

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİNGÖL BÖLGESİNDE ÜRETİLEN ARI POLENLERİNİN
KOENZİM Q10 İÇERİĞİNİN YENİ NESİL METAKRİLAT BAZLI
MONOLİTİK NANOKOLON KULLANILARAK NANO-LC
SİSTEMİNDE ANALİZİ VE KAHVALTILIK GEVREK
ÜRETİMİNDE KULLANILMASI

DOKTORA TEZİ

BÜŞRA BELTEKİN

ARI VE ARI ÜRÜNLERİ ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Bayram YURT

BİNGÖL-2024

**BİNGÖL BÖLGESİNDE ÜRETİLEN ARI POLENLERİNİN KOENZİM Q10
İÇERİĞİNİN YENİ NESİL METAKRİLAT BAZLI MONOLİTİK NANOKOLON
KULLANILARAK NANO-LC SİSTEMİNDE ANALİZİ VE KAHVALTILIK
GEVREK ÜRETİMİNDE KULLANILMASI**

Dr. Öğr. Üyesi Bayram YURT danışmanlığında, Büşra BELTEKİN tarafından hazırlanan bu çalışma 19/01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Arı ve Arı Ürünleri Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Prof. Dr. İhsan Güngör ŞAT	İmza	:
Üye	: Prof. Dr. Mehmet AKBULUT	İmza	:
Üye	: Prof. Dr. Cemil AYDOĞAN	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Bayram YURT	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Duygu Nur ÇOBANOĞLU	İmza	:

Yukarıdaki sonuç;

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

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma YÖK 100/2000 Öncelikli Alan Doktora Programı kapsamında desteklenmiştir.
Ayrıca TÜBİTAK 118F517 ve 122Z042 no'lu projelerden desteklenmiştir.

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

ÖNSÖZ

Tez çalışması boyunca anlayışlı yaklaşımı, yardımseverliği ve bu teze sunduğu katkılardan dolayı danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Bayram YURT hocama teşekkürlerimi sunarım. Bu tez konusunun belirlenmesinden, Bingöl Üniversitesi Gıda Analiz ve Araştırma Laboratuvarı'nda tamamlanmasına kadar her aşamada yardımları ve tecrübeleri ile destek veren ve akademik alanda ilerlememde büyük katkısı olan sayın Prof. Dr. Cemil AYDOĞAN hocama en içten teşekkürlerimi sunarım.

YÖK 100/2000 öncelikli alan doktora programı kapsamında tezin hazırlanmasına olanak sağlayan Türkiye Yükseköğretim Kurulu'na ve 118F517 ve 122Z042 no'lu projelerden destekleri için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na teşekkür ederim.

Tez çalışması boyunca verdiği desteklerden dolayı Öğretim Görevlisi Mahmut ÇAKAN'a ve palinolojik analizlerin gerçekleşmesi için imkan sunan Dr. Öğr. Üyesi Duygu Nur ÇOBANOĞLU'na teşekkür ederim. Teze sundukları katkı ve öneriler için jüri üyeleri sayın Prof. Dr. İhsan Güngör ŞAT ve Prof. Dr. Mehmet AKBULUT hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, hayatım boyunca sonsuz sevgileri, teşvikleri ve yardımları ile güç veren anneme, babama ve abilerime en özel teşekkürlerimi sunarım.

Büşra BELTEKİN

Bingöl 2024

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1. Arı Polenİ.....	3
2.1.1. Arı Polenİnİn Tarihİsel Geçmİşİ.....	7
2.1.2. Arı Polenİnİn Kimyasal Bİleşİmİ.....	7
2.1.3. Arı Polenİnİn Tedavİ Edİcİ Özellİkleri.....	11
2.2. Koenzİm Q10.....	15
2.2.1. Koenzİm Q10'un Tarihçesi.....	16
2.2.2. Koenzİm Q10 Bİyosentezİ.....	16
2.2.3. Koenzİm Q10'un İşlevleri.....	17
2.2.4. Gıdalarda Koenzİm Q10 ve Bİyoyararlılık.....	19
2.3. Mİnyatürleştırİlmİş Sıvı Kromatografİsİ.....	22
2.4. Nano-LC.....	23
2.4.1. Pompa.....	24
2.4.2. Kolon.....	25
2.4.3. Dedektör.....	28
2.5. Monolİtİk Nano Kolonlar.....	29
2.5.1. Hİbrİd Monolİt.....	31
2.5.2. Sİlİka Monolİt.....	32
2.5.3. Polİmer Monolİt.....	33
2.6. Kahvaltılık Gevrek.....	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	38
3.1. Materyaller.....	38
3.1.1. Kimyasallar ve Taze Arı Polenİ Örnekleri.....	38

3.1.2. Alet ve Ekipmanlar.....	39
3.2. Yöntem.....	41
3.2.1. Monolitik Nano Kolonun Silanlanması.....	41
3.2.2. Monolitik Nano Kolonun Hazırlanması.....	42
3.2.3. Kromatografik Şartlar.....	43
3.2.4. Taze Arı Poleninden Koenzim Q10 Ekstraksiyonu.....	43
3.2.5. Taze Arı Polenlerinin Palinolojik Analizi.....	45
3.2.6. Taze Arı Polenleri ve Kahvaltılık Tahıl Örneklerinin Renk Analizi.....	46
3.2.7. Kahvaltılık Gevrek Üretimi ve Duyusal Analizi.....	47
3.2.8. Yöntem Doğrulaması.....	48
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	49
4.1. Monolitik Nano Kolonun Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	49
4.2. Çalışma Tasarımı.....	55
4.3. Yükleme Kapasitesi.....	56
4.4. Nano-LC İçin Numune Hazırlama ve Kromatografi Koşullarının Optimizasyonu.....	57
4.5. Taze Arı Polenleri Örneklerinde Koenzim Q10 Analizi.....	59
4.6. Taze Arı Polenlerinin Palinolojik Analizi.....	68
4.7. Taze Arı Polenlerinin Renk Analizi.....	73
4.8. Kahvaltılık Gevreklerin Duyusal ve Renk Analizi.....	75
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	77
KAYNAKLAR.....	79
ÖZGEÇMİŞ.....	107

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

LC	: Sıvı kromatografi
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografi
Nano-LC	: Nano sıvı kromatografi
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
KoQ10	: Koenzim Q10
MeOH	: Metanol
EtOH	: Etanol
ACN	: Asetonitril
2-PrOH	: 2- Propanol
AIBN	: 2,2'-Azobisisobütironitril
TMSPM	: 3-trimetoksisilil propil metakrilat
EDMA	: Etilen dimetakrilat
LMA	: Lauril metakrilat
NaOH	: Sodyum hidroksit
ABs	: Alkilbenzenler
LOQ	: Nicelik limiti
LOD	: Belirleme limiti
mL	: Mililitre
µm	: Mikrometre
µL	: Mikrolitre
nL	: Nanolitre
dk	: Dakika
sa	: Saat
mg	: Miligram

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Polen tanesinin yapısı.....	3
Şekil 2.2.	Arı poleninin toplanması.....	4
Şekil 2.3	Bazı arı poleni türlerinin SEM görüntüleri.....	5
Şekil 2.4.	Bingöl Yayladere (Kırköy) bölgesine ait arı poleni.....	6
Şekil 2.5.	Ubikinonun kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.6.	KoQ10'un biyosentez yolu.....	17
Şekil 2.7.	Bazı LC modlarının analitik kolon türleri.....	26
Şekil 2.8	Geleneksel kolon ile minyatür kolon arasındaki kromatografik seyreltme farklılıklarına örnek.....	27
Şekil 2.9.	Monolit kapiler nanokolonun a)2000x ve b)10000x SEM görüntüleri.....	30
Şekil 2.10.	Perfenilkarbamoyillenmiş β -siklodekstrin-silika (Ph- β -CD) hibrit monolit kolonun SEM görüntüsü.....	32
Şekil 2.11.	Kopolimer Pluronic F127 silika monolitik kolonunun FE-SEM görüntü.....	33
Şekil 2.12.	1300x (sol) ve 25.000x (sağ) SEM görüntüleri homojen gözenekli polimer monoliti gösterir.....	34
Şekil 2.13.	Kahvaltılık gevrek çeşitleri.....	36
Şekil 3.1.	Bingöl bölgesinden toplanan taze arı polenleri.....	39
Şekil 3.2.	Tez çalışmasında kullanılan nano-LC.....	40
Şekil 3.3.	Monolitik nano kolonun hazırlanma aşamaları.....	42
Şekil 3.4.	Taze arı poleninin ekstraksiyon işlemi.....	44
Şekil 3.5.	Taze arı poleni örneklerinin palinolojik analizi.....	46
Şekil 3.6.	Taze arı polenlerinin renk ölçümü.....	47
Şekil 3.7.	Kahvaltılık gevrek üretimi.....	48
Şekil 4.1.	LMA kolonunun (A) x2150 (B) x9500 büyütme SEM görüntüleri.....	51

Şekil 4.2.	Mobil fazlar A: ACN/H ₂ O (%80:20, v/v) ve B: EtOH/2-PrOH (%80:20, v/v) ile LMA kolonunun akış hızına karşı basınç grafiği.....	52
Şekil 4.3.	Performans değerlendirmesi için kullanılan karışımının ayırma kromatogramı.....	53
Şekil 4.4.	Alkilbenzenlerin LMA kolonunda farklı ACN içeriklerinde kromatografik olarak ayrılması.....	54
Şekil 4.5.	Monolitin Van Deemter eğrileri.....	55
Şekil 4.6.	KoQ10'un yapısı.....	55
Şekil 4.7.	KoQ10 kullanılarak 50 µm-15 cm monolitik kolonun yüklenebilirlik testleri.....	56
Şekil 4.8.	Farklı solvent sistemleriyle saatlik 100 ppm KoQ10 çöktürme denemeleri.....	57
Şekil 4.9.	Farklı KoQ10 konsantrasyonlarının (örn. 0,5 µg/mL ila 5000 µg/mL) varlığında elde edilen kinetik eğriler.....	58
Şekil 4.10.	Karlıova Merkez bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	60
Şekil 4.11.	Karlıova Kıraçtepe bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	61
Şekil 4.12.	Karlıova Çatak bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	61
Şekil 4.13.	Yayladere Kırköy bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	62
Şekil 4.14.	Yayladere Merkez bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	62
Şekil 4.15.	Yayladere Batıyaz bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	63
Şekil 4.16.	Merkez Kartal Köyü bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	63
Şekil 4.17.	Merkez Şaban bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	64
Şekil 4.18.	Merkez Kuruca bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	64
Şekil 4.19.	Solhan Hazarşah Yaylası taze arı polenine ait kromatogram.....	65
Şekil 4.20.	Solhan Yaylası taze arı polenine ait kromatogram.....	65
Şekil 4.21.	Solhan Ovası taze arı polenine ait kromatogram.....	66
Şekil 4.22.	Adaklı Merkez bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	66
Şekil 4.23.	Adaklı Karbaşan bölgesi taze arı polenine ait kromatogram.....	67
Şekil 4.24.	Adaklı Arıca Köyü taze arı polenine ait kromatogram.....	67
Şekil 4.25.	Baskın polen türlerine ait mikroskop görüntüleri.....	72

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1.	Arı polenin bileşimi.....	9
Tablo 2.2.	Arı polenin amino asit bileşimi.....	10
Tablo 2.3.	Bazı gıdaların KoQ10 içeriği.....	20
Tablo 2.4.	Sıvı kromatografi sistemlerine göre kolon tipi ve akış hızları.....	25
Tablo 4.1.	Monolitik nano kolon denemeleri.....	49
Tablo 4.2.	Taze arı poleni örneklerinin KoQ10 içeriği.....	59
Tablo 4.3.	Taze arı polenin palinolojik analizi.....	68
Tablo 4.4.	Taze arı poleni örneklerinin renk analizi.....	74
Tablo 4.5.	Kahvaltılık gevreklerin duysal analizi.....	75
Tablo 4.6.	Kahvaltılık gevreklerin renk analizi.....	76

BİNGÖL BÖLGESİNDE ÜRETİLEN ARI POLENLERİNİN KOENZİM Q10 İÇERİĞİNİN YENİ NESİL METAKRİLAT BAZLI MONOLİTİK NANOKOLON KULLANILARAK NANO-LC SİSTEMİNDE ANALİZİ VE KAHVALTILIK GEVREK ÜRETİMİNDE KULLANILMASI

ÖZET

Bu tez çalışması kapsamında, Bingöl ilinin on beş farklı bölgesinden temin edilen taze arı polenlerinin koenzim Q10 içerikleri nano-LC cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Koenzim Q10 miktarlarının saptanması için, yeni nesil metakrilat bazlı monolitik nano kolon geliştirilmiştir. Nano kolon denemelerinde, monomer olarak lauril metakrilat, çapraz bağlayıcı olarak etilen dimetakrilat, termal başlatıcı olarak da 2,2'-Azobisisobutyronitril kullanılarak *in-situ* polimerizasyon yöntemi ile monolitik nano kolon elde edilmiştir. Gerçekleştirilen tekrarlanabilirlik denemeleri ve olumlu sonuçlanan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri neticesinde laboratuvar ortamında lauril metakrilat bazlı monolitik nano kolon üretilmiştir. Bingöl'ün on beş farklı bölgesinden toplanan taze arı polenlerinin koenzim Q10 içeriği, optimize edilen lauril metakrilat bazlı nano kolon kullanılarak saptanmıştır. Solhan Hazarşah Yaylası'ndan toplanan taze arı polenleri en yüksek koenzim Q10 içeriğine sahip iken ($224,7 \pm 3,1$ mg/kg), Adaklı Karbaşan bölgesine ait taze arı polenleri ikinci ($201,5 \pm 4,4$ mg/kg) ve Karlıova Çatak bölgesine ait taze arı polenleri üçüncü ($194,7 \pm 2,8$ mg/kg) en yüksek koenzim Q10 içeriğine sahiptir.

Palinolojik analizleri yapılan on beş farklı taze arı poleninde, yirmi iki bitki ailesinden elli dört farklı taksona ait polen çeşidi gözlemlenmiştir. Altı bölgenin monofloral, altı bölgenin bifloral ve üç bölgenin ise multifloral bitki desenine sahip olduğu saptanmıştır. *Hypericum*, *Hedysarum*, *Astragalus*, *Verbascum*, *Trifolium* ve *Cirsium* türlerinin baskın türler olduğu görülmüştür. Renk analizinde ise Merkez Kuruca, Solhan Ovası ve Yayladere Kırköy arı polenlerinde düşük L^* değeri ölçülmüştür (sırasıyla $49,95 \pm 0,38$; $48,01 \pm 0,24$; $41,41 \pm 0,01$). Yayladere Kırköy arı polenlerinde en yüksek a^* değeri, Yayladere Batıyaz arı polenlerinde ise en yüksek b^* değeri ölçülmüştür. Son olarak, en yüksek koenzim Q10 içeriğine sahip Solhan Hazarşah Yaylası taze arı poleni kullanılarak arı polenli kahvaltılık gevrek üretilmiştir. Kahvaltılık gevreklerin duyusal analizleri sonucunda kontrol ve arı polenli gevreklerin genel beğeni ve kabul edilebilirlik düzeyleri arasında fark gözlemlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Arı poleni, koenzim Q10, minyatürize LC, nano-LC, metakrilat bazlı nano kolon, arı polenli kahvaltılık gevrek.

ANALYSIS OF THE COENZYME Q10 CONTENT OF BEE POLLEN PRODUCED IN BINGÖL REGION USING NEW GENERATION METHACRYLATE BASED MONOLITHIC NANOCOLUMN IN NANO-LC SYSTEM AND USING IN BREAKFAST CEREALS PRODUCTION

ABSTRACT

Within the scope of this thesis study, coenzyme Q10 contents of fresh bee pollen supplied from fifteen different regions of Bingöl province were determined by using nano-LC instrument. A new generation methacrylate-based monolithic nano column has been developed for the determination of coenzyme Q10. In nano column trials, monolithic nano columns were obtained by in-situ polymerization method using lauryl methacrylate as monomer, ethylene dimethacrylate as cross-linker, and 2,2'-Azobisisobutyronitrile as thermal initiator. As a result of the repeatability trials and scanning electron microscope images, lauryl methacrylate-based monolithic nano column was produced in the laboratory conditions. Coenzyme Q10 content of fresh bee pollen collected from fifteen different regions of Bingöl was specified with an optimized lauryl methacrylate-based nano column. While Solhan Hazarşah Plateau region has the highest coenzyme Q10 content (224.7 ± 3.1 mg/kg), Adaklı Karbaşan region was found to be the second (201.5 ± 4.4 mg/kg) and Karlıova Çatak region was the third highest (194.7 ± 2.8 mg/kg).

In the fifteen different fresh bee pollen analyzed palynological, pollen types belonging to fifty-four different taxa from twenty-two plant families were observed. It was detected that six regions had monofloral, six regions had bifloral and three regions had multifloral plant patterns. *Hypericum*, *Hedysarum*, *Astragalus*, *Verbascum*, *Trifolium* and *Cirsium* species were found to be the dominant species. In color analysis, low L^* value was measured in bee pollen from Merkez Kuruca, Solhan Plain and Yayladere Kırköy (49.95 ± 0.38 ; 48.01 ± 0.24 ; 41.41 ± 0.01 , respectively). The highest a^* value was measured in Yayladere Kırköy bee pollen, and the highest b^* value in Yayladere Batıyaz bee pollen. Finally bee pollen added breakfast cereal was produced using Solhan Hazarşah Plateau fresh bee pollen, that has the highest coenzyme Q10 content. As a result of the sensory analysis of breakfast cereals, no difference was observed between the general appreciation and acceptability levels of control and bee pollen cereals.

Keywords: Bee pollen, coenzyme Q10, miniaturized LC, nano-LC, methacrylate- based nano column, bee pollen added breakfast cereal.

1. GİRİŞ

Gıda, biyolojik süreçlerde aktif olan bileşenlerin teminini sağladığı için insan sağlığını ve refahını korumada önemli bir konudur. Bu tanım dikkate alındığında ileri gıda analizleri, gıdaların bilinmeyen biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesinde, maruz kalınan kontaminasyonların ortaya çıkarılmasında ve sınırlı bileşenlerin moleküler düzeydeki rollerinin belirlenmesinde önemlidir. Gıda ve sağlık arasındaki bağlantılara yönelik artan eğilim, gıda bilimindeki yeni gelişmeleri ve farklı teknikleri keşfetme fırsatları sunmanın yanı sıra bazı zorlukları da beraberinde getirmektedir. Son birkaç on yılda, gelişmiş analizler arasında yeni bir trend olan minyatürleştirilmiş sıvı kromatografi teknikleri, özellikle hassas analiz gerektiren sınırlı bileşenlerin tespitinde mevcut yöntemlerin iyileştirilmesi ve zorlukların üstesinden gelinmesi için kullanılan temel dayanak olmuştur. Kromatografi tekniğinin kronolojik gelişimi 1848 yılına dayanmaktadır. 1848’de Wal ve Thompson katılarda iyon değişiminin mümkün olduğunu gösterdiler. Alman kimyager Runge, 1850 ile 1900 yılları arasında farklı renkli boyaları ayırmak için filtre kağıdı ve solventten yararlandı. Bu teknik günümüzde hala geçerli olan kağıt kromatografisidir. Öte yandan ilk kez kolon destekli ayırmanın mümkün olduğu fark edildi ve Reed, 1892’de demir-(III)-klorürü bakır sülfattan ayırmak için kaloin içeren kolonlar kullandı. Kromatografi ilk kez, 1906 yılında Rus botanikçi Mikhail Tswett tarafından bitki pigmentlerinin (klorofil) ayrılması için kullanıldı. O zamandan günümüze kadar biyokimyasal moleküllerin tanımlanması ve ölçülmesi için güçlü bir teknik olarak kullanılmaktadır (Eser, 2018; Tswett, 1906). Daha sonra, 25 yıllık bir durgunluğun ardından, organik kimyacıların doğal ürünlerle daha fazla ilgilenmeye başlamasıyla kromatografi yeniden keşfedildi. Holmes ve Adams organik iyon değişim reçinelerini sentezlediler ve bunu, 1935 yılında Reichstein’ın elüsyon kromatografisi üzerine araştırması izledi (Fahey ve Terry, 1979). Huber ve Hulsman, 1967 yılında kolon teknolojisindeki ilerlemeler, yüksek basınçlı pompa sistemleri ve hassas dedektörlerin kullanımıyla yüksek basınçlı sıvı kromatografisinin temellerini attı (Ettre, 1971).

Tüm dünyada tüketimi hızla ivme kazanan mucizevi bir arı ürünü olan arı poleni, içerdiği zengin biyoaktif bileşenler sayesinde adından sıklıkla söz ettirmektedir. Arı poleni, içerdiği

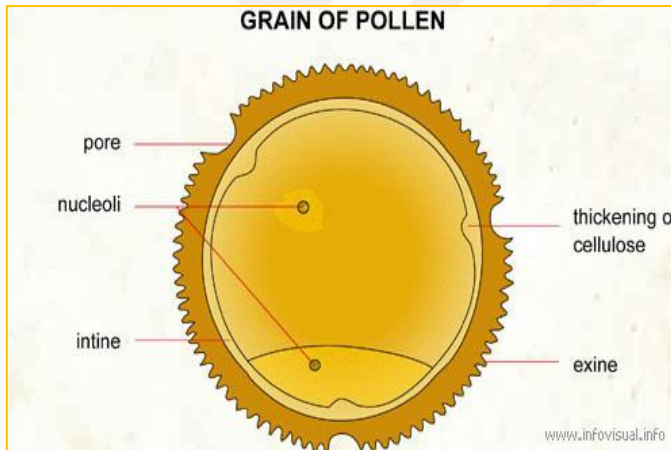
temel biyoaktif bileşenlerden dolayı birçok hastalığa karşı koruyucu etkisi nedeniyle geleneksel tıpta sıklıkla tercih edilmektedir (Bakkaloğlu, 2021; Kocot vd., 2018; Onbaşlı vd., 2019). Arı poleni farklı organik asitleri, makro ve mikro elementleri, fenolik bileşikler, mineralleri, vitaminleri, enzimleri ve diğer bazı metalleri içermektedir (Kocot vd., 2018). Arı polenin bilinen içeriği dışında yapısında bulunan bazı hassas biyokimyasal bileşenler nano-LC gibi minyatürize cihazlarla tespit edilebilir. Bu bileşenlerden biri koenzim Q10'dur. Koenzim Q10 biyolojik dokularda biyokimyasal olarak kritik rol oynayan (hücrede enerji üretimi sırasındaki enzimatik reaksiyonlarda ve mitokondriyal elektron taşıma zincirinde bir işlev görmesi vb) redoks aktif bir moleküldür (Kubo vd., 2008; Overvad vd., 1999; Turunen vd., 2004). Vücutta endojen olarak sentezlenebildiği gibi, eksojen kaynaklı olarak günlük besinlerden de temin edilmektedir (Kubo vd., 2008; Román-Pizarro vd., 2017). Yaş ilerledikçe miktarı azalan koenzim Q10'un dışarıdan alımını kolaylaştırmak için her yaştan insanın günlük beslenmesinde tercih ettiği kahvaltılık gevrekler arı poleni eklenebilir.

Daha önce yapılan bir çalışmada arı polenindeki koenzim Q10 miktarı belirlenmiş ve geleneksel yöntem olan HPLC sistemi kullanılmıştır (Xue vd., 2012). Bu tez çalışmasında, Bingöl bölgesinden toplanan taze arı poleni örneklerinin koenzim Q10 içeriği, daha hassas ve minyatürleştirilmiş bir teknoloji olarak kabul gören nano-LC cihazı ile yeni nesil metakrilat bazlı nano kolon kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. İlgili literatür incelendiğinde çalışmanın bu yönüyle ilk olduğu görülmektedir. Ayrıca koenzim Q10 içeriği en yüksek bölgeye ait taze arı poleni ilavesi ile kahvaltılık gevrek üretilerek yenilikçi, fonksiyonel ve tüketimi pratik bir ürün elde edilmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Arı Poleni

Polen, çiçekli bitkilerde, çiçeklerin erkek üreme organlarının (stamen) veya gametofitlerinin üst kısmındaki anterlerin içindeki keselerde bulunan buruşuk, dikenli, yağlı ve yapışkan bir yapıdır (Krell, 1996; TSE, 2006). Aslında polenin kendisi erkek gameti değildir. Ancak her polen tanesinde bitkisel (üremeyen) hücreler (birçok çiçekli bitkide tek hücre, diğer tohumlu bitkilerde ise birkaç hücre) ve iki çekirdek içeren bir üretken (üreme) hücre bulunur: Bu hücre grubu, selüloz açısından zengin bir hücre duvarı olan intin ve büyük ölçüde sporopoleninden oluşan dirençli bir dış duvar olan ekzin ile çevrilidir (Bogdanov, 2014). Şekil 2.1’de polen tanesinin yapısı gösterilmektedir.



Polen tanesi: Çiçekli bitkilerde stamende yer alan anter tarafından üretilen mikroskobik birim; **thickening of cellulose:** lifli kalınlaşma; **exine:** ekzin; **intine:** intin; **nucleoli:** hücre çekirdeği; **pore:** por.

Şekil 2.1. Polen tanesinin yapısı (<https://infovisual.info/en/biology-vegetal/pollen>)

Arı poleni, işçi bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından çiçeklerin stamenlerinde üretilen bitki poleni tanelerinin (erkek üreme birimi) toplanmasıyla elde edilen doğal bir arı ürünüdür (Krell, 1996). Temel olarak, polen toplamak için farklı çiçek türlerini ziyaretleri sırasında, pozitif yüklü arı gövdeleri ile negatif yüklü çiçekler arasında oluşan zayıf elektrostatik alan sayesinde çok sayıda polen tanesi bal arısının vücuduna yapışır (Clarke vd., 2017). Bal arısı, çiçekteki ve vücudundaki polenleri toplayarak, nektar ve tükürük bezlerinden salgılanan enzimlerle (amilaz, katalaz gibi) zenginleştirilerek 1,4–4 mm boyutunda peletler

oluşturur. Paketlenecek polen yükünün %10'a kadar nektar içermesi gerekir (M. G. R. Campos vd., 2008; Saavedra C vd., 2013). Bal arısı daha sonra pelet haline getirdiği poleni arka bacağındaki polen sepetinde (corbicula) depolar ve arı kovanına taşır (Di Pasquale vd., 2013). Bir bal arısı kolonisi günde ortalama 200 farklı çiçeği ziyaret eder ve günde 50-250 g veya yılda 15-40 kg polen toplayabilir (Komosinska-Vassev vd., 2015). Kovana taşınan polenler, kovan girişine yerleştirilen polen tuzakları yardımıyla bal arısının arka bacağından düşerek polen tepsisinde toplanır (Şekil 2.2). Bal arısının beslenmesi için kovanda depolanan polenler, yerleştirildikleri petek gözlerinde bal eklenerek muhafaza edilir (Bakkaloğlu, 2021). Kolonilerin yıllık polen üretimi koloni büyüklüğüne ve çevre koşullarına (iklim, bitki örtüsü vb.) göre farklılık göstermektedir (Dreller ve Tarpy, 2000; Thakur ve Nanda, 2020).

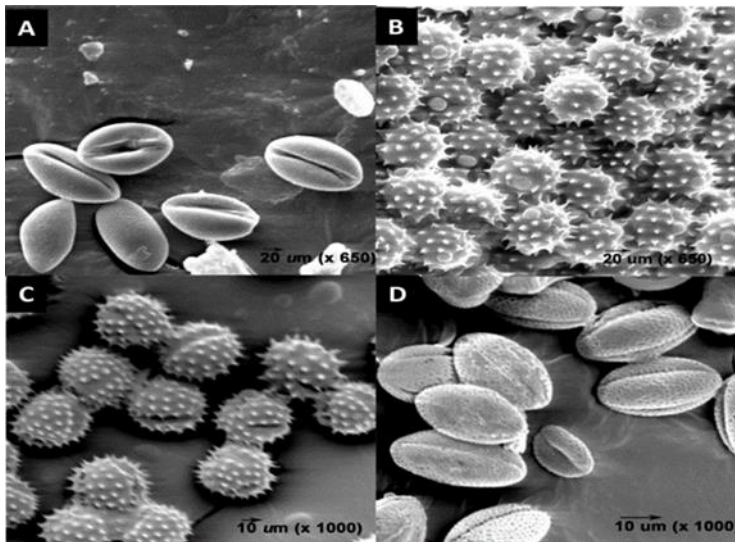


Şekil 2.2. Arı polenin toplanması (<https://research.gatech.edu/mechanics-pellet-carrying-honey-bees>; <https://www.sarasotahoney.com/single-post/january-newsletter-why-you-should-not-eat-local-raw-pollen-honey-vegan-or-not-got-mask-rash>; <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468584421000374>)

Arı poleni, bal arılarının larva dönemi ve gençlik döneminden sonra doku, kas, bez ve diğer organlarının gelişimi için gerekli olan protein, lipid, sterol, vitamin ve mineralleri sağlayan en önemli besin maddesidir (Calderone ve Johnson, 2002; Dobson ve Peng, 1997; Pernal ve Currie, 2001). Polenin besin değeri ham protein içeriğine göre değerlendirilir ve genel

olarak arıların ve böceklerin üremesi, büyümesi, bağışıklık yeteneği ve uzun ömürlülüğü için protein düzeyinin çok önemli olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Vanderplanck vd., 2014).

Arıların tozlaşma eğilimlerini inceleyen temel çalışmalar 1980’lerde İsviçre Arı Araştırma Merkezi’nde Wille ve meslektaşları tarafından yürütülmüş, farklı araştırmalar sonucunda polen örneklerinin her birinin genellikle birden fazla bitki türünden oluştuğunu ortaya koymuştur (Bogdanov, 2014). Bu türlerden bazıları olan beyaz ve kırmızı yonca (*Trifolium repens* ve *pratense*), kolza (*Brassica napus*), mısır (*Zea mays*), karahindiba (*Taraxacum officinale*), ayçiçeği (*Helianthus sp.*) ve hardal (*Sinapis arvensis*) İsviçre’nin farklı yerlerinde tespit edilmiştir. Çiğdem (*Crocus sp.*), sazlıklar (*Carex sp.*), *Rhinanthus sp.* ve *Euphrasia sp.* türleri, Türkiye’deki lokasyonlardan sadece birinde görülmüştür. Ancak bazı polen türlerinde, farklı ağaç türlerinin çok net bir şekilde hakim olduğu tek tip bir desen gözlemlenmiştir (Bogdanov, 2014). Akçaağaç (*Acer sp.*), meşe (*Quercus sp.*), dişbudak (*Fraxinus sp.*), söğüt (*Salix sp.*), *Prunus sp.* ve *Pyrus sp.*, kavak (*Populus sp.*) ve karaağaç (*Ulmus sp.*) bunlardan bazılarıdır. Ayrıca İrlanda ve İngiltere’deki alıç (*Crataegus monogyna*) ve mürver (*Sambucus sp.*) gibi bazı çalı türlerinin önemli polen kaynakları olduğu rapor edilmiştir (Keller vd., 2005a, 2005b). Şekil 2.3’de bazı bitki polen türlerinin SEM görüntüleri gösterilmektedir (Almeida vd., 2017).



Şekil 2.3. Bazı arı poleni türlerinin SEM görüntüleri (A) *Areaceae* Tip I; (B) *Asteraceae baccaris*; (C) *Asteraceae eupatorium*; (D) *Brassicaceae* (Almeida vd., 2017)

Polenin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin çoğunlukla toplandığı bitkiye, toplandığı bölgenin coğrafi konumuna, iklim özelliklerine, toplanma ve paketleme şekline göre değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Belirli bir botanik kökene sahip tek çiçekli polenlerin fiziko-kimyasal, fonksiyonel ve duysal özellikleri genellikle sabitken, çok çiçekli polen yüklerinin özellikleri farklılık gösterir (Barth vd., 2010; Thakur ve Nanda, 2020). Bal arısının çiçekleri ziyareti sırasındaki polen mevcudiyetine göre değişiklik göstermekle beraber, arı poleni topraklarının ortalama ağırlığı yaklaşık 7,5-8 mg'dır (Komosinska-Vassev vd., 2015). Taze polenler silindirik, üçgen, yuvarlak veya çan şeklindeki, çapı 0,01-0,05 mm olan kurutulmuş polen toprakları genellikle küresel veya iğ şeklindedir. Polenlerin rengi, botanik köken farklılığından dolayı farklı konsantrasyonlardaki karotenoidler ve antosiyaninler gibi bitki pigmentlerine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Percie Du Sert, 2009; Sattler vd., 2015). Polen kalitesi kabaca rengine göre değerlendirilebilir. Renk değerleri ile Ca, Mg ve Fe içerikleri arasındaki ilişkiyi gösteren enstrümantal renk analizi sonuçları, rengin arı poleninin kimyasal bileşiminden de etkilendiğini ortaya çıkarmıştır (Yang vd., 2013). Arı poleni beyaz, sarı, siyah, kırmızı, mor, yeşil, turuncu, kahverengi, sarımsı-kahverenginin tonlarını içerir (Şekil 2.4). Ayrıca işleme koşulları da başta L* ve b* olmak üzere renk değerlerini etkiler.

Polen topraklarının dehidrasyondan (kurutma) sonra öğütülmesi, sarı rengin baskın olmasına ve daha yüksek pozitif b* değerine neden olur. Bu sonucun kurutma sırasında polifenoller gibi bazı bileşiklerin oksidasyon reaksiyonlarından kaynaklandığı belirtilmektedir (Barth vd., 2010; Da Silva vd., 2009).



Şekil 2.4. Bingöl Yayladere (Kırköy) bölgesine ait arı poleni

2.1.1. Arı Poleninin Tarihsel Geçmişi

Bal, arı poleni, propolis, arı sütü, arı zehiri ve perga gibi arı ürünlerinin tedavi amaçlı kullanımına ‘apiterapi’ adı verilmektedir (Al Naggar vd., 2021). Geleneksel tıpta, arı ürünleri antik çağlardan beri kullanılmakla beraber bu konuda yapılan araştırmalar, apiterapi merkezlerinin kurulması, apiterapötik yöntemlerin kullanılması sonucunda tüm dünyada hızlı bir gelişme göstererek, günümüzde de önemini korumaktadır (Doko vd., 2021; Weis vd., 2022).

Arı poleninin insanlar tarafından kayıtlı kullanımı uzun bir geçmişe dayanmaktadır. Antik toplumlarda (Yunanistan, Çin ve Mısır vb) bal, polen, propolis ve arı sütü gibi arı ürünleri, şifalı ve sağlığa faydalı özellikleri nedeniyle tıpta yaygın olarak kullanılıyordu. Arı poleni, eski çağlardan beri fonksiyonel bir gıda olarak tüketilmekte ve eski Mısırlılar tarafından "hayat veren toz" olarak nitelendirilmektedir (Abdelnour vd., 2019). Kayıtlara göre Çin ve Mısır’da arı polenine dayalı bir beslenme düzeni kurulmuştur. İncil’de (Yaratılış 1:29) ise besleyici ve tıbbi değerlerinden dolayı arı poleni övülmüştür (Münstedt ve Bogdanov, 2009). Yunanistan ve Roma’da bulunan eski tıp metinlerinde, Batı Tıbbı’nın önde gelenlerinden Aristoteles, Hipokrat, Pisagor veya Yaşlı Pliny’nin sağlıklı bir beslenme için günlük diyetle arı polenini dahil etme fikrine sahip olduğundan bahsedilmektedir (M. G. R. Campos vd., 2010). Ayrıca arı poleni toplama mekanizması ile ilgili ilk çalışmalar 1873 yılında Meehan tarafından gerçekleştirilmiştir. Modern çağda arı poleninin elde edilmesi İkinci Dünya Savaşı sonrasında polen tuzaklarının kullanılmaya başlanmasıyla yaygınlaşmıştır (Bogdanov, 2014).

2.1.2. Arı Poleninin Kimyasal Bileşimi

Arı poleninin bitki kaynaklarının besinsel parametreleri, kimyasal ve fonksiyonel özelliklerini güçlü bir şekilde etkilediği bilinmektedir (Thakur ve Nanda, 2018). Arı poleninin kimyasal bileşenleri toplandığı bölgeye göre değiştiğinden, besin değerleri konusunda kesin bir standart bulunmamakla birlikte arı poleni yaklaşık olarak %4-15 oranında su, %7,5-40 oranında protein, %15-82 oranında karbonhidrat, %1,3-7 oranında lipit, %1-3,5 oranında vitamin ve mineraller, %2-6 kül içeriğine sahiptir (Almeida-Muradian vd., 2005; M. G. R. Campos vd., 2008; Kostić vd., 2015; Stanciu vd., 2011). Arı poleninde bulunan ana şekerler fruktoz, glukoz ve sukrozdur. Ayrıca şeker içeriğinin

yaklaşık %1'ini arabinoz, izomaltos, melibiyoz, hibridoz, riboz, trehaloz, turanoz ve erlos oluşturur (Liolios vd., 2018). Arı poleni farklı organik asitler (oksalik, malik, tartarik, sitrik, asetik, süksinik, laktik ve glukonik), makro elementler (sodyum, kalsiyum, potasyum ve magnezyum), mikro elementler (demir, çinko, bakır, manganez ve magnezyum), vitaminler (provitamin A (karetonoidler), E vitamini (tokoferol), niasin, biyotin, tiamin, folik asit, enzimler ve ko-enzimler) ve bazı metalleri (krom, stronsiyum, alüminyum, nikel, kalay ve vanadyum) içerir. Arı poleni ayrıca naringenin, rhamnetin-3-O-neohesperidoside, isorhamnetin, quercetin-3-O-neohesperidoside, kaempferol, quercetin-3-O-rutinoside, isorhamnetin-3-O-rutinoside, siringik asit, protokatekuik asit, apigenin, vanilik asit, rutin, gallik asit, hesperidin, kersetin, p-kumarik asit ve luteolin gibi fenolik bileşikler açısından da zengindir (Almeida-Muradian vd., 2005; Kocot vd., 2018; Roldán vd., 2011; Rzepecka-Stojko vd., 2015).

İçeriğindeki yağ asitleri de botanik kaynağına ve arıcılık sezonundaki mevsimsel değişikliklere göre farklılık göstermektedir. Lipit içeriğinin yaklaşık %3'ünü serbest yağ asitleri oluşturur. Bunların yaklaşık yarısı doymamış yağ asitlerden olup, linoleik (omega-6), linolenik (omega-3), palmitik, arkaik ve oleik asit oranları daha yüksektir. Ek olarak arı poleni, fosfolipidler ve fitosteroller (özellikle β -sitosterol, P-sitosterol ve terpenler) gibi esansiyel yağ asitlerini de içerir (Denisow ve Denisow-Pietrzyk, 2016; Komosinska-Vassev vd., 2015). Bingöl bölgesine ait 20 farklı arı poleni örneği kullanılarak yapılan bir çalışmada palmitik asit, stearik asit, oleik asit ve γ – linolenik asit, palmitoleik asit, linoleik asit, α – linolenik asit saptanmıştır (Karagözoğlu vd., 2012). Kurutulmuş arı polenin genel bileşimi ve gerekli günlük alım (RDI) değerleri Tablo 2.1'de gösterilmektedir (M. G. R. Campos vd., 2008).

Tablo 2.1. Arı poleninin bileşimi (M. G. R. Campos et al., 2008; Bogdanov, 2014)

Ana Bileşenler	g/100 g	15 g Arı Polen için % RDI
Karbonhidratlar (fruktoz, süktroz, glikoz, lifler)	13-55	1-4,6
Ham Lifler	0,3-20	0,3-18
Protein	10-40	5,4-22
Lipit	1-13	0,1-4
Vitaminler	mg/kg	
Askorbik asit (vitamin C)	70-560	2-15
β-karoten (provitamin A)	10-200	30-600
Tokoferol (vitamin E)	40-320	8-66
Niasin (B3)	40-110	7-20
Piridoksin (B6)	2-7	4-13
Tiamin (B1)	6-13	15-32
Riboflavin (B2)	6-20	12-42
Pantotenik asit (B5)	5-20	2-9
Folik asit	3-10	20-67
Biotin (H)	0,5-0,7	30-42
Mineraller	mg/kg	
Potasyum (K)	4000-20000	5-27
Fosfor (P)	800-6000	2-16
Kalsiyum (Ca)	200-3000	0,5-7
Magnezyum (Mg)	200-3000	2-23
Çinko (Zn)	30-250	10-79
Manganes (Mn)	20-110	15-85
Demir (Fe)	11-170	2-37
Bakır (Cu)	2-16	4-36

Esansiyel olmayan amino asit grubuna dahil olan prolin, bal arıları için uçuş enerjisi kaynağı olduğundan, dünyada toplanan tüm polen çeşitlerinde çoğunlukla baskın amino asittir. Türkiye’de deli bal elde edilen kovanlardan toplanan *Rhododendron ponticum* polenlerinde olduğu gibi, prolinin ağırlıklı olarak görülmediği bazı bölgelerin polenlerinde botanik özelliklerden kaynaklı baskın amino asit asparagin olarak bildirilmiştir (Ecem Bayram, 2021). Ana amino asit içeriğinde prolin, aspartik asit, fenilalanin ve glutamik asit, treonin, serin bulunan birçok polen türünün 20 çeşit amino asidin tamamını içerdiği tespit edilmiştir. Arı polenindeki esansiyel amino asitler histidin, lösin, izolösin, lizin, fenilalanin, metiyonin, valin, treonin, triptofandır. Arı polenindeki esansiyel olmayan amino asitler alanin, arginin, gama-aminobütirik asit, 3-Amino izobütirik asit, aminoadipik asit, aspartik asit, asparajin, sistein, etanolamin, glutamin, glisin, glutamik asit, sarkozin, homositrulin, sitrülün, prolin, serin, norlösin, ornitin, taurin, homoserin-Aminobütirik asit, tirozindir (Bayram vd., 2021; Ecem Bayram, 2021; Gardana vd., 2018; Negrão ve Orsi, 2018; Sommano vd., 2020; Taha vd., 2019; Thakur ve Nanda, 2018) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Arı poleninin amino asit bileşimi (Gönül, 2016)

Amino asitler	mg/g DM
Prolin	11,39-32,27
Aspartik asit	12,52-28,30
Glutamik asit	12,87-29,25
Treonin	5,01-12,49
Serin	6,34-13,26
Glisin	5,87-12,76
Valin	5,74-11,93
Metiyonin	1,45-4,52
Lösin	8,43-23,10
Fenilalanin	5,03-11,46
Alanin	6,80-12,94
Histidin	3,15-6,16
Tirozin	2,63-5,87
Lizin	9,53-21,14
Arginin	4,68-11,26
İzolösin	4,77-10,23

Arı poleni için bir diğer önemli parametre ise su içeriğidir. Taze arı poleni yaklaşık 20-30/100 g su içerir ve bu oran bakteri ve maya gibi birçok mikroorganizma için ideal bir kültür ortamı oluşturmaktadır. Bozulmayı önlemek ve maksimum kalitede arı poleni sağlamak için günlük olarak hasat edilmesi ve dondurucuda saklanması tavsiye edilir (M. G. R. Campos vd., 2010). Bunun yanı sıra, arı poleni genel olarak kurutulularak muhafaza edilip tüketilmektedir. Kurutulmuş arı polenin nem içeriği %6-8'dir ve bu oranın değişmesi durumunda arı poleninde bozulma ve besin değerinde kayıplar meydana gelmektedir. Bu nedenle arı polenin protein içeriğine ve uçucu bileşenlerine zarar vermemesi, enzimatik aktivitenin uygun düzeyde tutulması ve diğer besin bileşenlerinin muhafazası için uygun kurutma teknikleri tercih edilmelidir. Kurutulmuş ve temizlenmiş arı polenin raf ömrü, sıcaklıkla ters orantılı olarak değişmektedir. Örneğin oda sıcaklığında 1-2 ay, 5°C'de 1 yıl, -15°C'de uzun süre besin değerinde önemli bir kayıp olmadan saklanabilir. Ancak bazı çalışmalar normal kurutulmuş arı polenin oda sıcaklığında bir yıl süreyle saklanması arı polenin serbest radikal yakalama kapasitesini %50 oranında azaltacağını bildirmiştir (M. G. Campos vd., 2003). Ayrıca başka bir çalışma, arı polenin hem 42°C'de hem de 32°C'de kurutulmasından sonra vitamin kaybının meydana geldiğini göstermektedir. Araştırmaya göre her iki kurutma koşulunda da A, C ve E vitaminlerinin miktarları ortalama %31 oranında azaldı (M. G. R. Campos vd., 2010; Oliveira, 2017). Ayrıca raf ömrünü uzatmak amacıyla arı polenin koyu renkli cam şişelerde, karanlık ve serin yerlerde saklanması avantaj sağlar. Gelişen teknolojiler ve yeni yöntemler, arı polenin farklı yöntemlerle muhafaza edilmesi için imkanlar sunar. Arı polenin toz şekerle karıştırılarak muhafaza edilmesi, dondurulması, mikrodalgada kurutulması, vakum altında dondurulması ve sıcak hava ile kurutulması bu yöntemlerden bazılarıdır (Aydın, 2016; Bakkaloğlu, 2021; M. G. R. Campos vd., 2010; Kanar, 2017.; Kutlu, 2015).

2.1.3. Arı Poleninin Tedavi Edici Özellikleri

Fonksiyonel gıda, mevcut bileşenlerden bir veya birkaçını bünyesine katarak veya üretilebilecek benzer veya yeni biyomoleküller arasında sinerjistik aktivite göstererek sağlığın korunmasında, geliştirilmesinde veya hastalıkların önlenmesinde ek rol oynayan gıda olarak tanımlanabilir. Fonksiyonel gıdalar, beslenme fonksiyonlarını ve gereksinimlerini karşılamanın ötesinde fizyolojik faydalara sahip olduğundan ve/veya

kronik hastalık riskini en aza indirdiğinden günlük diyetin bir parçası olarak tüketilmektedir (Martirosyan ve Singh, 2015).

Arı poleni de besinsel ve biyomedikal özellikleri açısından büyük potansiyele sahip fonksiyonel bir gıdadır. Arı polenine olan ilgi, amino asitler, ω -3 yağ asitleri, B-kompleks vitaminleri, polifenoller, fenolik asit türevleri, polifenolik bileşikler, çoğunlukla flavonoid glikozitlerin mükemmel kaynağı olması ve insan sağlığı açısından faydalı özellikleri nedeniyle tüm dünyada hızla artmaktadır (Han vd., 2007; Khalifa vd., 2021; Thakur ve Nanda, 2020).

Doğada biyoaktif özelliğe sahip birçok bileşen bulunmaktadır. Bu bileşenlerin çoğu bitkiler tarafından ikincil metabolizma ürünleri olarak sentezlenir. Bitkiler, farmakolojik etkileri olan sınırsız aromatik ve alifatik maddeleri sentezleme yeteneğine sahiptir ve bu maddelerin çoğu fenolik bileşikler veya bunların oksijenle ikame edilmiş formlarıdır. Birçok durumda bu maddeler bitkilerin reaktif oksijen türlerine, moleküler hasar oluşumuna karşı savunma mekanizmasından sorumludur. Ayrıca bu maddeler mikroorganizmaların, böceklerin ve diğer zararlıların vereceği hasara karşı etkin rol oynamaktadır (Vaya vd., 1997).

Bitkiler tarafından sentezlenen diğer biyoaktif maddelerden bazıları glikozitler, organik asitler, tanenler, alkaloidler, uçucu yağlar, reçineli bileşikler, vitaminler ve antibiyotiklerdir (Ahıskaloğlu,2007). Bitkilerde tedavi edici özelliğe sahip olan etken maddeler bitkilerin çiçek, yaprak, tohum, meyve, kök, gövde ve kabuk gibi kısımlarında bulunmaktadır. Bitki tozları olan polenler de, bu biyoaktif maddelerden önemli miktarda içerir ve böylece bu maddelerin sağladığı biyoaktif özellikler dikkate alınarak, arı poleni değerli bir besin takviyesi olarak önerilmektedir (Bogdanov, 2014).

Arı poleni, içeriğinde bulunan çeşitli birincil ve ikincil metabolitler sayesinde antioksidan (Capparelli vd., 2023; Morais vd., 2011), antiinflamatuvar (Maruyama vd., 2010; Zhang vd., 2023), antikarsinogenik (Aylanc vd., 2023), antibakteriyel (Velásquez vd., 2017), hepatoprotektif (Yıldız vd., 2013) ve anti-aterosklerotik gibi çeşitli biyoaktivite özellikleri sergilemektedir (Rzepecka-Stojko vd., 2017).

Arı poleninin antioksidatif etkileri antioksidan enzimlerin, karotenoidlerin, fenolik maddelerin, E ve C vitamini ve glutatyon gibi ikincil bitki metabolitlerinin aktivitesi ile ilişkilidir (Carpes vd., 2007). Yapılan bir çalışmada, taze ve kurutulmuş arı polenlerinin antioksidan vitamin (A, C, E) düzeylerini belirlemek amacıyla Bingöl'ün beş farklı noktasına ait (Gökdere Köyü, Adaklı Merkez, Adaklı Şırnan Köyü, Karlıova Merkez, Karlıova Kanires) arı polenleri kullanılmış, arı poleni örneklerinin antioksidan vitaminlerini ihtiva ettiği, kurutulan arı polenlerinde ise bu miktarın daha düşük olduğu bildirilmiştir (Alayunt vd., 2012). Naringenin, rhamnetin-3-O neohesperidosid, isorhamnetin-3-O-rutinosid, isorhamnetin, kaempferol, quercetin-3-O-rutinoside, quercetin, quercetin-3-O-neohesperidoside, vanilik asit, protokatejik asit, kumarinik asit, gallik asit, apigenin, hesperidin, rutin ve luteolin arı polenine antioksidan aktivite kazandıran kritik ana fenolik bileşiklerdir (Han vd., 2007; Serra Bonvehí vd., 2001).

Arı poleni ayrıca kanser ve diğer çeşitli hastalıkların oluşumunda rol oynayan oksidan yapılarına karşı etkilidir. Antioksidan enzimlerin aktivitelerini uyarıp, hücre içi oksidatif stresi azaltarak, nitrik oksit ve peroksit radikallerini doğrudan temizler (Eraslan vd., 2009; Nakajima vd., 2009; Wan Omar vd., 2016). Arı poleninin içerdiği fenolik asitler ve flavonoidlerin kanser tedavisinin olumsuz etkilerini azaltmada rol oynadığı belirlenmiştir. Arı poleninin antikanser etkisi apoptozu uyarma, çoklu hücre hatlarında hücre çoğalmasını engelleme ve tümör büyümesini azaltma mekanizmalarına dayanmaktadır (Al-Yousef vd., 2020; Saisavoey vd., 2021; Wan Omar vd., 2016).

Çin tıbbında radyasyon kalkanı, kan oluşumu ve kanser inhibitörü olarak, şeker ve alkol isteğini azaltmak için kullanılmaktadır (M. G. Campos vd., 2003). Sisplatin ile intraperitoneal tedavinin karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında büyük bozulmaya neden olduğu bilinmektedir. Bu zararlı etki, bir lipit peroksidasyon belirteci olan MDA (Malondialdehit) ve INOS'un (İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz) konsantrasyonundaki önemli bir artışın yanı sıra seçilen antioksidan enzimlerin aktivitelerinin önemli ölçüde tükenmesi ile açıklanmıştır. Uygun dozlarda alınan arı poleninin bu zararı önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Huang vd., 2017). Başka bir çalışma ise, Lotus (*Nelumbo nucifera*) arı poleninin apoptozu indükleyebildiğini ve insan prostat kanseri hücreleri olan PC-3'ün çoğalmasını engelleyebildiğini bildirmiştir (Tuoheti vd., 2020). Arı poleni flavonoidler (pinokembrin, quercetin, apigenin, kaempferol vb) ve fenolik asitler (p-

kumarik asit, ferulik asit vb) ve glukoz oksidaz gibi enzim varlığı sayesinde antibakteriyel ve antifungal etki gösterir (Kacániová vd., 2012; Kačániová vd., 2013; Pascoal vd., 2014). Türkiye arı polenlerinin 13 farklı bakteri türüne (*Agrobacterium tumefaciens*, *A. vitis*, *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*, *E. carotovora pv. carotovora*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas corrugata*, *P. syringae pv. Phaseolicola*, *P. savastanoi pv. savastanoi*, *Ralstonia solanacearum*, *P. syringae pv. tomato*, *P. syringae pv. Syringae*, *Xanthomonas campestris pv. campestris* ve *X. axonopodis pv. vesicatoria*) karşı etkisinin incelendiği çalışma sonuçlarına göre, Türk arı poleni ekstraktının, tüm patojenlere karşı inhibitör etkiye ve bazı bakteriyel patojenlerin tohumlar yoluyla bulaşması nedeniyle tohum koruyucu olma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Basim vd., 2006). Arı poleni ayrıca patojenik *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* ve *Escherichia coli*'ye karşı antimikrobiyal özellikler sergilemektedir (Fatrcová-Šramková vd., 2013).

Arı polenin antiinflamatuvar aktivitesi, inflamasyonun gelişiminde rol oynayan siklooksijenaz II ve lipoksijenaz gibi enzimlerin aktivitesinin inhibe edilmesinin bir sonucudur. Arı polenin antiinflamatuvar özelliklerinden fenolik asitler, yağ asitleri ve fitosteroller sorumludur (Komosinska-Vassev vd., 2015).

Arı polenin cilt hastalıkları üzerindeki faydalı etkisi eski çağlardan beri bilinmektedir. Arı poleni hasarlı dokuları yenileyebildiğinden ve yanık iyileşmesindeki granülasyon sürecini desteklediğinden, yanık tedavisinde polen ekstraktlı merhem topikal uygulamada kullanılmaktadır. Arı poleni kozmetikte %0,5-5 konsantrasyonunda kullanılan bir etken maddedir (Basista ve Sodzawiczny, 2011). Yüksek flavonoid içermesinden dolayı cilt dokusu üzerinde belirgin etki sağlar. Yüksek C vitamini içeriği ile kılcal damarları güçlendirir ve bu nedenle krem içeriklerinde yer alır (Kroyer ve Hegedus, 2001). Ayrıca şampuan ve saç kremi üretiminde de kullanılmaktadır. Arı poleni, mantar oluşumunu sınırlamak, saç derisindeki kaşıntıyı durdurmak, saçı nemlendirmek, yumuşatmak ve saça yenileyici etkiler sağlamak gibi işlevleri nedeniyle kepek önleyici şampuanların formülasyonunda bulunmaktadır. Kükürt içeren amino asitler, özellikle sistein, saç telini güçlendirir. Arı poleni, çinko, metiyonin ve fosfolipidlerin varlığı nedeniyle yağ bezlerinin aktivitesini normalleştirir. Arı polenin çeşitli özellikleriyle zenginleştirilmiş omega-3 ve omega-6 asitleri içeren preparatlar, atopik ve hassas ciltlerin ve yara izlerinin kalıcılığına

2.2.1. Koenzim Q10'un Tarihçesi

Koenzim Q ilk olarak 1955'te Festenstein ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir (Overvad vd., 1999; Turunen vd., 2004). 1957 yılında Winconsin Üniversitesi'nde mitokondriyal elektron transferi/solunum zincirinin biyokimyasal çalışması sırasında Dr. Frederick Crane tarafından sığır kalbinin mitokondrisinden izole edilmiş ve doğruluğu kanıtlanmıştır. Aynı yıl Prof. Morton, KoQ10'un sıçan karaciğerinde A vitamini ile aynı yapıda olduğunu bulmuştur (Nohl vd., 2001). Buna her yerde bulunan kinonlar anlamına gelen 'Ubiquinone' adını vermiştir (Langsjoen, 1994; Bonakdar and Guarneri 2005). 1958 yılında Prof. Karl Folkers ve arkadaşları Merck KoQ10'un kimyasal yapısını yani 2,3 dimetoksi-5-metil-6 dekaprenil benzokinonu bulmuştur (Langsjoen, 1994).

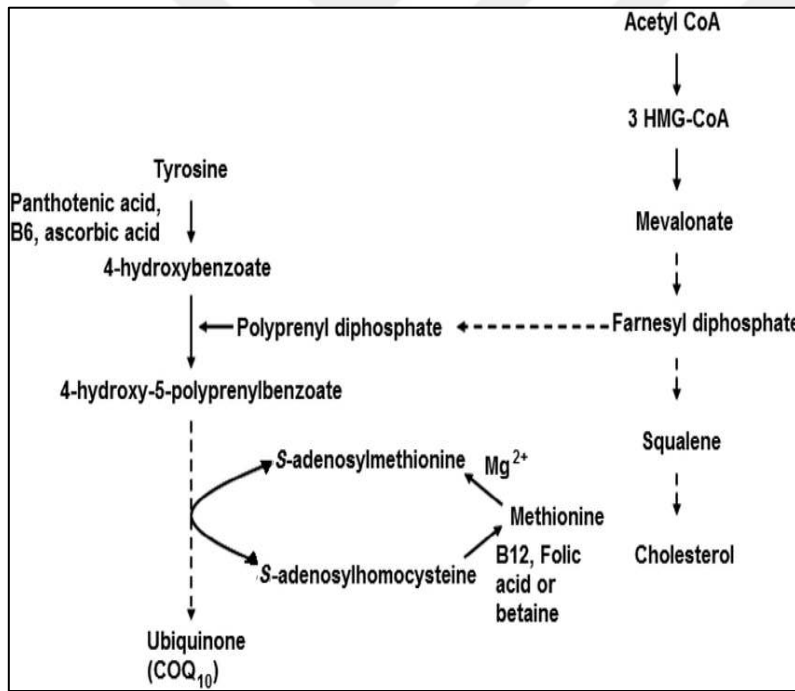
1960'ların ortalarında Prof. Yamamura, KoQ7'yi ilk kez bir insan hastalığı olan konjestif kalp yetmezliğinde kullanmıştır. 1966'da Mellors ve Tappel KoQ6'nın antioksidan etkisini göstermiştir. 1972'de Gian Paolo ve Prof. Karl Folkers, KoQ10'un insan kalp hastalıklarındaki etkisini yayınlamıştır. 1970'lerin ortalarında Japon teknolojisi, klinik deneylerde kullanılmak üzere saf KoQ10'u elde etmiştir. 1978'de Peter Mitchell, KoQ10'un biyolojik enerji transferindeki rolünü kanıtladığı için Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür (Nohl vd., 2001). 1980'lerde ise KoQ10 ile ilgili klinik çalışmaların sayısında ve kapsamında büyük bir artış olmuştur. Bu artış büyük ölçüde Japonya'daki ilaç şirketlerinin büyük miktarlarda saf KoQ10 elde edebilmesi ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile doku ve kanda KoQ10'u ölçebilmesinden kaynaklanmıştır (Nohl vd., 2001; Langsjoen, 1994). 1990'lı yıllardan bu yana KoQ10'un potansiyel sağlık yararları, çözünürlüğü ve biyoyararlılığı üzerine çalışmalar hızlanmıştır (Greenlee vd., 2012; Q. Liu vd., 2022; Mazandaran ve Khodarahmi, 2021; Nepal vd., 2010; Overvad vd., 1999; Thanatuksorn vd., 2009; L. Yang vd., 2022; Yu vd., 2023).

2.2.2. Koenzim Q10'un Biyosentezi

Koenzim Q10 sentezi endoplazmik retikulumda başlar, golgide tamamlanır ve daha sonra hücredeki diğer lokalizasyonlara dağılır. Koenzim Q10'un biyosentezi üç ana adımdan oluşur: İlk olarak, halka şeklindeki benzokinon, esansiyel amino asitler, tirozin veya fenilalanin senteziyle oluşturulur. Daha sonra mevanolat yolu ile Asetil CoA atıklarından izoprenoid yan zinciri oluşturulur ve son olarak KoQ10, bu yapıların golgideki poliprenil-

transferaz enzimi ile birleştirilmesiyle oluşturulur (Acosta vd., 2016; Díaz-Casado vd., 2019; Hargreaves vd., 2020). KoQ10'un biyosentezi HMG-CoA redüktaz, trans-prenil-transferaz, farnesil-protein transferaz gibi enzimlerle dokuz adımda gerçekleşir ve folik asit, niasin, riboflavin ve piridoksin gibi birçok eser element ve vitamin gerektirir (Kawamukai, 2002; Santos vd., 2009; Turunen vd., 2004).

KoQ10 en çok iç mitokondri zarında bulunur ve mitokondrinin ana yapı taşlarından biridir. Sınırlı miktarda KoQ10 fazlası hücre zarından kana geçer ve plazma lipoproteinlerine bağlanır (Alcázar-Fabra vd., 2016). KoQ'nun hücre zarlarında ve zarın hidrofobik kısmında heterojen, stabil bir "havuzda" bulunduğu düşünülmektedir (Kowaltowski ve Vercesi, 1999). Şekil 2.6 insan hücrelerinde KoQ10 biyosentezi göstermektedir (Santos vd., 2009).



Şekil 2.6. KoQ10'un biyosentez yolu (Santos vd., 2009)

2.2.3. Koenzim Q10'un İşlevleri

KoQ10, hücrede enerji üretimi sırasındaki anahtar enzimatik reaksiyonlarda önemli bir işlev görür. Koenzim Q10'un bilinen ilk ve önemli rollerinden biri hücrede enerji üretimidir. KoQ10'nun ilk olarak 1957'de mitokondriyal elektron taşıma zincirinin önemli

bir bileşeni olduğu gösterildi. KoQ10, elektron taşıma zincirindeki oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarında yer alan bazı enzimler için bir koenzimdir. Koenzim görevi görürken yapısındaki kinon halkasına elektron ve protonları ($2H^{++}+2e^{-}$) ekleyerek hidroksikinona dönüştür. Yapısındaki kinon grubu KoQ10'a elektron taşıyıcı özelliğini kazandırır. KoQ10 ayrıca bu dönüşümle elektron transferi/proton translokasyonu görevini de yerine getirir (Overvad vd., 1999; Turunen vd., 2004).

Çok kritik ve önemli bir biyolojik enerji olan adenosin trifosfatın (ATP) büyük bir kısmı, KoQ10'un bulunduğu mitokondri iç zarında üretilir. Solunum zincirindeki elektronların kompleks I (nikotinamid adenin dinükleotid dehidrojenaz) ve kompleks II'den (süksinat dehidrojenaz) kompleks III'e (ubikinon - sitokrom c redüktaz) taşınmasını sağlar (Acosta vd., 2016; López-Lluch vd., 2010; Varela-López vd., 2016). Bu sırada ATP üretilir ve dolayısıyla koenzim Q10 hücrel enerji üretiminde kofaktör görevi görür (Crane, 2001; Overvad vd., 1999).

KoQ10'un diğer temel işlevlerinden biri de antioksidan özelliğidir (López-Lluch vd., 2010). KoQ10 endojen olarak sentezlenen ve yağda çözünen tek vitamin benzeri antioksidandır. Özellikle indirgenmiş formunun yağda çözünen önemli bir antioksidan olduğu gösterilmiştir. KoQ10, membranlardaki doymamış lipid zincirlerine yakın konumda bulunur ve serbest radikallerin ana temizleyicisi olarak görev yapar. Konumu nedeniyle membranda üretilen serbest radikallerin komşu lipid ve protein molekülleri ile reaksiyona girmesini engeller (Bentinger vd., 2010; Crane, 2001; Frei vd., 1990; Navarro vd., 1999; Toprak ve Ayaz., 2019). Aynı zamanda DNA (deoksiribonükleik asit) oksidasyonunu da etkili bir şekilde önler. Öte yandan koenzim Q10'un indirgenmiş formu olan ubikinol, oksijen türevi radikaller ve singlet oksijen ile etkileşime girerek lipid peroksidasyonunu ve biyomoleküllerin zarar görmesini önler. (Bentinger vd., 2010; Bonakdar ve Guarneri, 2005).

Ayrıca KoQ10'nun antioksidan görevi gören bazı vitaminlerle etkileşime girdiği de bildirilmektedir (López-Lluch vd., 2010). Rejenerasyonuna askorbik asit ve α - tokoferol gibi diğer antioksidanların da katıldığı, KoQ10 yokluğunda α - tokoferol rejenerasyonunun yavaşladığı belirtilmektedir (Bello vd., 2003; Sohal ve Forster, 2007). Antioksidan vitaminlerin yeterince alınamadığı veya beslenme yetersizliği gibi bazı fizyolojik

durumlarda vücuttaki endojen sentezinin antioksidan savunma sistemi için önemli olduğu ifade edilmiştir. E vitamini ve selenyum gibi antioksidanların eksikliğinin KoQ10 ile tedavi edilebildiği bilinenler arasındadır (Alcázar-Fabra vd., 2016; Toprak ve Ayaz, 2019).

KoQ'nun diğer önemli fonksiyonları, mitokondriyal UCP (eşleşme bozucu proteinler) aktivasyonu, mitokondriyal PTP (geçirgenlik geçiş gözenekleri) üzerindeki etkisi, lenfositler ve monositler üzerindeki etkisi, endotel fonksiyonu, hücre sinyali ve gen ekspresyonu üzerindeki etkisidir (Echtay vd., 2000; Jabûrek ve Garlid, 2003). Bunların yanı sıra koenzim Q10, antioksidan (Çolak ve Uysal, 2017), anti-kanser (Tafazoli, 2017), antidiyabetik (Gholami vd., 2018), kalbi koruyucu (X. Zhang vd., 2018), nöroprotektif özellikler (Attia ve Maklad, 2018), yaşlanma karşıtı (Ayunin vd., 2022), retina hasarına karşı (Siddiqui ve diğerleri, 2023), insanda kısırlığa karşı (Alahmar ve Naemi, 2022) ve böbrek hastalıklarına (Rivara vd., 2017) karşı sağlığı geliştirici özelliklere sahip bir benzokinondur.

2.2.4. Gıdalarda Koenzim Q10 ve Biyoyararlılık

KoQ10 gereksinimi endojen biyosentez ve ekzojen diyet alımı olmak üzere iki kaynaktan sağlanır (Pravst vd., 2010). KoQ10 tüm hayvansal ve bitkisel gıdalarda farklı oranlarda bulunmakta (Podar vd., 2023), ancak hayvansal ürünlerde en yüksek miktarlarda bulunmaktadır (Podar vd., 2023). Kümes hayvanları, kırmızı et ve balık gibi et ürünleri en zengin kaynaklardır. Kalp, beyin, karaciğer, dalak ve böbrek ise KoQ10 düzeyleri yüksek olan organlardır (Ercan ve El, 2011; Overvad vd., 1999; Tobin vd., 2014; Villanueva-Bermejo ve Temelli, 2021). Öte yandan süt ve süt ürünleri, hayvansal kökenli olmalarına rağmen genellikle iyi bir KoQ10 kaynağı olarak dikkate alınmamaktadır (Manzi ve Durazzo, 2015; Podar vd., 2023). Yumurtada, arı poleninde, bitkisel bazlı ürünlerde de önemli miktarda KoQ10 bulunur (Pyo, 2010; Turkowicz ve Karpínska, 2013; Xue vd., 2012).

Koenzim Q10 içeren gıdalar zengin (20 µg/g'dan fazla) ve daha az zengin (20 µg/g'dan az) olmak üzere iki farklı kategoride değerlendirilebilmektedir (Kagan ve Quinn, 2001). Tablo 2.3 bazı gıdaların KoQ10 içeriğini göstermektedir. Araştırmalarda genellikle HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi), HPLC/ESI-MS/MS (yüksek performanslı sıvı

kromatografisi-elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi-tandem kütle spektrometrisi), CEFS (cary eclipse floresans spektrometresi), HPLC/APCI-MS (yüksek performanslı sıvı kromatografisi-atmosferik basınç), DPV (diferansiyel darbe voltametrisi) ve CV (döngüsel voltametri) gibi teknikler KoQ10 içeriğini belirlemek için kullanılmaktadır (Podar vd., 2023).

Tablo 2.3. Bazı gıdaların KoQ10 içeriği (Podar vd., 2023)

Gıda Kaynakları	KoQ10 miktarı (µg/g)	Referanslar
Hayvansal Kaynaklar		
Ren geyiği eti	157,9 µg/g	(Mattila ve Kumpulainen, 2001)
Domuz kalbi	128,7 µg/g	(Niklowitz vd., 2013)
Domuz ciğeri	53,6 µg/g	(Niklowitz vd., 2013)
Sığır kalbi	110,0 µg/g	(Ercan ve El, 2011)
Sığır karaciğeri	50,5 µg/g	(Kubo vd., 2008)
Tavuk eti	12,3 µg/g	(Li vd., 2016)
Tavuk kalbi	192,0 µg/g	(Kubo vd., 2008)
Kuzu eti	14,7 µg/g	(Purchas vd., 2004)
Ringa balığı kalbi	134,2 µg/g	(Souchet ve Laplante, 2007)
Somon eti	5,7 µg/g	(Kubo vd., 2008)
Tavuk yumurtası	1,2 µg/g	(Mattila ve Kumpulainen, 2001)
Tam yağlı süt	0,30 µg/g	(Mandrioli vd., 2017)
Yoğurt	2,4 µg/g	(Mattila ve Kumpulainen, 2001)
Peynir	1,4 µg/g	(Kubo vd., 2008)
Arı poleni	21,9 µg/g	(Xue vd., 2012)
Kayısı arı poleni	87,2 µg/g	(Xue vd., 2012)
Çay arı poleni	3,7 µg/g	(Xue vd., 2012)
Karışık arı poleni	9,4 µg/g	(Xue vd., 2012)
Bitkisel Kaynaklar		
Ispanak	13,5 µg/g	(Román-Pizarro vd., 2017)
Brokoli	11,3 µg/g	(Li vd., 2016)
Avokado	24,3 µg/g	(Román-Pizarro vd., 2017)
Yer fıstığı	25,5 µg/g	(Román-Pizarro vd., 2017)
Antep fıstığı	22,2 µg/g	(Román-Pizarro vd., 2017)
Antep fıstığı	42,16 µg/g	(Aydoğan vd., 2023)
Zeytin yağı	1,3 µg/g	(Pyo, 2010)

Tablo 2.3. (Devam) Bazı gıdaların KoQ10 içeriği (Podar vd., 2023)

Gıda Kaynakları	KoQ10 miktarı (µg/g)	Referanslar
Bitkisel Kaynaklar		
Badem	5,0 µg/g	(Mattila ve Kumpulainen, 2001)
Susam yağı	31,5 µg/g	(Pyo, 2010)
Kiraz	14,5 µg/g	(Li vd., 2016)
Portakal	3,9 µg/g	(Li vd., 2016)

Biyoyararlılık, gıda sindirimi yoluyla alınan bileşiğin metabolik ve fizyolojik işlevler için kullanılan veya depolanan kısmı olarak tanımlanır. Kısaca ifade edilecek olursa biyoyararlılık, gıdadaki bileşiğin sindirim kanalında emilen miktarıdır. Emilim, ince bağırsağın villusunda gerçekleşir. Villus üzerindeki epitel hücreler, emilim hücreleri olarak görev yapar. Biyoyararlanım hem beslenme düzeninden hem de bununla ilişkili faktörlerden etkilenir. Besinin fiziksel özelliği, kimyasal bileşimi ve bireysel sindirim kapasitesi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Sandström, 2001). İnsanlarda fizyolojik etki gösterebilmesi için de besinlerle alınan KoQ10'un önemli bir kısmının emilmesi gerekmektedir. KoQ10, izoprenoid yan zinciri nedeniyle oldukça lipofiliktir ve büyük molekül kütesine (836.36 Da) sahip bir madde olduğundan, zayıf emilebilir bir bileşiktir (Schulz vd., 2006; Xia vd., 2006). KoQ10 yağda çözünen bir bileşen olduğundan emilimi, günlük diyetle yağ veya yağ bakımından zengin öğünler tarafından kolaylaştırılır (Saini, 2011; Žmitek vd., 2008). Genel olarak yararlı bir etki elde etmek için 100-200 mg/gün seviyelerinde KoQ10 alımı tavsiye edilir, ancak kronik hastalıkların tedavisinde 1200 mg/güne kadar da kullanılabilir (Tobin vd., 2014).

Doğumdan itibaren 20-30 yaşına kadar kan ve dokudaki KoQ10 miktarı en yüksek seviyelere ulaşmaktadır (Sohal ve Forster, 2007). KoQ10'un doku eksiklikleri veya normalin altındaki serum seviyeleri, birincil KoQ10 eksiklikleri ve mitokondriyal hastalıklar gibi ikincil KoQ10 eksiklikleri dahil olmak üzere çok çeşitli hastalıklara neden olduğu rapor edilmiştir (Emmanuele vd., 2012; Sacconi vd., 2010). Ayrıca şiddetli KoQ10 eksikliğinde ensefalomiyopati, ciddi infantil multisistemik hastalık, serebellar ataksi, büyüme geriliği olan Leigh sendromu ve izole miyopati görülmüştür (Quinzii vd. 2007). KoQ10 eksikliği,

- (i) beslenme yetersizliklerine bağılı olarak KoQ10 sentezinin bozulması (örneğin, KoQ10 biyosentezi için gerekli bir kofaktör olan B6 vitamini eksikliği),
- (ii) KoQ10'un sentezinde veya kullanımında genetik veya edinilmiş bir kusur veya
- (iii) belirli bir hastalıktan kaynaklanan artan doku ihtiyaçları gibi nedenlerden kaynaklanabilmektedir (Garrido-Maraver vd., 2014).

2.3. Minyatürleştirilmiş Sıvı Kromatografisi

Kromatografi, bir karışımdaki bileşiklerin karışmayan iki faz arasındaki dağılımlarına göre ayrılmasını sağlayan fiziksel bir ayırma ve saflaştırma tekniğidir. Bu aşamalardan biri gözenekli bir yatak, tabaka veya film formundaki sabit fazdır; diğeri ise sabit faz üzerinden akan hareketli fazdır (Konak vd., 2014). Hareketli fazın sıvı ve sabit fazın katı olması durumunda sisteme sıvı kromatografisi (LC) adı verilir (Martin ve Synge, 1941). LC, çok sayıda benzer analit içeren karışımları ayırıştırıcı güçlü bir ayırma tekniğidir. LC'de numune, sabit fazı içeren bir kolona pompalanır ve seçilen mobil faz ile sabit faz arasında ayrılır. Analitler, mobil fazdaki konsantrasyonlarının Gauss dağılımına sahip pikler olarak ortaya çıkar (Aydoğan, 2020).

20. yüzyılın ilk yarısında, sıvı kromatografisinin geliştirilmesine yönelik çabalar sarf edilmiş ancak daha sonraki dönemlerde analitik kolona yerleştirilen küçük katı parçacıkların oluşturduğu yüksek geri basınç, teknolojik sınırlamalar nedeniyle ortadan kaldırılamamıştır. Sonuç olarak gelişimde yavaşlama meydana gelmiştir (Vasconcelos Soares Maciel vd., 2020). 21. yüzyılda analitik sistemlerle ilgili minyatürleştirilmiş sıvı kromatografide bir atılım yaşanmış ve teorik, teknolojik ve metodolojik çalışmalarda sıklıkla bahsedilen LC cihazının minyatürleştirilmesinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (Aydoğan vd., 2020). Konvansiyonel kromatografide kullanılan sabit faz, hareketli faz ve ayırma mekanizmalarının (pompa, enjektör, kolonlar, detektör) aynısı, konvansiyonel kromatografiye benzer prensiplere sahip olan mikro akış kromatografi tekniklerinde de gerçekleştirilebilmektedir. Ancak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi konvansiyonel LC'den farklı olarak sistemde çok ince iç çaplı kolonların bulunması nedeniyle özel bir kolon sistemi ve dolayısıyla pompa ve dedektör sisteminin kullanılması gerekmektedir (Fanali, 2017). Minyatürleştirme tekniği ile ilgili olası tüm problemlerin çözümü ve pratik uygulamasına yönelik çalışmalar devam etmiş ve bugünkü halini almıştır

(Vasconcelos Soares Maciel vd., 2020). Minyatürleştirilmiş LC teknikleri kapiler elektroforez, kapiler LC, nano-LC, elektro kromatografi, mikro LC, çip LC, açık tubular LC, piko LC vb. şeklinde sınıflandırılabilir. Bu tekniklerin daha etkili ayırma verimliliği, daha kısa analiz süresi, daha az akış hızı ve solvent tüketimi, kütle spektrometrelerine uygunluğu nedeniyle konvansiyonel LC'ye kıyasla önemli ayırt edici özellikleri mevcuttur (Aydoğan, 2019). Minyatürleştirme tekniği özellikle analitik kimyada (Casado vd., 2020; Echevarría vd., 2019), gıdalarda (Chen vd., 2022; H.-Y. Liu vd., 2016), farmasötikler (Atia vd., 2023; Kranendijk vd., 2005), adli tıp alanında (Jornet-Martínez vd., 2021), tarım (Aqai vd., 2011; Guo vd., 2020) ve çevresel analizlerde (Magrini vd., 2016; Murray vd., 2018) en popüler uygulamalardan biri olmuştur.

2.4. Nano-LC

Karlsson ve Novotny, ilk olarak 1988 yılında HPLC'de bazı değişiklikler yaptıktan sonra nano sıvı kromatografisini tanıtmıştır (Karlsson ve Novotny, 1988). Nano-LC peptitler (Fukao vd., 2013), proteinler (Aydoğan vd., 2023; Gao vd., 2022), enantiyomerler, antibiyotikler (Demir ve Aydoğan, 2022; Hsieh vd., 2009), nutrasötikler (Contreras vd., 2015), ilaçlar (Aydoğan ve El Rassi, 2019), pestisitler (Moreno-González vd., 2017) gibi çok sayıda bileşiğin ayrışmasında ve analizinde uygulanan minyatürleştirilmiş sıvı kromatografi teknikleri arasında en popüler trendlerden biri haline gelmiştir.

HPLC sistemine benzer şekilde, nano-LC'de de mobil faz bir pompa ile iletilir ve analitlerin ayrıştırılması, analitlerle uyumlu sabit faz içeren fused silika kapiler kolon aracılığıyla gerçekleştirilir. Burada genel olarak aynı mekanizmayı gerçekleştiriyor gibi görünse de nano-LC, HPLC'den ayrılan bazı kritik özelliklere de sahiptir (Fanali, 2017). Nano-LC'nin başlıca (i) önemli ölçüde farklı numune hazırlama prosedürleri aralığı, (ii) küçük kolon kimliği, (iii) azaltılmış solvent tüketimi ve minimum düzeyde üretilen atık miktarı, (iv) yüksek çözünürlük ve ayırma verimliliği, (v) yeşil kimya sağlama, (vi) düşük işletme maliyeti ve çevre dostu teknik, (vii) hızlı analiz, (viii) enerji tasarruflu ve (ix) MS, NMR, floresans gibi dedektörlerle uyumlu olması gibi avantajlara sahiptir (Aydoğan vd., 2022). Bağlantıların, kolonların, pompaların, enjeksiyon döngüsünün ve algılama arayüzünün tüm geleneksel enstrümantasyonu, düşük miktar ve karşı basınç için minyatürleştirilmiştir. Bu parametreler nano-LC'nin kromatografik verimliliğini büyük

ölçüde etkileyerek nano-LC’de başarılı ayırma, etkili kolon seçiciliği ve yüksek çözünürlük piklerini sağlar (Gama vd., 2013).

2.4.1. Pompa

Minyatürleştirilmiş LC sistemleri gibi yeni geliştirilen sistemleri tasarlarken, pompa ağırlığı, güç tüketimi, eğim ve akış hızının stabilitesi ve tekrarlanabilirliği, geniş bir basınç ve akış hızı aralığı, düşük basınç ve akış hızı, karmaşıklık ve minimum algılanabilir gürültü seviyesi gibi temel parametrelerin artıları ve eksileri dikkatli bir şekilde ele alınır. (Takeuchi, Tatsumi vd., 2003). Genellikle LC sistemlerinin kalbi olarak kabul edilen pompa, ayırma sırasında tekrarlanabilir ve kararlı nano akış hızı sunması, eş zamanlı olarak numunenin kolon içerisinde hareket etmesini sağlaması ve nano ölçekli seviyelerde gradyan elüsyonuna izin vermesi nedeniyle nano-LC sisteminde oldukça önemlidir (Lynch vd., 2018; Yandamuri ve Dinakaran, 2015).

Nano-LC’de 500 nL/dk ve daha düşük debileri sağlamak için split ve splitsiz pompa olarak iki ana sistem bulunmaktadır. Pompa ile nano kolon arasında bir akış sınırlayıcı olarak uygulanan bölünmüş sistemler, geleneksel HPLC pompasından yüksek akışları (mL/dk) bölerek, pompa ile nano kolon arasında kolayca oluşturulmuş bir nano akış sınırlayıcıyla geleneksel HPLC pompalarının kullanılmasına olanak tanır (Rieux, 2011). Bununla birlikte bölünmüş sistemler, değişken bölünme oranları yüksek olduğunda veya gradyan solvent karışımlarının değişen viskozitesinden dolayı akış dalgalanmaları olduğunda tekrarlanamayan sonuçlar ortaya çıkmasına sebep olur (Takeuchi, Tatsumi vd., 2003). Bölünmüş sistemlerden kaynaklanan bu problemler nedeniyle nano sıvı kromatografi sistemlerinde şırınga veya elektroozmotik pompalar yardımıyla bölünmemiş akış yolları tercih edilmektedir. Şu anda nano-LC’de bölünmez sistemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sistemler solvent kayıplarını önleyerek daha tekrarlanabilir nano akış hızları sağlar. Sistem bütünlüğü içinde akışı zamanında iten pompalar genellikle 50 ile 400 bar arasında değişen pompa basınçlarına sahiptir. Kolonun neden olduğu sistem karşı basıncı, gerekli pompalama basıncını belirler. Ayrıca hem parçacık çapı hem de kolon yarıçapı, geri basınca katkıda bulunan ana faktörlerdir (Lynch vd., 2018).

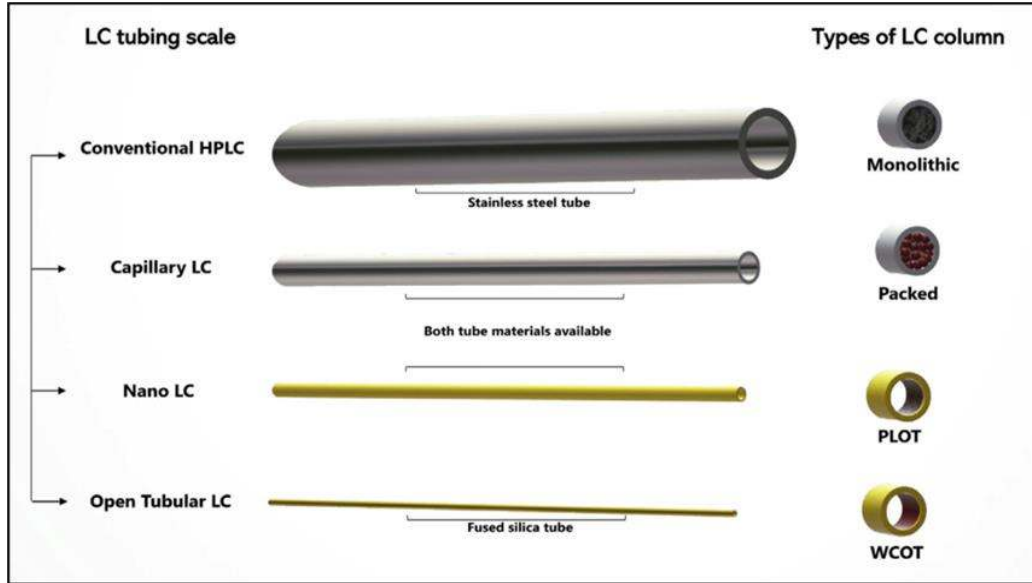
2.4.2. Kolon

Minyatürleştirilmiş LC sisteminde kullanılan kolonlar, iyi kromatografik ayırma sonuçları elde etmek için büyük fırsatlar sunmaktadır. Tablo 2.4, kromatografik teknikte kullanılan kolonların iç çapları (i.d.) ve akış hızları arasındaki farkları göstermektedir. 10-150 μm arasında iç çapa sahip fused silika kapilerlerden hazırlanan bu kolonlara genel olarak nano kolonlar adı verilmektedir (Vasconcelos Soares Maciel vd., 2020). Küçük i.d'ye sahip dar nano kolonların performansı sayesinde nano-LC'de düşük miktarda mobil faz tüketilir ve dolayısıyla minimum solvent atığı üretilir (Lynch vd., 2018). Örneğin, 1 mL/dk akış hızında, günde 24 saat ve yılda 360 gün çalışan geleneksel bir LC sistemi 500 L solvent tüketirken, iç çapı 100 μm 'den küçük bir kolona sahip bir nano-LC sistemi, sürekli olarak 400 nL/dk akış hızında çalışırsa bir yıl boyunca 200 mL atık solvent üretir (Asensio-Ramos vd., 2017).

Tablo 2.4. Sıvı kromatografi sistemlerine göre kolon tipi ve akış hızları (Vasconcelos Soares Maciel vd., 2020)

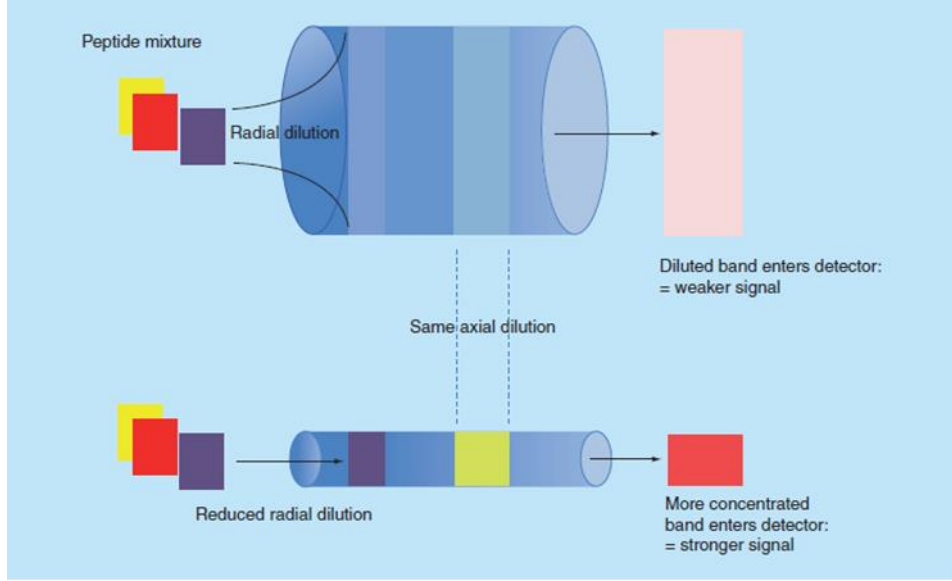
Kolon i.d. (mm)	Akış Hızı (mL min ⁻¹)	Sistem
4,6-3,2	2,0-0,5	HPLC
3,2-1,5	0,5-0,1	Mikrobor LC
1,5-0,5	0,1-0,01	Mikro LC
0,5-0,15	0,01-0,001	Kapiler LC
0,15-0,01	0,001-0,0001	Nano-LC
0,05-0,005	<0,0001	Açık Tubular LC

Şekil 2.7, bazı minyatürleştirilmiş LC modlarının ortak analitik kolonlarının açıklayıcı bir temsilini göstermektedir. Böylece, daha küçük kolon iç çapı ve akış hızı nedeniyle solvent tüketiminde ve atık üretiminde yaklaşık bin kat azalma sağlayan nano-LC, toksik ve zararlı kimyasallardan kaynaklanan çevre kirliliğini önler ve geleneksel LC'ye kıyasla daha çevre dostu bir yaklaşım geliştirir (Blue vd., 2017).



Şekil 2.7. Bazı LC modlarının analitik kolon türleri (Vasconcelos Soares Maciel vd., 2020)

Kolon i.d'yi düşürmenin bir diğer temel avantajı, azaltılmış numune hacminin bile enjeksiyon olasılığını kolaylaştırması ve elüt edilecek bileşiklerin konsantrasyonunu arttırmasıdır (Şekil 2.8). Ayrıca elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi (ESI-MS) gibi konsantrasyona duyarlı dedektörlerle birleştirilerek duyarlılığın arttırılmasına da izin verilebilir. Bu özelliği sayesinde nano-LC, omiks (proteomik, gıdaomik, metabolomik, genomik, lipidomik), point-of-care analiz (adli bilim, ulusal güvenlik, tıp, biyotıp vb.) ve kiral ayırma gibi alanlarda sınırlı hacimli analitlerin ayrılmasında mükemmel bir alternatif ve yüksek hassasiyetli sonuçlar sağlar (Røberg-Larsen vd., 2021; Vasconcelos Soares Maciel vd., 2020; Wilson vd., 2019). Ek olarak, i.d'si küçültülmüş kolonların bir başka katkısı da, analitik performansı artırmak için sıcaklık kontrolünün kullanılmasına olanak tanıyan küçük i.d. sayesinde iyileştirilmiş ısı dağılımıdır (de Toffoli vd., 2018).



Şekil 2.8. Geleneksel kolon ile minyatür kolon arasındaki kromatografik seyreltme farklılıklarına örnek (Wilson vd., 2015)

Kromatografik ayırma işlemi sırasında numune hem daha küçük iç çaplı kolon hem de düşük mobil faz kullanımı nedeniyle seyreltmeye tabi tutulur. Numune kolona enjekte edildiğinde kolonun sonundaki numunenin kromatografik seyreltmesi (D) aşağıdaki denklemle hesaplanabilir (2.1).

$$D = \frac{\varepsilon \pi r^2 (1+k) \sqrt{2\pi L H}}{V_{inj}} = \frac{c_0}{c_{max}} \quad (2.1)$$

burada c_0 bir numunedeki başlangıç bileşik konsantrasyonunu, c_{max} maksimum zirvedeki son bileşik konsantrasyonunu, ε kolonun gözenekliliğini, r kolonun yarıçapını, L kolon uzunluğunu, k tutma faktörünü, H plaka yüksekliğini ve V_{inj} enjekte edilen numune hacmini ifade eder (Saito vd., 2004; Vissers, 1999). Bu denklemden de görülebileceği gibi tutarlı bir kromatografik seyreltme sağlamak için en önemli parametre kolon yarıçapıdır. D , kolon yarıçapının karesi ile orantılı olarak azalırken, sistemin küçültülmesi sırasında ayırma performansı korunur. Böylece kolonun i.d'sinin ölçeğinin 4,6 mm'den düşük ölçek aralığına çekilmesi, hassasiyette neredeyse 8500 kat artışla sonuçlanmaktadır (Asensio-Ramos vd., 2017; Aydoğan, 2019). Ayrıca, bir kılcal kolonun verimliliği, teorik bir plakaya eşdeğer yüksekliğin veya plaka yüksekliğinin (H), aşağıdaki denklemle doğrusal hıza göre çizildiği van Deemter denklemi ile tanımlanır (2.2).

$$H = A + \frac{B}{\mu} + C\bar{\mu} \quad (2.2)$$

van Deemter denkleminde göre A terimi, girdap difüzyonu; B terimi, uzunlamasına difüzyon; ve C terimi, kütle transferine karşı direnç ifade eder (van Deemter vd., 1956). van Deemter denklemi, kolon i.d'sinin veya sabit faz kalınlığının azaltılması ve bant genişletme etkilerinin en aza indirilmesiyle kolon verimliliğinin artırılabilirliğini açıklar. Öte yandan kolon veriminin azalması nedeniyle verim kaybı yaşanmaması için sistemin dedektör ve dedektör hücresi, valf enjeksiyonu ve kolon bağlantılarının dikkatli seçilmesi gerekmektedir.

2.4.3. Dedektör

Dedektör sistemlerinin, kromatografik sistemlerde boyut küçüldükçe ayrımların belirgin bir şekilde tanımlanması için kullanılan tekniğe uyarlanması gerekir. Tarihsel olarak, UV ve diyot dizisi tespiti, elektrokimyasal, floresans, hatta bazı gaz kromatografisi dedektörleri (örneğin alev fotometrik, termiyonik ve elektron yakalama) gibi birçok farklı dedektör nano-LC sistemlerinde test edilmiştir (Vissers, 1999; Vissers vd., 1997). Ancak bu dedektörler hassas dedektörler olmadıkları için nano-LC'nin gücüne cevap verememektedir. Minyatürleştirilmiş LC sistemlerine entegre edilecek en basit dedektör absorbands dedektörleridir. Geleneksel HPLC'de olduğu gibi UV dedektörleri, nispeten düşük maliyetleri, basitlikleri ve geniş uygulanabilirlik yelpazesi nedeniyle nano-LC'de en yaygın olarak tercih edilenlerdir. Bu dedektörler doğru niteliksel ve niceliksel analiz için tespiti olanak tanırlar (Hernández-Borges vd., 2007). Absorbans çok fazla bilgi detayı sağlayabilirken araştırmacılar, dalga boyunun seçimine bağlı olarak belirli bir madde alt kümesiyle sınırlıdır (D. T. Snyder vd., 2016).

UV dedektörün yanı sıra, nano-LC'de floresans tespiti yalnızca sınırlı sayıda uygulamada denenmiştir (Holland ve Jorgenson, 1995; Takeuchi, Masuoka vd., 2003). Kapilerin optik yol uzunluklarının kısa olması nedeniyle çok yüksek olmasa da genel olarak UV-VIS tespitinden daha yüksek seçicilik ve hassasiyet sağlar. Floresansın en büyük dezavantajlarından biri, floresans özelliklerine sahip moleküllerle veya uygun bir reaksiyona giren proba başarılı bir şekilde türetilebilen moleküllerle sınırlı olmasıdır. Kütle spektrometrisi (MS) ise araştırmacıya pompa tarafından iletilen düşük akış hızları

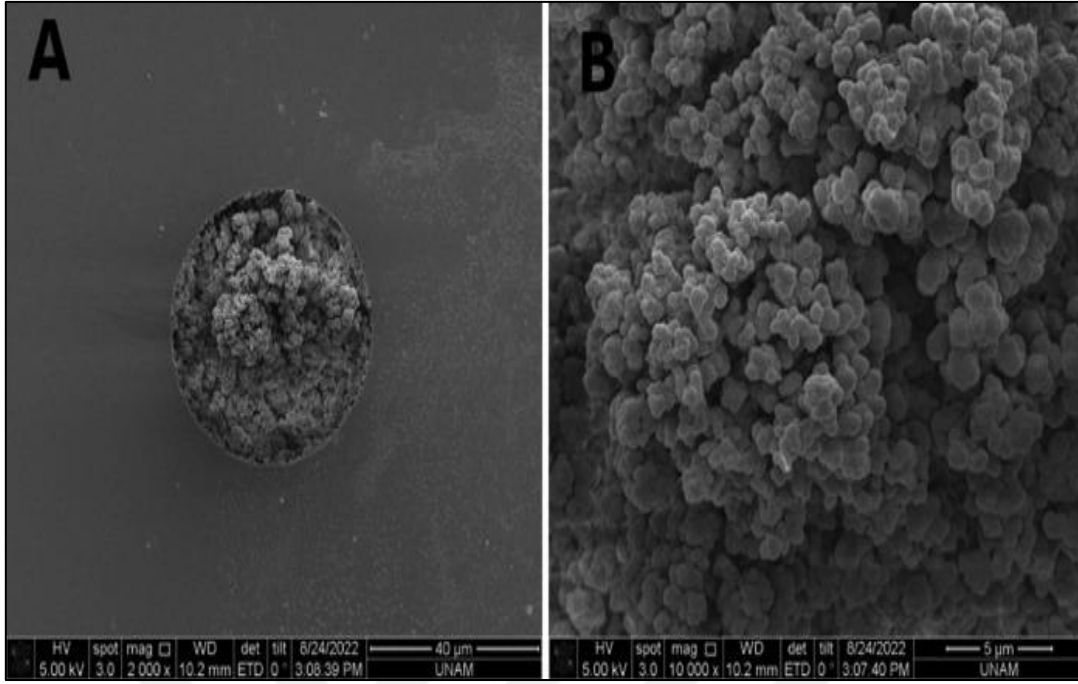
(50-600 nL/dk) sayesinde nano-LC ile kolaylıkla eşleşebilmesi, duyarlılığın iyileştirilmesi ve analitlerin birleştirilmesi gibi hem niteliksel hem de niceliksel birçok bilgi sunmasıyla giderek daha fazla ilgi görmektedir (Edwards ve Thomas-Oates, 2005; Tomer, 2001).

Genel olarak LC/MS için birkaç farklı kütle spektrometresi analizörü kullanılır. Günümüzde yaygın olarak uygulanan kütle analizörleri arasında dört kutuplu, 3D Paul trap, TOF (örneğin, Q-TOF veya timsTOF), 2D linear trap, FT-ICR ve Orbitrap bulunmaktadır. Bunlardan dört kutuplu, 3D Paul trap, 2D linear trap düşük çözünürlüklü analizörler iken; TOF (örneğin, Q-TOF veya timsTOF), FT-ICR ve Orbitrap yüksek çözünürlüklü analizörlerdir. Belirli bir uygulama için en uygun kütle analizörü, analizin amacına bağlı olarak seçilir. Üçlü dört kutuplu, Q-TOF, timsTOF ve dört kutuplu-Orbitrap gibi iki kütle analiz cihazını birleştiren hibrit araçlar da sıklıkla kullanılır. (Boesl, 2017; Eliuk ve Makarov, 2015; Han vd., 2008; Nolting vd., 2019).

2.5. Monolitik Nano Kolonlar

Daha önce de belirtildiği gibi, bir matrisin analitlerinin ayrılması, analitlere uygun sabit faz içeren 10-100 µm silika kapiler nano kolonda gerçekleşir. Minyatürleştirilmiş LC tekniğindeki farklı ilgi dalları nedeniyle kolon teknolojisinde artan bir gelişme söz konusudur. Geleneksel kromatografide olduğu gibi kolonların çoğundaki fonksiyonel grup C4, C8 ve C18 gibi ters fazdır. Amino ve amid gibi HILIC fonksiyonel gruplarına sahip kolonlar da ticari olarak mevcuttur (Shan ve Jones, 2022).

Minyatürleştirilmiş LC’de, monolitik kolonlar (polimer monolit, silika monolit, hibrit monolit), açık tubular (duvar kaplamalı kolon, PLOT kolon) ve dolgulu kolonlar dahil olmak üzere üretim sürecine dayalı üç ana kapiler nano kolon türü mevcuttur (Aydoğan, 2019). Bunlar arasında monolitler, hazırlanma kolaylığı, çok yönlü yüzey modifikasyonu ve iyi pik kapasitesi, yüksek geçirgenlik, küçük boyut ve sağlam yapı gibi önemli avantajlarıyla parçacık dolgulu kolonlara alternatif olarak son on yılda ilgi odağı olmaya devam eden ve yaygın olarak kullanılan malzemelerdir. Monolitik kapiler nano kolonun SEM görüntüleri Şekil 2.9’ da gösterilmektedir (Aydoğan vd., 2023).



Şekil 2.9. Monolit kapiler nanokolonun a) 2000x ve b) 10000x SEM görüntüleri (Aydoğan vd., 2023)

Monolit, in-situ şeklinde yani yerinde hazırlanarak gözenekli polimerik ortam sağlayan, bir tüpün duvarına hermetik olarak kapatılmış gözenekli ve sürekli yatak yapısı olarak tanımlanabilir (Aydoğan, 2019; Svec ve Lv, 2015). Monolitik kolonlar ilk kez 1950’li yıllarda Robert Synge tarafından kullanılmıştır (Mould ve Synge, 1954). Kubin vd., 1967’de düşük geçirgenliğe sahip monolitik yapılar hazırlamışlardır (Kubín vd., 1967). Daha sonra 1980’lerde Hjerten vd., jel yapıda oluşturdukları monolitlerle çalışmışlardır (Hjertén vd., 1989). 1992 ve 1996’da Svec ve Frechet ilk olarak monolitik yapıları ortaya çıkarmıştır (Svec ve Fréchet, 1996; Svec ve Frechet, 1992). O zamandan bu yana monolitik kolonların farklı versiyonları hazırlanmış ve kiral ayırmalar, biyoanaliz için afinite kromatografisi ve biyomoleküller gibi birçok disiplinin önemli analizlerinde kullanılmıştır (Gama vd., 2019; Maya ve Paull, 2019).

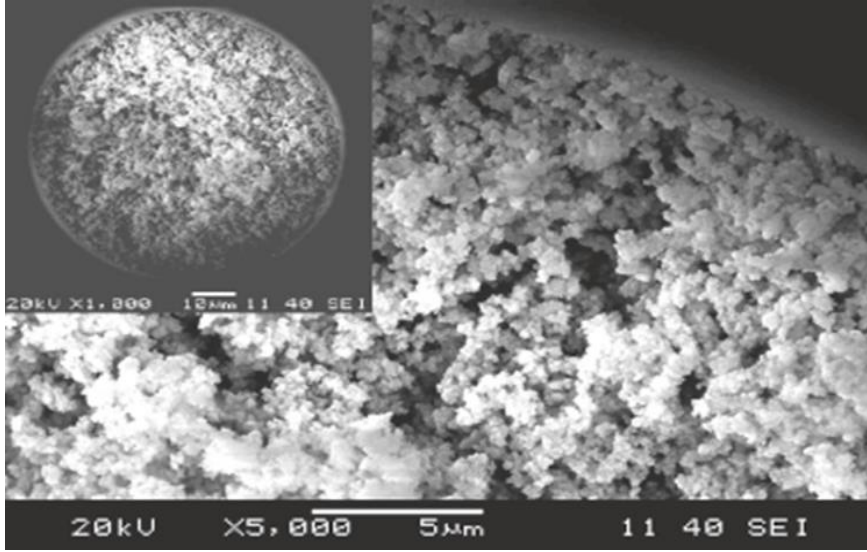
Monolitik kolonlar bir frit gerektirmediğinden, özellikle nano kolonlar için üretim süreci dolgulu parçacık kolonuna kıyasla daha basittir. Bu tip kolonların en büyük dezavantajı organik solvent (hareketli faz) değişimi nedeniyle monolit büzülmesine neden olarak sabit fazın gözenek yapısını deforme etmesidir. Böylece monolit ile kolon duvarı arasında ölü hacim oluşarak kolon performansını etkilemektedir. Ayrıca bu durum, kolondan kolona

tekrarlanabilirliği zayıflatır ve dolgulu parçacık kolonlarıyla karşılaştırıldığında mekanik kararsızlığa neden olur (Shan ve Jones, 2022; Wu vd., 2008).

Monolitler tek bir yapı içerir. Bu nedenle özellikle nano-LC ve CEC gibi sistemler için hazırlanan mikro ölçekli kapiler kolonlar etkin kromatografik ayırma sağlamıştır (Huck vd., 2003). Parçacık dolgulu kolonlara göre büyük bir avantaja sahip olan monolitler, gözenek boyutlarına göre i) boyutları 2 nm'den küçük olan mikro gözenekli yapılar, ii) boyutları 50 nm'den büyük olan makro gözenekli yapılar, iii) boyutları 2-50 nm arasında olan mezo gözenekli yapılar olmak üzere üç farklı sınıfa ayrılmaktadır. En yaygın olarak kullanılan mezo-gözenekli monolitik yapılar, ortalama 130 boyutu ve yaklaşık 300 m²/g yüzey alanıyla yüksek geçirgenliğe sahiptir.

2.5.1. Hibrit Monolit

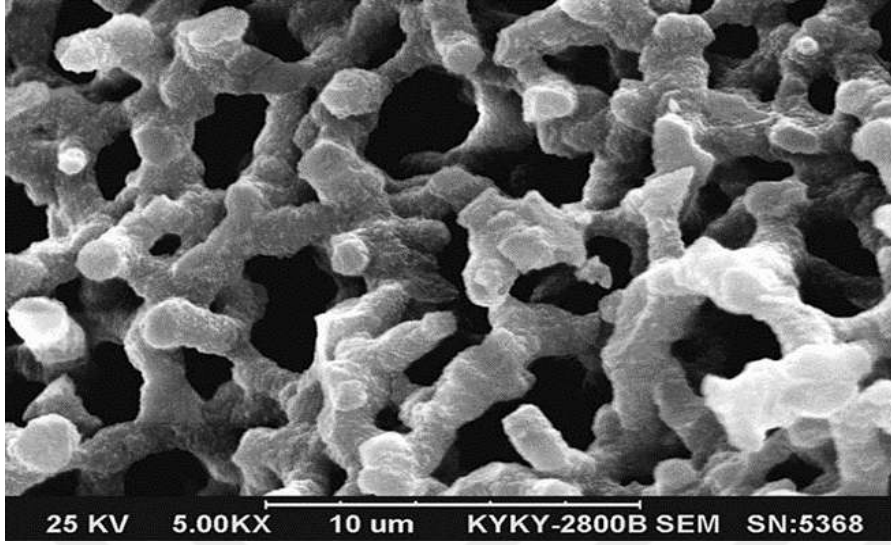
Yapılarında organik ve inorganik kısımlar bulunan hibrit monolitler, kolay hazırlanabilmeleri, yüksek yüzey alanı, yüksek geçirgenlik, geniş pH değişim aralığında uygulama, iyi mekanik ve termal stabilite gibi özellikleri nedeniyle alternatif kolon malzemeleri olarak geliştirilmiştir (Ou ve vd., 2015; Zajickova, 2017). Şekil 2.10 hibrit monolit kolonunun SEM görüntülerini göstermektedir (Z. Zhang vd., 2011). Sol-jel işlemi ile organik parçaların silika yapısına girişiyle ilk hibrit monolit elde edilmiştir (Hayes ve Malik, 2000). Sol-jel, klik kimyası ve halka açma polimerizasyonunun ana sentez yollarıdır (Gama vd., 2019). Alternatif olarak, yoğunlaştırmada 3-aminotrimetoksi silan gibi ikinci bir işlevselleştirilebilir silika maddesi kullanılır. Hibrit monolitler, kiral ayırmada kullanılan diğer sabit fazlara kıyasla üstün enantiyoseçicilik ve geniş yüzey alanları nedeniyle enantiyomer çiftlerinin ayrılmasında daha fazla ilgi görmüştür (Lima vd., 2023).



Şekil 2.10. Perfenilkarbamoillenmiş β -siklodekstrin-silika (Ph- β -CD) hibrit monolit kolonun SEM görüntüsü (Z. Zhang vd., 2011)

2.5.2. Silika Monolit

Dikkate değer bir başka monolit türü, farmasötiklerin analizinde yaygın olarak kullanılan silika veya inorganik polimer sabit fazdır ve amino asitler ve flavonlar gibi düşük moleküler ağırlıklı rasemik karışımların saptanmasında tercih edilmektedir (Si-Ahmed vd., 2012; Silva vd., 2017). Nakanishi ve Soga ekibi ilk olarak 1990'ların başında silika bazlı monolitik kolonları geliştirmiştir (Staniak vd., 2020). 1996 yılında Tanaka vd. literatürde ilk kez silika bazlı monolitik yapıları göstermiştir (Kimata vd., 1993; Nakanishi vd., 1998). Silika bazlı monolitler sol jel yöntemiyle hazırlanır. Sol jel yöntemi i) alkoksi silan molekülünün hidrolizi, yani silanol gruplarının oluşumu (Si-OH) ii) alkoksi silan ve silanol grupları arasındaki polikondensasyon, yani siloksan (Si-O-Si) oluşumu iii) suyun silanol grupları ile yoğunlaşması olmak üzere üç aşamadan oluşur. Sol jel yönteminde genel olarak fonksiyonel monomer olarak tetraetoksisilan (TEOS), gözenek oluşturucu olarak polietilen glikol (PEG), başlatıcı olarak ise asetik asit kullanılmaktadır. Silika monolitinin morfolojik yapısı monomer karışım oranı, gözenek oluşturucular ve solvent gibi faktörlerden etkilenir. Tüm monolitik kolonların ana avantajı olan yüksek geçirgenlik ve kütle transferine karşı düşük direnç sağlamanın yanı sıra, silika bazlı monolitik kolonun özel bir avantajı, makro gözeneklerinin ve mezo gözeneklerinin, verilen analitik amaçlar için en iyi performansı elde etmek üzere ayrı ayrı uyarlanabilmesidir (Hefnawy vd., 2023). Şekil 2.11 silika monolit kolonunun SEM görüntülerini göstermektedir (G. Yang vd., 2008).

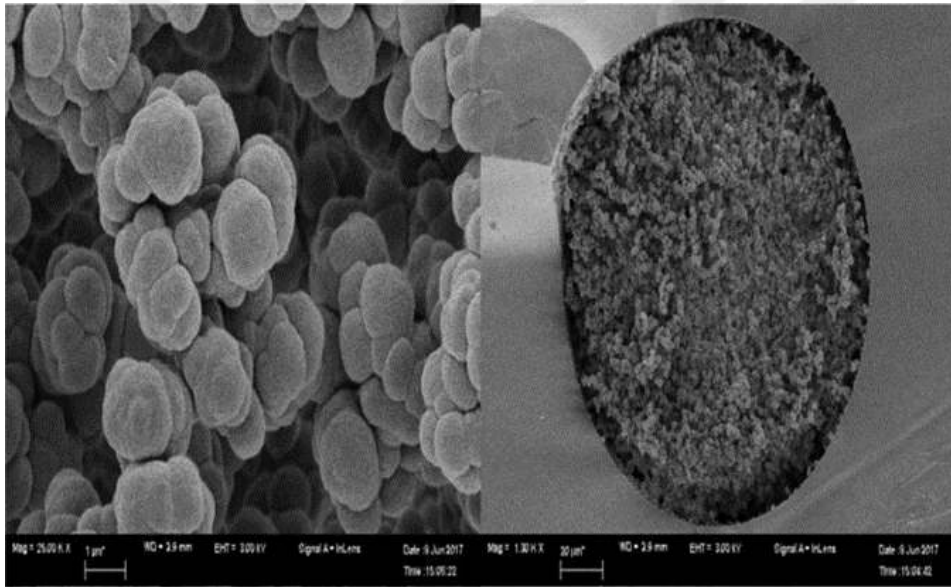


Şekil 2.11. Kopolimer Pluronic F127 silika monolitik kolonunun FE-SEM görüntüleri (G. Yang ve diğerleri, 2008)

2.5.3. Polimer Monolit

Diğer ilgi çekici alternatif monolit türü, geçmiş 1960'lara dayanan polimer monolit sürekli katı fazdır, ancak ilk organik polimer monolitik sürekli yatağı 1989'da üretilmiştir (Bakry vd., 2009; Hjertén vd., 1989). Polimer monolit nano kolonlar özellikle omiks uygulamaları, çevresel matrisler, tıp, gıda güvenliği ve kalitesi, biyoanalitik kimya vb. için umut verici malzemelerdir (Vasconcelos Soares Maciel vd., 2020). Hem umut verici yeniden üretilebilirlik hem de çeşitli işlevsellik ve uygulamalara sahip monolitik kolonlar üretmek için farklı işlemler, kimyasallar ve deneysel tasarımlar denenmiştir. Bu koşullar, bir başlatıcı reaktif ve bir çapraz bağlayıcının eklenmesiyle polimerik öncünün sıvı bir çözeltisinin hazırlanmasını, polimerik çözeltinin kolona eklenmesini ve kolonun yerinde polimerizasyon reaksiyonu ile işlevselleştirilmesini içerir (Lima vd., 2023). Polimer bazlı monolitler termal polimerizasyon, radyasyon polimerizasyonu veya fotopolimerizasyon yoluyla hazırlanabilir. Oysa polimer monolitik nano kolonun hazırlanması aşamasında kolonda kanal oluşumunu engellemek yani aradaki boşluktan akış yönünün değişerek monolitin ayrılmasını önlemek amacıyla kolonun iç yüzeyi kovalent bağlı olmalıdır. Bu amaçla, bir polimer monolit ile nano kolonun duvarı arasında kovalent bir bağlantı içeren başarılı bir polimer monolitik kolon hazırlamak için silanizasyon işlemi gerçekleştirilmelidir (Eeltink vd., 2021). Organik polimer karışımı, silanizasyon ön işlemi

ile monolitik bir polimer kolon elde etmek için hazırlanan kılcal nano kolona enjekte edilir. Organik polimer karışımı monomerleri, gözenek oluşturuucu çözücüler ve bir termal radikal başlatıcıyı içerir. Organik polimer monolitlerinin sentezi, karışımın kapalı bir kalıpta yerinde foto veya termo-aktifleştirilmiş serbest radikal polimerizasyonu ile gerçekleştirilir (Svec, 2010). Homojen polimer monolitlerin taramalı elektron mikroskobu Şekil 2.12’de görülmektedir (Ghanem vd., 2022). Polimer bazlı monolitler metakrilat bazlı, stiren bazlı ve akrilamid bazlı monolit olarak üç gruba ayrılmaktadır ve en yaygın kullanılan monolitler metakrilat bazlı monolitlerdir. Polimerizasyon reaksiyonunun süresi ve sıcaklığı, porojen solvent seçimi ve karışımdaki monomer/porojen solvent oranı yüksek performanslı ve geçirgen gözenekli metakrilat bazlı monolit yapının elde edilmesinde önemli faktörlerdir (Neequaye ve El Rassi, 2023; Vlakh ve Tennikova, 2009).



Şekil 2.12. 1300x (sol) ve 25.000x (sağ) SEM görüntüleri homojen gözenekli polimer monoliti gösterir (Ghanem vd., 2022)

Genel polimerizasyon işlemi aşağıda verilmiştir:

- i) Başlatıcının yeterli sıcaklıkta bozunması ile polimerizasyon başlar ve polimer zincirlerinin büyümesi gerçekleşir.
- ii) Reaksiyon karışımında oluşan polimer zincirlerinin çözünürlüğü azalır ve polimer zincirleri çökerek çekirdek oluşturur.
- iii) Oluşan çekirdekler ortamdaki monomerlerle birlikte hacim olarak büyür ve mikroküresel yapılar veya agregatlar oluşur.

Sonuç olarak morfolojik yapının oluşmasıyla oluşan reaksiyon sonrasında ortamda daha katı ve daha az sıvı olmak üzere iki faz oluşur. Sıvı faz yani gözenek oluşturunca sistem yıkama ile uzaklaştırılır ve gözenekli monolitik bir yapı elde edilir (Bakry vd., 2007). Monolitik kolonlar kiral ayrımların, afinite kromatografisinin ve biyoanaliz için biyomoleküllerin, gıda kalitesi ve güvenliğinin, tarımda çevresel kirleticilerin, minyatürleştirilmiş kromatografik teknikte biyolojik matrislerin belirlenmesinde daha hassas ve doğru sonuçlar elde etmek için yaygın olarak tercih edilmektedir (Vasconcelos Soares Maciel vd., 2020).

2.6. Kahvaltılık Gevrek

Sağlıklı beslenmede diyetin öncelikli görevi, bireyin metabolik ihtiyacını karşılayarak gerekli miktarda enerji ve besin öğelerini sağlamaktır. Ayrıca beslenme bilimindeki son gelişmeler, diyetin sadece optimum sağlığın oluşmasında ve gelişmesinde değil, aynı zamanda bazı hastalıkların riskinin azaltılmasında da önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Mantzoros, 2009; Roberfroid, 2000; Anonim, 1999).

Kahvaltı, sağlıklı beslenmenin önemli bir başlangıcı olarak kabul edilir. Düzenli kahvaltı tüketiminin kilo kontrolü, daha iyi bilişsel işlevler ve kardiyometabolik sağlıkla ilişkili olduğu bilinmektedir (Currie, 2012; Dhurandhar vd., 2014; Purslow vd., 2007; van der Heijden vd., 2007). Bu faydalarının yanı sıra kahvaltı çocuklarda davranış, okula devam ve performansla da ilişkilidir (Tolfrey ve Zakrzewski, 2012). Sağlık açısından bakıldığında kahvaltı, obezitenin ve gençlerde eşlik eden insülin direnci, dislipidemi ve hipertansiyon gibi kardiyometabolik bozuklukların önlenmesinde etkili bir role sahiptir (Burke, 2006; Chiarelli ve Marcovecchio, 2008). Kahvaltıyı atlamanın olumsuz sağlık sorunlarına yol açtığı ve özellikle ergenlik çağındaki çocuklarda kahvaltının atlandığı belirtilmektedir (Tolfrey ve Zakrzewski, 2012). Kahvaltı içeriği ülkeye, yaşa, cinsiyete, fiziksel aktivite düzeyine ve diğer faktörlere bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik gösterebilir. Kahvaltının sağladığı enerji alımı günlük enerjinin %15-25'ini içermelidir. Kahvaltı tüketimine ilişkin yapılan bir araştırmada 4-18 yaş arası çocukların %25-50'sinin düzenli tahıl içeren kahvaltı tükettiği belirtilmektedir (Song vd., 2006).

Dengeli beslenmedeki rolü uzun yıllardır bilinen kahvaltılık gevrekler günümüzde önemli ve popüler bir besin kaynağı haline gelmiştir (Rufián-Henares ve Delgado-Andrade, 2009; Williams, 2014; Williamson, 2010). Kahvaltılık gevrekler, pişirildikten sonra paketlenen ve paketinden çıkarıldığında süt ilavesiyle tüketilebilen, tüketime hazır tahıl ürünleri olarak tanımlanmaktadır (Çalışkan, 2019). Bunlar önemli bir vitamin ve mineral kaynağının yanı sıra potansiyel olarak büyük antioksidan ve fitoöstrojen kaynaklarıdır (Baublis vd., 2000; Miller vd., 2000; Ryan vd., 2011). Kahvaltılık gevrekler enerji (350-400 kcal/100g), besin öğeleri (vitaminler ve mineraller), tahıllar ve diyet lifi gibi sağlık odaklı bileşenlere sahip sağlıklı kahvaltı ürünleridir (Guy, 2001). Kahvaltılık gevrekler granola ve tahıllar, kuru meyveler, kuruyemişler ve çikolata parçalarıyla zenginleştirilebilir. Pullu, şişirilmiş, küp ve parçalı formlarda üretilebilirler (Şekil 2.13). Kahvaltılık tahıllar ekstrüzyon tekniği ile yüksek sıcaklık ve basınç altında pişirilip kaplanmaktadır (Wiemer, 2018).



Şekil 2.13. Kahvaltılık gevrek çeşitleri (https://www.bbc.co.uk/food/articles/choosing_right_cereal; <https://www.petitegourmets.com/tr/yemek-bilgileri/en-iyi-10-kahvaltılık-gevrek>)

Granola tipi kahvaltılık gevrekler genel olarak karbonhidrat oranı yüksek, yağ oranı düşük ve iyi bir lif kaynağıdır. Bu kahvaltılık gevrekler genellikle yulaf, arpa, ceviz, yer fıstığı ve buğdaydan yapılarak, şeker, bal, malt özü, vitaminler, minerallerle zenginleştirilir. Yüksek kalorili bu ürünler sadece günlük kahvaltıda değil, yürüyüşe veya kampa giden bireyler tarafından da tüketilmektedir. Granolalı bu ürünler sıklıkla yoğurt, bal, meyve ve sütle tüketilir. Ayrıca çeşitli hamur işleri ve tatlıları süslemek için de kullanılmaktadır (Joy, 2016). Bu nedenle tam tahıllar kahvaltılık gevreklerin seçiminde önemli bir faktördür (Thomas vd., 2013). Geleneksel yiyeceklerde ve kahvaltılık gevreklerde yaygın olarak

kullanılan mısır, karbonhidrat, yağ ve protein açısından zengindir. Lif, vitamin ve mineraller açısından zengin olan mısır, gluten içeriğinin düşük olması nedeniyle sıklıkla tüketilmektedir (Joy, 2016). Kahvaltılık gevrek yapımında kullanılan diğer bir tahıl olan buğday da iyi bir makro (nişasta, protein) ve mikro (vitamin ve mineral) bileşen kaynağıdır. Buğday genellikle kalori kaynağı olarak görülse de glutamin, prolin ve lösin açısından diyetle önemli amino asit içeriği sağlar (Sargın, 2019). Kahvaltılık gevreklerin bir başka kaynağı yulaf ve yulafla hazırlanan gıdalar olup, yüzyıllardır Avrupa'da beslenmenin önemli bir parçası olmuştur (Arendt ve Zannini, 2013). Yulaf unu ve kepeği genel olarak tahıl, ekmek, bisküvi, bebek maması, müsli ve granola bar üretiminde kullanılmaktadır. Yulaf ve yulaf türevi ürünler dikkat çekici fizyolojik etkilere ve besleyici özelliklere sahiptir. Yulaf aynı zamanda iyi bir çözünür diyet lifi olan β -glukan kaynağıdır ve aynı zamanda yüksek tokoferol ve doğal antioksidan kaynağı olarak da bilinir. Yulafın protein içeriği buğdayinkine benzerken, yulafın karbonhidrat içeriği pirinç, mısır ve arpadan daha zengindir (Arendt ve Zannini, 2013).

Araştırmalar sonucunda kahvaltılık gevrek tüketiminin sağlıkla yakından ilişkili olduğunu tespit edilmiştir. Kahvaltılık gevrekler kardiyovasküler risk faktörlerini %10-12 oranında azaltmakta ve glikoz ve insülin metabolizmasını olumlu yönde etkileyen lif, yağ, vitamin ve mineraller gibi önemli besin öğelerini içermektedir (Foster-Powell vd., 2002; Venn ve Mann, 2004).

Ayrıca kahvaltılık tahıllarda önemli biyoaktif özellikler olan fitoöstrojenler ve fenolik asitler de mevcuttur (Djoussé ve Gaziano, 2007). Kahvaltı öğününde tahıl tüketmenin önemli besinsel faydaları olduğu ve Kahvaltı Kalite İndeksini arttırdığı bildirilmektedir (Monteagudo vd., 2013). Yapılan bir araştırmaya göre sütle tüketilen besleyici kahvaltılık gevreklerin çocuğun ihtiyaç duyduğu vitamin ve minerallerin çoğunu sağladığı rapor edilmiştir (Abrams ve ark. 2001). Bir araştırmada, düzenli olarak tahıl tüketenlerin, daha az tahıl tüketen ve tüketmeyenlere kıyasla daha yüksek karbonhidrat, daha yüksek toplam şeker, daha düşük yağ, daha düşük kolesterol, gelişmiş mikro bileşenler, daha yüksek süt alımı ve daha düşük serum kolesterol konsantrasyonuna sahip olduğu ortaya çıkmıştır (Mullan ve Singh, 2010). Kahvaltılık tahıl tüketimi yıllara göre değişiklik gösterse de son yıllarda tahıllara olan talepte artış gözlenmektedir (Guy, 2001).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

3.1.1. Kimyasallar ve Taze Arı Polen Örnekleri

Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasal maddeler analitik reaktif saflığında olup aşağıda listelenmiştir:

Asetonitril (ACN) (%99 LC-MS Grade)	: Merck A.G (Darmstadt, Almanya)
Metanol (MeOH) (%99 LC-MS Grade)	: Merck A.G (Darmstadt, Almanya)
Etanol (EtOH) (LC Grade)	: Isolab
2- Propanol (HPLC için, İzokratik Grade)	: Carlo Erba
Alkilbenzenler	: Merck (Darmstadt, Almanya)
2,2'-Azobisisobütironitril (AIBN)	: Merck A.G (Darmstadt, Almanya)
Etilen dimetakrilat (EDMA, %99)	: Sigma-Aldrich
Lauril metakrilat (LMA, Lot: MKCL9070)	: Sigma-Aldrich
Koenzim Q10 (%98, HPLC, Lot: SLCF9505)	: Sigma-Aldrich
Poli (etilenglikol) (PEG, Lot: BCCD8009)	: Sigma-Aldrich
Aseton (Lot: 17F154029)	: VWR Chemicals
Sodyum hidroksit (NaOH)	: Biontech Co. Ltd.
3-trimetoksisilil propil metakrilat (TMSPM, %98)	: Sigma-Aldrich
Poli (etilenglikol) (PEG, Lot: BCCD8009)	: Sigma-Aldrich
Aseton (Lot: 17F154029)	: VWR Chemicals
Sodyum hidroksit (NaOH)	: Biontech Co. Ltd.
3-trimetoksisilil propil metakrilat (TMSPM, %98)	: Sigma-Aldrich

Bingöl'ün Merkez, Karlıova, Solhan, Kiğı ve Yayladere olmak üzere 5 farklı ilçesinden taze arı poleni temin edildi. Mayıs 2022 tarihinde her ilçeden üçer adet olmak üzere toplam on beş farklı taze arı poleni toplandı (Şekil 3.1). Taze arı polenleri Merkez Kartal Köyü (M1), Merkez Şaban Köyü (M2), Merkez Kuruca (M3); Adaklı Merkez (A1), Adaklı Karbaşan (A2), Adaklı Arıca Köyü (A3); Yayladere Kırköy (Y1), Yayladere Merkez (Y2),

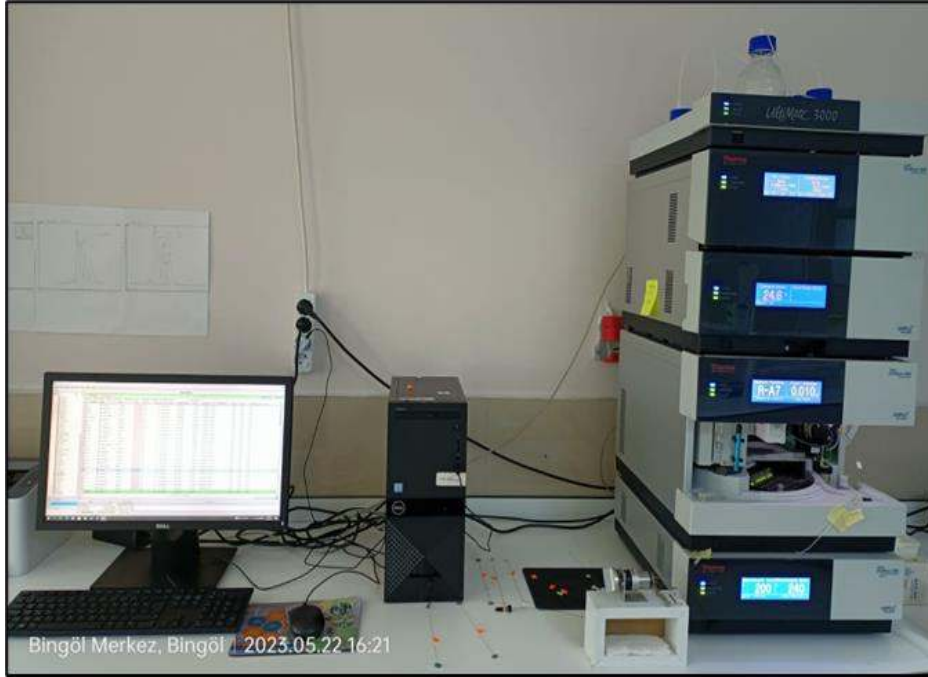
Yayladere Batıayaz (Y3), Solhan Hazarşah Yaylası (S1), Solhan Yaylası (S2), Solhan Ovası (S3), Karlıova Merkez (K1), Karlıova Kırachtepe (K2) ve Karlıova Çatak (K3) bölgelerine aittir.



Şekil 3.1. Bingöl bölgesinden toplanan taze arı polenleri

3.1.2. Alet ve Ekipmanlar

Kromatografi analizi için Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 serisi- NCS, 3500 RS, ProFlow nano-LC cihazı kullanıldı (Şekil 3.2). Bu tez çalışmasında kullanılan tüm alet ve ekipmanlar aşağıdaki gibidir:



Şekil 3.2. Tez çalışmasında kullanılan nano-LC

ProFlow-Nano-LC (Ultimate 3000 series)	: NCS-3500 RS Thermo Scientific Dionex
Detektör (Ultimate 3000 series)	: VWD-3400RS Thermo Scientific Dionex
Otosampler (Ultimate 3000 series)	: WPS-3000TPL Thermo Scientific Dionex
Pompa (Ultimate 3000 series)	: NCP-3200RS Thermo Scientific Dionex
Santrifüj	: Hermle Z327 K
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	: Zeiss, Evo-50
Vorteks	: WN-2800
TSP050375 50 μm i.d. ve 363 μm o.d	: BGB Analytic
Ultra Saf Su Cihazı	: Direct-QR-3 Millipore Corporation (USA)
Ultrasonik Su Banyosu	: WUC-D06H
Hassas Terazı	: HR250AZ (252 g/0,1 mg)
Su banyosu	: WF-SB11
15 ml Falkon Santrifuj Tüp (Lot: 18229)	: Bioedical (China)
Şiringa Filtre (0,20 μm) (Lot:02821008)	: Corning NY 14831
Otomatik Pipet	: Eppendorf
Reducing Union (1/160' to 360 μm) SS	: VICI Valco
FS Tubing (S/N: L-P112240)	: VICI Valco
Filtre Kağıdı (640 m; Lot: CC115049)	: Macherey- Nagel (Germany)

Isıtmalı Karıştırıcı	: MS300HS
Chroma Meter CR-5	: Konica Minolta, INC (Japan)
LED Mikroskop	: Leica DM 2500, Leica Microsystems (Germany)
Ultrasonik Banyo	: Wisd, Daihan Scientific (Korea)
Santrifüj	: Eppendorf SE (Hamburg, Germany)
Cam Tüp (14 ml), Cutter, GC Septa, Mikroskop camları (Cat. No: 7102)	

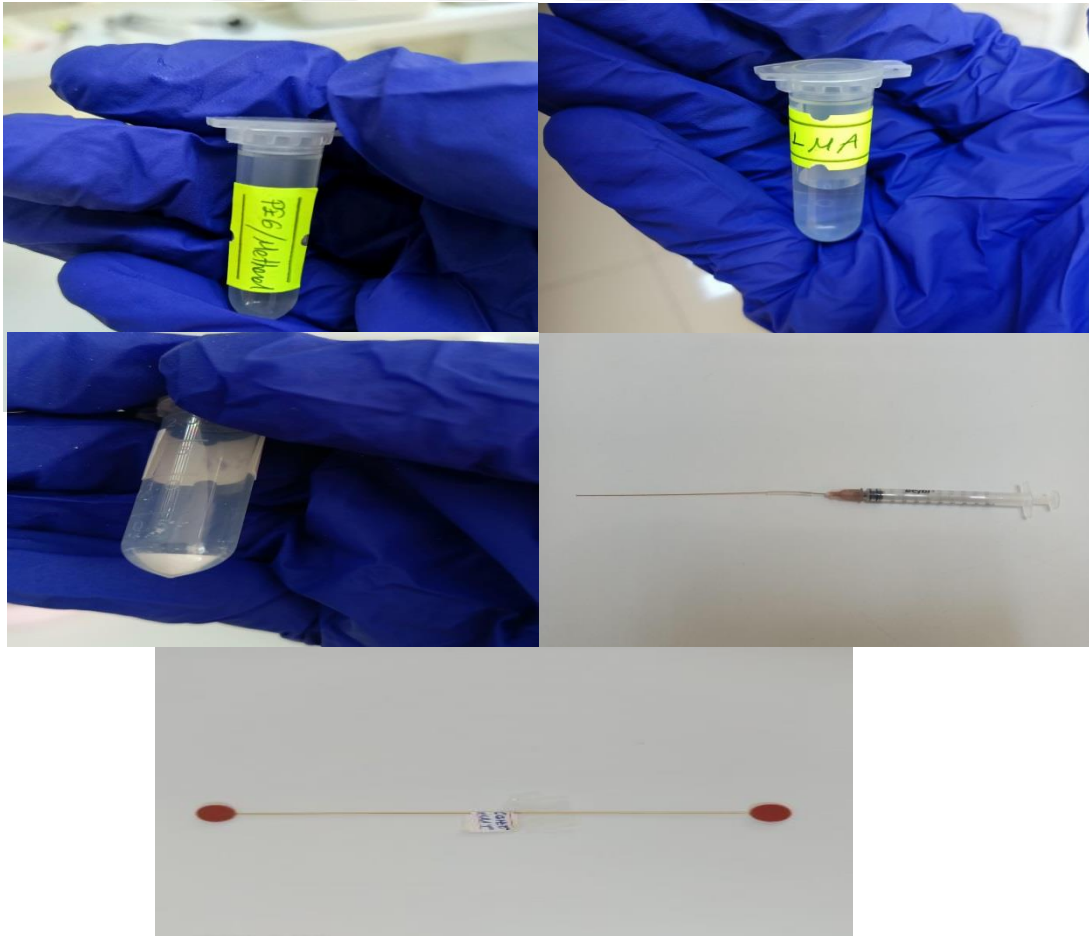
3.2. Yöntem

3.2.1. Monolitik Nano Kolonun Silanlanması

Silanizasyon, monolitik kolonun polimerizasyon aşamasından önce gerçekleştirilen ön hazırlık işlemi olup, fused silika kapiler kolonların iç duvarında hidrolize silanol gruplarının yoğunlaşmasını sağlar. Fused silika kapiler kolonlarının iç yüzeyindeki siloksan grupları, sonraki polimerizasyon için bağlayıcı görevi gören silanol gruplarının yoğunluğunu arttırmak amacıyla vinilizasyon için ön işleme tabi tutulur. Kapiler iç yüzeyin silanizasyonu, yüksek basınca dayanıklı ve mekanik olarak stabil kolonlar hazırlamak, kanallaşmayı önlemek, yani monolitin akışla ayrılmasını önlemek için polimerin kolon duvarının iç yüzeyine kovalent bağlanmasını sağlar (Aydoğan vd., 2013; Eeltink vd., 2021; Gusev vd., 1999). Silanizasyon işlemi literatürdeki çalışma modifiye edilerek uygulandı (Aydoğan, 2016). Silanizasyon işleminde öncelikle 50 µm i.d'lik füzyonlu kapiler kolondan cutter ile 50 cm kesildi. Daha sonra bu boş kapiler kolon, 15 dk boyunca 0,5 M NaOH ile işlendi ve ardından 15 dk boyunca saf su kullanılarak yıkandı. Silanizasyon işleminin her aşamasında 1 ml'lik farklı şırıngalar kullanıldı. Daha sonra sırasıyla 15 dk MeOH ve 15 dk boyunca %50-50 oranında hazırlanan TMSPM/MeOH karışımı kolondan geçirildi. Son olarak kolonun her iki ucu da GC septa ile kapatıldı ve önceden ayarlanmış 35°C'lik su banyosunda 18-20 saat bekletildi. 18 saat sonra kolon su banyosundan çıkarıldı ve silanize edilmiş kapiler kolon, 15 dk boyunca MeOH ile yıkandı. Daha sonra kolonun kuruması için 5 dk boyunca aseton ile muamele edildi. Son olarak kolonun tamamen kuruması için 24 saat 50°C sıcaklıktaki etüvde bekletildi.

3.2.2. Monolitik Nano Kolonun Hazırlanması

Monolitik kolon elde etmek için, ana monomer olarak LMA (%23,62 w/w) ve çapraz bağlayıcı olarak EDMA (%11,65, w/w), termal başlatıcı olarak AIBN (%0,03 w/w) içeren polimerik çözelti ve porojenik çözücü olarak PEG-metanol (64.7 w/w) çözeltisi 2 ml'lik eppendorf tüpü içerisinde hazırlandı. Homojen bir karışım elde etmek için çözelti ultrasonik su banyosunda (WUC-D06H) yaklaşık 1 dk bekletildikten sonra vorteks ile karıştırıldı. Nihai polimerizasyon çözeltisi daha sonra 1 ml'lik bir şırınga kullanılarak silanize edilip, silika kapiler kolona enjekte edildi. Kolonun her iki ucu GC septa ile hızlı bir şekilde kapatılıp, polimerizasyon işleminin başlaması için 65°C'deki su banyosunda 20 saat bekletildi. Polimerizasyondan sonra kolon, reaksiyona girmemiş polimerleri kolondan uzaklaştırmak için 500 nL/dk akış hızında 1 saat boyunca ACN:H₂O (%80:20, v/v) ile yıkandı. Şekil 3.3 monolitik kolon basamaklarının hazırlanmasını göstermektedir.



Şekil 3.3. Monolitik nano kolonun hazırlanma aşamaları

3.2.3. Kromatografik Şartlar

Toluen, etilbenzen, propilbenzen, bütilbenzen, pentilbenzen, içeren alkilbenzen çözeltisi ACN ve H₂O içerisinde çözündürüldü. Taze olarak hazırlanıp +4°C’de saklandı. Alkilbenzen çözeltisi için UV-VIS dedektör dalga boyu 200 nm’ye ayarlandı. Arı polenindeki KoQ10’un kromatografik koşulları şu şekilde ayarlandı:

Akış Hızı	: 1µL/dk
Basınç	: 310 bar
Sıcaklık	: 23,9 °C
Analiz Süresi	: 20 dk
Enjeksiyon Hacmi	: 0,010 µL
Mobil Faz	: MeOH: EtOH: 2-Propanol (2:1:1)
Dalga boyu	: 200-275 nm

3.2.4. Taze Arı Poleninden Koenzim Q10 Ekstraksiyonu

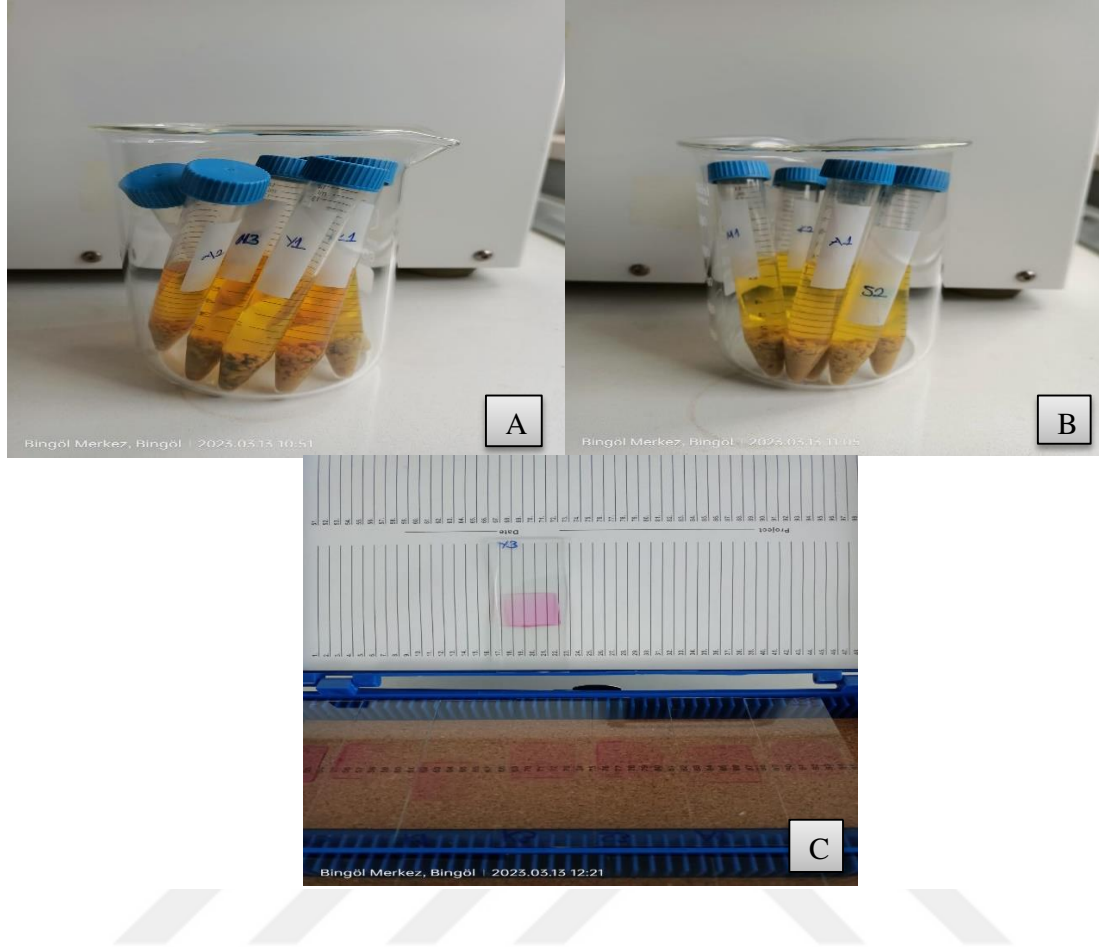
Koenzim Q10, daha önce bildirilen bir solvent ekstraksiyon yöntemi modifiye edilip kullanılarak, Bingöl ilinin 15 farklı bölgesinden temin edilen taze arı polenlerinden ekstrakte edildi (Román-Pizarro vd., 2017). Özetle, 0,5 g taze arı poleni 10 mL MeOH:EtOH:2-PrOH (2:1:1) içerisinde karıştırılarak homojenleştirildi. Homojenize edilen örnekler Hermle Z327 K santrifüj kullanılarak 5000 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra süpernatant sıvı dikkatlice 15 ml’lik bir santrifüj tüpüne aktarıldı. Daha sonra bu tüp hızlı bir şekilde 5000 rpm’de 5 dk süreyle tekrar santrifüj edildi. Süpernatant kısım filtre kağıdından ve daha sonra şırınga filtresinden hızlı bir şekilde süzüldü. Son olarak arı poleni ekstraktları cam tüplere aktararak alüminyum folyoya sarılıp, +4°C’de saklandı. Şekil 3.4’te taze arı poleni ekstraksiyonunun aşamaları sırasıyla verilmiştir.



Şekil 3.4. Taze arı polenin ekstraksiyon işlemi: **A:** Tartılan örnekler, **B:** Homojenize edilen örnekler, **C:** İlk santrifüjünden sonra örnekler, **D:** İkinci santrifüjünden sonra örnekler; **E:** Ekstraktları edilen örnekler

3.2.5. Taze Arı Polenlerinin Palinolojik Analizi

Bingöl bölgesinden temin edilen taze arı polenlerinin bitkisel kaynağını belirlemek amacıyla palinolojik analizi literatürde uygulanan yöntemle yapılmıştır (Barth vd., 2010). 2 g arı poleni tartılıp, 13 ml %70 EtOH içerisinde çözüldü. Karışım oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra arı poleninin homojenize olması için 40°C'deki ultrasonik su banyosunda (Wisd, Daihan Scientific, Kore) 5 dk bekletildi. Bu tüpler Eppendorf SE santrifüj (Hamburg, Almanya) kullanılarak 3500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Yüksek yağ içeriğine sahip arı poleni örnekleri, santrifüjden hemen sonra iki kez %70 EtOH'a tabi tutulup tekrar santrifüj edildi. Daha sonra dipte kalan çökelti 1:1 gliserin-su karışımında eritilerek, homojenize edilen karışımdan 20 µL lam üzerine yerleştirildi ve ısıtmalı karıştırıcıda bazik fuksinli gliserin jelatin ilave edilerek arı poleni preparatları hazırlandı (Şekil 3.5) (Çobanoğlu vd., 2023). Daha sonra arı poleni örneklerinden oluşturulan preparatlar Leica DM 2500 optik mikroskop altında 600X ve 1000X objektifler kullanılarak incelendi. İncelenen polen preparatındaki polen taneleri familya, cins ve tür bazında teşhis edildi. Takson ayrımı yapılmadan hazırlanan her preparatta 500'den fazla polen tanesi sayıldı (Barth vd., 2010). İncelenen örneklerin polen bileşimi şu şekilde sınıflandırıldı: %15-45 oranında polen yoksa %80 veya %46-80 oranında tek bir polen türünden oluşuyorsa monofloral; biri %46-80, diğeri %15-45 veya iki tür %46-80 olmak üzere iki çeşit polen türü içeriyorsa bifloral; ve ikiden fazla polen türü içeren multifloral olarak adlandırıldı (Barth vd., 2010; Nandi ve Karmakar, 2018).



Şekil 3.5. Taze arı poleni örneklerinin palinolojik analizi: **A:** İlk santrifüjlenmeden sonra arı poleni, **B:** İkinci santrifüjlenmeden sonra arı poleni, **C:** Bazik fuksinli gliserin jelatinli arı poleni preparatları

3.2.6. Taze Arı Poleni ve Kahvaltılık Tahıl Örneklerinin Renk Analizi

Bingöl'ün 15 farklı bölgesinden toplanan taze arı poleni örnekleri, kontrol ve taze arı poleni katkıli kahvaltılık gevrek örneklerinin renk analizinde Chroma Meter CR-5 (Konica Minolta) renk ölçüm cihazı kullanıldı. Toz haline getirilen numuneler kuvars küvete konuldu (Şekil 3.6). Her bir örnek için analiz üç kez tekrarlandı ve sonuçların ortalaması alındı. Renk analizinde L, a ve b değerleri ölçüldü. L, koyuluk/açıklık (0: siyah; 100: beyaz); a (-a, yeşillik; +a, kırmızılık); ve b (-b, mavilik; +b, sarılık) değerlerini tanımlamaktadır (Adaşkeviçiüt vd., 2019).



Şekil 3.6. Taze arı polenlerinin renk ölçümü

3.2.7. Kahvaltılık Gevrek Üretimi ve Duyusal Analizi

Tam tahıllı kahvaltılık gevrek üretiminde en yüksek koenzim Q10 içeriği tespit edilen Solhan Hazarşah Yaylası taze arı poleni kullanıldı. Tam tahıllı tahıl hamuru için buğday unu (%48), şeker (%12), tuz (%2), yağ (%7), su (%15), süt (%15) ve arı poleni (%1) toz haline getirilip karıştırılarak gevrek hamuru elde edildi. Kontrol grubu için hamura arı poleni eklenmedi. Kahvaltılık gevrek hamuru, hamur kalıbıyla şekillendirildi ve daha sonra ev tipi fırında 120 °C’ de 7 dk pişirildi (Şekil 3.7). Daha sonra kahvaltılık gevreklerin duyusal analizleri yapıldı. Duyusal analiz için panelistlerden kontrol ve optimum kahvaltılık gevrekleri görünüm, doku, tat ve genel kabul edilebilirlik açısından hedonik ölçekte 1-5 puan vererek değerlendirmeleri istendi (RBK Anandito vd., 2021). Bu teknikte kahvaltılık gevrek örnekleri panelistler tarafından görünüm (renk), doku (sertlik ve gevreklik), tat ve lezzet, sütte yumuşama ve genel kabul edilebilirlik açısından 1 (çok kötü, beğenmedim) ve 5 (çok iyi, beğendim) olarak değerlendirildi. Duyusal testten elde edilen verilerin analizinde IBM SPSS 25 İstatistik (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) paket programındaki Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Karşılaştırılabilir veri grupları tek yönlü ANOVA (Duncan) Testi ile değerlendirildi; $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.



Şekil 3.7. Kahvaltılık gevrek üretimi

3.2.8. Yöntem Doğrulaması

LMA tabanlı monolitik nano kolon ile geliştirilen nano-LC yöntemini değerlendirmek için LOD, LOQ ve doğrusallık ile bir yöntem doğrulaması denendi. Bu işlem yayınlanmış literatüre göre gerçekleştirildi (Aydoğan vd., 2013; Demir ve Aydoğan, 2022). 0,01, 0,1, 1, 50, 100 mg/kg KoQ10'un standart çözeltileri, 200 mg/kg'lık bir stok çözelti kullanılarak hazırlandı. Bu çözeltiler, etanol, metanol, 2-propanol (2:1:1 v/v) içeren boş çözelti kullanılarak hazırlandı. LOD ($n = 3$) ve LOQ ($n = 5$) eklenmiş numuneler kullanılarak hesaplanmıştır (Demir ve Aydoğan, 2022). Geri kazanım ve tekrarlanabilirlik değerleri, üç konsantrasyon seviyesinde eklenen numuneler kullanılarak hesaplandı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Monolitik Nano Kolonun Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Nano-LC sisteminde tüm monolitik nano kolon tiplerinde yüksek ayırma veriminin elde edilmesi son derece önemlidir (Aydoğan vd., 2019). Bu tezde, iç çapı 50 µm olan yeni bir monolitik nano kolon, ana monomer olarak LMA ve çapraz bağlayıcı olarak EDMA kullanılarak yerinde polimerizasyon yoluyla test edildi. Bahsedilen yeni monolitik nano kolonun hazırlanması için polimerizasyon çözeltisi içeriği daha önceki bir çalışmaya göre değiştirildi ve uyarlandı (Aydoğan vd., 2013). Monolitik nano kolonun hazırlanması için ana monomer olarak LMA kullanıldı. Hem monomerlerin hem de porojenik çözeltinin çeşitli içerikleri (örneğin, metanol içindeki PEG miktarı) da incelendi (Tablo 4.1). Bu denemelerde monolitik kolonun tıkanması nedeniyle LMA içeriğinin artması (%24'ten (w/w) fazla) dolayı akış hızı elde edilemedi.

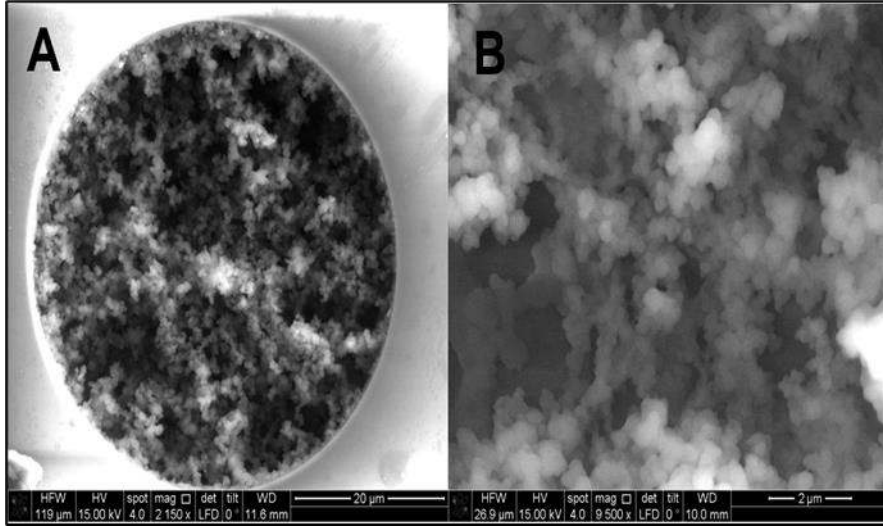
Tablo 4.1. Monolitik nano kolon denemeleri

TARİH	KOLON ID	LMA (µL)	EDMA (µL)	PEG/METHANOL (µL)	AIBN (mg)	SU BANYOSU (°C) VE SÜRE	AKI Ş	R ²
271021	50 µm-13 cm	104	56	400 (204 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =0,9996
171121	50 µm-13 cm	104	56	400 (306 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =0,9999
221121	50 µm-13 cm	104	56	400 (356 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65°C-20 sa	Var	R ² =1
221121	50 µm-13 cm	104	56	400 (325 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =0,9999

Tablo 4.1. (Devam) Monolitik nano kolon denemeleri

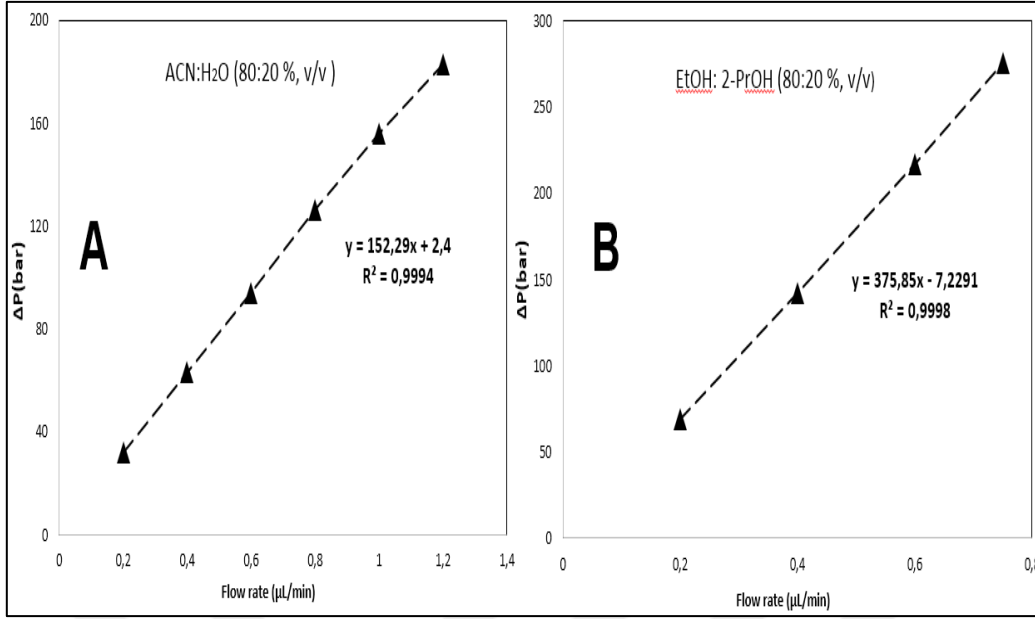
TARİH	KOLON ID	LMA (μ L)	EDMA (μ L)	PEG/METHANOL (μ L)	AIBN (mg)	SU BANYOSU (°C) VE SÜRE	AKI Ş	R ²
241121	50 μ m-13 cm	124	56	400 (325 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =0,9988
291121	50 μ m-13 cm	130	65	400 (325 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =0,9999
301121	50 μ m-17 cm	146	72	400 (325 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =1
081221	50 μ m-17 cm	146	72	400 (325 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =0,9999
040122	50 μ m-17 cm	156	72	400 (325 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =0,9999
141122	50 μ m-17 cm	146	72	400 (325 mg PEG/ 1 ml MeOH)	2	65 °C-20 sa	Var	R ² =0,9999

Ön deneme sonuçlarına göre, polimerik çözeltinin hazırlanmasında LMA (ağırlıkça %23,62) ve EDMA (ağırlıkça %11,65) kullanılırken, MeOH'daki PEG içeriği ağırlıkça %64,5 idi. Kolondaki farklı segmentlerden alınan SEM görüntülerinden elde edilen bilgiye göre, daha yüksek LMA içeriğinin sabit fazın yapısını etkilediği gözlemlendi. 50 μ m i.d'nin SEM görüntüleri LMA kolonu Şekil 4.1 A, B'de verilmiştir. Şekil 4.1'de görüldüğü gibi A ve B LMA kolonu kılcal kolonun iç yüzeyinde homojen bir dağılıma sahiptir. Bu sonuçlara göre 300 nm'ye kadar nanoglobüllerin elde edilebileceği anlaşıldı. Monolitik kolonun mekanik stabilitesi, çeşitli akış hızlarında kolonun karşı basıncı ölçülerek belirlendi.



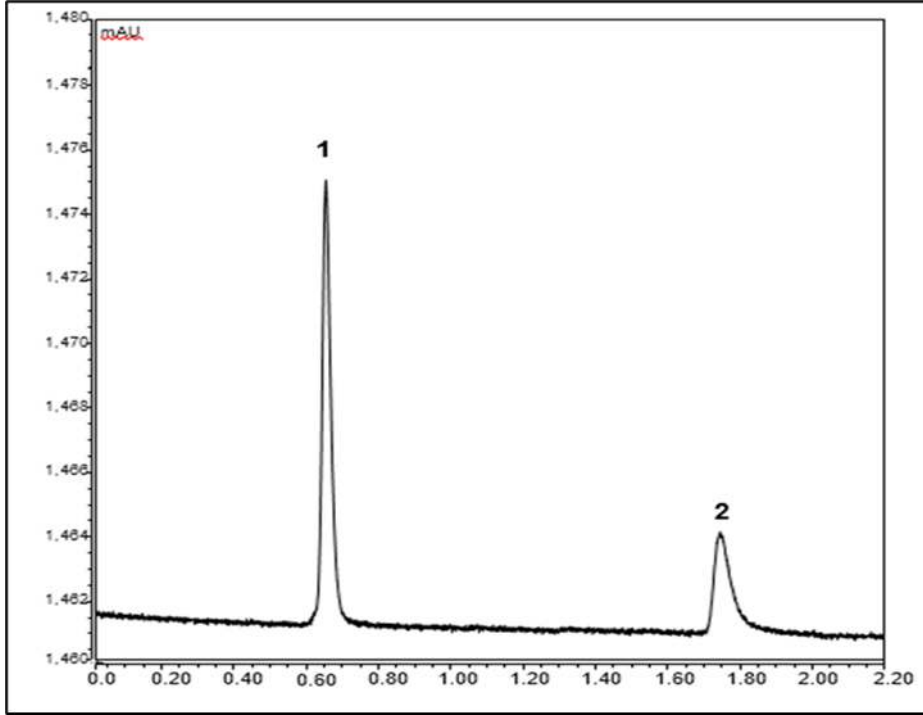
Şekil 4.1. LMA kolonunun (A) x2150 (B) x9500 büyütme SEM görüntüleri (Aydoğan vd., 2023)

Monolitik nano kolonun farklı hareketli fazlara sahip mekanik stabilitesi Şekil 4.2A,B’de gösterildiği gibidir (Aydoğan vd.,2023). Mekanik stabilite her iki mobil fazda da iyi bir korelasyon gösterdi (yani 0,9994’ten fazla). Aynı kimyasal koşullar altında üç monolitik kolon hazırlandı ve kolonlar, göreceli standart sapmalar (RSD’ler) ile değerlendirilen nano-LC’de çalışmadan çalışmaya, günden güne ve kolondan kolona tekrarlanabilirlik açısından test edildi. Çalışmadan çalışmaya, günden güne ve kolondan kolona tekrarlanabilirlik değerleri sırasıyla yaklaşık %2,1, %3,2 ve %3,1 ($n = 3$) idi. LOD, LOQ ve doğrusallığın yanı sıra hassasiyet yöntemi kullanılarak geliştirilen monolit ile nano-LC kullanılarak polen örnekleri denendi. LOD değeri 0,05 $\mu\text{g/kg}$, LOQ değeri 0,48 $\mu\text{g/kg}$ ve R^2 değeri ise 0,9992 olarak hesaplandı. Sonuç olarak geri kazanım değerleri ekstraksiyondan önce eklenen bir analitin ortalama pik alanının ekstraksiyon sonrası eklenen bir analitin ortalama pik alanına oranına dayanır ve her bir ekleme seviyesinde beş tekrar gerçekleştirilerek ($n = 5$) 100 ile çarpıldı; sonuçlar ise iyi bir doğrusallık sergiledi ($R^2 > 0,99$).



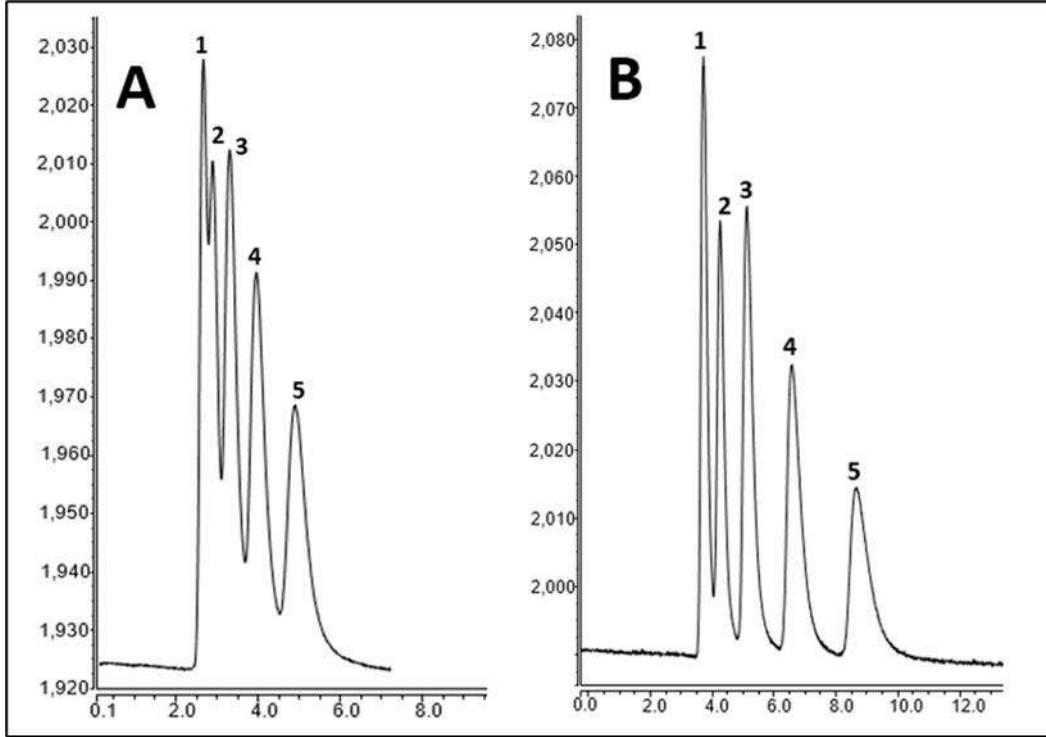
Şekil 4.2. Mobil fazlar **A**: ACN/H₂O (%80:20, v/v) ve **B**: EtOH/2-PrOH (%80:20, v/v) ile LMA kolonunun akış hızına karşı basınç grafiği (Aydoğan vd., 2023)

Test probu olarak etilbenzen (boşluk işaretçisi olarak tiyoüre) ile tekrarlanabilir bir tutma, RSD değerlerinin $\leq 3,18\%$ olarak gösterilmiştir. Bu sonuç, 800 nL/dk akış hızında 1,8 dakikadan daha az süren alıkonma süresinde hiçbir değişiklik olmadan %85/15 (v/v) ACN/H₂O mobil fazı kullanılarak elde edildi (Şekil 4.3). Sonuç olarak ümit verici bir hidrofobik monolit elde edilebileceği sonucuna varıldı.



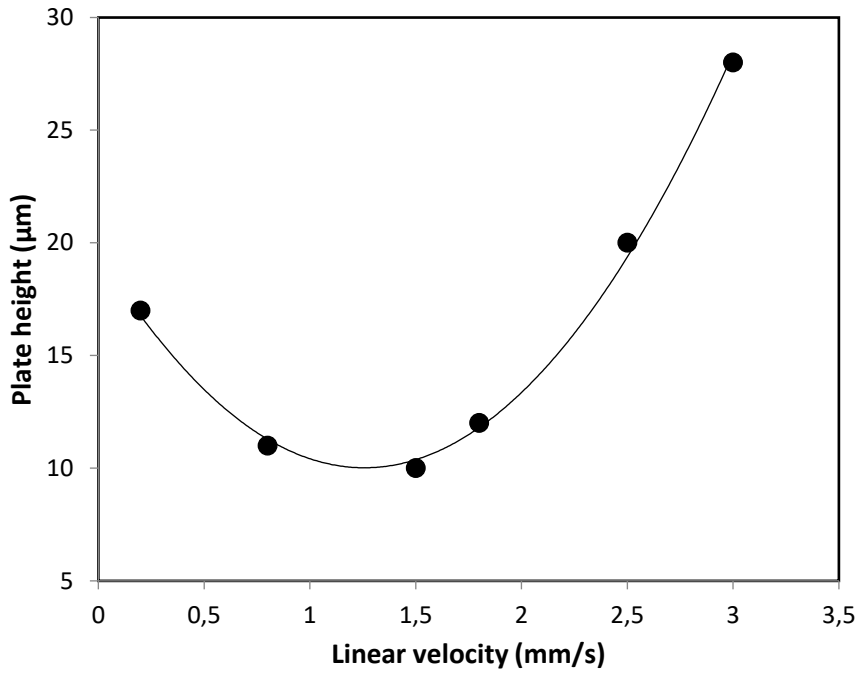
Şekil 4.3. Performans değerlendirmesi için kullanılan karışımının ayırma kromatogramı **Kromatografik koşullar:** mobil faz, ACN:H₂O (%85:15, v/v); akış hızı, 800 nL/dak; enjeksiyon hacmi: 4 nL; algılama dalga boyu: 254 nm; zirveler: **1:** tiiyoüre ve **2:** etilbenzen (Aydoğan vd., 2023)

Monolitik kolonun kromatografik karakterizasyonu, toluen, etilbenzen, propilbenzen, bütilbenzen ve pentilbenzeni içeren beş homolog ABs kullanılarak gerçekleştirildi. İzokratik ayırma, 600 nL/dk'lık bir akış hızında mobil faz olarak ACN:H₂O (%80:20, v/v) kullanılarak denendi. Koşullar bir önceki çalışmaya göre optimize edildi (Aydoğan, 2016; Aydoğan vd., 2022). Şekil 4.4A'da gösterildiği gibi ABs'lerin monolit ile kromatografik olarak ayrılmasında yeterli tutma sağlanamadı. ACN içeriği %60'a düşürüldüğünde istenen ayırma elde edildi (Şekil 4.4B). Bu, hidrofobik etkileşimlerin AB'lerin ayrılmasında ve LMA kolonunun hidrofobikliğinde önemli bir rol oynamasına bağlanabilir.



Şekil 4.4. Alkilbenzenlerin LMA kolonunda farklı ACN içeriklerinde kromatografik olarak ayrılması
Kromatografik koşullar: **A:** mobil faz: ACN:H₂O (%80:20, v/v); analit konsantrasyonu: 0,04 µg/mL; algılama dalga boyu: 200 nm; akış hızı: 600 nL/dk; pik sırası: 1: toluen 2: etilbenzen, 3: propilbenzen, 4: bütilbenzen ve 5: pentilbenzen. **B:** Mobil faz ACN:H₂O (%60:40, v/v); diğer koşullar A ile aynıdır (Aydoğan vd., 2023)

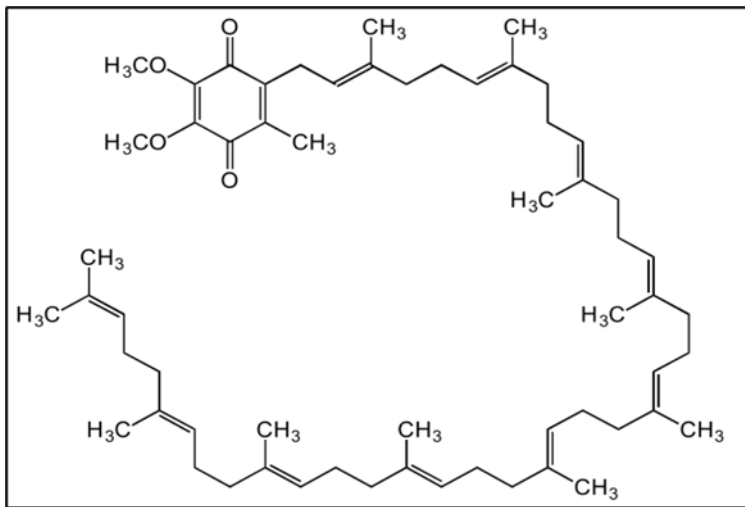
Geliştirilen LMA bazlı kolonun verimliliği, çözünen maddenin büyük ölçüde sabit faz parçacık boyutu (dp) ve difüzyon katsayıları (Dm) tarafından kontrol edilen üç terim tarafından yönlendirilen bileşik bir eğri olan etilbenzen için Van Deemeterplots'a göre değerlendirildi (L.R. Snyder vd., 2011). Monolitik kolon, N~35.000 plaka/m'de üretilen 500 nL/dk'lık akış hızına karşılık gelen 1 mm/s'lik doğrusal mobil faz hızında 9 µm üzerinde ürün verdi (Şekil 4.5). Çalışmamızda arı poleni örneklerinde KoQ10 analizi için 50 m i.d'lik yeni bir monolitik kolon geliştirilmiştir. Hidrofobik sabit faza sahip bu kolonun, hidrofobik etkileşimlere dayalı olarak KoQ10'un kromatografik ayrımı için uygun olduğu bulunmuştur. Geliştirilen kolonun, hidrofobik bir etkileşim mekanizması yoluyla iyi bir şekilde ayrılabilceğini ve bu da KoQ10'un tutulmasını sağlayabileceğini göstermiştir.



Şekil 4.5. Monolitın Van Deemter eğrileri. **Kromatografik koşullar:** mobil faz, ACN:H₂O (%85:15, v/v), enjeksiyon hacmi: 4 nL (Aydoğan vd., 2023)

4.2. Çalışma Tasarımı

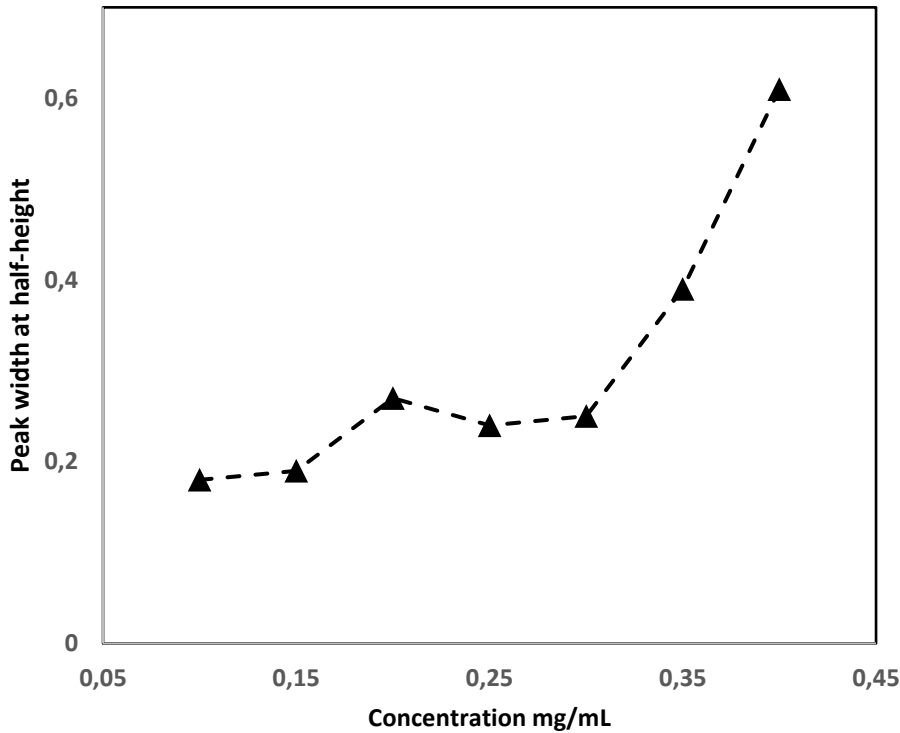
Diyetimizin önemli bir kısmı olan KoQ10, hayvansal ve bitkisel bazlı gıdalarda bulunur. Şekil 4.6, bir kinon grubu ve izoprenoid birimlerinin hidrofobik bir yan zincirini içeren KoQ10'un yapısını göstermektedir.



Şekil 4.6. KoQ10'un yapısı (Aydoğan vd., 2023)

4.3. Yükleme Kapasitesi

Kolonun yüzey alanı önemli bir rol oynadığından, kolon yükleme kapasitesi tepe şeklini büyük ölçüde etkileyebilir. Kapasite kolonun iç çapına bağlıdır. KoQ10'nun ayrılmasındaki numune yüklemesi, 20 nL'lik enjekte edilen numune hacmi uygulanarak 0,05 ila 5 mg/mL arasında değişen çeşitli KoQ10 konsantrasyonlarının enjekte edilmesiyle incelenmiştir. KoQ10 yükleme kapasitesi 0,4 mg/mL olarak belirlendi. Küçük bir numune hacminde tepe genişliğinin üzerinde %10 oranında artış sağlanırken, yarı yükseklikte karşılık gelen tepe genişliği ($W_{1/2}$) kullanılarak elde edildi. Şekil 4.7, 50 μ m-15 cm LMA bazlı monolit kolonun test sonuçlarını göstermektedir. Burada gösterildiği gibi, 0,4 mg/mL'de KoQ10 için $W_{1/2}$ 'nin tepe genişliğinin üzerinde %25 arttığı görülmektedir. Sonuç olarak monolitin KoQ10 ayrımı için iyi bir yükleme kapasitesine sahip olduğu tespit edildi ve monolitin KoQ10'nun ayrılması için iyi bir yükleme kapasitesine sahip olduğu tespit edildi.



Şekil 4.7. KoQ10 kullanılarak 50 μ m-15 cm monolitik kolonun yüklenebilirlik testleri. **Kromatografik koşullar:** mobil faz: MeOH: 2-PrOH: EtOH (2:1:1 h/h), %0,1 TFA ile; akış hızı: 500 nL/dk; enjeksiyon hacmi: 20 nL (Aydoğan vd., 2023)

4.4. Nano-LC İçin Numune Hazırlama ve Kromatografi Koşullarının Optimizasyonu

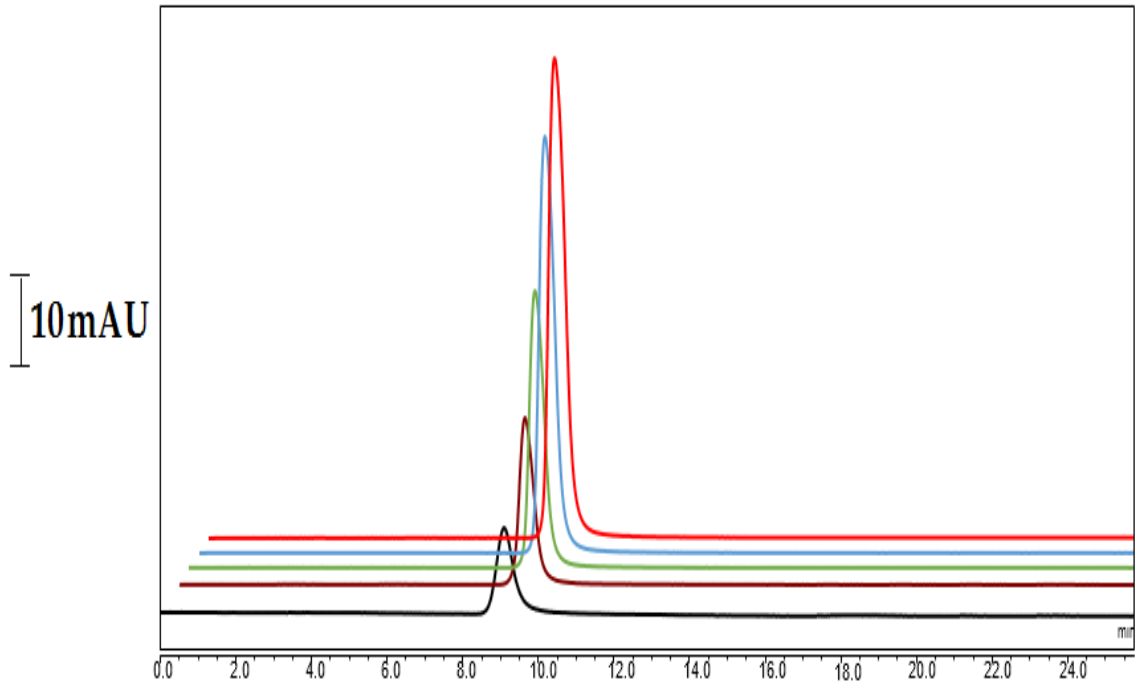
Koşulları optimize etmek için mobil faz içeriği, akış hızı ve enjeksiyon hacmi gibi çeşitli parametreler araştırılırken, yayınlanmış literatüre göre hidrofobik bileşiklerin kullanımına bağlı olarak bazı parametreler değiştirildi. KoQ10, ACN:2-PrOH veya MeOH:2-PrOH gibi çeşitli solvent sistemlerinde iyi çözünürken, uygulanan düşük akış hızı (örn. 500 nL/dak) nedeniyle EtOH:2-PrOH'nin nano-LC için uygun olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Farklı solvent sistemleriyle saatlik 100 ppm KoQ10 çöktürme denemeleri: 1) ACN:2-PrOH (2:1 v/v); 2) MeOH:2-PrOH (2:1 v/v) 3) EtOH:2-PrOH (2:1 v/v)

Yayınlanan literatür göz önüne alındığında (Ercan ve El, 2011; Xue vd., 2012), MeOH:2-PrOH:EtOH'lu solvent sistemi çeşitli oranlarda denenmiştir. Daha sonra her bir solventin oranı sırasıyla MeOH:2-PrOH:EtOH (%2:1:1, v/v) olarak seçildi. LMA, monolitik kolonun yapısında hidrofobik bir ajan olarak hidrofobik etkileşimler sağlamıştır. Sonuç olarak monolit, KoQ10 ile güçlü bir şekilde etkileşime girerek nötr koşullar altında tutulmasını sağlamıştır.

Nano-LC'de ayırma, 300 nL/dk ila 800 nL/dk arasında değişen çeşitli akış hızları uygulanarak KoQ10 standardının tek tek enjeksiyonu gerçekleştirildi. Kromatografik ayırma koşulları, 500 nL/dk akış hızında MeOH/EtOH/2-PrOH (2:1:1 v/v) içeren mobil faz kullanılarak monolitik kolon (50 μ m-15 cm) ile seçildi. Nano-LC-UV kromatogramları yaklaşık 275 nm'de maksimum absorpsiyon değerleri gösterdi. Literatürde 210 ve 278 nm gibi çeşitli tespit dalga boyları denenmiş olmasına rağmen KoQ10 için çoğunlukla 275 nm'de önemli sonuçlar elde edilmiştir (Barshop ve Gangoiti, 2007). Farklı KoQ10 konsantrasyonlarından elde edilen kinetik eğriler, KoQ10'un monolitik kolonda iyi şekilde tutulduğunu gösterir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Farklı KoQ10 konsantrasyonlarının (örn. 0,5 μ g/mL ila 5000 μ g/mL) varlığında elde edilen kinetik eğriler (Aydoğan vd., 2023)

4.5. Taze Arı Polenleri Örneklerinde Koenzim Q10 Analizi

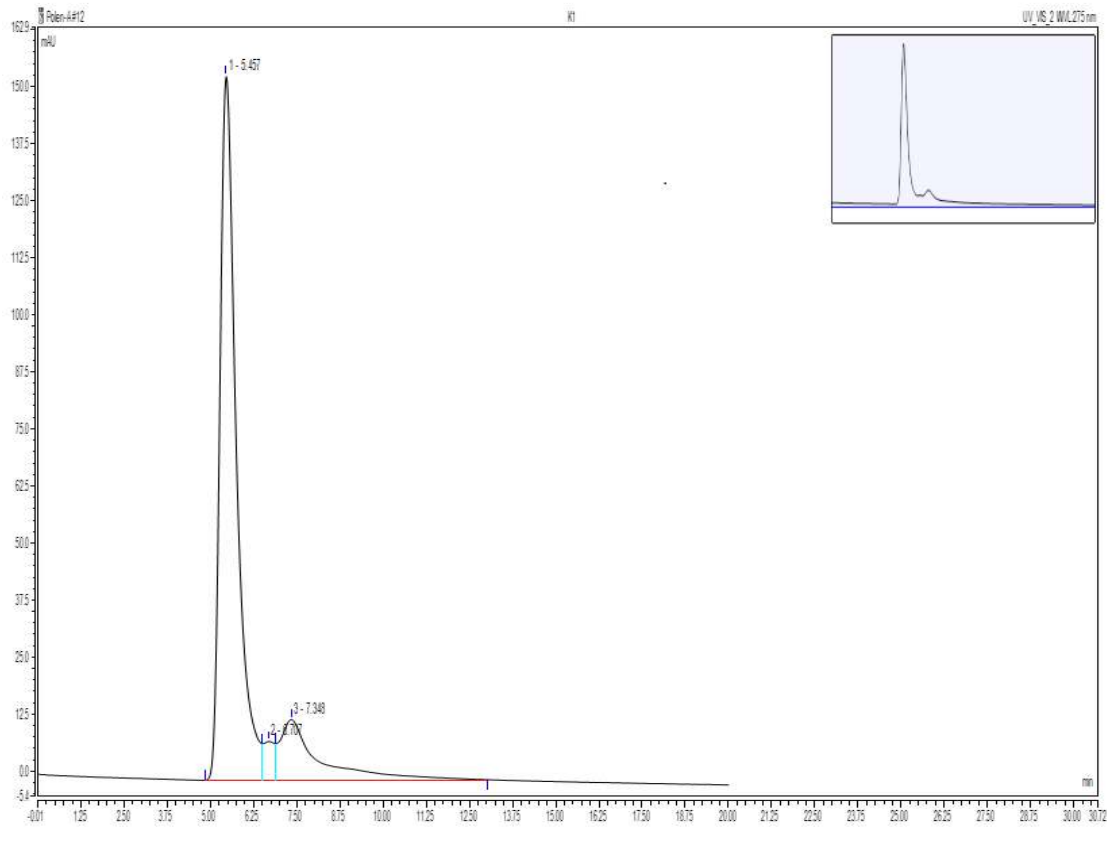
Bingöl ilinin on beş farklı bölgesinden elde edilen taze arı polenlerinin KoQ10 içeriği, optimize edilen LMA bazlı monolitik nano kolon ile nano-LC cihazında saptanmıştır. Analiz sonuçlarına göre, Solhan Hazarşah Yaylası (S1) bölgesine ait taze arı poleninin en yüksek koenzim Q10 içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Adaklı Karbaşan (A2) bölgesi ikinci ve Karlıova Çatak (K3) bölgesi üçüncü en yüksek bölge olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Taze arı poleni örneklerinin KoQ10 içeriği

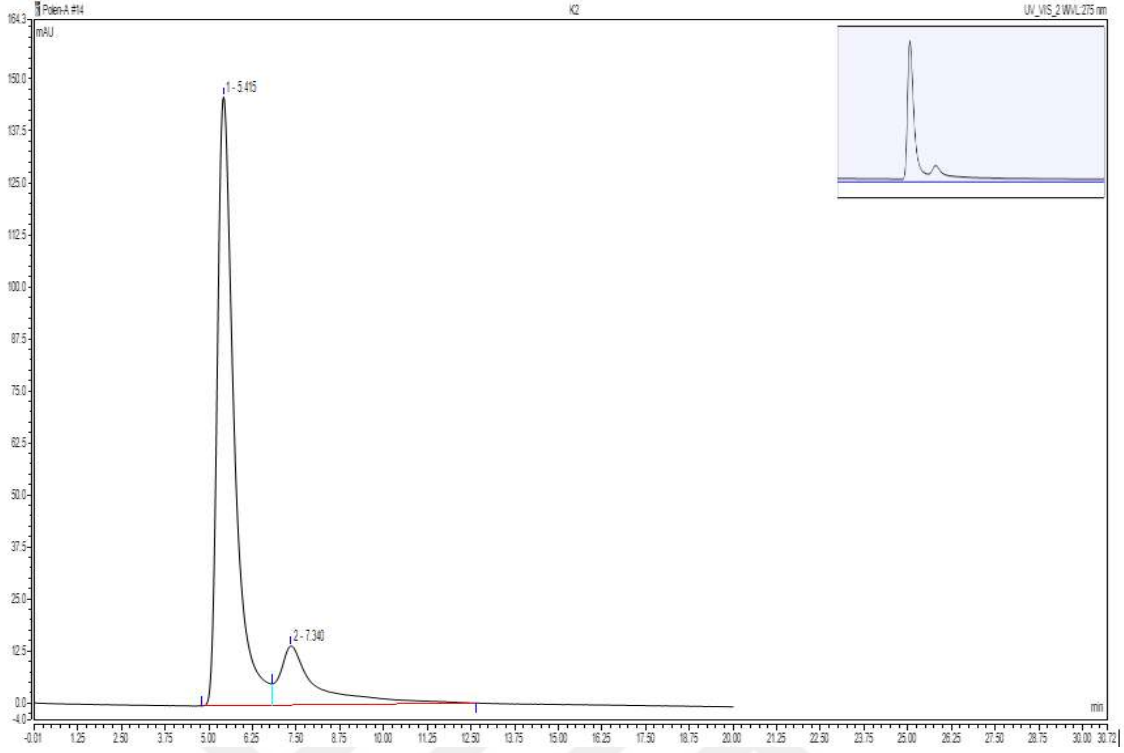
Taze Arı Polenleri	KoQ10 miktarı (mg/kg)
K1	192,4± 2,5
K2	180,4± 3,5
K3	194,7 ± 2,8
M1	176,4± 3,5
M2	174,4± 3,8
M3	179,4± 3,8
A1	194,5± 6,7
A2	201,5± 4,4
A3	193,7± 4,5
Y1	155,8± 6,4
Y2	181,4± 5,8
Y3	182,2± 4,5
S1	224,7 ± 31
S2	158,1 ± 6,4
S3	193,6 ± 2,4

Literatür çalışmalarına bakıldığında arı poleninde KoQ10 analizi sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Çin’de yerel marketlerden alınan botanik kaynağı belli olmayan karışık arı poleni, kayısı arı poleni, çay arı poleni, kolza arı poleni olmak üzere on bir farklı örnekte KoQ10 içeriği araştırılmıştır (Xue vd., 2012). Çalışmada hızlandırılmış solvent ekstraksiyon (ASE) yöntemi kullanılıp, HPLC–DAD sisteminde analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına en yüksek KoQ10 miktarı göre kayısı arı poleni örneklerinde tespit edilmiştir (192,8; 143,2; 136,6; 112,6; 93,6; 86,7; 40,3 mg/kg). En düşük miktar ise çay arı poleninde (3,7 mg/kg) saptanmıştır.

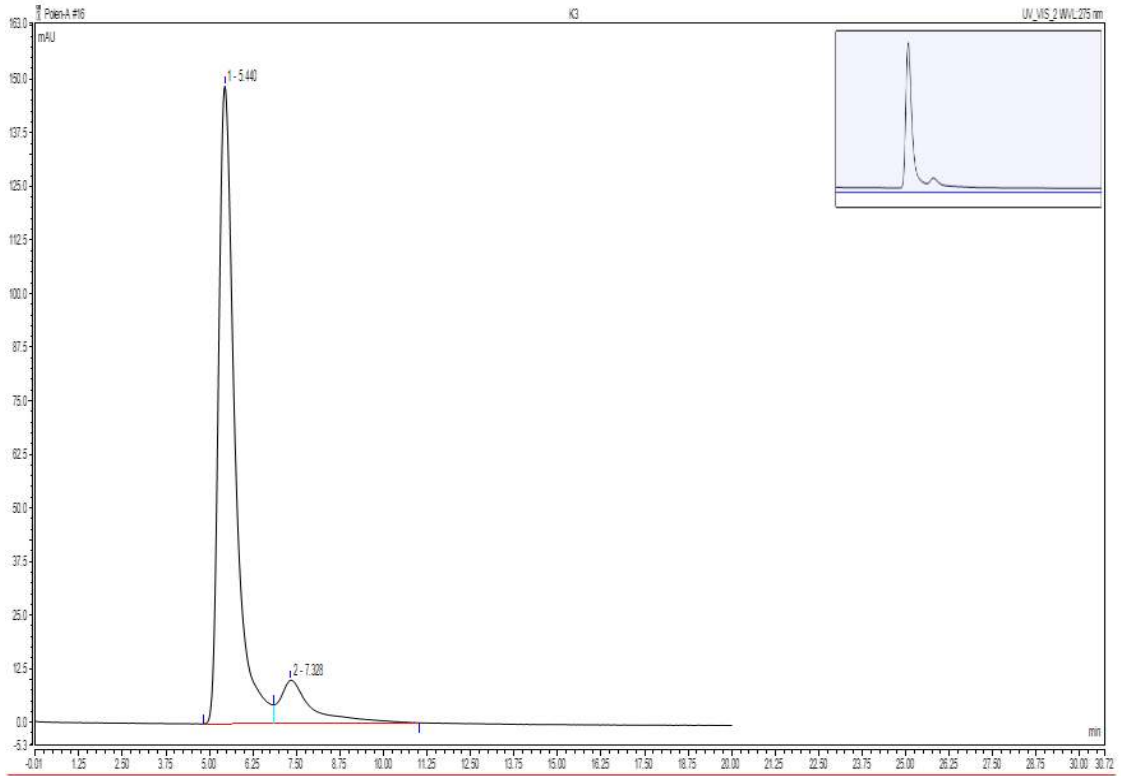
Bu çalışmada ise en yüksek KoQ10 içeriğe sahip olan Solhan Hazarşah Yaylası taze arı poleni monofloral botanik kaynaklı olup, %87,7 oranında *Hypericum* bitkisine ait polen tanesi içermektedir. Monofloral kaynaklı S1, S2, S3, K2, M3 ve A1 arı polenlerinin sırasıyla *Hypericum*, *Hypericum*, *Cirsium*, *Hypericum*, *Trifolium* ve *Verbascum* bitkisine ait olduğu saptanmıştır. Sonuçlara göre monofloral *Verbascum* ve *Cirsium* arı polenlerinin KoQ10 miktarı yüksek olup, birbirine yakın bulunmuştur (sırasıyla $194,5 \pm 6,7$; $193,6 \pm 2,4$ mg/kg). Multifloral botanik kaynaklı olan Y1, Y3 ve K3 bölgelerine ait KoQ10 miktarı ise sırasıyla $155,8 \pm 6,4$; $182,2 \pm 4,5$; $194,7 \pm 2,8$ mg/kg olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda Y1 bölgesi en düşük KoQ10 içeriğine sahip bölge olarak belirlenmiştir. Bölgelere ait taze arı polenlerinin, 275 nm dalga boyunda elde edilen kromatogramları Şekil 4.10-4.24'te gösterildiği gibidir.



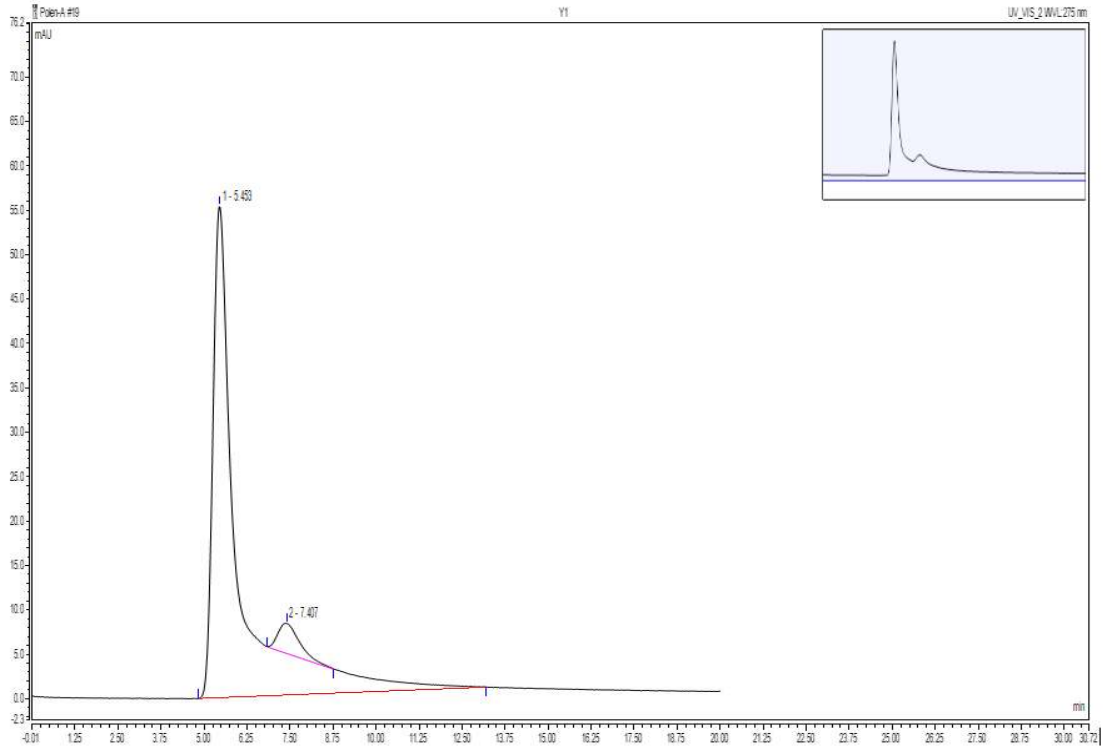
Şekil 4.10. Karlıova Merkez bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



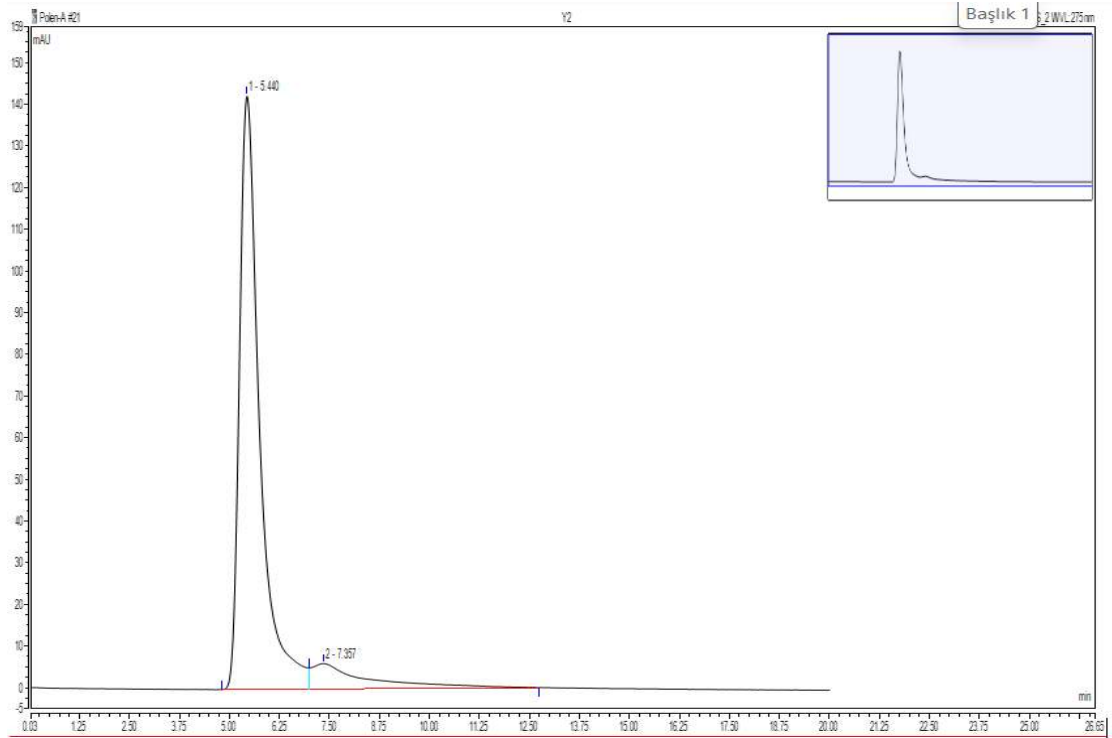
Şekil 4.11. Karlıova Kıraktepe bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



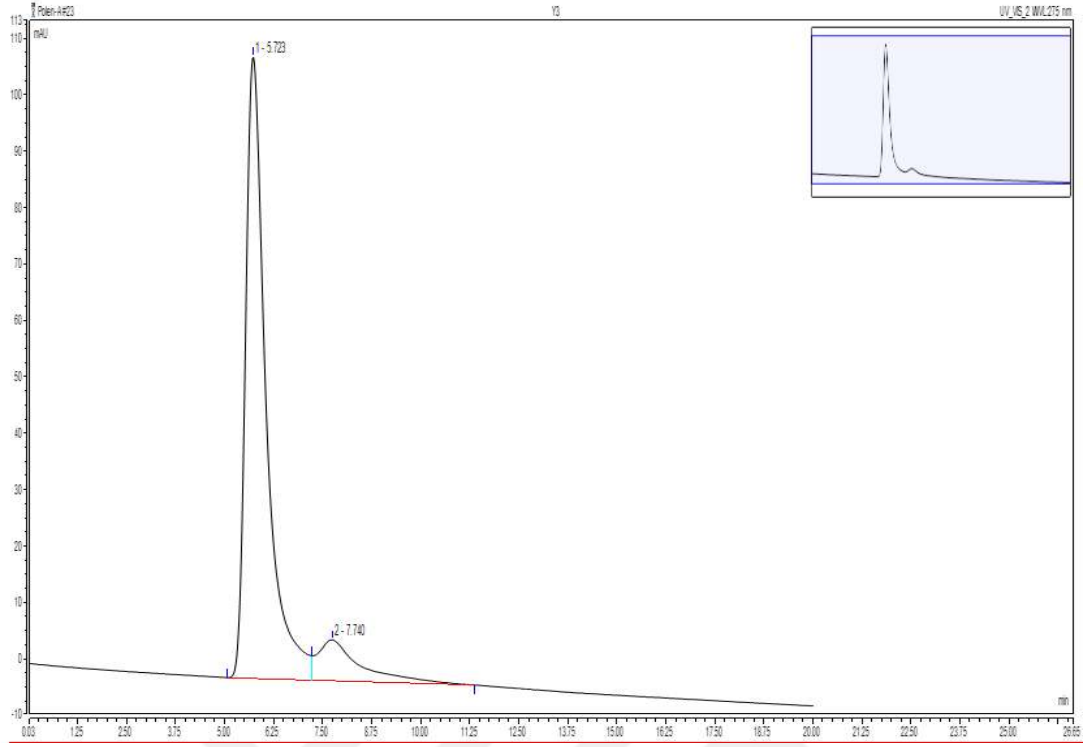
Şekil 4.12. Karlıova Çatak bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



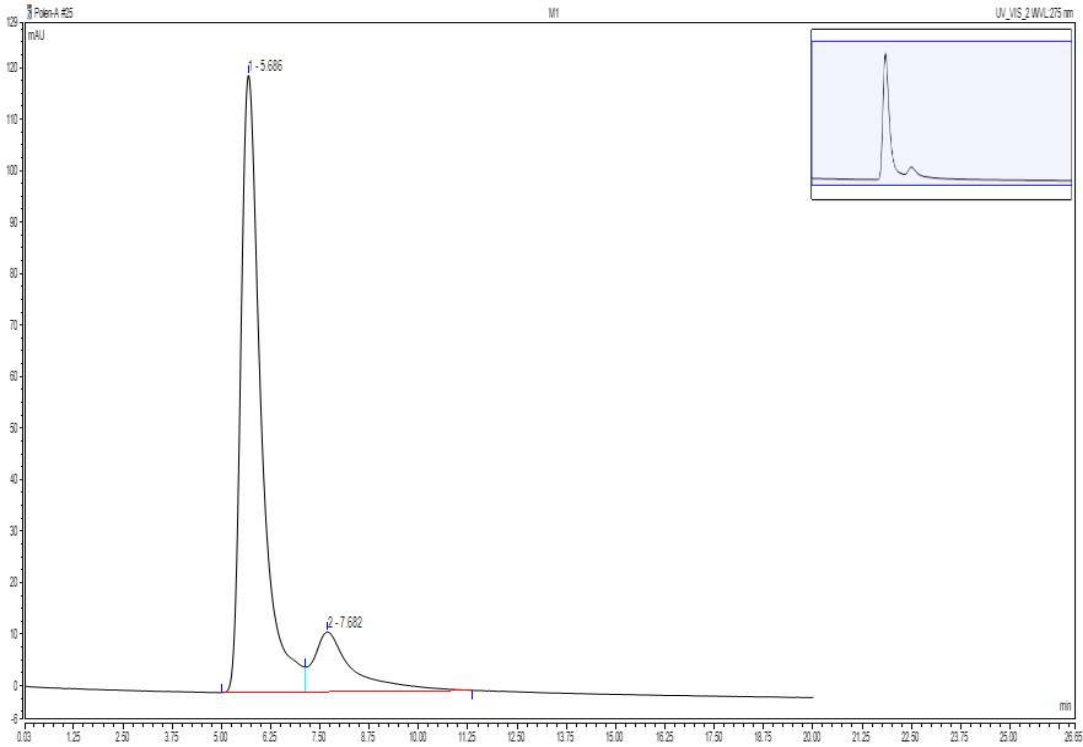
Şekil 4.13. Yayladere Kırköy bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



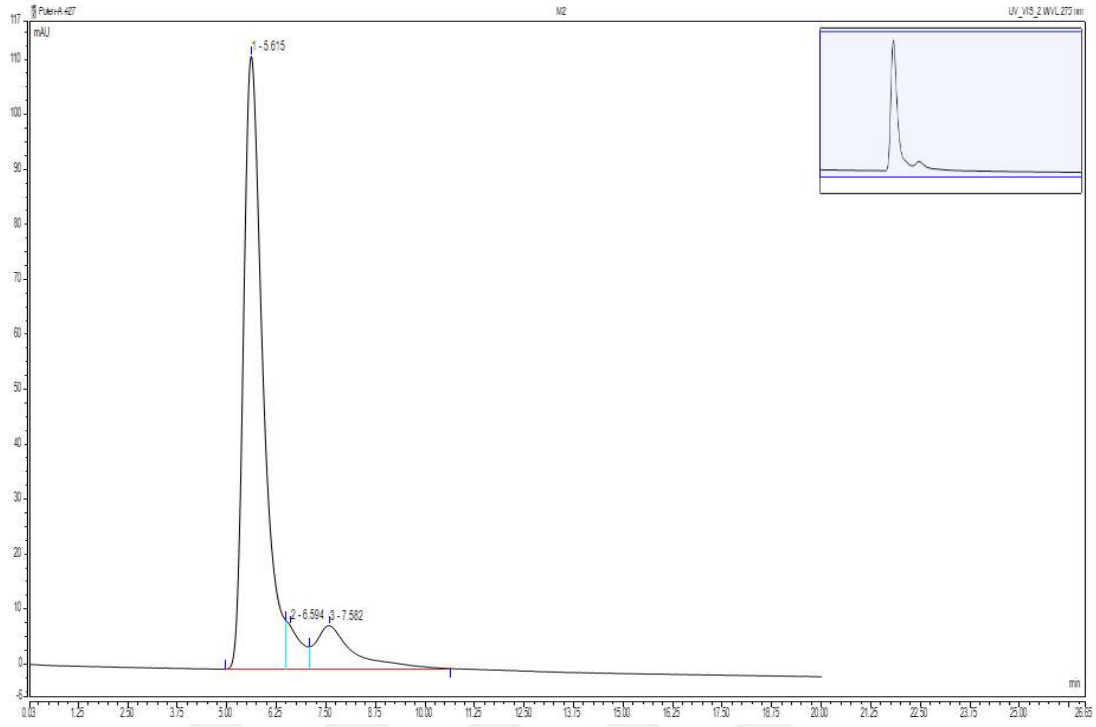
Şekil 4.14. Yayladere Merkez bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



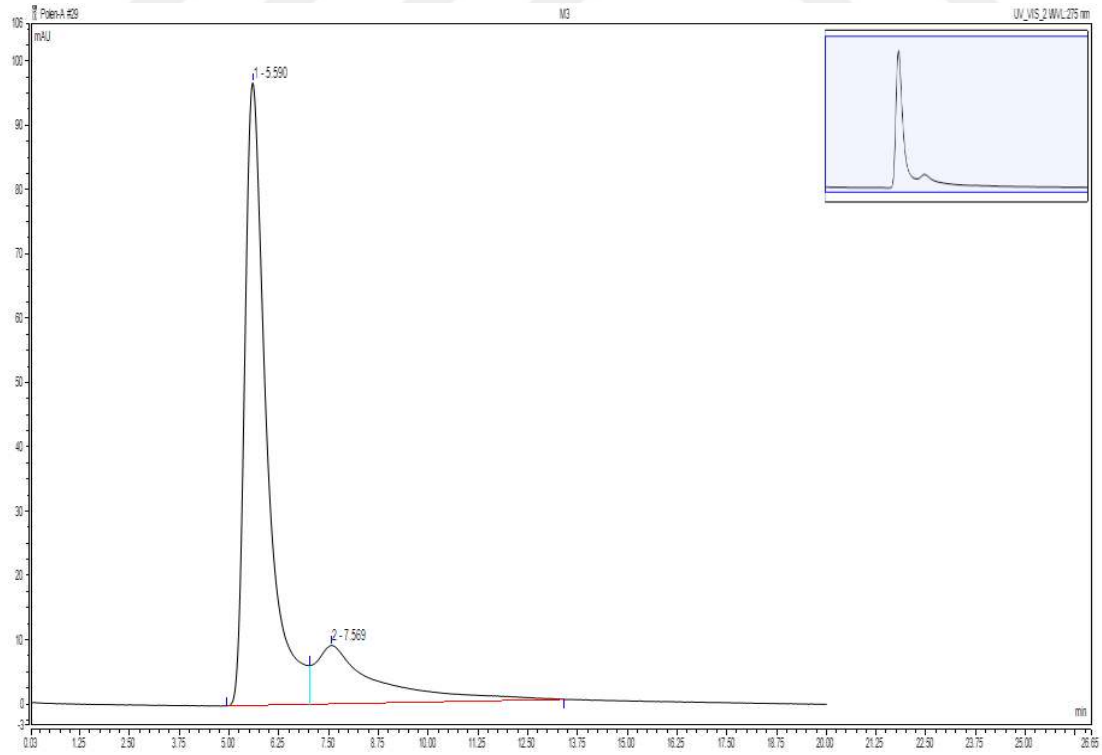
Şekil 4.15. Yayladere Batiyaz bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



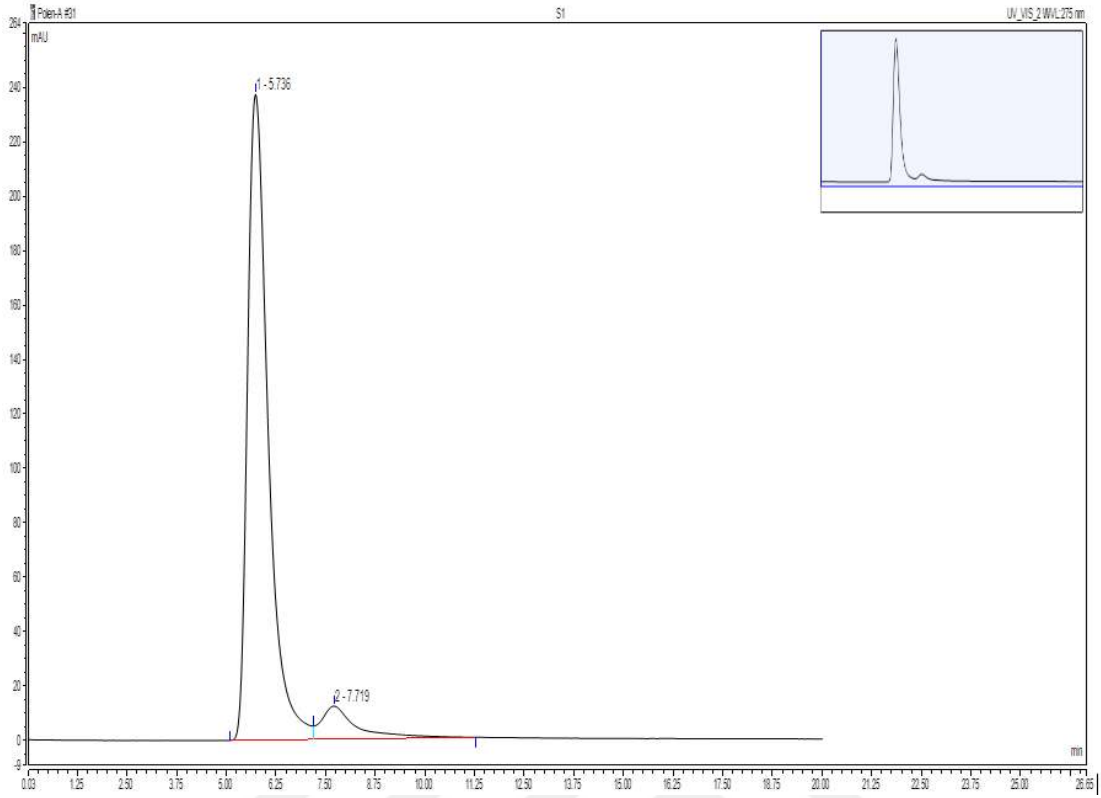
Şekil 4.16. Merkez Kartal Köyü bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



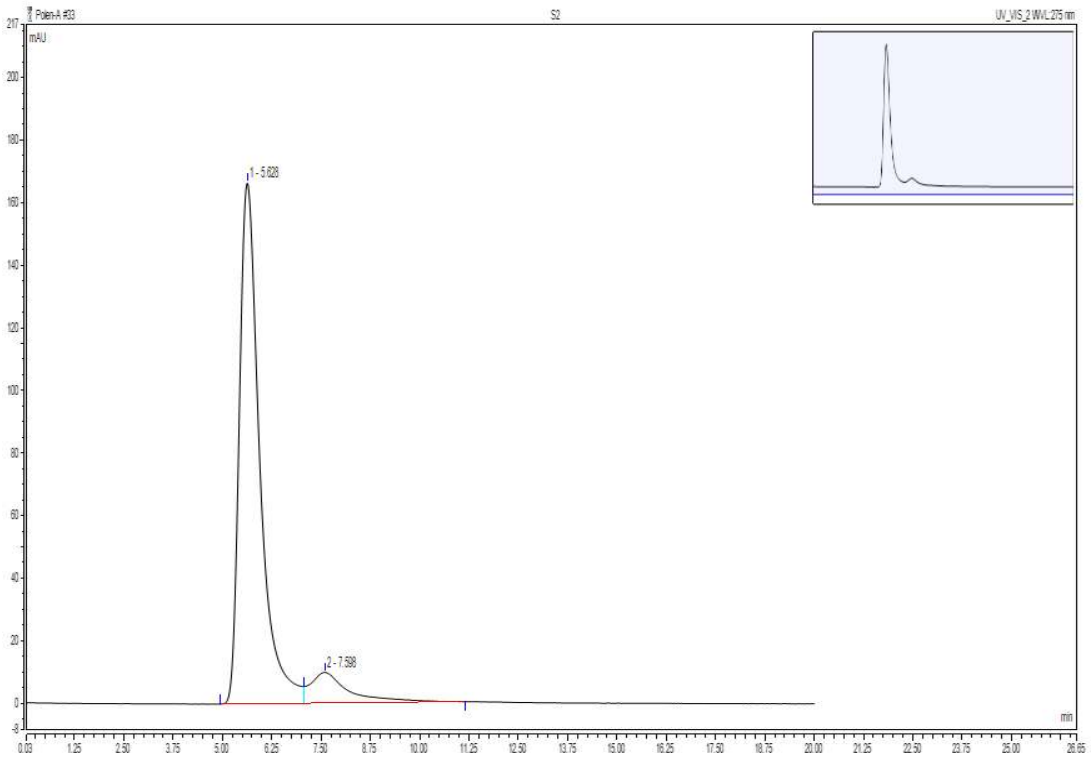
Şekil 4.17. Merkez Şaban bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



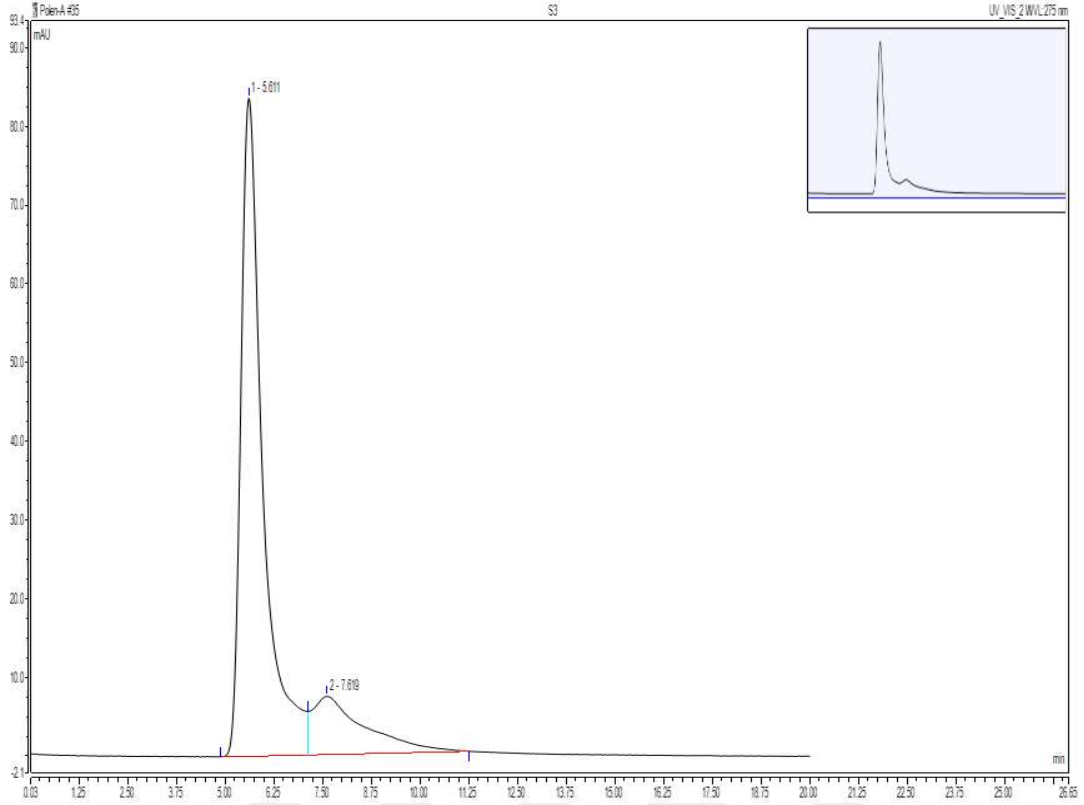
Şekil 4.18. Merkez Kuruca bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



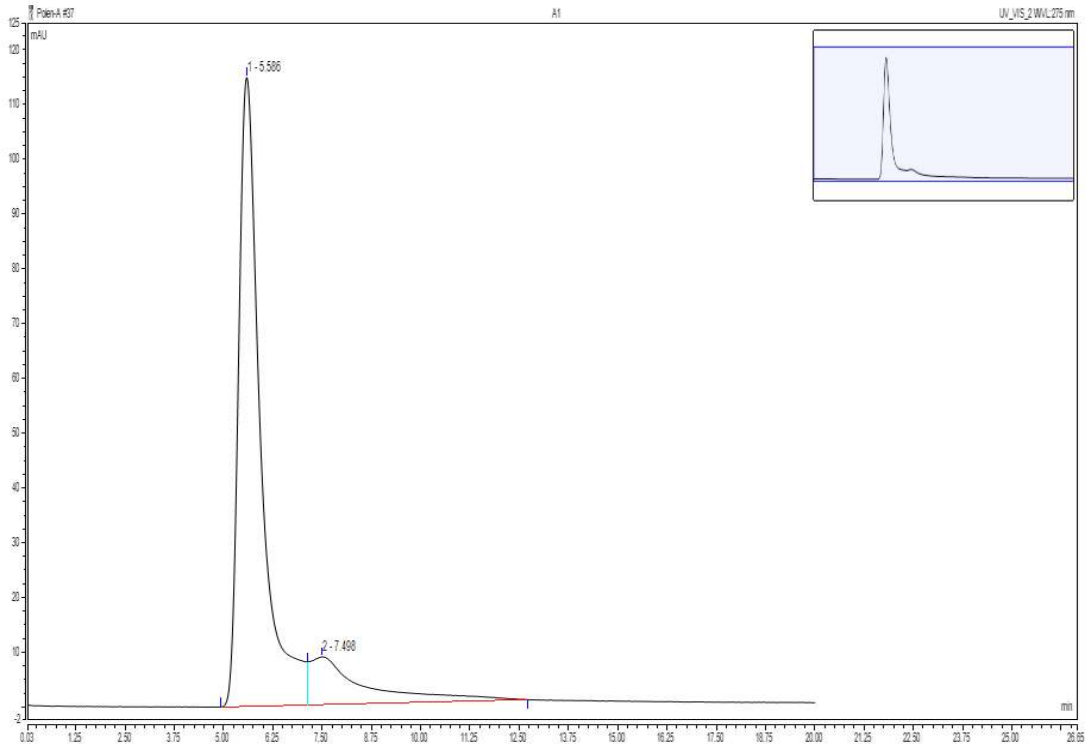
Şekil 4.19. Solhan Hazarşah Yaylası taze arı polenine ait kromatogram



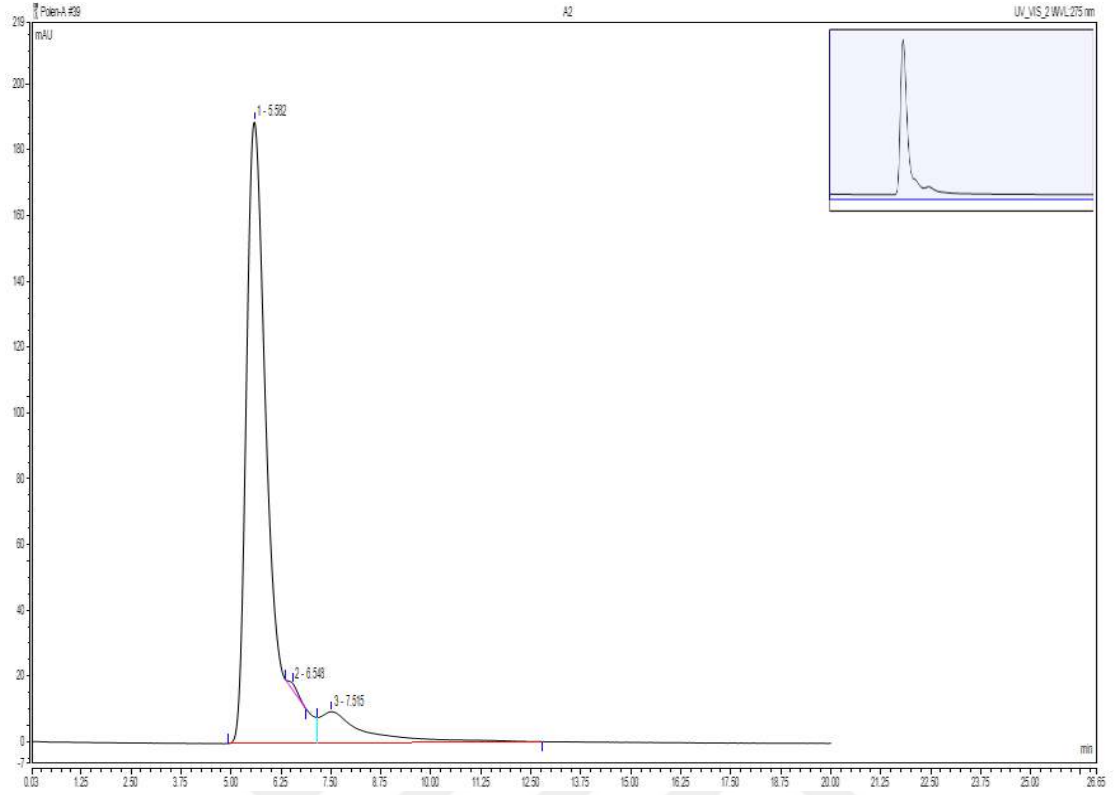
Şekil 4.20. Solhan Yaylası taze arı polenine ait kromatogram



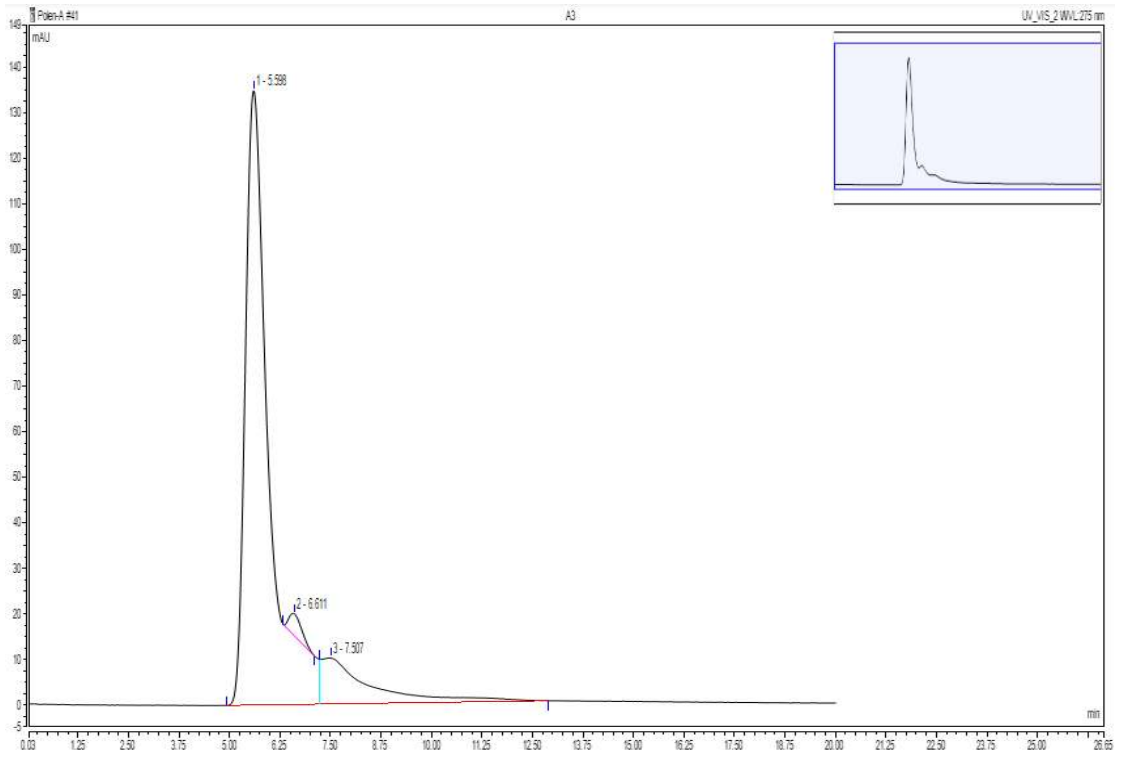
Şekil 4.21. Solhan Ovası taze arı polenine ait kromatogram



Şekil 4.22. Adaklı Merkez bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



Şekil 4.23. Adaklı Karbaşan bölgesi taze arı polenine ait kromatogram



Şekil 4.24. Adaklı Arıca Köyü taze arı polenine ait kromatogram

4.6. Taze Arı Poleninin Palinolojik Analizi

Arıların polen toplama sırasında ziyaret ettiği bitki kaynaklarının çeşitliliği, arı poleninin botanik kökeni hakkında bilgi sağlamaktadır (Halbritter vd., 2018). Bingöl yer alan on beş farklı arılıktan toplanan taze arı poleninin palinolojik olarak tanımlanması için, polen tanelerinin morfolojisi, boyutu, ekzin yapıları ve yüzey süslenmeleri incelenmiştir. Tablo 4.3’de gösterildiği gibi taze arı poleni örnekleri monofloral, bifloral ve multifloral olmak üzere üç kategoride sınıflandırılmıştır:

Tablo 4.3. Taze arı poleninin palinolojik analizi

Örnek	Coğrafi Köken	Botanik Kökeni	Polen Çeşitleri ve Sıklıkları
Y1	Yayladere Kırköy	Multifloral	*****:-
			****:-
			***: <i>Astragalus</i> (30.16)
			** : <i>Brassica</i> (6.3), <i>Campanula</i> (3.17), <i>Cistus</i> (3.17) <i>Daucus</i> (4.8), <i>Eryngium</i> (14.3), <i>Galium</i> (7.9), <i>Hedysarum</i> (4.76), <i>Sanguisorba</i> (3.17), <i>Tanacetum</i> (9.5), <i>Verbascum</i> (6.34)
			*: <i>Crepis</i> (1.6), <i>Cyanus</i> (1.6), <i>Plantago</i> (1.6), <i>Potentilla</i> (1.6), <i>Silene</i> (1.6), <i>Thymus</i> (1.6), <i>Turgenia</i> (1.6),
Y2	Yayladere Merkez	Bifloral/ Hypericum (baskın) ve Hedysarum	*****:-
			****: <i>Hypericum</i> (53.5)
			***: <i>Hedysarum</i> (29.8)
			** : <i>Echium</i> (7.9), <i>Verbascum</i> (4.4)
			*: <i>Astragalus</i> (0.9), <i>Myosotis</i> (0.9), <i>Sanguisorba</i> (1.75), <i>Salix</i> (0.9), <i>Teucrium</i> (2.6), <i>Trifolium</i> (1.75)
Y3	Yayladere Batıayaz	Multifloral	*****:-
			****: -
			***: <i>Filipendula</i> (18.9), <i>Hedysarum</i> (18.9), <i>Hypericum</i> (43.3)
			** : <i>Potentilla</i> (4.4), <i>Sanguisorba</i> (5.6), <i>Trifolium</i> (4.4)
			*: <i>Echium</i> (1.1), <i>Lotus</i> (1.1), <i>Rhus</i> (1.1), <i>Vicia</i> (1.1)
M1	Merkez Kartal Köyü	Bifloral/ Hypericum (baskın) ve Astragalus	*****: <i>Astragalus</i>
			****: <i>Hypericum</i> (70.8)
			***: <i>Astragalus</i> (18.1)
			** : <i>Lotus</i> (3.9), <i>Verbascum</i> (4.7)
			*: <i>Brassica</i> (1.57), <i>Crepis</i> (0.78), <i>Myrtaceae</i> (0.78), <i>Paliurus</i> (1.57), <i>Plantago</i> (0.78), <i>Sanguisorba</i> (1.57)

Tablo 4.3. (Devam) Taze arı poleninin palinolojik analizi

Örnek	Coğrafi Köken	Botanik Kökeni	Polen Çeşitleri ve Sıklıkları
M2	Merkez Şaban Köyü	Bifloral/ Verbascum (baskın)ve Hypericum	*****: -
			****: <i>Verbascum</i> (64.9)
			***: <i>Hypericum</i> (23.4)
			** : -
			*: <i>Astragalus</i> (2.6), <i>Cirsium</i> (1.4), <i>Convolvulus</i> (1.4), <i>Hedysarum</i> (1.4), <i>Lamiaceae</i> (1.3), <i>Lotus</i> (1.4), <i>Sanguisorba</i> (1.4), <i>Turgenia</i> (1.4)
M3	Merkez Kuruca	Monofloral/ <i>Trifolium</i>	*****: <i>Trifolium</i> (81.25)
			****: -
			***: -
			** : <i>Hedysarum</i> (11.875)
			*: <i>Anthemis</i> (0.625), <i>Astragalus</i> (1.9), <i>Cyanus</i> (2.5), <i>Eryngium</i> (0.6), <i>Elaeagnus</i> (0.6), <i>Heracleum</i> (0.625)
K1	Karlhova Merkez	Bifloral/ <i>Hypericum</i> (baskın) ve <i>Verbascum</i>	*****: -
			****: <i>Hypericum</i> (68)
			***: <i>Verbascum</i> (20.5)
			** : -
			*: <i>Astragalus</i> (0.82), <i>Convolvulus</i> (1.6), <i>Epilobium</i> (2.5), <i>Genista</i> (0.82), <i>Lotus</i> (0.82), <i>Papaver</i> (2.5), <i>Pedicularis</i> (1.6), <i>Thymus</i> (0.82)
K2	Karlhova Kırıştepe	Monofloral/ <i>Hypericum</i>	*****: -
			****: <i>Hypericum</i> (71.9)
			***: -
			** : <i>Verbascum</i> (3.7), <i>Papaver</i> (8.15)
			*: <i>Astragalus</i> (2.2), <i>Crateagus</i> (1.48), <i>Euphorbia</i> (0.74), <i>Genista</i> (0.74), <i>Lamium</i> (2.2), <i>Matricaria</i> (0.74), <i>Pedicularis</i> (1.48), <i>Plantago</i> (1.48), <i>Poaceae</i> (0.74), <i>Rumex</i> (0.74), <i>Salvia</i> (0.74), <i>Sanguisorba</i> (0.74), <i>Trifolium pratense</i> (1.48), <i>Trifolium</i> (0.74)
K3	Karlhova Çatak	Multifloral	*****: -
			****: -
			***: <i>Hypericum</i> (45.29)
			** : <i>Eremurus</i> (4.3), <i>Lotus</i> (4.2), <i>Onobrychis</i> (11.96), <i>Poaceae</i> (3.41), <i>Sanguisorba</i> (15.4), <i>Verbascum</i> (6.8)
			*: <i>Cerastium</i> (0.85), <i>Convolvulus</i> (0.85), <i>Pedicularis</i> (0.85), <i>Plantago</i> (1.71), <i>Potentilla</i> (0.85), <i>Crateagus</i> (0.85), <i>Thalictrum</i> (1.71), <i>Rosa</i> (0.85)

Tablo 4.3. (Devam) Taze arı polenin palinolojik analizi

Örnek	Coğrafi Köken	Botanik Kökeni	Polen Çeşitleri ve Sıklıkları
S1	Solhan Hazarşah Yaylası	Monofloral/ <i>Hypericum</i>	*****: <i>Hypericum</i> (87.7)
			****: -
			***: -
			** : <i>Eremurus</i> (3.5)
			*: <i>Centaurea</i> (0.9), <i>Cerastium</i> (0.9), <i>Onobrychis</i> (0.9), <i>Lotus</i> (2.6), <i>Pedicularis</i> (1.8), <i>Sanguisorba</i> (0.9), <i>Thymus</i> (0.9), <i>Verbascum</i> (0.9)
S2	Solhan Yaylası	Monofloral/ <i>Hypericum</i>	*****: -
			****: <i>Hypericum</i> (71.25)
			***: -
			** : <i>Pedicularis</i> (5), <i>Plantago</i> (5), <i>Sanguisorba</i> (8.75),
			*: <i>Artemisia</i> (1.25), <i>Centaurea</i> (1.25), <i>Crateagus</i> (2.5), <i>Lonicera</i> (1.25), <i>Rhus</i> (2.5), <i>Verbascum</i> (1.25)
S3	Solhan Ovası	Monofloral/ <i>Cirsium</i>	*****: -
			****: <i>Cirsium</i> (74.2)
			***: -
			** : <i>Astragalus</i> (4.5), <i>Crepis</i> (10.6), <i>Populus</i> (3.03)
			*: <i>Centaurea</i> (1.51), <i>Hypericum</i> (1.5), <i>Plantago</i> (1.5), <i>Vicia</i> (1.52), <i>Verbascum</i> (1.51)
A1	Adaklı Merkez	Monofloral/ <i>Verbascum</i>	*****: <i>Verbascum</i> (92.3)
			****: -
			***: -
			** : <i>Papaver</i> (4.2)
			*: <i>Astragalus</i> (0.7), <i>Campanula</i> (0.7), <i>Centaurea</i> (0.7), <i>Hypericum</i> (0.7),
A2	Adaklı Karbaşan	Bifloral/ <i>Verbascum</i> (baskın) ve <i>Hypericum</i>	*****: -
			****: <i>Verbascum</i> (72.1)
			***: <i>Hypericum</i> (19.1)
			** : <i>Papaver</i> (3.5)
			*: <i>Campanula</i> (0.87), <i>Convolvulus</i> (0.87), <i>Pedicularis</i> (0.87), <i>Potentilla</i> (0.87), <i>Sanguisorba</i> (0.87), <i>Vicia</i> (0.87)

Tablo 4.3. (Devam) Taze arı poleninin palinolojik analizi

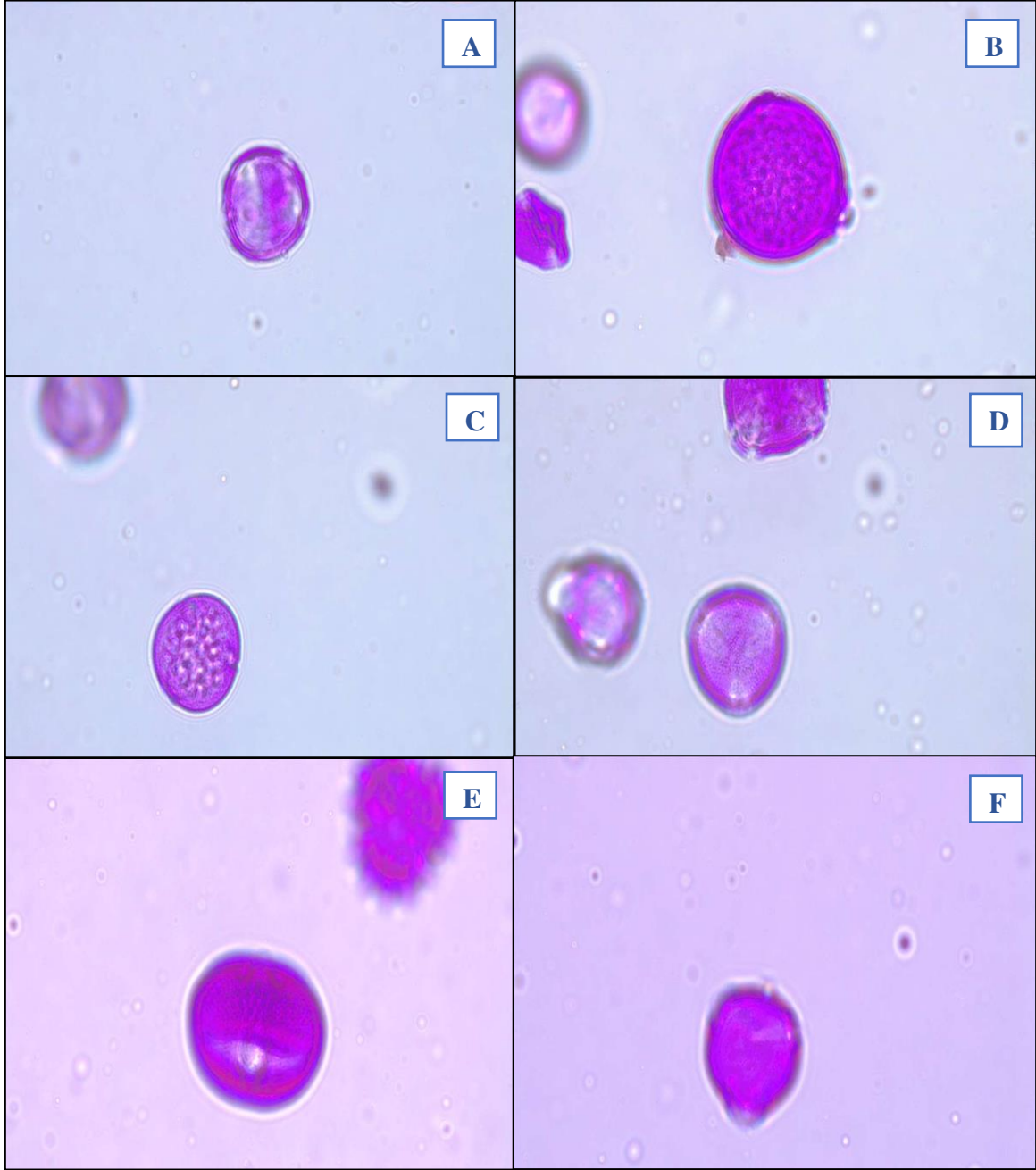
Örnek	Coğrafi Köken	Botanik Kökeni	Polen Çeşitleri ve Sıklıkları
A3	Adaklı Arıca Köyü	Bifloral/ <i>Verbascum</i> (baskın) ve <i>Hypericum</i>	*****: -
			****: <i>Verbascum</i> (70.2)
			***: <i>Papaver</i> (24.56)
			** : -
			*: <i>Centaurea</i> (0.87), <i>Eremurus</i> (0.87), <i>Hedysarum</i> (0.87), <i>Hypericum</i> (0.87), <i>Vicia</i> (0.87), <i>Xeranthemum</i> (0.87)

*****: > 80%; **** 46-80%; *** 15-45%; ** 3-15%; * < 3.

Bingöl bölgesinden elde edilen on beş farklı taze arı poleni örneği üzerinde yapılan palinolojik analiz sonucunda 22 bitki familyası belirlenmiştir. Polen örneklerinden altı adedi, monofloral olarak sınıflandırılmıştır. Monofloral polen örnekleri Merkez Kuruca (*Trifolium*), Karlıova Kırachtepe (*Hypericum*), Solhan Hazarşah Yaylası (*Hypericum*), Solhan Yaylası (*Hypericum*), Solhan Ovası (*Cirsium*) ve Adaklı Merkez (*Verbascum*) bölgelerine aittir. Altı örnek, bifloral olarak sınıflandırılmıştır. Yayladere Merkez *Hypericum* ve *Hedysarum*, Merkez Kartal Köyü *Hypericum* ve *Astragalus*, Merkez Şaban Köyü *Verbascum* ve *Hypericum*, Karlıova Merkez *Hypericum* ve *Verbascum*, Adaklı Karbaşan *Verbascum* ve *Hypericum* ve son olarak Adaklı Arıca Köyü *Verbascum* ve *Hypericum* bitkilerine ait bifloral polen örnekleridir. S1 ve M3 örnekleri baskın polen türlerini en yüksek oranda içermekte olup, A1 örneklerinin neredeyse tamamı *Verbascum* sp'den (%92,3) oluşmuştur. M3 ve Y1 dışındaki tüm örneklerde *Hypericum* bitkisi poleni tespit edildi. *Hypericum*, *Verbascum*, *Trifolium* ve *Cirsium* en baskın türler olarak bulunmuştur. Baskın polen türlerine ait mikroskop görüntüleri Şekil 4.25'te gösterilmektedir. Bu taksonlar Bingöl'de doğal olarak yetiştiği için arıcılık açısından da önem taşımaktadır (Behçet ve Yapar, 2019).

Solhan yöresine ait, arıcılık potansiyeli yüksek olan bitkilerin araştırılması ile ilgili yapılan bir çalışmada, 25 bitki familyasına ait 100 bitki taksonu tespit edilmiştir. Bu taksonlardan 7 tanesi endemik olup; en fazla taksona sahip familyalar sırasıyla Asteraceae, Lamiaceae, Fabaceae, Rosaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae, Hypericaceae ve Asparagaceae şeklindedir (Polat vd., 2020). Bu çalışmaya benzer olarak *Hypericum* bitkisine ait polen tanesi S1 ve S2 bölgelerinde tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasına paralel şekilde başka bir

çalışmada Bingöl ilinden toplanan arı polenlerinde *Hypericum* ve *Verbascum* taksonlarına ait polen tanelerinin yüksek oranda tespit edildiği rapor edilmiştir (Çobanoğlu vd., 2023).



Şekil 4.25. Baskın polen türlerine ait mikroskop görüntüleri **A:** *Hypericum* **B:** *Sanguisorba* **C:** *Rumex* **D:** *Verbascum* **E:** *Cyanus* **F:** *Astragalus*

Bingöl’de tespit edilen polen türleri yapılan bir diğer çalışmada da mevcuttur ve bu tez çalışmasında da benzer sonuçlar kaydedilmiştir (Çobanoğlu vd., 2023). Araştırmada, Bingöl bölgesine ait arı polenlerinin %25’i monofloral, %75’i ise multifloral olarak

sınıflandırılmıştır. Scrophulariaceae (%31,9), Papaveraceae (%23,4), Fabaceae (%12) ve Asteraceae (%10,1) familyalarına ait bitki taksonları tespit edilmiştir. *Verbascum* spp., *Papaver* spp., *Vicia* spp., *Acantholimon calverti*, *Acantholimon* spp. ve *Hypericum* spp. taksonları tüm numunelerde yüksek insidansla bulunduğu belirtilmiştir (Çobanoğlu vd., 2023). Üstelik bu polen türleri İtalya gibi diğer ülkelerde de gözlemlenmiştir (De Jesus Inacio vd., 2021).

4.7. Taze Arı Poleninin Renk Analizi

Renk, arı poleninin görünümü ve tüketiciye çekici gelmesi için en önemli kriterlerden biridir (De Jesus Inacio vd., 2020). Bu tezde arı polenlerinin L^* değeri $41,41 \pm 0,01$ - $62,20 \pm 0,14$ arasında elde edilmiştir. L^* değeri açıklık-koyuluk ile ilişkili olup, arı poleni örneklerinin L^* değeri on iki arı poleni türünde 50'den yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla bu tip örneklerin açık renkli olduğu söylenebilir. Merkez Kuruca, Solhan Ovası ve Yayladere Kırköy bölgelerinden elde edilen arı polenlerinin L^* değeri sırasıyla $49,95 \pm 0,38$; $48,01 \pm 0,24$; $41,41 \pm 0,01$ 'dur. Yani 50'den küçük olması koyu renkli anlamına gelmektedir. Polen tanelerinin rengi botanik türüne ve olgunluk derecesine bağlı olarak değişmektedir (Bleha vd., 2021a). a^* kırmızı (+)-yeşil (-) olup, a^* değeri $7,63 \pm 0,04$ - $18,58 \pm 0,05$ arasında bulunmuştur. a^* değeri Yayladere Kırköy arı polenlerinde en yüksek ($18,58 \pm 0,05$), Adaklı Arıca Köyü arı polenlerinde ise en düşük ($7,63 \pm 0,04$) bulunmuştur. Farklı renklerde olabilen polen taneleri, bitki çeşidine göre turuncu, kırmızımsı, yeşilimsi, mavi, beyaz ve gri renkte olabilir. b^* sarı (+)-mavilik (-) olup, b^* değeri $29,98 \pm 0,25$ - $57,88 \pm 0,79$ arasında ölçülmüştür. Sonuçlara göre Yayladere Batıyaz ve Adaklı Arıca Köyü arı polenleri sırasıyla en yüksek ve en düşük b^* değerlerine sahiptir (Tablo 4.4). Çiçek poleninde renginden sorumlu iki farklı bitki pigmenti yapısal grubu bulunmuştur: Bunlar karotenoidler, konjuge CC bağlarına sahip hidrokarbonlar ve flavonoidlerdir; hidroksil içeren aromatikler ve diğer polar gruplardır. Arı poleninde tanımlanan ana karotenoidlerin α - ve β -karoten, kriptoksantin, zeaksantin, neoksantin ve lutein olduğu rapor edilmiştir (Salazar-Gonz'alez ve diğerleri, 2020). Polen tanesi pigmentlerinin bileşimi arı poleninin renginin oluşmasında etkilidir. Aynı renkteki polen taneciklerine sahip olan arı polenine monokromatik, birden fazla renge sahip olana ise polikromatik denir. Renk ile botanik köken arasında doğrudan bir ilişki bulunmadığından mono/polikromatik arı poleni monofloral veya polifloral olabilir. Ancak arı poleninin

tanımlanmasında görsel renk tahmini yaygın olarak kullanılmaktadır (Almeida-Muradian vd., 2005b; Bleha vd., 2021b).

Tablo 4.4. Taze arı poleni örneklerinin renk analizi

Taze Arı Poleni Örnekleri	L*	a*	b*
Merkez Kartal Köyü	57,66± 0,52	12,74±0,02	45,63±0,47
Merkez Şaban Köyü	60,44± 0,09	10,06±0,02	44,75±0,14
Merkez Kuruca	49,95± 0,38	13,82±0,13	39,79±0,26
Solhan Hazarşah Yaylası	56,16±0,11	12,37±0,07	50,71±0,31
Solhan Yaylası	58,16±1,69	8,02±0,06	45,64±0,52
Solhan Ovası	48,01±0,24	11,19±0,14	37,74±0,61
Adaklı Merkez	55,26±0,34	10,35±0,14	31,33±0,44
Adaklı Karbaşan	55,24±0,09	10,12±0,05	33,52±0,24
Adaklı Arıca Köyü	58,92±0,23	7,63±0,04	29,98±0,25
Karhova Merkez	61,08±0,11	12,39±0,02	52,11±0,51
Karhova Kırachtepe	62,20±0,14	8,94±0,05	40,32±0,35
Karhova Çatak	58,83±0,15	9,84±0,04	46,44±0,13
Yayladere Kırköy	41,41±0,01	18,58±0,05	38,43±0,02
Yayladere Merkez	52,14±0,14	12,29±0,06	39,27±0,46

Tablo 4.4. (Devam) Taze arı poleni örneklerinin renk analizi

Taze Arı Poleni Örnekleri	L*	a*	b*
Yayladere Batıayaz	59,97±0,14	15,47±0,07	57,88±0,79

Ortalama±standart sapma (n = 3).

4.8. Kahvaltılık Gevreklerin Duyusal ve Renk Analizi

Kontrol ve Solhan Hazarşah Yaylası arı poleni ilave edilen kahvaltılık gevrek örneklerinin duyusal analizleri yapılmıştır (Tablo 4.5). Sonuçlara göre arı poleni eklenen kahvaltılık gevrekler daha lezzetli olarak değerlendirilmiştir (4,05). Sertlik kontrol grubuna göre daha yüksek bulunurken renk daha koyu olarak puanlanmıştır. Genel kabul edilebilirlik ve beğeni değerlendirmesinde gruplar arasında fark görülmemiştir (3,80). Numuneler 3 dk süt içerisinde bekletildiğinde arı poleni eklenen kahvaltılık gevreklerin yumuşaması için 3 dakikanın yeterli olmadığı görülmüştür (2,45).

Tablo 4.5. Kahvaltılık gevreklerin duyusal analizi

Kahvaltılık Gevrek Örnekleri	Renk	Sertlik	Sertlik ve gevreklik	Tat ve Lezzet	Sütte 3. dakikada yumuşama	Genel beğeni
Kontrol	3,95±0,60 ^a	3,95±0,60 ^a	3,75±0,85 ^a	3,90±0,71 ^a	2,95±1,35 ^a	3,80±0,95 ^a
Arı poleni katılan	3,85±0,81 ^b	4,05±0,57 ^b	4±0,56 ^b	4,05±0,68 ^b	2,45±1,23 ^b	3,80±0,76 ^b

Ortalama±standart sapma (n = 20). Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında önemli farklılıklar anlamına gelir ($p < 0,05$).

Renk analizi yapılan kahvaltılık gevrek örneklerinde kontrol grubunun L* değerinin arı poleni grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4.6). Bu sonuç arı polenin sarı renginin hamurun renk tonunun koyulaştırmasıyla ilişkilidir. a* ve b* değerlerine

(sırasıyla 5,71 ve 38,89) bakıldığında arı poleni içeren kahvaltılık gevreklerin değerinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Tablo 4.6. Kahvaltılık gevreklerin renk analizi

Kahvaltılık Gevrek Örnekleri	L*	a*	b*
Kontrol	82,62±0,17 ^a	2,21±0,09 ^a	24,09±0,36 ^a
Arı poleni katılan	74,30±1,26 ^b	5,71±0,61 ^b	38,89±1,29 ^b

Ortalama±standart sapma (n = 3). Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında önemli farklılıklar anlamına gelir ($p < 0,05$).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında Bingöl iline ait farklı bölgelerden alınan taze arı polenleri incelenmiştir. Çalışmada kullanılan taze arı polenleri on beş farklı yörede arıcılık yapan arıcılardan temin edilmiştir. Arı polenlerinin, biyolojik süreçlerde etkin rol oynayan son derece önemli bir provitamin olan koenzim Q10 içeriği nano-LC cihazı ile belirlenmiştir.

KoQ10 analizi için öncelikle, polimer monolit çeşitlerinden biri olan metakrilat bazlı monolit denemesi yapılmıştır. Monolit hazırlanırken, monomer olarak LMA kullanılmış, denemeler sonucunda laboratuvar ortamında LMA bazlı monolitik nano kolon başarıyla geliştirilmiştir. LMA bazlı nano kolon kullanılarak nano-LC cihazıyla yapılan analizler sonucunda, Solhan Hazarşah Yaylası yöresine ait taze arı poleni en yüksek KoQ10 içeriğine sahip bölge olarak saptanmıştır. Sırasıyla Adaklı Karbaşan bölgesi ikinci ve Karlıova Çatak bölgesi üçüncü bölge olarak tespit edilmiştir.

Bitki kaynağının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen palinolojik analizler sonucunda, yirmi iki bitki ailesine ait elli dört polen çeşidi gözlemlenmiştir. Altı bölgenin monofloral, altı bölgenin bifloral ve üç bölgenin ise multifloral bitki desenine sahip olduğu saptanmıştır. *Hypericum*, *Hedysarum*, *Astragalus*, *Verbascum*, *Trifolium* ve *Cirsium* türleri baskın türleri olarak kaydedilmiştir.

Renk analizi sonuçlarına göre Merkez Kuruca, Solhan Ovası ve Yayladere Kırköy arı polenlerinde düşük L* değeri hesaplanmıştır. En yüksek a* değeri Yayladere Kırköy taze arı polenlerinde, en düşük a* değeri ise Adaklı Arıca Köyü taze arı polenlerinde belirlenmiştir. Yayladere Batıyaz arı polenlerinde ise en yüksek b* değeri ölçülmüştür. En yüksek koenzim Q10 içeriğine sahip Solhan Hazarşah Yaylası taze arı poleni kullanılarak arı polenli kahvaltılık gevrek üretimi yapılmıştır. Kahvaltılık gevreklerin duyusal analizleri sonucunda kontrol ve arı polenli gevreklerin genel beğeni ve kabul edilebilirlik düzeyleri arasında fark olmamakla beraber, arı polenli gevrek daha sert olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak, Bingöl'ün çeşitli bölgelerinden temin edilenn arı polenlerinin daha önce saptanmayan farklı bir bileşeni (KoQ10) belirlenmiş olup, biyoaktif bileşen içeriğine bir yenisi daha eklenmiştir. Üretilen yeni ve inovatif bir ürün olan Bingöl arı polenli gevreğin endüstriyel olarak geliştirilmesinde ve fonksiyonel ürün bazında çok yönlü özellikleri arttırılabilir. Söz konusu tez KoQ10 içeriğinin saptanması için uygulanan yöntem yönüyle ilk olma özelliği taşımaktadır. Çünkü geleneksel kromatografi sistemlerinin aksine, tezde uygulanan nano-LC sistemi tüm dünyada trend olan bir kromatografi yöntemi olması yönüyle dikkat çekmektedir. Nano-LC'nin KoQ10 gibi sınırlı miktarda tespit edilebilen biyomoleküllerin analizinde karşılaşılan zorlukların aşılmasında kolaylık sağlamaktadır. HPLC gibi geleneksel kromatografi yöntemlerine kıyasla, düşük kolon iç çapı (μm), düşük miktarda örnek kullanımını sağladığından analitin saptanmasını ve elde edilen sonuçların hassasiyetini arttırır. Öte yandan nano-LC'de düşük miktarda mobil faz kullanımı (nl), atık solvent miktarını da azaltır. Bu yönüyle de yeşil kimya ve çevre dostu bir kromatografi sistemi olma özelliği kazanır. Sonuç olarak sahip olduğu avantajları nedeniyle, tüm dünyada popülaritesi devam eden nano-LC cihazının, Bingöl arı ürünlerinin analizlerinde kullanılabilirliği yaygınlaştırılabilir.

KAYNAKLAR

Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Alagawany, M., Farag, M. R., and Elnesr, S. S. (2019). Beneficial impacts of bee pollen in animal production, reproduction and health. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(2), 477–484.

Abrams, S. A., Griffin, I. J., Davila, P., and Liang, L. (2001). Calcium fortification of breakfast cereal enhances calcium absorption in children without affecting iron absorption. *The Journal of Pediatrics*, 139(4), 522–526. <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.116936>.

Acosta, M. J., Vazquez Fonseca, L., Desbats, M. A., Cerqua, C., Zordan, R., Trevisson, E., and Salviati, L. (2016). Coenzyme Q biosynthesis in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1857(8), 1079–1085.

Adaškevičiūtė, V., Kaškonienė, V., Kaškonas, P., Barčauskaitė, K., and Maruška, A. (2019). Comparison of Physicochemical Properties of Bee Pollen with Other Bee Products. *Biomolecules*, 9(12), 819. <https://doi.org/10.3390/biom9120819>.

Ahıskalıoğlu, A. (2007). Anemone Narcissiflora Bitkisinin Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

Alahmar, A. T., and Naemi, R. (2022). Predictors of pregnancy and time to pregnancy in infertile men with idiopathic oligoasthenospermia pre- and post-coenzyme Q10 therapy. *Andrologia*, 54(5). <https://doi.org/10.1111/and.14385>.

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

Alcázar-Fabra, M., Navas, P., and Brea-Calvo, G. (2016). Coenzyme Q biosynthesis and its role in the respiratory chain structure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1857(8), 1073–1078. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2016.03.010>.

Almeida, J. D. F., Reis, A. S. D., Heldt, L. F. S., Pereira, D., Bianchin, M., Moura, C. D., Plata-Oviedo, M. V., Haminiuk, C. W. I., Ribeiro, I. S., Luz, C. F. P. D., and 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>.

Almeida-Muradian, L. B., Pamplona, L. C., Coimbra, S., and Barth, O. M. (2005a). Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.008>.

Almeida-Muradian, L. B., Pamplona, L. C., Coimbra, S., and Barth, O. M. (2005b). Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2003.10.008>.

Al-Yousef, H. M., Amina, M., Alqahtani, A. S., Alqahtani, M. S., Malik, A., Hatshan, M. R., Siddiqui, M. R. H., Khan, M., Shaik, M. R., Ola, M. S., and Syed, R. (2020). Pollen Bee Aqueous Extract-Based Synthesis of Silver Nanoparticles and Evaluation of Their Anti-Cancer and Anti-Bacterial Activities. *Processes*, 8(5), 524.

Aqai, P., Peters, J., Gerssen, A., Haasnoot, W., and Nielen, M. W. F. (2011). Immunomagnetic microbeads for screening with flow cytometry and identification with nano-liquid chromatography mass spectrometry of ochratoxins in wheat and cereal. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(9), 3085–3096.

Anonim, (1999). “Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document”, *British Journal of Nutrition*, 81, S1–S27.

Arendt, E. K., and Zannini, E. (2013). *Cereal grains for the food and beverage industries*. Woodhead Publ.

Asensio-Ramos, M., Fanali, C., D’Orazio, G., and Fanali, S. (2017). Nano-liquid chromatography. In *Liquid Chromatography* (p. 637–695). Elsevier.

Atia, M. A., Amuno, R. M., Kalsoom, U., Ollerton, S., Rhoden, A., Haddad, P. R., and Breadmore, M. C. (2023). Portable capillary electrophoresis coupled with swab-based extraction device for cleaning validation in pharmaceutical facilities. *Journal of Chromatography A*, 1688, 463666. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463666>.

Attia, H. N., and Maklad, Y. A. (2018). Neuroprotective effects of coenzyme Q10 on paraquat-induced Parkinson’s disease in experimental animals. *Behavioural Pharmacology*, 29(1), 79–86. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000342>.

Aydın, G. (2016). Farklı Kurutma Yöntemleri ve Farklı Özütlemeye Çözgenlerinin Arı Poleninin Antioksidan Kapasitesi ve Fenolik İçeriği Üzerine Etkisi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Aydoğan, C. (2016). Boronic acid-fumed silica nanoparticles incorporated large surface area monoliths for protein separation by nano-liquid chromatography. *Analytical and*

Bioanalytical Chemistry, 408(29), 8457–8466. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9968-z>.

Aydoğan, C. (2019). Nanoscale separations based on LC and CE for food analysis: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 121, 115693.

Aydoğan, C. (2020). Liquid chromatography-high resolution mass spectrometry for the analysis of bioactive natural products. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 66, pp. 331–353). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817907-9.00012-X>.

Aydoğan, C., Beltekin, B., Alharthi, S., Ağca, C. A., and Erdoğan, İ. Y. (2023). Nano-liquid chromatography with monolithic stationary phase based on naphthyl monomer for proteomics analysis. *Journal of Chromatography A*, 1690, 463804.

Aydoğan, C., Beltekin, B., Aslan, H., Yılmaz, F., Göktürk, I., Denizli, A., and El-Rassi, Z. (2022). Nanoscale separations: Recent achievements. *Journal of Chromatography Open*, 2, 100066. <https://doi.org/10.1016/j.jcoa.2022.100066>.

Aydoğan, C., Beltekin, B., Demir, N., Yurt, B., and El Rassi, Z. (2023). Nano-Liquid Chromatography with a New Monolithic Column for the Analysis of Coenzyme Q10 in Pistachio Samples. *Molecules*, 28(3), 1423. <https://doi.org/10.3390/molecules28031423>.

Aydoğan, C., and El Rassi, Z. (2019). MWCNT based monolith for the analysis of antibiotics and pesticides in milk and honey by integrated nano-liquid chromatography-high resolution orbitrap mass spectrometry. *Analytical Methods*, 11(1), 21–28. <https://doi.org/10.1039/C8AY02173B>.

Aydoğan, C., Erdoğan, İ. Y., and El-Rassi, Z. (2022). Hydrophobic AEROSIL®R972 Fumed Silica Nanoparticles Incorporated Monolithic Nano-Columns for Small Molecule and Protein Separation by Nano-Liquid Chromatography. *Molecules*, 27(7), 2306. <https://doi.org/10.3390/molecules27072306>.

Aydoğan, C., Gökaltun, A., Denizli, A., and El-Rassi, Z. (2019). Organic polymer-based monolithic capillary columns and their applications in food analysis. *Journal of Separation Science*, jssc.201801051. <https://doi.org/10.1002/jssc.201801051>.

Aydoğan, C., Rigano, F., Krčmová, L. K., Chung, D. S., Macka, M., and Mondello, L. (2020). Miniaturized LC in Molecular Omics. *Analytical Chemistry*, 92(17), 11485–11497. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01436>.

Aydoğan, C., Yılmaz, F., and Denizli, A. (2013). Cation exchange/hydrophobic interaction monolithic chromatography of small molecules and proteins by nano liquid

chromatography†: Liquid Chromatography. *Journal of Separation Science*, 36(11), 1685–1692. <https://doi.org/10.1002/jssc.201300089>.

Aylanc, V., Larbi, S., Calhelha, R., Barros, L., Rezouga, F., Rodríguez-Flores, M. S., Seijo, M. C., El Ghouizi, A., Lyoussi, B., Falcão, S. I., and Vilas-Boas, M. (2023). Evaluation of Antioxidant and Anticancer Activity of Mono- and Polyfloral Moroccan Bee Pollen by Characterizing Phenolic and Volatile Compounds. *Molecules*, 28(2), 835.

Ayunin, Q., Miatmoko, A., Soeratri, W., Erawati, T., Susanto, J., and Legowo, D. (2022). Improving the anti-ageing activity of coenzyme Q10 through protransfersome-loaded emulgel. *Scientific Reports*, 12(1), 906. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04708-4>.

Bakkaloğlu, Z. (2021). Arı poleni proteinleri ve fonksiyonel özellikleri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.984837>.

Bakry, R., Bonn, G. K., Mair, D., and Svec, F. (2007). Monolithic Porous Polymer Layer for the Separation of Peptides and Proteins Using Thin-Layer Chromatography Coupled with MALDI-TOF-MS. *Analytical Chemistry*, 79(2), 486–493.

Bakry, R., Huck, C. W., and Bonn, G. K. (2009). Recent Applications of Organic Monoliths in Capillary Liquid Chromatographic Separation of Biomolecules. *Journal of Chromatographic Science*, 47(6), 418–431. <https://doi.org/10.1093/chromsci/47.6.418>.

Banihani, S. (2018). Effect of Coenzyme Q10 Supplementation on Testosterone. *Biomolecules*, 8(4), 172. <https://doi.org/10.3390/biom8040172>.

Barshop, B. A., and Gangoiti, J. A. (2007). Analysis of coenzyme Q in human blood and tissues. *Mitochondrion*, 7, S89–S93. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.04.002>.

Barth, O. M., Freitas, A. S., Oliveira, É. S., Silva, R. A., Maester, F. M., Andrella, R. R. S., and Cardozo, G. M. B. Q. (2010). Evaluation of the botanical origin of commercial dry bee pollen load batches using pollen analysis: A proposal for technical standardization. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 82(4), 893–902.

Basim, E., Basim, H., and Özcan, M. (2006). Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 992–996. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.08.027>.

Basista, K., and Sodzawiczny, K. (2011). Bee pollen—A new natural material, possibilities of use in medicine and cosmetology. *Gazeta Farmaceutyczna*, 12, 30–32.

Baublis, A. J., Lu, C., Clydesdale, F. M., and Decker, E. A. (2000). Potential of Wheat-Based Breakfast Cereals as a Source of Dietary Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(sup3), 308S-311S.

Bayram, N. E., Gercek, Y. C., Çelik, S., Mayda, N., Kostić, A. Ž., Dramićanin, A. M., and Özkök, A. (2021). Phenolic and free amino acid profiles of bee bread and bee pollen with the same botanical origin – similarities and differences. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(3), 103004. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103004>.

Behçet, L., and Yapar, Y. (2019). Important plants at the Matan Mountain (Bingöl) flora with regard to beekeeping. *Biological Diversity and Conservation*, 12(1), 149–159. <https://doi.org/10.5505/biodicon.2019.13008>.

Bello, R. I., Kagan, V. E., Tyurin, V., Navarro, F., Alcan, F. J., and Villalba, J. M. (2003). Regeneration of lipophilic antioxidants by NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1. *Protoplasma*, 221(1–2), 129–135. <https://doi.org/10.1007/s00709-002-0068-x>.

Bentinger, M., Tekle, M., and Dallner, G. (2010). Coenzyme Q – Biosynthesis and functions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 396(1), 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.147>.

Bleha, R., Shevtsova, T. V., Živčáková, M., Korbářová, A., Ježková, M., Saloň, I., Brindza, J., and Synytsya, A. (2021a). Spectroscopic Discrimination of Bee Pollen by Composition, Color, and Botanical Origin. *Foods*, 10(8), 1682. <https://doi.org/10.3390/foods10081682>.

Bleha, R., Shevtsova, T. V., Živčáková, M., Korbářová, A., Ježková, M., Saloň, I., Brindza, J., and Synytsya, A. (2021b). Spectroscopic Discrimination of Bee Pollen by Composition, Color, and Botanical Origin. *Foods*, 10(8), 1682. <https://doi.org/10.3390/foods10081682>.

Blue, L. E., Franklin, E. G., Godinho, J. M., Grinias, J. P., Grinias, K. M., Lunn, D. B., and Moore, S. M. (2017). Recent advances in capillary ultrahigh pressure liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1523, 17–39.

Boesl, U. (2017). Time-of-flight mass spectrometry: Introduction to the basics: TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETRY. *Mass Spectrometry Reviews*, 36(1), 86–109. <https://doi.org/10.1002/mas.21520>.

Bogdanov, S. (2014). Pollen: Production, Nutrition and Health: A Review. *Bee Product Science*.

Bonakdar, R.A. and Guarneri, E. (2005). Coenzyme Q10, *American Family Physician*, www.aafp.org/afp, 72, 6.

Burke, V. (2006). OBESITY IN CHILDHOOD AND CARDIOVASCULAR RISK. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 33(9), 831–837. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2006.04449.x>.

Calderone, N. W., and Johnson, B. R. (2002). The within-nest behaviour of honeybee pollen foragers in colonies with a high or low need for pollen. *Animal Behaviour*, 63(4), 749–758. <https://doi.org/10.1006/anbe.2001.1957>.

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

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

Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., and Da 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. <https://doi.org/10.1021/jf0206466>.

Capparelli, S., Pieracci, Y., Coppola, F., Marchioni, I., Sagona, S., Felicioli, A., Pistelli, L., and Pistelli, L. (2023). The colors of Tuscan bee pollen: Phytochemical profile and antioxidant activity. *Natural Product Research*, 1–7.

Carpes, S. T., Begnini, R., Alencar, S. M. D., and Masson, M. L. (2007). Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciência e Agrotecnologia*, 31(6), 1818–1825. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542007000600032>.

Casado, N., Jiang, Z., García, M. Á., and Marina, M. L. (2020). Enantiomeric Separation of Colchicine and Lacosamide by Nano-LC. Quantitative Analysis in Pharmaceutical Formulations. *Separations*, 7(4), 55. <https://doi.org/10.3390/separations7040055>.

Chen, J., Luo, L., Cen, C., Liu, Y., Li, H., and Wang, Y. (2022). The nano antibacterial composite film carboxymethyl chitosan/gelatin/nano ZnO improves the mechanical strength of food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 220, 462–471. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.005>.

Chiarelli, F., and Marcovecchio, M. L. (2008). Insulin resistance and obesity in childhood. *European Journal of Endocrinology*, 159(suppl_1), S67–S74. <https://doi.org/10.1530/EJE-08-0245>.

Clarke, D., Morley, E., and Robert, D. (2017). The bee, the flower, and the electric field: Electric ecology and aerial electroreception. *Journal of Comparative Physiology A*, 203(9), 737–748. <https://doi.org/10.1007/s00359-017-1176-6>.

Çalışkan, Ayşegül (2019). Beta-glukan katkılı fonksiyonel kahvaltılık gevrek üretiminin yanıt yüzey metodu ile optimizasyonu. KMÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Karaman.

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

Çobanoğlu, D. N., Kızılpınar Temizer, İ., Candan, E. D., Yolcu, U., and Güder, A. (2023). Evaluation of the nutritional value of bee pollen by palynological, antioxidant, antimicrobial, and elemental characteristics. *European Food Research and Technology*, 249(2), 307–325. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04117-5>.

Çobanoğlu, D. N., Şeker, M. E., Temizer, İ. K., and Erdoğan, A. (2023). Investigation of Botanical Origin, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Antioxidant Properties of Monofloral and Multifloral Bee Bread. *Chemistry and Biodiversity*, 20(3), e202201124. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202201124>.

Çolak, D. A., and Uysal, H. (2017). Protective effects of coenzyme Q10 and resveratrol on oxidative stress induced by various dioxins on transheterozigot larvae of *Drosophila melanogaster*. *Toxicology Research*, 6(4), 521–525. <https://doi.org/10.1039/C7TX00027H>.

Contreras, M. del M., Arráez-Román, D., Fernández-Gutiérrez, A., and Segura-Carretero, A. (2015). Nano-liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry for phenolic profiling: A case study in cranberry syrups. *Talanta*, 132, 929–938. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.10.049>.

Crane, F. L. (2001). Biochemical Functions of Coenzyme Q₁₀. *Journal of the American College of Nutrition*, 20(6), 591–598. <https://doi.org/10.1080/07315724.2001.10719063>.

Currie, C. (2012). *Social determinants of health and well-being among young people: Health behaviour in school-aged children (HBSC) study: international report from the 2009/2010 survey*. World Health Organization, Regional Office for Europe.

Da Silva, M. V., Rosa, C. I. L. F., and Vilas Boas, E. V. D. B. (2009). Conceitos E Métodos De Controle Do Escurecimento Enzimático No Processamento Mínimo De Frutas E Hortaliças. *Boletim Do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 27(1).

De Jesus Inacio, L., Merlanti, R., Lucatello, L., Bisutti, V., Carraro, L., Larini, I., Vitulo, N., Cardazzo, B., and Capolongo, F. (2021). Natural contaminants in bee pollen: DNA metabarcoding as a tool to identify floral sources of pyrrolizidine alkaloids and fungal diversity. *Food Research International*, 146, 110438.

De Jesus Inacio, L., Merlanti, R., Lucatello, L., Bisutti, V., Contiero, B., Serva, L., Segato, S., and Capolongo, F. (2020). Pyrrolizidine alkaloids in bee pollen identified by LC-MS/MS analysis and colour parameters using multivariate class modeling. *Heliyon*, 6(3), e03593. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03593>.

de Toffoli, A. L., Maciel, E. V. S., Nazario, C. E. D., and Lanças, F. M. (2018). Liquid Chromatography-Packed Capillary. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* (p. B9780124095472142167). Elsevier.

Demir, N., and Aydoğan, C. (2022). ProFlow nano-liquid chromatography with a graphene oxide-functionalized monolithic nano-column for the simultaneous determination of chloramphenicol and chloramphenicol glucuronide in foods. *Journal of Food Science*, 87(4), 1721–1730. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16121>.

Denisow, B., and Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: A review: Bee pollen and medicine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303–4309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7729>.

Dhurandhar, E. J., Dawson, J., Alcorn, A., Larsen, L. H., Thomas, E. A., Cardel, M., Bourland, A. C., Astrup, A., St-Onge, M.-P., Hill, J. O., Apovian, C. M., Shikany, J. M., and Allison, D. B. (2014). The effectiveness of breakfast recommendations on weight loss: A randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100(2), 507–513. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.089573>.

Di Pasquale, G., Salignon, M., Le Conte, Y., Belzunces, L. P., Decourtye, A., Kretzschmar, A., Suchail, S., Brunet, J.-L., and Alaux, C. (2013). Influence of Pollen Nutrition on Honey Bee Health: Do Pollen Quality and Diversity Matter? *PLoS ONE*, 8(8), e72016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072016>.

Díaz-Casado, Quiles, Barriocanal-Casado, González-García, Battino, López, and Varela-López. (2019). The Paradox of Coenzyme Q10 in Aging. *Nutrients*, 11(9), 2221. <https://doi.org/10.3390/nu11092221>.

Djoussé, L., and Gaziano, J. M. (2007). Breakfast Cereals and Risk of Heart Failure in the Physicians' Health Study I. *Archives of Internal Medicine*, 167(19), 2080.

Dobson, H. E. M., and Peng, Y.-S. (1997). Digestion of Pollen Components by Larvae of the Flower-Specialist Bee *Chelostoma florissomne* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Insect Physiology*, 43(1), 89–100. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(96\)00024-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(96)00024-8).

Dreller, C., and Tarpy, D. R. (2000). Perception of the pollen need by foragers in a honeybee colony. *Animal Behaviour*, 59(1), 91–96.

Ecem Bayram, N. (2021). Vitamin, mineral, polyphenol, amino acid profile of bee pollen from *Rhododendron ponticum* (source of “mad honey”): Nutritional and palynological approach. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3), 2659–2666. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00854-5>.

Echevarría, R. N., Keunchkarian, S., Villarroel-Rocha, J., Sapag, K., and Reta, M. (2019). Organic monolithic capillary columns coated with cellulose tris(3,5-dimethylphenyl carbamate) for enantioseparations by capillary HPLC. *Microchemical Journal*, 149, 104011. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104011>.

Echtay, K. S., Winkler, E., and Klingenberg, M. (2000). Coenzyme Q is an obligatory cofactor for uncoupling protein function. *Nature*, 408(6812), 609–613.

Edwards, E., and Thomas-Oates, J. (2005). Hyphenating liquid phase separation techniques with mass spectrometry: On-line or off-line. *The Analyst*, 130(1), 13.

Eeltink, S., Meston, D., and Svec, F. (2021). Recent developments and applications of polymer monolithic stationary phases. *Analytical Science Advances*, 2(3–4), 250–260. <https://doi.org/10.1002/ansa.202100006>.

Eliuk, S., and Makarov, A. (2015). Evolution of Orbitrap Mass Spectrometry Instrumentation. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 8(1), 61–80.

Emmanuele, V., López, L. C., Berardo, A., Naini, A., Tadesse, S., Wen, B., D’Agostino, E., Solomon, M., DiMauro, S., Quinzii, C., and Hirano, M. (2012). Heterogeneity of Coenzyme Q₁₀ Deficiency: Patient Study and Literature Review. *Archives of Neurology*, 69(8). <https://doi.org/10.1001/archneurol.2012.206>.

Eraslan, G., Kanbur, M., and Silici, S. (2009). Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.10.013>.

Ercan, P., and El, S. N. (2011). Changes in content of coenzyme Q₁₀ in beef muscle, beef liver and beef heart with cooking and in vitro digestion. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(8), 1136–1140. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.05.002>.

Eser, B. (2018). Kromatografiye Giriş, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Kullanımında Basit İpuçları. *Journal of Health Services and Education*, 2(2), 51–57. <https://doi.org/10.26567/JOHSE.2018250150>.

Ettre, L. S. (1971). Development of chromatography. *Analytical Chemistry*, 43(14), 20A – 31a. <https://doi.org/10.1021/ac60308a022>.

Fahey, J.L., Terry, E.W.: Ion exchange chromatography and gel filtration. *Immunochemistry*. Third Edition Vol. 1 (Ed) Weir, D.M., Blackwell, London 1979, 8.1-8.16.

Fanali, S. (2017). An overview to nano-scale analytical techniques: Nano-liquid chromatography and capillary electrochromatography: CE and CEC. *Electrophoresis*, 38(15), 1822–1829.

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

Foster-Powell, K., Holt, S. H., and Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load values: 2002,. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5–56. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.5>.

Frei, B., Kim, M. C., and Ames, B. N. (1990). Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(12), 4879–4883. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4879>.

Fukao, Y., Yoshida, M., Kurata, R., Kobayashi, M., Nakanishi, M., Fujiwara, M., Nakajima, K., and Ferjani, A. (2013). Peptide Separation Methodologies for In-Depth Proteomics in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology*, 54(5), 808–815. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct033>.

Gama, M. R., Collins, C. H., and Bottoli, C. B. G. (2013). Nano-Liquid Chromatography in Pharmaceutical and Biomedical Research. *Journal of Chromatographic Science*, 51(7), 694–703. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmt023>.

Gama, M. R., Rocha, F. R. P., and Bottoli, C. B. G. (2019). Monoliths: Synthetic routes, functionalization and innovative analytical applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 115, 39–51. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.020>.

Gao, B., Hu, X., Xue, H., Li, R., Liu, H., Han, T., Ruan, D., Tu, Y., and Zhao, Y. (2022). Isolation and screening of umami peptides from preserved egg yolk by nano-HPLC-MS/MS and molecular docking. *Food Chemistry*, 377, 131996.

Gardana, C., Del Bo', C., Quicazán, M. C., Corraea, A. R., and Simonetti, P. (2018). Nutrients, phytochemicals and botanical origin of commercial bee pollen from different geographical areas. *Journal of Food Composition and Analysis*, 73, 29–38.

Garrido-Maraver, J., Cordero, M. D., Oropesa-Ávila, M., Fernández Vega, A., De La Mata, M., Delgado Pavón, A., De Miguel, M., Pérez Calero, C., Villanueva Paz, M., Cotán, D., and Sánchez-Alcázar, J. A. (2014). Coenzyme Q₁₀ Therapy. *Molecular Syndromology*, 5(3–4), 187–197. <https://doi.org/10.1159/000360101>.

Gercek, Y. C., Celik, S., and Bayram, S. (2021). Screening of Plant Pollen Sources, Polyphenolic Compounds, Fatty Acids and Antioxidant/Antimicrobial Activity from Bee Pollen. *Molecules*, 27(1), 117. <https://doi.org/10.3390/molecules27010117>.

Ghanem, A., Marzouk, A. A., El-Adl, S. M., and Fouad, A. (2022). A Polymer-based Monolithic Capillary Column with Polymyxin-B Chiral Selector for the Enantioselective Nano-High Performance Liquid Chromatographic Pharmaceutical Analysis. *Journal of Chromatography A*, 1662, 462714. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462714>.

Gholami, M., Zarei, P., Sadeghi Sedeh, B., Rafiei, F., and Khosrowbeygi, A. (2018). Effects of coenzyme Q₁₀ supplementation on serum values of adiponectin, leptin, 8-isoprostane and malondialdehyde in women with type 2 diabetes. *Gynecological Endocrinology*, 34(12), 1059–1063. <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1481944>.

Giddings, J. C. (1965). Comparison of Theoretical Limit of Separating Speed in Gas and Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, 37(1), 60–63.

Gönül, S. (2016). Impact of Bee Pollen Fermentation on the Profile and Bioaccessibility of phenolic compounds.

Greenberg, S., and Frishman, W. H. (1990). Co-Enzyme Q₁₀: A New Drug for Cardiovascular Disease. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 30(7), 596–608.

Greenlee, H., Shaw, J., Lau, Y.-K. I., Naini, A., and Maurer, M. (2012). Lack of Effect of Coenzyme Q₁₀ on Doxorubicin Cytotoxicity in Breast Cancer Cell Cultures. *Integrative Cancer Therapies*, 11(3), 243–250. <https://doi.org/10.1177/1534735412439749>.

Guo, M., Liu, S., Wang, M., Lv, Y., Shi, J., Zeng, Y., Ye, J., and Chu, Q. (2020). Double surfactants-assisted electromembrane extraction of cyromazine and melamine in surface water, soil and cucumber samples followed by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1), 301–307. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10039>.

Gusev, I., Huang, X., and Horváth, C. (1999). Capillary columns with in situ formed porous monolithic packing for micro high-performance liquid chromatography and capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 855(1), 273–290.

Guy, R. (2001). *Extrusion cooking: Technologies and applications*. Woodhead publishing.

Halbritter, H., Ulrich, S., Grímsson, F., Weber, M., Zetter, R., Hesse, M., Buchner, R., Svojtka, M., and Frosch-Radivo, A. (2018). *Illustrated Pollen Terminology*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-71365-6>.

Han, X., Aslanian, A., and Yates, J. R. (2008). Mass spectrometry for proteomics. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12(5), 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.07.024>.

Han, X., Shen, T., and Lou, H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9), 950–988.

Hargreaves, I., Heaton, R. A., and Mantle, D. (2020). Disorders of Human Coenzyme Q10 Metabolism: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6695. <https://doi.org/10.3390/ijms21186695>.

Hayes, J. D., and Malik, A. (2000). Sol–Gel Monolithic Columns with Reversed Electroosmotic Flow for Capillary Electrochromatography. *Analytical Chemistry*, 72(17), 4090–4099. <https://doi.org/10.1021/ac000120p>.

Hefnawy, M., El-Gendy, M., Al-Salem, H., Marenga, H., El-Azab, A., Abdel-Aziz, A., Gamal, A. E., Alanazi, M., Obaidullah, A., Al-Hossaini, A., and Hefnawy, A. (2023). Trends in monoliths: Packings, stationary phases and nanoparticles. *Journal of Chromatography A*, 1691, 463819. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463819>.

Hernández-Borges, J., Aturki, Z., Rocco, A., and Fanali, S. (2007). Recent applications in nanoliquid chromatography. *Journal of Separation Science*, 30(11), 1589–1610. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700061>.

Hernández-Camacho, J. D., Bernier, M., López-Lluch, G., and Navas, P. (2018). Coenzyme Q10 Supplementation in Aging and Disease. *Frontiers in Physiology*, 9, 44. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00044>.

Hjertén, S., Liao, J.-L., and Zhang, R. (1989). High-performance liquid chromatography on continuous polymer beds. *Journal of Chromatography A*, 473, 273–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)91309-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)91309-8).

Holland, L. A., and Jorgenson, J. W. (1995). Separation of Nanoliter Samples of Biological Amines by a Comprehensive Two-Dimensional Microcolumn Liquid Chromatography System. *Analytical Chemistry*, 67(18), 3275–3283. <https://doi.org/10.1021/ac00114a026>.

Hsieh, S.-H., Huang, H.-Y., and Lee, S. (2009). Determination of eight penicillin antibiotics in pharmaceuticals, milk and porcine tissues by nano-liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1216(43), 7186–7194.

Huang, H., Shen, Z., Geng, Q., Wu, Z., Shi, P., and Miao, X. (2017). Protective effect of Schisandra chinensis bee pollen extract on liver and kidney injury induced by cisplatin in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 95, 1765–1776.

Huck, C. W., Stecher, G., Bakry, R., and Bonn, G. K. (2003). Recent progress in high-performance capillary bioseparations. *Electrophoresis*, 24(2223), 3977–3997.

Jabůrek, M., and Garlid, K. D. (2003). Reconstitution of Recombinant Uncoupling Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 278(28), 25825–25831.

Jornet-Martínez, N., Herráez-Hernández, R., and Campíns-Falcó, P. (2021). Scopolamine analysis in beverages: Bicolorimetric device vs portable nano liquid chromatography. *Talanta*, 232, 122406. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122406>.

Joy, E.-E. (2016). Preparation and Evaluation of Granola – a Breakfast Cereal, Sustituted with Maize (Zea May) and Coconut (Cocos Nucifera) Blend. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 5(1), 47. <https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20160501.17>.

Kačániová, M., Rovná, K., Arpášová, H., Hleba, L., Petrová, J., Haščík, P., Čuboň, J., Pavelková, A., Chlebo, R., Bobková, A., and Stričík, M. (2013). The effects of bee pollen extracts on the broiler chicken's gastrointestinal microflora. *Research in Veterinary Science*, 95(1), 34–37. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.02.022>.

Kačániová, M., Vukovic, N., Chlebo, R., Hascík, P., Rovná, K., Cubon, J., Dzugan, M., and Pasternakiewicz, A. (2012). The antimicrobial activity of honey, bee pollen loads and beeswax from Slovakia. *Archives of Biological Sciences*, 64(3), 927–934. <https://doi.org/10.2298/ABS1203927K>.

Kagan, V.E. and Quinn, P.T. (2001). Coenzyme Q: Molecular Mechanisms in Health and Disease, CRC Press, United States of America, 390p.

Kanar, Y. (2017). Farklı Kurutma Yöntemlerinin Arı Poleninin Fizikokimyasal Özellikleri ve Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi.

Karagözoğlu, Y., Parlak, A.E. ve Alayunt, N.Ö. (2012). Bingöl yöresinden toplanan arı polenlerinin yağ asidi miktarlarının incelenmesi. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 26 (3), 36-41.

Karlsson, K. Erik., and Novotny, Milos. (1988). Separation efficiency of slurry-packed liquid chromatography microcolumns with very small inner diameters. *Analytical Chemistry*, 60(17), 1662–1665. <https://doi.org/10.1021/ac00168a006>.

Kawamukai, M. (2002). Biosynthesis, bioproduction and novel roles of ubiquinone. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94(6), 511–517. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80188-8](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80188-8).

Keller, I., Fluri, P., and Imdorf, A. (2005a). Pollen nutrition and colony development in honey bees: Part 1. *Bee World*, 86(1), 3–10.

Keller, I., Fluri, P., and Imdorf, A. (2005b). Pollen nutrition and colony development in honey bees—Part II. *Bee World*, 86(2), 27–34.

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., and El-Seedi, H. R. (2021). Bee Pollen: Current Status and Therapeutic Potential. *Nutrients*, 13(6), 1876. <https://doi.org/10.3390/nu13061876>.

Kimata, K., Hosoya, K., Araki, T., and Tanaka, N. (1993). [2-(1-Pyrenyl)ethyl]silyl silica packing material for liquid chromatographic separation of fullerenes. *The Journal of Organic Chemistry*, 58(1), 282–283. <https://doi.org/10.1021/jo00053a057>.

Kocot, J., Kielczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., and Musik, I. (2018). Antioxidant Potential of Propolis, Bee Pollen, and Royal Jelly: Possible Medical Application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1–29. <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>.

Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., and Olczyk, K. (2015). Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–6.

Kostić, A. Ž., Barać, M. B., Stanojević, S. P., Milojković-Opsenica, D. M., Tešić, Ž. L., Šikoparija, B., Radišić, P., Prentović, M., and Pešić, M. B. (2015). Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 301–309. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.031>.

Kowaltowski, A. J., and Vercesi, A. E. (1999). Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3–4), 463–471. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00216-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00216-0).

Kranendijk, M., Waterval, J. C. M., Somsen, G. W., and de Jong, G. J. (2005). Evaluation of the sensitivity of miniaturized liquid chromatography-electrospray ionization-mass

spectrometry for pharmaceutical analysis. *Journal of Separation Science*, 28(14), 1796–1802. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500203>.

Krell, R. (1996). *Value-added products from beekeeping*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Kroyer, G., and Hegedus, N. (2001). Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2(3), 171–174. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(01\)00039-X](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(01)00039-X).

Kubín, M., Špaček, P., and Chromeček, R. (1967). Gel permeation chromatography on porous poly(ethylene glycol methacrylate). *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 32(11), 3881–3887.

Kubo, H., Fujii, K., Kawabe, T., Matsumoto, S., Kishida, H., and Hosoe, K. (2008). Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(3), 199–210. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.10.003>.

Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Rzepecka-Stojko, A., Balwierz, R., and Stojko, J. (2020). Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules*, 25(3), 556.

Kutlu, N., İsci, A., ve Demirkol, Ö. Ş. (2015). Gıdalarda İnce Tabaka Kurutma Modelleri.

Langsjoen, P. H. (1994). Introduction To Coenzyme Q10. <http://faculty.washington.edu/ely/coenzq10.html> (Erişim tarihi: 18 Mayıs 2009).

Li, D., Deng, W., Xu, H., Sun, Y., Wang, Y., Chen, S., and Ding, X. (2016). Electrochemical Investigation of Coenzyme Q10 on Silver Electrode in Ethanol Aqueous Solution and Its Determination Using Differential Pulse Voltammetry. *SLAS Technology*, 21(4), 579–589. <https://doi.org/10.1177/2211068216644442>.

Lima, I. de P., Valle, S. P., Oliveira, M. A. L. de, Marques, F. F. de C., and Vaz, F. A. S. (2023). Monolithic stationary phases preparation for use in chromatographic and electromigration techniques: The state-of-the-art. *Microchemical Journal*, 190, 108598. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.108598>.

Liolios, V., Tananaki, C., Dimou, M., Kanelis, D., Rodopoulou, M.-A., and Thrasyvoulou, A. (2018). Exploring the sugar profile of unifloral bee pollen using high performance liquid chromatography. *J. Food Nutr. Res.*, 57.

Liu, H.-Y., Lin, S.-L., and Fuh, M.-R. (2016). Determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol in milk and honey using modified QuEChERS extraction

coupled with polymeric monolith-based capillary liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Talanta*, 150, 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.12.045>.

Liu, Q., Sun, Y., Cui, Q., Cheng, J., Killpartrik, A., Kemp, A. H., and Guo, M. (2022). Characterization, antioxidant capacity, and bioaccessibility of Coenzyme Q10 loaded whey protein nanoparticles. *LWT*, 160, 113258. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113258>.

López-Lluch, G., Rodríguez-Aguilera, J. C., Santos-Ocaña, C., and Navas, P. (2010). Is coenzyme Q a key factor in aging? *Mechanisms of Ageing and Development*, 131(4), 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.02.003>.

Lunetta, S., Roman, M., Collaborators:, Chandrah, A., Edamura, T., Honda, T., LeVanseler, K., Nagarajan, M., Patel, N., Reif, K., Schaneberg, B., Sullivan, D., and Trussardo, L. (2008). Determination of Coenzyme Q10 Content in Raw Materials and Dietary Supplements by High-Performance Liquid Chromatography-UV: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 91(4), 702–708.

Lynch, K. B., Chen, A., and Liu, S. (2018). Miniaturized high-performance liquid chromatography instrumentation. *Talanta*, 177, 94–103.

Magrini, L., Famiglini, G., Palma, P., Termopoli, V., and Cappiello, A. (2016). Boosting the Detection Potential of Liquid Chromatography-Electron Ionization Mass Spectrometry Using a Ceramic Coated Ion Source. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 27(1), 153–160. <https://doi.org/10.1007/s13361-015-1257-0>.

Mandrioli, M., Semeniuc, C. A., Boselli, E., and Rodriguez Estrada, M. T. (2017). Ubiquinone in Italian High-Quality Raw Cow Milk. *Italian Journal of Food Science*, 30(1). <https://doi.org/10.14674/IJFS-871>.

Mantzoros, C. S. (Ed.). (2009). *Nutrition and Metabolism: Underlying Mechanisms and Clinical Consequences*. Humana Press. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-453-1>.

Manzi, P., and Durazzo, A. (2015). Rapid determination of coenzyme Q10 in cheese using high-performance liquid chromatography. *Dairy Science and Technology*, 95(4), 533–539. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0222-9>.

Martin, A. J. P., and Synge, R. L. M. (1941). A new form of chromatogram employing two liquid phases. *Biochemical Journal*, 35(12), 1358–1368.

Martirosyan, D. M., and Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6), 209. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v5i6.183>.

Maruyama, H., Sakamoto, T., Araki, Y., and Hara, H. (2010). Anti-inflammatory effect of bee pollen ethanol extract from *Cistus* sp. Of Spanish on carrageenan-induced rat hind paw edema. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(1), 30.

Mattila, P., and Kumpulainen, J. (2001). Coenzymes Q9 and Q10: Contents in Foods and Dietary Intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(4), 409–417.

Maya, F., and Paull, B. (2019). Recent strategies to enhance the performance of polymer monoliths for analytical separations. *Journal of Separation Science*, 42(8), 1564–1576. <https://doi.org/10.1002/jssc.201801126>.

Mazandaran, A. A., and Khodarahmi, P. (2021). The protective role of Coenzyme Q10 in metallothionein-3 expression in liver and kidney upon rats' exposure to lead acetate. *Molecular Biology Reports*, 48(4), 3107–3115. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06311-2>.

Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., and Kanter, M. (2000). Antioxidant Content of Whole Grain Breakfast Cereals, Fruits and Vegetables. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(sup3), 312S–319S.

Monteagudo, C., Palacín-Arce, A., Bibiloni, M. del M., Pons, A., Tur, J. A., Olea-Serrano, F., and Mariscal-Arcas, M. (2013). Proposal for a Breakfast Quality Index (BQI) for children and adolescents. *Public Health Nutrition*, 16(4), 639–644.

Morais, M., Moreira, L., Feás, X., and Estevinho, L. M. (2011). Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1096–1101. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.01.020>.

Moreno-González, D., Pérez-Ortega, P., Gilbert-López, B., Molina-Díaz, A., García-Reyes, J. F., and Fernández-Alba, A. R. (2017). Evaluation of nanoflow liquid chromatography high resolution mass spectrometry for pesticide residue analysis in food. *Journal of Chromatography A*, 1512, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.07.019>

Mould, D. L., and Synge, R. L. M. (1954). Separations of polysaccharides related to starch by electrokinetic ultrafiltration in collodion membranes. *Biochemical Journal*, 58(4), 571–585. <https://doi.org/10.1042/bj0580571>.

Mullan, B. A., and Singh, M. (2010). A systematic review of the quality, content, and context of breakfast consumption. *Nutrition and Food Science*, 40(1), 81–114. <https://doi.org/10.1108/00346651011015953>.

Münstedt, K., and Bogdanov, S. (2009). Bee products and their potential use in modern medicine. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1(3), 57–63. <https://doi.org/10.3896/IBRA.4.01.3.01>.

Murray, E., Li, Y., Currivan, S. A., Moore, B., Morrin, A., Diamond, D., Macka, M., and Paull, B. (2018). Miniaturized capillary ion chromatograph with UV light-emitting diode based indirect absorbance detection for anion analysis in potable and environmental waters. *Journal of Separation Science*, 41(16), 3224–3231.

Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima, S., and Hara, H. (2009). Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9(1), 4. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-4>.

Nakanishi, K., Minakuchi, H., Soga, N., and Tanaka, N. (1998). [No title found]. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 13(1/3), 163–169.

Nandi, T., and Karmakar, P. (2018). Apis mellifera pollen loads to understand the pollen foraging pattern used for apicultural practice in a potentially agricultural belt in Bengal, India. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)* Vol. 66(4): 1597-1605.

Navarro, F., Arroyo, A., Martín, S. F., Bello, R. I., De Cabo, R., Burgess, J. R., Navas, P., and Villalba, J. M. (1999). Protective role of ubiquinone in vitamin E and selenium-deficient plasma membranes. *BioFactors*, 9(2–4), 163–170.

Neequaye, T., and El Rassi, Z. (2023). Poly(carboxyethyl acrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate) precursor monolith with bonded Tris ligands for use in hydrophilic interaction capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 1695, 463933. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463933>.

Negrão, A. F., and Orsi, R. O. (2018). Harvesting Season and Botanical Origin Interferes in Production and Nutritional Composition of Bee Pollen. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 90(1), 325–332. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720150192>.

Nepal, P. R., Han, H.-K., and Choi, H.-K. (2010). Enhancement of solubility and dissolution of Coenzyme Q10 using solid dispersion formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 383(1–2), 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.09.031>.

Niklowitz, P., Döring, F., Paulussen, M., and Menke, T. (2013). Determination of coenzyme Q10 tissue status via high-performance liquid chromatography with electrochemical detection in swine tissues (*Sus scrofa domestica*). *Analytical Biochemistry*, 437(1), 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.02.015>.

- Nohl, H., Kozlov, A. V., Staniek, K., and Gille, L. (2001). The Multiple Functions of Coenzyme Q. *Bioorganic Chemistry*, 29(1), 1–13. <https://doi.org/10.1006/bioo.2000.1193>.
- Nolting, D., Malek, R., and Makarov, A. (2019). Ion traps in modern mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 38(2), 150–168. <https://doi.org/10.1002/mas.21549>.
- Nuvoloni, R., Meucci, V., Turchi, B., Sagona, S., Fratini, F., Felicioli, A., Cerri, D., and Pedonese, F. (2021). Bee-pollen retailed in Tuscany (Italy): Labelling, palynological, microbiological, and mycotoxicological profile. *LWT*, 140, 110712.
- Oliveira, K. C. L. D. S. (2017). *Caracterização do pólen apícola e utilização de vitaminas anti-oxidantes como indicadores do processo de desidratação* [Mestrado em Bromatologia, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/D.9.2017.tde-30112017-105042>.
- Onbaşılı D, Yuvalı Çelik G, Kahraman S, Kanbur M. (2019). Apiterapi ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 16(1): 55-62.
- Ou, J., Liu, Z., Wang, H., Lin, H., Dong, J., and Zou, H. (2015). Recent development of hybrid organic-silica monolithic columns in CEC and capillary LC: Liquid Phase Separations. *Electrophoresis*, 36(1), 62–75.
- Overvad, K., Diamant, B., Holm, L., Hølmer, G., Mortensen, S., and Stender, S. (1999). Coenzyme Q10 in health and disease. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53(10), 764–770. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600880>.
- Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., and Estevinho, L. M. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 233–239.
- Percie Du Sert, P. (2009). Les pollens apicoles. *Phytothérapie*, 7(2), 75–82.
- Pernal, S., and Currie, R. (2001). The influence of pollen quality on foraging behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51(1), 53–68. <https://doi.org/10.1007/s002650100412>.
- Podar, A. S., Semeniuc, C. A., Ionescu, S. R., Socaciu, M.-I., Fogarasi, M., Fărcaș, A. C., Vodnar, D. C., and Socaci, S. A. (2023). An Overview of Analytical Methods for Quantitative Determination of Coenzyme Q10 in Foods. *Metabolites*, 13(2), 272. <https://doi.org/10.3390/metabo13020272>.

Polat, R., Esim, N., Ürüšan, Z., Caf, A., Ahıskalı, M., Canlı, D. (2020). Solhan (Bingöl) Florasının Arıcılık Açısından Değerlendirilmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*. Cilt 9, Özel Sayı,1-10. <https://doi.org/10.46810/tdfd.772388>.

Pravst, I., Žmitek, K., and Žmitek, J. (2010). Coenzyme Q10 Contents in Foods and Fortification Strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(4), 269–280. <https://doi.org/10.1080/10408390902773037>.

Purchas, R. W., Rutherford, S. M., Pearce, P. D., Vather, R., and Wilkinson, B. H. P. (2004). Concentrations in beef and lamb of taurine, carnosine, coenzyme Q10, and creatine. *Meat Science*, 66(3), 629–637. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00181-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00181-5).

Purslow, L. R., Sandhu, M. S., Forouhi, N., Young, E. H., Luben, R. N., Welch, A. A., Khaw, K.-T., Bingham, S. A., and Wareham, N. J. (2007). Energy Intake at Breakfast and Weight Change: Prospective Study of 6,764 Middle-aged Men and Women. *American Journal of Epidemiology*, 167(2), 188–192. <https://doi.org/10.1093/aje/kwm309>.

Pyo, Y.-H. (2010). Coenzyme Q10 and Q9 contents in 6 commercial vegetable oils and their average daily intakes in Korea. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 837–841. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0118-7>.

Quinzii, C. M., DiMauro, S., and Hirano, M. (2007). Human Coenzyme Q10 Deficiency. *Neurochemical Research*, 32(4–5), 723–727. <https://doi.org/10.1007/s11064-006-9190-z>.

RBK Anandito1, Siswanti and L Purnamayati (2021). Breakfast Cereal in Flakes Form Based on Millet Flour and Snakehead Fish Koya. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 750, 012050. doi:10.1088/1755-1315/750/1/012050.

Rieux, L., Sneekes, E.-J., Swart, R. (2011). Nano-LC: Principles, evolution, and state-of-the-art of the technique; LC-GC North America, 29:926–934.

Rivara, M. B., Yeung, C. K., Robinson-Cohen, C., Phillips, B. R., Ruzinski, J., Rock, D., Linke, L., Shen, D. D., Ikizler, T. A., and Himmelfarb, J. (2017). Effect of Coenzyme Q10 on Biomarkers of Oxidative Stress and Cardiac Function in Hemodialysis Patients: The CoQ10 Biomarker Trial. *American Journal of Kidney Diseases*, 69(3), 389–399. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2016.08.041>.

Roberfroid, M. B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: The European perspective,. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6), 1660S-1664S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1660S>.

Røberg-Larsen, H., Lundanes, E., Nyman, T. A., Berven, F. S., and Wilson, S. R. (2021). Liquid chromatography, a key tool for the advancement of single-cell omics analysis. *Analytica Chimica Acta*, 1178, 338551. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338551>.

Roldán, A., Van Muiswinkel, G. C. J., Lasanta, C., Palacios, V., and Caro, I. (2011). Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics. *Food Chemistry*, 126(2), 574–582.

Román-Pizarro, V., Fernández-Romero, J. M., and Gómez-Hens, A. (2017). Automatic determination of coenzyme Q10 in food using cresyl violet encapsulated into magnetoliposomes. *Food Chemistry*, 221, 864–870.

Rufián-Henares, J. A., and Delgado-Andrade, C. (2009). Effect of digestive process on Maillard reaction indexes and antioxidant properties of breakfast cereals. *Food Research International*, 42(3), 394–400. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.01.011>.

Ryan, L., Thondre, P. S., and Henry, C. J. K. (2011). Oat-based breakfast cereals are a rich source of polyphenols and high in antioxidant potential. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 929–934. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.02.002>.

Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Jasik, K., and Buszman, E. (2017). Anti-Atherogenic Activity of Polyphenol-Rich Extract from Bee Pollen. *Nutrients*, 9(12), 1369. <https://doi.org/10.3390/nu9121369>.

Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabała-Dzik, A., Kubina, R., Moździerz, A., and Buszman, E. (2015). Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity. *Molecules*, 20(12), 21732–21749. <https://doi.org/10.3390/molecules201219800>.

Saavedra C, K. I., Rojas I, C., and Delgado P, G. E. (2013). Características polínicas y composición química del polen apícola colectado en Cayaltí (Lambayeque—Perú). *Revista Chilena de Nutrición*, 40(1), 71–78. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182013000100011>.

Sacconi, S., Trevisson, E., Salviati, L., Aymé, S., Rigal, O., Garcia Redondo, A., Mancuso, M., Siciliano, G., Tonin, P., Angelini, C., Auré, K., Lombès, A., and Desnuelle, C. (2010). Coenzyme Q10 is frequently reduced in muscle of patients with mitochondrial myopathy. *Neuromuscular Disorders*, 20(1), 44–48. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2009.10.014>.

Saini, R. (2011). Coenzyme Q10: The essential nutrient. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 3(3), 466. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.84471>.

Saisavoey, T., Sangtanoo, P., Srimongkol, P., Reamtong, O., and Karnchanatat, A. (2021). Hydrolysates from bee pollen could induced apoptosis in human bronchogenic carcinoma

cells (ChaGo-K-1). *Journal of Food Science and Technology*, 58(2), 752–763. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04592-2>.

Saito, Y., Jinno, K., and Greibrokk, T. (2004). Capillary columns in liquid chromatography: Between conventional columns and microchips. *Journal of Separation Science*, 27(17–18), 1379–1390. <https://doi.org/10.1002/jssc.200401902>.

Salazar-González, C. Y., Rodríguez-Pulido, F. J., Stinco, C. M., Terrab, A., Díaz-Moreno, C., Fuenmayor, C., and Heredia, F. J. (2020). Carotenoid profile determination of bee pollen by advanced digital image analysis. *Computers and electronics in agriculture*, 175, Article e105601. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105601>.

Sandström, B. (2001). Micronutrient interactions: Effects on absorption and bioavailability. *British Journal of Nutrition*, 85(S2), S181.

Santos, G. C. D., Antunes, L. M. G., Santos, A. C. D., and Bianchi, M. D. L. P. (2009). Coenzyme Q10 and its effects in the treatment of neurodegenerative diseases. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(4), 607–618. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000400002>.

Sargin, Hafsa Sena (2019). Ülkemizde Tüketilen Kahvaltılık Gevrek Ürünlerinin Glisemik İndeks ve Protein Sindirilebilirliklerinin İn Vitro Gastrointestinal Sistem ile İncelenmesi. İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.

Sattler, J. A. G., De Melo, I. L. P., Granato, D., Araújo, E., Da Silva De Freitas, A., Barth, O. M., Sattler, A., and De Almeida-Muradian, L. B. (2015). Impact of origin on bioactive compounds and nutritional composition of bee pollen from southern Brazil: A screening study. *Food Research International*, 77, 82–91.

Schulz, C., Obermüller-Jevic, U. C., Hasselwander, O., Bernhardt, J., and Biesalski, H. K. (2006). Comparison of the relative bioavailability of different coenzyme Q₁₀ formulations with a novel solubilizate (Solu™ Q10). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(7–8), 546–555. <https://doi.org/10.1080/09637480601058320>.

Serra Bonvehí, J., Soliva Torrentó, M., and Centelles Lorente, E. (2001). Evaluation of Polyphenolic and Flavonoid Compounds in Honeybee-Collected Pollen Produced in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1848–1853.

Shan, L., and Jones, B. R. (2022). Nano-LC: An updated review. *Biomedical Chromatography*, 36(5). <https://doi.org/10.1002/bmc.5317>.

Si-Ahmed, K., Aturki, Z., Chankvetadze, B., and Fanali, S. (2012). Evaluation of novel amylose and cellulose-based chiral stationary phases for the stereoisomer separation of

flavanones by means of nano-liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 738, 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.055>.

Siddiqui, F., Cai, C., Aranda, J. V., and Beharry, K. D. (2023). Coenzyme Q10 and Fish Oil Supplementation for Reducing Retinal Oxidative Stress in a Rat Model. *Vision*, 7(1), 20. <https://doi.org/10.3390/vision7010020>.

Silva, M., Pérez-Quintanilla, D., Morante-Zarcelo, S., Sierra, I., Marina, M. L., Aturki, Z., and Fanali, S. (2017). Ordered mesoporous silica functionalized with β -cyclodextrin derivative for stereoisomer separation of flavanones and flavanone glycosides by nano-liquid chromatography and capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 1490, 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.02.012>.

Snyder, D. T., Pulliam, C. J., Ouyang, Z., and Cooks, R. G. (2016). Miniature and Fieldable Mass Spectrometers: Recent Advances. *Analytical Chemistry*, 88(1), 2–29.

Snyder, L. R., Kirkland, J. J., and Dolan, J. W. (2011). *Introduction to Modern Liquid Chromatography* (3., Auflage). John Wiley and Sons.

Sohal, R. S., and Forster, M. J. (2007). Coenzyme Q, oxidative stress and aging. *Mitochondrion*, 7, S103–S111. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.03.006>.

Sommano, S. R., Bhat, F. M., Wongkeaw, M., Sriwichai, T., Sunanta, P., Chuttong, B., and Burgett, M. (2020). Amino Acid Profiling and Chemometric Relations of Black Dwarf Honey and Bee Pollen. *Frontiers in Nutrition*, 7, 558579.

Song, W. O., Chun, O. K., Kerver, J., Cho, S., Chung, C. E., and Chung, S.-J. (2006). Ready-to-Eat Breakfast Cereal Consumption Enhances Milk and Calcium Intake in the US Population. *Journal of the American Dietetic Association*, 106(11), 1783–1789. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2006.08.015>.

Souchet, N., and Laplante, S. (2007). Seasonal variation of Co-enzyme Q10 content in pelagic fish tissues from Eastern Quebec. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(5), 403–410. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.09.004>.

Stanciu, O. G., Marghitas, L. A., Dezmirean, D., and Campos, M. G. (2011). A comparison between the mineral content of flower and honeybee collected pollen of selected plant origin (*Helianthus annuus* L. and *Salix* sp.). *Romanian Biotechnological Letters*, 16(4).

Staniak, M., Wójciak, M., Sowa, I., Tyszczyk-Rotko, K., Strzemiński, M., Dresler, S., and Myśliński, W. (2020). Silica-Based Monolithic Columns as a Tool in HPLC—An Overview of Application in Analysis of Active Compounds in Biological Samples. *Molecules*, 25(14), 3149. <https://doi.org/10.3390/molecules25143149>.

Svec, F. (2010). Porous polymer monoliths: Amazingly wide variety of techniques enabling their preparation. *Journal of Chromatography A*, 1217(6), 902–924. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.073>.

Svec, F., and Fréchet, J. M. J. (1996). New Designs of Macroporous Polymers and Supports: From Separation to Biocatalysis. *Science*, 273(5272), 205–211.

Svec, F., and Lv, Y. (2015). Advances and Recent Trends in the Field of Monolithic Columns for Chromatography. *Analytical Chemistry*, 87(1), 250–273.

Svec, Frantisek., and Frechet, J. M. J. (1992). Continuous rods of macroporous polymer as high-performance liquid chromatography separation media. *Analytical Chemistry*, 64(7), 820–822. <https://doi.org/10.1021/ac00031a022>.

Tafazoli, A. (2017). Coenzyme Q10 in breast cancer care. *Future Oncology*, 13(11), 1035–1041. <https://doi.org/10.2217/fon-2016-0547>.

Taha, E.-K. A., Al-Kahtani, S., and Taha, R. (2019). Protein content and amino acids composition of bee-pollens from major floral sources in Al-Ahsa, eastern Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(2), 232–237.

Takeuchi, T., Masuoka, S., and Jin, J.-Y. (2003). Postcolumn derivatization in microcolumn liquid chromatography. *Journal of Separation Science*, 26(6–7), 635–638. <https://doi.org/10.1002/jssc.200390088>.

Takeuchi, T., Tatsumi, S., Masuoka, S., Hirose, K., Uzu, H., Jin, J.-Y., Fujimoto, C., Ohta, K., Lee, K.-P., Ryoo, J.-J., and Choi, S.-H. (2003). Split flow and bypass flow systems for monolithic capillary columns in liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1021(1–2), 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.08.087>.

Thakur, M., and Nanda, V. (2018). Assessment of physico-chemical properties, fatty acid, amino acid and mineral profile of bee pollen from India with a multivariate perspective. *J. Food Nutr. Res.*, 57.

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

Thanatuksorn, P., Kawai, K., Hayakawa, M., Hayashi, M., and Kajiwar, K. (2009). Improvement of the oral bioavailability of coenzyme Q10 by emulsification with fats and emulsifiers used in the food industry. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 385–390. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.03.006>.

Thomas, R. G., Pehrsson, P. R., Ahuja, J. K. C., Smieja, E., and Miller, K. B. (2013). Recent Trends in Ready-to-eat Breakfast Cereals in the U.S. *Procedia Food Science*, 2, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2013.04.005>.

Tobin, B. D., O’Sullivan, M. G., Hamill, R., and Kerry, J. P. (2014). Effect of cooking and in vitro digestion on the stability of co-enzyme Q10 in processed meat products. *Food Chemistry*, 150, 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.138>.

Tolfrey, K., and Zakrzewski, J. K. (2012). Breakfast, glycaemic index and health in young people. *Journal of Sport and Health Science*, 1(3), 149–159.

Tomer, K. B. (2001). Separations Combined with Mass Spectrometry. *Chemical Reviews*, 101(2), 297–328. <https://doi.org/10.1021/cr990091m>.

Toprak, K., ve Ayaz, A. (2019). Koenzim Q10: Biyolojik Aktivitesi ve Sağlık Üzerine Etkisine Güncel Bakış. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 6(2), 95–111. <https://doi.org/10.21020/husbfd.450217>.

TSE, 2006. Polen. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.

Tuoheti, T., Rasheed, H. A., Meng, L., and Dong, M. S. (2020). High hydrostatic pressure enhances the anti-proliferative properties of lotus bee pollen on the human prostate cancer PC-3 cells via increased metabolites. *Journal of Ethnopharmacology*, 261, 113057. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113057>.

Tswett, M. (1906). Adsorptionsanalyse und Chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. *Ber. deutsch. bot. Ges.*, 24, 384–393.

Turkowicz, M. J., and Karpińska, J. (2013). Analytical problems with the determination of coenzyme Q₁₀ in biological samples. *BioFactors*, 39(2), 176–185.

Turunen, M., Olsson, J., and Dallner, G. (2004). Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1660(1–2), 171–199.

van Deemter, J. J., Zuiderweg, F. J., and Klinkenberg, A. (1956). Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography. *Chemical Engineering Science*, 5(6), 271–289. [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(56\)80003-1](https://doi.org/10.1016/0009-2509(56)80003-1).

van der Heijden, A. A. W. A., Hu, F. B., Rimm, E. B., and van Dam, R. M. (2007). A Prospective Study of Breakfast Consumption and Weight Gain among U.S. Men**. *Obesity*, 15(10), 2463–2469. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.292>.

Vanderplanck, M., Moerman, R., Rasmont, P., Lognay, G., Wathelet, B., Wattiez, R., and Michez, D. (2014). How Does Pollen Chemistry Impact Development and Feeding Behaviour of Polylectic Bees? *PLoS ONE*, 9(1), e86209.

Varela-López, A., Giampieri, F., Battino, M., and Quiles, J. (2016). Coenzyme Q and Its Role in the Dietary Therapy against Aging. *Molecules*, 21(3), 373.

Vasconcelos Soares Maciel, E., de Toffoli, A. L., Sobieski, E., Domingues Nazário, C. E., and Lanças, F. M. (2020). Miniaturized liquid chromatography focusing on analytical columns and mass spectrometry: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1103, 11–31. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.12.064>

Vaya, J., Belinky, P. A., and Aviram, M. (1997). Antioxidant Constituents from Licorice Roots: Isolation, Structure Elucidation and Antioxidative Capacity Toward LDL Oxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(2), 302–313.

Velásquez, P., Rodriguez, K., Retamal, M., Giordano, A., Valenzuela, L., and Montenegro, G. (2017). Relation between composition, antioxidant and antibacterial activities and botanical origin of multifloral bee pollen. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 306-314 Pages. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2017.090.038>

Venn, B. J., and Mann, J. I. (2004). Cereal grains, legumes and diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(11), 1443–1461. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601995>.

Villanueva-Bermejo, D., and Temelli, F. (2021). Extraction of oil rich in coenzyme Q10 from chicken by-products using supercritical CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*, 174, 105242. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105242>.

Vissers, J. P. C. (1999). Recent developments in microcolumn liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 856(1–2), 117–143. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00692-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00692-5).

Vissers, J. P. C., Claessens, H. A., and Cramers, C. A. (1997). Microcolumn liquid chromatography: Instrumentation, detection and applications. *Journal of Chromatography A*, 779(1–2), 1–28. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00422-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00422-6).

Vlakh, E. G., and Tennikova, T. B. (2009). Applications of polymethacrylate-based monoliths in high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1216(13), 2637–2650. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.09.090>.

Wan Omar, W. A., Azhar, N. A., Harif Fadzilah, N., and Nik Mohamed Kamal, N. N. S. (2016). Bee pollen extract of Malaysian stingless bee enhances the effect of cisplatin on breast cancer cell lines. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(3), 265–269. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.12.011>.

- Wiemer, K. (2018). Breakfast Cereals. In *Food Fortification in a Globalized World* (pp. 183–191). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802861-2.00019-5>.
- Williams, P. G. (2014). The Benefits of Breakfast Cereal Consumption: A Systematic Review of the Evidence Base. *Advances in Nutrition*, 5(5), 636S–673S. <https://doi.org/10.3945/an.114.006247>.
- Williamson, C. S. (2010). Breakfast cereals—Why all the bad press? *Nutrition Bulletin*, 35(1), 30–33. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2009.01797.x>.
- Wilson, S. R., Olsen, C., and Lundanes, E. (2019). Nano liquid chromatography columns. *The Analyst*, 144(24), 7090–7104. <https://doi.org/10.1039/C9AN01473J>.
- Wilson, S. R., Vehus, T., Berg, H. S., and Lundanes, E. (2015). Nano-LC in proteomics: Recent advances and approaches. *Bioanalysis*, 7(14), 1799–1815.
- Wu, R., Hu, L., Wang, F., Ye, M., and Zou, H. (2008). Recent development of monolithic stationary phases with emphasis on microscale chromatographic separation. *Journal of Chromatography A*, 1184(1–2), 369–392. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.09.022>
- Xia, S., Xu, S., and Zhang, X. (2006). Optimization in the Preparation of Coenzyme Q₁₀ Nanoliposomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 6358–6366. <https://doi.org/10.1021/jf060405o>.
- Xue, X., Zhao, J., Chen, L., Zhou, J., Yue, B., Li, Y., Wu, L., and Liu, F. (2012). Analysis of coenzyme Q₁₀ in bee pollen using online cleanup by accelerated solvent extraction and high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 133(2), 573–578.
- Yandamuri, N., and Dinakaran, S. K. (2015). Advanced Study of Nano Liquid Chromatography and Its Application-A Review. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(4).
- Yang, G., Li, F., Wang, L., Row, K. H., Liu, H., Bai, L., Cao, W., and Zhu, T. (2008). Synthesis, Characteristics and Evaluation of a New Monolithic Silica Column Prepared from Copolymer Pluronic F127. *Chromatographia*, 68(1–2), 27–31.
- Yang, K., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Chen, J., and Sun, P. (2013). Characterization of Chemical Composition of Bee Pollen in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(3), 708–718. <https://doi.org/10.1021/jf304056b>.

Yang, L., Wang, H., Song, S., Xu, H., Chen, Y., Tian, S., Zhang, Y., and Zhang, Q. (2022). Systematic Understanding of Anti-Aging Effect of Coenzyme Q10 on Oocyte Through a Network Pharmacology Approach. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 813772.

Yıldız, O., Can, Z., Saral, Ö., Yuluğ, E., Öztürk, F., Aliyazıcıoğlu, R., Canpolat, S., and Kolaylı, S. (2013). Hepatoprotective Potential of Chestnut Bee Pollen on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Damages in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/461478>.

Yu, L., Chao, C., Li, Q., Ye, S., Lin, J., Zhong, S., Xuan, Q., Xu, K., and Zhao, S. (2023). A Co-Encapsulation of Coenzyme Q10 and Curcumin in Liposomes Coated with Chitosan (Q10-Cur-Lip-Chi) with Enhanced Solubility and Stability for Good Release Performance and Antioxidative Activity. *Current Drug Delivery*, 20(9), 1391–1403.

Zajickova, Z. (2017). Advances in the development and applications of organic–silica hybrid monoliths. *Journal of Separation Science*, 40(1), 25–48.

Zhang, H., Zhu, X., Huang, Q., Zhang, L., Liu, X., Liu, R., and Lu, Q. (2023). Antioxidant and anti-inflammatory activities of rape bee pollen after fermentation and their correlation with chemical components by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry-based untargeted metabolomics. *Food Chemistry*, 409, 135342.

Zhang, X., Liu, H., Hao, Y., Xu, L., Zhang, T., Liu, Y., Guo, L., Zhu, L., and Pei, Z. (2018). Coenzyme Q10 protects against hyperlipidemia-induced cardiac damage in apolipoprotein E-deficient mice. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 279.

Zhang, Z., Wu, M., Wu, R., Dong, J., Ou, J., and Zou, H. (2011). Preparation of Perphenylcarbamoylated β -Cyclodextrin-silica Hybrid Monolithic Column with “One-Pot” Approach for Enantioseparation by Capillary Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, 83(9), 3616–3622. <https://doi.org/10.1021/ac200414r>.

Žmitek, J., Žmitek, K., and Pravst, I. (2008). *Improving the bioavailability of coenzyme Q10*. 19(4).