

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

**FARKLI BOTANİK ORİJİNE SAHİP ARI EKMEĞİ ÖRNEKLERİNDE
STEROL ANALİZİ**

Proje No: FBA-2016-6748

Normal Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Yrd. Doç. Dr. Duran ÖZKÖK
ERÜ. Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksekokulu

Prof. Dr. Sibel SİLİCİ
ERÜ. Seyrani Ziraat Fakültesi
Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü

Haziran, 2017

KAYSERİ

Bu araştırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (**Proje No: FBA-2016-6748**) desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	4
ABSTRACT	5
GİRİŞ	6
1.1. <i>Fitosteroller</i>	7
1.2. <i>Arı ekmeği ve kimyasal yapısı</i>	10
2. GEREÇ VE YÖNTEM	16
2.1. <i>Arı ekmeği örnekleri</i>	16
2.2. <i>Polen analizi</i>	16
2.2.1. <i>Gliserin jelatin karışımının hazırlanması</i>	17
2.3. <i>Yağ ve sterol analizi</i>	17
2.8. <i>İstatistiksel analiz</i>	18
3. BULGULAR.....	18
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	23
5. KAYNAKLAR.....	26

ÖZET

Bu araştırmada bal arısı (*Apis mellifera* L.) tarafından petek gözünde depolanan farklı coğrafik ve botanik orijinli polenlerin palinolojik spektrum, yağ ve sterol analizleri yapılmıştır. Örneklerin botanik orijini polen analizi ile sterol içerikleri ise GC kullanılarak belirlenmiştir. Botanik orijini narenciye, üçgül, pamuk, kestane ve ayçiçeği olan örneklerde tespit edilen steroller miktar bakımından 4.85-1698.71 mg/kg arasında değişiklik göstermiştir. Narenciye poleni kampesterol, $\Delta 5$ avenosterol ve 24-metilenkolesterol, pamuk poleni kampesterol, üçgül poleni $\Delta 5$ avenasterol, kestane poleni sitostanol ve ayçiçeği poleni β -sitosterolü daha yüksek miktarda içermiştir. Test edilen tüm örneklerde kolesterol diğer sterollere göre en düşük oranda bulunmuştur. Sonuç olarak balarıları tarafından petek gözlerde depolanmış polenlerin yüksek sterol içeriğine sahip olması hem bal arısı beslenmesi hem de insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Sterol, depolanmış polen, fitosterol, bal arısı, arı ekmeği

ABSTRACT

Palynological spectrum, fat and sterol analyses of stored pollens, collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from different geographical and botanical origins were performed. Botanical origin of the samples was identified through pollen analysis and their sterol composition was determined by GC analysis. The sterol contents of the stored pollens including citrus, clover, cotton, chestnut and sunflower changed between 4.85-1698.71 mg/kg. Citrus pollen contained higher amounts of campesterol, Δ^5 avenosterol and 24-methylene cholesterol, while cotton pollen had the higher campesterol content. Δ^5 avenosterol was the main constituent of clover pollen, whereas sitostanol was the major compound found in chestnut pollen and sunflower pollen contained higher amounts of β -sitosterol compared to other sterols. Cholesterol level was the lowest in all the samples tested. The results revealed that stored pollens in the comb by the honeybees are good source of sterols that is of paramount importance for both honey bee nutrition and human health.

Key words: Sterol, stored pollen, phytosterol, honeybee, beebread

GİRİŞ

İnsan vücudunda sentez edilemeyen ve insan sağlığı üzerine olumlu etkileri olan fitosteroller son yıllarda bilimsel araştırmaların odağı olmuştur. Fitosteroller bitkilerin ikincil metabolik faaliyetleri sırasında sentezlenerek depolanan steroid yapıdaki biyoaktif bileşik grubudur ve triterpen grubunda yer almaktadır. Triterpenler bitki hücre zarının önemli yapısal bileşenleridir. Fitosteroller kimyasal hidrojenizasyonla fitostanollere (kampesterol / kampestanol, sitosterol / sitostanol) dönüşürler (Ateş ve Velioğlu, 2005). Bitkilerde 200'den fazla fitosterol bulunmakla birlikte sitosterol (24- α -etilkolesterol), kampesterol (24- α -etilkolesterol) ve stigmasterol (Δ 22, Δ 24- α -etilkolesterol) bitki sterollerinin büyük çoğunluğunu oluşturur. Brassikasterol ise turpgiller (Brassicaceae) türlerinde yaygın olan bir bitki sterolüdür (Hartmann, 1998). Steroller böceklerde yapısal olarak en önemli rolü oynar, gelişmede ve deri değiştirirken ekdizon hormonu oluşumu için başlangıç materyalidir. Steroller böcek fizyolojisinde önemli olmasına karşın böcekler sterollerini sentezleyemezler ve dışarıdan almaya ihtiyaç duyarlar (Madariaga ve ark., 1974).

Arı poleni, bal arıları tarafından çiçeklerin stamenlerinden toplanan, tükürük enzimleriyle karıştırılıp polen sepetinde taşınarak kovana getirilen peletlerdir. Bal arılarının yavru yetiştirmesinde ve genç dönemlerinde dokularının, kaslarının, salgı bezlerinin (özellikle hipofaringeal salgı bezleri) ve diğer organlarının yeterince gelişmesi için gerekli olan protein, lipid, sterol, vitamin ve mineral ihtiyaçlarını karşılayan doğadaki tek kaynaktır. Besin toplayan işçi arılar (tarlacı işçi arılar) tarafından toplanan polen petek gözlerinde depolanır ve bozulmaması için üzeri bir miktar balla kaplanır. Kimyasal değişikliğe uğrayan yapısıyla birlikte polenin bu haline arı ekmeği denilmektedir (Gilliam, 1979). Arı ekmeği yaklaşık % 20 protein, % 3 lipid, % 24-35 karbonhidrat, % 3 mineral ve vitamin içerir. İnsan vücudunun biyolojik olarak sentezleyemediği esansiyel amino asitlerin tamamını içeren oldukça dengeli protein içeriği C, B₁, B₂, E, H, P, nikotik asit, folik asit ve pantotenik asit gibi vitaminler, pigmentler ile sakkaraz, amilaz, fosfotaz gibi enzimler, flavonoidler, karotenoidler ve hormonlar içerir (Haydak ve Vivino, 1950).

Arı ekmeğinde bulunan B grubu vitaminler insanlarda genel metabolizmanın düzenlenmesi, sinir sistemi fonksiyonu ve homeopoesisin uyarılması için önemlidir. Arı ekmeği Fe, Ca, P, K, Cu, Zn, Se, Mg gibi 25 den fazla mikro ve makroelement ile antibakteriyel etkiye sahip aktif maddeler içermektedir. Bu nedenle arı ekmeğinde daha az karbonhidrat ile çok miktarda kolay sindirilebilen proteinlere sahiptir. Düşük kolesterol ve

yüksek seviyede Mg ve Ca içermesiyle kalp hastalıklarında etkilidir ve enerjinin yüksek oranda korunmasını sağlar (Ostlund, 2004).

Fitosterollerin yağ asitleri ile esterleşerek bağırsakta emilebildiği, kanda lipoprotein yapısına katıldığı, düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL) azaltıcı, yüksek yoğunluklu lipoproteini (HDL) ise artırıcı etki gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca kan damar tıkanıklığı ve coroner kalp damar hastalık riskini azaltıcı etkisi bildirilmiştir. Kötü huylu tümör gelişimini önleyerek kolon ve prostat kanser oluşumunu azaltıcı etkisi ile obezitede lipogenesisi azaltıp, lipolizi artırıcı etkisi nedeniyle kilo kontrolünde etkili olduğu rapor edilmektedir (Ostlund, 2004).

Bu sebeple son yıllarda, bal arısı beslenmesinde olduğu kadar insan beslenmesinde de önemli rolü olan arı polenin sterol içeriği önem kazanmıştır. Bu araştırmada farklı coğrafik ve botanik orijine sahip olan arı polenlerinin sterol içeriğini belirlenmiştir.

1.1. Fitosteroller

Yağların sabunlaşmayan fraksiyonları içerisinde yer alan steroller, bütün hayvansal ve bitkisel dokularda önemli düzeylerde bulunurlar. Omurgalı dokularda esas olarak 27 karbonlu bir sterol olan kolesterol bulunur. Yüksek bitkilerde steroller ilk olarak Hesse (1979) tarafından kalabar fasulyesinden izole edilmiş ve bunun için fitosterin terimi kullanılmıştır daha sonra stigmatserol olarak isimlendirilmiştir. Fitosterol terimi 1897 yılında bitkisel orijinli tüm steroller için kullanılmaya başlanmıştır (Anonim, 1999).

Fitosteroller triterpen familyasında yer alır. Triterpenler bitki hücre zarının önemli bir bileşenidir ve 100 farklı sterol ile 4000 den fazla diğer tipte terpenleri içermektedir. Fitosterollerin çoğu 28 veya 29 karbon içerirken bir ya da iki karbon arasında çift bağ (C=C) içermektedir. Bu bağlar sterol çekirdeğinde bazen de alkali yan zincirde yer alır. Kimyasal olarak fitosteroller kolesterol ile aynı temel yapıya sahip iken farklılık C-17 deki yan zincirden kaynaklanmaktadır (Good, 1991).

Kolesterol hayvanlarda yaygın bir sterol olarak bulunurken bitki membranları kolesterol içermez ya da çok az içerirler. Fitosterollerin tümü HMG-CoA'nın mevalonete redüksiyonu ile sentezlenirler. Fitosteroller ise fitosterollerin çift bağ içermeyen alt grubunu oluştururlar. Fitosteroller kimyasal hidrojenizasyonla fitosterollere (kampesterol/kampestanol, sitosterol/sitostanol gibi) dönüşürler ve doğal halde bitki gruplarında iz miktarda bulunurlar. Sadece bazı tahıl türlerinde yüksek miktarda bulunmaktadır (Moreau ve ark., 2002).

Batı ülkelerinde ortalama bir diyet 160-360 mg/gün sitosterol ve kampesterol ile 20-50 mg/gün düzeyinde sitostanol içermektedir. Geleneksel Asya diyetinde ise 350-400 mg/gün vejeteryan diyetinde ise 600-800 mg/gün bitki sterolu içermesi önerilmektedir (Anonim, 1999). Bitki stanolleri bitki sterolleri ile karşılaştırıldıklarında doğada az miktarda bulunmaktadır. Normal bir diyet daha az stanol içermektedir.

Fitosterollerin bilimsel olarak adlandırılmasında yaygın olarak 2 sistem kullanılmaktadır. Bunlar IUPAC-IUB 1976 ve IUPAC-IUB 1989 sistemleridir. Fitosterollerin tanımlanmasında en uygun yol 4. Karbondaki metil grubu esas alınarak yapılan gruplandırma dır. Buna göre 4. karbondaki bir metil grubu içerenler; 4-monometilsteroller, iki metil grubu içerenler 4-dimetilsteroller ve hiç metil grubu içermeyenler ise 4-desmetilsteroller olarak adlandırılmaktadır. H-sterol, kampesterol ve stigmasterol bitki sterollerinin çoğunluğunu oluşturur ve bunların yapısı kolesterole çok benzerken 4-desmetilsterol grubunda yer alırlar. Brassikasterol ise turpgiller familyası türlerinde yaygındır ve genelde kabak, brokoli ve kanola gibi bitkilerde bulunmaktadır.

Desmetilsterollerin ikinci grubunda olan 2,2-dihidroksipinasterol ve spinasterol bazı bitki familyalarında yaygın bileşiklerdir. Kabakgiller (Cucurbitaceae) familyasında kavun, balkabağı ve salatalık 17 fitosterol içermektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar da bu 17 fitosterolün geniş oranda dağıldığı ıspanakgiller, karanfilgiller, kazayağıgiller, şekeciboyasıgiller ve semizotugiller gibi beş familya (Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Phytllaceae ve Portulaceae) dikkat çekmektedir (Salt ve ark., 1991). Karbon sayısına göre desmetilsteroller 27 karbonlu desmetilsteroller, kolesterol, desmosterol, 28 karbonlu desmetilsteroller, kampestanol, ergostanol, kampesterol, 22-dihidroksibrassikasterol, brassikasterol, epibrassikasterol, ergosterol, 29 karbonlu steroller, sitostanol, sitosterol, L7-stigmatsenol, stigmasterol, L7-stigmatserol, L5-avenasterol şeklinde sınıflandırılmıştır (Moreau ve ark., 2002).

Yapılan bazı bitkilerin fitosterol içeriğı miktarları (mg/100 g) belirlenmiştir. Bu miktarlar sırasıyla; patates 5, domates 7, armut 8, mercimek 10, havuç ve elma 12, soğan 15, muz 16, incir 31, kurufasulye 127, soya fasulyesi 161, badem 143, yer fıstığı 220, susam tohumu 714, zeytinyağı 221, soya yağı 250, pamuk tohumu yağı 324, aspir yağı 444, susam yağı 865 ve mısır yağı için 968 mg/100 g bulunmuştur (Anonim 1999).

Tüm bitki dokularında fitosteroller genel olarak serbest alkoller (FS), yağ asidi esterleri (SE), steril glikozidler (SG), açillenmiş steril glikozitler (ASG) ve hidroksisinnamik asit esterleridir (HSE) şeklinde 5 formda bulunmaktadır. Bunlardan SE, SG ve ASG formları genellikle “fitosterol bileşikleri” olarak adlandırılmaktadır. Serbest sterollerde 3H-OH grubu

sterol çekirdeğinden türevlenmektedir (Moreau ve ark., 2002). Yağ asidi esterlerinde OH grubu yağ asidi ile ester bağı oluşturur. Bitkilerde çeşitli sterol esterleri (ergosteril, stigmasteril ve H-sitosteril esterleri gibi) hücre zarlarında ve tohum yağlarında bulunmaktadır (Anonim, 1999).

Bitkilerde bulunan diğer bir bileşik grubu sterol glikozitlerdir. İlk olarak Power ve Salway (1910) tarafından rapor edilmiştir. Bu bileşikler bir karbonhidrat biriminin sterol molekülündeki hidroksil grubu ile bağlanması sonucu oluşmuştur. Sterol grubu kampesterol, stigmatsterol, brassikasterol ve dihidrositosterol gibi farklı sterollerden oluşurken şeker grubu glikoz, ksiloz ve arabinoz gibi bileşiklerden oluşmaktadır (Anonim, 1999).

Fitosterollerin üçüncü grubu olan ASG ler SG lerden farklıdır. ASG’de ilave olarak heksoz grubunun 6-OH grubu yağ asidi ile esteleşmiştir. Bu grup ilk olarak Lepage tarafından 1964 yılında patates ve soya ekstraktında belirlenmiştir (Lepage, 1964).

Mısır, pirinç tohumları ve diğer tahıllar fitosterollerin dördüncü grubu olan HSE içermektedir. HSE grubunda 3-H-OH grubu ferulik ve p kumarik asitle esterleşmiştir. Norton (1995) mısır sterollerinde HSE’nin dominant olduğunu rapor etmiştir.

Steroller sabunlaşmayan maddelerin büyük bir kısmını oluştururlar ve neredeyse tüm katı ve sıvı yağlarda bulunurlar. Bunlar aynı zamanda bitkisel yağların karakteristik özelliğini belirlerler. Örneğin kolza tohumu önemli miktarda brassikasterol içerirken (100-1100 mg/kg) zeytinyağı yüksek miktarda H-sitosterol (683-2610 mg/kg) ve 5-avenasterol (34-266 mg/kg) aspir ve ayçiçek yağı tohumları ise yüksek düzeyde 7-stigmastenol (5-300 ile 150-500 mg/kg) içermektedir (Aparico ve Aparicio-Ruiz, 2000). Sterollerin yağlardaki karakteristik özelliklerinden dolayı fitosteroller ve diğer sabunlaşmayan bileşikler karışık yağların değerlendirilmesinde bir kriter olarak kullanılırlar.

Yüksek kolesterol düzeyinin koroner kalp hastalıkları için bir tehlike olduğu bilinmektedir. Bitki sterolleri ve sterol esterleri serum kolesterol seviyesini düşürücü özellikleri ile bilinmektedir. Bu nedenle bilimsel araştırmaların odağı durumundadır.

Worthington ve Hitchcock (1984) iki yer fıstığı ile mısır çeşidinde sterol esterleri ile serbest sterolleri belirlemişlerdir. Araştırmada yer fıstığı ve mısır yağı serbest sterol ve sterol esterleri dağılımının oldukça farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Fıstık çeşitlerinde (Starr ve Flourunner) 130-150 mg/100 g serbest sterol, 51-74 mg/100 g sterol esteri, mısır çeşitlerinde ise (Mzole ve Kroger) 320-370 mg/100 g serbest sterol ile 950-1420 mg/100 g sterol esteri tespit edilmiştir. Sonuçta fıstık yağı sterol esterleri yönünden serbest sterole içeriğine göre daha çok stigmasterol ve daha az kampesterol, mısır yağı ise daha az 5-avenasterol ve daha çok kampesterol içermiştir. Bir başka araştırmada ise sızma zeytinyağına karıştırılan kolza

tohumu, soya ve ayçiçek yağı ile üzüm tohumu yağı belirlenmiştir (Grob ve ark., 1994). İki zeytin çeşidinde yapılan bir araştırmada olgunlaşmanın asidite, peroksit indeksi, yağ asidi kompozisyonu, tokoferol ve fenolik bileşikler ile sterol değişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak meyve olgunlaştıkça linoleik asit, L5 avenasterol ve yağ içeriği hariç diğer bileşenlerin azaldığı, söz konusu bileşiklerin ise arttığı tespit edilmiştir (Guttierrez ve ark., 1999).

1.2. Arı ekmeği ve kimyasal yapısı

Ülkemizde arıcılık faaliyeti denildiği zaman ilk akla gelen bal üretimidir. Oysa arıcılıkta ekonomik değeri yüksek arı sütü, arı poleni, propolis, arı ekmeği ve balmumu gibi diğer ürünleri de elde etmek mümkündür. Bu ürünler hem son derece besleyicidir hem de tüm dünyada iyi bilinen alternatif tıpta koruyucu ve destek ürün olarak yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

Bu ürünlerden biri olan polen, çiçekli bitkilerin erkek organlarında meydana gelen üreme birimleridir (Krell, 1996). Polenler arılar tarafından bitkilerden toplanırken genellikle bir miktar tükürük ile yapışkanlık kazandırılır ve pelet (topak) halini alması sağlanır. Oluşan bu yeni ürüne “arı poleni” adı verilmektedir. Arı poleni, bal arılarının larva yetiştirmesinde ve gençlik dönemlerinde dokularının, kaslarının, salgı bezlerinin ve diğer organlarının yeterince gelişmesi için gerekli olan protein, lipit, sterol, vitamin ve mineralleri sağlayan en önemli besin maddesidir (Dobson ve Peng, 1997; Pernal ve Currie, 2002; Calderone ve Johnson, 2002; Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005; Konar ve ark., 2010). Polenle beslenen arıların ürettiği arı sütü ile ömrü boyunca beslenen kraliçe arının 5-6 yıl yaşadığı, diğer arılarsa sadece larva döneminde arı sütü ile beslendikleri ve birkaç hafta yaşadıkları bildirilmiştir (Campos ve ark., 1997; Campos ve ark., 2003). Çiçek poleni ve arı salgılarının bir karışımı olan arı polenin insanlar tarafından yüzyıllardır gıda olarak tüketildikleri bilinmektedir. Bu anlamda Babillerin kutsal kitabında, diğer dini kitaplarda ve Çin yapıtlarında bu konuya dair bilgiler bulunmaktadır (Elkins, 1996).

Gıda olarak kullanılan polenler arıcılar tarafından kovanlara ilave edilen polen tuzakları ile toplanmaktadır. Bu polenler arıcılar tarafından kurutulularak veya dondurularak muhafaza edilmektedir. Polenlerin fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri orijinine bağlı olarak oldukça farklılıklar göstermektedir. Polen örneklerinin orijini belirlenirken bitki florasına bağlı olarak değişim gösteren mikroskobik görüntülerinden faydalanılmaktadır. Bugüne kadar polen konusunda gerek dünyada gerekse ülkemizde daha çok balda polen

analizi (melissopalinojoloji) ve aeropalinojoloji konularına yoğunlaşmış, balın botanik orijini belirlemek ve alerji riski olan hastalar için hava polenlerini tanımlamak için bu alanlardan faydalanılmıştır. Ancak arı poleni konusunda, özellikle monofloral arı polenleri konusunda araştırmalar sınırlı kalmıştır. Polenin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin toplandığı bitkiye, toplandığı bölgenin coğrafik konumuna, iklim özelliklerine, toplanma şekline ve ambalaj şekline bağlı olarak değişim gösterdiği bildirilmektedir (Karataş ve ark., 2000). Krell (1996) yaptığı çalışmada arıların topladıkları polenlerin ortalama % 7.5-40 protein, %15-50 karbonhidrat ve %15 -50 arasında değişen ve oldukça yüksek miktarda nişasta ihtiva ettiğini ifade etmiştir. Basim ve ark. (2006) da yaptıkları *in vitro* çalışmada polen ve propolis metanolik ekstraktlarının pek çok patojenik bakteriye karşı antibakteriyal aktivite gösterdiklerini rapor etmiştir. Yine Medeiros ve ark. (2008) da sığınlarda fenolik polen ekstraktlarının anti alerjenik etkisinden bahsetmişlerdir. Almaraz-Abarca ve ark. (2007) da yaptıkları çalışmada Meksika florasına ait etanolik polen ekstraktlarının lipid peroksidasyonu inhibe edici ve polen ekstraktlarının HPLC analizinde bir flavonoid türevi olan kalkonlarca zengin olduğunu ortaya koymuşlardır. Polenin *in vitro* olarak lipid peroksidasyonunu engellediği, oksidan özelliğe sahip ve kanserojen olduğu bilinen pek çok serbest oksijen radikalini temizlediği (Silva ve ark., 2006; Šarić ve ark., 2009), yine *in vitro* bakteri çalışmalarında bakterileri öldürdüğü veya gelişimini engellediği (Basim ve ark., 2006) yapılan araştırmalarda belirtilmiştir.

Bunların dışında literatürde polenlerle ilgili olarak antioksidan aktivitelerini ortaya çıkaran araştırmalara (LeBlanc ve ark., 2009) ek olarak, balların orijinlerini belirlemek üzere yapılan polen araştırmaları (Valencia-Barrera, 2000; Arvanitoyannis ve ark., 2005; Cuevas-Glory ve ark., 2007; Ouchemoukh, 2007) ve polenlerin aminoasit analizlerinin tespitine yönelik (González Paramás ve ark., 2006) çalışmalar mevcuttur. Ticari arı polenlerinin B grubu vitaminleri içeriğini tespit etmeye yönelik yapılan bir araştırmada (Konar ve ark., 2010) tiamin klorür (B₁), riboflavin (B₂), nikotik asit (B₃), pridoksin klorür (B₆), folik asit ve siyanokobalamin (B₁₂) vitaminlerinin miktarları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile tespit edilmiştir. Polenin insan ve hayvanları X ışınlarının zararlı etkilerinden koruduğuna dair verilere bilimsel çalışmalarda rastlanmaktadır (Schmidt ve Buchmann, 1992).

Polenin atletlerin kondisyonu için gerekli gıdalar arasında önemli bir potansiyele sahip olduğuna dair yapılan çalışmalar (Mahan, 1990; Linskens ve Jorde, 1997; Erdemir ve ark., 2005) polenlerin organizmada metabolik etkilere sahip hormonları da bünyesinde bulundurduğunu göstermiştir. Yine Karataş ve Şerbetçi (2008) çalışmalarında arı

polenlerindeki adrenalin ve noradrenalin miktarlarını HPLC ile tespit etmiş, insan ve hayvanların metabolizmalarında sentezlenen adrenalin ve noradrenalinin birçok bitki hormonuna ek olarak arı poleninde de bulunduğunu göstermişlerdir.

Polenler antimikrobiyal (antibakteriyel, antifungal, antiviral) özellikleri nedeniyle de ön plana çıkmaktadır. Polenlerin *Escherichia coli*, *Proteus*, *Salmonella* ve diğer koliform türlerine karşı etkili oldukları tespit edilmiştir. Polenlerin bu antimikrobiyal özelliği yapısında bulunan quercetin, mirisetin, kaempferol gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Liebelt ve ark., 1996; Snowdon ve Clier, 1996; Bayrak, 2005). Özcan ve ark. (2003) *Alternaria alternata* ve *Fusarium oxysporium f. sp. Melonis*'in misel gelişimi üzerine arı polenin % 2 ve % 5 konsantrasyonlarındaki metanol ekstraktlarının inhibitör etkilerini araştırmış ve % 2'lik konsantrasyonun fungus gelişimine az, % 5'lik konsantrasyonunun ise daha çok etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Türkiye ekolojik farklılıkları ve biyolojik çeşitliliği sayesinde bal üretimi için en elverişli ülkelerden biri olarak görülmektedir. Bu elverişli şartlar sadece bal üretimi için değil diğer arı ürünleri için de önemli bir zemin oluşturmaktadır. Nitekim arı poleni üretiminde farklı bitkisel kaynaklardan ve sarı, kırmızı, mor, yeşil, portakal rengi gibi farklı renklerde üretim söz konusudur. Ancak monofloral arı poleni hasat etmek hem polenlerin standart kompozisyonunu belirlemek hem de beslenme ve destek tedavi amaçlı kullanmak açısından oldukça önemlidir (Bogdanov, 2011). Örneğin yapılan bir çalışmada ladin (*cistus*) polenin kestane polenine göre 20 kat daha fazla karotenoid içerdiği (Percie Du Sert, 2009a) diğer bir çalışmada ise kestane ve ladin polenlerinin sterol içeriklerinin farklı olduğu ladin polenin yoğunlukla $\Delta 5$ -avenasterol, kestane polenin ise betasitosterol içerdiği bildirilmiştir (Percie Du Sert, 2009b). Ayrıca arı poleni tüketimine bağlı oluşabilecek alerji vakaları açısından da polenin orijinin karakterize edilmesi önem arz etmektedir.

Polenin kimyasal kompozisyonu da üretildiği bölgeye ve bitkisel kaynağa bağlı olarak değişim göstermekle birlikte genel olarak % 25-30 protein, % 30-55 karbonhidrat, % 1-20 yağ asitleri ve steroller gibi lipitler, vitamin (Vitamin A, K ve B₁₂ hariç) ve minerallerden oluşmaktadır (González ve ark., 2005, Campos ve ark., 1997, Bogdanov, 2011). Bunun yanında polen örnekleri üzerinde yapılan çalışmalarda fenolik içeriği ve antioksidatif etkisi üzerinde durulmuştur. Polen ekstraktlarının yapısında bulunan fenolik asitler ve flavonoidlerin, potansiyel antioksidan olarak, süperoksit anyonları ve lipid peroksit radikallerini temizledikleri ve serbest radikaller ile ilişkili olaylarda hidrojenasyon veya kompleks yapılar oluşturarak okside edici ajanları stabilize edebildikleri gösterilmiştir (Silva ve ark., 2006).

Bal arıları topladıkları polenleri kovan içinde petek gözlerinde “arı ekmeği” şeklinde depolarlar. Arı ekmeği kovanda üretilirken polen, bal ve diğer arı salgıları ile karıştırılır ve laktik asit fermantasyonuna bırakılır. Karışım yaklaşık iki hafta içerisinde arı ekmeğine dönüşür. Fermente bir ürün olan arı ekmeği böylece kovanda uzun süre muhafaza edilebilir (Bogdanov, 2011). Arı ekmeği arılar için protein, yağ ve vitamin kaynağı olmakla birlikte arı sütü üretiminin de ham maddesini oluşturmaktadır. Arı poleni ile arı ekmeğinin içerikleri benzer olsa da bazı farklılıklar da görülmektedir. Arı ekmeği, arı polenine kıyasla daha az protein içermektedir ancak arı ekmeği proteinlerinin sindirimi daha kolaydır. Nem içeriği hasattan sonra kurutma sonucunda % 13-14 oranına düşmektedir. Arı ekmeğinin genel içeriği esansiyel aminoasitlerden, C, B₁, B₂, E, H vitaminlerinden, karotenoid ve antosiyaninlerden, sakkaraz, amilaz ve fosfataz enzimlerinden ve 25 farklı mineralden oluşmaktadır. Arı polenine nazaran arı ekmeği 6 kat daha fazla laktik asit içermekte ve bu özelliği kendini korumasını, polen kadar maya gelişimine açık olmamasını sağlamaktadır. Ayrıca arı ekmeğinin tat özellikleri arı polenine göre daha iyidir ve vücutta emilimi daha kolaydır (Mutsaers ve ark., 2005).

Bal arısı (*Apis mellifera* L.) nın temel besin ihtiyaçları nektar, polen ve sudur. Nektar bal arıları için karbonhidrat kaynağı iken polen protein, lipid ve vitamin kaynağıdır. Bir işçi arının larvadan ergin döneme kadar yetişmesi için yaklaşık 120-145 mg polene ihtiyacı vardır ve bir koloni ortalama yılda 20-57 kg polen toplar. (Reiter, 1947). Tarlacı işçi arılar tarafından toplanan polen, bal arısı salgıları katılıp arıların arka bacaklarında bulunan polen sepetçisine (korbikula) sıkıştırılarak kovana getirilmektedir. Kovandaki diğer genç işçi arılar yardımıyla boşaltılıp bozulmayı önlemek için ince bir tabaka bal ve balmumu karışımıyla kaplanmaktadır. Bu karışım farklı enzim, mikroorganizma, nem ve sıcaklığın (35-36 °C) etkisiyle kimyasal değişikliğe maruz kalmaktadır. Kimyasal değişikliğe uğrayan bu depolanmış polen arı ekmeği olarak adlandırılmaktadır (Vásquez ve Olofsson, 2009). Arı ekmeği ergin arılar tarafından tüketilmekte ve larvalar beslenmektedir (Krell, 1996; Campos, 1997; Almedia ve Muradian 2007).

Arı ekmeği yaklaşık % 20 protein, % 3 lipid, % 24-35 karbonhidrat, % 3 vitamin ve mineral içermektedir. İnsan vücudunun biyosentezleyemediği esansiyel aminoasitlerin tümü ile protein, C, B₁, B₂, E, H, P, nikotinik asit, folik asit, pantotenik asit gibi vitaminler, pigmentler, sakkaroz, amilaz, fosfataz gibi enzimler, flavonoidler, karatenoidler ve hormonlar içermektedir (Haydak ve Vivino, 1950). Arı ekmeğinin kompozisyonu polenden farklıdır (Haydak ve Palmer 1941). Arı ekmeğinin aynı bitkinin poleninden daha fazla indirgenmiş şeker, K vitamini ile mikroorganizma sindirim enzimi içerdiği belirlenmiştir. Polenin arı

ekmeğine dönüşmesi ve biyokimyasal değişiklikler bakteri ve mayalar tarafından sebep olunan temelde laktik asit fermentasyonu ile mikrobiyel faaliyetin bir sonucudur (Haydak 1958). Arı ekmeğinin sahip olduğu yüksek biyolojik aktivite küf ve mantar gelişimini inhibe ederek arı ekmeğinin daha iyi korunmasını sağlamaktadır (Nagai ve ark. 2004). Farklı botanik orijine sahip polenin kimyasal yapısı hakkında araştırmalar mevcut iken arı ekmeği hakkında bilgiler sınırlıdır (Bonvehi ve Jorda 1997; Bastos ve ark. 2004).

Herbert ve Shimanuki (1978) arı poleni ve petek gözünde depolamış polenin kimyasal kompozisyonu ve besin değerinin incelendiği araştırmada, arı ekmeğinin polenden daha yüksek oranda indirgenmiş şeker ve lif içerdiğini rapor etmişlerdir. Human ve Nicolson (2006), taze arı poleni ve depolanmış polenin amino asit ve yağ asidi kompozisyonunu incelemişlerdir. Depolanan polende nem ve karbonhidrat oranı artarken ham protein ve lipit içeriğinin azaldığını rapor etmişlerdir. Loper ve ark (1980) petek gözünde depolanan polenin 7, 21 ve 42 gün sonra yağ asidi ve sterol kompozisyonunu incelemişlerdir. Nagai ve ark. (2005) arı ekmeğinin antioksidan etkisini tespit ederken Abouda ve ark. (2011) Fas arı ekmeğinin antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yapılan bir araştırmada badem (*Prunus dulcis*) polen ve arı ekmeğinde doymamış yağ asitlerinden oleik ve linoleik asitin de bulunduğu 12 yağ asidi belirlenmiştir (Loper ve ark., 1980). Polenin yağ asidi kompozisyonunun bitki türüne bağlı olduğu bildirilmiştir (Saa Otero ve ark., 2000). Bunun dışında Szczesna (2006) farklı ülkelere (Polonya, Güney Kore ve Çin) ait arı polenlerinin uzun zincirli yağ asitlerini belirlemişlerdir ve örneklerde miristik, palmitik, stearik, oleik, linoleik, α -linolenik, araşidik, behenik ve lignoserik asitler tespit edilmiştir. Bazı çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) insan beslenmesi için esansiyeldir fakat insan vücudu sindirim sisteminde örneğin α -linolenik (ALA), dokosaheksaenoik (DHA) ve eikosapentaenoik (EPA) gibi asitleri sentezleyemezler (MacLean ve ark. 2006). Doymamış yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine faydaları konusunda araştırmalar yapılmıştır. Örneğin EPA ve DHA'nın etil esterlerinin serumdaki trigliserid seviyesini düşürdüğü rapor edilmiştir (von Schacky ve ark., 2007). Ayrıca EPA ve DHA kan kolesterol ve trigliserid seviyesini düşürücü özelliği ile kardiyoprotektif anti-aritmik, antitrombotik ve anti inflamatuvar etki gösterdiği rapor edilmiştir (Simopoulos, 2004).

Yapılan bir çalışmada Fas bölgesinden toplanan arı ekmeği ve arı poleni örneklerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada polen numuneleri hem kurutulmuş halde hem de taze olarak kullanılmış ve *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* bakterilerinin arasında bulunduğu bakterilere karşı antibakteriyel aktivite testi yapılmıştır. Sonuç olarak taze arı poleni ve arı ekmeğinin kurutulmuş polen örneklerine nazaran daha

yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Abouda ve ark., 2011). Diğer bir çalışmada ise arı ekmeği örneklerinin sıcak su, su ve etanol ekstraktları çıkarılmış ve bu ekstraktların fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir. Suyun çözügen olarak kullanıldığı örneklerde antioksidan aktivitenin yüksek olduğunu bildiren yazarlar arı ekmeğinin bu antioksidatif etkisinden faydalanılabileceğini belirtmişlerdir (Nagai ve ark., 2004).

Arı ekmeği konusunda çok fazla literatür bilgisi yoktur, Son yıllarda içerdiği önemli besin elementleri nedeniyle ilgi görmüş ve çalışmalar hızlanmıştır. Litvanya'dan elde edilen arı ekmeği örneklerinin sıcak su fraksiyonu (HWF), suda çözünen fraksiyonu (WSF) ve etanolde çözünür fraksiyonu (ESF) hazırlanmıştır (Nagai ve ark. 2004). Örneklerin toplam fenolik madde ve protein içeriği yüksek bulunmuştur. Bu fraksiyonlar arasında WSF % 100 konsantrasyonda en yüksek antioksidan aktivite ve radikal koruyucu aktivite göstermiştir. ESF ise % 10 konsantrasyonda DPPH hidroksi radikallerine karşı en yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonların her biri superoksit koruyucu etki göstermiştir ve bu etki konsantrasyonla doğru orantılı artmıştır. WSF ise % 1 gibi düşük konsantrasyonda HWF ve ESF den yüksek aktivite göstermiştir.

Ceksteryte ve Jhansen (2012), depolamak için farklı metotların kullanıldığı arı ekmeği örneğinin yağ asidi içerik ve kompozisyonunu belirlemiştir. Luz ve Barth (2012) Brezilya'da mangrove alanlarından toplanan bal ve arı ekmeği örneklerinde polen analizi yaparak *Laguncularia racemosa*'nın polen ve nektar kaynağı olarak önemini vurgulamışlardır.

Polen ve arı ekmeği diyetlerde yağ asidi kaynağı olarak göz önünde tutulabilir. Bazı doymamış yağ asitleri (PUFA) insan beslenmesi için gereklidir insan vücudu bu asitleri gastrointestinal sistemde sentezleme kabiliyetinde değildirler. Bununla birlikte α -linolenic (ALA), docosaheptaenoic (DHA) ve eicosapentaenoic (EPA) asitleri içeren omega 3 yağ asitlerinin insan diyetinde çok önemli bir yeri vardır (MacLean ve ark., 2006). Doymamış yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine faydaları konusunda araştırmalar yapılmıştır. Örneğin EPA ve DHA'nın etil esterlerinin serum trigliserit seviyesini düşürücü etkisi rapor edilmiştir (Von Schacky ve ark., 2007).

Baltrusaityte ve ark. (2007) Lithuania'da farklı kaynaklardan elde edilen 35 bal ve 9 arı ekmeği örneğinden izole edilen fenolik ekstraktlar izole edildi. Örneklerin antioksidan ve antiradikal aktiviteleri belirlendi. Tüm bal ve arı ekmeği radikal süpürücü etkiye sahipti ancak radikal süpürücü etki % 43.0-95.7 arasında değişti. Örneklerin fenolik bileşik içeriği HPLC ve UV MS ile incelendi ve tüm örnekler p-kumarik asit, kampferol, krisin ve apigenin içerdi. Farklı kaynaklardan elde edilen ballardaki fenolik bileşik içeriği ve antioksidan özellikte belirgin varyasyonlar gözlemlendi, bu varyasyonların balın doğal bir antioksidan kaynağı olarak

kullanımında göz önünde bulundurulmalıdır

Polen ve arı ekmeği konusunda yapılan araştırmalarda bitkisel kaynağı farklı olan polenlerin sterol içeriği birbirinden farklı bulunmuştur. Standifer ve ark. (1968) 11 familyaya ait 15 bitki türünün polenlerinde bulunan sterol fraksiyonlarını MS ile analiz etmişlerdir. 24-metilenkolesterol'ün kırmızı üçgül, saguaro kaktüsü, hardal, bülbül otu, çavdar, çayır otu ve tatlı mısır polenlerinin, β -Sitosterol, baccharis, ardıç, hercai menekşe, sarmaşık, İskoç çamı, adi kızılağaç ve karakavak Kolesterol ise kavak bitkilerinin temel sterolleri olarak tanımlanmıştır. Bir başka araştırmada Xu ve ark., (2011) lotus (*Nelumbo nucifera*) un kampesterol, stigmatserol, β -sitosterol ve β -amirin içerdini tespit etmişlerdir. Karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench) poleninde kampesterol, stigmasterol ve sitosterol (Takatsuto ve ark., 1989), narenciye polenlerinde kolesterol, 24-methylenekolesterol, kampesterol, 24-metildesmosterol, 23-dehidrositosterol, sitosterol ve isofukosterol (Takatsuto ve ark., 1992) ile ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) poleninde ise 24-metilenkolesterol, 24-metilenkolestanol ve isofukosterol (Takatsuto ve Omete, 1989) en yaygın bulunan fitosteroller olarak tanımlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Arı ekmeği örnekleri

Ülkemizin farklı yörelerinden pamuk, narenciye, kestane, ayçiçeği ve yonca arı ekmeği örnekleri direk arıcılardan temin edilmiştir (Table 1). Çerçeve halinde toplanan örnekler soğuk koşullarda muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarda peteklerden ayrılan arı ekmeği örnekleri koyu renkli cam şişelerde buzdolabında analizler yapıłana kadar muhafaza edilmiştir.

2.2. Polen analizi

10 gram arı ekmeği tartılarak 20 ml distile suda çözülmüştür. Elde edilen solüsyon 10 dakika 1000 g de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen supernatantın sıvı kısmı dökülmüştür. Sediment 20 ml distile su eklenerek tekrar 5 dakika 1000 g de santrifüj edilmiştir. Aynı şekilde sıvı kısmı dökülerek kurutma kâğıdı üzerine test tüpü ters çevrilerek sıvı kısmın tamamen uzaklaşması sağlanmıştır. Daha sonra lam üzerine aktarılan sediment üzerine daha önce hazırlanmış olan gliserin jelatin karışımından 1 mm³ eklenerek 40 °C'de

ısıtıcı tabla üzerinde eriyerek karışması sağlanmıştır. Preparat üzerine lamel kapatılmıştır. Polen tanecikleri mikroskopta (Nikon Eclipse E600) tanımlanmış ve sayılmıştır. Her bir örnekte en az 500 polen sayılarak arı ekmeğinde en yüksek oranda temsil edilen polen türleri tespit edilmiştir.

2.2.1. Gliserin jelatin karışımının hazırlanması

Gliserin jelatin karışımını hazırlanmasında Charpin ve Surinyach (1974) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. Kısaca 7 gram jelatin 42 ml distile su içinde 2 saat bırakılarak şişmesi sağlanmış ve üzerine 50 ml gliserin ilave edilmiştir. Bu 2 karışım 50 °C'de su banyosunda iyice eriyip karışana kadar beklenilmiştir. Karışımı bakteri ve mantar enfeksiyonundan korumak için 1 g fenol ya da % 2-3 asetik fenil ilave edilmiş ve 80 °C'de ısıtılmıştır. Renklendirmek için 1-2 ml bazik fuksin ilave edilmiş hava kabarcıkları oluşmaması için karışımın kaynamamasına dikkat edilmiştir. Elde edilen karışım cam pamuğundan süzülüp petrolere eşit miktarda dökülüp soğuması için bekletilmiştir. Daha sonra kullanılabildiği kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.3. Yağ ve sterol analizi

Arı ekmeği örneklerinin yağ içeriğini tespit etmek için standart ISO 659 (2009) metodu kullanılmıştır. Arı ekmeği örnekleri paslanmaz çelik karıştırıcı ile homojenize edilmiştir. Daha sonra 2 gram örnek tartılarak cam behere aktarılmış ve üzerine 100 ml NHCl eklenmiştir. Elde edilen karışım 100 °C'de ısıtılmış ve 15 dakika karıştırılmıştır. Örnek solüsyon daha sonra oda sıcaklığına soğutulmuş ve 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra örnek filtre kağıdından filtre edilmiş ve fırında 105 °C'de 1 saat kurutulmuştur. Arı ekmeğinden yağların ekstraksiyonu için (50 °C'de 3 saat soksalet ekstraktörü kullanılarak) dietil eter kullanılmıştır. Arı ekmeğinden ekstrakte edilen yağ amber renkli şişelerde saklanmıştır.

Sterol analizi trimetilsililester (TMSE) ISO 12228:1999 a göre analiz edilmiştir. Kısaca 0.5 g yağ örneği test tüpünde tartılmış 1 ml 5 α -kolestan-3 β -ol iç standart (1000 mg/L) ile 10 mL doymuş metanolik KOH ile 80 °C'de 1 saat saponifiye edilmiştir. Solüsyon hekzan ile ekstrakte edilmiş ve susuz sodyum sülfat ile kurutulmuştur. 0.5 ml kurutulmuş hekzan ekstraktı bis (trimetilsilil) trifloroasetamide/trimetilklorosilane (4:1) ve 250 μ L kuru saf piridin ile 60 °C'de 15 dakika silillenmiştir. Sterol kompozisyonunu belirlemek için Gaz

Kromatograf-FID dedektör kullanılmıştır. Sterollerin kromatografik separasyonu SE-54 kapiller kolon (30 m x 0.32 mm i.d., 0.25 µm film kalınlığı) ile yapılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum ve akış hızı oranı 0.8 ml/dk kullanılmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklığı sırasıyla 280 °C ve 300 °C'ye ayarlanmıştır. Fırın sıcaklığı programı 60 °C'de 2 dk da başlatılmış ve kademeli 220 °C'ye yükseltilmiştir. 220 °C'de 1 dakika tutulmuş ve sonunda 310 °C'ye yükseltilmiştir. Bireysel steroler hafıza zamanına göre belirlenmiştir.

2.8. İstatistiksel analiz

Farklı coğrafik ve botanik orijine sahip arı ekmeği örneklerinin sterol içeriklerinden elde edilen verilerin analizinde Varyans Analizi (ANOVA), gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Verilen analizinde SPSS for Windows 13.0 İstatistik Paket programı kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Farklı coğrafik orijinli (Tablo 1) narenciye arı ekmeği örneklerinde kolesterol içeriği 8.73-22.47 mg/kg arasında tespit edilmiş (Tablo 2) ve narenciye örneklerinin kolesterol içerikleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($p < 0.01$). Narenciye arı ekmeği örneklerinde en düşük oranda tespit edilen sterol kolesterol olmakla birlikte Adana'dan toplanan örneklerin (ortalama 18.80 mg/kg) Mersin'den toplanan örneklerden (ortalama 875 mg/kg) daha yüksek oranda kolesterol içerdiği bulunmuştur. Benzer şekilde 24-metilen kolesterol içeriği de Adana örneklerinde Mersin örneklerinden yüksektir.

Narenciye arı ekmeği örneklerinin 24-metilenkolesterol içeriği 199.21-640.94 mg/kg arasında bulunmuştur. Bununla birlikte bu örneklerde kampesterol içeriği birbirine yakındır. İlginç bir şekilde Mersin orijinli arı ekmeği örneklerinde kampestanol tespit edilmezken Adana örneklerinde 91.83-467.96 mg/kg arasında kampestenol bulunmuştur. Stigmasterol narenciye örneklerinde 10.44-287.03 mg/kg aralığında tespit edilirken Mersin örneklerinden birinin diğer narenciye arı ekmeği örneklerinden daha yüksek oranda stigmasterol içerdiği tespit edilmiştir. Bu değer test edilen tüm arı ekmeği örneklerinden de daha yüksektir. Narenciye arı ekmeği örneklerinde $\Delta 5$ -avenosterol içeriği en çok değişkenlik gösteren sterol olmuştur ve 154.31-1199.43 mg/kg aralığında değişmiştir. Mersin narenciye arı ekmeği örneklerinde β -sitosterol içeriği arasında farklılık belirlenmezken Adana örneklerinde 369.43-

1169.01 mg/kg arasında değişiklik göstermiştir. Sitostanol içeriği ise tüm narenciye arı ekmeği örneklerinde 18.65- 126.51 mg/kg arasında değişmiştir. Bilinmeyen bileşik Adana örneklerinde yakın değerlere sahipken Mersin örneklerinin birinde oldukça yüksek oranda tespit edilmiştir, ancak bu bileşik tanımlanamamıştır.

Sonuç olarak narenciye'ye ait Mersin örneklerinin kolesterol kampestanol, β -sitosterol ve sitostanol içerikleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$) ancak Adana örnekleri arasında test edilen tüm sterol içerikleri bakımından aralarındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Adana ve Urfa bölgelerinden toplanan yonca arı ekmeği örneklerinin kolesterol ve sitostanol içerikleri arasında farklılık bulunmazken ($p>0.05$) test edilen diğer sterol içerikleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Her iki örneğin bireysel sterol içerikleri arasında rakamsal olarak en büyük farklılık kampestanol, $\Delta 5$ -avenosterol ve β -sitosterol içerikleri arasında belirlenmiştir.

İki farklı coğrafik yöreden toplanan yonca örneklerinin sterol içerikleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir ($p<0.05$). Adıyaman örneğinde kampestanole rastlanmazken Urfa örneğinde sitostanole rastlanmamıştır. Bu bileşikler dışında üçgül örnekleri arasında rakamsal olarak en büyük farklılık kampesterol ve $\Delta 5$ -avenosterol bileşiklerinin içeriğinde gözlenmiştir. Bilinmeyen bileşik dışında her iki örnek için en düşük oranda tespit edilen sterol kolesterol iken (10.13 mg/kg) iken en yüksek oranda tespit edilen $\Delta 5$ -avenosterol (1851.60 mg/kg) olmuştur.

Kestane arı ekmeği örneğinde en yüksek oranda tespit edilen sterol sitostanol ve β -sitosterol iken en düşük oranda kolesterol tespit edilmiştir. Miktar açısından test edilen steroller değerlendirildiğinde yüksekten düşüğe doğru; sitostanol, β -sitosterol, kampesterol, kampestanol, $\Delta 5$ -avenosterol, bilinmeyen bileşik, 24 metilen-kolesterol, stigmasterol ve kolesterol şeklindedir. Ayçiçeği arı ekmeği örneğinde tespit edilen sterollerin içeriği 9.38-1024.23 mg/kg arasında değişiklik göstermiştir. Bu örnekte en düşük oranda içerilen steroller stigmasterol ve kolesterol iken en yüksek oranda β -sitosterol bulunmuştur.

Sonuçlar belirlenen steroller açısından değerlendirildiğinde ise, kolesterol tüm örneklerde 8.31-39.17 mg/kg arasında değişirken arı ekmeği örneklerinin içerdiği kolesterol açısından farklılık istatistiki olarak önemlidir ($p<0.01$). Bununla birlikte rakamsal olarak örneklerin kolesterol içeriği birbirine yakın bulunurken yonca arı ekmeği örnekleri yüksek kolesterol içeriği ile öne çıkmıştır. 24 metilen kolesterol en yüksek ayçiçeği örneğinde tespit edilirken onu narenciye, yonca ve pamuk örnekleri takip etmiştir, en düşük oranda ise kestane

örneğinde bulunmuştur. Narenciye örneklerinin tümü kampesterol açısından diğer arı ekmeği örneklerinden daha yüksek değere sahiptir. Bu bileşik açısından narenciye örneklerini kestane, yonca ve pamuk örnekleri takip etmiştir.

En düşük kampesterol içeriği ayçiçeği arı ekmeği örneğinde tespit edilmiştir. Kampestanol Mersin narenciye örneğinde ve yonca örneklerinde belirlenmemiştir. Adıyaman pamuk arı ekmeği örneğinde kampestanol en yüksek oranda bulunmuştur. Stigmasterol içeriği ayçiçeği ve pamuk arı ekmeği örneklerinden birinde (Urfa) en düşük oranda tespit edilmiştir. Yonca örneği (Adıyaman) test edilen tüm arı ekmeği örneklerinden daha yüksek oranda $\Delta 5$ -avenosterol içeriğiyle göze çarpmaktadır. Ayçiçeği arı ekmeği örneği ise narenciye örneklerinden biri ile birlikte en yüksek β -sitosterol içeriğiyle dikkat çekmektedir. Ancak narenciye örneklerinde ortalaması göz önünde tutulduğunda ayçiçeği arı ekmeğinin en yüksek β -sitosterole sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer bileşik sitostanol en düşük her iki pamuk örneğinde en yüksek ise kestane örneğinde tespit edilmiştir. Bilinmeyen bileşikler narenciye örneklerinden birinde oldukça yüksek miktarlardadır. Genel olarak bu bileşik tüm örneklerde 25.11-2042.90 mg/kg aralığında tespit edilmiştir.

Tablo 1. Arı ekmeği örneklerinin coğrafik, botanik orijinleri ile polen temsil oranları

Örnek	Coğrafik orijin	Botanik Orijin	Polen (%)	Diğer önemli polenler (% 3-15)
1	Urfa	<i>Trifolium pratense, T. repens</i>	86.2	Fabacea
2	Adıyaman	<i>Trifolium pratense, T. repens</i>	85.6	Fabaceae
3	Adana	<i>Gossypium hirsutum</i>	65.6	Fabaceae, Lamiaceae
4	Urfa	<i>Gossypium hirsutum</i>	66.2	Fabaceae Asteraceae, Lamiaceae
5	Zonguldak	<i>Castanea sativa</i>	94.4	Fabacea
6	Adana	<i>Citrus spp.</i>	54.4	Fabaceae, Brassicaceae, Lamiaceae, Rhamnaceae, Rosaceae
7	Adana	<i>Citrus spp.</i>	61.4	Fabaceae, Brassicaceae, Lamiaceae, Rhamnaceae, Myrtaceae
8	Mersin	<i>Citrus spp.</i>	51.3	Brassicaceae, Fabaceae
9	Mersin	<i>Citrus spp.</i>	48.6	Rosaceae, Myrtaceae, Rhamnaceae
10	Mersin	<i>Citrus spp.</i>	62.4	Fabaceae, Rosaceae, Boraginaceae
11	Edirne	<i>Helianthus annuus</i>	45.4	Fabaceae, Rosaceae, Apiaceae

Table 2. Farklı coğrafik ve botanik orijine sahip arı ekmeği örneklerinin sterol içerikleri (mg/kg)

	Kolesterol	24-metilen kolesterol	Kampesterol	Kampestanol	Stigmasterol	Δ5-avenasterol	β-sitosterol	Sitostanol	Bilinmeyen
Narenciye-M**	8.73±0.16 ^{ab*}	199.21±0.46 ^b	457.30±0.30 ^e	0.00±0.00 ^a	287.03±0.82 ^g	355.75±1.24 ^f	65.04±0.08 ^b	18.65±0.03 ^b	25.11±0.41 ^a
Narenciye -Er	8.76±0.13 ^{ab}	244.23±2.34 ^c	559.29±10.23 ^g	0.00±0.00 ^a	23.90±2.43 ^d	154.31±1.28 ^c	65.80±0.88 ^b	22.37±0.58 ^b	242.90±19.03 ^c
Narenciye-A	20.29±0.75 ^e	575.55±0.71 ⁱ	561.16±7.07 ^g	291.79±2.90 ^e	10.44±0.81 ^b	1199.43±2.30 ^j	1169.01±4.07 ^j	126.51±0.50 ^d	565.73±0.86 ^f
Narenciye-A	22.47±0.15 ^f	623.89±4.41 ^j	638.27±1.01 ^h	467.96±2.27 ^f	22.91±0.20 ^d	919.27±17.93 ^h	727.35±4.64 ^g	84.15±5.70 ^c	580.76±14.21 ^g
Narenciye-A	13.63±0.88 ^c	640.94±5.43 ^k	489.72±1.25 ^f	91.83±0.77 ^b	15.10±0.49 ^c	994.33±2.38 ⁱ	369.43±5.23 ^c	87.01±3.11 ^c	591.17±1.66 ^g
	14.78	456.74	541.15	283.86	71.88	724.59	479.33	67.74	761.13
Pamuk-A	8.60±0.16 ^{ab}	268.52±3.44 ^e	118.90±3.72 ^c	1698.71±11.73 ^g	29.33±0.84 ^e	60.49±1.24 ^a	35.03±0.20 ^a	16.40±0.03 ^b	265.81±2.77 ^c
Pamuk-U	9.67±0.65 ^{ab}	257.18±1.48 ^d	103.70±0.20 ^b	148.60±0.26 ^c	4.85±0.12 ^a	478.94±2.22 ^g	825.91±3.53 ^h	18.32±0.67 ^b	315.16±0.03 ^d
	9.13	262.85	111.3	923.66	17.09	269.72	430.47	17.36	290.49
Üçgül-U	10.13±1.14 ^b	320.21±0.20 ^f	94.12±0.42 ^b	146.67±0.45 ^c	20.36±0.07 ^d	188.25±2.71 ^d	442.78±2.53 ^e	0.00±0.00 ^a	441.04±2.35 ^e
Üçgül-A	39.17±0.18 ^g	485.39±4.96 ^h	451.53±4.60 ^e	0.00±0.00 ^a	137.52±3.27 ^f	1851.60±3.68 ^k	404.52±1.37 ^d	355.78±0.91 ^e	740.26±1.61 ^h
	24.65	402.8	272.83	17.09	78.94	1019.93	423.65	177.89	590.65
Kestae-E	8.31±0.02 ^a	167.24±2.57 ^a	288.45±1.08 ^d	229.82±2.65 ^d	30.86±0.48 ^e	216.25±1.70 ^e	619.19±1.46 ^f	914.48±0.12 ^f	213.01±0.14 ^b
	8.31	167.24	272.83	17.09	78.94	1019.93	423.65	177.89	590.65
Ayçiçeği-E	15.25±0.30 ^d	474.58±2.90 ^g	59.28±0.05 ^a	223.47±0.99 ^d	9.38±0.46 ^b	112.08±1.02 ^b	1024.23±1.47 ⁱ	87.62±0.39 ^c	334.75±0.89 ^d
	15.25	474.58	59.28	223.47	9.38	112.08	1024.23	87.62	334.75

*: Aynı sütündeki farklı harfler farklı istatistik grupları temsil etmektedir (P<0.05). Değerler ortalama±S.H. şeklinde verilmiştir.

** : A: Adana M. Mersin Er: Erdemli E: Edirne U: Urfa

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Polenden ekstrakt edilen lipidlerin polen mantosu ya da pollenkitten geldiği rapor edilmektedir. Bununla birlikte çiçek polenlerinin içerdiği lipid oranı büyük oranda değişkendir (Manning, 2001). Bu araştırmada test edilen depolanmış polen örneklerinin yağ içeriği % 5.93-11.55 arasında değişiklik göstermiştir. Benzer şekilde, Roulston ve Cane (2000) derlemelerinde 62 bitki türü kuru poleni eter ekstraktlarında polen lipidlerinin büyük değişkenlik gösterdiğini örneğin ökaliptusun % 0.8 dandelion poleninin ise % 18.9 lipid içerdiği rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada Mersingiller (Myrtaceae) familyasından türlerin lipid konsantrasyonunun (% 1.43), üçgül, bakla ve akasya gibi baklagiller (Fabaceae) türlerinin ortalama % 6.7 ve kanola ile hardal gibi turpgiller (Brassicaceae) familyasına ait türlerin ortalama % 10.7 oranında lipid içerdiği bildirilmiştir. Aynı cinse ait bitki polenlerinin lipid içeriği de kendi içerisinde değişiklik gösterebilmektedir. Ökalyptus cinsi türlerin (*E. camaldulensis*, *E. bridgesiana*) de % 0.43-4.6 arasında değiştiği saptanmıştır (Somerville, 2001). Bunun dışında farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda da polenin lipid içeriğinin değişkenlik gösterdiği vurgulanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nin dört farklı bölgesinden toplanan 16 bitki türünün polen lipid konsantrasyonu % 9.2 iken Scandinavia'da 15 farklı tür için bu değerin % 3.2 olduğu belirtilmiştir (Standifer, 1966; Solberg ve Remedios, 1980).

Steroller tüm bitkisel ve hayvansal dokularda yer alan bileşiklerdir. Çiçek polenlerinin sterol içeriği ile ilgili çalışmalarda 24-metilen kolesterol ile isofukosterolün major bileşikler olduğu rapor edilmiştir (Takatsuto ve ark., 1989). Önceki çalışmalarda Faraq ve ark. (1980) kolesterol, stigmasterol ve sitosterolün polen sterolleri olduğunu rapor etmişlerdir. Bu araştırmada citrus stored pollen örnekleri campesterol, beta sitosterol, 24 methylene kolesterol ve delta 5 avenasterol bakımından tespit edilen diğer sterollere göre zengin bulunmuştur. Takatsuto ve ark. (1992) narenciye (*Citrus unshiu* Marcov ve *Citrus sinensis* Osbeck) polenlerinin her ikisinde de yaygın olarak kolesterol, 24-metilenkolesterol, kampesterol, 24 metildesmosterol, 23 dehidrositosterol, sitosterol ve isofukosterolü tespit etmişlerdir. Araştırmamızda depolanmış ayçiçeği poleni β -sitosterolü tespit edilen diğer sterollere göre daha yüksek oranda içermiştir. Ancak bir çalışmada ayçiçeği polenlerinde 24-metilen kolesterol, 24-metilenkolestanol ve isofukosterol major steroller olarak saptanmıştır (Takatsuto ve Omote, 1989). Daha önceki yıllarda aynı araştırmacılar ayçiçeği poleninde brassinosteroidleri (brassinolide, kastaterone ve narkastaterone) tanımlamışlardır (Takatsuto ve ark., 1989). Kırmızı üçgül poleni en yüksek oranda $\Delta 5$ avenasterol içermiştir. Ancak 11

familyaya ait 15 bitki türünden polenlerin sterol içeriklerinin belirlendiği bir araştırmada kırmızı üçgül'ün (*Trifolium pratense* L.) yanında hardal, tatlı mısır, çayırotu ve çalgıcı otu bitkilerinde 24 metilen kolesterol ün temel sterol olduğu bildirilmiştir (Standifier, 1968).

Araştırmamızda kestane arı ekmeği diğer sterollere göre yüksek oranda sitostanol içermiştir. Bununla birlikte kestane çiçek poleninde kolesterol, (3 β , 24R)-ergost-5-en-3-yl, stigmatserol, beta sitosterol ve (3- β)-stigmasta-5,24 (28) dien-3yl ve estradiol tanımlanmıştır. Pamuk (*G.hirsutum* cv. Stoneville 213) bitkisinin floral tomurcuk ve anterlerinde sitosterol, stigmatserol, 24 metilenkolest-5-en-3-betaol major steroller olarak tespit edilmiştir (Lusby ve ark., 1987). Bunun dışında Loper ve ark., (1980) elle toplanmış ve polen sepetçiğindeki badem poleninde sitosterol, isofukosterol ve 24 metilen-kolesterol belirlemiştir

Bal arısı (*Apis mellifera* L.) protein, yağ asitleri, steroller, vitaminler ve bazı karbonhidratların besinsel kaynağı olarak polenden faydalanırlar (Dietz, 1975). Bal arısı tarafından toplanan ve petek gözlerinde depolanan polenin kalite ve kantitesi, kuluçka yetiştirme ve yaşam uzunluğu dolayısıyla da bal arısının verimliliğini etkilemektedir (Manning, 2001). Svoboda ve ark. (1983) 7 farklı alanda besin toplayan bal arıları tarafından toplanan polen ile her bir alandaki kolonilerden toplanan prepupa ve/ya da besin toplayıcı ergin arıların sterol içeriğini karşılaştırmıştır. Prepupal sterol kompozisyonunda 24 metilenkolesterolün majör, sitosterol ve isofukosterol daha az oranda, kolesterol ise iz miktarda belirlenmiştir. Barbier ve ark. (1959) ana arı vücudundan 24 metilenkolesterolü izole etmiştir. Herbert ve ark. (1980) sterol, kolesterol, kampesterol, sitosterol, stigmasterol ve 24 metilen kolesterol'ün balarısı kuluçka yetiştirmesi üzerine etkilerinin incelendiği araştırmada 24 metilenkolesterol bal arılarının yaşama gücünü en yüksek derecede etkilemiştir. Bununla birlikte unutulmamalıdır ki, polen analizlerinde de görüldüğü gibi bal arılarının beslenmesinde kullanılan depolanmış polenler tek bir familyaya ait değildirler. Belirli bir tür baskın bile olsa, farklı bitki türlerinden farklı oranlarda polen takviyesi, sterol bakımından çeşitliliği ya da baskın olan türde eksik olan sterollerin ikamesini sağlamaktadır. Başka bir deyişle, belirli bir türe ait çiçek polenleri belirli sterollerce zengin olsa da bal arısı beslenmesinde ihtiyaç duyulan steroller polen karışımlarından temin edilebilmektedir.

Steroller bal arısı sağlığı için önemli olduğu kadar insan sağlığı için de önem taşımaktadır. Steroller fosfolipid tabaklarının akıcılık ve geçirgenliğini düzenleyen zar bileşenleridir (Hartmann, 1998). Batı ülkelerinde ortalama bir diyet 160-300 mg/gün sitosterol ve kampesterol 20-50 mg/gün sitostanol içermekte (Akihisa ve ark., 2000), kolesterol

düşürücü etkiden faydalanmak için günde yaklaşık 1 g sterol tüketilmesi önerilmektedir (Hendriks ve ark., 1999). Fitosterollerin insan sağlığı açısından önemi çok sayıda araştırmada deney hayvanları üzerinde araştırılmıştır. Örneğin β -sitosterol kolon kanseri hücre gelişimini inhibe etmekte ve membran lipitlerini değiştirmektedir (Awad ve ark., 2005). Ayrıca hipokolestomik, antiinflammatory ve antipiretik etki göstermiştir (Sugano ve ark., 1977; Gupta ve ark., 1980). Kampesterolün kolesterol düşürücü etkisi ispatlanmıştır (Thuluva ve ark., 2005). Bunların dışında stigmasterolün tiroid inhibitör, antiperoksidatif ve hipoglisemik etkisi (Panda ve ark., 2009) ve antiosteoartrik aktivitesi gösterilmiştir (Gabay ve ark., 2010).

Sonuç olarak bal arısı tarafından bitkilerden toplanan çiçek polenleri kovanda genç bal arılarının beslenmesi için depolanmaktadır. Bu depolanmış polenlerin sterol içeriği birbirinden çeşit ve miktar açısından önemli oranda farklılık göstermiştir. Ancak bu durum bal arısı beslenmesinde sadece monofloral bir türle beslenmek söz konusu olmadığından ihtiyaç duyulan steroller karşılanabilmektedir. Ayrıca bu araştırmada farklı coğrafik bölgelerden toplanan aynı türlere ait depolanmış polenlerin yağ ve sterol içeriği de birbirinden farklılık göstermiştir. Bunun sebebi petek gözlerindeki depo polene farklı bitki türlerine ait polenlerin farklı oranlarda karışmış olmalarıdır. Ayrıca petek gözünde depolanmış polenin zengin sterol içeriğinin insan beslenmesinde önemi de göz ardı edilmemelidir.

5. KAYNAKLAR

- Abouda, Z., Zerdani, I., Kalalou, I., Faid, M., Ahami, M.T. 2011. The antibacterial activity of Moroccan Bee bread and bee pollen (fresh and dried) against pathogenic bacteria. *Research Journal of Microbiology*, 6(4): 376-384.
- Akihisa, T., Yasukawa, K., Yamaura, M., Ukiya, M., Kimura, Y., Shimuzu, N. and Arai, K. 2000. Triterpene alcohol and sterol ferrulates from rice brain and their anti-inflammatory effect. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 2313-2319.
- Almaraz-Abarca, N., Campos, M.G., Ávila-Reyes, J.A., Naranjo-Jiménez, N., Corral, J.H., González-Valdez, L.S. 2007. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora, leguminosae*), *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 119-124.
- Almedia-Muradian, L.B., Bera, A., Flesner, M.L., Cano, C.B. 2007. Produtos Apícolas. In: Almeida-Muradian, L B; Penteadó, MDVC Vigilância sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos. Ed. Guanabara, 183–198.
- Anonim. 1999. Hayvansal ve bitkisel katı ve sıvı yağlar –ayrı ayrı ve toplam sterol içeriğinin tayini-gaz kromatografik yöntem: TS EN ISO 12228.
- Aparicio, R., Aparicio-Ruiz, R. 2000. Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A*, 881: 93-104.
- Arvanitoyannis, S., Chalhoub, C., Gotsiou, P., Lydakís-Simantiris, N. Kefalas, P. 2005. Novel quality control methods in conjunction with chemometrics (multivariate analysis) for detecting honey authenticity, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(3): 193–203.
- Ateş, J., Velioğlu, S. 2005. Kolesterolle karşı yeni silahımız: bitki sterollerini. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 20: 55-58
- Awad, A.B., Burr, A.T., Fink, C.S. 2005. Effect of resveratrol and β -sitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 72, 219–226.
- Baltrusaityte, V., Venskutonis, P.R., Ceksteryte, V. 2007. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chemistry*, 101(2): 502-514.

- Barbier, M., Schindler, O. 1959. Isolierung von 24-methylenecholestrin aus Königinnen und Arbeiterinnen der Honigbiene (*Apis mellifera* L.) Helvetica Chimica Acta 42: 1998-2005.
- Basim E., Basim H., Özcan M., 2006. Antibacterial activities of turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. Journal of Food Engineering, 77: 992–996.
- Bastos, D.H.M., Barth, O.M., Rocha, C.I., Cunha, I.B.S., Carvalho, P.O., Torres, E.S., Michelin, M. 2004. Fatty acid composition and palynological analysis of bee (*Apis*) pollen loads in the states of Sao Paulo and Minas Gerais, Brazil. Journal of Apicultural Research, 43(2): 35-39.
- Bayrak, N. 2005. Arı ürünlerinin (bal, arı sütü, polen ve propolis) mikrofloralarının ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi, Yüksek lisans tezi, Fırat Üniv. F.B.E., Elazığ.
- Bogdanov, S. 2011 Pollen: Nutrition, Functional Properties, Health: A Review. Bee Product Science, pp. 1-34.
- Bonvehi, J.S., Jorda, R.E. 1997. Nutrients composition and microbiological quality of honeybee-collected pollen in Spain. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(3): 725-732.
- Calderone, N. W., Johnson, B.R. 2002. The within nest behaviour of honeybee pollen foragers in colonies with a high or low need for polen, Anim Behaviour, 63: 749-75.
- Campos, M.G, Markham, K., Cunha, A. 1997. Bee pollen: compositon properties and applications. In Mizrahi, A (Ed) *Bee Products*. Plenum Publishing Company; London, UK. 93–100.
- Campos, M.G. 1997. Caracterização do polen apicola pelo seu perfil em compostos fenolicos e pesquisa de algumas actividades biologicas. PhD thesis. Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, Portugal.
- Campos, M.G., Webby, R.F., Markham, K.R., Mitchell, K.A., Cunha, A.P. 2003. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(3): 742-745.
- Čeksteryté, V., Jansen, H.J.M.E. 2012. Composition and content of fatty acids in beebread of various floral origin, collected in Lithuania and prepared for storage in different ways. Chemical Technology, 2:57–61.
- Charpin, J., Surinyach, R. 1974. Atlas of European Allergenic Pollen. Sandoz Editions, Paris.

- Cuevas-Glory, L.F., Pino, J.A., Santiago, L.S. ve Sauri-Duch, E. 2007. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 103: 1032–1043.
- Dietz, A. 1975. Nutrition of adult honeybees. *In*: C. P. Dadant, C. C. Dadant, M. G. Dadant and J. C. Dadant (eds.) *The Hive and The Honeybee*. Dadant and Sons, Inc. Hamilton, USA. pp. 125-156.
- Dobson, H. E. M., Peng, Y. S. 1997. Digestion of pollen components by larvae of the flower-specialist bee *helostoma florissomne* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Insect Physiology*, 43: 89-100.
- Elkins, R. 1996. *Bee pollen royal jelly propolis and honey*, Woodland Publishing, London.
- Erdemir, I., Zorba, E., Işık, O. Savucu, Y. 2005. Tek doz polen yüklemesinin dayanıklılık sporcularında maksimal oksijen tüketim ve kan parametrelerine etkisi. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19: 185-191.
- Erdoğan, Y., Dodoloğlu, A. 2005. Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinin Yaşamında Polenin önemi. *Uludag Bee Journal*, 5(2): 80-85.
- Farag, R.S., Ahmed, A.I., Rashad, S.E., Ewies, M.A. 1980. Unsaponifiable matter of six pollens collected by honeybees in Egypt. *Journl of Apicultural Research*, 19(4): 248-254.
- Gabay, O., Sanchez, C., Salvat, C., Chevy, F., Breton, M., Nourissat, G., Wolf, C., Jacques, C., Berenbaum, F. 2010. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthritis Cartilage*, 18(1): 106-16.
- Gilliam, M. 1979. Microbiology of pollen and bee bread: the yeasts. *Apidologie*, 10: 43-53.
- González G, Hinojo MJ, Mateo R, Medina, A., Jiménez, M. 2005. Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. *International Journal of Food Microbiology*, 105(1): 1-9.
- González Paramás, A.M., Bárez, J.A.G., Marcos, C.C., García-Villanova, R.J. Sánchez, J.S. 2006. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen), *Food Chemistry*, 95: 148–156.
- Good, J.L., 1991. *In* ‘Methods in Plant Biochemistry’. Charlewood B.V., Bontharpe D.V. (Ed.), vol: 7, Academic Press., p. 369-434, London.
- Grob, K., Giuffre, A.M., Leuzzi, U., Mincione, B. 1994. Recognition of adulterated ofis by direct analysis of the minor components. *Fat Science Technolgy*, 96: 286
- Gupta, M.B., Nath, R., Srivastava, N., Shanker, K., Kishor, K., Bhargava, K.P. 1980. Anti-inflammatory and antipyretic activities of beta-sitosterol. *Planta Medica*, 39: 157–63.

- Gutierrez, F., Jimenez, B., Ruiz, A. Albi, M.A. 1999. Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties Picual and Hojiblanca and on their different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 121-127.
- Hartmann, M.A. 1998. Plant sterols and membrane environment. *Trends in Plant science*, 3: 170-175.
- Haydak, M.H., Palmer, L.S. 1941. Vitamin content of bee foods. III. Vitamin A and riboflavin content of bee bread. *Journal of Economical Entomology*, 34: 37-38.
- Haydak, M.H., Vivino, A.E. 1950. The changes in thiamine, riboflavin, niacin and pantothenic acid content in the food of female honeybees during growth with a note on the vitamin K activity of royal jelly and bee bread. *Annals of the Entomological Society of America*, 43: 361-367.
- Haydak M.H. 1958. Pollen substitutes. *Proceedings of the 10th International Congress of Entomology*, Montreal, 4: 1053-1056.
- Hendriks, H.F., Weststrate, J.A., van Vliet, T., Meijer, G.W. 1999. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53: 319–327.
- Herbert, E.W., Shimanuki, H. 1978. Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee stored pollen. *Apidologie*, 9(1): 33-40.
- Herbert, Jr., E.W., Svoboda, J.A., Thompson, M.J., Shimanuki, H. 1980. Sterol utilization in honey bees fed a synthetic diet: effects on brood rearing. *Journal of Insect Physiology*. 26: 287-289.
- Hesse, M. 1979. Ultrastructure and distribution of pollenkitt in insect- and wind-pollinated acer. *Plant Systematics an Evolution*, 131: 277-289.
- Human, H., Nicolson, S.W. 2006. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry*, 67: 1486-1492.
- Human, H., Nicolson, S.W. 2006. Nutritional content of fresh, beecollected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *Davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry*, 67: 1486–1492.
- ISO 12228:1999. Animal and vegetable fat and oils-determination of individual and total sterol contents-gas chromatographic method. Geneva Switzerland: International Organization for Standardization (ISO).

- ISO 659:2009. Oilseeds–determination of oil content (reference method). Geneva Switzerland: International Organization for Standardization (ISO).
- Karataş, F., Munzuroğlu, Ö., Gür, N. 2000. Arı polenlerindeki A, E ve C vitaminleri ile selenyum düzeylerinin araştırılması. F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 12: 219- 224.
- Karataş, F., Şerbetçi, Z. 2008. Arı polenlerindeki adrenalin ve noradrenalin miktarlarının HPLC ile belirlenmesi. Science and Engineering Journal of Fırat University, 20(3): 419-422.
- Konar, V., Özdemir, F.A., Karataş, F. 2010. Ticari arı polenlerinde b vitamini miktarlarının araştırılması. Fırat University Journal of Science, 22: 61-64.
- Krell, R. 1996. Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124 Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- LeBlanc, B.W., Davis, O.K., Boue,S., DeLucca, A., Deeby, T. 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee polen. Food Chemistry, 115: 1299–1305.
- Lepage, M. 1964. Isolation and characterization of an esterified form of steryl glucoside. Journal of Lipid Research, 5: 587-592.
- Liebelt, R.A., Lyle, D., Walker, J. 1994. Effects of a bee polen diet on su and growth of inbred strains of mice, American Bee Journal, 134: 615-620.
- Linskens, H. F., Jorde, W. 1997. Pollen as food and medicine – A review. Economic Botany, 51: 78-86.
- Loper, G.M., Standifer, L.N., Thompson, M.J., Gilliam, M. 1980. Biochemistry and microbiology of bee collected almond (*Prunus dulcis*) pollen and bee bread. I. Fatty acids, sterols, vitamins, and minerals. Apidologie 11(1): 63-73.
- Lusby, W.R., Buchmann, S.L., Feldlaufer, M.F. 1993. Pollen sterols from three species of sonoran cacti. Lipids, 28(5): 469-470.
- Luz, C.F.P., Barth, O.M. 2012. Pollen analysis of honey and beebread derived from Brazilian mangroves. Brazilian Journal of Botany, 35(1): 79-85.
- MacLean, C.H., Newberry, S.J., Mojica, W.A., Khanna, P., Issa, A.M., Suttorp, M.J., Lim, Y.W., Traina, S.B., Hilton, L., Garland, R., Morton, S.C. 2006. Effects of omega-3 fatty acids on cancer risk: a systematic review. JAMA, 295: 403–415.
- Madariaga, M.A., Mata, F., Municio, A.M., Ribera, A. 1974. Changes in he fatty acid pattern of glycerolipids of *Dacus olea* during metamorphosis and development. Insect Biochemistry, 4: 151.

- Mahan, L. K. 1990. Nutrition and the allergic athlete. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 53: 157-64.
- Manning, R. 2001. Fatty acids in pollen: a review of their importance for honeybees. *Bee World*, 82: 60-75.
- Medeiros, K.C., Figueiredo, C.A., Freire, K.R., Santos, F.A., Alcantara-Neves, N.M., Silva, T.M., Piuvezam, M.R. 2008. Anti allergic effect of bee pollen phenolic extract and myricetin in ovalbumin-sensitized mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 119 (1): 41-46.
- Moreau, R.A., Whitaker, B.D. Hicks, K.B. 2002. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: Structural diversity, quantitative analysis and health promoting uses. *Progress in Lipid Research*, 41(6): 457-500.
- Mutsaers, M., Blitterswijk, H., Leven, L., Kerkvliet, J., Waerd, J. 2005. Bee products properties, processing and marketing. *Agrodok* 42.
- Nagai, T., Nagashima, T., Myoda, T., Inoue, R. 2004. Preparation and functional properties of extracts from bee bread. *Food/Nahrung*, 48(3): 226-229.
- Nagai, T., Nagashima, T., Suzuki, N., Inoue, R. 2005. Antioxidant activity and angiotensin-I converting enzyme inhibition by enzymatic hydrolysates from bee bread. *Zeitschrift für Naturforschung*, 2005; 60(1-2): 133-138.
- Norton, R.A. 1995. Quantitation of stearylferulic and p-coumarate esters from corn and rice. *Lipids*, 30: 269-274.
- Ostlund, R.E. Jr. 2004. Phytosterols and cholesterol metabolism. *Current Opinion Lipidology Journal*, 15(1): 37-41.
- Ouchemoukh, S., Louaileche, H., Schweitzer, P. 2007. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18: 52–58.
- Özcan, M., Ceylan, A., Ünver, A., Yetişir, R., 2003. Antifungal effect of pollen and propolis extracts collected from different regions of Turkey. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 3: 33-36.
- Panda, S., Jafri, M., Kar, A., Meheta, B.K. 2009. Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma*. *Fitoterapia*, 80(2): 123-6.
- Percie Du Sert, P. 2009a. Les pollens apicoles. *Phytotherapie*, 7: 75-82.
- Percie Du Sert, P. 2009b. Probiotic effect of lactic acid bacteria in fresh pollen. 41st Apimondia Congress Montpellier.
- Pernal, S. F., Currie, R. W. 2001. The influence of pollen quality on foraging behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51: 53-68.

- Pernal, S.F., Currie, R.W. 2002. Discrimination and preferences for pollen-based cues by foraging honeybees, *Apis mellifera* L. *Anim Behaviour*, 63(2): 369–90.
- Power, F.B., Salway, A.H. 1910. Chemical examination of pumpkin seed. *Journal of American Chemical Society*, 32(3): 346-360.
- Reiter, R. 1947. The coloration of anther and corbicular pollen. *The Ohio Journal of Science*, 1(7): 137-152.
- Roulston, T.H., Cane, J.H. 2000. Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution*, 222(1): 187–209.
- Saa-Otero, M.P, Diaz-Losada, Fernandez-Gomez, E. 2000. Analysis of fatty acids, proteins and ethereal extract in honeybee pollen. Considerations of their floral origin. *Grana* 39(4): 175-181.
- Salt, T.A., Xu, S., Patterson, G.W. and Lusby, W.R. 1991. Diversity of sterol biosynthetic capacity in Caryophyllidae. *Lipids*, 26: 604-13.
- Šarić, A. Balog, T., Sobočanec, S., Kušić, B., Šverko, V., Rusak, G., Likic, S., Bubalo, D., Pinto, B., Reali, D., Marotti, T. 2009. Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cystus incanus* L. rich bee pollen. *Food Chemical Toxicology*, 47: 547–554.
- Schmidt, J.O., Buchmann, S.L. 1992. Other products of the hive. In: *The Hive and the Honeybee*. J.M. Graham, ed. Dadant & Sons, Hamilton, Illinois, USA. pp. 927-988.
- Silva, T.M.S., Camara, C.A., Silva Lins A.C., Barbosa-Filho, J.M., Eva Silva, M.S., Freitas, B.M., Santos, R.F.A. 2006. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 507-511.
- Simpopoulos, A.P. 2004. Omega 3 fatty acids and antioxidants in edible wild plants. *Biological Research*, 37: 263-277.
- Snowdon, J. A., Clier, D.O. 1996. Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, 31: 1-26.
- Solberg, Y., Renmedios, G. 1980. Chemical composition of pure and bee collected pollen. *Meldinger fra Norgeslandbrukshogskole*, 59(18): 1-13.
- Somerville, D.C. 2001. Nutritional value of bee collected pollens: a report for the Rural Industries Research and Development Corporation. Rural Industries Research & Development Corporation, Canberra, Australia.
- Standifer, L.N. 1966. Some lipid constituents of pollens collected by honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 5(2): 93-98.

- Standifer, L.N., Devys, M., Barbier, M. 1968. Pollen sterols- a mass spectrographic survey. *Phytochemistry*, 7: 1361-1365.
- Sugano, M., Morioka, H., Ikeda, I. 1977. A comparison of hypocholesterolemic activity of beta sitosterol and beta- sitostanol in rats. *Journal of Nutrition* 107(11): 2011-2019.
- Svoboda, J.A., Herbert, E.W., Lusby, W.R., Thompson, M.J. 1983. Comparison of sterols of pollens, honeybee workers, and prepupae from field sites. *Insect Biochemistry and Physiology*, 1(1): 25-31.
- Szczęśna, T. 2006. Long-chain fatty acids composition of honeybee collected pollen. *Journal of Apicultural Science*, 50(2): 65–79.
- Takatsuto, S., Omote, K. 1989. Phytosterol Composition in the Pollen of Sunflower, *Helianthus annuus* L. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53(12): 3363-3364.
- Takatsuto, S., Omote, K., Motegi, C. 1992. Sterol composition in the pollens of *Citrus unshiu* Marcov. and *Citrus sinensis* Osbeck. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56(4): 670-671.
- Takatsuto, S., Yokota, T., Omote, K., Gamoh, K., Takahashi, N. 1989. Identification of Brassinolide, Castasterone and Norcastasterone (Brassinone) in Sunflower (*Helianthus annuum* L.) pollen. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53(8): 2177-2180.
- Thuluva, S.C., Igel, M., Giesa, U., Lutjohann, D., Sudhop, T., von Bergmann, K. 2005. Ratio of lathosterol to campesterol in serum predicts the cholesterol-lowering effect of sitostanol-supplemented margarine. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 43, 305–310.
- Valencia-Barrera, R.M., Herrero, B., Molnar, T. 2000. Pollen and organoleptic analysis of honeys in Leon province (Spain). *Grana*, 39: 133- 140.
- Vasquez, A., Olofsson, T.C. 2009. The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and beebread. *Journal of Apicultural Science*, 48: 189-195.
- von Schacky, C., Harris, W.S. 2007. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Cardiovascular Research*, 73: 310–315.
- Worthington, R. E., Hitchcock, H. L., 1984. A method for the separation of seed oil steryl esters and free sterols: Application to peanut and corn oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 61: 1085–1088.
- Xu, X., Xuefeng, Mu., Sun, L. 2011. Supercritical CO₂ extraction of oil, caretenoids, squalene and sterols from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) bee pollen. *Food and Bioproducts processing*, 89(1): 47-52.