçülmüştür. En yüksek enkapsülasyon veriminin elde edildiği 1:2 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonlu kapsül, *in vitro* sindirim ve antimikrobiyal analizlerde kullanılmak üzere seçilmiştir.

Polen ekstraktının, sindirim öncesi ve *in vitro* sindirim ile mide ve bağırsak sindirimine uğramış enkapsüle polen örneklerinin toplam fenolik, flavonoid içeriği ve antioksidan kapasitesi incelenmiş ve biyoerişilebilirlikleri değerlendirilmiştir. Polen ekstraktının toplam fenolik madde miktarı (Folin Ciocalteu yöntemiyle), toplam flavonoid madde miktarı ve toplam antioksidan kapasitesi (DPPH ve CUPRAC metodlarıyla) spektrofotometrik yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Polen ekstraktının toplam

fenolik madde miktarı 2817 ± 217 mg GAE/100 g, toplam flavonoid madde miktarı 5255 ± 317 mg QE/100 g ve CUPRAC antioksidan kapasitesi 3685 ± 248 mg TE/100 g ve DPPH antioksidan kapasitesi 4305 ± 495 mg TE/100 g bulunmuştur. 1:2 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonundaki kapsülün gastrointestinal sindirim süreci boyunca, toplam fenolik içeriği ve CUPRAC antioksidan kapasite değerleri azalmıştır. İlgili kapsüldeki spektrofotometrik analiz sonuçları, sindirilmemiş, mide ve bağırsak aşamaları için sırasıyla 1832 ± 30 , 1122 ± 25 ve 1420 ± 23 mg GAE/100 g toplam fenolik içeriğe sahip olduğunu göstermektedir. Mide aşamasında görülen azalmanın temel nedeni, düşük pH değerlerinde polifenollerin mide ortamında yapısal olarak değişime uğramasıdır. Sindirim sonrası kapsüllerde toplam fenolik içeriğin, toplam flavonoid içeriğin, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivitenin biyoerişilebilirliği sırasıyla %81, %52, %48 ve %76 olarak belirlenmiştir. Analiz sonuçları ve literatür araştırması, saf polenin enkapsüle polene göre daha düşük biyoerişilebilirliğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum, beta siklodekstrin kaplama maddesinin biyoerişilebilirliği artırdığına işaret etmektedir.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) tekniği kullanılarak, 1:2 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonundaki kapsülün fenolik bileşen profilleri araştırılmış ve *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası fenolik bileşiklerin miktarı belirlenmiştir. Polene enkapsülasyon işlemi uygulandığında trans-sinamik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, kafeik asit fenetil ester (KAFE), kuersetin-3-o-glukozit ve kuersetin olmak üzere altı fenolik bileşik tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları ve literatür karşılaştırması, enkapsülasyon işleminin bazı fenolik bileşiklerin miktarını ve varlığını etkilediğini ortaya koymuştur. Sindirim sürecinde, klorojenik asit, kuersetin-3-o-glukozit ve kuersetin gibi belirli fenolik bileşiklerin korunduğu ancak diğerlerinin kaybolduğu gözlemlenmiştir.

Aynı zamanda en yüksek enkapsülasyon verimi gösteren kapsülün, kapsülün elde edilmesinde kullanılan polen ekstraktının ve yalnızca kaplama maddesi içeren kapsüllerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 0402 suşları seçilmiş, minimum inhibisyon konsantrasyonu ve minimum bakteriyosidal konsantrasyonu belirlenmiştir. Kapsül ve ekstraktın 50-0,098 mg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda, polen ekstraktı içermeyen boş kapsül hariç, tüm test edilen bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur. Polen ekstraktı, enkapsüle polene göre daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiş ve *Bacillus cereus* ATCC 11778 suşuna karşı en yüksek MİK değeri 6,25 mg/mL olarak belirlenmiştir. Enkapsüle polen ise tüm bakteri suşları üzerinde 50 mg/mL MBK değeri ile benzer antibakteriyal etki göstermiştir. Polenin fenolik ekstrakt ile kaplanması ise antimikrobiyal etkisinde önemli bir değişiklik göstermemiştir. Bu durum, polen ekstraktının enkapsüle polene göre daha yüksek TPM ve TAC değerleri içermesinden kaynaklanabilir.

Sonuçlarımız, beta siklodekstrin kullanımının polen fenolikleriyle güçlü inklüzyon kompleksleri oluşturmak için etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir. Bu kompleksler, polenin enkapsülasyonunda kullanılarak kinetik stabiliteyi artırabilir ve fenolik bileşenlerin korunmasını sağlayabilir. Araştırmamız, moleküler inklüzyon tekniğinin arı polenin enkapsülasyonunda potansiyel bir strateji olarak öne çıktığını vurgulamaktadır. Moleküler inklüzyon yöntemi, saf polenle kıyaslandığında biyoaktif bileşenlerin daha etkin bir şekilde korunmasını ve biyoyararlılıklarının artmasını sağlamıştır. Bu çalışma, polenin beta siklodekstrin içinde moleküler inklüzyon yöntemiyle enkapsülasyonunun, fonksiyonel gıdalar ve gıda takviyeleri alanında

yenilikçi bir yol olarak değeriendirilebileceğini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, polenin beta siklodekstrin içinde moleküler inklüzyon yöntemiyle kapsüllenmesinin, fonksiyonel gıdalar ve besin takviyeleri ürünleri gibi alanlarda umut verici bir gelişme olarak kabul edilebileceğini göstermektedir.





INCREASING THE BIOACCESSIBILITY OF BIOACTIVE COMPONENTS IN BEE POLLEN BY ENCAPSULATION AND EVALUATION OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES

SUMMARY

Bee products hold a significant place in public health due to their richness in high-quality bioactive compounds and strong healing properties. Bee pollen is a vital nutrient collected by bees for the growth and maintenance of the colony. Bee pollen contains numerous bioactive compounds, such as polyphenols, triterpenes, carotenoids, phospholipids, phytosterols, bioactive peptides, organic acids, prebiotics, and probiotics. Many of these compounds possess therapeutic properties such as antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer effects.

Encapsulation is a procedure that allows an active substance to be enclosed within another material called a coating material, leading to the formation of micro or nanoparticles. Cyclodextrins can form inclusion complexes with active substances. The encapsulation of bee pollen increases the availability of bioactive components and prevents their degradation, making it an effective preservation method.

In this study, pollen samples from Turkey's Eastern Anatolia region were encapsulated in ratios of 1:1, 1:2, and 1: (w:w, pollen extract: beta cyclodextrin, PE:BSD) to form inclusion complexes. The characterization, encapsulation efficiency, particle size, and zeta potential of inclusion complexes containing pollen extract and those without pollen extract were measured. When pollen extract was loaded, the surface charge of the beta cyclodextrin coating material changed from positive to negative. The zeta potential of beta cyclodextrins decreased from $+3.66 \pm 0.4$ mV to -24 ± 1.3 , -22 ± 2.8 , and -23.5 ± 4.7 mV for the ratios 1:1, 1:2, and 1:3, respectively. The particle size of the capsules varied depending on the pollen concentration. The particle size of capsules without pollen extract was 173.1 ± 1.5 nm, while the sizes of capsules prepared with 1:1, 1:2, and 1:3 concentrations were 373.5 ± 3.4 , 410.05 ± 5 , and 640 ± 2.1 nm, respectively. The increasing particle size indicates that polyphenolic compounds can interact with the beta-cyclodextrin coating agent through irreversible interactions such as hydrophobic bridging, hydrogen bonding, van der Waals forces, and ionic interactions, or through covalent bonds.

The encapsulation efficiency was measured as 64% for the 1:2 (w/w; PE:BSD) concentration, 55% for the 1:3 (w/w; PE:BSD) concentration, and 48% for the 1:1 (w/w; PE:BSD) concentration. The capsule with the highest encapsulation efficiency (1:2 concentration) was selected for *in vitro* digestion and antimicrobial analyses.

Total phenolic, flavonoid content and antioxidant capacity of pollen extract, undigested and *in vitro* digested and encapsulated pollen samples that were digested in the stomach and intestines were examined and their bioaccessibility was evaluated. Total phenolic substance amount (by Folin Ciocalteu method), total flavonoid substance amount and total antioxidant capacity (by DPPH and CUPRAC methods) of the pollen extract were determined using spectrophotometric methods. The total

phenolic substance amount of the pollen extract is 2817 ± 217 mg GAE/100 g, the total flavonoid substance amount is 5255 ± 317 mg QE/100 g, and the CUPRAC antioxidant capacity is 3685 ± 248 mg TE/100 g and the DPPH antioxidant capacity is 4305 ± 495 mg TE/100. g was found. During the gastrointestinal digestion process of the capsule at 1:2 (w:w, PE:BSD) concentration, total phenolic content and CUPRAC antioxidant capacity values decreased. Spectrophotometric analysis results on the corresponding capsule show that it has a total phenolic content of 1832 ± 30 , 1122 ± 25 and 1420 ± 23 mg GAE/100 g for the undigested, stomach and intestinal phases, respectively. The main reason for the decrease seen in the stomach phase is the structural change of polyphenols in the stomach environment at low pH values. The bioaccessibility of total phenolic content, total flavonoid content, DPPH and CUPRAC antioxidant activity in the capsules after digestion were determined as 81%, 52%, 48% and 76%, respectively. Analysis results and literature research show that pure pollen has lower bioaccessibility than encapsulated pollen. This indicates that the beta cyclodextrin coating material increases bioaccessibility.

Using the high-performance liquid chromatography (HPLC) technique, the phenolic component profiles of the capsule at a concentration of 1:2 (w:w, PE:BSD) were investigated and the amount of phenolic compounds was determined before and after *in vitro* digestion. The phenolic acid with the highest ratio in EP at a concentration of 1:2 (PE:BSC; w/w) before digestion was KAFE with a value of 355 ± 2.5 mg/100 g. Among the flavonoids, quercetin-3-o-glucoside and quercetin come in second place with values of 235.5 ± 4.9 and 100.8 ± 6.4 mg/100g, respectively. During gastrointestinal digestion, chlorogenic acid, quercetin-3-o-glucoside and quercetin retained their presence, while other phenolic compounds were lost. No statistically significant difference was observed in the amount of flavonoids during gastric digestion. The amount of chlorogenic acid decreased significantly from 12 ± 0.8 mg/100 g to 2.2 ± 0.2 mg/100 g. The amount of chlorogenic acid decreased at the end of gastric digestion and increased at the end of intestine digestion. On the other hand, the amount of 3-o-glucoside and quercetin showed a continuous decreasing trend in gastric and intestine digestions. These results are directly proportional to the increasing TPM and decreasing TFM values when passing from gastric phase to intestine phase.

At the same time, in order to determine the antimicrobial activity of the capsule with the highest encapsulation efficiency, the pollen extract used to obtain the capsule, and the capsules containing only the coating substance, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Salmonella typhimurium* ATCC 0402 strains were selected, and the minimum inhibition concentration (MIK) and minimum bactericidal concentration (MBK) were determined. The capsule and extract were found to have antimicrobial effects against all tested bacteria at concentrations ranging from 50-0.098 mg/mL, except for the empty capsule that did not contain pollen extract. Pollen extract showed a higher antimicrobial effect than encapsulated pollen, with the highest MIK value against *Bacillus cereus* ATCC 11778 strain determined as 6.25 mg/mL. Encapsulated pollen showed a similar antibacterial effect on all bacterial strains with an MBC value of 50 mg/mL. Coating the pollen with phenolic extract did not show a significant change in its antimicrobial effect. This may be due to the pollen extract containing higher TPM and TAK values compared to encapsulated pollen. It has been shown that spore-forming bacteria exhibit higher antibacterial activity than non-spore-forming bacteria. As a result of antimicrobial analysis, *B. cereus* is a spore-forming bacteria and showed

higher antibacterial activity against non-spore-forming *E. coli*, *S. aureus* and *S. typhimurium*.

Our results have demonstrated that the use of beta cyclodextrin is an effective method for forming strong inclusion complexes with pollen phenolics. These complexes, when used in pollen encapsulation, can enhance kinetic stability and ensure the preservation of phenolic components. Our research highlights molecular inclusion technique as a potential strategy for encapsulating bee pollen. Compared to pure pollen, the molecular inclusion method has ensured more effective preservation of bioactive compounds and increased their bioavailability. This study suggests that encapsulation of pollen in beta cyclodextrin via molecular inclusion method can be considered as an innovative approach in the field of functional foods and dietary supplements. These findings indicate that encapsulation of pollen in beta cyclodextrin via molecular inclusion method represents a promising development in areas such as functional foods and dietary supplement products.





1. GİRİŞ

Arılar, Apidae familyasına mensup geniş bir sosyal böcek topluluğunu oluştururlar (Giampieri vd., 2022). Arı ürünleri, eski çağlardan bu yana hem besin değerleri hem de çeşitli tedavi amaçları için kullanılmaktadır. Potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olarak kabul edilen arı ürünleri, birçok hastalığın patogenezinde rol oynayan oksidatif stresin etkilerini ortadan kaldırabilirler (Martinello & Mutinelli, 2021).

Farklı bitki türlerine ait çiçek polenlerinin birleşimi, bal arılarının nektar ve tükürük bezlerinden salgıladığı enzimlerin (örneğin, amilaz, katalaz) etkisiyle granül formunda bir araya gelerek arı poleni olarak bilinen yapıları oluşturur (Denisow & Denisow-Pietrzyk, 2016). Arı poleni, proteinler, amino asitler, lipitler, karbonhidratlar, mineraller, vitaminler ve polifenoller gibi çeşitli biyoaktif bileşikler içermektedir (Durazzo vd., 2021). Arı poleninde bulunan çeşitli birincil ve ikincil metabolitler, antioksidan, anti-enflamatuar, antikanser, antibakteriyel, antifungal, hepatoprotektif ve anti-aterosklerotik gibi geniş bir yelpazede özellikler ve biyoaktiviteler sergilerler ve bağışıklık fonksiyonlarını değiştirme veya düzenleme yeteneğine sahiptirler (Denisow & Denisow-Pietrzyk, 2016).

Kapsülleme, polimerlerin bir veya bir karışımı olan matris malzemeleri tarafından sarılan ilgilenilen bileşiklerin işlemidir. Enkapsülasyon fenolik bileşiklerin hızlı bozunmasına karşı koruma sağlar ve bu bileşiklerin salınımını kontrol etmeye yardımcı olur (Jia vd., 2016). Siklodekstrinler, aktif maddelerle bir araya gelerek inklüzyon kompleksleri oluştururlar (Kfoury vd., 2018). Günümüzde, arı ürünleri, istenmeyen koku ve tatları gizleme, çevresel faktörlere karşı stabiliteyi sağlama, uçucu bileşenleri koruma, kontrollü salınımı yönetme, reaksiyonları engelleme ve gıda endüstrisinde taşıma ile depolamayı kolaylaştırma gibi amaçlarla kapsüllenmektedir (Dundar vd., 2022).

Arı poleni, flavonoidler, karotenoidler, fitosteroller ve terpenler gibi fenolik bileşiklere zengindir (Dias vd., 2016). Polifenollerin işlenme ve depolama koşullarından etkilenmesi, düşük suda çözünürlüğü, bağırsak kanalında kolay bozulmaları, zayıf

emilim ve geçirgenlik profili gibi faktörler, kullanımlarını güçleştirmektedir (Valdivia-Olivares vd., 2023). Arı poleni, dünya çapında besin değeri ve tıbbi özellikleriyle bilinmektedir; taze veya kurutulmuş formda, kapsüllerde veya besin takviyelerinde ticari olarak temin edilebilmektedir. Ancak, ısıya maruz kaldığında parçalanmaları nedeniyle, gıdalarda kullanımı hala sınırlıdır. Sonuç olarak, arı polenin kapsüllenmesi, gıda işleme alanında daha ileri araştırmalara olanak sağlayabilir (Thakur vd., 2021). Bunun yanı sıra, polen içeren kapsüllerin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ve yüzey aktivitesine sahip olduğu vurgulanmıştır (Baysal vd., 2022).

Bu alışmada, Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinden elde edilen arı polen ekstraktının farklı oranlarda beta siklodekstrin ile kapsüllenmesi gerçekleştirilmiş ve ardından *in vitro* sindirime tabi tutularak fenolik bileşenlerin biyoerişilebilirliği araştırılmıştır. En yüksek enkapsülasyon verimine sahip olan kapsüllenmiş polen ekstraktının antimikrobiyal etkisi de değerlendirilmiştir.

Elde edilen bulgular, beta siklodekstrin kullanımının polen fenolikleriyle güçlü inklüzyon kompleksleri oluşturmak için etkili bir strateji olduğunu göstermektedir. Bu kompleksler, polenin enkapsülasyonunda kullanılarak kinetik stabiliteyi artırabilir ve fenolik bileşenlerin korunmasını sağlayabilir. Araştırmamız, arı polenin enkapsülasyonunda moleküler inklüzyon tekniğinin umut vadeden bir yöntem olduğunu vurgulamaktadır.

Moleküler inklüzyon yöntemi, saf polenle karşılaştırıldığında biyoaktif bileşenlerin korunmasında ve biyoyararlılıklarının artmasında daha etkili olmuştur. Bu alışma, polenin beta siklodekstrin içinde moleküler inklüzyon yöntemiyle kapsüllenmesinin, fonksiyonel gıdalar ve gıda takviyeleri alanlarında yenilikçi bir yaklaşım sunabileceğini ortaya koymaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Arı Ürünleri

Arılar, Apidae familyasına ait geniş bir sosyal böcek grubudur. Modern arıcılık faaliyetlerimde en çok bilinen *Apis mellifera* türüne ait bal arıları çoğunlukla Avrupa, Amerika, Afrika ve Asya'da bulunmaktadır (Giampieri vd., 2022). Bal arıları uzman kimya mühendisleri ve kimyagerlerdir. Arı zehri, propolis, bal, balmumu, polen ve arı sütü gibi ürünleri hayvanlar alemindeki başarılarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Schmidt, 1997). Bu durum polen, bal, arı ekmeği, propolis ve arı sütü dahil olmak üzere bir dizi gıda endüstrisindeki arı ürünlerine olan ilginin artmasına yol açmıştır (Boyacıoğlu vd., 2022).

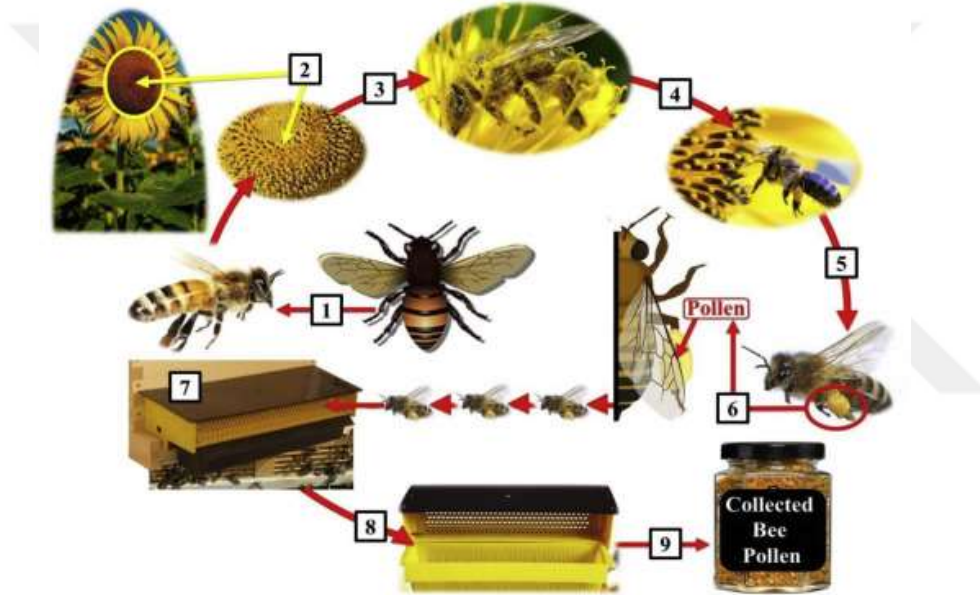
Arı ürünleri yaygın olarak yüksek kaliteli biyoaktif bileşik kaynağı olarak kabul edilmektedir, bu nedenle son yıllarda popülerlik kazanmaları beklenmedik bir durum değildir (Peršurić & Pavelić, 2021). Arı ürünleri, güçlü iyileştirici özellikleri ve biyoaktif moleküllerin yüksek içeriği nedeniyle halk sağlığında en çok kullanılan doğal ürünler arasında yer almaktadır. Geleneksel tıbbın bilimsel temelleri olan bu dalına artık apiterapi adı verilmektedir (Martinello & Mutinelli, 2021). Apiterapi, çeşitli hastalıkları tedavi etmek ve önlemek için bal, arı sütü, propolis, polen ve arı zehri (apitoksin) gibi arılardan elde edilen ürünleri kullanan bir alternatif tıp türüdür (Olas, 2022).

Arı ürünleri uzun süredir kanser ve mikrobiyal kaynaklı hastalıklar da dahil olmak üzere birçok bozukluğun tedavisinde kullanılmaktadır. Arı ürünlerinde bulunan çeşitli kimyasal bileşiklerin anti-kanser, antibakteriyel, antiviral ve antiparaziter özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Nainu vd., 2021).

2.2 Polen

Arı poleni, koloninin büyümesi ve bakımı için besin sağlamak amacıyla arılar tarafından üretilen bir besindir (De-Melo & de Almeida-Muradian, 2017). Eski Mısırlılar tarafından “hayat veren toz” olarak isimlendirilen arı poleni, bitki poleni, bal

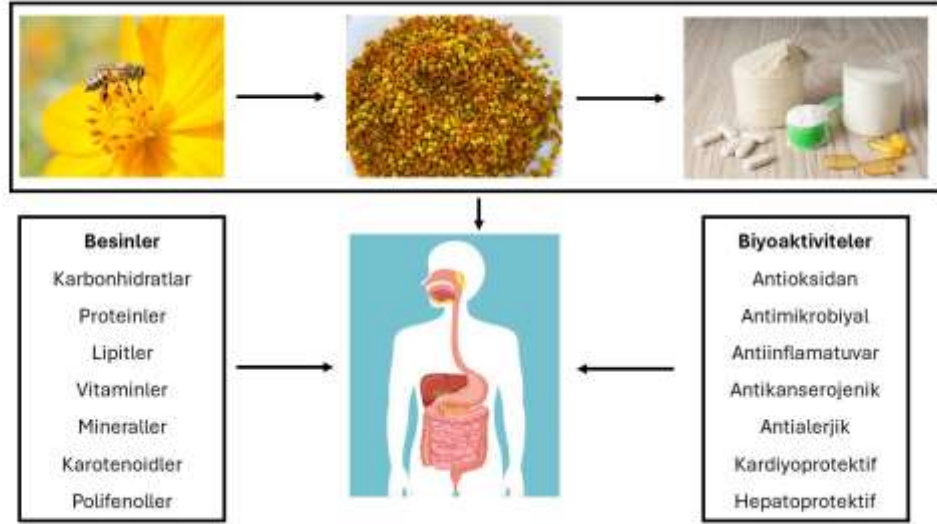
arısı salgıları ve nektarın birleşiminden oluşmaktadır. Kovan girişlerinden tuzaklar yardımıyla toplanabilmektedir (Khalifa vd., 2021). Ortaya çıkan besin açısından yoğun polen, yüksek nem içeriğine sahiptir ve toplandıktan sonra niteliklerini kaybetmeye başlar. Besin maddelerinin korunması için arı polenin taze olarak veya hemen kurutularak tüketilmesi gerekir (Thakur & Nanda, 2020). Ham arı poleni malzemelerinin toplanması prosedürü, polenlerin arılarla toplanması, polen tanelerini yakalamak için polen tuzaklarının kullanılması, yakalanan arı poleni tanelerinin toplanması, arı polenin kurutulması ve arı polenin paketlenmesinden oluşur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 : Arı polenin bal arıları tarafından toplanma süreci (Thakur & Nanda, 2020).

Arı poleni içeriğinde karbonhidrat, protein, lipit, ham lif, kül, esansiyel amino ve yağ asitleri, serbest amino asitler, başta B kompleksi olan vitaminler, esansiyel mineraller, karotenoidler ve flavonoidler yer almaktadır. Ana şeker olarak fruktoz, glikoz ve sükroz başta gelmektedir (Thakur & Nanda, 2020). Bununla birlikte, hava durumu, toprak tipi, arıcı faaliyetleri ve ticari üretimde kullanılan çeşitli prosedürler veya depolama yöntemleri gibi diğer unsurların yanı sıra bitkinin menşei de arı polenin bileşimini büyük ölçüde etkilemektedir (Ares vd., 2018). Arı poleni, polifenoller, triterpenler, karotenoidler, fosfolipitler, fitosteroller, biyoaktif peptitler, organik

asitler, prebiyotikler ve probiyotikler dahil olmak üzere çok sayıda biyoaktif bileşik içerir (Didaras vd., 2021; Nainu vd., 2021). Bazı araştırmalar arı polenin arı ürünleri arasında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bulmuştur (Sawicki vd., 2022). Polen tuzakları kullanılarak toplanan polen yükleri kurutulduktan sonra polen gıda, ilaç veya kozmetik uygulamalarında kullanılabilir bir hammadde haline gelir. Arı poleni kullanılarak hap, kapsül ve granül formundaki besin takviyeleri yapılır. Ayrıca sulu ekstraktlar ve alkol yapımında da kullanılır (Rzepecka-Stojko vd., 2015). Arı poleninde bulunan çok sayıda birincil ve ikincil metabolit, diğer bedensel süreçlerin kontrol edilmesinin yanı sıra antibakteriyel, antiinflamatuvar, antioksidan, antikarsinojenik ve antialerjik etkileri (Şekil 2.2) nedeniyle terapötik ajanlar olma potansiyeline sahiptir (Li vd., 2018).



Şekil 2.2 : Ticari polenin besin öğeleri ve metabolik yollar sonucu biyoaktivitesi (Li vd., 2018).

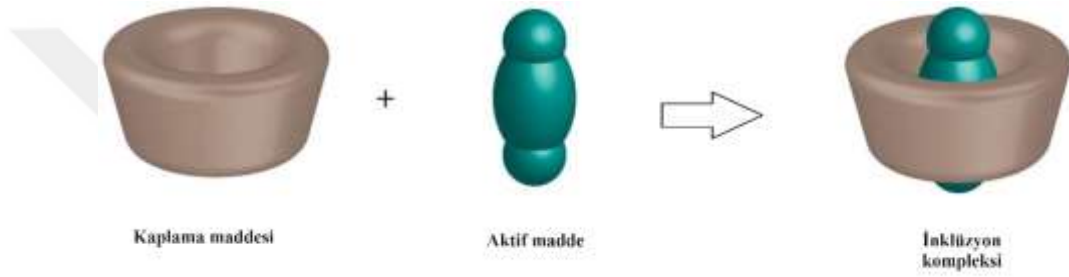
Arı poleni, anti-inflamatuvar, anti-osteoporoz, anti-nörodejeneratif ve anti-viral olma gibi çeşitli faydaları olan popüler bir gıda takviyesidir. Aynı zamanda karaciğer koruyucu, radyasyon koruyucu ve kolesterol düşürücüdür. Arı poleni ayrıca sağlıklı bir bağışıklık sisteminin korunmasına, kolesterol seviyelerinin düşürülmesine ve yaraların iyileşmesine yardımcı olur (Şengül & Vatansev, 2021). Bu faydaların bazıları, quercetin ve kaempferol gibi belirli kimyasalların varlığıyla bağlantılıdır (Nader vd., 2021).

2.3 Enkapsülasyon

Enkapsülleme teknolojisi, oksijen, ışık ve serbest radikaller gibi çevresel faktörlere karşı etkili bariyer görevi gören sıvı ve katı maddeler oluşturmak için kullanılır (Eun vd., 2020). Enkapsülasyon bir maddeyi (aktif madde) başka bir maddenin (kaplama malzemesi) içinde hapseden, mikro veya nanopartiküllerin oluşmasına neden olan bir prosedürdür (Irigoiti vd., 2021). Ayrıca ilaçların çözünürlüğünü, biyoerişilebilirliğini ve hedeflenmesini geliştirmeye yardımcı olur, farmasötikler ve ilaç dağıtımı için de kullanılır (Dundar vd., 2022; Ramli vd., 2021). Bir ürünü koruyucu bir kaplamayla kapsüllemek onu daha kararlı hale getirebilir ve performansını artırabilir (Kandasamy & Naveen, 2022). Kapsüllenmiş malzemeler oluşturmak için duvar malzemeleri ya da hücrelerle ya da antioksidanlar, enzimler, polifenoller ve mikro besinler gibi biyoaktif bileşiklerle paketlenir (Reque & Brandelli, 2021). Kaplama malzemesi kapsülleme işlemi için çok önemlidir çünkü hedef dağılımını, kontrollü salınımı ve sonuçta aktif bileşenlerin biyolojik olarak erişilebilirliğini etkiler (Grgić vd., 2020). Biyoaktif maddelerin biyoaktivitesini stabilize etmek ve geliştirmek için lipitler, yüzey aktif maddeler ve diğer malzemeleri (karbonhidratlar, polimerler, kompleksler ve protein) içeren nano/mikro taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir (Aditya vd., 2017). Püskürtme ve dondurarak kurutma, mikrokapsül oluşturmanın iki yaygın yoludur (Irigoiti vd., 2021).

Siklodekstrinler, nişastanın enzimatik olarak değiştirilmesiyle oluşturulan stabil moleküllerdir. Bunlar, 1,4- α -glikozidik bağlantılarla bağlanan altı, yedi veya sekiz glikoz ünitesine sahip siklik glikoz oligomerleridir. Bu moleküllere sırasıyla α -, β - ve γ -siklodekstrin adı verilir. Siklodekstrinler, kısmen veya tamamen hidrofobik boşluğuna giren ve aynı anda birkaç yüksek enerjili su molekülünü içeriden dışarı atan çok çeşitli organik bileşiklerle inklüzyon kompleksleri oluşturma yeteneğine sahiptirler. (Kalogeropoulos vd., 2009). Ayrıca siklodekstrinler, hoş olmayan koku veya tatları maskeleyerek veya azaltarak gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatır (Rocha vd., 2011). β -siklodekstrin, α ve γ muadillerinden daha uygun fiyatlı olduğundan ve iç hidrojenlerinin düzeni nedeniyle polar olmayan bir merkeze sahip olduğundan, ticari olarak büyük ilgi gören bir moleküldür. Bu nedenle kapsülleme birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Fuenmayor vd., 2021).

Siklodekstrinler aktif maddeler ile birlikte inklüzyon kompleksleri oluşturur (Kfoury vd., 2018). Siklodekstrinler kullanılarak moleküler inklüzyon komplekslerinin oluşturulması, çok sayıda amaç için geniş çapta araştırılan, çok yaygın görülen bir mikrokapsülleme yöntemidir (Şekil 2.3) (Perinelli vd., 2020). Inklüzyon kompleksi, bir makromolekölün bir veya daha fazla başka molekül tipini yakalamak için bir tür kafes oluşturduğu kimyasal bir kendi kendine birleşme sürecinden oluşur. Bu nedenle, hidrofobik etkileşimler birincil itici güç olarak görev yaptığında, inklüzyon kompleksleri etkili bir kapsülleme tekniği olarak kabul edilir (Muñoz-Shugulı vd., 2021).



Şekil 2.3 : Bir kaplama maddesi ve bir aktif madde arasında bir katılım kompleksinin oluşumunun şematik gösterimi (Kfoury vd., 2018).

Son yıllarda arı ürünleri, olumsuz çevre koşullarına karşı stabiliteyi korumak, hoş olmayan koku ve tatları maskeleyerek, uçucu bileşenleri korumak, kontrollü salınımı sağlamak, diğer bileşenlerle reaksiyonları önlemek, gıda endüstrisi için taşıma ve depolamayı kolaylaştırmak amacıyla kapsüllenmektedir (Dundar vd., 2022)

2.4 Fenolik Bileşenlerin Biyoerişilebilirlik ve Biyoaktivite Özellikleri

Fenolik bileşikler, doğal kimyasalların en geniş sınıflarından biridir ve yapısal çeşitlilikleri nedeniyle antioksidatif, antiinflamatuvar, antialerjenik, antiviral, antikanser, antibakteriyel, antimutajenik ve kardiyoprotektif vb. çok çeşitli biyolojik etkilere sahiptir (Grgić vd., 2020). Diyetteki fenolik bileşikler, doğal antioksidan gibi ajanların en önemli türleri arasındadır. Diğer şeylerin yanı sıra fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, kumarinler, lignanlar, ligninler ve oligomerik ve polimerik proantosiyonidinler içerirler (Shahidi & Peng, 2018).

Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği ve biyoaktivitesi şu anda bilimsel araştırmaların odak noktasıdır, çünkü bu alan oldukça belirsizdir. Bu üç isim bazen karıştırılsa da

farklı anlamlara sahiptir. Biyoyararlılık hem biyoerişilebilirliği hem de biyoaktiviteyi kapsar. Gıdalardan elde edilen aktif bileşiklerin biyoyararlılığı, aktif maddenin gastrointestinal epitel hücreleri tarafından absorbe edilme hızı ve derecesi olarak tanımlanır. Bir kimyasalın metabolitlerinin, birincil diyet molekülüne kıyasla radikal biçimde farklı biyoerişilebilirliğe sahip olabileceği tespit edilmiştir (Grgić vd., 2020). Polifenollerin biyolojik olarak erişilebilir olma derecesi, bunların sağlık üzerinde ne kadar etkili olduğunu belirler. Polifenolün biyoerişilebilirliği *in vitro* sindirim modelleri kullanılarak incelenmiştir. Bu modeller hız, düşük maliyet ve insan çalışmaları ile ilgili etik kısıtlamaların bulunmaması gibi avantajlar sunmaktadır (Akpınar Bayizit vd., 2023)

Polen, antioksidan, antiradyasyon, antibakteriyel, antifungal, kemoprotektif ve antiinflamatuvar nitelikleri nedeniyle besin takviyesi, terapötik ajan ve ilaç olarak kullanılabilir. Bu tıbbi ve koruyucu özellikler, radikal temizleme etkisinden sorumlu olan polifenolik içeriğiyle bağlantılıdır. Polenin fenolik yapısı öncelikle flavonol glikozitlerden ve hidrokisisinnamik asitlerden oluşur. Flavonoidler polende bulunan en yaygın fenolik sınıftır (Ozkan vd., 2018).

Kapsüller, biyoaktif kimyasalların kullanımlarını korurken bozunmasını önlemek için geliştirilen en son yöntemlerden biridir. Kapsülleme sırasında çok çeşitli biyoaktif bileşikler korumak için koruyucu bir taşıyıcı matris kullanılır. Nanoteknolojideki gelişmeler vücutta daha hızlı temizlenmeye karşı koruma sağlamanın yanı sıra, nanopartiküllerin boyutunu küçülterek biyoaktif bileşiklerin biyoerişilebilirliğini de artıracaktır. Bu nedenle enkapsülasyon, biyoaktif flavonoidler ve fenolik bileşiklerle ilgili endişeleri çözmek için pratik bir kapsülleme yöntemi olabilmektedir (Ramli vd., 2021)

Polifenollerin işleme ve depolama koşullarından etkilenmesi, suda çözünürlüğünün düşük olması, bağırsak kanalında bozulmaya yatkınlıkları, zayıf emilim ve geçirgenlik profili kullanımlarını zorlaştırmaktadır (Valdivia-Olivares vd., 2023). Besin değeri ve tıbbi özellikleriyle bilinen arı poleni tüm dünyada taze veya kurutulmuş formda, ayrıca kapsüllerde veya besin takviyelerinde ticari olarak temin edilebilmektedir; ancak ısıya maruz kaldığında parçalanması nedeniyle gıdalarda kullanımı halen zordur. Sonuç olarak arı poleni kapsülleme, gıda işleme alanında daha ileri araştırmalara kapı açabilir (Thakur vd., 2021).

Soares de Arruda vd. (2021) tarafından arı poleninin, *Escherichia coli* ESA37, *Staphylococcus epidermides* ESA7, ve *Candida albicans* ESA109 mikrorganizmalarının büyümesini etkili bir şekilde engellediği gösterilmiştir. Baysal vd. (2022), arı poleni ve elma sirkesi ile kapsüllenmiş kitosanın *Listeria monocytogenes* bakterisine karşı yüksek inhibisyon bölgeleri oluşturduğunu bildirmiştir. Aynı zamanda polen içeren kapsülün *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella*'ya üzerinde de antimikrobiyal etki ve yüzey aktivitesi gösterdiği vurgulanmıştır.





3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Polen Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinden temin edilmiştir. Beta siklodesktrin (Sigma-C4767; beta cyclodextrin $\geq 97\%$; CAS No.: 7585-39-9) Merck'den temin edilmiştir. Reaktif olarak galik asit, (+)-kateşin, Folin-Ciocalteu fenol reaktifi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), neokuproin, etanol (%96), sodyum karbonat (Na_2CO_3), sodyumhidroksit (NaOH), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Trolox) ve alüminyum klorür heksahidrat ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), bakır (II) klorit (CuCl_2) ve amonyum asetat (NH_4Ac), tükürük (potasyum klorür (KCl), monopotasyum fosfat(KH_2PO_4), sodyum bikarbonat (NaHCO_3), magnezyum klorür heksahidrat ($\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$), amonyum karbonat ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$), hidroklorik asit (HCl), kalsiyum klorür dihidrat ($\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$)), mide (KCl , KH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl , $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, HCl , $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$)), bağırsak ($(\text{KCl}$, KH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl , $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$, HCl , $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$))), pepsin (541 U/mg, EC 3.4.23.1), pankreatin (8x USP, EC 232.468.9), ve safra tuzu Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)'den temin edilmiştir. Antimikrobiyal analiz için *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 0402 suşları kullanıldı.

3.2 Polen Ekstraktlarının Hazırlanması

Polen numunesi spektrofotometrik analizlerde kullanılmak üzere Yesiltas vd. (2014) tarafından belirtilen yönteme göre ekstrakte edildi. Numune analiz öncesinde bir öğütücü yardımıyla (Sinbo, SCM 2934) toz haline getirildi. 2 g polen numunesi 15 ml metanol içinde 3 gün boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında bırakıldı. Ekstraksiyon etkinliğini arttırmak için numune her gün vorteksle karıştırıldı. Ardından 15 dakika ultrasonik su banyosunda tutulduktan sonra 2700g'de 10 dakika $+4^\circ\text{C}$ 'de santrifüj edildi. Üst faz yapılacak analizler için $+4^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

3.3 Spektrofotometrik Analizler

3.3.1 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi (TPM)

Toplam fenolik madde miktarının içeriğinin belirlenmesi Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlendi (Singleton & Rossi, 1965). Seyreltilmiş numunenin 15 µL'sine 112,5 µL 0.2N Folin-Ciocalteu reaktifi (1:10 MQ su ile) ve 112,5 µL 6% Na₂CO₃ çözeltisi ilave edildi. Oda sıcaklığında (25°C) karanlık ortamda 1 saat bekledikten sonra absorbans değerleri spektrofotometre (BioTek Instruments; Synergy HT) kullanılarak 765 nm'de ölçüldü. Standart olarak gallik asit ve kör numune olarak su kullanıldı. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g olarak ifade edildi. Tüm numuneler üç tekrar olacak şekilde analiz edildi.

3.3.2 Toplam flavanoid madde miktarının belirlenmesi (TFM)

Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi için Dewanto vd. (2002) tarafından belirtilen yöntem kullanıldı. Yöntemin Al'in halkalı yapıya yapışması ve NaOH'ın etkisiyle karışımında renk değişimine neden olması esasına dayanmaktadır. 250 µL örneğe 75 µL %5 NaNO₂ eklendi ve oda sıcaklığında 6 dakika inkübe edildi. Ardından 150 µL %10 AlCl₃·6H₂O ilave edilerek 5 dakika daha bekletildi. Süre sonunda 500 µL 1 M NaOH ilave edilerek karışımın son hacmi distile su ile 2,5 mL'ye ayarlandı. Örneklerin absorbansları 510 nm'de spektrofotometre (BioTek Instruments; Synergy HT) ile ölçüldü. Analizler üç tekrar olacak şekilde ve ortalama sonuçlar, mg kateşin eşdeğeri (CE)/100g olarak ifade edildi. Standart olarak kateşin ve kör numune olarak su kullanıldı.

3.3.3 Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi (TAK)

Çalışmada örneklerin antioksidan kapasitesi CUPRAC (bakır (II) iyon indirgeyici antioksidan kapasite) (Apak vd., 2004) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Hara vd., 2018) olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak belirlendi.

CUPRAC metodu ile antioksidan kapasitenin belirlenmesi için 7 µL örnek üzerine sırasıyla 70 µL Cu (II) klorür çözeltisi (10⁻² mM), 70 µL neocuproine çözeltisi (7,5x10⁻³ M), 70 µL amonyum asetat (NH₄Ac) tamponu (pH:7) ve 70 µL saf su eklendi. Örnekler karanlıkta ve oda sıcaklığında (25°C) 30 dakika bekletildi. Absorbans değerleri spektrofotometre (BioTek Instruments; Synergy HT) ile 450 nm'de ölçüldü. Sonuçlar mg Trolox eşdeğeri (TE)/100 g olarak ifade edildi.

DPPH metodu ile antioksidan kapasitenin belirlenmesi için 150 µL örneğe, 150 µL 0,1 mM DPPH ilave edilir. Örnekler 10 saniye çalkalanarak 30 dakika oda sıcaklığında (25°C) ve karanlıkta bekletildi. Absorbans değerleri spektrofotometre (BioTek Instruments; Synergy HT) ile 517 nm'de ölçüldü. Sonuçlar mg Trolox eşdeğeri (TE)/100 g olarak ifade edildi.

3.4 Enkapsülasyon için Toz Polen Ekstraktlarının Hazırlanması (PE)

Polendeki fenoliklerin ekstraksiyonu için Almeida vd. (2017) yöntemi kullanıldı. İlk olarak örnek kahve öğütücüsü (Sinbo, SCM 2934) kullanılarak 1 dakika boyunca öğütüldü. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için %80 etanol/su (v/v) ile 1:10 (w/v) oranında 30°C'deki ultrasonik su banyosunda ekstrakte edildi. Ardından 9000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek üst faz toplandı. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Son olarak 40°C'deki döner buharlaştırıcı ile etanol uzaklaştırıldı ve geriye kalan ekstrakt dondurularak kurutuldu ve -18°C'de saklandı.

3.5 İnklüzyon Komplekslerinin Hazırlanması (EP)

İnklüzyon kompleksleri, birlikte çöeltme ve dondurarak kurutma yöntemiyle bazı değişiklikler ile dos Santos Ferreira vd. (2022) yönetimine göre hazırlandı. İşlem için 1:1, 1:2 ve 1:3 polen ekstraktı:beta siklodekstrin (PE:BSD; w/w) konsantrasyonları kullanıldı. 50 mL saf suda belirli oranlarda beta siklodekstrin (BSD) kompleksleri hazırlandı ve 50°C'deki manyetik karıştırıcıda tamamen çözünene kadar karıştırıldı. Enkapsüle poleni elde etmek için kuru etanolik polen ekstraktları (PE), BSD sulu çözeltisi içerisine eklendi. Çözelti 50°C'de 3 saat ve oda sıcaklığında (25°C) 24 saat boyunca sabit bir hızda karıştırıldı. Daha sonra elde edilen çözeltiler komplekslerin çökelmesini sağlamak amacıyla gece boyunca buzdolabında 4°C'de saklandı. Ardından süspansiyonlar filtre edildi (0,45 µm, PTFE). Filtratlar, 48 saat boyunca dondurularak kurutuldu. Kurutma sonucunda elde edilen toz kapsüller (EP) daha sonraki analizlerde kullanılmak üzere -18°C'de muhafaza edildi.

3.6 Elde Edilen Kapsüllerin Karakterizasyonu

3.6.1 Zeta potansiyeli ve parçacık boyutu dağılımı ölçümü

Kapsüllerin (EP) karakterizasyonu için zeta potansiyeli ve parçacık boyutu dağılımı analizleri Catchpole vd. (2018) tarafında tarif edilen yöntemle göre yapılmıştır. Kapsüllerin ortalama boyutu, statik bir ışık saçan aletle ölçüldü (Mastersizer, 2000; Malvern Instruments, Birleşik Krallık). Kapsüllerin zeta potansiyeli ölçümü bir zeta boyutlandırıcı (Zetasizer 2000, Malvern Instruments, Birleşik Krallık) ile gerçekleştirildi. Parçacık boyutunun ve zeta potansiyelinin ölçülmesinden önce, PE:BSD kompleksleri ve tek başına BSD numuneleri, %0.1 konsantrasyonda damıtılmış su içinde çözeltiler hazırlanarak analiz edildi. Tüm ölçümler en az üç kez tekrarlandı.

3.6.2 Kapsülleme veriminin belirlenmesi

Kapsülleme verimini belirlemek için 50 mg beta siklodesktrin:polen kapsülleri 10 mL %80 etanol içerisinde çözündürüldü. Ardından filtre edildi (0,45 µm filtre). Elde edilen çözelti ve daha öncesinde hazırlanan polen fenolik ekstraktı çözeltisinde fenolik bileşiklerin spektrofotometrik ölçümü Singleton & Rossi (1965) tarafından bildirilen Folin-Ciocalteu yöntemine dayanılarak belirlendi. Karışımların absorbans değerleri spektrofotometre (BioTek Instruments; Synergy HT) kullanılarak 765 nm'de ölçüldü. Standart olarak gallik asit ve kör numune olarak su kullanıldı.

Kapsülleme verimi denklem 3.1' e göre hesaplama yapıldı:

$$\text{Enkapsülasyon verimi (\%)} = (a_1 - a_2) / a_3 \times 100 \quad (3.1)$$

a_1 , kapsüldeki toplam fenolik miktarı, a_2 , kör numunedeki fenolik miktarı ve a_3 polen fenolik ekstraktındaki fenolik miktarı

Karakterizasyon çalışması sonrası en uygun aktif madde (PE:BSD) oranı içeren kapsül belirlenerek *in vitro* gastrointestinal sindirim ve antimikrobiyal analizlerine tabi tutuldu.

3.7 *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim

In vitro gastrointestinal sindirim aşaması (Minekus vd., 2014) ufak değişiklikler yapılarak gerçekleştirildi. Bu yöntem sırasıyla simüle edilmiş ağız, mide ve bağırsak sindirim adımlarını içermektedir.

Ağız sindirim ortamını simüle etmek için 0,3 g EP, 4 mL tükürük suyu, 25 µL 0,3 mol/L CaCl₂ ve 975 µL distile su birleştirilerek 10 mL'lik son hacim elde edildi. Bu karışım, 37°C sıcaklıkta bir su banyosu çalkalayıcısında (Memmert SV 1422, Memmert GmbH & Co.) 2 dakika boyunca inkübe edildi. Her bir 10 mL'lik sıvıdan 2 mL numune toplandı. İşlem aynı şekilde enkapsüle edilmeyen PE içinde uygulandı.

Mide ortamını simüle etmek için kalan 8 mL'lik sıvıya 7,5 mL mide suyu, 1,6 mL pepsin çözeltisi (417 µkat/mL) ve 5 µL 0,3 mol/L CaCl₂ eklendi ve 0,2 mL 1 mol/L HCl 1 kullanılarak pH 3,0'a ayarlandı. Ardından toplam hacim 20 mL olacak şekilde damıtılmış su eklendi. Elde edilen karışım çalkalamalı su banyosunda 37°C'de 2 saat süreyle inkübe edildi. Son olarak mide sindiriminin analizi için her numuneden 5 mL'lik sıvı ayrıldı.

Bağırsak ortamını simüle etmek için, kalan örneklerin üzerine 8,25 mL bağırsak suyu, 3,75 mL pankreatin (13 µkat/mL), 1,875 mL 160 mmol/L safra ve 30 µL 0,3 mol/L CaCl₂ ile eklendi. Elde edilen karışımın pH'ı 1 mol/L NaOH ile 7,0'ye ayarlandı. Distile su kullanılarak toplam hacim 30 mL'ye tamamlandı. Elde edilen karışım 37°C'deki çalkalamalı su banyosunda 2 saat süreyle inkübe edildi.

Simüle edilen sindirim sıvılarından kaynaklanan herhangi bir girişimi düzeltmek için aynı koşullar altında bir boş da (numuneler yerine aynı miktarda suyun kullanılması) inkübe edildi. Simüle edilmiş ağız, mide ve bağırsak sindirim sıvılarından elde edilen tüm numuneler, 23000 g'de ve 4 °C'de 30 dakika boyunca santrifüjlendi (Hettich, Tuttlen, Almanya). Süpernatantlar bir sonraki analizde kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edildi.

3.8 HPLC Kullanılarak PE:BSD İnküzyon Kompleksinin Fenolik Madde Kompozisyonunun Belirlenmesi

HPLC ile kapsüldeki fenolik profilin analizi (Capanoglu vd., 2008) tarafından belirtilen yöntemle göre gerçekleştirildi. Numuneler bir PDA (Waters 2996) detektörlü

Waters 2695 HPLC sistemine enjekte edilmeden önce 0,45 µm membran filtrelerden geçirildi. Kromatografik ayırmalar sabit faz bir Supelcosil LC-18 kolonu (25 cm x 4,60 mm, 5 mkolonlu Sigma-Aldrich) üzerinde gerçekleştirildi. TFA (trifloroasetik asit)/MQ(Milli-Q), su (1 mL/L; eluent A) ve TFA/asetonitril (1 mL/L; eluent B), 1 mL/dakika akış hızı ve 10 mL enjeksiyon hacmiyle 280, 312 ve 360 nm'de spektral ölçümler için kullanılan mobil fazlardı. Doğrusal gradyan profili şu şekilde kullanıldı: 0 dakikada, %95 solvent A ve %5 solvent B; 45 dakikada %65 solvent A ve %35 solvent B; 47 dakikada %25 solvent A ve %75 solvent B; ve 54 dakikada başlangıç koşullarına dönüldü. Fenolik asitlerin miktarı, kendi orijinal standartları kullanılarak belirlendi. Polifenollerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi, UV spektrumu ve ekstraktlardaki piklerin alanı 35 standart bileşiğinkiyle (galik asit, 3,4 dihidroksibenzoik asit, kateşin, 4 p-hidroksibenzoik asit, kafein, klorojenik asit, vanilik asit, epigallokateşingallat, kafeik asit, epikateşin, siringik asit, vanilin, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit, etil 3,4dihidroksibenzoat, biberiyenik asit, resveratrol, rutin, floridzin, mirisetin, trans-sinamik asit, naringenin, pinobanksin, kersetin, hesperetin, luteolin, kaempferol, apigenin, isorhamnetin, rhamnetin, ladanein, krisin, pektolinarinenin, pinocembrin ve pinostrobin) karşılaştırılarak yapıldı. Tüm analizler üç tekrar halinde gerçekleştirildi ve sonuçlar, numunenin mg/100 g kuru ağırlığı (dw) olarak ifade edildi.

3.9 Antimikrobiyal Analiz

PE, EP ve polen ekstraktı içermeyen kapsülün antimikrobiyal aktivitesi 4 farklı mikroorganizmaya karşı incelendi. Bu amaçla, antibakteriyal etkisi Gram (+) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus cereus* ATCC 11778, Gram (-) *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 0402 suşlarına karşı incelendi. Bu amaçla Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK) mikro seyreltim yöntemi ile belirlendi. Mueller-Hinton Agar (MHA) bileşiminde et infüzyonu 2,0 g/L; kazein hidrolizatı 17,5 g/L; nişasta 1,5 g/L; agar-agar 13,0 g/L yer almaktaydı. Aynı formülasyonda yalnızca agar içermeyen bileşenlerin bir ataya getirilmesi ile Mueller Hinton Broth (MHB) oluşturuldu. Ekipman listesi arasında otoklav (Hirayama HV50-L, Tokyo, Japonya), McFarland cihazı (Den-1B McFarland BioSan Densitometer, Letonya), inkübatör (N-Biotek, Güney Kore), tüp karıştırıcı (ThermoFisher Scientific, Amerika Birleşik

Devletleri), spektrofotometre (BioTek Technologies, Winooski, VT, Amerika Birleşik Devletleri) kullanıldı.

Mueller Hinton Broth (MHB, Merck No: 1.10293, Darmstadt, Almanya) besiyerinde 37°C’de 24 saat geliştirilmiş bakteri kültürlerinin konsantrasyonu, Çizelge 3.1’de gösterildiği gibi hazırlanan izotonik tuz çözeltisi ile yaklaşık 1×10^5 kob/mL’ye ayarlanarak kullanıldı. Etkisi test edilecek maddelerin stok çözeltileri (100 mg/mL) hazırlandı ve MHB besiyerinde çift kat seri dilüsyon yöntemiyle 50-0,098 mg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda seyreltilerek analiz yürütüldü.

Çizelge 3.1 : İzotonik tuz çözeltisi kimyasal bileşimi.

İzotonik tuz çözeltisi	Miktar
Sodyum klorür	8,5 g
Distile su	1 Litre

MİK değeri, mikroplaka kullanılarak spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Kuyulara 180 µL örnek ve 20 µL mikroorganizma süspansiyonu konularak mikrolakalar 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon öncesi ve sonrasında 600 nm’de mikroplaka okuyucu ile optik yoğunluk ölçüldü. Negatif kontrol için mikroorganizma süspansiyonu yerine 20 µL izotonik tuz çözeltisi, pozitif kontrol için ise örnek yerine 180 µL MHB besiyeri kuyulara ilave edildi. Mikrobiyal gelişmenin görülmeyeceği en düşük konsantrasyon MİK değeri, kuyulardan alınarak (20-30 µL) Mueller Hinton Agar (MHA, Merck No: 1.03872, Darmstadt, Almanya) besiyerine ekilen ve 37°C’de 18-24 saat sonunda gelişme görülmeyen en düşük konsantrasyon ise MBK değeri olarak belirlendi (Alizadeh Behbahani vd., 2019).

Bu değerler aynı zamanda resazurin testi ile de doğrulanmıştır. Kuyulardan MBK analizi için örnek alındıktan sonra kuyulara 10 µL 1 mg/mL resazurin (R7017, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) solüsyonu ilave edilerek 37°C’de 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Mavi-pembe renk değişimine göre mikroorganizma varlığı belirlenmiştir. Pembe renk mikroorganizma gelişimini işaret ederken, mavi renk mikroorganizma gelişiminin olmadığını göstermektedir.

3.10 İstatistiksel Analiz

Tüm analizler, 3 paralel ölçüm yapılarak ve her örnekten 3 replikasyon hazırlanarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir ve veriler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile SPSS (28.00) programında değerlendirilmiştir. Örnekler arasındaki farklılıklar, Tukey sonrası test ile belirlenmiştir ($p < 0.05$). Spektrofotometrik analizlerin korelasyon katsayıları (R^2), Excel (Microsoft, ABD) yazılımı kullanılarak elde edilmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Polen Ekstraktlarının Toplam Fenolik İçerik, Toplam Flavonoid İçerik ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Günümüzde arı ürünleri, özellikle polen, çeşitli vitaminler, mineraller ve proteinler açısından iyi bir doğal kaynak sağlamanın yanı sıra sentetik antioksidanlara ve antimikrobiyalere göre mükemmel alternatifler sağlayan çok işlevli ürünler olarak kabul edilmektedir. Arı ürünleri, fenolik asitler ve flavonoidler içeren aktif bileşenleri nedeniyle antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antikanser aktivitelere sahiptir (Kahraman vd., 2022).

Bu çalışmada Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinden temin edilen polen örneğinin biyoaktif bileşenleri, antioksidan incelenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 : Polenin fenolik içeriği ve antioksidan potansiyeli.

Polen örneği	Antioksidan Kapasite (TAK)			
	TPM (mg GAE/100 g)	TFM (mg QE/100 g)	CUPRAC (mg TE/100 g)	DPPH (mg TE/100 g)
DA	2817 ± 217	5255 ± 317	3685 ± 248	4305 ± 495

Doğu Anadolu Bölgesinden temin edilen polen örneğinin toplam fenolik madde miktarı 2817 ± 217 mg GAE/100 g, toplam flavonoid madde miktarı 5255 ± 317 mg QE/100 g olarak bulunmuştur.

Mutlu & Erbas (2023) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden elde ettikleri polenlerin toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarını incelemiş, aynı zamanda antioksidan kapasitelerini değerlendirmiştir. Arı poleni örneklerinin toplam fenolik içeriğinin 338,15 ile 2857,77 mg GAE/100 g arasında değiştiği ortaya konmuştur. Bu çalışmada Doğu Karadeniz bölgesinden polenin mevcut toplam fenolik madde miktarı 2857.77 ± 125.48 mg GAE/100 g değeriyle yaptığımız araştırmadaki örneğe en yakın sonucu vermiştir.

Arı polenin kimyasal yapısında 200'den fazla bileşen bulunur; bunlardan bazıları polifenoller ve yağda çözünen vitaminler gibi poleni taze tutmaya yarayan

metabolitlerdir. Botanik kökenin yanı sıra kalite ve miktarı etkileyebilecek diğer faktörler arasında iklim, toprak tipi, arıcı faaliyeti ve koruma teknikleri yer alır. Bu faktörler aynı zamanda makro besinlerin (proteinler, lipitler ve karbonhidratlar gibi) yüzdesini ve minör bileşiklerin (fenolik bileşikler gibi) profilini de etkileyebilir (Barbieri vd., 2020). Farklı botanik ve coğrafi kaynaklardan elde edilen arı poleninin fenolik bileşimini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar, fenolik bileşiklerin miktarının ve türünün, botanik kökene, coğrafi bölgeye ve toplanma zamanına göre değişiklik gösterebildiğini ortaya koymuştur (Kalaycıoğlu vd., 2017; Ozkan vd., 2018; Mutlu & Erbas, 2023; Nisbet & Tabatabaei, 2021). Aynı zamanda literatürde ve mevcut çalışmada incelenen polen örnekleri arasındaki veriler polenlerin oluşturulma ve toplanma zamanının farklı olmasından da kaynaklanıyor olabilir. Aynı bölgede dahi yıllar içerisinde arıların topladığı polen türleri, bitkinin yetiştiği toprak, coğrafi koşulların değişmesi gibi birçok faktör polenlerin bileşiminde etkili olabilmektedir (Mutlu & Erbas, 2023).

Yapılan literatür karşılaştırmasına göre çalışmada analiz edilen arı poleni ekstraktının çeşitli fenolik ve flavonoid bileşiklerin yanı sıra önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılabilir.

Polen numunesinin toplam antioksidan kapasiteleri, DPPH ve CUPRAC yöntemlerine göre değerlendirilmiştir. İki yöntem sonucunda elde edilen değerler arasında farklılıklar bulunmaktadır. Antioksidan kapasite CUPRAC metodu sonucunda 3685 ± 248 mg TE/100 g olarak hesaplanırken, DPPH metodu sonucunda ise 4305 ± 495 mg TE/100 g olarak bulunmuştur. Farklı analizlerden elde edilen farklı sonuçlar, radikalın türü, farklı solvent sistemlerindeki çözünürlüğü, dalga boyu ve reaksiyon süresi ile ilişkili yöntem parametreleriyle açıklanabilmektedir (Ozkan vd., 2018). Elde edilen sonuçlardan arı poleninin güçlü bir antioksidan kaynağı olduğu sonucuna varılabilir. Birçok çalışma, polen örneklerinde gözlemlenen antioksidan aktivitenin, başta flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere yüksek konsantrasyonda polifenollerle ilişkili olduğunu göstermiştir (Hemmami vd., 2020).

4.2 Polen Ekstraktlı ve Polensiz Kapsüllerin Karakterizasyonu

4.2.1 Polen ekstraktlı ve polensiz kapsüllerin parçacık boyutu ve zeta potansiyelinin belirlenmesi

Polen ekstraktı içeren ve içermeyen PE:BSD inklüzyon komplekslerinin karakterizasyonu amacıyla ortalama parçacık çapı ve zeta potansiyeli ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar çizelge 4.2' de gösterilmektedir.

Çizelge 4.2 : Polen ekstraktı içeren ve içermeyen PE:BSD kapsüllerinin parçacık boyutu ve zeta potansiyeli.

	Kapsül (w:w, PE:BSD)			
	Polen ekstraktı içermeyen kapsül	1:1	1:2	1:3
Zeta potansiyeli (mV)	3,66 ± 0,4 ^a	-24 ± 1,3 ^c	-22 ± 2,8 ^b	-23,5 ± 4,7 ^c
Parçacık boyutu (nm)	173,1 ± 1,5 ^d	373,5 ± 3,4 ^c	410,05 ± 5 ^b	640 ± 2,1 ^a

*Veriler, ortalama değerler ± standart sapma (n=3) olarak sunulmuştur. Satırdaki farklı küçük harfler, her grup arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir (p<0,05).

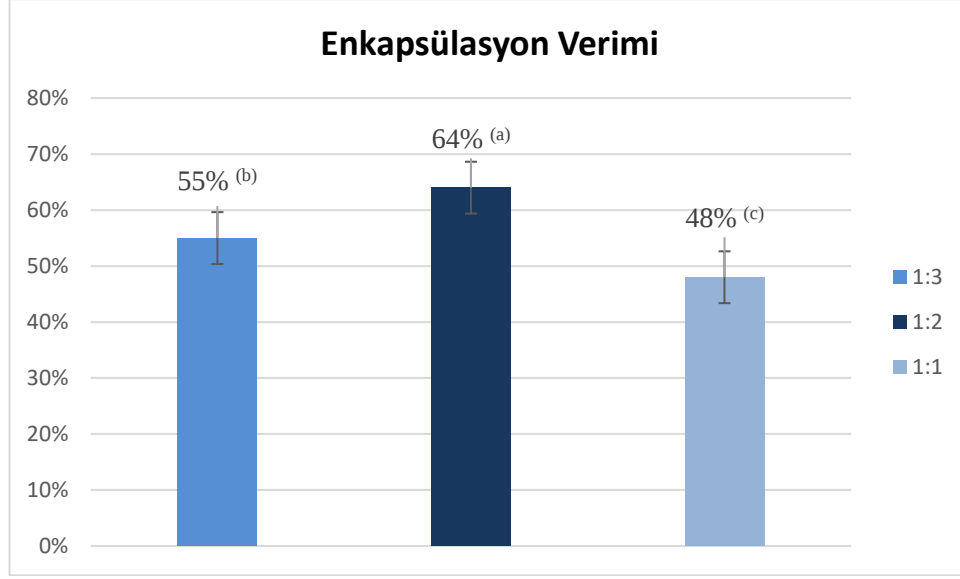
Yeni bir biyoaktif nanomateryalin zeta potansiyeli değeri, yüzey yük yoğunluğunu ve dolayısıyla fizikokimyasal stabilitesini ve biyoerişilebilirliğini tahmin etmede kritik bir öneme sahiptir (Alshehri & Abdella, 2023). Beta siklodekstrin kaplama maddesi polen ekstraktı ile yüklendiğinde yüzey yükü pozitiften negatife doğru değişim göstermiştir. Beta siklodekstrinlerin zeta potansiyeli, polen ekstraktı ile yüklenmesi sonucunda +3,66 ± 0,4 mV'den 1:1, 1:2 ve 1:3 oranları için sırasıyla 24 ± 1,3, -22 ± 2,8 ve -23,5 ± 4,7 mV'ye düşmüştür. Elde edilen sonuçlar, polifenolik bileşiklerin BSD kısımlarına entegre edildiğinde yüzey yüklerini değiştirebildiğini ve bu durumun nanoparçacık elektrostatik itmesi aracılığıyla sağlanan güçlü fiziksel stabiliteyi gösterdiğini vurgulamaktadır. Aynı zamanda bu bulgular Hanafy vd. (2023) tarafından yapılan sığır serum albümini ile kaplanmış arı poleni ekstraktının zeta potansiyel değerleri analizleriyle tutarlıdır. Yapılan çalışmada içinde polen ekstraktı bulunan ve bulunmayan kapsüllerin zeta potansiyeli sırasıyla -17,6 ± 2 mV ve -8,8 ± 1,5 mV olarak ölçülmüştür. Negatif zeta potansiyel değeri flavonoidler, taninler, saponinler ve fenolik asitler gibi bileşenlerin etkili kaplama ajanları olarak işlev gördüğünü göstermektedir. Bu bileşenler, genellikle negatif yük taşıyarak parçacıklar arasında itici kuvvetler oluşturur ve böylece oluşan parçacıkların çözeltideki stabilitesine katkı

sağlar (Khoshnamvand vd., 2019). Aynı zamanda yüzeydeki negatif yük, amfifilik gösteren BSD'lerin moleküler düzenlenmesi sonucunda, süstitüe olmamış –OH gruplarının sulu ortama doğru hizalandığını gösterir. Bu özellik, yüzeyin potansiyel olarak hidrofilik olduğunu ifade eder. Sonuç olarak yüzeyin suyla etkileşim kabiliyeti ve hidrofilik özelliği artırmaktadır.

Kapsüllerin parçacık boyutu içerdikleri polen konsantrasyonuna göre değişiklik göstermiştir. Polen ekstraktı içermeyen kapsülün parçacık boyutu $173,1 \pm 1,5$ olarak bulunurken, 1:1, 1:2 ve 1:3 konsantrasyonunda hazırlanan kapsüllerin parçacık boyutu sırasıyla $373,5 \pm 3,4$, $410,05 \pm 5$ ve $640 \pm 2,1$ nm olarak ölçüldü. Artan parçacık boyutu, polifenolik bileşiklerin beta siklodekstrin kaplama maddesi ile hidrofobik köprüleme, hidrojen bağı, van der Waals kuvveti ve iyon etkileşimi gibi geri dönüşümlü olmayan etkileşimler veya kovalent bağlar aracılığıyla reaksiyona girebildiğini göstermektedir (Hanafy, Eltonouby, vd., 2023). Kapsüllerdeki beta siklodekstrin konsantrasyonu arttıkça parçacık boyutunun arttığı görülmektedir. Parçacık boyutunu etkileyen faktörler arasında kaplama maddesi ile aktif madde arasındaki oran önemlidir. Yüksek kaplama malzemesi konsantrasyonu, büyük parçacıkların atomizerden çıkmasına ve nihai mikrokapsül boyutunun artmasına neden olur. Sonuç olarak bu durum, enkapsülasyon sürecinde aktif maddenin birikme ve agregasyondan etkili bir şekilde korunmasını sağlar (Maqsoodlou vd., 2020). Enkapsülasyon işlemi sırasında uygulanan basınç ve sıcaklığında parçacık boyutunu etkilemektedir. Düşük sıcaklık ve basınçta işlem gören partiküller genellikle büyük ve aglomere olma eğilimindedir. Ancak sıcaklık ve basınç arttıkça, elde edilen partiküller daha küçük ve daha küresel hale gelmektedir (Nerome vd., 2013).

4.2.2 Enkapsülasyon veriminin belirlenmesi

EP ve PE çözeltilerinin toplam fenolik içerik değerlerine göre enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır (Şekil 4.1).



* Veriler, ortalama değerler $\pm$ standart sapma (n=3) olarak sunulmuştur. Grafiklerdeki farklı küçük harfler, her grup arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir ($p < 0,05$).

Şekil 4.1 : PE:BSD içeren kapsüllerin kapsülleme verimi (%) üzerindeki etkisi.

En yüksek enkapsülasyon verimi 1:2 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonunda %64 olarak bulunurken, 1:1 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonundaki kapsülden %48 verim ve 1:3 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonunda %55 elde edilmiştir. Enkapsülasyon veriminin en yüksek bulunduğu 1:2 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonlu kapsül *in vitro* sindirim ve antimikrobiyal analizlerde kullanılmak üzere seçilmiştir.

Kullanılan polimerin özellikleri ve polifenol bileşenlerinin fizikokimyasal özellikleri enkapsülasyon verimi ile yakından ilişkilidir (Baysal vd., 2022). Aktif bir molekülün, kaplama maddesinin boşluğuna girebilmesi için ilk temel ihtiyaç molekülün boyutunun uygunluğudur. Diğer kriterler arasında hidrojen bağı, van der Waals etkileşimleri ve kaplama maddesi ile aktif molekülün sıkı uyumu gibi kriterler gelmektedir. Ayrıca, karakteristik grupların polaritesi, aktif molekülün hangi ucunun hidrofobik boşluğa yerleştirileceğini belirlemektedir; tercih, polar olmayan ucun boşluğun içine dahil edilmesidir (Kalogeropoulos vd., 2009). (Maqsoudlou vd., 2020) farklı kaplama maddeleri (maltodekstrin, peynir altı suyu protein konsantresi ve her iki bileşiğin bir karışımı) ile 3:1 oranında enkapsüle edilen polen örneklerinde enkapsülasyon veriminin farklı duvar malzemesine sahip kapsüller için farklılıklar gösterebildiğini belirtmiştir. Kaplama maddesi olarak maltodekstrin, peynir altı suyu protein konsantresi ve her iki bileşiğin bir karışımı ile sırasıyla 82.51 ± 1.9 %, 78.2 ± 2.3 ve 67.84 ± 3.35 değerlerinde enkapsülasyon verimi elde edildiği bildirilmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen verim değerleri nispeten düşük bulunmuştur. Bunun sebebi uygulanan enkapsülasyon tekniğinin ve/veya kaplama maddesinin polen fenoliklerinin kapsülleme verimi etkilediği çıkarımında bulunulabilir. Yapılan çalışmalar, kullanılan kapsülleme yönteminin ve kaplama malzemeleri kombinasyonundaki farklılıkların kapsülleme verimi etkileyebileceğini göstermiştir (Ballesteros vd., 2017; Baysan vd., 2021).

4.3 *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim

Enkapsülasyon veriminin en yüksek bulunduğu 1:2 (w:w, PE:BSD) konsantrasyonlu kapsül *in vitro* sindirim için için seçilmiştir. Seçilen EP'nin toplam fenolik içerik ve CUPRAC antioksidan kapasitesi üzerine simüle edilmiş *in vitro* sindirimin etkisi Çizelye 4.3'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.3 : *In vitro* gastrointestinal sindirimin EP'deki fenolik içerik ve antioksidan aktivite üzerine etkisi.

	Enlapsüle edilmiş polen örneği (EP)			
	<i>In vitro</i> gastrointestinal sindirim			
	Sindirilmemiş	Mide sindirimi	Bağırsak sindirimi	Biyoerişilebilirlik (%)
TPM (mg GAE/100 g)	1832 ± 30 ^a	1122 ± 25 ^c	1420 ± 23 ^b	81
TFM (mg QE/100 g)	2146 ± 56 ^a	1219 ± 60 ^b	1116 ± 28 ^b	52
DPPH (mg TE/100 g)	3600 ± 257 ^a	1817 ± 246 ^b	1719 ± 88 ^b	48
CUPRAC (mg TE/100 g)	3500 ± 121 ^a	2560 ± 82 ^b	2650 ± 120 ^b	76

*Veriler, ortalama değerler ± standart sapma (n=3) olarak sunulmuştur. Satırdaki farklı küçük harfler, her grup arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir (p<0,05).

1:2 (PE:BSC; w/w) oranındaki kapsülün gastrointestinal sindirim boyunca toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik, DPPH ve CUPRAC antioksidan kapasite değerlerinin azaldığı ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir (p< 0.05). 1:2 (PE:BSC; w/w) oranındaki toplam fenolik içeriği sindirilmemiş, mide ve bağırsak fazları için sırasıyla 1832 ± 30, 1122 ± 25 ve 1420 ± 23 mg GAE/100 g olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi kapsülün TPM değeri *in vitro* simüle edilmiş mide fazında azalmış, bağırsak fazı sonucunda ise artmıştır. Mide fazında görülen azalmanın temel nedeni polifenollerin düşük pH değerlerinde yapısının bozulmasından kaynaklanıyor olabilir. Genel olarak çevresel pH koşulları,

polifenollerin yapısal bileşimi ve konsantrasyonu üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Yüksek asidik pH koşullarının fenolik moleküllerde bozulmaya ve iskelet yapısının kaybına neden olabileceğini bildirilmiştir (Qin vd., 2022)

Elde edilen sonuçların literatür ile benzerliği Aylanc vd. (2021) tarafından yapılan üç farklı polen örneğinin fenolik içeriğinin *in vitro* sindirim sırasında analiz edildiği çalışma ile de ortaya konmuştur. Yapılan çalışmada bazı polen örneklerinin fenolik içeriğinin mide sindirimi sırasında azaldığı ve bağırsak aşamasında hafif bir artış gösterdiği rapor edilmiştir. *In vitro* simüle edilmiş bağırsak fazı sonucunda mide fazına göre görülen daha yüksek toplam fenolik içeriğin sindirim enzimlerinin etkisine bağlı olarak ekstrakte edilebilirliğin artması ve fenolik asitlerin salınımıyla bağlantılı olabileceği belirtilmiştir (Yesiltas vd., 2014).

Kapsüllerdeki TFM değeri gastrointestinal sindirim boyunca belirgin şekilde azalmıştır. Bu düşüş, sindirim enzimlerinin etkisi veya farklı pH ortamlarında serbest bırakılan ve daha kolay erişilebilir hale gelen flavonoidlerin parçalanmasıyla ilişkilendirilebilir (Aylanc, Tomás, vd., 2021).

Kapsülün CUPRAC ve DPPH antioksidan kapasite değeri mide ve bağırsak sindirimi adımlarında azalmış, ancak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p > 0.05$). Antioksidan aktivite fenolik bileşiklere bağlıdır ve antioksidan özellikler gastrointestinal sindirim sırasında farklı mekanizmalardan kaynaklanan kimyasal değişikliklerle değişebilmektedir (Bridi vd., 2022)

TPM ve TFM arasındaki farklılıklar sindirim sonrası tüm bileşiklerin emiliminde değişen biyoerişilebilirlik skorlarına yol açmıştır. Sindirim sonrası kapsüllerde toplam fenolik içeriğin, toplam flavonoid içeriğin, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivitenin biyoerişilebilirliği sırasıyla %81, %52, %48 ve %76 olarak belirlenmiştir. Literatür araştırması sonucunda, Aylanc, Tomás, vd. (2021) saf polen örneklerinde TPM'nin ortalama biyoerişilebilirlik seviyesini %31, ve Dulger Altiner vd. (2020) ise %36,91 – 77,87 aralığında tespit ederken Aylanc, Tomás, vd. (2021) arı poleni örnekleri için TFM biyoerişilebilirlik seviyesi ortalama %25 olarak belirlemiştir. Analiz sonuçları ve literatür araştırması saf polenin enkapsüle polene göre düşük biyoerişilebilirliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu durum beta siklodekstrin kaplama maddesinin biyoerişilebilirliği arttırmasıyla açıklanabilir.

4.4 HPLC Kullanılarak Polen Kapsüllerindeki Fenolik Bileşiklerin Miktarının Belirlenmesi ve Tanımlanması

Simüle edilmiş *in vitro* sindirim öncesi ve sonrasında inklüzyon kompleksi yöntemiyle enkapsülasyon işleminin polen ekstraktındaki (EP) fenolik bileşiklere etkisi analiz edilmiştir. 1:2 konsantrasyonundaki EP'den elde edilen fenolik bileşiklerin kimyasal profili ve bu bileşiklerin inklüzyon kompleks sistemleri içindeki biyoerişilebilirliği, yüksek hassasiyetli sıvı kromatografi (HPLC) kullanılarak belirlenmiştir. Çizelge 4.4'de de ifade edildiği gibi enkapsülasyon işlemine tabi tutulmuş PE'de trans-sinamik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, kafeik asit fenetil ester (KAPE), kuersetin-3-o-glukozit ve kuersetin olmak üzere altı fenolik bileşik saptanmıştır. Literatürde arı poleni ekstraktında yapılan analiz sonucunda en yüksek düzeyde kuersetin ($6,43 \pm 0,18$ µg/mL), daha düşük düzeyde ise vanilin $0,082 \pm 0,001$ µg/mL tespit edilmiştir. Aynı zamanda sırasıyla sinamik asit ($3,89 \pm 0,16$), sirinjik asit ($3,84 \pm 0,5$), kateşin ($1,42 \pm 0,01$), gallik asit ($1,38 \pm 0,06$), taksifolin ($0,7 \pm 0,07$), ferulik asit ($0,39 \pm 0,01$), Piro katekol ($0,32 \pm 0,02$), naringenin ($0,31 \pm 0,005$), kumarik asit ($0,27 \pm 0,01$), rutin ($0,26 \pm 0,01$), klorojenik asit ($0,24 \pm 0,02$), metil galat ($0,12 \pm 0,01$) ve kafeik asit ($0,09 \pm 0,001$) fenolik bileşikleri saptanmıştır (Hanafy, Salim, vd., 2023). Yapılan başka bir çalışmada bunlara ek olarak arı polenin metil-3,4,5-trihidroksibenzoat, trans sinamik asit, p-kumarik asit, rutin, kuersetin, luteolin, kaempferol, kafeik asit, hesperidin, ferulik asit, pinocembrin gibi çok sayıda fenolik bileşik içerdiğini ortaya koymaktadır (Mutlu & Erbas, 2023). Çalışma bulguları ve literatür karşılaştırması sonucunda enkapsülasyon işleminin bazı fenoliklerin miktarı ve varlığında değişikliğe sebep olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4 : *In vitro* sindirimin kapsüllenmiş EP'deki biyoaktif bileşiklerin üzerindeki etkisi.

Fenolik Bileşik	Sindirim öncesi	Mide sindirimi	Bağırsak sindirimi
Trans-sinamik asit	$43,3 \pm 0,7^a$	—	—
Klorojenik asit	$12 \pm 0,8^a$	$2,2 \pm 0,2^c$	$6,2 \pm 0,9^b$
p-kumarik ssit	$13,3 \pm 1,6^a$	—	—
Kafeik asit fenetil ester (KAPE)	$355 \pm 2,5^a$	—	—
Kuersetin-3-o-glukozit	$235,5 \pm 4,9^a$	$93 \pm 0,5^b$	$65,5 \pm 0,4^c$
Kuersetin	$100,8 \pm 6,4^a$	$72,5 \pm 7,8^b$	$50,7 \pm 1^c$

*Veriler, ortalama değerler $\pm$ standart sapma (n=3) olarak sunulmuştur. Satırdaki farklı küçük harfler, her grup arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir ($p < 0,05$). Birim: mg/100 g

Sindirim öncesi 1:2 (PE:BSC; w/w) konsantrasyonunda EP'deki en yüksek orana sahip fenolik asit $355 \pm 2,5$ mg/100g değeri ile KAFE'dir. Ardından $235,5 \pm 4,9$ ve $100,8 \pm 6,4$ mg/100g değerleriyle sırasıyla flavonoidlerden kuersetin-3-o-glukozit ve kuersetin yer almaktadır. Gastrointestinal sindirim boyunca klorojenik asit, kuersetin-3-o-glukozit ve kuersetin varlığını korurken, diğer fenolik bileşiklerin kaybı yaşanmıştır. Mide sindirimi sırasında flavonoidlerin miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Klorojenik asit miktarı ise $12 \pm 0,8$ mg/100 g değerinden belirgin bir azalış göstererek $2,2 \pm 0,2$ mg/100 g olarak ölmüştür. Mide sindirimi sonunda klorojenik asit miktarı azalmış ve bağırsak sindirimi sonunda artmıştır. Diğer yandan iğde 3-o-glukozit ve kuersetin miktarı ise mide ve bağırsak sindirimlerinde sürekli bir azalış eğilimi göstermiştir. Bu sonuçlar mide fazından bağırsak fazına geçildiğinde artan TPM ve azalan TFM değerleri ile doğru orantılıdır. Fenolik asitler ve flavonoidler sindirim sürecindeki kimyasal yapılarına bağlı olarak farklı şekilde etkilenebilmektedir. Fenolik bileşiklerin sindirilebilirliği ve emilimi, fizikokimyasal özelliklerinin yanı sıra konjugasyon, glikozilasyon durumları ve sindirim sırasında enzimatik oksidatif etkilenme dereceleri gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir (Aylanc, Falcão, vd., 2021).

4.5 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite analizi için, elde edilen enkapsüle polen, polen ekstraktı ve içeriği olmayan kapsülün *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 0402 suşlarına karşı antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Çift kat seri dilüsyon yöntemi, polen ekstraktı içermeyen boş kapsül dışında, kapsül ve ekstraktın 50-0,098 mg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda tüm test edilen bakterilere karşı antimikrobiyal ve antibakteriyal etki sergilediğini göstermiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 : Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) and minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) (mg/mL).

Mikroorganizma	Enkapsüle polen		Polen ekstraktı		Boş kapsül	
	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	50	50	6,25	12,5	>50	>50
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	25	50	12,5	50	>50	>50
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25	50	12,5	50	>50	>50
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 0402	50	50	25	50	>50	>50

PE, EP'e göre yüksek antimikrobiyal etki göstermiş ve en yüksek MİK değeri 6,25 mg/mL ile *Bacillus cereus* ATCC 11778 şuşuna karşı belirlenmiştir. Enkapsüle polenin MİK değerleri *E. Coli* ve *S. aureus*'a karşı 25 mg/mL olarak bulunurken, *B. cereus* ve *S. typhimurium*'a karşı 50 mg/mL MİK değeri göstermiştir. Arı poleni fenolik ekstraktı *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı aynı değerde MİK ve MBK sonuçları vermiştir (Kahraman vd., 2022). Diğer yandan Kahraman vd. (2022) tarafından ortaya konulan bu sonuçlar mevcut çalışmadaki PE'a karşı daha güçlü antimikrobiyal ve antibakteriyel etki göstermiştir.

En yüksek antibakteriyel etki 12,5 mg/mL MBK değeriyle polen ekstaktında *B. cereus*'a karşı görülmüştür. Polen ekstraktı gram pozitif bir bakteri olan *B. cereus*'a karşı en yüksek MİK ve MBK değerleri sergilerken, gram negatif *E. Coli* ve *S. typhimurium* 'a karşı düşük sonuçlar vermiştir. Polenin gram-negatif bakterilere karşı sınırlı etkinliği, gram-negatif bakterilerin, lipopolisakkaritlerden ve proteinlerden oluşan çift hücre duvarlarıyla korunması ve bu yapının arı polenin antibakteriyel etkisine karşı direnç geliştirmesinden kaynaklanıyor olabilir (Velásquez vd., 2017).

Öte yandan spor oluşturan bakterilen, spor oluşturmeyan bakterilere göre daha yüksek antibakteriyel etkinlik sergilediği gösterilmiştir (Tan vd., 2011). *B. cereus* spor oluşturan bir bakteridir ve spor oluşturmeyan *E. coli*, *S. aureus* ve *S. typhimurium*'a karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Enkapsüle polen tüm bakteri şuşları üzerinde 50 mg/mL MBK değeri ile benzer antibakteriyel etkiye sebep olmuştur. Polen fenolik ekstraktının BSD ile kaplanması antimikrobiyal etkisinde önemli bir değişime sebep olmamıştır. Bunun sebebi PE'nin EP'ye göre daha yüksek TPM ve TAC değerleri içermesi olarak yorumlanabilir. Birden çok çalışma, polen etanolik ekstraktlarının *S. aureus* ve *E. coli* 'ye karşı antibakteriyel ve antimikrobiyal aktivite gösterdiğini rapor etmiştir (AbdElsalam vd., 2018; Kaškonienė vd., 2020; Pelka vd., 2021; Soares de Arruda vd., 2021).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Binlerce yıldır insanlar, arı ürünlerini besin değerleri ve çeşitli tedavi amaçları için kullanmışlardır. Oksidatif stresin altında yatan pek çok hastalığın etkilerini azaltabilen doğal antioksidan kaynakları olarak kabul edilirler. Arı poleni, polifenoller, triterpenler, karotenoidler, fosfolipitler, fitosteroller, biyoaktif peptitler, organik asitler, prebiyotikler ve probiyotikler gibi çeşitli biyoaktif bileşikler içerirler. Bu bileşiklerin çoğu, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antioksidan, ve hatta antikanser gibi terapötik özelliklere sahiptirler.

Fenolik bileşiklerin hızlı bozunmasını önlemek ve salınımını kontrol altında tutmak için enkapsülasyon önemli bir koruma sağlar. Siklodekstrinler, aktif maddelerle birleşerek inklüzyon kompleksleri oluşturur, böylece arı ürünlerinde istenmeyen koku ve tatları gizler, çevresel faktörlere karşı stabiliteyi artırır, uçucu bileşenleri korur, kontrollü salınımı yönetir, reaksiyonları engeller ve gıda endüstrisinde taşıma ve depolamayı kolaylaştırır. Ayrıca, polen içeren kapsüllerin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ve yüzey aktivitesine sahip olduğu belirtilmiştir.

Bu araştırmada, fenolik bakımından zengin polen ekstraktının beta siklodekstrin ile kapsüllenmesi ve bu şekilde *in vitro* biyoyararlılığının artırılması hedeflenmiştir. Örneğin, polen ekstraktında toplam fenolik madde miktarı 2817 ± 217 mg GAE/100 g, toplam flavonoid madde miktarı 5255 ± 317 mg QE/100 g ve CUPRAC antioksidan kapasitesi 3685 ± 248 mg TE/100 g ve DPPH antioksidan kapasitesi 4305 ± 495 mg TE/100 g olarak tespit edilmiştir.

İnklüzyon kompleksi oluşturmak için, polen ekstraktı ile beta siklodekstrin arasında farklı oranlarda (1:1, 1:2 ve 1:3 w:w, polen ekstraktı:beta siklodekstrin) kapsüller hazırlanmıştır. En yüksek enkapsülasyon verimi %64 ile 1:2 (w:w, polen ekstraktı:beta siklodekstrin) konsantrasyonlu kapsülden elde edilmiş ve bu kapsül, *in vitro* sindirim ve antimikrobiyal analizler için tercih edilmiştir.

Arı poleni ekstraktı içeren ve içermeyen inklüzyon komplekslerinin karakterizasyonu, parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ile incelenmiştir. Arı poleni ekstraktı içeren ve

içermeyen inklüzyon komplekslerinin karakterizasyonu, parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ile incelenmiştir.

Gastrointestinal sindirim sürecinde, kapsülün içeriği üzerinde önemli değişiklikler gözlemlenmiştir. Spektrofotometrik analizler, sindirilmemiş, mide ve bağırsak aşamalarında toplam fenolik içeriğin azaldığını ortaya koymuştur. Örneğin, sindirim sonrası kapsüllerde, toplam fenolik içeriğin, toplam flavonoid içeriğin, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivitenin biyoerişilebilirliği sırasıyla sırasıyla %81, %52, %48 ve %76 olarak belirlenmiştir. Bu değişikliklerin mide aşamasında daha belirgin olmasının nedeni, polifenollerin düşük pH ortamında yapısal değişikliklere uğramasıdır. Ancak, moleküler inklüzyon yöntemi ile kapsülleme, fenolik bileşiklerin sindirim sürecinde korunmasına yardımcı olmuştur.

Beta siklodekstrin ile kaplanmış polen ekstraktlarında, HPLC kullanılarak *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası değerlendirme yapılmıştır. Polen enkapsülasyonu işlemi sonrasında trans-sinamik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, kafeik asit fenetil ester (KAPE), kuersetin-3-o-glukozit ve kuersetin olmak üzere altı fenolik bileşik belirlenmiştir. Sindirim sonrasında ise klorojenik asit, kuersetin-3-o-glukozit ve kuersetin gibi bazı fenolik bileşiklerin korunduğu, diğerlerinin ise kaybolduğu gözlemlenmiştir.

Polen ekstraktı, enkapsüle polenin aksine *Bacillus cereus* ATCC 11778 suşuna karşı daha güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. Enkapsüle polen ise tüm test edilen bakteri suşları üzerinde 50 mg/mL MBK değeri ile benzer antibakteriyal etki göstermiştir. Polenin fenolik ekstrakt ile kaplanması ise antimikrobiyal etkisinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu durum, polen ekstraktının enkapsüle polene göre daha yüksek TPM ve TAC değerlerine sahip olmasından kaynaklanabilir.

Bu sonuçlar, beta siklodekstrin kaplama maddesinin biyoerişilebilirliği artırdığını göstermektedir. Ayrıca, literatür araştırmaları, saf polenin enkapsüle polene göre daha düşük biyoerişilebilirliğe sahip olduğunu desteklemektedir. Sonuç olarak, bu çalışma, arı polenin enkapsülasyonunun biyoyararlılık açısından umut verici bir yöntem olduğunu vurgulamaktadır, özellikle fonksiyonel gıda ve besin takviyeleri alanlarında potansiyel olma özelliği taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- AbdElsalam, E., Foda, H. S., Abdel-Aziz, M. S., & Abd, F. K. (2018).** *Antioxidant and Antimicrobial activities of Egyptian Bee Pollen.*
- Aditya, N. P., Espinosa, Y. G., & Norton, I. T. (2017).** Encapsulation systems for the delivery of hydrophilic nutraceuticals: Food application. *Biotechnology Advances*, 35(4), 450-457. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.03.012>
- Akpınar Bayazit, A., Bekar, E., Unal, T. T., Celik, M. A., Acoglu Celik, B., Koc Alibasoglu, E., Sahin Dilmenler, P., Yolci Omeroglu, P., Copur, O. U., & Kamiloglu, S. (2023).** Investigating the effect of harvest season on the bioaccessibility of bee pollen polyphenols by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 249(10), 2529-2542. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04316-8>
- Almeida, J. de F., Reis, A. S. dos, Heldt, L. F. S., Pereira, D., Bianchin, M., Moura, C. de, Plata-Oviedo, M. V., Haminiuk, C. W. I., Ribeiro, I. S., Luz, C. F. P. da, & Carpes, S. T. (2017).** Lyophilized bee pollen extract: A natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in refrigerated sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 299-305. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.017>
- Alshehri, K. M., & Abdella, E. M. (2023).** Development of ternary nanoformulation comprising bee pollen-thymol oil extracts and chitosan nanoparticles for anti-inflammatory and anticancer applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242, 124584. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124584>
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004).** Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Ares, A. M., Valverde, S., Bernal, J. L., Nozal, M. J., & Bernal, J. (2018).** Extraction and determination of bioactive compounds from bee pollen. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 147, 110-124. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.08.009>
- Aylanc, V., Falcão, S. I., Ertosun, S., & Vilas-Boas, M. (2021).** From the hive to the table: Nutrition value, digestibility and bioavailability of the dietary phytochemicals present in the bee pollen and bee bread. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 464-481. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.042>

- Aylanc, V., Tomás, A., Russo-Almeida, P., Falcão, S. I., & Vilas-Boas, M. (2021). Assessment of Bioactive Compounds under Simulated Gastrointestinal Digestion of Bee Pollen and Bee Bread: Bioaccessibility and Antioxidant Activity. *Antioxidants*, 10(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/antiox10050651>
- Ballesteros, L. F., Ramirez, M. J., Orrego, C. E., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2017). Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chemistry*, 237, 623-631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>
- Barbieri, D., Gabriele, M., Summa, M., Colosimo, R., Leonardi, D., Domenici, V., & Pucci, L. (2020). Antioxidant, Nutraceutical Properties, and Fluorescence Spectral Profiles of Bee Pollen Samples from Different Botanical Origins. *Antioxidants*, 9(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/antiox9101001>
- Baysal, G., Olcay, H. S., Keresteci, B., & Özpinar, H. (2022). The antioxidant and antibacterial properties of chitosan encapsulated with the bee pollen and the apple cider vinegar. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 33(8), 995-1011. <https://doi.org/10.1080/09205063.2022.2031463>
- Baysan, U., Zungur Bastioğlu, A., Coşkun, N. Ö., Konuk Takma, D., Ülkeryıldız Balçık, E., Sahin-Nadeem, H., & Koç, M. (2021). The effect of coating material combination and encapsulation method on propolis powder properties. *Powder Technology*, 384, 332-341. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.02.018>
- Boyacioglu, D., Samanci, A. E. T., & Samanci, T. (2022). Chapter 17—Future prospects of propolis, bee pollen, royal jelly, and bee venom. İçinde D. Boyacioglu (Ed.), *Bee Products and Their Applications in the Food and Pharmaceutical Industries* (ss. 411-440). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85400-9.00015-0>
- Bridi, R., Echeverría, J., Larena, A., Nuñez Pizarro, P., Atala, E., De Camargo, A. C., Oh, W. Y., Shahidi, F., Garcia, O., Ah-Hen, K. S., & Montenegro, G. (2022). Honeybee Pollen From Southern Chile: Phenolic Profile, Antioxidant Capacity, Bioaccessibility, and Inhibition of DNA Damage. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.775219>
- Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., Hall, R., & de Vos, R. (2008). Changes in Antioxidant and Metabolite Profiles during Production of Tomato Paste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 964-973. <https://doi.org/10.1021/jf072990e>
- Catchpole, O., Mitchell, K., Bloor, S., Davis, P., & Suddes, A. (2018). Anti-gastrointestinal cancer activity of cyclodextrin-encapsulated propolis. *Journal of Functional Foods*, 41, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.023>

- De-Melo, A. A. M., & de Almeida-Muradian, L. B. (2017).** Chemical Composition of Bee Pollen. İçinde J. M. Alvarez-Suarez (Ed.), *Bee Products—Chemical and Biological Properties* (ss. 221-259). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1_11
- Denisow, B., & Denisow-Pietrzyk, M. (2016).** Biological and therapeutic properties of bee pollen: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303-4309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7729>
- Dias, L. G., Tolentino, G., Pascoal, A., & Estevinho, L. M. (2016).** Effect of processing conditions on the bioactive compounds and biological properties of bee pollen. *Journal of Apicultural Research*, 55(5), 357-365. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1248109>
- Didaras, N. A., Kafantaris, I., Dimitriou, T. G., Mitsagga, C., Karatasou, K., Giavasis, I., Stagos, D., Amoutzias, G. D., Hatjina, F., & Mossialos, D. (2021).** Biological Properties of Bee Bread Collected from Apiaries Located across Greece. *Antibiotics*, 10(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050555>
- dos Santos Ferreira, C. I., Gonzales, A. P., Mazzobre, M. F., Ulrih, N. P., & Buera, M. del P. (2022).** Solubility, sorption isotherms and thermodynamic parameters of β -cyclodextrin complexes with *poplar* propolis components: Practical implicances. *LWT*, 167, 113811. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113811>
- Dulger Altiner, D., Sandikci Altunatmaz, S., Sabuncu, M., Aksu, F., & Sahan, Y. (2020).** In-vitro bioaccessibility of antioxidant properties of bee pollen in Turkey. *Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1590/fst.10220>
- Dundar, A. N., Cinar, A., Altuntas, S., Ulubayram, N., Taner, G., Dagdelen, A. F., Demircan, H., & Oral, R. A. (2022).** The role of microencapsulation in maintaining biological activity of royal jelly: Comparison with biological activity and bioaccessibility of microencapsulated, fresh and lyophilized forms during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(12), 5502-5511. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11905>
- Durazzo, A., Lucarini, M., Plutino, M., Lucini, L., Aromolo, R., Martinelli, E., Souto, E. B., Santini, A., & Pignatti, G. (2021).** Bee Products: A Representation of Biodiversity, Sustainability, and Health. *Life*, 11(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/life11090970>
- Eun, J.-B., Maruf, A., Das, P. R., & Nam, S.-H. (2020).** A review of encapsulation of carotenoids using spray drying and freeze drying. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(21), 3547-3572. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1698511>
- Fuenmayor, C. A., Baron-Cangrejo, O. G., & Salgado-Rivera, P. A. (2021).** Encapsulation of Carotenoids as Food Colorants via Formation of Cyclodextrin Inclusion Complexes: A Review. *Polysaccharides*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2020028>

- Giampieri, F., Quiles, J. L., Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Orantes-Bermejo, F. J., Alvarez-Suarez, J. M., & Battino, M.** (2022). Bee Products: An Emblematic Example of Underutilized Sources of Bioactive Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(23), 6833-6848. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c05822>
- Grgić, J., Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M., & Bucić-Kojić, A.** (2020). Role of the Encapsulation in Bioavailability of Phenolic Compounds. *Antioxidants*, 9(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/antiox9100923>
- Hanafy, N. A. N., Eltonouby, E. A. B., Salim, E. I., Mahfouz, M. E., Leporatti, S., & Hafez, E. H.** (2023). Simultaneous Administration of Bevacizumab with Bee-Pollen Extract-Loaded Hybrid Protein Hydrogel NPs Is a Promising Targeted Strategy against Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/ijms24043548>
- Hanafy, N. A. N., Salim, E. I., Mahfouz, M. E., Eltonouby, E. A., & Hamed, I. H.** (2023). Fabrication and characterization of bee pollen extract nanoparticles: Their potential in combination therapy against human A549 lung cancer cells. *Food Hydrocolloids for Health*, 3, 100110. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2022.100110>
- Hara, K., Someya, T., Sano, K., Sagane, Y., Watanabe, T., & Wijesekara, R. G. S.** (2018). Antioxidant activities of traditional plants in Sri Lanka by DPPH free radical-scavenging assay. *Data in Brief*, 17, 870-875. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.02.013>
- Hemmami, H., Seghir, B. B., Ali, M. B., Rebiai, A., Zeghoud, S., & Brahmia, F.** (2020). Phenolic profile and antioxidant activity of bee pollen extracts from different regions of Algeria. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 31(2), 93-98. <https://doi.org/10.2478/auoc-2020-0017>
- Irigoit, Y., Yamul, D. K., & Navarro, A. S.** (2021). Co-crystallized sucrose with propolis extract as a food ingredient: Powder characterization and antioxidant stability. *LWT*, 143, 111164. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111164>
- Jia, Z., Dumont, M.-J., & Orsat, V.** (2016). Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. *Food Bioscience*, 15, 87-104. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.05.007>
- Kahraman, H. A., Tutun, H., Kaya, M. M., Usluer, M. S., Tutun, S., Yaman, C., Sevin, S., & Keyvan, E.** (2022). Ethanolic extract of Turkish bee pollen and propolis: Phenolic composition, antiradical, antiproliferative and antibacterial activities. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 36(1), 45-56. <https://doi.org/10.1080/13102818.2022.2045217>
- Kalaycıoğlu, Z., Kaygusuz, H., Döker, S., Kolaylı, S., & Erim, F. B.** (2017). Characterization of Turkish honeybee pollens by principal component analysis based on their individual organic acids, sugars, minerals, and antioxidant activities. *LWT*, 84, 402-408. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.003>

- Kalogeropoulos, N., Konteles, S., Mourtzinis, I., Troullidou, E., Chiou, A., & Karathanos, V. T.** (2009). Encapsulation of complex extracts in β -cyclodextrin: An application to propolis ethanolic extract. *Journal of Microencapsulation*, 26(7), 603-613. <https://doi.org/10.3109/02652040802586373>
- Kandasamy, S., & Naveen, R.** (2022). A review on the encapsulation of bioactive components using spray-drying and freeze-drying techniques. *Journal of Food Process Engineering*, 45(8), e14059. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14059>
- Kaškonienė, V., Adaškevičiūtė, V., Kaškonas, P., Mickienė, R., & Maruška, A.** (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of natural and fermented bee pollen. *Food Bioscience*, 34, 100532. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100532>
- Kfoury, M., Landy, D., & Fourmentin, S.** (2018). Characterization of Cyclodextrin/Volatile Inclusion Complexes: A Review. *Molecules*, 23(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/molecules23051204>
- Khalifa, S. A. M., Elashal, M. H., Yosri, N., Du, M., Musharraf, S. G., Nahar, L., Sarker, S. D., Guo, Z., Cao, W., Zou, X., Abd El-Wahed, A. A., Xiao, J., Omar, H. A., Hegazy, M.-E. F., & El-Seedi, H. R.** (2021). Bee Pollen: Current Status and Therapeutic Potential. *Nutrients*, 13(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/nu13061876>
- Khoshnamvand, M., Huo, C., & Liu, J.** (2019). Silver nanoparticles synthesized using *Allium ampeloprasum* L. leaf extract: Characterization and performance in catalytic reduction of 4-nitrophenol and antioxidant activity. *Journal of Molecular Structure*, 1175, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.07.089>
- Li, Q.-Q., Wang, K., Marcucci, M. C., Sawaya, A. C. H. F., Hu, L., Xue, X.-F., Wu, L.-M., & Hu, F.-L.** (2018). Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. *Journal of Functional Foods*, 49, 472-484. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.09.008>
- Maqsoudlou, A., Sadeghi Mahoonak, A., Mohebodini, H., & Koushki, V.** (2020). Stability and structural properties of bee pollen protein hydrolysate microencapsulated using maltodextrin and whey protein concentrate. *Heliyon*, 6(5), e03731. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03731>
- Martinello, M., & Mutinelli, F.** (2021). Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. *Antioxidants*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/antiox10010071>
- Muñoz-Shugulí, C., Vidal, C. P., Cantero-López, P., & Lopez-Polo, J.** (2021). Encapsulation of plant extract compounds using cyclodextrin inclusion complexes, liposomes, electrospinning and their combinations for food purposes. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 177-186. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.020>
- Mutlu, C., & Erbas, M.** (2023). Turkish bee pollen: Composition, regional discrimination and polyphenol bioaccessibility. *Food Bioscience*, 53, 102805. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102805>

- Nader, R. A., Mackieh, R., Wehbe, R., El Obeid, D., Sabatier, J. M., & Fajloun, Z.** (2021). Beehive Products as Antibacterial Agents: A Review. *Antibiotics*, 10(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060717>
- Nainu, F., Masyita, A., Bahar, M. A., Raihan, M., Prova, S. R., Mitra, S., Emran, T. B., & Simal-Gandara, J.** (2021). Pharmaceutical Prospects of Bee Products: Special Focus on Anticancer, Antibacterial, Antiviral, and Antiparasitic Properties. *Antibiotics*, 10(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070822>
- Nerome, H., Machmudah, S., Wahyudiono, Fukuzato, R., Higashiura, T., Youn, Y.-S., Lee, Y.-W., & Goto, M.** (2013). Nanoparticle formation of lycopene/ β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent precipitation. *The Journal of Supercritical Fluids*, 83, 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.08.014>
- Nisbet, C., & Tabatabaei, P.** (2021). Investigation of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Bee Pollen Collected from Different Geographical Regions in Turkey. *Kocatepe Veterinary Journal*, 14(3), Article 3. <https://doi.org/10.30607/kvj.846905>
- Olas, B.** (2022). Bee Products as Interesting Natural Agents for the Prevention and Treatment of Common Cardiovascular Diseases. *Nutrients*, 14(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/nu14112267>
- Ozkan, K., Sagcan, N., Ozulku, G., Sagdic, O., Toker, O. S., & Muz, M. N.** (2018). Bioactive and bioaccessibility characteristics of honeybee pollens collected from different regions of Turkey. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1), 581-587. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9670-7>
- Pelka, K., Otlowska, O., Worobo, R. W., & Szveda, P.** (2021). Bee Bread Exhibits Higher Antimicrobial Potential Compared to Bee Pollen. *Antibiotics*, 10(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020125>
- Perinelli, D. R., Palmieri, G. F., Cespi, M., & Bonacucina, G.** (2020). Encapsulation of Flavours and Fragrances into Polymeric Capsules and Cyclodextrins Inclusion Complexes: An Update. *Molecules*, 25(24), Article 24. <https://doi.org/10.3390/molecules25245878>
- Peršurić, Ž., & Pavelić, S. K.** (2021). Bioactives from Bee Products and Accompanying Extracellular Vesicles as Novel Bioactive Components for Wound Healing. *Molecules*, 26(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/molecules26123770>
- Qin, W., Ketnawa, S., & Ogawa, Y.** (2022). Effect of digestive enzymes and pH on variation of bioavailability of green tea during simulated *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Science and Human Wellness*, 11(3), 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.12.024>
- Ramli, N. A., Ali, N., Hamzah, S., & Yatim, N. I.** (2021). Physicochemical characteristics of liposome encapsulation of stingless bees' propolis. *Heliyon*, 7(4), e06649. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06649>

- Reque, P. M., & Brandelli, A.** (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022>
- Rocha, B. A., Rodrigues, M. R., Bueno, P. C. P., Costa-Machado, A. R. de M., Vaz, M. M. de O. L. L., Nascimento, A. P., Barud, H. S., & Berretta-Silva, A. A.** (2011). Preparation and thermal characterization of inclusion complex of Brazilian green propolis and hydroxypropyl- β -cyclodextrin: Increased water solubility of the chemical constituents and antioxidant activity. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 108(1), 87-94. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1713-4>
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabala-Dzik, A., Kubina, R., Moździerz, A., & Buszman, E.** (2015). Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity. *Molecules*, 20(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/molecules201219800>
- Sawicki, T., Starowicz, M., Kłębukowska, L., & Hanus, P.** (2022). The Profile of Polyphenolic Compounds, Contents of Total Phenolics and Flavonoids, and Antioxidant and Antimicrobial Properties of Bee Products. *Molecules*, 27(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/molecules27041301>
- Schmidt, J. O.** (1997). Bee Products. İçinde A. Mizrahi & Y. Lensky (Ed.), *Bee Products: Properties, Applications, and Apitherapy* (ss. 15-26). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9371-0_2
- Shahidi, F., & Peng, H.** (2018). Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds. *Journal of Food Bioactives*, 4, 11-68. <https://doi.org/10.31665/JFB.2018.4162>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A.** (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Soares de Arruda, V. A., Viera dos Santos, A., Figueiredo Sampaio, D., da Silva Araújo, E., de Castro Peixoto, A. L., Estevinho, L. M., & de Almeida-Muradian, L. B.** (2021). Brazilian bee pollen: Phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Journal of Apicultural Research*, 60(5), 775-783. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1840854>
- Şengül, F., & Vatansev, H.** (2021). Overview of Apitherapy Products: Anti-Cancer Effects of Bee Venom Used in Apitherapy. *International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research*, 2(1), Article 1.
- Tan, Y. N., Ayob, M. K., Osman, M. A., & Matthews, K. R.** (2011). Antibacterial activity of different degree of hydrolysis of palm kernel expeller peptides against spore-forming and non-spore-forming bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 53(5), 509-517. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03137.x>

- Thakur, M., & Nanda, V.** (2020). Composition and functionality of bee pollen: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 82-106. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.001>
- Thakur, M., Pant, K., Naik, R. R., & Nanda, V.** (2021). Optimization of spray drying operating conditions for production of functional milk powder encapsulating bee pollen. *Drying Technology*, 39(6), 777-790. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1720225>
- Valdivia-Olivares, R. Y., Martínez-González, E. A., Montenegro, G., Bridi, R., Álvarez-Figueroa, M. J., & González-Aramundiz, J. V.** (2023). Innovative multiple nanoemulsion (W/O/W) based on Chilean honeybee pollen improves their permeability, antioxidant and antibacterial activity. *Food Research International*, 168, 112767. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112767>
- Velásquez, P., Rodríguez, K., Retamal, M., Giordano, A., Valenzuela, L., & Montenegro, G.** (2017). Relation between composition, antioxidant and antibacterial activities and botanical origin of multi-floral bee pollen. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90, 306-314. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2017.090.038>
- Yesiltas, B., Capanoglu, E., Firatligil-Durmus, E., Sunay, A. E., Samanci, T., & Boyacioglu, D.** (2014). Investigating the in-vitro bioaccessibility of propolis and pollen using a simulated gastrointestinal digestion System. *Journal of Apicultural Research*, 53(1), 101-108. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.1.10>

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Aslı AKDAŞ

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2021, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya – Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

MESLEKİ DENEYİM:

- 2019 – TÜBİTAK MAM Gıda Enstitüsü – Laboratuvar Stajyeri
- 2020 – İstanbul Halk Ekmek A.Ş. – Üretim ve Laboratuvar Stajyeri
- 2022-2023 – İstanbul Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü – Proje Bursiyeri
- 2023 - SBS Bilimsel Bio Çözümler San. ve Tic. AŞ. – Kalite Kontrol Uzman Yardımcısı
- 2023'den beri – Türk Hava Yolları AO, İkram ve Uçak İçi Ürünler Başkanlığı – Uzman Yardımcısı

YAYINLAR:

- Ozkan, G., Sakarya, F. B., **Akdas, A.**, Atalar, M. N., Aydoğan, C., Yurt, B., & Capanoglu, E. (2024). Comprehensive LC-MS/MS phenolic profiling of *Arum elongatum* plant and bioaccessibility of phenolics in their infusions. *eFood*, 5(1), e124.

ÖDÜLLER

- TÜGİS Gıda Sanayi Başarı Ödülleri Üçüncülük (2019, İstanbul Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü)