

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLEN EKSTRAKTIYLA ÜRETİLEN KEFİRLERİN DEPOLAMA
SÜRESİNCE KALİTE PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ONUR DÜNDAR

ARI VE ARI ÜRÜNLERİ ABD

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Duygu Nur ÇOBANOĞLU

BİNGÖL-2024

**POLEN EKSTRAKTIYLA ÜRETİLEN KEFİRLERİN DEPOLAMA SÜRESİNCE
KALİTE PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Öğr. Üyesi Duygu Nur ÇOBANOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Dilhun Keriman ARSERİM UÇAR danışmanlığında, Onur DÜNDAR tarafından hazırlanan bu çalışma/...../..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Arı ve Arı Ürünleri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan :	İmza :
Üye :	İmza :
Üye :	İmza :

Yukarıdaki sonuç;

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

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma, Tübitak 1002-A projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 222O271

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 çalışmaları süresince yardımlarını ve bilgi birikimini esirgemeyen, çalışmaların tamamlanabilmesi için gerekli desteği veren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Duygu Nur ÇOBANOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez çalışmasına desteklerinden dolayı Bingöl Üniversitesi Arı ve Doğal Ürünler Ar-Ge ve Ür-Ge Uyg. ve Arş. Merkezi, Arıcılık Araştırma, Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezi teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında yaptıkları yönlendirmeler ve katkılarından dolayı değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi' Dilhun Keriman ARSERİM UÇAR'a ve Dr. Öğr. Üyesi İnan DURSUN'a, deneysel çalışmalar esnasında çokça yardımlarını gördüğüm Araş. Gör. İkranur FELEK'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak bende büyük emekleri olan, benim için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve dualarını esirgemeyen anne ve babama, tezin hazırlanması sırasında gösterdikleri sabır, fedakârlık ve desteklerinden dolayı eşime özellikle teşekkürü bir borç bilirim.

Onur DÜNDAR
Bingöl 2024

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1.Kefir	5
2.2. Arı poleni	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal Temini	20
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Arı Poleninin Botanik Orijininin Belirlenmesi.....	20
3.2.2. Arı Polen Ekstraktlarının Hazırlanması.....	21
3.2.3. Kefir Üretimi.....	22
3.2.4.Kefir Ekstraktların Hazırlanması.....	24
3.2.5. Kefir Örneklerinde Fizikokimyasal Analizler.....	24
3.2.5.1. Toplam Kuru Madde (TKM) Miktarı.....	24
3.2.5.2. Toplam Kül İçeriği.....	25
3.2.5.3. Toplam Protein İçeriği.....	26
3.2.5.4. Yağ İçeriği.....	26
3.2.5.5. Titrasyon Asitliği.....	27
3.2.5.6. pH Değeri.....	27
3.2.5.7. Renk Analizi.....	28
3.2.5.8. Duyusal Değerlendirme.....	28
3.2.6. Kefirlerde Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini.....	28
3.2.7. Kefir Ekstraktlarının Antioksidan Tayin Metodlar.....	29

3.2.7.1. DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemiyle Antioksidan Aktivite Tayin.....	29
3.2.7.2 FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü) Yöntemiyle Antioksidan Aktivite Tayin.....	30
3.2.8. Sıvı Kromatografisi-Yüksek Çözünürlük Kütle Spektrometrisi (LC-HR MS) Cihazı ile Polen Katkılı Kefir Örneklerinin Fenolik Bileşiklerinin Belirlenmesi.....	31
3.2.8.1 Kromatografi ve yüksek çözünürlüklü MS koşulları.....	31
3.2.9. Kefirlerin Mikrobiyolojik Analizleri.....	40
3.2.9.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı.....	40
3.2.9.2. Toplam Maya ve Küf Sayım.....	40
3.2.9.3. Laktobasil ve Laktokok Sayımı.....	40
3.2.9.4. Asetik Asit Cinsi Bakteri Sayımı.....	41
3.2.9.5. İstatistiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	42
4.1. Arı Poleninin Botanik Orijini.....	42
4.2. Kefir Örneklerinde Fizikokimyasal Analiz Sonuçları.....	43
4.2.1. Toplam Kuru Madde (TKM) Miktarı.....	44
4.2.2. Toplam Kül İçeriği.....	46
4.2.3. Toplam Protein İçeriği.....	48
4.2.4. Yağ İçeriği.....	50
4.2.5. Titrasyon Asitliği.....	52
4.2.6. pH Değeri.....	54
4.2.7. Renk Analizi.....	56
4.2.7.1 .L* Renk Değeri.....	58
4.2.7.2. a* Renk Değeri.....	59
4.2.7.3. b* Renk Değeri.....	60
4.2.8. Duyusal Analiz.....	61
4.3. Kefirlerde Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	63
4.4. Kefir Ekstraktlarının Antioksidan Tayin Sonuçları.....	66
4.5. Kefir Örneklerinin Fenolik Madde İçerikleri	69
.....	
4.6. Kefirlerin Mikrobiyolojik Değerlendirmeleri.....	77

4.6.1. Kefir Örneklerinde Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı.....	81
4.6.2. Toplam Maya ve Küf Sayım	82
4.6.3. Kefir Örneklerinde Laktobasil Sayımı.....	82
4.6.4. Kefir Örneklerinde Laktokok Sayımı.....	83
4.6.5. Kefir Örneklerinde Asetik Asit Bakteri Sayımı.....	84
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	86
KAYNAKLAR.....	87
EKLER.....	100



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

TKM	: Toplam kuru madde
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
HCl	: Hidroklorik Asit
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
DPPH	: 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP	: Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü
TPTZ	: Demir Toz Reaktif Paketleri
LC-HRMS	: Sıvı Kromatografisi-Yüksek Çözünürlük Kütle Spektrometrisi
mM	: Mili Molar
µL	: Mikro Litre
nm	: Nanometre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Arı polenin bal arıları tarafından üretim aşamaları	9
Şekil 2.2.	Arı poleni peletleri	11
Şekil 3.1.	(a.,b.,c.,d.) Arı poleni ekstraktı hazırlama aşamaları	22
Şekil 3.2.	(a.,b.) Kefir hazırlama aşamaları	22
Şekil 3.3.	Arı poleni katkılı ve kontrol grubu kefir üretim akış şeması.....	23
Şekil 3.4.	Katkılı ve kontrol grubu kefir görselleri.....	23
Şekil 3.5.	Kefir ekstraktlarının hazırlanması.....	24
Şekil 3.6.	Toplam kuru madde tayini.....	25
Şekil 3.7.	Kefir örneklerinin yağ içeriği tayini.....	26
Şekil 3.8.	Kefir örnekleri titrasyon asitliği.....	27
Şekil 3.9.	Gallik asit standart eğrisi.....	29
Şekil 3.10.	Troloks standart grafiği.....	30
Şekil 3.11.	Elüsyonda takip eden gradiyent koşulları.....	31
Şekil 3.12.	Laktobasil sayımı.....	41
Şekil 4.1.	Polen örneğinin içerdiği polen taneleri (ışık mikroskobu görüntüsü) (40X).....	42
Şekil 4.2.	Kefir örneklerinin %toplam kuru madde içeriği.....	45
Şekil 4.3.	Kefir örneklerinin % kül miktarları.....	47
Şekil 4.4.	Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca protein miktarlarındaki değişim (%) (n=3).....	49
Şekil 4.5.	Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca yağ miktarlarındaki değişim (%) (n=3).....	51
Şekil 4.6.	Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca titrasyon asitliği (g/100g laktik asit) değerindeki değişim (%) (n=3).....	53
Şekil 4.7.	Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca pH değerindeki değişim (%) (n=3).....	55
Şekil 4.8.	Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca L* değerindeki değişim (n=3).....	58
Şekil 4.9.	Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca a* değerindeki değişim	

	(%) (n=3).....	5
Şekil 4.10.	Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca b* değerindeki değişim (%) (n=3).....	60
Şekil 4.11.	Kefir örneklerinin duysal analiz sonuçlarının depolama süresince değişimi.....	63
Şekil 4.12.	Kefir örneklerinin toplam fenolik madde (μg GAE/mg) miktarlarının depolama süresince değişimi.....	64
Şekil 4.13.	Kefir örneklerinin antioksidan aktivite (DPPH ve FRAP) sonuçlarının depolama süresince değişimi ($\mu\text{gTE/g}$).....	67
Şekil 4.1.	Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca fenolik madde içeriği.....	76

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Katkılı kefirlerle ilgili yapılan literatür çalışmaları.....	7
Tablo 2.2.	Arı poleni ilaveli fermente ürünler.....	17
Tablo 3.1.	Kefirlerin duysal değerdendirme parametreleri.....	28
Tablo 3.2.	Fenolik bileşiklerin alıkonma zamanı (RT), Quan Peak (m/z), iyon modu (polarite), confirming ions (m/z), kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayısı (R2), doğrusal (Lineer) aralık (µg/L), belirleme alt sınırı (limit of detection, LOD) (µg/L) ve tayin alt sınırı (limit of quantification, LOQ) (µg/L), % geri kazanım ve % geri kazanım RSD.....	32
Tablo 4.1.	Polen örneğinin botanik kaynağı.....	42
Tablo 4.2.	Kefir örneklerinin toplam kuru madde içeriğı (%) (n=3)	44
Tablo 4.2.	Kefir örneklerinin kül miktarları (%) (n=3).....	46
Tablo 4.4.	Kefir örneklerinin protein miktarları (%) (n=3).....	48
Tablo 4.5.	Kefir örneklerinin yağ miktarları (%) (n=3).....	50
Tablo 4.6.	Kefir örneklerinin titrasyon asitliğı değerdleri (g/100g laktik asit) miktarları (%) (n=3).....	52
Tablo 4.7.	Kefir örneklerinin pH değerdleri (%) (n=3).....	54
Tablo 4.8.	Kefir örneklerinin L*, a*, b* değerdleri (n=3).....	57
Tablo 4.9.	Kefir örneklerinin duysal analiz parametre sonuçları.....	62
Tablo 4.10.	Kefir örneklerinin toplam fenolik madde değerdleri (µg GAE/mg)	63
Tablo 4.11.	Kefir örneklerinin DPPH değerdleri (n=3).....	66
Tablo 4.12.	Kefir örneklerinin FRAP değerdleri (n=3).....	66
Tablo 4.13.	Kefir örneklerinin fenolik bileşen içeriğı (ng/ml).....	70
Tablo 4.14.	Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı değişimi.....	81
Tablo 4.15.	.Kefir örneklerinde toplam laktobasil sayımı.....	82
Tablo 4.16.	Kefir örneklerinin laktokok sayımı analiz sonuçları.....	83
Tablo 4.17.	Kefir örneklerinin asetik asit bakteri sayımı değişimi.....	84

EK Tablo 1.	LC-HRMS modundaki kalibrasyon grafiğı, standart bileşiklerinin Quan	
-------------	---	--

peak (ana iyon) kromatogramları ve confirming ions (parçalanma fragment iyonları)'nın kromatogramları ve iyonlarının m/z oranları grafığı.....	100
--	-----



POLEN EKSTRAKTIYLA ÜRETİLEN KEFİRLERİN DEPOLAMA SÜRESİNCE KALİTE PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Modern yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler, insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle, probiyotik ve biyoaktif madde içeren fonksiyonel gıdaların önemi giderek artmaktadır. Arı poleni, besin takviyesi olarak kullanılan, arılar tarafından bitki polenlerinden üretilen bir üründür. Bu bağlamda, mevcut çalışmada, biyoaktif madde içeriği yüksek kefir elde etmek için, %0,25 (K-025), %0,5 (K-05) ve %1 (K-1) konsantrasyonda arı poleni ekstraktı içeren ve içermeyen (Kontrol) dört farklı kefir örneği hazırlanmıştır. Örnekler 4 °C'de 21 gün boyunca depolanmıştır. İlk olarak, kefir örneklerinin içeriğine eklenecek olan arı poleninin botanik kaynağı tespit edilmiştir. Kefir örneklerinin depolama süresince 1., 7. 14. ve 21. günlerde, fizikokimyasal (toplam kuru madde, kül, protein, yağ, titrasyon asitliği, pH, renk) ve duyuşal özellikleri değerlendirilmiş, toplam fenolik içeriği, antioksidan aktivitesi (DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü)) saptanmış ve fenolik madde içeriği sıvı kromatografisi-yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi (LC-HR MS) cihazı ile belirlenmiştir Aynı zamanda, arı poleninin kefir örneklerinin mikrobiyal içeriğindeki değişimine etkisini değerlendirmek için toplam mezofilik aerobik bakteri, latobasil, laktokok, maya ve küf, asetik asit bakteri sayımı gerçekleştirilmiştir. Mikroskopik analizler sonucunda, kefire eklenen arı poleninin bifloral (*Verbascum* sp. ve *Hypericum* sp.) olduğu belirlenmiştir. Kefire eklenen arı poleni kefirin fizikokimyasal özelliklerini geliştirmiştir. Duyuşal analizler sonucunda, K-0,25 örneği en çok beğenilen kefir olmuştur. Arı poleni katkılı kefirlerin toplam fenolik içeriği, DPPH, ve FRAP antioksidan aktivite değerleri sırası ile 62,58±2,5 (Kontrol, 21. Gün)-123,25±7,2 (K-1 7. Gün) µg GAE/mg, 23,65±1,6 (Kontrol, 1. gün)-78,54±0,8 (K-1, 7. gün) µgTE/g, 31,01±3,1 (Kontrol, 1. gün)-106,80±2,8 (K-1, 7. gün) µgTE/g aralığında bulunmuştur. En yüksek oranda saptanan fenolik bileşikler benzoik asit, luteolin, eriodiktiyoldür. Arı poleni ilavesi depolamanın 7. gününe kadar kefir örneklerinin biyoaktif madde içeriğini ve mikrobiyolojik özelliklerini geliştirmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kefir, arı poleni, melissopalınoloji, antioksidan, DPPH, FRAP, LC MS MS, mikrobiyoloji.

DETERMINATION OF QUALITY PARAMETERS OF KEFIR PRODUCED WITH POLLEN EXTRACT DURING THE STORAGE PERIOD

ABSTRACT

Changes in modern lifestyle and dietary habits negatively affect human health. Therefore, the importance of functional foods containing probiotics and bioactive substances is increasing. Bee pollen, a product produced by bees from plant pollen used as a dietary supplement, is high in bioactive compounds. In this context, in the current study, four different kefir samples were prepared with 0.25% (K-025), 0.5% (K-05), and 1% (K-1) concentrations of bee pollen extract to obtain kefir with high bioactive substance content and without bee pollen (Control). The samples were stored at 4°C for 21 days. First, the botanical source of the bee pollen to be added to the kefir samples was determined. During the storage period of the kefir samples on the 1st, 7th, 14th, and 21st days, their physicochemical (total dry matter, ash, protein, fat, titratable acidity, pH, color) and sensory properties were evaluated, total phenolic content, antioxidant activity (DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)) were determined, and phenolic compound content was determined by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HR MS). At the same time, total mesophilic aerobic bacteria, lactobacilli, lactococcus, yeast and mold, and acetic acid bacteria counts were performed to evaluate the effect of bee pollen on the microbial content of kefir samples. As a result of microscopic analyses, it was determined that the bee pollen added to kefir was bifloral (*Verbascum* sp. and *Hypericum* sp.). The addition of bee pollen to kefir improved its physicochemical properties. According to sensory analysis, the K-0.25 sample was the most preferred kefir. The total phenolic content, DPPH, and FRAP antioxidant activity values of bee pollen-added kefirs ranged from 62.58±2.5 (Control, 21st day) to 123.25±7.2 (K-1, 7th day) µg GAE/mg, 23.65±1.6 (Control, 1st day) to 78.54±0.8 (K-1, 7th day) µgTE/g, and 31.01±3.1 (Control, 1st day) to 106.80±2.8 (K-1, 7th day) µgTE/g, respectively. The phenolic compounds detected at the highest levels were benzoic acid, luteolin, and eriodictyol. Addition of bee pollen improved the bioactive substance content and microbiological properties of kefir samples until the 7th day of storage.

Keywords: Kefir, bee pollen, melissopalinalogy, antioxidant, DPPH, FRAP, LC MS MS, microbiological.

1. GİRİŞ

Fonksiyonel gıdaların, içerikleri ve insan metabolizması üzerindeki olumlu etkilerini ortaya koyan bilimsel çalışmalar, son yıllarda giderek artmaktadır. Fonksiyonel besinler terimi ilk kez Japonya'da 1980'lerde kullanılmıştır (Ye vd., 2018). “Fonksiyonel gıdalar”, farklı bileşenlerle zenginleştirilerek ya da var olan bileşenlerin etkisini artırarak, düzenli olarak bir diyetle etkin miktarlarda tüketildiğinde, insan sağlığını geliştirme veya hastalıkları önleme açısından ek bir işlev kazandırılan gıdayı tanımlamak için kullanılmaktadır (Granato vd., 2017). Bu tanım, taze, işlenmemiş veya işlenmiş bir gıdanın, uygun bir klinik deneme, güvenlik (toksikoloji) ve işlevsellik için önemli deneysel kanıtlar olmadan fonksiyonel olarak kabul edilemeyeceği şeklinde yaygın olarak kullanılan fonksiyonel terimin kapsamını daraltmaktadır. Yiyecek, içecek ve takviye edici gıda sektörlerinden oluşan fonksiyonel gıda endüstrisi, gıda sektörünün son yıllarda hızlı büyüme gösteren birkaç alanından biridir (Karabagias vd., 2018b).

Bilinçli tüketicilerin insan sağlığına faydası olan gıdalara ilgisinin artmasını çeşitli faktörler etkilemektedir; bunlardan en önemlileri artan sağlık bakım maliyetleri, büyüyen kendi kendine ilaç tedavisinin düşük maliyeti, nüfusun yaşlanması, obezite salgını ve yaşam tarzı ile ilgili hastalıkların yüksek seviyesi olabilir. Öte yandan, bilimsel kanıtlar diyetin hastalık riskini azaltabileceğini savunmaktadır (Abdi-Moghadam vd., 2023). Yaşam tarzı ve yeme bozuklukları artan diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalıklar ve diğerleri ile ilişkilidir (Mozaffarian, 2016).

Fonksiyonel özelliklere sahip sağlıklı gıdalar, yaşam kalitesini artırmak ve hastalıkları önlemek için mükemmel bir seçimdir. Probiyotik gıdalar ve prebiyotik içeren ürünler, içerdikleri geleneksel besinlerin ötesinde sağlıklı bir fayda sağlayabilen herhangi bir gıda veya gıda bileşeni olarak tanımlanan fonksiyonel gıda olarak kategorize edilir (da SILVA vd., 2018). Süt ve süt ürünleri insanlık var olduğundan beri kullanılan probiyotik içeren bir besin grubudur. İçerdiği protein, mineral, lipit, vitamin ve probiyotik bakteriler sayesinde birçok faydası vardır. Günümüzde, "yeterli miktarda uygulandığında konakçıya

sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlanan probiyotik mikroorganizmaları içeren ürünler olarak tanımlanan yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesine yönelik ilgi giderek artmaktadır (Mechmeche vd., 2018). Günümüzde, süt ürünleri ve içeceklerin önemli bir segmenti temsil ettiği çok sayıda yeni fonksiyonel gıda piyasada mevcuttur (Aiello vd., 2020). Bu gıdalardan biri olan kefir, sütteki laktozun laktik asit ve alkolik fermentasyonunun bir araya gelmesiyle oluşan asidik ve kabarcıklı fermente bir içecektir (Guzel-Seydim vd., 2011).

Arkeolojik kanıtlar, binlerce yıl önce gıda fermentasyonunun biyoprosesinin kazara keşfedildiğini göstermektedir. Çeşitli gıda alt maddeleri fermentasyon süreçlerine uygulanabilir, bunlar arasında süt, et, deniz ürünleri, tahıl taneleri, meyveler, sebzeler, kök mahsulleri bulunmaktadır. Fermentasyonun sağlık ve beslenme özellikleri, son zamanlarda mikrobiyal dönüşümün gıda işlevselliğini artırma yaklaşımını vurgulayan daha fazla bilimsel kanıtın ortaya çıkmasıyla desteklenmektedir. Benzer şekilde, insan beslenmesinde fermentli sütün rolü iyi belgelenmiştir, çünkü bu ürünler eski medeniyetlerden beri insanlık tarafından bilinmektedir (Ganatsios vd., 2021).

Kefirin besin değeri, mineraller, vitaminler, karbonhidratlar, peptitler, proteinler ve yağlardan oluşan zengin kimyasal bileşiminden kaynaklanır. Fermentasyon sürecinde kateşin, vanilin, ferulik asit ve salisilik asit gibi ikincil biyoaktif bileşenler sayesinde, besin değeri daha da artar (Farag vd., 2020a). Kefirler vitaminler, vücudun iyileşmesine ve korunmasına yardımcı olan temel amino asitleri açısından zengindir. Ayrıca kolayca sindirilen proteinleri içerir. Kefir tüketiminin çeşitli avantajları vardır. Kefir uzun zamandır birçok rahatsızlığı ve bozukluğu tedavi etmek için bir ilaç olarak kabul edilmektedir. Kefir, antioksidan, anti-enflamatuvar, anti-hipokolesterolemik, anti-hipertansif, anti-mutajenik, anti-kanserojen ve nörokoruyucu özellikler gibi geniş bir sağlık yararları yelpazesinden dolayı yüzyıllardır tüketilmektedir ve kökeni Balkanlar'dan Orta Asya'nın Kafkasya bölgesine ve Rusya'ya kadar uzanmaktadır (Fatahi vd., 2021; Grishina vd., 2011; Kumar vd., 2021) Dünya genelinde kefir de dahil olmak üzere 3500'den fazla farklı fermente gıda ve içecek üretilmektedir ve Türkiye'de geleneksel bir içecektir (Kabak ve Dobson, 2011).

Arı poleni, arılar tarafından çiçeklerden toplanır ve işçi arıların ağız salgıları ve az miktarda bitki nektarı veya bal içerir ve fonksiyonel gıdalar için iyi bir alternatif olma potansiyeline sahiptir. Arı poleni, karbonhidratlar, proteinler, enzimler, yağ asitleri, karotenoidler, fenolik bileşikler, flavonoidler, steroller, terpenler, mineraller, vitaminler ve serbest amino asit açısından zengin içeriğine bağlı olarak insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Çiftçi ve Öncül, 2024). Arı poleni, sağlık üzerinde olumlu etkileri nedeniyle popüler bir apiterapötik üründür. Arı polenin sağlık faydaları antioksidan enzim aktivitesi ile ilişkilendirilen fenolik maddeler, karotenoidler, C ve E vitamin içeriği ile ilişkilendirilir.

Kefirin besinsel özelliğini artırmak için, içeceğe belirli ve değerli özellikler kazandırabilen uygun bileşenlerle zenginleştirmeyi içerebilir (Lagouri vd., 2018). Bu kapsamda, bitki, soya kökenli ve tarımsal gıda atıkları özleri, meyve suları, bal ve liflerin kullanımı, uygun fonksiyonel içecekler elde etmek için kullanılabilir (Aiello vd., 2020). Bu tür özlerle güçlendirilen besinlerde iyileştirilmiş antioksidan özelliklerin bulunduğu iyi bilinmektedir. Bu nedenle, içeriğini geliştirmek amacıyla bilim insanları antioksidan ve biyolojik aktivitesi yüksek gıda maddelerini süt ürünlerinin üretiminde katkı maddesi olarak kullanmıştır (Çiftçi ve Öncül, 2024). Ayrıca, zenginleştirme bozulma ve patojenik mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkilere neden olabilirken, uygun seviyelerde zenginleştirme ve uygun şartların seçilmesi ile probiyotik büyümeyi artırılabilen veya korunabilmektedir.

Kefirin içeriğini zenginleştirmede birçok gıda maddesi (keten tohumu, bal, biberiye, kahverengi mercimek vb.) kullanılmasına rağmen arı poleni kullanılmamıştır (Gunenc vd., 2017; D.-H. Kim vd., 2017; Perna vd., 2019). Birçok fermente (şarap, yoğurt, bira, kombuşa sirkesi, ekmek, sucuk vb.) üründe arı poleni kullanılmış ve arı polenin ürün içeriğini zenginleştirildiği rapor edilmiştir (Amores-Arrocha vd., 2021; Karabagias vd., 2018a; Uțoiu vd., 2018). Önceki çalışmalar arı polenin besleyici, fizyolojik, fonksiyonel, tedavi edici ve hastalık önleyici işlevleri nedeniyle hem alternatif tıpta hem de insan beslenmesinde birçok alanda yıllardır kullanıldığını göstermiştir (Cornara vd., 2017; Li vd., 2018a). Bununla birlikte, arı polenin gıda işlemedeki pratik uygulamalarına ilişkin bilgiler son derece eksiktir.

Bu çalışmada, ilk defa pastörize süte fermentasyondan önce farklı oranlarda arı poleni ekstraktı eklenerek kefir elde edilmiştir. Farklı oranlarda (%0,25, %0,5, %1) arı poleni ekstraktı ile zenginleştirilmiş kefirler ile, fonksiyonel gıda üretimine alternatif bir yol oluşturma, arıcılık endüstrisine ekonomik fayda sağlama ve insan sağlığına katkıda bulunma amaçlanmıştır. Aynı zamanda, çalışmada farklı oranlarda arı poleni içeren kefirlerden, antioksidan kapasitesi yüksek, depolama süresi uzun olan kefir içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sırası ile arı poleni içeren kefirler üretilmiş ve üretilen kefirlerin depolama sürecini değerlendirmek için 1., 7., 14. ve 21. günlerde, kefirlerin fizikokimyasal özellikleri (toplam kuru madde, pH, asitlik, kül, protein, yağ), toplam fenolik konsantrasyonu, antioksidan aktivitesi, fenolik içeriğı ayrıca probiyotik büyümenin takibi için mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Kefir

Bilinçli tüketicilerin insan sağlığına faydası olan gıdalara ilgisinin artması, bununla beraber son yıllarda ortaya çıkan küresel pandemi etkisiyle de, insan sağlığına yararı kanıtlanmış olan yeni fonksiyonel gıdaları geliştirme çabaları harekete geçmiştir. Günümüzde, farklı katkı maddesi içeren çok sayıda süt ürünü piyasada fonksiyonel gıda olarak yer almaktadır. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre; Fermente Süt Ürünü: 'Sütün uygun mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu ile pH değerinin koagülasyona yol açacak veya açmayacak şekilde düşürülmesi sonucu oluşan ve içermesi gereken mikroorganizmaları yeterli sayıda, canlı ve aktif olarak bulunduran süt ürünü' olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2022). Fermente süt ürünlerinin büyük çoğunluğu laktik asit bakterilerinin (LAB) fermentasyonundan üretilmektedir (Y. J. Kim ve Liu, 2002). Laktik asit bakterileri; Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Leuconostoc ve Pediococcus cinslerini içeren gram pozitif, katalaz redüktaz ve oksidaz negatif, ayrıca hareketsiz ve spor oluşturmeyen mikroorganizmalardır. Yapılan çalışmalar sonucu, Bifidobacterium cinsleri de bu gruba dahil edilmiştir (Kabak ve Dobson, 2011).

Kefir, laktik asit bakterileri, maya ve asetik asit bakterilerinden oluşan, 50'den fazla probiyotik mikroorganizma türü içeren, aynı zamanda kefir tanelerinden veya kefir tanelerinden hazırlanan ana kültürlerden elde edilen geleneksel fonksiyonel bir fermente süt ürünüdür (Saleem vd., 2023). Fermentasyon sırasında laktik asit bakterileri ve mayalar, aseton, asetaldehit, etanol, diasetil, karbondioksit ve asetik asit gibi aroma bileşenleri ile laktik asit üretmektedir. Kefirin kimyasal içeriği, yapımında kullanılan sütün türü, mayalama oranı, mayalanma sıcaklığı, kefir tanesi içeriği gibi parametrelere bağlı olarak değişmektedir. Genellikle kefir %89-90 nem, %3 protein, %0,2 lipid, %6 şeker, %1 laktik asit ve %0,7 kül içermektedir. Ayrıca fermentasyon sürecinde kefirin içeriğinde yer alan vitamin B1, B12, kalsiyum, amino asitler, folik asit ve vitamin K düzeylerinin arttığı bilinmektedir. Kefir, inek, keçi, koyun, deve, manda sütü dahil olmak

üzere her türlü süttten ve pirinç, hindistan cevizi, badem ve soya sütü gibi süt ikamelerinden yapılabilir (Güzel-Seydim vd., 2000; Irigoyen vd., 2005). Kefir taneleri sert, küçük, dağınık yapıda, çapı 3 ila 35 mm arasında değişen, küçük karnabahar görünümünde ve kadifemsi yapıda sarımsı beyaz renkte granüllerdir. Bu tanelerin yapısında, polisakkaritler, matriks kazein ve kompleks şekerlerle birleştirilmiş laktik asit bakterileri (laktobasiller, laktokoklar, lökonostoklar) ve çeşitli mayalar bulunmaktadır. Kefir taneleri çoğunlukla laktozu laktik aside parçalayan mayaları (*Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Torula kefir*) ve ayrıca laktozu parçalamayan maya (*Saccharomyces cerevisiae*) içermektedir (Beshkova vd., 2003; Frengova vd., 2002).

Son yıllarda yapılan birçok bilimsel araştırma kefirin besinsel özelliklerini ortaya çıkarmıştır. Çoğunlukla bu içeceğin içeriğinde bulunan lipidler, vitaminler, mineraller, amino asitler ve mikro elementler gibi farklı biyoaktif bileşikler nedeniyle insan sağlığına faydalı olduğu tespit edilmiştir (Bourrie vd., 2020). Fermantasyon işlemi, vitaminler, folik asit, kalsiyum ve amino asitlerin artışında kilit rolü göstermektedir (Kıvanç ve Yapıcı, 2015). Ayrıca, süütün fermantasyonu sırasında heteropolisakkarit grubundan kefiran gibi farklı biyoaktif bileşikler oluşur, bu da içeceğe önemli antihipertansif, antioksidan, antialerjenik, antitümör, antimikrobiyal, antienflamatuar ve kolesterol düşürücü aktiviteler kazandırır (D. H. Kim vd., 2019).

Kefir örneklerinin mikrobiyal çeşitliliğinin ve kompozisyonunun araştırılması hem gıda endüstrisi hem de tıbbi etkileri açısından önemlidir. Kefirin mikrobiyotasındaki bakteri ve mayaların simbiyotik ilişkileri, tat ve doku bazında gıda kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Gul vd., 2018a). Kalite esas olarak üretim teknolojilerine, kültür koşullarına, kullanılan süt tipine bağlı olarak değişmektedir. Kefir mikrobiyotası ile ilgili yapılan bir çalışmada, Türkiye’de ticari olarak satışı olan endüstriyel üretim 33 kefir örneği kullanılmıştır. Mikroorganizma gruplarını belirlemek için, hem zenginleştirilmemiş kefir içeceklerinden, hem de kefirlerin ön zenginleştirilmesinden sonra DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Zenginleştirilmemiş kefir içeceklerinde en bol bulunan cins *Lactococcus*, ardından *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* iken, önceden zenginleştirilmiş kefir numunelerinde en bol bulunan cins *Streptococcus* olup, bunu *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* ve *Leuconostoc* cinsleri takip etmektedir. Kefirlerin ön zenginleştirilmesi, cins düzeyinde taksonomik

sınıflandırmada dikkate değer bir değişikliğe yol açmış ve baskın mikrobiyota profilini *Lactococcus*'tan *Streptococcus*'a çevirmiştir (Yegin vd., 2022).

Kefirin sağlığa olan faydaları, içeceğe özel ve değerli özellikler kazandırabilen çeşitli bileşenlerle zenginleştirilebilmektedir (Karagözlü vd., 2018). Bu bağlamda kefirin içeriği, sebze ve meyve püresi suları, soya türevi ürünler, tarımsal gıda endüstrisi yan ürünleri veya bunların ekstraktlarının yanı sıra, bal ve çeşitli liflerin kullanılması ile geliştirilmekte, bu tür ekstraktlarla güçlendirilmiş kefirlerin antioksidan özellikleri artmaktadır. Aynı zamanda içeriği uygun proseslerle zenginleştirilen kefirlerin, probiyotik miktarı, bozulma süresi artırılabilir (Aiello vd., 2020). İçeriği çeşitli katkı maddeleri ile zenginleştirilmiş kefirler ile yapılan çalışmalar Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Katkılı kefirlerle ilgili yapılan literatür çalışmaları

Katkı Maddesi	Katkı Oranı	Mikroorganizma	Gösterilen Etki	Kaynakça
Keten Tohumu	%1	<i>Lactobacillus. kefiranoferiens</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i>	Mikroorganizma sayısı ve canlılık	(D.-H. Kim vd., 2017)
Fındık Sütü	%25-50-75	Laktobasiller ve laktokoklar	Mikroorganizma sayısı ve canlılık	(Atalar, 2019)
Biberiye(<i>Rosmarinum officinalis</i>)	%0,15	-	Antioksidan aktivite	(Perna vd., 2019)
Bal	%30	-	Antioksidan aktivite	(Perna vd., 2019)
Sarımsak Tozu	%1	-	Antioksidan aktivite, duysal parametreler, olumsuz etkisi	(Znamirowska vd., 2017)
Gölevez (<i>Colocasia esculenta</i> L.), Susam Tohumu (<i>Sesamum indicum</i> L.) ve Fasulye (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	%25-50-75	-	Fermantasyon süreci	(da Costa vd., 2018)
Rodiola	%2	-	Hipoglisemik aktivite, antiinflamatuvar aktivite	(Kwon vd., 2006)
Siyah ve yeşil çay	%2-4	-	Antioksidan aktivite	(Karagözlü vd., 2018)
Kahverengi Mercimek	%2	-	pH değerleri, toplam fenolik İçerik, antioksidan aktivite, bakteriyel aktivite	(Gunenc vd., 2017)
<i>Portulaca oleracea</i> L. tohumu yağı	%0,5-1-1,5	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Bifidiobacterium</i> spp.	Fizikokimyasal özellikler, antioksidan aktivite	(Moradi ve Nouri, 2023)
<i>Opuntia dillenii</i> meyve tozu	%0,2,0,3	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	Bakteriyel aktivite, fenolik içerik, antioksidan aktivite, fizikokimyasal özellikler	(Taheur vd., 2023)

Tablo 2.1. Devam ediyor

Katkı Maddesi	Katkı Oranı	Mikroorganizma	Gösterilen Etki	Kaynakça
Karadut suyu	%1, 2.5,5,7.5	<i>Lactococcus lactis</i> (ssp. <i>cremoris</i> , ssp. <i>lactis</i> , and ssp. <i>lactis biovar diacetylactis</i>), <i>S. thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>L. kefir</i> , <i>L. parakefir</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Fizikokimyasal, TPC, antioksidan aktivite,bakteriyel aktivite	(Travičić vd., 2023)
Soya fasulyesi	-	-	Bakteriyel aktivite	(Luo vd., 2023)

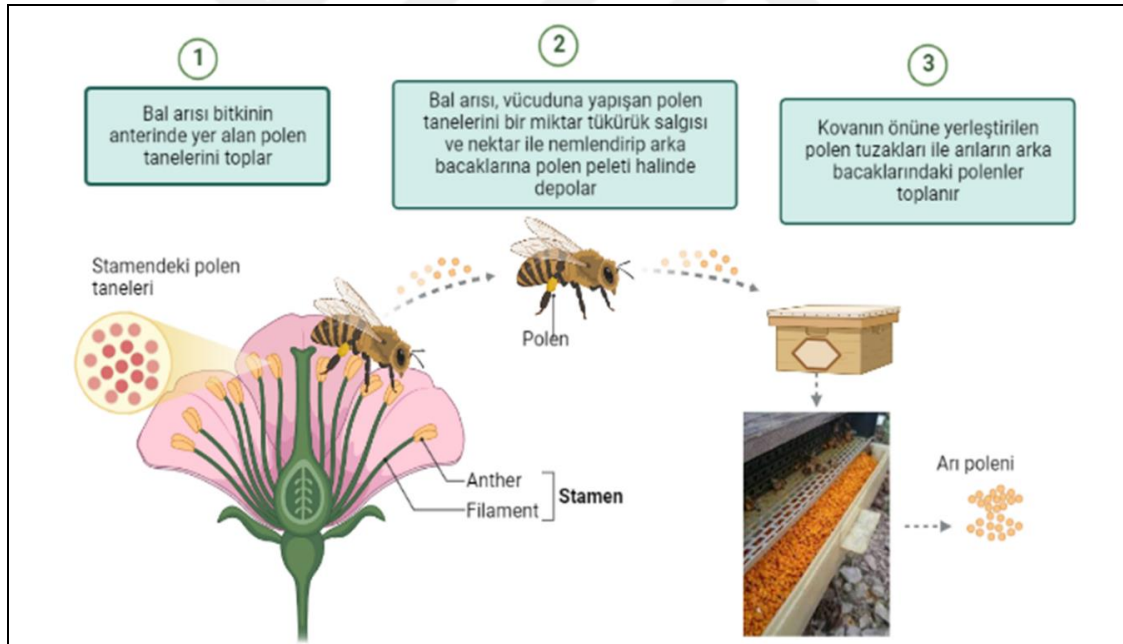
2.2. Arı poleni

Arı ürünleri, zengin ve doğal besin içeriği ve yüksek biyoaktif bileşenleri ile besin değerini artırmak için diğer gıda ürünlerine katılan veya tek başına kullanıldığında 'fonksiyonel gıda' olarak kabul edilen doğal ürünlerdir. Bal, polen, propolis, arı sütü ve arı ekmeğinin besin değeri yüksektir ve insan sağlığını olumlu yönde etkileyen birçok faydalı etkileri olduğu bilinmektedir. Arı ürünleri basit şekerler, proteinler, tekli doymamış yağ asitleri ve esansiyel amino asitler bakımından oldukça zengindir. Bu özellikler bağışıklık sistemini güçlendirmekte, vücudun patojen bakterilere karşı etkin olarak savaşmasına yardımcı olmakta ve zarar gören dokuların yenilenmesini teşvik ederek yapısal düzenin oluşturulmasını sağlamaktadır (Bobis vd., 2010) . Arı ürünleri, geleneksel tıp tarihi boyunca yanıklar, yaralar, diyabetik ayak ülserleri, alerjik rinit, hiperlipidemi ve romatoid artrit gibi rahatsızlıkları önlemek için kullanılmıştır

Anemofil (rüzgarla tozlaşan bitkiler, örneğin, kestane, huş, zeytin, kıızılağaç) bitkilerin polenleri, insanda saman nezlesi, ciltte döküntü veya astım gibi çok ciddi çeşitli alerji semptomlarının ve bitki besin alerjisinin gelişmesine neden olabilen alerjenler içermektedir (Bartra vd., 2009). Bunun aksine böceklerle tozlaşan (entomofil) bitkilerin polenleri, onu toplayan türler için değerli bir gıda olarak kullanılmaktadır. Yani entomofil bitkilerden elde edilen polen tanelerinin besin değeri anemofil olanlara göre daha yüksektir (Kieliszek vd., 2018). Entomofil bitkiler için en önemli tozlaştırıcı bal arılarıdır (Bożena Denisow ve Denisow-Pietrzyk, 2016). Bitki polenlerinin; işçi bal arıları tarafından toplanıp, nektar, tükürük salgısı ve bir miktar bal ilave ederek topak haline getirdikleri, arka bacaklarındaki polen sepetlerine depolayıp kovana taşıdıkları bir arı

ürünüdür (Xi vd., 2018).

Arılar tarafından toplanan arı poleni, pek çok araştırmacının ilgi odağı olmuş, fonksiyonel gıda olarak kullanılabilecek alternatif bir arı ürünü olarak kabul görmüştür. Arı polenin kimyasal kompozisyonu, bitkisel kaynağı, üretildiği bölgedeki coğrafik şartlar ve üretim akışına bağlı olarak değişmekte olup, %40-60 mono şekerler (fruktoz ve glikoz), %20-60 protein, %1-32 yağ asitleri, %3 ve vitaminler ayrıca önemli miktarlarda flavonoidler ve fenolik asitlerden oluşmaktadır (Bogdanov, 2020). İçeriğindeki protein, karbonhidrat ve lipid miktarının yüksek olması, poleni ideal bir doğal takviye ve enerji kaynağı olarak öne çıkarmaktadır. Aslında arı poleni, insan organizması için ihtiyaç duyulan tüm temel amino asitleri içerdiğinden “tek eksiksiz gıda” olarak adlandırılır (Feas vd., 2012). Arı poleni, (pro) vitaminler, esansiyel amino asitler ve yağ asitleri, mineraller, antioksidan aktivite gösteren flavonoid ve polifenoller gibi yüksek biyolojik değeri olan bileşenlere sahip nutrasötik "süper besindir" (Bożena Denisow ve Denisow-Pietrzyk, 2016).



Şekil 2. 1. Arı polenin bal arıları tarafından üretim aşamaları

İkincil metabolitler, gıda ve bitki ürünlerinde doğal olarak eser miktarlarda bulunan ekstra gıda bileşenleridir. Bitki hücrelerinde bulunan en önemli ikincil metabolitler arasında fenolik bileşikler bulunur (Martins vd., 2011). Fenolik bileşikler, yapısal şekillerine ve halka şekline göre adlandırılmaktadır. Fenolik bileşikler, flavonoidler,

fenolik asitler ve tanenler olarak üç ana başlıkta toplanırlar. Flavonoidler, fenolik bileşiklerin büyük bir kısmını, bitki fenoliklerinin ise en büyük grubunu oluşturmaktadır. Bitkilerin ikincil metabolitleri olan flavonoidler, karbonhidratlar, aminoasitler gibi birincil metabolitlerden üretilmektedir (Kolaç vd., 2017).

Fenolik asitler de, flavonoidlere benzer olarak büyük oranda bitki ve gıda ürünlerinde bulunan biyoaktif fonksiyonlara sahip ikincil metabolitlerdendir. Yapılarına göre, fenolik asitler iki alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar; hidroksisinamik ve hidroksibenzoik asitlerdir. En yaygın olarak bulunan hidroksibenzoik asitler; p-hidroksibenzoik, gallik, protokateşik, siringik ve vanilik asitler iken, hidroksisinamik asitler ise kafeik, p –kumarik, sinapik ve ferulik asitler olarak belirtilmektedir (Martins vd., 2011).

İkincil metabolitlere son on yılda, insanların kanser ve diyabet gibi bazı hastalıklara yakalanma oranını azaltılması gibi sağlığa faydalı yönleri sebebiyle büyük önem verilmiştir (Conforti vd., 2009; Kaškonienė vd., 2020). Ayrıca kardiyovasküler hastalıkların ilerleme seviyelerinde azalma (Jiménez vd., 2008; Kris-Etherton vd., 2002) anti-mutajenik, anti-alerjik, antioksidan, anti-inflamatuvar ve anti-mikrobiyal etkiler de gösterdiği bildirilmiştir (Balasundram vd., 2006; Ham vd., 2009; G. N. Kim vd., 2009), İnsan sağlığının refahı için bu eşsiz faydalı özelliklerinden dolayı, biyoaktif fenolik bileşik kaynakları olarak meyve, sebze, bitki, tarım ve tarımsal-endüstriyel ürünlerin gıda sektöründe kullanılmasına yönelik araştırmalar yoğunlaştırılmıştır.

Besin değeri yüksektir, belirli biyokimyasal işlevleri düzenlemekte ve vücudun bağışıklık ve fizyolojik sistemlerini güçlendirmektedir. Kimyasal içeriğinde bulunan aktif doğal bileşenlerin, özellikle vitaminler, polifenoller ve karotenoidlerin çeşitliliği sebebiyle, antioksidan, anti-kanserojen ve antibakteriyel aktivite, kardiyoprotektif ve hepatoprotektif etki olarak ifade edilen önemli biyolojik aktivitelere sahip olduğu belirlenmiştir (Li vd., 2018b).

Arı polenininde içeriğinde %1,6 oranında fenolik bileşik bulunmaktadır (Rzepecka-Stojko vd., 2015). Poleninde yapısal bileşenleri arasında polifenoller, flavonoidler ve fenolik asitler bulunmaktadır. Flavonoidler, polenin %1,4'ünü oluşturur ve kuersetin, kaemferol, ve isorhamnetin gibi önemli flavonoidler içerir (Komosinska-Vassev vd., 2015).

Flavonoidler, kalkonlar, flavonlar, flavonoller ve izoflavonları içeren çeşitli alt gruplara sahiptir (Panche vd., 2016).

Flavonoid içeriği, arı polenii bitki kaynağına bağlı olarak değişiklik gösterir. Literatürde yapılan çalışmalar, polen örneklerinde çeşitli flavonoid türlerinin bulunduğunu göstermektedir. Bu türler arasında kuersetin, isorhamnetin, naringenin, hesperetin, kaempferol, kateşin, epikateşin, luteolin ve apigenin gibi flavonoidler yer almaktadır.

Arı poleninde bulunan flavonoidler arasında özellikle kuersetin ve kaemferol gibi flavonoller belirgindir. Ayrıca, apigenin, chrysin ve O-rhamnoside gibi flavonlar ile naringenin ve pinosembrin gibi flavanonlar da tespit edilmiştir (Arráez-Román vd., 2007). İzoflavonlar arasında ise genistein glikozitleri ve selagin bulunmaktadır.

Diğer yandan, arı poleninde fenolik asitler de bulunur ve bunların içeriği genellikle %0,19 civarındadır. Bu fenolik asitler arasında gallik, ferulik, kafeik, vanilik, siringik, benzoik, klorojenik asit, protokateşik, tert sinnamik ve p-kumarik asit gibi çeşitli bileşikler yer alır. Bu bileşenler, arı polenin biyoaktif özelliklerine katkıda bulunur ve sağlık üzerinde olumlu etkileri olabilir.



Şekil 2.2. Arı poleni peletleri

Arı poleni, insan tüketimi için oldukça faydalı sağlık etkileri bulunan bir arı ürünüdür. Geleneksel tıpta soğuk algınlığı, ülser, anemi ve alerjileri hafifletmek için kullanılmıştır. Arı poleni baldan sonra en fazla kullanılan arı ürünüdür.

Arı poleni, her gıda maddesi gibi, duyarlı kişilerde alerjik reaksiyonlara neden olabilsede, hassas olmayanlarda flavonoidler gibi yüksek fenolik içeriği nedeniyle antioksidan, antiinflamatuvar ve antialerjik bileşiklerin kaynağıdır (Medeiros vd., 2008; Silici, 2014). Yapılan bir çalışmada; *Echium plantagineum* L. arı poleninin anti-alerjik potansiyelinin belirlenmesi ve birincil metabolitlerinin karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, *E. plantagineum* arı poleninin, alerjiyi önlemek ve alerji semptomlarını iyileştirmek için kullanılabileceği gözlemlenmiştir (Moita vd., 2014). Fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada arı poleni fenolik ekstraktının alerjik reaksiyonları üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda arı poleni fenolik ekstraktlarının anti-alerjik etki ve alerjik semptomları tedavi etmek için potansiyel bir araç olduğu bildirilmiştir (Medeiros vd., 2008). Polen antialerjik etki göstermektedir. Poleninin vücutta alerjik tepkimelere yol açan histamini azaltarak, astım ve alerji semptomlarını hafiflettiği, yani alerjilere karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir. Arı poleninin antialerjik etkisinin, kısmen flavonoid içeriği ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Ishikawa vd., 2008).

1.3. Arı Poleni ve Fermentasyon

Son dönemde, tüketicilerin fonksiyonel gıdaların sağlık ve yaşam kalitesini yükseltmesine dair artan farkındalığı nedeniyle, polen fonksiyonel bir gıda ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmaya başlanmıştır (Kostić vd., 2020). Taze veya kurutulmuş arı polenini oluşturan polen tanecikleri, üreme hücrelerini çevresel etkilerden koruyan dışta ekzin tabakası ve protoplazmasını saran içte intin tabakasından oluşan çift katlı bir duvar yapısı içermektedir. Bu duvar yapısı, değerli polen bileşiklerinin sindirilebilirliğini azaltır; dolayısıyla biyolojik olarak faydalı bileşikler ve besin maddeleri sindirilemez. Arı poleninin sadece %10-15'i insanlar tarafından sindirilebilmektedir (Bozena Denisow ve Denisow, 2016). Ekzin tabakası polen taneciklerini kimyasal ve fiziksel ajanlara karşı korumakta, sindirim enzimlerinin polen tanecikleri üzerindeki etkisini azaltmakta ve dolayısıyla arı poleninin içeriğinin, insan sindirim sistemi tarafından emilmesini büyük oranda etkilemektedir. Ekzin tabakası kimyasal olarak inert biyopolimer sporopollenin'den oluşmakta olup, sporopollenin yüksek sıcaklığa ve çeşitli asitlere karşı dayanıklıdır, esnek ve katı bir yapıya sahiptir (Kieliszek vd., 2018).

Ekzin tabakası, genel olarak fiziksel parçalanma ve biyolojik parçalanma yöntemleri ile parçalanmakta olup, biyolojik yöntemlerin, özellikle mikrobiyal fermantasyonun diğer tüm yöntemlere göre daha avantajlı olduğu görülmektedir. Bu bağlamda araştırma yapan bilim insanları arı polenini laboratuvar şartlarında mikrobiyolojik olarak fermantasyona tabi tutmuş ve fermantasyon sonucu oluşan yeni ürünün ilk ürüne kıyasla biyoaktif maddelerce zengin, besleyicilik özelliklerinin gelişmiş ve biyoyararlılığının daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Fermantasyon, arı polenindeki karmaşık makromolekülleri monosakkaritlere, amino asitlere ve kısa zincirli yağ asitlerine indirgeyebilmektedir. Bu küçük moleküllu besinlerin insan vücudu tarafından emilmesi ve kullanılması daha kolaydır (Sanjukta ve Rai, 2016).

Literatürde arı poleni fermantasyonunun iki aşamalı bir mekanizma olduğunu bildirilmiştir. Fermantasyon işlemi sırasında görev alan mikroorganizmalar *Pseudomonas*, *Lactobacillus* ve *Saccharomyces*'tir. İlk olarak *Pseudomonas* ekzini parçalayarak sitoplazmanın ortaya çıkmasını sağlamakta, bu sırada ortamda bulunan oksijeni kullanmakta ve *Lactobacilli* için uygun anaerobik bir ortam oluşturmaktadır. Böylece *Lactobacilli*'nin gerçekleştirdiği anaerobik fermantasyon için ortam hazırlanmakta ve ikinci aşama olarak *Lactobacilli*, laktik asit fermantasyonu gerçekleştirmektedir. Asitliğin artmasıyla *Pseudomonas* ortamdaki kaybolur. *Lactobacilli*, laktik asit üretmek için bazı şekerleri ayrıştırır ve son olarak *Saccharomyces*, kalan şekerleri parçalayarak işlemi tamamlar (Gilliam, 1979; Loper vd., 1980).

Mikrobiyal fermantasyon, gıdaların raf ömrünü ve kimyasal içeriğini iyileştirmek için kullanılan eski teknolojilerinden biridir. Mikrobiyal fermantasyonda mikroorganizmalar, proteaz, pektinaz, ksilanaz, β -glukosidaz ve amilaz gibi hücre dışı enzimler üretebilir ve bu enzimler sayesinde aynı anda birçok ikincil metabolit üretebilir (Martins vd., 2011).

Polen ve bala eklenen dört *Lactobacilli* suşu (*Lactococcus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* 1,2 ve *Lactobacillus paracasei*) ve iki *Bifidobacterium* suşunun (*B. bifidum* 1,2) çoğalmasında prebiyotiklerin etkisi laboratuvar koşullarında araştırılarak arı ekmeği benzeri bir ürün elde edilmesi amaçlanmıştır. Oluşan yeni ürünün de hücre canlılığı, laktik asit üretimi ve antioksidan kapasite üzerindeki etkisini değerlendirmek için inülin, rafinoz ve laktuloz gibi prebiyotikler bal ile kıyaslanmıştır. Rafinoz ve laktuloz eklenen

numuneler bala benzer sonuçlar verirken en iyi sonuç polen ve inülin katkılı örneklerde görülmüştür (Vamanu vd., 2010).

Yoğurt üretiminde arı poleni ilavesi yapan bir başka çalışmada, arılardan toplanan polen ekstraktlarının antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerini ve polen katkılı yeni bir ürün geliştirme eğilimini değerlendirme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara dayanarak, tüm polen numuneleri antibakteriyel ve antioksidan aktivite ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme kabiliyeti göstermiştir, ancak mısır poleni ekstraktları özellikle bütün numunelerden daha yüksek aktiviteye sahip bulunmuştur. Yoğurt üretimine polen ilavesi starter kültürü etkilemezken, hazırlanan yoğurtlar polen tipine bağlı olarak belirli duyusal özellikler göstermiştir; mısır poleni ilavsi cevizli, yonca poleni tatlı, hurma poleni fasulyemsi bir tat vermiştir (Khider vd., 2013).

Zhang vd. 2017, arı polenini oluşturan polen taneciklerinin ekzin tabakasını parçalamak için, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Ganoderma lucidum* ile fermentasyona tabi tutmuştur. Fermentasyon sonucunda *G. lucidum* için yaklaşık %85 ve *S. cerevisiae* için %88 oranında parçalanma bildirilmiştir. Arı poleninin *S. cerevisiae* tarafından fermentasyona tabi tutulduğu bir başka çalışmada, fermente edilmemiş arı poleni ile fermente edilmiş arı poleninin kimyasal içeriği karşılaştırılmıştır. Fermentasyon sonucunda, fenolik asit, flavon aglikon ve fenolamid gibi bazı ikincil metabolitlerin yanı sıra amino asit ve türevleri, çoklu doymamış yağ asidi ve organik asit gibi birincil metabolitlerin de içeriğinin önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Sonuçlar, fermentasyonun arı poleninin besin değerini ortaya çıkarmak için önemli bir yöntem olduğunu göstermektedir (Sanjukta ve Rai, 2016).

Mısır'da yapılan farklı bir arı poleni ilaveli yoğurt çalışmasında, arı poleni takviyesinin probiyotik yoğurtların tekstür, mikro yapı ve stabilitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, polen katkılı probiyotik yoğurtlar, 21 gün boyunca soğuk muhafaza sırasında daha stabil olarak belirlenmiştir. Polen ilavesi, kontrol örneğine kıyasla yoğurtların yapışkanlık ve esneklik gibi tekstürel özelliklerini önemli ölçüde etkilemezken, yoğurdun depolanması sırasında yaylılık, yapışkanlık ve çiğnenebilirliğini artmıştır. En yüksek sertlik ($1,96 \pm 0,02N$) yoğurt T5'te gözlenmiştir ((%1,5 yoğurt başlatıcı + %1,5 Lb. gasseri)+ %0,8 arı poleni). Ayrıca, kontrol numunesine kıyasla

önemli ölçüde azalmış sinerez gözlemlenmiştir. Polen ilavesi, yoğurdun mikro yapısını ve daha kapsamlı bir ağ oluşumunu etkileyerek, kıvamın ve su tutma kapasitesinin artmasına katkıda bulunmuştur (AA, 2016).

Arı polenin beyaz peynir yapımında kullanıldığı bir çalışmada, arı poleni (%0,5, 1,0, 1,5 ve 2) ilavesinin biyoaktif davranış, duyuşal ve fizikokimyasal özellikler üzerindeki etkileri incelenerek beyaz peynirin terapötik etkisinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar arı polenin beyaz peynirin antioksidan aktivitelerini arttırdığını göstermiştir. Çalışmada polen ilavesi artıkça *St.aureus* (ATCC6538), *S. typhimurium* (ACTH25,566) ve *E. coli* (ACC.8739) mikroorganizmaları üzerinde artan bir antibakteriyel etki göstermiştir. Arı poleni ilavesiyle beyaz peynirin toplam kuru madde, yağ ve protein içeriği artmıştır. Duyusal olarak değerlendirilen örneklerde %1'e kadar polen ilavesinin peynirde herhangi bir olumsuz durum olmadığı bildirilmiştir. Beyaz peynir üretimi sırasında arı poleni ilavesinin, elde edilen peynirin biyoaktif aktivitelerini arttırmak için gerekli olduğu bulunmuştur (Tablo 2.2.) (Abd Elhamid ve Elbayoumi, 2017).

Yunanistan'da farklı oranlarda (%0,5, 1,0, 2,5 ve 3,0) arı poleni ekstraktı ilave edilerek inek, keçi ve koyun sütlerinden yapılan yoğurtların, antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik içerikleri incelenmiştir. Yoğurtlara eklenen arı poleni miktarı artıkça, kontrol örnekleriyle (arı poleni içermeyen yoğurtlar) karşılaştırıldığında, yoğurtların antioksidan kapasitesi ve fenolik içeriklerinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. Duyusal olarak değerlendirilen yoğurtlarda en çok beğenilen koyun sütü kullanılarak hazırlanan yoğurtlar olurken, bunu sırasıyla inek ve keçi sütünden yapılan yoğurtlar izlemiştir. %0,5 ve %1,0 oranında arı poleniyle zenginleştirilmiş yoğurtların, kullanılan üç farklı süt türü içinde en yüksek duyuşal puanları aldığı ayrıca belirtilmiştir (Tablo 2.2.) (Karabagias vd., 2018a).

Çin'de yapılan başka bir çalışmada, *Brassica campestris* bitkisine ait arı poleni laktik asit bakterileri, maya ve bunların bir kompozisyonu ile fermentasyona tabi tutulmuştur. Maya kullanılarak gerçekleşen fermentasyon sonucunda oluşan fermente arı poleni, fermente edilmemiş arı polenine oranla fruktozda %83,5 ve glikozda %87,4 azalmaya sahipken, fenolik bileşikler, oligopeptitler ve yağ asitleri, sırasıyla %9,3, %68,8 ve %18,2 oranında artmıştır. Maya tarafından fermente edilen polenlerdeki riboflavin, nikotinik asit,

nikotinamid ve serbest amino asit içerikleri, ham arı polenindekinden sırasıyla 2,4, 39,6, 4,6 ve 4,8 kat daha yüksek bulunmuştur (Yan vd., 2019).

Yapılan bir başka çalışmada pastörize edilmiş polifloral arı poleni *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactococcus lactis* bakterileri eklenerek fermente edilmiştir. Fermantasyon öncesi ve sonrası arı polenin antioksidan, antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Fermantasyona tabi tutulan polenin antioksidan, antifungal ve antibakteriyel aktivitelerinin önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir (Kaškonienė vd., 2020).

Avrupanın çeşitli ülkelerinden (İtalya, Litvanya, Hollanda, Polonya, Danimarka, İsveç, Malta, Slovakya ve İspanya) toplanan polen örneklerine *Lactobacillus rhamnosus*, ilave edilerek fermantasyona tabi tutulmuştur. Fermantasyon işleminin toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriğe ve antioksidan aktiviteye olan etkisi incelenmiştir. Ayrıca fermantasyon işleminin polifenolik bileşikler üzerindeki değişimi de ortaya konulmuştur. Çalışma sonucunda tüm numunelerde toplam fenolik ve flavonoid içeriğin ve antioksidan aktivitenin yaklaşık 1,2-3,1 kat arttığı görülmüştür. Fermantasyonla birlikte tüm numunelerde gallik, benzoik, ferulik, kumarik, salisilik ve kafeik asit içeriğinin arttığının gözlenmesiyle birlikte vanilik asit ve mirisetin gibi yeni bileşikler tespit edilmiştir (Adaškevičiūtė vd., 2022).

Geniş bir kullanım yelpazesine sahip olan arı poleni birçok alanda kullanılmaktadır. Portekiz’de makarna üretiminde kestane unu ve arı poleni beraber kullanılmıştır. Yazarlar kontrol makarna tarifiyle (buğday unu ve yumurta) karşılaştırıldığında, kestane unu (%50) ve arı poleni (%10) ilavesinin, son ürünün (taze veya kurutulmuş) yapışkanlığını arttırdığını, ancak sertliğini koruduğunu bildirmişlerdir. Her iki malzemeyle zenginleştirilmiş taze veya kurutulmuş makarnanın pişirilmesi sonunda daha berrak ve biraz daha yapışkan olduğu görülmüştür. Öte yandan, makarna formülasyonuna kestane unu ve arı polenin eklenmesi, yüksek oranlarda lif, vitamin ve mineral içeren, besin açısından dengeli bir ürün ortaya çıkarmıştır. Genel olarak kestane unu ve toz haline getirilmiş arı polenin, fonksiyonel taze ve kurutulmuş makarna formülasyonlarının geliştirilmesi için umut verici bileşenler olduğu bildirilmiştir (Brochard vd., 2021). Tablo 2.2. ‘de arı poleni ilaveli fermente ürünler verilmiştir.

Tablo 2.1. Arı poleni ilaveli fermente ürünler

Ürün	Polenin Bitkisel Kaynağı	Polenin Coğrafi Kökeni	Fermantasyona Katılan Mikrobiyal Türler	Gözlemler	Kaynakça
Arı poleni katkılı yoğurt	Üç adet monofloral arı poleni: 1.Mısır (<i>Zea mays</i>), 2.Yonca (<i>Trifolium alexandrinum</i>), 3.Hurma (<i>Phoenix dactylifera</i>)	Mısır	Yoğurt başlangıç kültürü	Bu çalışma, arı poleni ekstraktlarının antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerini ve polen katkılı geliştirilen yeni bir ürün değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara dayanarak, tüm arı poleni numuneleri antibakteriyel ve antioksidan aktivite ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme kabiliyeti göstermiştir, ancak mısır arı poleni ekstraktları özellikle bütün numunelerden daha fazla etkiye sahip olarak belirlenmiştir. Yoğurt üretiminde polen ilavesi starter kültürü etkilemezken, hazırlanan yoğurtlar polen tipine bağlı olarak belirli duyuşal özellikler göstermiştir: Mısır poleni ilavesi cevizli, yonca poleni tatlı, hurma poleni fasulyemsi bir tat vermiştir.	(Khider vd., 2013)
Probiyotik bakteri, arı sütü ve arı poleni içeren biyo-yoğurt	Multifloral arı poleni	Mısır	Yoğurt başlatıcı kültürler: <i>L. lactobacillus delbrueckii</i> spp. <i>bulgaricus</i> <i>S. thermophiles</i> Probiyotik bakteriler: <i>B. angulatum</i> DSM 20098; <i>L.rhamnosus</i> DSM20245; <i>Lactobacillus gasseri</i> ATCC 33323	Bu çalışmanın amacı, arı poleni takviyesinin probiyotik yoğurtların tekstür, mikro yapı ve stabilitesi üzerindeki etkisini araştırmaktır. Elde edilen sonuçlara göre, polen katkılı probiyotik yoğurtlar, 21 gün boyunca soğuk muhafaza sırasında daha stabil olarak saptanmıştır. Polen ilavesi, kontrol örneğine kıyasla yoğurtların yapışkanlık ve esneklik gibi tekstürel özelliklerini önemli ölçüde etkilemezken, yoğurdun depolanması sırasında yaylılık, yapışkanlık ve çiğnenebilirliğini artırmıştır. En yüksek sertlik ($1,96 \pm 0,02N$) yoğurt T5'te gözlenmiştir (%1,5 yoğurt başlatıcı + %1,5 <i>Lb. gasseri</i>) + %0,8 arı poleni taneleri). Ayrıca, kontrol numunesine kıyasla önemli ölçüde azalmış sinerez gözlemlenmiştir. Polen ilavesi, yoğurdun mikro yapısını ve daha kapsamlı bir ağ oluşumunu etkileyerek, kıvamın ve su tutma kapasitesinin artmasına katkıda bulunmuştur.	(AA, 2016)

Tablo 2.2. devam ediyor

Ürün	Polenin Bitkisel Kaynağı	Polenin Coğrafi Kökeni	Fermantasyona Katılan Mikrobiyal Türler	Gözlemler	Kaynakça
Arı poleni ilaveli peynir	Multifloral arı poleni	Mısır	<i>Lactobacillus delbruecki</i> spp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>	Bu çalışmanın amacı, inek ve deve sütü karışımından üretilen beyaz peynirlerin antibakteriyel, duyuusal ve fizikokimyasal özellikleri ile antioksidan aktivitesi üzerine arı poleni takviyesinin (0,5; 1,0; 1,5; %2,0) etkisini araştırmaktır. Elde edilen sonuçlara göre, peynirlere arı polenlerinin dahil edilmesi, önemli polifenol varlığına katkıda bulunmuştur. Toplam polifenol içeriği, depolama süresine bağlı olarak, 11,53 ila 46,78 mg/g aralığında değişirken, yağ ve protein içeriğini artırmıştır. Ayrıca duyuusal özellikler üzerindeki olumsuz etkiler gözlemlenmemiştir. Yapılan çalışmada polen ilavesi artıkça <i>St.aureus</i> (ATCC6538), <i>S. typhimurium</i> (ACTH25,566) ve <i>E. coli</i> (ACC.8739) mikroorganizmaları üzerinde artan bir antibakteriyel etki göstermiştir.	(Abd Elhamid ve Elbayoumi, 2017)
Arı poleni ilaveli kombuça sirkesi	Multifloral arı poleni	Romanya	Laktik asit, asetik asit ve mayaların simbiyotik kültürü	Bu çalışmada hedef, arı polenin simbiyotik bakteri ve mayalardan oluşan kültür ile fermantasyon yoluyla biyoyararlanımını artırmaktır. Elde edilen sonuçlar, polen ilavesinin polenden kaynaklanan fermente ürünün sıvı fazında, fermantasyon aktivatörü olarak hareket eden mikrobiyal suşlarının toplam sayısındaki LAB (laktik asit bakterileri) oranını, biyoaktif bileşik içeriğini (toplam fenolik ve flavonoid içeriği) artırdığını göstermiştir. Elde edilen ürün, Caco-2 hücreleri üzerinde orta düzeyde bir antitümör etkisi sergilemiştir.	(Uțoiu vd., 2018)
Arı poleni ilaveli, biyo-fonksiyonel, yoğurt	Ticari olarak satışı olan multifloral arı poleni	Yunanistan	<i>Streptococcus thermophilus</i> ; <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Farklı arı poleni konsantrasyonlarında inek, koyun ve keçi sütlerinden yoğurtlar hazırlanmıştır. Hazırlanan numuneler antioksidan kapasite, toplam polifenolik içerik ve duyuusal değerlendirme açısından incelenmiştir. Sonuçlara göre arı poleni ile zenginleştirilmiş yoğurtlar, geleneksel yoğurtlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek antioksidan kapasite ve polifenolik içerik göstermiştir. Ayrıca, %0,5-%1,0 arı polenli yoğurtların yeni biyo-fonksiyonel gıdalar olduğu öne sürülürken, tat, koku, görünüm ve kohezyon önemli ölçüde iyileştirilmiştir.	(Karabagias vd., 2018a)

Tablo 2.2. devam ediyor

Ürün	Polenin Bitkisel Kaynağı	Polenin Coğrafi Kökeni	Fermantasyona Katılan Mikrobiyal Türler	Gözlemler	Kaynakça
Arı poleni katkılı beyaz şarap	Ticari olarak satışta olan multifloral arı poleni	İspanya	<i>S. cerevisiae</i> Lalvin 71B® ticari aktif kuru şarap mayası.	En uygun polen konsantrasyonunu belirlemek amacıyla, beyaz şaraplarda polen ilavesinin uçucu bileşikler ve duyuşal özellikler üzerindeki etkisi araştırıldı. Polen takviyesinin uçucu bileşiklerin miktarını ve yüksek alkollerin, etanol, esterler, asetaldehit ve terpenlerin sentezini arttırdığı kanıtlanmıştır; alkoller ve yağ asitlerini azaltırken, duyuşal ve aromatik özellikler üzerinde olumlu bir etkisi oldu ve şaraba hoş çiçek ve meyveli aromatik profil vermiştir.	(Amores-Arrocha vd., 2018)

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal Temini

Bu çalışma kapsamında kullanılacak arı poleni örneği, Bingöl Üniversitesi Arıcılık Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi Arılığı'ndan 2022 arıcılık sezonu Mayıs-Ağustos ayları arasında toplanmış, harmanlanmış, kefir üretimi yapılincaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Materyal olarak, arı poleninden (%70:%30) etanol:distile su ile elde edilen ekstraktlar kullanılmıştır. Kefir yapımında kullanılacak ticari pastörize süt ulusal bir marketten temin edilmiştir. Kuru doğal kefir mayası, Danem Süt ve Süt Ürünleri Ltd. Şti. (Isparta, TÜRKİYE) tarafından üretilen SEVDANEM ibareli (mikrobiyatası; *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefirgranum*, *Lactobacillus parakefiri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces lacti*) kefir mayası kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Arı Poleninin Botanik Orijininin Belirlenmesi

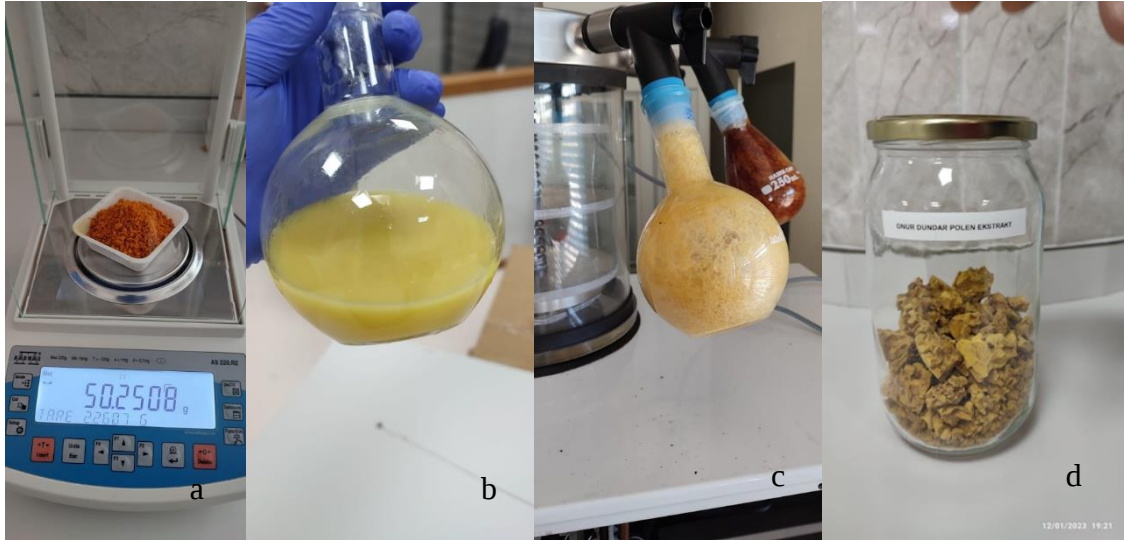
Arı poleninin palinolojik analizi, (Çobanoğlu vd., 2023) tarafından önerilen metod ile yapılmıştır. İki g arı poleni tüplere tartılarak, 13 mL %70'lik etanolde çözündürülmüştür. Karışım 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra, arı poleninin homojenize hale gelmesi için 40°C'de 5 dakika ultrasonik su banyosunda tutulmuştur. Bu tüpler 20 dakika 3500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra, tüpün üstte kalan süpernatant kısmı dökülmüş, aynı tüpe %70'lik etanol ekstraksiyonu eklenmiş ve yine 3500 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlem bir kez daha tekrarlandıktan sonra, dipte kalan sediment 1:1 gliserin su karışımında çözündürülmüş, vorteks ile homojen bir karışım elde

edilmiştir. Homojen hale gelen karışımdan 20 µL lam üzerine konulmuştur. Bazik fuksinli gliserin jelatin ile arı poleni örneğinin polen preparatları hazırlanmıştır. Daha sonra polen örneklerinden hazırlanan preparatlar, Leica DM 2500 marka mikroskop altında, 60X ve 100X objektif kullanılarak incelenmiştir. İncelenen polen preparatında yer alan polen taneleri familya, cins ve tür bazında, teşhis edilmiştir. Hazırlanan her preparatta takson ayırmaksızın 500'den fazla polen tanesi sayılmıştır. Analiz sonucunda arı poleninde saptanan taksonların bulunma yüzdeleri hesaplanmıştır.

Polen örneği içerdiği polen tanelerinin taksonlarının bulunma sıklıklarına göre sınıflandırılmıştır: monofloral, polenin içeriğini oluşturan baskın bitki taksonu >%80 veya %46-80 oranında ise %15-45 oranında polen taksonu yoksa; bifloral, baskın taksonlardan biri %46-80, diğeri %15-45 veya iki takson %46-80 olmak üzere iki çeşit baskın polen taksonu içeriyorsa; ve ikiden fazla polen taksonu içeren örnekler multifloral olarak adlandırılmıştır (Barth vd., 2010; Nandi ve Karmakar, 2018).

3.2.2. Arı Polen Ekstraktlarının Hazırlanması

10 g polen örneği %70'lik 100 mL etanolde çözdürülmüştür. Arı poleninin %70'lik (etanol/su) ekstraktı, literatürdeki çalışmalara göre, yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, ayrıca zengin fenolik bileşikler içerdiği için tercih edilmiştir (Bogdanov, 2020). Daha sonra ultrasonik su banyosunda 40°C'de 1 saat bekletilmiştir. Çözelti, polen tanelerinin de ekstrakta geçebilmesi için, 300 µm büyüklüğündeki paslanmaz elek teli (SVS 300 Mesh Paslanmaz Elek Teli) ile filtre edilmiştir. Elde edilen çözeltinin etanolü, rotary evaporatör cihazında (BUCHI/R300, İsviçre) (40°C, 95 mBar ve 80 rpm koşullarında) uçurulmuştur. Son olarak elde edilen ekstraktlar liyofilizatörde (Telstar/LyoQuest, İspanya) (-80°C, 0,056 mBar) kurutulmuştur. Bu işlem yeteri kadar stok ekstrakt elde edilene kadar devam etmiş, daha sonra kefir üretiminde kullanılmak üzere -20°C'de depolanmıştır.



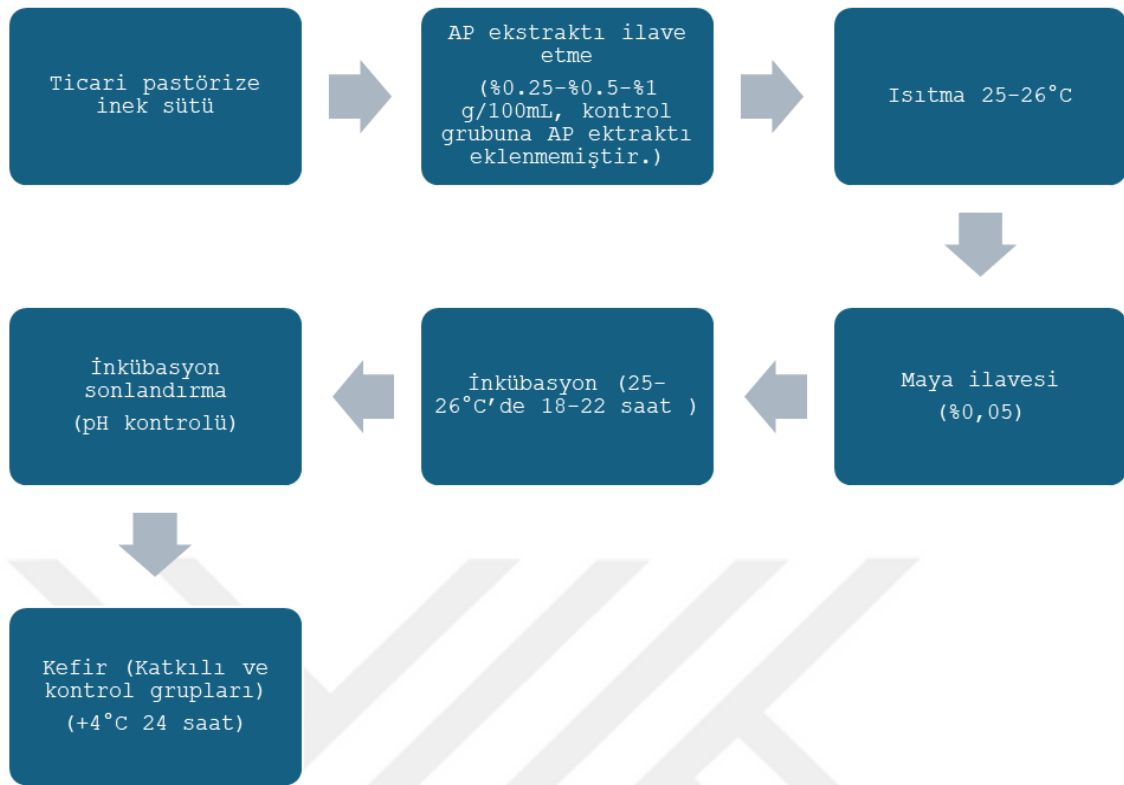
Şekil 3.1. (a.,b.,c.,d.) Arı poleni ekstraktı hazırlama aşamaları

3.2.3. Kefir Üretimi

Kefir üretiminde kültür olarak kuru doğal kefir mayası (Danem, TÜRKİYE) kullanılmıştır. Bu amaç için belirlenen (%0,25, %0,5,%1 g/100mL) oranlarda arı poleni ekstraktı ticari pastörize inek sütüne ilave edilmiştir. Daha sonra karışım ısıtılarak 25-26 °C’de, %0,05 oranında kefir mayası ilave edilerek inkübatörde 25-26°C sıcaklıkta 18-22 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası elde edilen kefirler buzdolabında +4°C sıcaklıkta, 24 saat bekletildikten 1., 7., 14. ve 21. günlerde fizikokimyasal, antioksidan ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır (Kurt vd., 2012).



Şekil 3.2. (a.,b.) Kefir hazırlama aşamaları



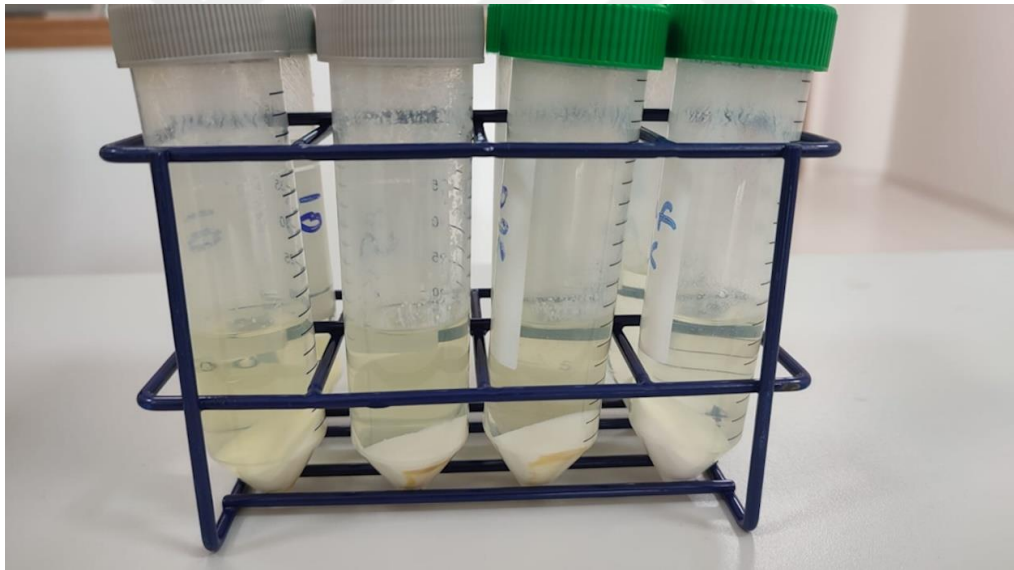
Şekil 3.3. Arı poleni katkı ve kontrol grubu kefir üretim akış şeması



Şekil 3.4. Katkılı ve kontrol grubu kefir görselleri

3.2.4. Kefir Ekstraktlarının Hazırlanması

Arı poleni ilaveli kefirlerin biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi için, (Karaaslan vd., 2011) tarafından önerilen yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak uygulanan ekstraksiyon metodu kullanılmıştır. Bu amaçla, falkon tüpüne her bir örnekten 10'ar g tartılmıştır ve üzerine 15 mL metanol ve 100 µl HCl eklenip çözelti homojenize edilmiştir. Daha sonra 40°C'de 30 dk %70 referansta 30 dakika ultrasonik su banyosunda tutulmuştur. 5 saat boyunca +4°C'de bekletildikten sonra her bir örnek 30sn vorteksle karıştırılmıştır. Pürüzsüz bir yapı elde edildikten sonra +4°C'de bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün örnekler 5000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj (Gyrozen/1580; Güney Kore) edilmiştir. Tüp içerisindeki süpernatant toplanmış ve Whatman No. 1 filtre kağıdı kullanılarak filtre edildikten sonra elde edilen süspansiyon -80°C'de (Nüve/NB-9, Türkiye) analizler yapılincaya kadar depolanmıştır.



Şekil 3.5. Kefir ekstraktlarının hazırlanması

3.2.5. Kefir Örneklerinde Fizikokimyasal Analizler

3.2.5.1. Toplam Kuru Madde (TKM) Miktarı

Sabit tartıma gelmesi için kurutma kapları 105°C'de 4 saat etüvde (Miprolab/MLF120,Türkiye) bekletilmiş ve daraları ölçülüp not edilmiştir. Kurumadde

kaplarının daraları alındıktan sonra içerisine yaklaşık 5g numune eklenmiştir. Tartım yapıldıktan sonra numuneler 105°C'lik etüvde sabit tartıma gelinceye kadar bekletildikten sonra tartılmış ve sonuçlar not edilmiştir (Kırdar, 2019). Toplam kuru madde miktarı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\%TKM = 100 - \left(\frac{m2 - m}{m1 - m} \right) * 100 \quad (3.1.)$$

m: Boş kurutma kabının darası (g)

m1: Örnek+ Kurutma kabının darası (g)

m2: Kurutulmuş Örnek+ Kurutma kabının darası (g)



Şekil 3.6. Toplam kuru madde tayini

3.2.5.2. Toplam Kül İçeriği

Kül tayini için, porselen krozeler etüvde 105 °C'de 4 saat bekletilmiştir; daha sonra desikatörde soğutularak daraları alınmıştır. Bundan sonra kül analizi için yaklaşık 0,5 g örnek darası alınmış porselen krozelere tartılmıştır. Bu işlem sonrası etüvde 110 °C de 90 dk suyu uçurulan örnekler, kül fırınında 550 °C'de bırakılmıştır. Örneklerin sabit tartıma ulaşması için, 1 gece kül fırınında bekletilmiştir (Kırdar, 2019).

$$\%K\ddot{u}l\ oranı = 100 - \left(\frac{m2 - m1}{m} \right) * 100 \quad (3.2.)$$

m: Alınan örneğin ağırlığı (g)

m1: Sabit tartıma getirilen krozenin ağırlığı (g)

m2: Yakmadan sonraki kroze ve külün ağırlığı (g)

3.2.5.3. Toplam Protein İçeriği

Mikro-Kjeldahl metotla, Gerhardt yaş yakma unitesi ve Vapodest destilasyon sistemi kullanılarak belirlenen azot miktarının, 6,38 faktörü ile çarpılmasıyla toplam protein miktarı hesaplanmıştır (Kıvanç ve Yapıcı, 2015).

3.2.5.4. Yağ İçeriği

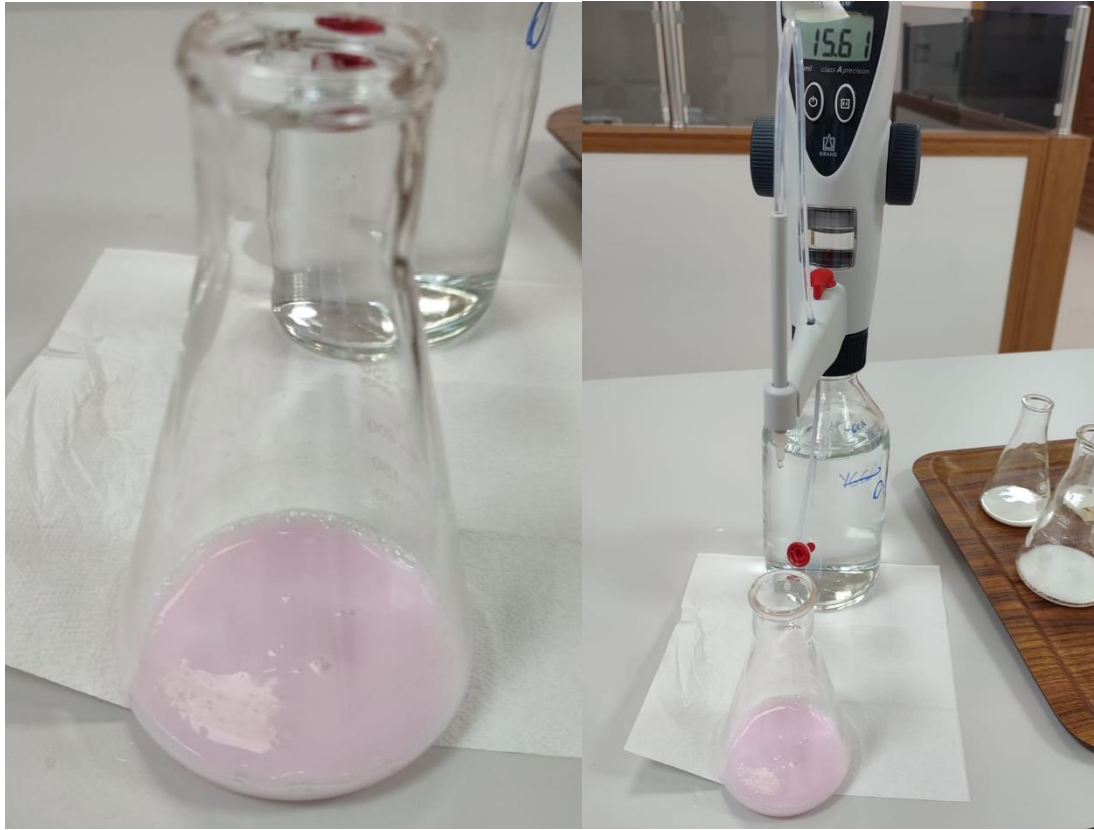
İlk olarak kefir numuneleri homojen hale getirilmiştir. Daha sonra gerber bütirometresine 10 ml sülfirik asit, üzerine homojen hale getirilmiş 20 °C’de kefir numuneleri, 1ml amil alkol ilave edilmiştir. Bütirometrenin tıpası sıkıca kapatılarak pıhtı yapı iyice çözününceye kadar alt üst edilmiştir. Bütirometreler gerber santrifüjüne karşılıklı yerleştirilerek 1100 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi bittikten sonra bütirometreler 65 °C’deki su banyosunda 30 dk bekletilmiş ve okuma yapılmıştır. Okuma işlemi tıpa yavaşça itilip çekilerek, yağ kısmının alt seviyesi 0 noktasına getirilerek okuma gerçekleştirildi (Kırdar, 2019).



Şekil 3.7. Kefir örneklerinin yağ içeriği tayini

3.2.5.5. Titrasyon Asitliği

Titrasyon asitliği titrimetrik yöntemle belirlenmiştir. Homojen hale getirilmiş kefir örneklerinden 10 mL erlene alınmıştır. Üzerine 3- 4 damla % 1'lik fenolftalein indikatörü damlatılarak kesin normalitesi 0,0935 olan NaOH çözeltisi ile 30 sn sabit kalabilen pembe renge kadar titre edilmiştir. Sonuçlar % laktik asit olarak hesaplanmıştır (Kırdar, 2019).



Şekil 3.8. Kefir örnekleri titrasyon asitliği

3.2.5.6. pH Değeri

pH metre (Orion, Thermo, Massachusetts, Amerika), kullanılarak elektrometrik yöntemle tespit edilmiştir. Ölçümler öncesi pH metre, pH 4 ve pH 7 tampon çözeltileri kullanılarak kalibre edilmiştir (Kırdar, 2019).

3.2.5.7. Renk Analizi

Kefir örneklerinin renk analizi (L^*, a^*, b^*) masa üstü Konika Minolta (Japonya) renk cihazı ile ölçülmüştür. Kontrol örneği ile polen katkılı örnek arasındaki renk farklılığı L , a ve b değerleri cinsinden rapor edilmiştir (Sözeri Atik vd., 2021).

3.2.5.8. Duyusal Değerlendirme

Farklı konsantrasyonlarda arı poleni ilave edilerek üretilen ve kontrol grubu kefir örnekleri için değerlendirme formu hazırlanarak depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde 10 kişilik panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Konu hakkında bilgilendirilen panelistlerden ilgili kefir örneklerini renk ve görünüş, koku, tat lezzet, tekstür, asitlik ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirmeleri istenmiştir (Kurt vd., 2012).

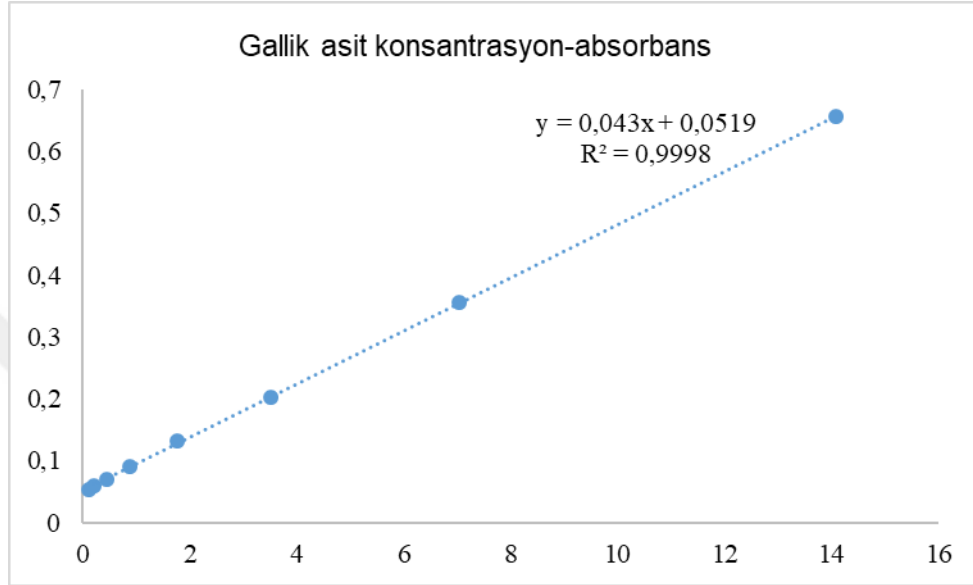
Tablo 3.1. Kefirlerin duyusal değerlendirme parametreleri

DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU				
Panelistin Adı:				Tarih:
Duyusal Kalite Parametreleri	1	2	3	4
Renk ve Görünüş				
Koku				
Tat-Lezzet				
Tekstür				
Asitlik				
Genel Kabul Edilebilirlik				
Not: Değerlendirme 1-10 puan arasında yapılmaktadır.				

3.2.6. Kefirlerde Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Kefir ekstraktlarında toplam fenol tayini Folin-Ciocalteu yöntemi ile yapılmıştır (Karaaslan vd., 2011). Standart kalibrasyon eğrisi çiziminde kullanılacak olan gallik asit 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda metanol ile hazırlanmıştır. Daha sonra ana stoktan 1 mL alınıp üzerine 1 mL metanol eklenip vortekslenmiştir. Kefir örnekleri yapılan ekstraktlar ve gallik asit çözeltilerinden 50 μL alınarak bir tüpe aktarılıp sırası ile önce 2,5 mL distile su ve 250 μL 0,2 N Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Daha sonra çözeltiler vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra 3 dakika beklemeye bırakılmıştır. Bekleme süresinin

sonunda üzerine %7,5'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 750 µl ilave edilmiştir. 120 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletilen çözeltinin absorbansı, 760 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanılıp hazırlanan standart grafik (Şekil 3.9' de) ile sonuçlar gallik asit eş değeri (µg GAE/mg ekstrakt) olarak verilmiştir.



Şekil 3.9. Gallik asit standart eğrisi

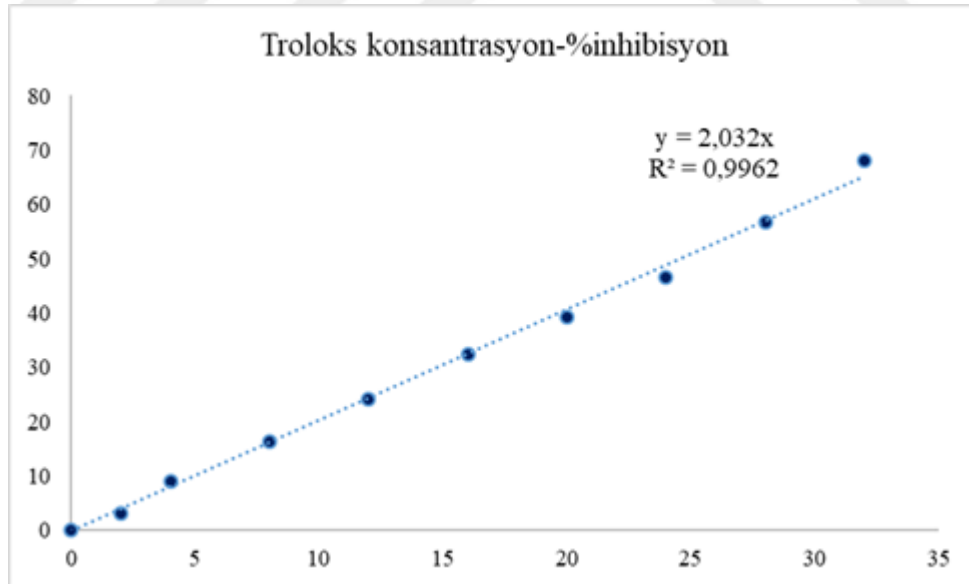
3.2.7. Kefir Ekstraktlarının Antioksidan Tayin Metodlar

3.2.7.1. DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemiyle Antioksidan Aktivite Tayini

Analizler için 0,1 mM DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi hazırlanmıştır. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi için örnek ekstraktlarından 100 µg alınıp daha sonra hazırlanan DPPH çözeltisinden 900 µg örneklere eklenerek, vorteks yardımıyla iyice karıştırılıp, örnekler karanlıkta 24°C'de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede (ThermoFisher Scientific Genesys 1XX, ABD) 517 nm'de köre karşı ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri kullanılarak IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar µg/g troloks eşleniği olarak verilmiştir (Çobanoğlu vd., 2021).

3.2.7.2. FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü) Yöntemiyle Antioksidan Aktivite Tayin

FRAP analizi, (Benzie ve Strain, 1999) tarafından belirlenen yöntemde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için 300 mM asetat tamponu (pH=3,6) (I), 10 mM TPTZ (II) ve 20 mM FeCl₃.6H₂O (III) çözeltileri hazırlanmıştır. I, II ve III çözeltileri sırasıyla; 10:1:1 oranında karıştırılmış, FRAP reaktifi günlük taze olarak hazırlanmıştır. Troloks metanolde çözülerek, derişimleri 20; 40; 80; 120; 160; 200 µM olan 6 adet standart çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan troloks standart çözeltilerinin her birinden 100 µL alınarak 1 mL'lik kapaklı ependorf tüpüne konulup daha sonra üzerlerine 900 µL FRAP çözeltisi ilave edildikten sonra vorteksle karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 20 dk bekletilen örneklerin JASCO V-650 UV/VIS spektrofotometre cihazı kullanılarak köre karşı 593 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür ve lineer regrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.10). FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü) yöntemiyle antioksidan aktivite tayini için aynı işlemler, standart çözeltiler yerine kefir ekstraksiyonlarından alınan 100 µL'lik kısımlar üzerinde tekrar edilmiştir.



Şekil 3.10. Troloks standart grafiği

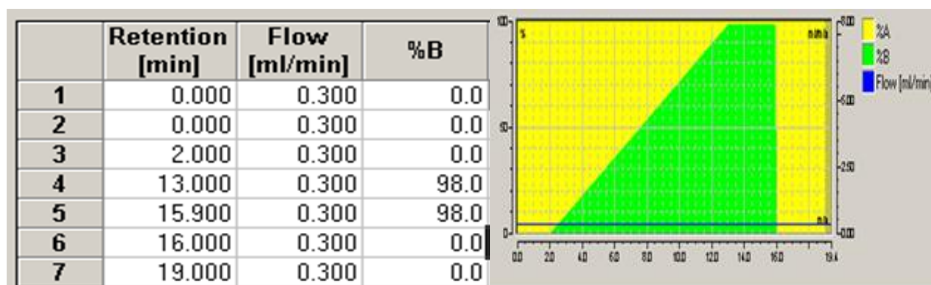
3.2.8.Sıvı Kromatografisi-Yüksek Çözünürlük Kütle Spektrometrisi (LC-HR MS) Cihazı ile Polen Katkılı Kefir Örneklerinin Fenolik Bileşiklerinin Belirlenmesi

LC-HRMS analizleri, DIONEX UltiMate 3000 RS pompası, DIONEX UltiMate 3000 RS otomatik numune alıcısı ve DIONEX UltiMate 3000 RS kolon fırını içeren LC sistemi ve ısıtılmalı elektrosprey iyonlaşma ara yüzüne sahip Exactive Plus Orbitrap (Thermo Fisher Scientific) yüksek çözünürlüklü MS bileşimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Orbitrap-MS cihazı, bir otomatik şırınga enjektörü (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak pozitif (Pierce™ LTQ Velos ESI Positive Ion Calibration Solution) ve negatif kalibrasyon (Pierce™ Negative Ion Calibration Solution) solüsyonları ile kalibre edilmiştir. Yapılan LC-HRMS analizlerinde LC ve MS kısmı sistem bilgisayarına yüklenmiş olan TraceFinder 3.2 (Thermo Scientific) programı ile eş zamanlı olarak çalıştırılmış, veriler Xcalibur software version 2.1.0.1140 (Thermo Fisher Scientific) programı ile toplanarak kaydedilmiştir.

3.2.8.1. Kromatografi ve Yüksek Çözünürlüklü MS koşulları

Gerçekleştirilen analizler bir Merck Purosper® STAR RP-18 endcapped Hibar® HR model UHPLC (100 mm×2,1 mm, 3µm) kolon kullanıldı. Kolon fırın sıcaklığı 30 °C olarak çalıştırılmıştır. Elüsyon gradiyentinde hareketli A fazında Ultrapure su sistemi (GFL 2004/ Human power 1) ile elde edilen ultra saf su da hazırlanmış %0,5 (v/v) glasiyel asetik asit, hareketli B fazında %99,9 saflıkta LC-MS derecede metanol (Sigma) kullanılmıştır.

Ayırım, numune enjeksiyon hacmi 20,0 µL ve 0,3 mL/dk akış hızında gradiyent elüsyon koşulları Şekil 3.11’de belirtilen durumlara göre gerçekleştirilmiştir. Analiz süresi toplam 20 dakika olarak ayarlanmıştır.



Şekil 3.11. Elüsyonda takip eden gradiyent koşulları.

Isıtılmış bir elektrosprey iyonlaşma ara yüzü ile donatılmış Orbitrap HRMS hem pozitif (Full MS/AIF) hem de negatif (Full MS/AIF) modda çalıştırılmıştır. İyonlaştırma ara yüzü kılıf gaz (sheath gas) akış oranı 35; yardımcı gaz (auxiliarygas) akış oranı 7; sprej voltaj 3,5 kV; kapiler sıcaklığı 350 °C; yardımcı gaz (auxiliarygas) sıcaklığı 350 °C; S-lens RF seviyesi 50 olarak ayarlandı. MS tarama aralığı 60-800 m/z; resolution 17500; ACG target 3. 106; maximum IT 2 ms; CE (çarpışma enerjisi, collision energy)/ step CE 25 V koşullarında gerçekleştirilmiştir. LC–Orbitrap HRMS analiz metoduna ait fitokimyasal bileşikler için standartların konsantrasyonu 10ppb-20ppb-40ppb-60ppb-80ppb-100ppb hazırlanarak her biri üç tekrarlı şekilde enjeksiyonu yapılmıştır.

Katı numunelerin konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde 10 mg tartılarak üzerine 5 mL HPLC derecede metanol ve 5 mL %0,5 asedik asit-saf su karışımından eklenerek 10 dakika ultrasonik banyoda etkileştirilerek çözünmesi sağlandı. Daha sonra 4500 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek üst sıvı fazdan alınarak 10 mL şırınga yardımı ile gözenek büyüklüğü 0.22 mikrometre 25 mm çaplı PTFE şırınga filtreden süzülerek 1.5 mL vialle alınarak cihaza enjeksiyonu yapıldı.

Fenolik bileşiklerin alıkonma zamanı (RT), Quan Peak (m/z), iyon modu (polarite), confirming ions (m/z), kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayısı (R²), doğrusal (Lineer) aralık (µg/L), hazırlanan ekstraktlardan biri seçilerek analizi yapılacak analitlerin sinyal almayacak oranda seyreltilen ekstraktan hazırlanan 1 örneğe standartların derişimi 10 µg/L olacak şekilde standart ekleme yapılarak belirleme alt sınırı (limit of detection, LOD) (µg/L) ve tayin alt sınırı (limit of quantification, LOQ) (µg/L), % geri kazanım ve % geri kazanım RSD gibi analitik parametreler hesaplanarak Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Fenolik bileşiklerin alıkonma zamanı (RT), Quan Peak (m/z), iyon modu (polarite), confirming ions (m/z), kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayısı (R²), doğrusal (Linear) aralık (µg/L), belirleme alt sınırı (limit of detection, LOD) (µg/L) ve tayin alt sınırı (limit of quantification, LOQ) (µg/L), % geri kazanım ve % geri kazanım RSD

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon (Quan Peak)	Parçalanma (fragment) iyonları (Confirming Ions)	Adduct	Polarite	R ²	Liner aralık (ng/mL)	% GERİ KAZANIM (10 µg/kg için)	GERİ KAZANIM RSD (µg/L)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
1	Benzoic acid	10,88	121,0295	12,02950	M-H	-	0,9976	10-100	98,39	1,34	0,39	1,31
2	4-Hydroxybenzoic acid	7,83	13.702.442	93,03471	M-H	-	0,9981	10-100	92,95	5,92	1,65	5,50
3	Salicylic acid	10,89	13.702.442	93,03468	M-H	-	0,9935	10-100	86,10	3,02	0,78	2,60
4	3-hydroxybenzoic acid (3-HBA)	8,65	13.702.442	93,03471	M-H	-	0,9974	10-100	95,21	1,71	0,49	1,63
5	3-hydroxyphenylacetic acid (3-HPA)	8,57	15.104.007	107,05045	M-H	-	0,9934	10-100	97,67	2,07	0,61	2,03
6	Syringic acid	8,9	19.704.555	121,02975	M-H	-	0,9976	10-100	96,65	1,68	0,49	1,62
7	Gallic acid(3,4,5- trihydroxybenzoic acid)	3,75	16.901.425	125,0246	M-H	-	0,9974	10-100	99,26	1,88	0,56	1,87
8	Protocatechuic acid (3,4-Dihydroxybenzoic acid)	6,27	15.301.933	109,02949	M-H	-	0,9972	10-100	98,55	0,30	0,09	0,29
9	Protocatechuic acid ethyl ester (Ethyl 3,4- Dihydroxybenzoate)	10,94	18.105.063	108,02187	M-H	-	0,9918	10-100	91,43	0,56	0,15	0,52
10	3,4- dihydroxybenzaldehyde (Protocatechuic aldehyde)	7,32	13.702.442	136,01671	M-H	-	0,9905	10-100	95,01	4,83	1,38	4,59
11	2,4-dihydroxybenzoic acid (beta-Resorcylic acid)	8,4	15.301.933	67,01888	M-H	-	0,9958	10-100	94,18	4,23	1,20	3,98

Tablo 3.2. devam ediyor

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon (Quan Peak)	Parçalanma (fragment) iyonları (Confirming Ions)	Adduct	Polarite	R ²	Liner aralık (ng/mL)	% GERİ KAZANIM (10 µg/kg için)	GERİ KAZANIM RSD (µg/L)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
12	Vanillic acid	8,59	16.703.498	108,02173	M-H	-	0,9900	10-100	85,55	4,78	1,23	4,09
13	Homovanillic acid((4-Hydroxy-3-methoxyphenylacetic acid)	8,69	18.105.063	108,02176	M-H	-	0,9922	10-100	94,76	2,29	0,65	2,17
14	Vanillin	9,24	15.104.007	10.802.178	M-H	-	0,9972	10-100	97,79	3,40	1,00	3,33
15	Gentisic acid	7,37	15.301.933	108,02176	M-H	-	0,9969	10-100	96,57	0,73	0,21	0,71
16	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid(DOPAC, Homoprotocatechuic acid)	6,96	16.703.498	93,0346	M-H	-	0,9916	10-100	104,36	0,75	0,23	0,78
17	trans Cinnamic acid	12,34	14.704.515	147,0451	M-H	-	0,9908	10-100	92,48	1,72	0,48	1,59
18	coumaric acid (trans-3-Hydroxycinnamic acid)	9,79	16.304.007	11.905.027	M-H	-	0,9976	10-100	96,95	1,58	0,46	1,53
19	Caffeic acid	8,6	17.903.498	135,04509	M-H	-	0,9947	10-100	99,68	4,62	1,38	4,60
20	Caffeic acid phenhyl ester (CAPE)	14,29	28.309.758	135,04526	M-H	-	0,9908	10-100	95,63	3,75	1,08	3,59
21	Ferulic acid	10,05	19.305.063	13.403.751	M-H	-	0,9943	10-100	95,51	3,40	0,97	3,25
22	Sinapic acid	10	22.306.120	193,01436	M-H	-	0,9932	10-100	98,77	0,36	0,11	0,36
23	Chlorogenic acid	8,05	35.308.781	191,05624	M-H	-	0,9972	10-100	98,09	4,90	1,44	4,81
24	Quinic acid	0,93	19.105.611	85,02962	M-H	-	0,9953	10-100	89,58	5,53	1,49	4,96

Tablo 3.2. devam ediyor

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon (Quan Peak)	Parçalanma (fragment) iyonları (Confirming Ions)	Adduct	Polarite	R ²	Liner aralık (ng/mL)	% GERİ KAZANIM (10 µg/kg için)	GERİ KAZANIM RSD (µg/L)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
25	3-(4-Hydroxyphenyl) propionic acid	9,28	16.505.572	108,02195	M-H	-	0,9935	10-100	95,47	2,67	0,76	2,55
26	α -Cyano-4- hydroxycinnamic acid	10,03	18.803.532	93,0347	M-H	-	0,9983	10-100	94,49	2,39	0,68	2,26
27	Catechin (Cianidanol)- p	7,62	28.907.176	109,02975	M-H	-	0,9941	10-100	99,47	0,68	0,20	0,68
28	Epigallocatechin	7,48	30.506.668	108,0219	M-H	-	0,9908	10-100	107,49	0,96	0,31	1,03
29	Epigallocatechin gallate	8,29	45.707.763	108,021850	M-H	-	0,9948	10-100	104,77	2,59	0,82	2,72
30	Chrysin (5,7- Dihydroxy-2-phenyl- 4H-chromen-4-one)	16,63	25.305.063	253,05063	M-H	-	0,9905	10-100				
31	Apigenin (5,7- Dihydroxy-2-(4- hydroxyphenyl)-4H- chromen-4-one)	13,24	26.904.555	117,03464	M-H	-	0,9952	10-100	84,36	1,44	0,37	1,22
32	Acacetin (5,7- Dihydroxy-2-(4- methoxyphenyl)-4H- chromen-4-one)	14,93	28.306.120	268,03717	M-H	-	0,9951	10-100	86,09	3,93	1,02	3,38
33	Rhoifolin (Apigenin 7- O- neohesperidoside)	11,01	57.715.628	269,04532	M-H	-	0,9925	10-100	86,60	5,03	1,31	4,35
34	Vicenin 2	9,03	59.315.119	473,10941	M-H	-	0,9960	10-100	102,15	4,79	1,47	4,90
35	Apigenin 7-glucuronide	11,17	44.507.763	269,04535	M-H	-	0,9957	10-100	87,69	6,69	1,76	5,87
36	Apigenin 7-glucoside	11,12	43.109.837	269,0448	M-H	-	0,9929	10-100	96,37	2,43	0,70	2,35

Tablo 3.2. devam ediyor

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon (Quan Peak)	Parçalanma (fragment) iyonları (Confirming Ions)	Adduct	Polarite	R ²	Liner aralık (ng/mL)	% GERİ KAZANIM (10 µg/kg için)	GERİ KAZANIM RSD (µg/L)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
37	Genkwanin(4',5-Dihydroxy-7-metthoxyflavone, Apigenin 7-O-methyl ether)	14,93	28.306.120	268,03745	M-H	-	0,9951	10-100	96,09	3,52	1,02	3,38
38	Apiin (Apigenin-7-(2-O-apiosylglucoside)	10,94	56.314.063	269,0463	M-H	-	0,9906	10-100	65,93	3,88	0,77	2,56
39	Vitexin (Apigenin 8-C-glucoside)	10,08	43.109.837	311,05603	M-H	-	0,9959	10-100	90,88	3,44	0,94	3,12
40	Schaftoside	9,64	56.314.063	443,09949	M-H	-	0,9969	10-100	96,63	3,47	1,01	3,35
41	Rutin hydrate M-OH2	10,65	60.914.611	300,02777	M-H	-	0,9961	10-100	102,96	3,31	1,02	3,41
42	Luteolin	12,53	28.504.046	175,04039	M-H	-	0,9967	10-100	91,16	5,14	1,41	4,69
43	Luteolin-7-O-glucuronide (Luteolin-7-O-β-D-glucuronide)	10,48	46.107.255	285,04056	M-H	-	0,9967	10-100	85,92	2,87	0,74	2,47
44	Diosmetin (Luteolin 4'-methyl ether)	13,35	29.905.611	284,0329	M-H	-	0,9966	10-100	86,24	2,36	0,61	2,04
45	Orientin	9,72	44.709.328	327,05148	M-H	-	0,9944	10-100	87,87	5,33	1,40	4,68
46	Isoorientin	9,72	44.709.328	327,05151	M-H	-	0,9944	10-100	87,87	5,33	1,40	4,68
47	Luteoloside (Luteolin 7-glucoside)	10,46	44.709.328	285,04059	M-H	-	0,9921	10-100	94,46	3,37	0,96	3,19
48	Luteolin 7-rutinoside	10,36	59.315.119	285,04065	M-H	-	0,9956	10-100	101,05	5,71	1,73	5,77
49	Galangin (3,5,7-Trihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one)	14,69	26.904.555	269,04555	M-H	-	0,9967	10-100	86,81	2,33	0,61	2,03
50	Quercetin	12,18	30.103.538	151,00342	M-H	-	0,9967	10-100	100,79	0,86	0,26	0,87

Tablo 3.2. devam ediyor

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon (Quan Peak)	Parçalanma (fragment) iyonları (Confirming Ions)	Adduct	Polarite	R ²	Liner aralık (ng/mL)	% GERİ KAZANIM (10 µg/kg için)	GERİ KAZANIM RSD (µg/L)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
51	İsoquercitrin (Quercetin 3-glucoside)	10,72	46.308.820	300,02768	M-H	-	0,9924	10-100	83,60	4,80	1,20	4,01
52	Narcissin (Narcissoside, Isorhamnetin 3-rutinoside)	11,37	62.316.176	315,05139	M-H	-	0,9949	10-100	86,23	4,31	1,12	3,72
53	Quercetin 3-rutinoside 7-glucoside	11,53	28.705.536	135,04512	M-H	-	0,9962	10-100	86,97	6,46	1,69	5,62
54	Isorhamnetin (Quercetin 3'-methyl ether)	13,2	30.002.780	315,05103	M-H	-	0,9987	10-100	96,81	4,86	1,41	4,70
55	Kaempferol	13,05	28.504.046	136,01686	M-H	-	0,9976	10-100	85,18	3,04	0,78	2,59
56	Afzelin (Kaempferol 3-rhamnoside)	11,96	43.109.837	285,04028	M-H	-	0,9966	10-100	88,29	5,17	1,37	4,56
57	Kaempferide	14,82	29.905.611	284,03265	M-H	-	0,9972	10-100	93,29	3,28	0,92	3,06
58	Kaempferitrin	11,01	57.715.628	431,09995	M-H	-	0,9925	10-100	86,60	5,03	1,31	4,35
59	Nicotiflorin (Kaempferol 3-rutinoside, Kaempferol 3-O-β-rutinoside)	11,29	59.315.119	285,04041	M-H	-	0,9972	10-100	91,72	8,14	2,24	7,46
60	Astragalin (Kaempferol 3-glucoside)	11,32	44.709.328	284,03281	M-H	-	0,9936	10-100	87,97	6,18	1,63	5,43
61	Tiliroside	12,39	59.313.006	285,04102	M-H	-	0,9963	10-100	93,35	3,00	0,84	2,80
62	Leucoside (Kaempferol 3-sambubioside)	11,53	28.705.536	135,04514	M-H	-	0,9962	10-100	86,97	6,46	1,69	5,62
63	Myricetin	11,58	31.703.029	151,0038	M-H	-	0,9838	10-100				
64	Fisetin hydrate	11,44	28.504.046	135,009	M-H	-	0,9969	10-100	92,33	6,47	1,79	5,97
65	Naringin	10,55	57.917.193	459,11502	M-H	-	0,9912	10-100	85,86	7,33	1,89	6,30

Tablo 3.2. devam ediyor

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon (Quan Peak)	Parçalanma (fragment) iyonları (Confirming Ions)	Adduct	Polarite	R ²	Liner aralık (ng/mL)	% GERİ KAZANIM (10 µg/kg için)	GERİ KAZANIM RSD (µg/L)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
66	Naringenin	12,34	27.106.120	119,05035	M-H	-	0,9939	10-100	86,54	3,20	0,83	2,77
67	Sakuranetin (Naringenin 7-O-methyl ether)	14,02	28.507.685	119,05032	M-H	-	0,9965	10-100	86,42	7,90	2,05	6,83
68	Narirutin (Narirutinsa, Naringenin rutinoside)	10,39	57.917.193	271,06107	M-H	-	0,9958	10-100	84,12	3,84	0,97	3,23
69	Eriodictyol (3,4,5,7- Tetrahydroxyflavanone)	10,66	28.705.501	287,05501	M-H	-	0,9939	10-100	95,45	2,66	0,76	2,54
70	Liquiritigenin	11,58	25.506.628	255,06592	M-H	-	0,9924	10-100	83,01	1,67	0,42	1,38
71	Liquiritin (4',7- Dihydroxyflavanone 4'- glucoside)	9,99	41.913.366	138,05452	M-H	-	0,9919	10-100	84,91	0,80	0,20	0,68
72	Genistein (5,7- Dihydroxy-3-(4- hydroxyphenyl)-4H- chromen-4-one)	12,65	26.904.555	13.302.959	M-H	-	0,9935	10-100	97,25	3,27	0,95	3,18
73	Daidzin	9,33	41.510.346	253,05191	M-H	-	0,9908	10-100	87,77	6,01	1,58	5,28
74	Formononetin (Neochanin)	13,61	26.706.628	252,04263	M-H	-	0,9938	10-100	84,43	2,83	0,72	2,39
75	Kuromanine (Cyanidin 3-glucoside chloride)	8,16	44.709.328	285,0397	M-H	-	0,9958	10-100	93,41	3,00	0,84	2,80
76	ellagic acid	10,91	30.099.899	300,99872	M-H	-	0,9978	10-100	95,82	3,00	0,86	2,87
77	Esculin hydrate	7,43	33.907.216	177,0193	M-H	-	0,9962	10-100	95,54	2,32	0,67	2,22
78	Phloridzin	10,98	43.512.967	273,07648	M-H	-	0,9934	10-100	98,43	1,10	0,33	1,08
79	Rosmarinic acid	10,82	35.907.724	161,02451	M-H	-	0,9971	10-100	94,99	3,97	1,13	3,78
80	Glabridin	15,17	32.312.888	135,04533	M-H	-	0,9987	10-100	95,70	2,24	0,64	2,15

Tablo 3.2. devam ediyor

No	Bileşik Adı	RT	Ana iyon (Quan Peak)	Parçalanma (fragment) iyonları (Confirming Ions)	Adduct	Polarite	R ²	Liner aralık (ng/mL)	% GERİ KAZANIM (10 µg/kg için)	GERİ KAZANIM RSD (µg/L)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
81	Arbutin	2,96	27.108.233	108,0218	M-H	-	0,8478	10-100	95,36	2,48	0,71	2,36
82	emodin	16,35	26.904.555	225,05573	M-H	-	0,983	10-100	95,38	5,04	1,44	4,81
84	Doxorubicin Hydrchloride	11,8	54.216.678	543,17461	M-H	-	0,9934	10-100	97,32	3,71	1,08	3,61
85	ethylgallate	9,41	19.704.555	124,01682	M-H	-	0,9929	10-100	95,19	3,34	0,95	3,18

3.2.9. Kefirlerin Mikrobiyolojik Analizleri

Mikrobiyolojik analizlerde kullanılmak üzere dilüsyon hazırlamada % 0.1 peptonlu su çözeltisi kullanılmıştır. Örneklerden 10'ar mL alınarak, süzgülü stomacher poşetlerine konulmuştur ve çözeltiye 90 mL (%0,1'lik) peptonlu su ilave ettikten sonra stomacherda homojenize edilmiştir. Böylece dilüsyonlar hazırlanmış ve bu dilüsyondan ileri seyreltmeler yapılarak ekim işlemi gerçekleştirilmiştir (Kurt vd., 2012). Kontrol grubu olarak polen eklenememiş kefir örnekleri kullanılmıştır.

3.2.9.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı

Kefir numunesi stomacherda homojenize edildikten sonra 1 mL alınıp 9 mL peptonlu su (%0.1) bulunan tüpe konup vortekste karıştırılmış ve bu karışımdan 1 mL alınarak ileri seyreltmelerle uygun dilisyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilisyonlardan seçilerek içerisinde Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyeri bulunan petri kutularına aktarılmıştır. Petriler daha sonra 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon tamamlandıktan sonra koloniler sayılıp, örnekte bulunan toplam canlı bakteri sayısı log (Kob/mL) olarak tespit edilmiştir. (Kurt vd., 2012).

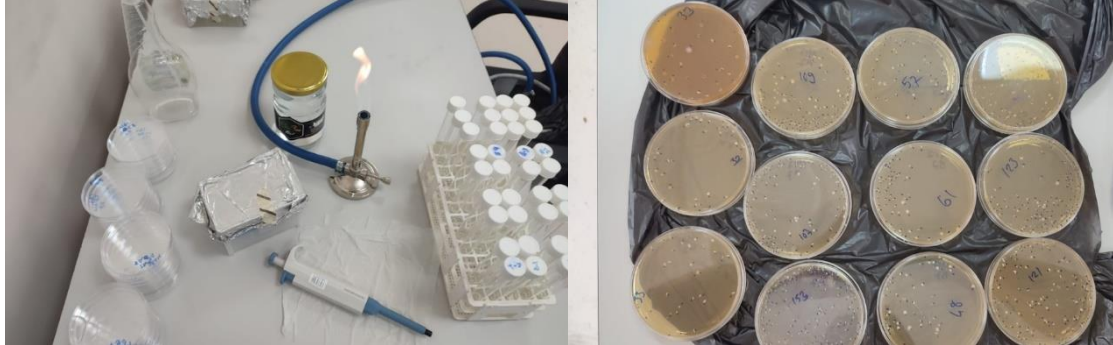
3.2.9.2. Toplam Maya ve Küf Sayım

Kefir örneklerinin toplam maya ve küf sayımı için standart olarak süt ürünleri için kullanılan Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC, Biokar) agar besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan farklı örneklerin her biri için dilüsyonlardan birer mL alınarak yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petri kutuları aerobik ortamda 25°C' de 4 gün süreyle inkübe edilmiştir (Witthuhn vd., 2005). Sonuçlar log (Kob/mL) olarak rapor edilmiştir.

3.2.9.3. Laktobasil ve Laktokok Sayımı

Laktobasillerin sayımında MRS (De Man Rogosa Sharpe, Merck) Agar kullanılmıştır. MRS plakları, petri dökme yöntemi yardımıyla inoküle edildikten sonra 5 gün 30°C' de anaerobik (%90 N₂+ %10 CO₂ atmosferinde) şartlarda inkübe edilmiştir. Laktokok sayımı

Terzaghi ve Sandine 1975'ye göre M17 Agar besiyerinde gerçekleştirilmiştir (Terzaghi ve Sandine, 1975). Sonuçlar log (Kob/mL) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.12. Laktobasil sayımı

3.2.9.4. Asetik Asit Cinsi Bakteri Sayımı

Asetik asit bakterilerinin sayımı için Acetobacter Peroxydans Medium (APM) Agar selektif besi ortamı olarak kullanılmıştır. Önceden hazırlanarak homojen hale getirilen dilüsyonlardan 1'er mL halinde inoküle edileceği paralel steril petri kaplarına yaklaşık 15 – 20 mL dökülüp ve petriler 25°C de 3 – 5 gün aerobik ortamda inkübasyona bırakıldıktan sonra, oluşan kolonilerin sayımı yapılmıştır (Witthuhn vd., 2005). Sonuçlar log (Kob/mL) olarak hesaplanmıştır.

3.2.9.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 25, JMP 5.01.1 programı kullanılarak yapılmıştır. Varyans analizi ANOVA ile faktöryel varyans analizi yapıp, faktör olarak farklı depolama günleri ve polen ekstraktları seçilip hem faktörlerin hem de ortak etkinin (interaction) anlamlı olup olmadığını belirlenmiştir. Ayrıca Tukey Pairwise Comparison testi ile de gruplar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

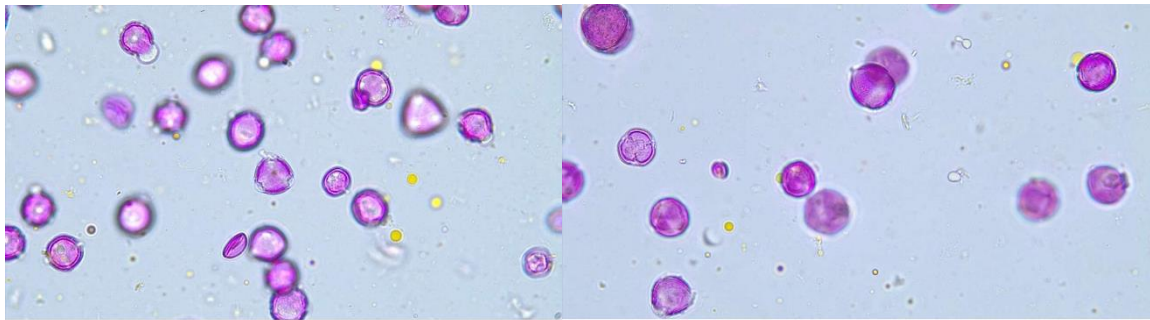
4.1. Arı Poleninin Botanik Orijini

Arı poleni örneğinin mikroskobik analiz sonucu içeriğinde saptanan bitki taksonları ve bu taksonların bulunma yüzdeleri Tablo 4.1’de ve polen örneğinin içerdiği polen tanelerinin ışık mikroskobu görüntüsü Şekil 4.1.’de verilmiştir. Arı poleni örneği, bifloral *Verbascum* sp. ve *Hypericum* sp. polenidir. Polen örneği içeriği baskın olarak, *Verbascum* sp. (sığırkuyruğu) bitkisinin polenlerinden oluşmaktadır.

Tablo 4.1. Polen örneğinin botanik kaynağı

Coğrafi Kaynak	Botanik Kaynak	Polen tipi ve bulunma sıklığı (%)
Bingöl	Bifloral <i>Verbascum</i> sp. (%), <i>Hypericum</i> sp.	*****: - ****: <i>Verbascum</i> sp. (69,4), ***: - **: <i>Hypericum</i> sp. (18,5) *: <i>Crepis</i> sp. (1,73), <i>Lamium</i> sp. (0,58), <i>Lotus</i> sp. (0,58), <i>Myosotis</i> sp. (1,16), <i>Papaver</i> sp. (2,9), <i>Pedicularis</i> sp. (1,16), <i>Prunus</i> sp. (2,9), <i>Salvia</i> sp. (0,58), <i>Sanguisorba</i> sp. (1,16)

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



Şekil 4.1. Polen örneğinin içerdiği polen taneleri (ışık mikroskobu görüntüsü) (40X)

Melissopalinojoloji, bal, polen, perga, propolis ve arı sütü gibi arı ürünlerindeki polen tanelerinin mikroskopik olarak değerlendirilmesidir (de Souza vd., 2019). Palinolojik çalışmalarla, arı ürünlerinin içeriğinde yer alan polen tanelerinin, şekli, boyutu, ekzin tabakası üzerindeki apertür ve ornemantasyon gibi karakterleri değerlendirilerek, polen tanelerinin bitkisel kaynağı belirlenmektedir. Ayrıca, palinolojik çalışmalar arı poleni örneklerinin farklı botanik ailelerden oluşabileceğini göstererek arı polenine katkıda bulunan bitki kaynaklarının çeşitliliğini vurgulamıştır (Barbieri vd., 2020). Çalışmamızda kefir örneklerinin zenginleştirilmesi için kullanılan arı poleni Barth vd.(2010)' a göre sınıflandırılmış, arı polenin bifloral, yani baskın olarak iki bitkiye ait olduğu (*Verbascum* sp. ve *Hypericum* sp.) belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Çalışmamızda kefir örneklerinin zenginleştirilmesi için kullanılan arı poleni Barth vd.(2010)' a göre sınıflandırılmış, arı polenin bifloral, yani baskın olarak iki bitkiye ait olduğu (*Verbascum* sp. ve *Hypericum* sp.) belirlenmiştir.

Çobanoğlu vd. (2023), Bingöl'ün sekiz farklı bölgesinden topladıkları arı polenlerinin, ikisinin *Verbascum* sp. bitkisine ait monofloral polen, 6 adet arı polenin ise multifloral olduğunu belirlemiştir. *Verbascum*, *Papaver*, *Vicia*, *Acantholimon* ve *Hypericum* cinslerine ait polen taneleri, polen örneklerinde sıklıkla gözlemlenmiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde, *Verbascum* sp. ve *Hypericum* sp. polenlerinin bulunma sıklığı daha yüksektir.

Kefire eklenen arı polenin baskın olarak *Verbascum* sp. (sığır kuyruğu) bitkisine ait olduğu belirlenmiş, benzer olarak Bingöl İli'nden toplanan arı polenin değerlendirildiği başka bir çalışmada, polenin monofloral *Verbascum* sp. poleni olduğu saptanmış ve monofloral *Verbascum* sp. arı polenin yağ asidi içeriği yüksek bulunmuştur (Dursun vd., 2024).

4.2. Kefir Örneklerinde Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Zenginleştirilmiş kefirin fiziksel özellikleri, kalitesini, dokusunu ve genel tüketici kabulünü belirlemede önemli bir rol oynar. Araştırmalar, sütün türü, fermentasyon süreci ve zenginleştirme maddelerinin eklenmesi gibi çeşitli faktörlerin, kefirin reolojik özelliklerini etkileyebileceğini ve dolayısıyla dokusunu, rengini ve duyuşal özelliklerini

etkileyebileceğini göstermiştir (Goncu vd., 2017; Gul vd., 2018b). Bal veya meyve lifleri gibi malzemelerin kefire eklenmesi, su aktivitesini ve su tutma kapasitesini ve sonuç olarak ürünün duyuusal kabul edilebilirliğini etkilemektedir (Bielska vd., 2021; Goncu vd., 2017). Başlangıç kültürlerinin veya fermentasyon kaynaklarının seçimi, kefirin fizikokimyasal özelliklerinde etkilidir (Gul vd., 2018b). Bu mikrobiyal kompozisyondaki farklılıklar, son ürünün dokusu, asitliği ve lezzet profili üzerinde değişikliklere neden olabilir. Ayrıca, çalışmalar, pH, viskozite ve renk gibi kefirin kalite özelliklerini şekillendirmede inkübasyon koşullarının, sıcaklık ve süre dahil olmak üzere, önemini vurgulamaktadır (Lubna vd., 2023).

Yapılan çalışmalarda, bitki özleri ve tarımsal gıda atıklarının eklenmesi gibi fonksiyonel zenginleştirmelerin, kefirin biyoaktif özelliklerini ve dolayısıyla besin değerini ve sağlık faydalarını artırdığı gösterilmiştir (Aiello vd., 2020). Bu zenginleştirme maddeleri, kefirin fiziksel özelliklerini değiştirebilir, antioksidan aktivitesini, mikrobiyal kompozisyonunu ve genel kalitesini etkileyebilir.

4.2.1. Toplam Kuru Madde (TKM) Miktarı

Toplam kuru madde içeriği gıdaların besin değeri, mikrobiyolojik, kimyasal, duyuusal özellikleri ile raf ömrünü önemli ölçüde etkilemektedir. Kontrol kefir grubu ile arı poleni ilaveli kefirlerin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki %TKM ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4.2, Şekil 4.2’de verilmiştir.

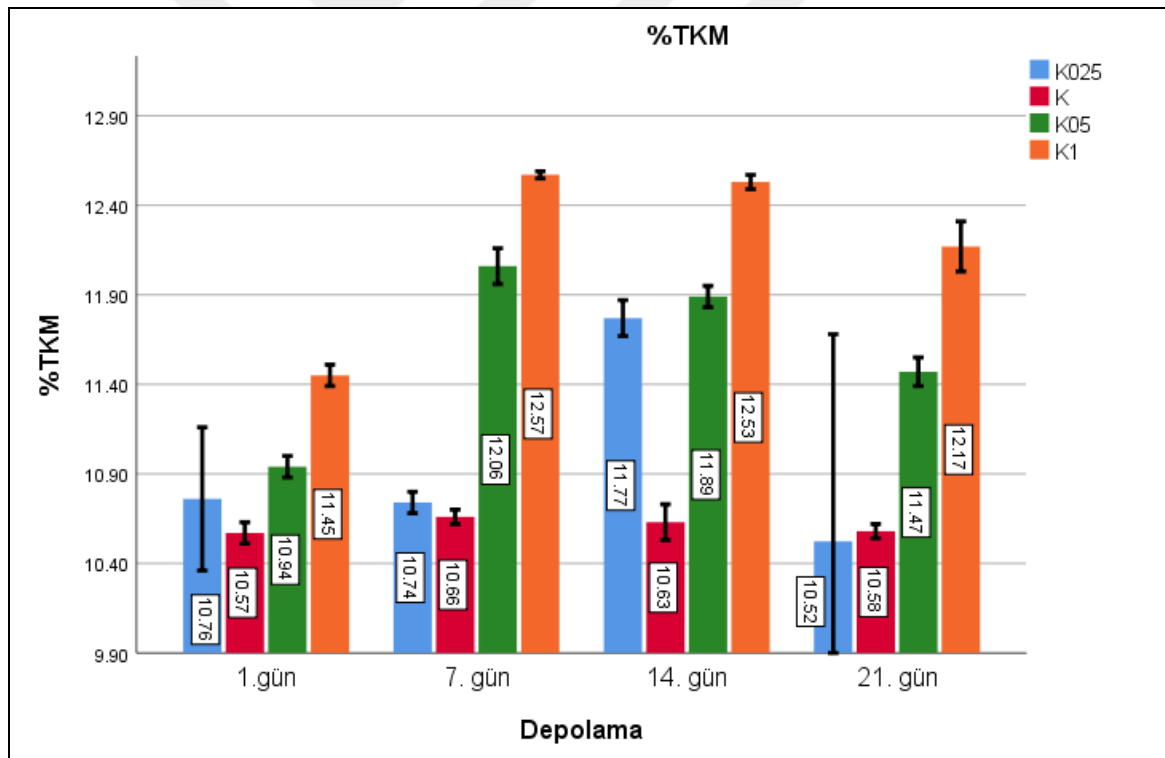
Tablo 4.2. Kefir örneklerinin toplam kuru madde içeriği (%) (n=3)

Örnekler*	Depolama Süreci %TKM			
	1. Gün	7. Gün	14.Gün	21.Gün
Kontrol	10,57±0,03^{Cb}	10,66±0,02 ^{Da}	10,63±0,05 ^{Dab}	10,58±0,02 ^{Dab}
K-0.25	10,76±0,20 ^{BCc}	11,74±0,03 ^{Ca}	11,77±0,05 ^{Ca}	11,19±0,03 ^{Cb}
K-0.50	10,94±0,03 ^{Bd}	12,06±0,05 ^{Ba}	11,89±0,03 ^{Bb}	11,47±0,04 ^{Bc}
K-1	11,45±0,03 ^{Ac}	12,57±0,01^{Aa}	12,53±0,02 ^{Aa}	12,17±0,07 ^{Ab}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C, D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b,c,d: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05).

Çalışmada arı poleni ilave edilen kefir örneklerinin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) toplam kuru madde içeriği $\%10.57 \pm 0.03$ - 12.57 ± 0.01 arasında değişmiştir. Kontrol kefir grubunun da ortalama toplam kuru madde içeriğinin $\%10.57 \pm 0.03$ - 10.66 ± 0.02 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Arı poleni ilaveli kefirlerde en düşük toplam kuru madde içeriği K-0.25 örneğinin 1. depolama gününde $\%10.76 \pm 0.20$ olarak tespit edilirken, en yüksek toplam kuru madde içeriği ise K-1, örneğinin 7. depolama gününde $\%12.57 \pm 0.01$ olarak tespit edilmiştir.

Kefir ile ilgili yapılmış olan çalışmalar göz önüne alındığında kefirin toplam kuru madde içeriği, kullanılan sütün içeriğine, türüne, yağ oranına ve ilave edilen malzemenin içeriğine göre değişmektedir. Polen ile zenginleştirilmiş kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarının 7. günde arttığı, 14. günde azalmaya başladığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Kefir örneklerinin %toplam kuru madde içeriği

Yapmış olduğumuz çalışmaya benzer olarak kahve ilave edilerek yapılan kefir örneklerinin incelendiği bir çalışmada kontrol örneklerinin TKM içeriği ortalama olarak $\%10.72$ olduğu ifade edilmiştir. Kahve ilaveli kefirlerin ise TKM içeriği ise ortalama $\%11.02$ olarak bulunmuştur (Acar, 2023).

Yapılan farklı bir çalışmada, kefir içeriğine %5, %10, %15 ve %20 oranlarında likapa pulpu (*Vaccinium corymbosum* L.) ilave edilmiştir. Likapa pulpu ilave edilerek üretilen örneklerin, TKM içerikleri (%10,26–10,56) arasında değiştiği bildirilmiştir. Kontrol grubu kefir örneklerinin TKM içerikleri ise likapa pulpu ilave edilen kefir örneklerine kıyasla (%10,32-10,67) daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (Çınar, 2019).

K-0,25 kefir örneği incelendiğinde depolamanın 14. gününe kadar TKM içeriğinde bir artma gözlemlerken Kontrol, K-0,50 ve K-1 kefir örneklerinde ise depolama depolamanın 7. gününe kadar TKM içeriklerinde artma 14. ve 21. günlerde ise azalma tespit edilmiştir. Meyveli kefirlerle yapılan bir çalışmada TKM içeriğinin depolama periyodu boyunca artışı bildirilmiştir (Çınar, 2019).

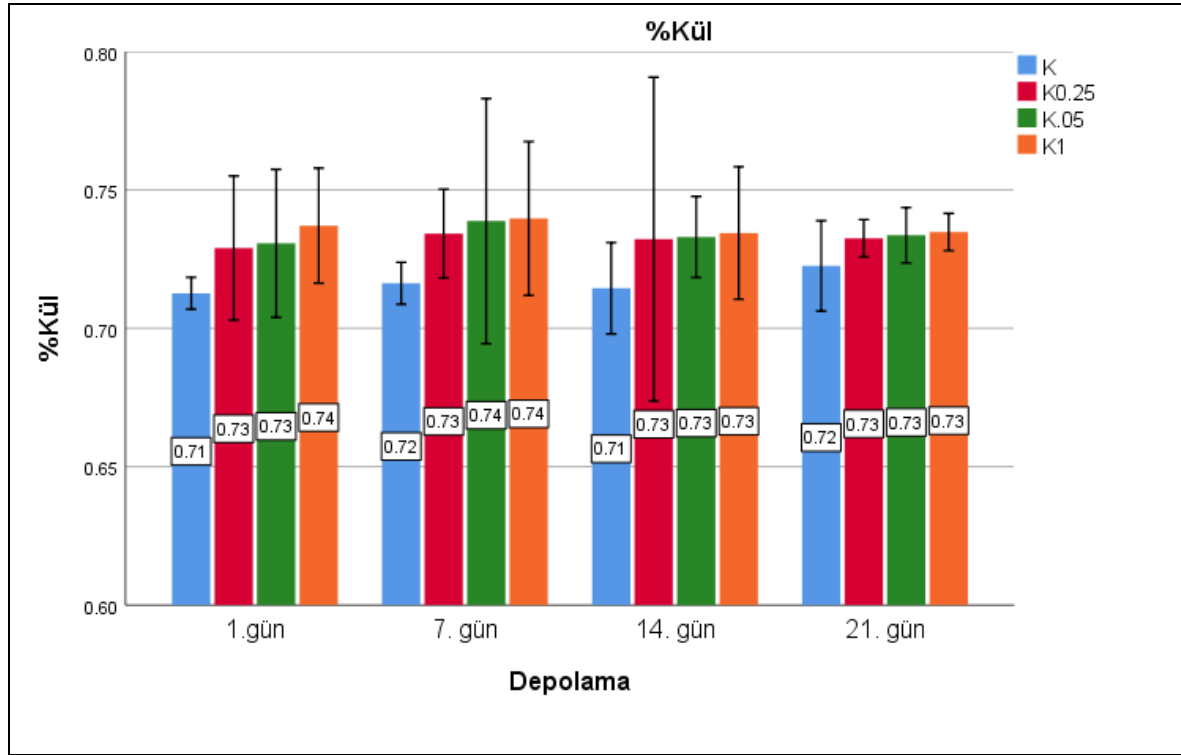
4.2.2. Toplam Kül İçeriği

Gıdalarda var olan organik maddelerin yanma reaksiyonu sonucu arta kalan inorganik kalıntının miktarını ifade eden % kül miktarı, kefirin kalite özelliklerini ve besin değerini belirlemek açısından oldukça önemlidir. Kontrol kefir ile arı poleni ilaveli kefirlerin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki %kül ortalamaları Tablo 4.3’te verilmiştir.

Tablo 4.3. Kefir örneklerinin kül miktarları (%) (n=3)

Örnekler*	Depolama Süreci % KÜL			
	1. Gün	7. Gün	14.Gün	21.Gün
Kontrol	0,713±0,003^{Aa}	0,716±0,004 ^{Aa}	0,714±0,008 ^{Aa}	0,723±0,008 ^{Aa}
K-0.25	0,729±0,013 ^{Aa}	0,734±0,008 ^{Aa}	0,732±0,029 ^{Aa}	0,733±0,003 ^{Aa}
K-0.50	0,731±0,013 ^{Aa}	0,739±0,022 ^{Aa}	0,733±0,007 ^{Aa}	0,734±0,005 ^{Aa}
K-1	0,737±0,010 ^{Aa}	0,740±0,014^{Aa}	0,737±0,012 ^{Aa}	0,735±0,003 ^{Aa}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A: Aynı sütundaki büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemsizdir. (p>0,05), a: Aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemsizdir (p>0,05).



Şekil 4. 3. Kefir örneklerinin % kül miktarları

Kül değerleri $0,713 \pm 0,003$ (1. gün kontrol) ve $0,740 \pm 0,014$ (7. gün K-1) arasında değişiklik göstermektedir (Tablo 4.3. ve Şekil 4.3). Kontrol ve arı poleni ilaveli kefir örneklerinin kül içeriği, depolama süresi boyunca genellikle belirgin bir artış veya azalış göstermemiştir ($P > 0,05$). Arı poleni ilaveli, K-0,25, K-0,50 ve K-1'deki örneklerin kül içeriği, genel olarak kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Ancak, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P > 0,05$). Arı poleni katkılı kefir örneklerinin en yüksek kül miktarı depolama sürecinin 7. gününde belirlenmiştir ($P > 0,05$).

Sonuç olarak, bu deneyde incelenen koşullar altında, depolama süresi ve farklı oranlardaki arı poleni ilavesi kül içeriği üzerinde belirgin bir etki göstermemiştir.

Yapmış olduğumuz çalışma sonucuna benzer olarak; %10 ve %15 oranlarında kuşburnu marmelatı eklenerek hazırlanan ve 21 gün boyunca depolanan kefirlerin %kül içeriğinin depolama periyodu sonunda artış gösterdiğini ve depolama periyodunun 1. gün 21. gün %kül miktarının, kontrol grubu kefir örnekleri için %0,51-0,70, %10 oranında kuşburnu eklenerek hazırlanan kefir örnekleri için %0,46-0,67 ve %15 oranında kuşburnu ilave

edilerek hazırlanan kefir örnekleri için %0,29-0,57 arasında değiştiği bildirilmiştir (Demir, 2020).

4.2.3. Toplam Protein İçeriği

Protein içeriği gıdaların besin değeri, mikrobiyolojik, kimyasal, duyuşal özellikleri ile raf ömrünü önemli ölçüde etkilemektedir. Kontrol kefir grubu ile arı poleni ilaveli kefirlerin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki % protein ortalamaları Tablo 4.4’te verilmiştir.

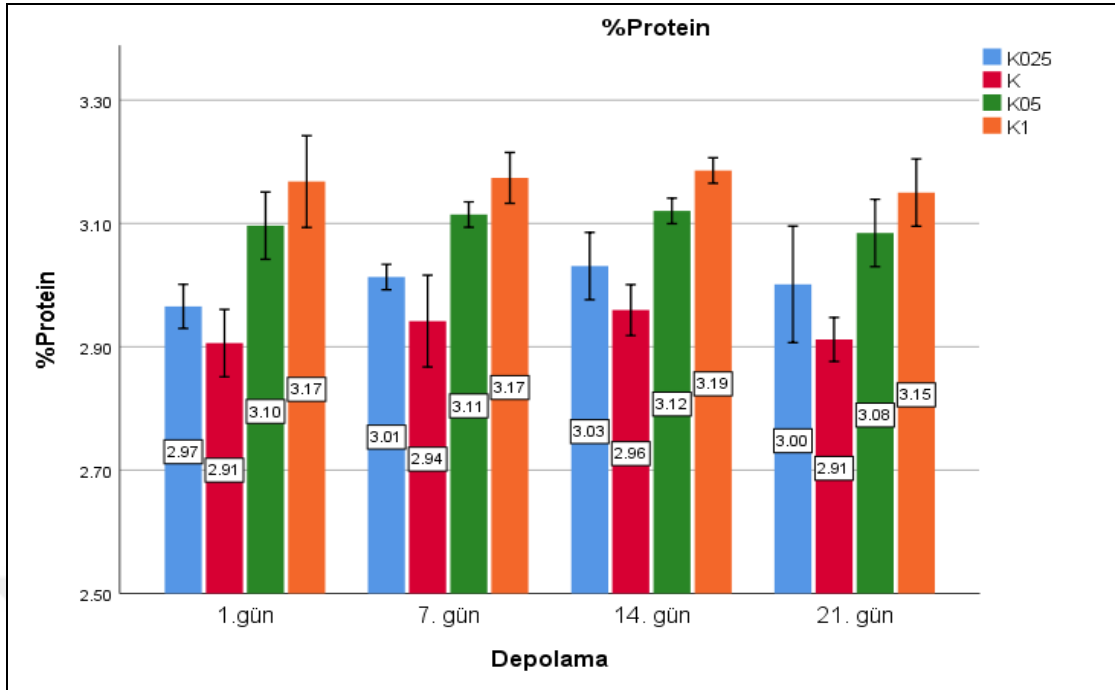
Tablo 4.4. Kefir örneklerinin protein miktarları (%) (n=3)

Örnekler*	Depolama Süreci % Protein			
	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
Kontrol	2,91±0,03^{Ba}	2,94±0,04 ^{Da}	2,96±0,02 ^{Da}	2,91±0,02 ^{Ca}
K-0.25	2,97±0,02 ^{Ba}	3,01±0,01 ^{Ca}	3,03±0,03 ^{Ca}	3,00±0,05 ^{Ba}
K-0.50	3,10±0,03 ^{Aa}	3,11±0,01 ^{Ba}	3,12±0,01 ^{Ba}	3,08±0,03 ^{Aa}
K-1	3,17±0,04 ^{Aa}	3,17±0,02 ^{Aa}	3,19±0,01^{Aa}	3,15±0,03 ^{Aa}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C, D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a: Aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemsizdir (p>0,05).

Kontrol grubu kefir örneklerinde protein oranlarının %2,91±0,03–2,96±0,02, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde %2,97±0,02–3,03±0,03, %0,50 arı poleni ilaveli kefir örneklerinde %3,08±0,03–3,12±0,01 ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde %3,15±0,03–3,19±0,01 arasında değiştiği belirlenmiştir. En düşük protein miktarı depolamanın 1. ve 21. günlerinde kontrol grubu kefirlerde %2,91±0,03 olarak tespit edilmiştir. En yüksek protein içeriği ise depolamanın 14. gününde K-1 örneğinde %3,19±0,01 olarak tespit edilmiştir. Tüm analiz sonuçları, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği’ne uygundur (Anonim, 2022).

Kontrol ve arı poleni katkılı kefir örneklerinde protein miktarında, depolama süresi boyunca gözlenen farklılık istatistiksel olarak önemsizdir (p>0,05). K-0.25, K-0.50 ve K-1 kefir örneklerinin protein miktarı ise genel olarak kontrol grubundan daha yüksektir. Arı poleni katkısı yükseldikçe, kefir örneklerinin protein miktarı yükselmektedir (p<0,05).



Şekil 4. 4. Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca protein miktarlarındaki değişim (%) (n=3)

Depolamanın 14. gününe kadar protein oranlarında bir artış gözlemlenirken 21. gün depolamanın sonunda bir miktar azalma meydana gelmiştir.

Çalışmalar kefirin protein, glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan, vücut ağırlığının düzenlenmesine, bağışıklık tepkisinin korunmasına ve enerji dengesine olumlu katkıda bulunan zengin bir esansiyel amino asit kaynağı olduğunu göstermiştir (Farag vd., 2020a). Kefir tipik olarak nem, şeker, kül, laktik asit ve alkol gibi diğer bileşenlerin yanı sıra yaklaşık %3,0 protein ve %0,2 lipit içerir (Arslan, 2015). Kefirin protein içeriği, fermantasyon süreci ve depolama koşulları da dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir.

Kuşburnu marmelatlı (%10 ve %15) kefir örneklerinde depolama boyunca protein miktarları incelenmiştir. Kontrol grubu kefir örneklerinin protein miktarlarının %2,55-2,82 arasında değiştiği bildirilmiştir. %10 kuşburnu marmelatlı ilavesinin protein miktarının kontrol grubuna kıyasla (%1,99-2,18) düşük olduğu belirlenmiştir. %15 kuşburnu marmelat ilavesinde ise, protein miktarlarının %1,66-1,96 arasında değiştiği ifade edilmiştir (Demir, 2020).

4.2.4. Yağ İçeriği

Kefirin duyuşsal ve fiziksel karakterlerini olumlu yönde iyileştiren yağ miktarı, insan fizyolojisi bakımından da oldukça önemlidir. Ayrıca yağ miktarı, üretilen ürünün ilgili mevzuata uygunluğunu da kontrol etme açısından önemli bir kriterdir. Kontrol kefir grubu ile arı poleni ilaveli kefirlerin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki % yağ ortalamaları Tablo 4.5’te verilmiştir.

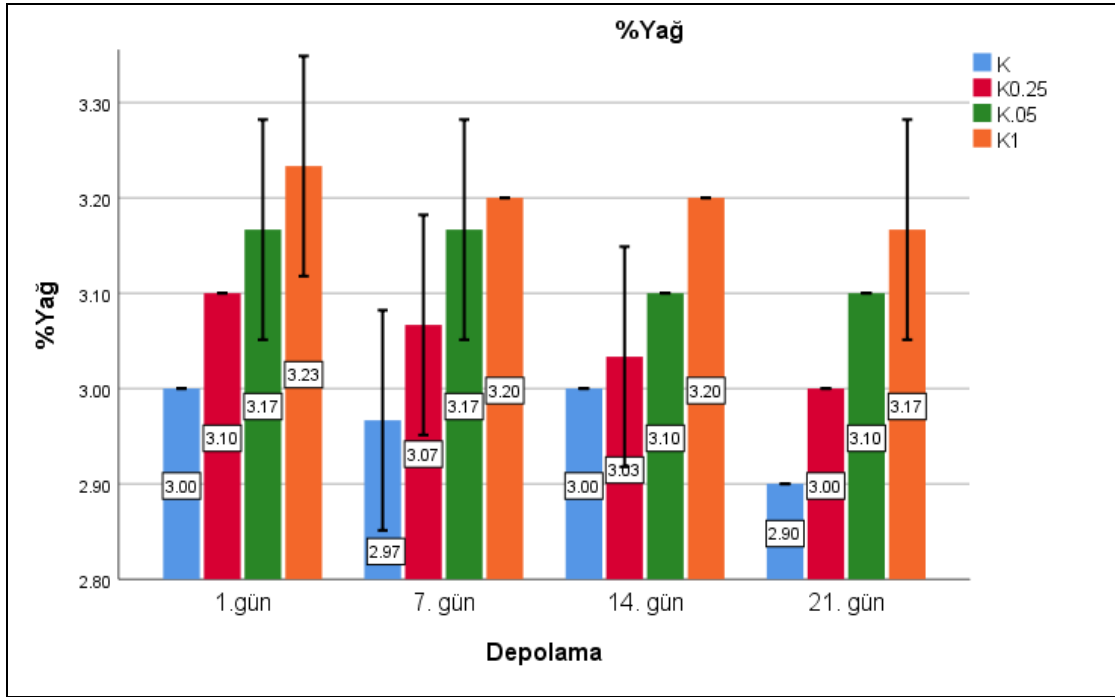
Tablo 4.5. Kefir örneklerinin yağ miktarları (%) (n=3)

Örnekler*	Depolama Süreci % Yağ			
	1. Gün	7. Gün	14.Gün	21.Gün
Kontrol	$3,00\pm0,00^{Ca}$	$2,97\pm0,058^{Cab}$	$3,00\pm0,00^{Ca}$	$2,90\pm0,00^{Cb}$
K-0.25	$3,10\pm0,00^{BCa}$	$3,07\pm0,05^{BCa}$	$3,03\pm0,05^{BCa}$	$3,00\pm0,00^{Ba}$
K-0.50	$3,17\pm0,05^{ABa}$	$3,17\pm0,05^{ABa}$	$3,10\pm0,00^{Ba}$	$3,10\pm0,00^{Aa}$
K-1	$3,23\pm0,05^{Aa}$	$3,20\pm0,00^{Aa}$	$3,20\pm0,00^{Aa}$	$3,17\pm0,06^{Aa}$

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0,25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. ($p<0,05$) a,b: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$), a: Aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemsizdir ($p>0,05$).

Kontrol grubu kefir örneklerinde yağ miktarının ortalama $\%2,90\pm0,00$ – $3,00\pm0,00$, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde ortalama $\%3,00\pm0,00$ – $3,10\pm0,00$, %0,50 AP ilaveli kefir örneklerinde ortalama $\%3,10\pm0,00$ – $3,17\pm0,05$ ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde ortalama $\%3,17\pm0,06$ – $3,23\pm0,05$ arasında değiştiği belirlenmiştir. En düşük yağ miktarı depolamanın 21. gününde kontrol grubu kefirde $\%2,90\pm0,00$ olarak tespit edilmiştir. En yüksek yağ içeriği ise depolamanın 1. gününde K-1 örneğinde $\%3,23\pm0,05$ olarak tespit edilmiştir.

K-0.25, K-0.50 ve K-1 arı poleni katkılı kefir örneklerinin yağ miktarı, genel olarak kontrol grubundan daha yüksektir ($p<0,05$). Bu artış arı polenin yüksek oranda yağ içermesinden kaynaklanmaktadır. Depolama sürecinde kefir örneklerinin yağ içeriğindeki azalma kontrol grubu hariç önemsizdir($p>0,05$).



Şekil 4.5. Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca yağ miktarlarındaki değişim (%) (n=3)

Kefirin depolama sırasındaki mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyu özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada %3,6 yağ içeriğine sahip inek sütünden hazırlanan kefirlerde 28 gün depolamanın sonucunda yağ oranının %3,23-3,59 arasında değiştiğini, bu sonuçlara göre depolama süreci boyunca yağ değerinin azaldığı bildirilmiştir (Irigoyen vd., 2005).

Yenilebilir kıvamda hazırlanarak yapılan meyveli kefirlerde yağ içeriği incelenmiş, en yüksek yağ içeriği depolamanın 1. gününde %18 çilek sosu ilave edilerek hazırlanan kefir numunesinde %3,1 olarak tespit edilmiştir. En düşük yağ içeriği ise depolamanın 15. gününde %12 frambuaz sosu ilave edilerek hazırlanan kefir numunesinde %2,2 olarak tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmaya benzer olarak araştırmacı ayrıca depolama sürecine bağlı olarak yağ içeriklerinde azalma tespit ettiğini bildirmiştir (Gizem, 2018). Bizim çalışmamızda, arı poleni ilaveli kefirlerin % yağ ve protein miktarları, arı poleni içermeyen kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur.

4.2.5. Titrasyon Asitliği

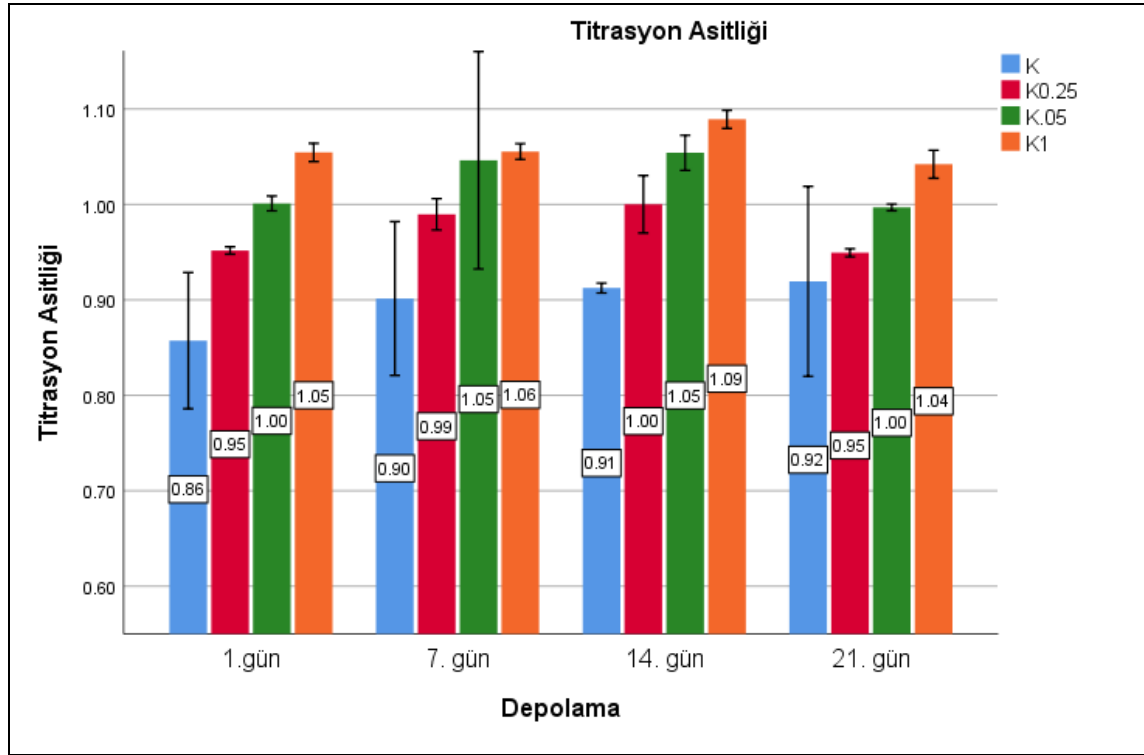
Titrasyon asitliği fermente gıdalarda mikrobiyal faaliyet sonucu meydana gelen metabolitlerden biri olan organik asitlerin ve kefir için özellikle de laktik asidin bir belirticidir. Titre edilebilir asitlik gıdada var olan asitliğin genel toplam miktarıdır. Lezzet oluşumunda, asitliğin seviyesinden çok, asit çeşidi etkilidir (Acar, 2023). Kontrol kefir grubu ile arı poleni ilaveli kefirlerin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki titrasyon asitliği g/100g laktik asit ortalamaları Tablo 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.6. Kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri (g/100g laktik asit) miktarları (%) (n=3)

Örnekler*	Depolama Süreci Titrasyon Asitliği (%Laktik Asit)			
	1. Gün	7. Gün	14.Gün	21.Gün
Kontrol	0,86±0,04^{Da}	0,90±0,04 ^{Ba}	0,91±0,00 ^{Da}	0,86±0,00 ^{Da}
K-0.25	0,95±0,00 ^{Cb}	0,99±0,01 ^{ABa}	1,00±0,02 ^{Ca}	0,95±0,00 ^{Cb}
K-0.50	1,00±0,00 ^{Ba}	1,05±0,06 ^{Aa}	1,05±0,01 ^{Ba}	1,00±0,00 ^{Ba}
K-1	1,05±0,00 ^{Ab}	1,06±0,00 ^{Ab}	1,09±0,00^{Aa}	1,04±0,01 ^{Ab}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05), a: Aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemsizdir (p>0,05).

Kontrol grubu kefir örneklerinde titrasyon asitliğinin 0,86±0,04-0,91±0,00 g/100g laktik asit, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde 0,95±0,00-1±0,02g/100g laktik asit, %0,50 arı poleni ilaveli kefir örneklerinde 1±0,00-1,05±0,06 g/100g laktik asit ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde 1,04±0,01-1,09±0,00 g/100g laktik asit arasında değiştiği belirlenmiştir. En düşük titrasyon asitliği depolamanın 1. gününde kontrol numunesinde 0,86±0,04 g/100g laktik asit olarak tespit edilmiştir. En yüksek titrasyon asitliği ise depolamanın 14. gününde K-1 örneğinde 1,09±0,00 g/100g laktik asit olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği’nde kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerinin minimum %0,6 olması gerektiği belirtilmiştir (Anonim, 2022).



Şekil 4.6. Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca titrasyon asitliği (g/100g laktik asit) değerindeki değişim (%) (n=3)

Arı poleni ilaveli kefirlerde, kontrol numunesine kıyasla titrasyon asitliği değerlerinde artış meydana gelmiştir ($p>0,05$). Arı poleni ilavesi arttıkça, kefir örneklerinin titrasyon asitliği de artmaktadır.

Titre edilebilir asitlik gıdada var olan asitliğin genel toplam miktarıdır. Lezzet oluşumunda, asitliğin seviyesinden çok asit çeşidi etkilidir (Acar, 2023). Piyasada ticari olarak satılan sade kefirlerle yapılan bir çalışmada titrasyon asitliğinin 0,88-0,94 g/100g laktik asit arasında değiştiği bildirilmiştir (Uslu, 2019). Yapmış olduğumuz çalışmada K-0,25, K-0,50 ve K-1 örneklerinin laktik asit içeriği sırasıyla 0,95-1,00-ve 1,05 g/100g laktik asit olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 14. gününe kadar kontrol, K-0,25 ve K-1 örneklerinin titrasyon asitlik değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Kefir üretiminde arı poleni ilave edildiği zaman fermentasyon esnasında kefir mikrobiyotası tarafından arı polenin hem karbon kaynağı olarak kullanıldığı hem de içerdiği var olan diğer bileşenler sayesinde laktik asit bakterilerinin gelişimine olumlu yönde etki ettiği ve bununla beraber asitliğinin arttığı düşünülmektedir (Bourrie vd., 2020).

4.2.6. pH Değeri

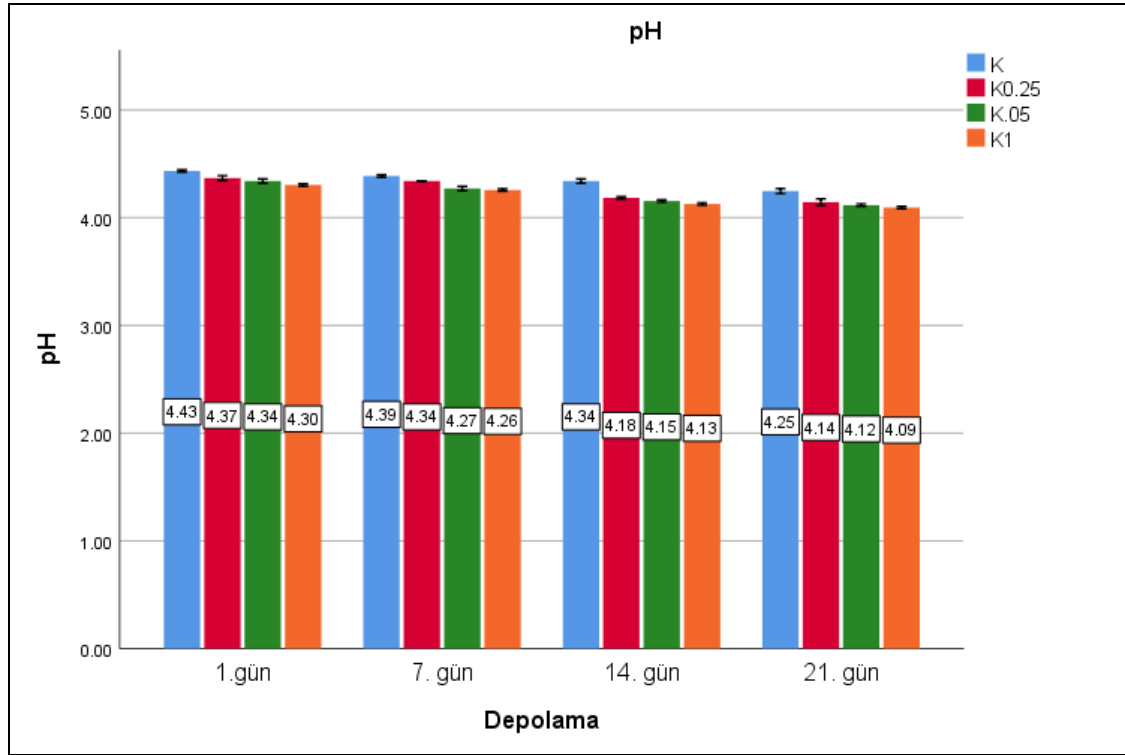
Gıdaların analizlerinde önemli bir kalite kriteri olan pH değeri, gıdadaki serbest hidrojen iyon aktivitesinin bir göstergesi olup asitliğin kuvvetini tanımlamaktadır. Kefir üretimi esnasında fermentasyonun sonlanması pH 4,5-4,6'da gerçekleşmektedir. İlerleyen süreçte kefirin depolanması sürecinde pH değerlerinde saptanan değişimler, kefirin raf ömründe ve depolama sürecinde meydana gelen düşük hızdaki fermentasyon biyokimyasının bir göstergesi olmaktadır. Kontrol kefir grubu ile arı poleni ilaveli kefirlerin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) 4 ± 1 °C'de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki pH ortalamaları Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Kefir örneklerinin pH değerleri (%) (n=3)

Örnekler*	Depolama Süreci pH			
	1. Gün	7. Gün	14. Gün	21. Gün
Kontrol	$4,43\pm 0,01^{Aa}$	$4,39\pm 0,01^{Ab}$	$4,34\pm 0,01^{Ac}$	$4,25\pm 0,01^{Ad}$
K-0.25	$4,37\pm 0,01^{Ba}$	$4,34\pm 0,00^{Bb}$	$4,18\pm 0,01^{Bc}$	$4,14\pm 0,02^{Bd}$
K-0.50	$4,34\pm 0,01^{Ca}$	$4,27\pm 0,01^{Cb}$	$4,15\pm 0,01^{Cc}$	$4,12\pm 0,01^{BCd}$
K-1	$4,30\pm 0,01^{Da}$	$4,26\pm 0,01^{Cb}$	$4,15\pm 0,01^{Dc}$	$4,09\pm 0,01^{Cd}$

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,2 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05).

Kontrol grubu kefir örneklerinde pH değeri $4,25\pm 0,01$ - $4,43\pm 0,01$ arasında saptanırken, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde $4,14\pm 0,02$ - $4,37\pm 0,01$, %0,50 arı poleni ilaveli kefir örneklerinde $4,12\pm 0,01$ - $4,34\pm 0,01$ ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde $4,09\pm 0,01$ - $4,30\pm 0,01$ arasında değiştiği tespit edilmiştir. En düşük pH depolamanın 1. gününde kontrol grubu kefir örneğinde $4,43\pm 0,01$ olarak tespit edilmiştir. En yüksek pH değeri ise depolamanın 21. gününde K-1 örneğinde $4,09\pm 0,01$ olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca pH değerindeki değişim (%) (n=3)

Arı poleni ilaveli kefir örneklerinin, kontrol numunesine kıyasla pH değerlerinde düşüş meydana gelmiştir. İstatistiksel olarak, kefir örnekleri ve depolama süreleri boyunca elde edilen pH değerleri arasındaki fark anlamlıdır ($p < 0,05$).

Zenginleştirilmiş kefirin pH değeri, kefirin tadını, dokusunu ve genel kalitesini etkileyebilen çok önemli bir parametredir. Araştırmalar kefirin pH değerinin fermantasyon süreci, depolama koşulları ve çeşitli zenginleştirici maddelerin eklenmesi gibi faktörlere bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir. Örneğin, kefire keten tohumu müsilağı ve arap zıncı eklenmesinin numunelerin pH'ını önemli ölçüde düşürdüğü tespit edilmiştir, bu da katkı maddelerinin ürünün asitliği üzerinde potansiyel bir etkisi olduğunu göstermektedir (Alhssan vd., 2023). Benzer şekilde, kefire bakliyat bileşenlerinin dahil edilmesinin depolama sırasında pH'da doğrusal bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (Saadi vd., 2017). Dahası, kefirin pH'ı içerisine eklenen üründe de etkilenebilir. Örneğin, elma ve limon lifi ile zenginleştirilmiş kefir, depolama sırasında pH değerlerinde değişiklikler göstererek bu zenginleştirici maddelerin nihai ürünün asitliği üzerindeki etkisini ortaya koymuştur (Goncu vd., 2017). Buna ek olarak, zeytin yaprağı ekstraktı ile zenginleştirilmiş

kefirlerde, depolama sırasında pH'da bir düşüş tespit edilmiştir, bu da ekstrakt ile pH seviyelerini etkileyen fermentasyon süreci arasında potansiyel bir etkileşime işaret etmektedir (Okur, 2022). Arı poleni ilaveli ve ilavesiz kefirlerde de depolama süresince pH değerinde düşüş gözlemlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada, farklı kuru madde içeriğine sahip sütlerden starter kültür ve dane ile üretilen set tipi kefir örneklerinde pH incelenmiş, starter kültür kullanılarak üretilen kefirlerin depolama boyunca pH değerlerinin düştüğü bildirilmiştir (Ünal, 2013).

Yapılan bir başka çalışmada, farklı oranlarda propolis ekstraktının ilave edilen kefiirlere örneklerinin pH değerleri incelenmiş, depolama süreci boyunca pH değerleri 3,96 ile 4,10 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca kefir örneklerinin depolama boyunca pH değerlerinin düştüğü ifade edilmiştir (Bengi, 2022).

4.2.7. Renk Analizi

Renk, tüketicilerin gıdaların kabulü veya reddedilmesinde bir kriter olarak değerlendirdiği ve kullandığı ana parametrelerden biridir. Son yıllarda dijital görüntüleme gıda endüstrisinde meyve ve sebzelerin, et, balık, unlu mamuller ve hazır gıdaların kalite değerlendirmesi, kusurların tespiti, tanımlanması ve sınıflandırılması için kullanılmaktadır (Afshari-Jouybari ve Farahnaky, 2011). Kontrol kefir grubu ile arı poleni ilaveli kefirlerin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) 4 ± 1 °C'de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki L*, a*, b*, değerleri Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Kefir örneklerinin L*, a*, b* değerleri (n=3)

Örnek*	Depolama Süreci	L*	a*	b*
Kontrol	1. Gün	91,25±0,09 ^{Ab}	-2,16±0,01^{Dd}	8,22±0,04 ^{Db}
	7. Gün	91,34±0,02 ^{Ab}	-1,89±0,08 ^{Dc}	7,98±0,28^{Db}
	14.Gün	92,82±0,09 ^{Aa}	-1,07±0,00 ^{Da}	9,48±0,03 ^{Da}
	21.Gün	92,84±0,08^{Aa}	-1,18±0,00 ^{Db}	9,67±0,04 ^{Da}
K-0.25	1. Gün	89,35±0,06 ^{Bc}	-0,50±0,02 ^{Cc}	14,18± 0,01 ^{Ca}
	7. Gün	89,64±0,10 ^{Bb}	-0,71±0,01 ^{Cd}	13,76± 0,04 ^{Cb}
	14.Gün	91,30±0,12 ^{Ba}	-0,28±0,02 ^{Ca}	12,86± 0,07 ^{Cd}
	21.Gün	91,17±0,04 ^{Ba}	-0,36±0,01 ^{Cb}	13,32±0,04 ^{Cc}
K-0.50	1. Gün	88,21± 0,06 ^{Cb}	0,22±0,06 ^{Bc}	17,19± 0,10 ^{Ba}
	7. Gün	88,09± 0,01 ^{Cb}	0,24±0,01 ^{Bbc}	17,21± 0,03 ^{Ba}
	14.Gün	89,91± 0,05 ^{Ca}	0,44±0,02 ^{Ba}	15,47± 0,03 ^{Bc}
	21.Gün	89,91±0,04 ^{Ca}	0,31±0,01 ^{Bb}	15,98±0,04 ^{Bb}
K-1	1. Gün	86,31± 0,10 ^{Dc}	1,33±0,03^{Aa}	21,41±0,13 ^{Aa}
	7. Gün	86,23± 0,01^{Dc}	1,22±0,01 ^{Ab}	21,02± 0,01 ^{Ab}
	14.Gün	88,08± 0,01 ^{Da}	1,09±0,02 ^{Ac}	19,04± 0,04 ^{Ad}
	21.Gün	87,80±0,09 ^{Db}	0,92±0,01	19,37±0,05^{Ac}

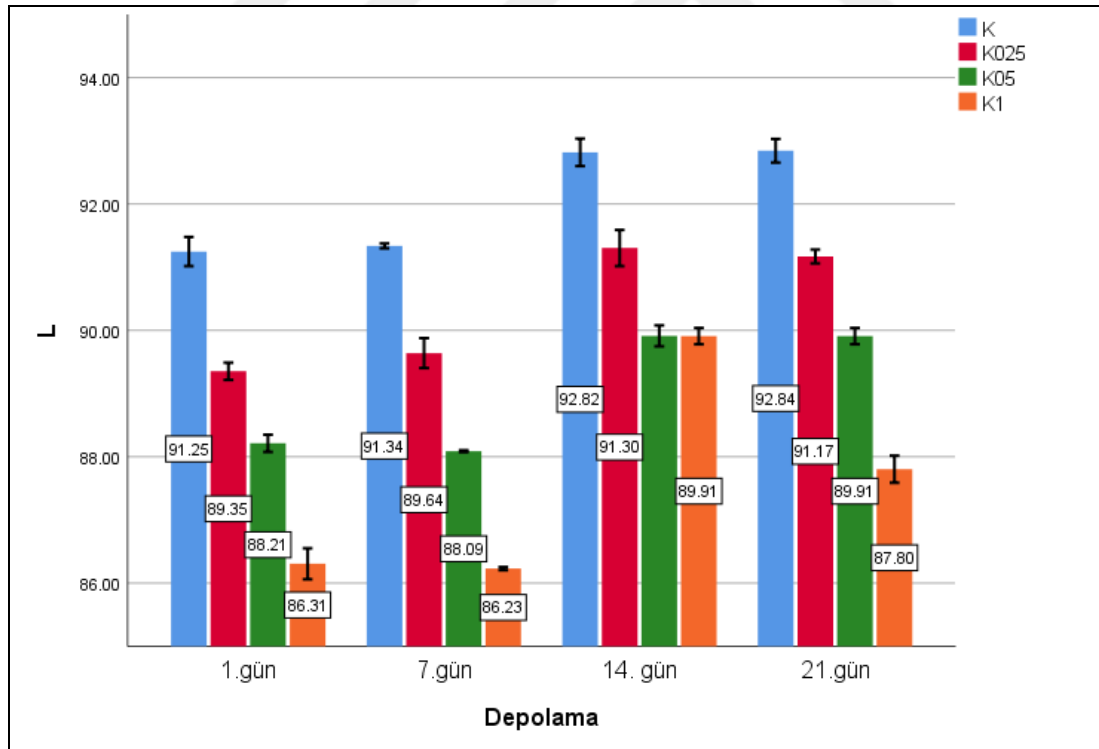
*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C, D, a, b, c, d: Aynı sütunda farklı büyük ve küçük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05). Büyük harfler numuneler arasındaki, küçük harfler günler arasındaki farkı göstermektedir.

Fermente bir süt ürünü olan kefirin rengi, bileşimine ve işlenmesine bağlı olarak değişebilmektedir. Çalışmalar, kefirin çeşitli renk özelliklerine sahip olabileceğini göstermiştir (Setyawardani vd., 2020). Fermantasyon sırasında farklı meyve ve sebzelerin eklenmesi de kefirin rengini etkileyebilmektedir ve farklı bileşenlerle hazırlanan su kefirlerinde renk farklılıkları bildirilmiştir (Güzel-Seydim vd., 2000). Kefir tanelerinin kendileri de farklı renklere sahip olabilir, bazı çalışmalarda sarı taneler kaydedilmiştir (Sulmiyati vd., 2019)(Bengi vd., 2023). Ayrıca, kefir üretiminde meyveler veya diğer katkı maddeleri kullanıldığında, bunlar nihai ürünün renk özelliklerini etkileyebilir (Montibeller vd., 2018). Kefirin rengi sadece bileşenlerinden değil, aynı zamanda fermantasyon

sürecinden ve depolama koşullarından da etkilenir. Örneğin, ışığa maruz kalma kefirin rengini etkileyebilir; kefire uygulanan üzüm kabuğundan elde edilen antosiyaninleri içeren karbonatlı suyun rengi üzerinde ışığın olumsuz etkileri olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Montibeller vd., 2018). Ayrıca, kefir üretiminde kullanılan süt türü duyu ve renk özelliklerini etkileyebilir; manda sütünün inek sütüne kıyasla bu özellikleri iyileştirdiği bildirilmiştir (Tomar ve Akarca, 2018). Arı poleni ilavesi, kefir örneklerinin renk özelliklerini değiştirmiştir.

4.2.7.1. L* Renk Değeri

Uluslararası Aydınlatma Komisyonunun (CIE) standartları kapsamında L* değeri analiz yapılan örneklerde aydınlığın göstergesi olup, sayısal değeri 0–100 arasında değişmekte ve ‘0’ siyah rengi ‘100’ ise beyaz rengi tanımlamaktadır (Afshari-Jouybari ve Farahnaky, 2011).



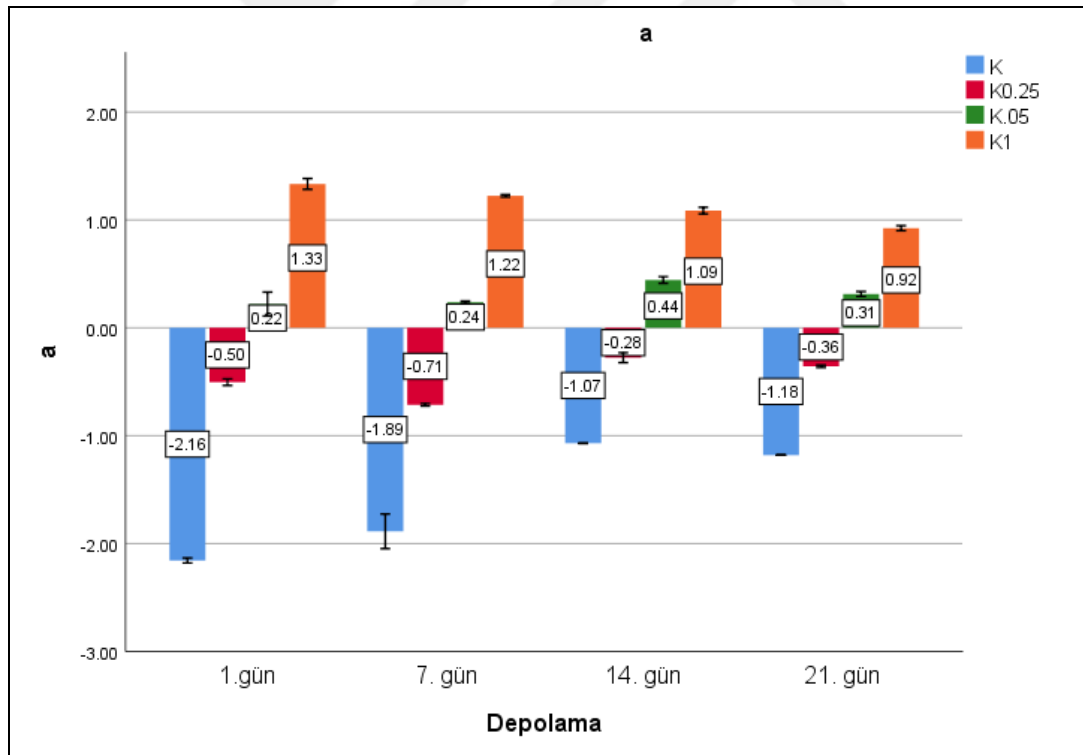
Şekil 4.8. Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca L* değerindeki değişim (n=3)

Kontrol grubu kefir örneklerinde L* değeri $91,25 \pm 0,09$ - $92,84 \pm 0,08$ arasında saptanırken, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde $89,64 \pm 0,10$ - $91,30 \pm 0,12$, %0,50 arı poleni ilaveli kefir

örneklerinde $88,21 \pm 0,06$ - $89,91 \pm 0,05$ ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde $86,23 \pm 0,01$ - $88,08 \pm 0,01$ arasında değiştiği tespit edilmiştir. En düşük L^* $86,23 \pm 0,01$ (7. gün K-1), en yüksek L^* ise $92,84 \pm 0,08$ bulunmuştur. İstatistiksel olarak, kefir örnekleri arasındaki fark anlamlıdır ($p < 0,05$).

4.2.7.2. a^* Renk Değeri

CIE standartların da a^* değeri (+) pozitif ve (-) negatif değerlerle gösterilmektedir, (+) değerler kırmızı (-) değerler yeşil renk değişimi ifade etmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada a^* değerleri kontrol grubu ve K-0,25 örneklerinde negatif, K-0,50 ve K-1 kefir örneklerinde ise pozitif bulunmuştur. Örnekler renk açısından incelendiğinde arı poleni ilaveli kefirlerin renk skalasının kırmızıya daha yakın olduğu görülmektedir.



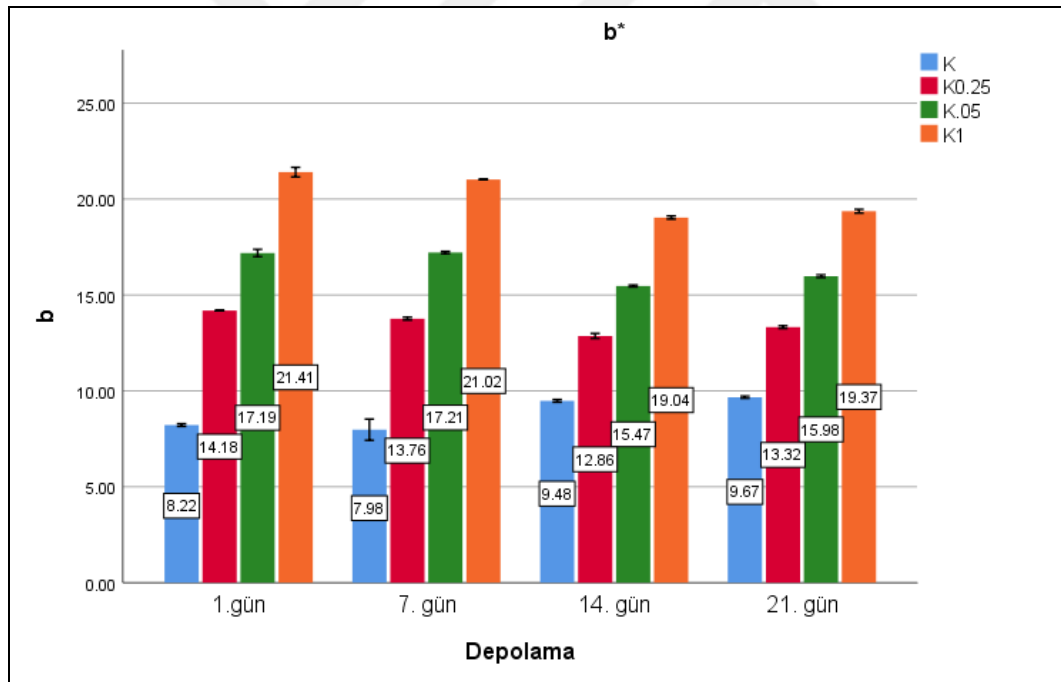
Şekil 4.9. Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca a^* değerindeki değişim (%) ($n=3$)

Kontrol grubu kefir örneklerinde a^* değeri $-2,16 \pm 0,01$ - $-1,07 \pm 0,00$ arasında saptanırken, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde $-0,71 \pm 0,01$, %0,50 arı poleni ilaveli kefir

örneklerinde $0,22 \pm 0,06$ - $0,44 \pm 0,02$ ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde $0,92 \pm 0,01$ - $1,33 \pm 0,03$ arasında değiştiği tespit edilmiştir. En düşük a^* $-2,16 \pm 0,01$ (1. gün K), en yüksek a^* ise $1,33 \pm 0,03$ bulunmuştur. İstatistiksel olarak, kefir örnekleri ve depolama günleri arasındaki fark anlamlıdır ($p < 0,05$).

4.2.7.3. b^* Renk Değeri

Uluslararası Aydınlatma Komisyonunun standartlarında b^* ifadesi ise benzer şekilde pozitif ve negatif değerler alabilmektedir. Pozitiflik sarı rengi ifade ederken negatiflikse mavi renk değişimini tanımlamaktadır. Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda elde edilen b^* değerleri pozitif olmakla birlikte, arı poleni ilave edilmiş kefirlerde sade kefire oranla b^* değeri daha yüksek seviyede bulunmuştur. Arı polenleri örnekler incelendiğinde bu durumun gerçekleşmesi normal olarak kabul edilebilir.



Şekil 4.10. Kefir örneklerinin depolama süreci boyunca b^* değerindeki değişim (%) ($n=3$)

Kontrol grubu kefir örneklerinde b^* değeri $7,98 \pm 0,28$ - $9,67 \pm 0,04$ arasında saptanırken, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde $12,86 \pm 0,07$ - $14,18 \pm 0,01$, %0,50 arı poleni ilaveli kefir örneklerinde $15,47 \pm 0,03$ - $17,21 \pm 0,03$ ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde $19,04 \pm 0,04$ - $21,41 \pm 0,13$ arasında değiştiği tespit edilmiştir. En düşük b^* $7,98 \pm 0,28$ (7. gün K), en

yüksek b^* ise $21,41 \pm 0,13$ (1. gün K1) bulunmuştur. İstatistiksel olarak, kefir örnekleri ve depolama günleri arasındaki fark anlamlıdır ($p < 0,05$).

4.2.8. Duyusal Analiz

Kontrol kefir ve farklı konsantrasyonlarda arı poleni ilave edilerek hazırlanan kefir örnekleri belirleyici test uygulanarak 10 panelist tarafından duyusal olarak değerlendirilmiş, elde edilen veriler kalite parametrelerine göre ele alınmıştır.

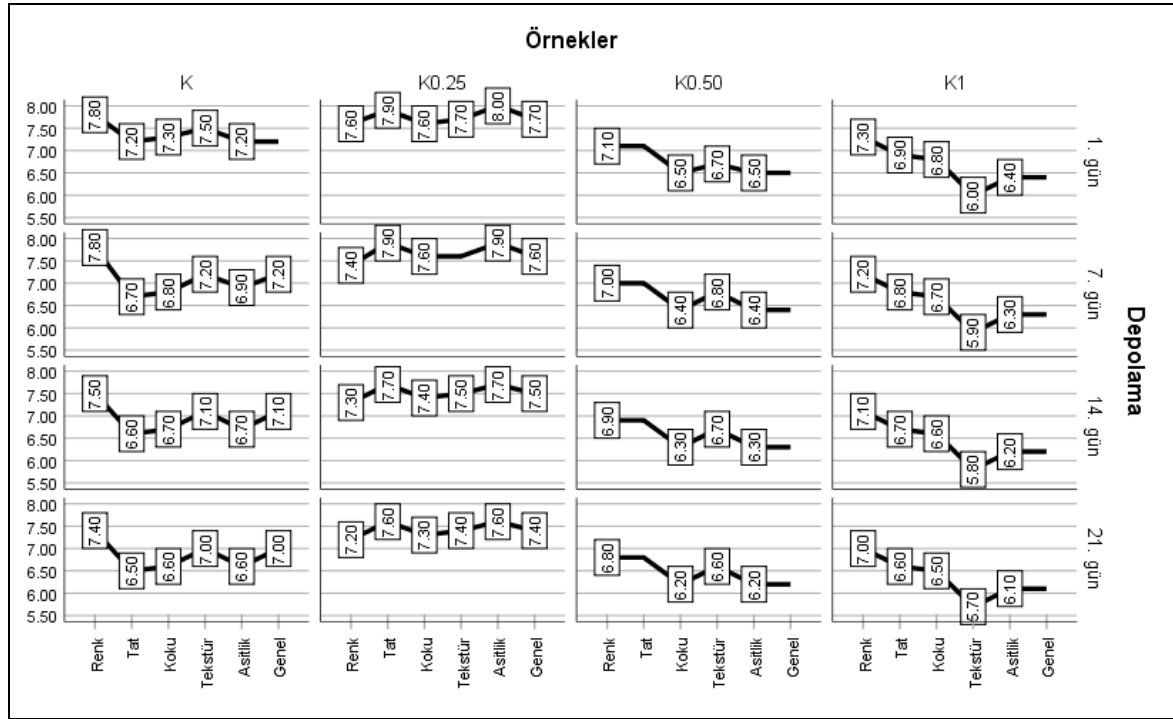
Çalışma kapsamında elde edilen kefir numunelerinin depolama boyunca belirlenen duyusal parametreleri Tablo 4.9’da verilmiştir. Bu tablo, belirli depolama süreleri boyunca farklı arı poleni konsantrasyonlarına sahip kefir örneklerinin organoleptik özelliklerini değerlendirmektedir. Organoleptik özellikler, ürünlerin tüketici tarafından algılanan duyusal özellikleridir ve genellikle renk ve görünüş, koku, tat, tekstür gibi faktörleri içerir. Depolamanın 1. ve 21. günler arasında bütün kefir örnekleri çalışma kapsamında değerlendirilen duyusal parametreler (renk ve görünüş, koku, tat, tekstür, asitlik ve genel beğeni) açısından panelistlerden istatistiksel olarak benzer puanlar almışlardır ($p > 0,05$). Depolama süresi boyunca %0,25 arı poleni ekstraktı (K-0,25) ilave edilen kefir örneklerinin renk ve görünüş, koku, tat, tekstür, asitlik ve genel kabul edilebilirlik puanları kontrol grubu ile benzer bulunmuş ($p > 0,05$) iken, %0,5, 1 (K-0,5 ve K-1) arı poleni ilaveli kefir örnekleri koku, tekstür, asitlik ve genel beğeni parametreleri açısından kontrol grubundan daha düşük puanlar almışlardır ($p < 0,05$). Koku parametresi açısından kontrol grubu ve K-1 grubu kefir örneğinin aldığı puanlar istatistiksel olarak birbirine benzerdir. Genel beğeni açısından en düşük puanı en fazla polen ekstraktı içeren K-0,5 ve K-1 grubu kefir örnekleri almıştır.

Depolamadan bağımsız olarak arı poleni ekstraktı ilavesinin kefir örneklerinin duyusal özellikleri üzerine etkisine bakıldığında renk ve görünüş, koku ve tat parametreleri açısından arı poleni ekstraktı ilavesinin kontrol grubuna kıyasla önemli değişiklik meydana getirmediği ($p > 0,05$), tekstür, asitlik ve genel beğeni açısından K-0,5 ve K-1 grubu örneklerin kontrol grubuna oranla düşük puanlar aldığı ve %0,25 arı poleni ekstraktı ilavesi kadar kefir örneklerinin genel beğeni puanlarının kontrol grubuna benzer olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.9. Kefir örneklerinin duyusal analiz parametre sonuçları

Örnekler *	Depolama Süreci	Renk ve Görünüş	Koku	Tat	Tekstür	Asitlik	Genel
Kontrol	1. Gün	7,8±1,0	7,3±0,8	7,2±0,9	7,5±1,1	7,2±0,63	7,2±0,6
	7. Gün	7,8±1,0	6,8±0,6	6,7±1,2	7,2±1,1	6,9±1,0	7,2±1,0
	14. Gün	7,5±1,1	6,7±0,7	6,6±1,1	7,1±1,3	6,7±1,6	7,1±1,2
	21. Gün	7,4±1,0	6,6±0,5	6,5±0,7	7±1,0	6,6±1,1	7±1,1
K-0,25	1. Gün	7,6±1,1	7,6±0,8	7,9±1,0	7,7±0,8	8±0,8	7,7±0,8
	7. Gün	7,4±1,4	7,6±0,8	7,9±1,0	7,6±0,8	7,9±1,1	7,6±1,0
	14. Gün	7,3±1,4	7,4±1,0	7,7±1,2	7,5±1,0	7,7±1,2	7,5±1,2
	21. Gün	7,2±1,4 ^{Aa}	7,3±1,0 ^{Aa}	7,6±1,1 ^{Aa}	7,4±0,9 ^{Aa}	7,6±1,1 ^{Aa}	7,4±1,1 ^{Aa}
K-0,5	1. Gün	7,1±0,7	6,5±0,9	7,1±0,7	6,7±0,7	6,5±1,0	6,5±1,0
	7. Gün	7±0,7	6,4±1,0	7±0,9	6,8±0,8	6,4±1,0	6,4±1,0
	14. Gün	6,9±0,7	6,3±1,1	6,9±0,9	6,7±1,0	6,3±1,0	6,3±1,0
	21. Gün	6,8±0,6	6,2±1,1	6,8±0,9	6,6±1,	6,2±0,9	6,2±0,9
K-1	1. Gün	7,3±0,7	6,8±0,8	6,9±0,7	6±0,8 ^{Ba}	6,4±0,9	6,4±1,0
	7. Gün	7,2±0,8	6,7±0,7	6,8±0,8	5,9±0,7	6,3±0,8	6,3±0,8
	14. Gün	7,1±0,7	6,6±0,7	6,7±0,7	5,8±0,8	6,2±0,8	6,2±0,8
	21. Gün	7,6±0,7	7,1±0,7	7,4±0,8	6,4±0,7	6,6±0,7	6,8±0,7

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0,25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0,50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli..



Şekil 4. 11.Kefir örneklerinin duysal analiz sonuçlarının depolama süresince değişimi

4.3. Kefirlerde Toplam Fenolik Madde Miktarı

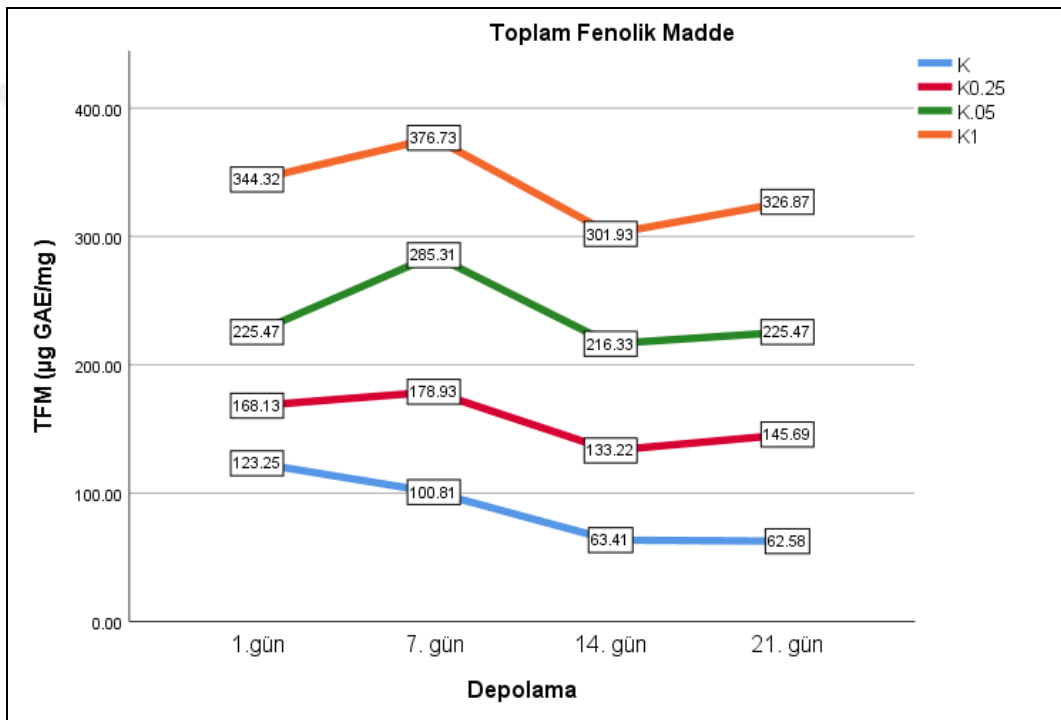
Kefir örneklerinin toplam fenolik madde miktarı Tablo 4.10’da verilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı $62,58 \pm 2,5$ (Kontrol, 21. gün)- $376,73 \pm 4,3$ (K-1, 7. gün) $\mu\text{g GAE/mg}$ aralığında bulunmuştur.

Tablo 4.10. Kefir örneklerinin toplam fenolik madde değerleri ($\mu\text{g GAE/mg}$)

Depolama Süreci	Kontrol	K-0.25	K-0,50	K-1
1. Gün	$123,25 \pm 7,2^{\text{Da}}$	$168,13 \pm 5,2^{\text{Cab}}$	$225,47 \pm 6,3^{\text{Bb}}$	$344,32 \pm 6,6^{\text{Aab}}$
7. Gün	$100,81 \pm 5,2^{\text{Db}}$	$178,93 \pm 2,9^{\text{Ca}}$	$285,31 \pm 5,2^{\text{Ba}}$	$376,73 \pm 4,3^{\text{Aa}}$
14. Gün	$63,41 \pm 3,8^{\text{Dc}}$	$133,22 \pm 16,0^{\text{Cc}}$	$216,33 \pm 20,9^{\text{Bb}}$	$301,93 \pm 13,9^{\text{Ac}}$
21. Gün	$62,58 \pm 2,5^{\text{Dc}}$	$145,69 \pm 16,2^{\text{Cbc}}$	$225,47 \pm 21,2^{\text{Bb}}$	$326,87 \pm 19,8^{\text{Abc}}$

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C, D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05).

Kontrol grubu kefir örneklerinde toplam fenolik madde değeri $62,58 \pm 2,5$ - $123,25 \pm 7,2$ μg GAE/mg arasında saptanırken, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde $133,22 \pm 16,0$ - $178,93 \pm 2,9$, %0,50 μg GAE/mg arı poleni ilaveli kefir örneklerinde $216,33 \pm 20,9$ - $285,31 \pm 5,2$ μg GAE/mg ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde $301,93 \pm 13,9$ - $376,73 \pm 4,3$ μg GAE/mg arasında değiştiği tespit edilmiştir. Kefir örneklerine arı poleni ekstraktı ilavesi arttıkça, kefirlerin fenolik madde miktarı da artmaktadır. Toplam fenolik madde arı poleni ekstraktı ilaveli kefirlerde en yüksek depolamanın yedinci gününde olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel olarak, kefir örnekleri ve depolama günleri arasındaki fark anlamlıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4.12. Kefir örneklerinin toplam fenolik madde (μg GAE/mg) miktarlarının depolama süresince değişimi

Kefirin, toplam fenolik içeriği, antioksidan özelliklerini ve potansiyel sağlık faydalarını belirlemede oldukça önemlidir. Çalışmalar, kefirin toplam fenolik içeriğinin fermentasyon parametreleri, süt kaynakları ve depolama koşulları gibi farklı özelliklere bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir.

Kefir üretimi için süt kaynağı seçimi de toplam fenolik içeriğin (TPC) belirlenmesinde rol oynayabilir. İnek sütü ve eşek sütü gibi farklı süt kaynaklarından yapılan kefirler arasında yapılan bir karşılaştırma, nihai ürünlerin TPC ve antioksidan aktivitelerinde farklılıklar

olduğunu ortaya koymuştur (Gün, 2022; Vet vd., 2020). Ek olarak, geleneksel fermantasyon yöntemlerini takiben yoğurt ve kefirin antioksidan aktivitelerini ve fenolik içeriklerini karşılaştıran çalışmalarda görüldüğü gibi, fermantasyon sürecinin kendisi de TPC'yi etkileyebilir (Taşkın ve Bağdatlıoğlu, 2020). Ayrıca, farklı meyvelerden yapılan su kefir gibi kefir türü de TPC'yi etkileyebilir. Örneğin, Trabzon hurması su kefirinin mandalina su kefirine kıyasla daha yüksek TPC'ye sahip olduğu bulunmuştur, bu da meyve seçiminin kefirin fenolik içeriği üzerindeki potansiyel etkisini göstermektedir.

Bir çalışmada, çimlenmiş ve çimlenmemiş buruşuk kahverengi mercimekler, kefir içeceği üretimi sırasında fonksiyonel bileşenler olarak kullanılmıştır. Filizlenen mercimek ile hazırlanan kefirlerin TPC miktarı $142,9 \pm 1$ bulunurken, çimlenmemiş mercimek katkılı kefirin TPC miktarı $110,4 \pm 0,9$ mg GAE/100 g olarak belirlenmiştir (Gunenc vd., 2017). Bizim çalışmamızda %0,5 ve %1 arı poleni katkılı kefirlerin TPC içeriği bu değerlerden daha yüksek olarak belirlenmiştir.

Saadi vd., (2017)'nin yapmış olduğu bir çalışmada, faba fasulyesi (tüm, gövde, kotiledon) ve nohut (tüm, müsülaj) eklenen kefir örneklerinin TPC içeriğinin eklenen ürüne ve eklendiği kısma bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir.

Perna vd., (2019) tarafından yapılan çalışmada, bal (30% w/v) ve *Rosmarinum officinalis* esansiyel yağı (0,15% w/v) ile zenginleştirilmiş kefirin toplam fenolik içeriği (TPC) ve antioksidan aktivitesi, buzdolabında saklama süresince analiz edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise arı poleninin, kefirin TPC miktarı ve antioksidan aktivitesine etkisi incelenmiştir.

Kefirin çeşitli katkı maddeleriyle veya farklı işleme yöntemleriyle zenginleştirilmesi, nihai ürünün toplam fenolik içeriğini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Bir çalışmada, keçi sütü kefirine *Moringa oleifera* yaprak tozu gibi bileşenlerin eklenmesinin toplam fenolik içeriği (TPC) artırdığı ve depolama sürecinde de TPC' nin 14. güne kadar arttığı tespit edilmiştir (Wulansari vd., 2022). Bizim çalışmamızda da, arı poleni katkılı kefirlerin TPC içeriği, katkısız olan kontrol numunesine kıyasla daha yüksek bulunmuştur.

Benzer şekilde, kefirin %0,150, 0,225, 0,300 oranlarında propolis özütü ile zenginleştirilmesi sonucu, kefirlerin TPC depolama süreleri ve kefirlerin TPC değerlerindeki artış izlenmiştir. Kefirlerin TPC değerleri 11,55-13,98 mg GAE/ 100 ml olarak belirlenmiştir. Kefirlerin TPC değerleri, eklenen propolis özütü miktarı arttıkça yükselmektedir. Aynı çalışmada 1., 4. ve 8. günlerde depolamanın TPC'ye olan etkisi değerlendirilmiş olup, depolama süresi arttıkça, kefirlerin TPC miktarlarının azaldığı belirlenmiştir (Bengi vd., 2023).

4.4. Kefir Ekstraktlarının Antioksidan Tayin Sonuçları

Kontrol kefir grubu ile arı poleni ilaveli kefirlerin (K-0.25, K-0.50 ve K-1) 4 ± 1 °C'de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) antioksidan aktivite tayini ve FRAP (Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü) Tablo 4.11' ve Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Kefir örneklerinin DPPH değerleri (n=3)

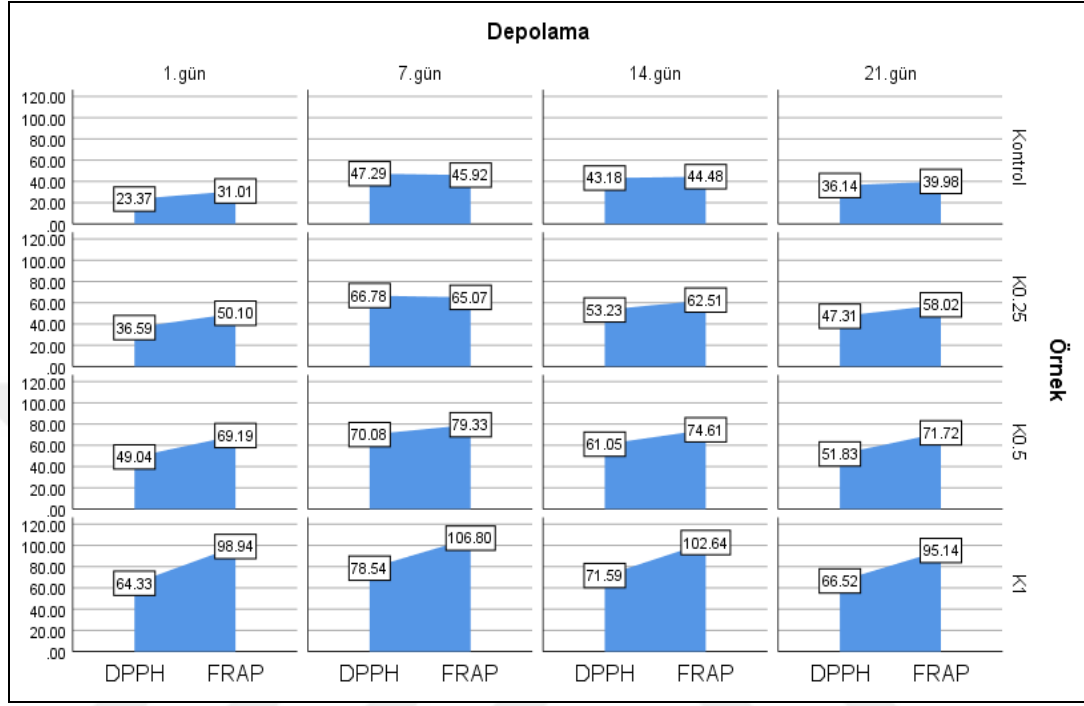
Depolama Süreci	Kontrol	K-0.25	K-0.50	K-1
1. Gün	23,65$\pm$1,6^{Dd}	36,59 $\pm$ 0,9 ^{Cd}	49,04 $\pm$ 1,1 ^{Bd}	64,33 $\pm$ 1,3 ^{Ac}
7. Gün	47,29 $\pm$ 0,8 ^{Da}	66,78 $\pm$ 1,3 ^{Ca}	70,08 $\pm$ 1,1 ^{Ba}	78,54$\pm$ 0,8^{Aa}
14. Gün	43,18 $\pm$ 0,2 ^{Db}	53,23 $\pm$ 0,4 ^{Cb}	61,05 $\pm$ 0,9 ^{Bb}	71,59 $\pm$ 2,1 ^{Ab}
21. Gün	36,14 $\pm$ 1,0 ^{Dc}	47,31 $\pm$ 1,3 ^{Cc}	51,83 $\pm$ 0,6 ^{Bc}	66,52 $\pm$ 0,8 ^{Ac}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05).

Tablo 4.122. Kefir örneklerinin FRAP değerleri (n=3)

Depolama Süreci	Kontrol	K-0.25	K-0.50	K-1
1. Gün	31,01$\pm$ 3,1^{Dc}	50,10 $\pm$ 2,8 ^{Cb}	69,19 $\pm$ 3,5 ^{Bb}	98,94 $\pm$ 3,1 ^{Aab}
7. Gün	45,92 $\pm$ 0,8 ^{Da}	65,07 $\pm$ 1,3 ^{Ca}	79,33 $\pm$ 1,8 ^{Ba}	106,80 $\pm$2,8^{Aa}
14. Gün	44,48 $\pm$ 2,7 ^{Dab}	62,51 $\pm$ 4,5 ^{Ca}	74,61 $\pm$ 4,5 ^{Bab}	102,64 $\pm$ 1,4 ^{Aab}
21. Gün	39,98 $\pm$ 0,4 ^{Db}	58,02 $\pm$ 1,5 ^{Ca}	71,72 $\pm$ 1,6 ^{Bab}	95,14 $\pm$ 5,1 ^{Ab}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05).



Şekil 4.13. Kefir örneklerinin antioksidan aktivite (DPPH ve FRAP) sonuçlarının depolama süresince değişimi (µgTE/g)

Kefir örneklerinin DPPH antioksidan aktivite değerleri $23,65 \pm 1,6$ (Kontrol, 1. gün)- $78,54 \pm 0,8$ (K-1, 7. gün) µgTE/g aralığında bulunmuştur. Kontrol grubu kefir örneklerinde DPPH değeri $23,65 \pm 1,6$ - $47,29 \pm 0,8$ µgTE/g, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde $36,59 \pm 0,9$ - $66,78 \pm 1,3$ (µgTE/g), %0,50 arı poleni ilaveli kefir örneklerinde $49,04 \pm 1,1$ - $70,08 \pm 1,1$ µgTE/g ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde $64,33 \pm 1,3$ - $78,54 \pm 0,8$ µgTE/g arasında değiştiği tespit edilmiştir. Arı poleni ilavesinin Kontrol numunesine kıyasla DPPH değerlerinde yükseliş meydana gelmiştir. Depolama sürecinin 7. gününde tüm grupların DPPH değerlerinde yükseliş meydana gelmiştir. Ancak ilerleyen depolama süreci boyunca örneklerin DPPH değerlerinde bir miktar azalma tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak, kefir örnekleri ve depolama günleri arasındaki fark anlamlıdır (p<0,05).

Kefir örneklerinin FRAP antioksidan aktivite değerleri $31,01 \pm 3,1$ (Kontrol, 1. gün)- $106,80 \pm 2,8$ (K-1, 7. gün) µgTE/g aralığında bulunmuştur. Kontrol grubu kefir örneklerinde

FRAP değeri $31,01 \pm 3,1$ - $45,92 \pm 0,8$ $\mu\text{gTE/g}$, %0,25 arı poleni ilaveli kefirlerde $50,10 \pm 2,8$ - $65,07 \pm 1,3$ ($\mu\text{gTE/g}$), %0,50 arı poleni ilaveli kefir örneklerinde $69,19 \pm 3,5$ - $79,33 \pm 1,8$ $\mu\text{gTE/g}$ ve %1 arı poleni ilaveli kefirlerde $95,14 \pm 5,1$ - $106,8 \pm 2,8$ $\mu\text{gTE/g}$ arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Arı poleni ilave edilen kefir örneklerinde, kontrol numunesine kıyasla FRAP değerlerinde yükseliş meydana gelmiştir. Depolama sürecinin 7. gününde tüm grupların FRAP değerlerinde yükseliş meydana gelmiştir. Ancak ilerleyen depolama süreci boyunca örneklerin FRAP değerlerinde bir miktar azalma tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak, kefir örnekleri ve depolama günleri arasındaki fark anlamlıdır ($p < 0,05$).

Kefirin antioksidanlarla zenginleştirilmesi, potansiyel sağlık yararları nedeniyle ilgi çeken bir konu olmuştur. Çalışmalar, kefirin DPPH ve ABTS gibi serbest radikalleri temizleme kabiliyetinin de gösterdiği gibi önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Ben Taheur vd., 2022).

Kefirin antioksidan aktivitesi bitki ve tarımsal gıda atık özütleriyle zenginleştirilerek artırılabilir ve bu da zenginleştirilmemiş kefire kıyasla antioksidan özelliklerin artmasına neden olmaktadır (Aiello vd., 2020).

Ayrıca kefirin antioksidan kapasitesi fermantasyon sürecinden de etkilenmektedir. Araştırmalar, kefir taneleri ile fermantasyonun DPPH radikallerinin süpürme aktivitesini olumlu yönde etkilediğini göstermiş ve bu sürecin kefirin antioksidan potansiyelini artırmadaki önemini vurgulamıştır (Yılmaz-Ersan vd., 2018).

Kefire zencefil özütü gibi özütlerin eklenmesinin, özellikle DPPH IC50 değerleri açısından antioksidan aktivitelerini artırdığı gösterilmiştir (Wulansari vd., 2020). Kefirin antioksidan potansiyeli, kefirin besin değerini ve antioksidan aktivitelerini arttırdığı tespit edilen *Arthrospira platensis* gibi spesifik bileşenlerin dahil edilmesiyle daha da artırılabilir (Üstün-Aytekin vd., 2022). Arı poleni ilaveli kefirlerin, antioksidan aktivitesi arı poleni ekstraktı ilavesi arttıkça yükselmektedir. Kefirlerin antioksidan aktiviteleri (DPPH ve FRAP) 7. günde yükselmekte, 7. günden sonra düşüş göstermektedir.

4.5. Kefir Örneklerinin Fenolik Madde İçerikleri

Kefir örneklerinin fenolik madde içeriği Tablo 4.12’de verilmiştir. Tüm kefir örneklerinde, 85 adet fenolik bileşen tayini yapılmıştır. Kefir örneklerinde, analizi yapılan 85 adet fenolik bileşenden 63 adedine hiçbir örnekte rastlanılmamıştır. 22 fenolik bileşenden, Benzoik asit, 4 hidroksi benzoik asit, salisilik asit, 3 hidroksi benzoik asit, protokateşik asit, 2,4- dihidroksi benzoik asit, homovanillik asite tüm örneklerde ve depolama süresi boyunca rastlanılmıştır. Kafeik asit, luteolin, luteolin 7-rutinosid, kuersetin 3-glukozid, isorhamnetin, astragalin, eriodictyol (3,4,5,7-Tetrahidroksiflavanon) ise arı poleni ilavesi olmayan kontrol kefir örneklerinde saptanmamış, arı poleni ilaveli kefir örneklerinde ise depolama süresi boyunca belirlenmiştir. Apigenin, naringenin sadece %1 arı poleni katkı kefir örneklerinde depolama süresince saptanmıştır. Diosmetin, %0,5 ve %1 arı poleni katkı kefir örneklerinde tespit edilmiştir. Fisetin hidrat, sadece depolamanın birinci gününde, %0,25 ve %1 arı poleni katkı kefir örneklerinde bulunmuştur. Ellagik asit depolamanın 1. ve 7. günlerinde kontrol, %0,25 ve %0,5 arı poleni katkı kefir örneklerinde, rozmarinik asit ise depolamanın 1.gününde kontrol ve %0,25 katkı kefir örneklerinde belirlenmiştir. Saptanan fenolik bileşiklerin toplamını en yüksek miktarda içeren örnek K-1 1 depolama günü örneği olup, fenolik bileşik miktarı depolama süresi boyunca azalmaktadır. Kefir örneklerinde en fazla miktarda bulunan fenolik bileşen benzoik asit olmuştur. Arı poleni katkı kefirler, kontrol numunesine kıyasla daha fazla miktarda fenolik madde içermekte olup, sonuçlar Toplam Fenolik Madde Tayini ve antioksidan madde tayini analizleri ile uyumludur.

Tablo 4.13. devam ediyor

		1. gün				7. gün				14. gün				21. gün			
	Fenolikler	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1
31	Apigenin (5,7-Dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one)	nd	nd	nd	13,9±0,39 Aa	nd	nd	nd	5,6±0,73ABa	nd	nd	nd	1,9±0,00Ba	nd	nd	nd	7,9±0,94ABa
32	Acacetin (5,7-Dihydroxy-2-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
33	Rhoifolin (Apigenin 7-O- neohesperidoside)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
34	Vicenin 2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
35	Apigenin 7-glucuronide	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
36	Apigenin 7-glucoside	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
37	Genkwanin(4',5-Dihydroxy-7-methoxyflavone, Apigenin 7-O-methyl ether)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
38	Apiin (Apigenin-7-(2-O-apiosylglucoside)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
39	Vitexin (Apigenin 8-C-glucoside)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
40	Schaftoside	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
41	Rutin hydrate M-OH2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
42	Luteolin	nd	1006±31,01 ^{Ac}	1942±41,98 ^{Ab}	3474±189,1 ^{Aa}	nd	992±4,5 ^{Ac}	1857±42,9 ^{Ab}	3348,±33,9 ^{Aa}	nd	916±0,9 ^{Bc}	1701±28,8 ^{Bb}	3118,±102,6 ^{Ba}	nd	995±31,5 ^{ABc}	1790±37,3 ^{ABb}	3285±28,4 ^{ABa}
43	Luteolin-7-O-glucuronide (Luteolin-7-O-β-D-glucuronide)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
44	Diosmetin (Luteolin 4'-methyl ether)	nd	nd	2,4±2,18 ^{ABb}	29±1,96 ^{ABb}	nd	nd	1,5±1,8 ^{Bb}	22,8±0,4 ^{Bb}	nd	nd	nd	25±0,8 ^{A_{Bb}}	nd	nd	2,9±0,32 ^{Aa}	31±0,4 ^{A_a}
45	Orientin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

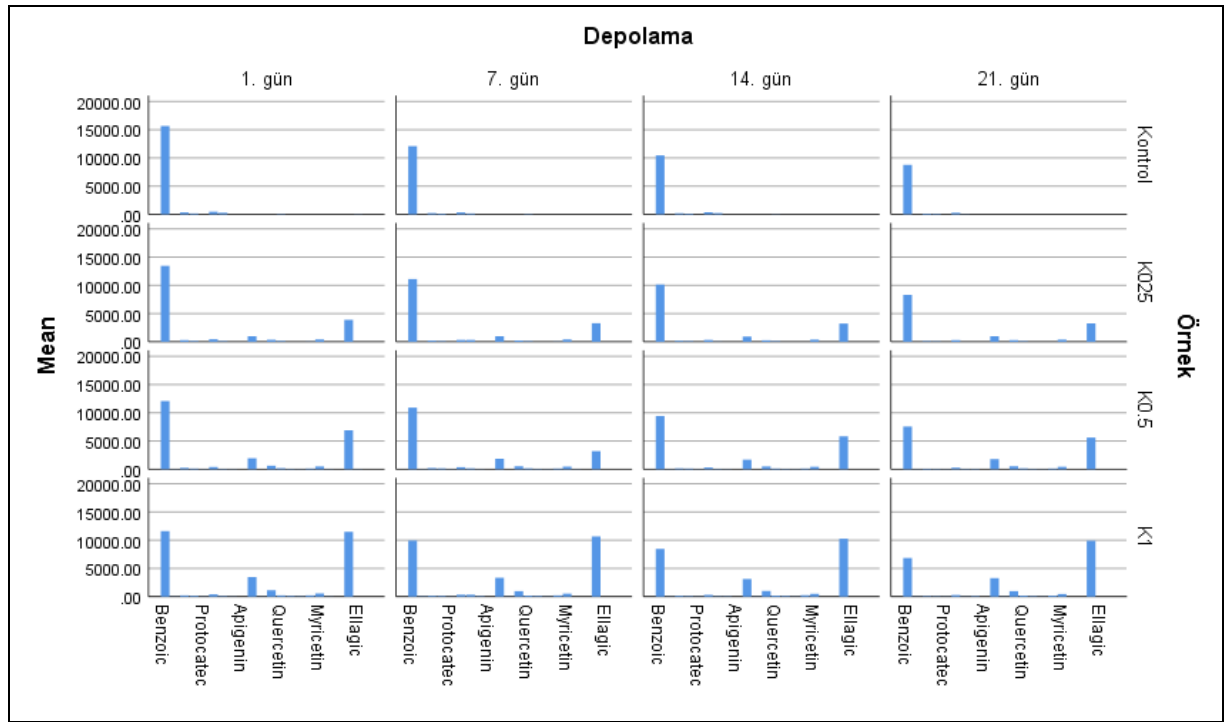
Tablo 4.13. devam ediyor

		1. gün				7. gün				14. gün				21. gün			
	Fenolikler	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1
4 6	Isoorientin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4 7	Luteololide (Luteolin 7-glucoside)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4 8	Luteolin 7-rutinoside	nd	363±2 5,9 ^{Ac}	619±1 7,8 ^{Ab}	1147± 97 ^{Aa}	nd	253± 3,6 ^{Bc}	532±3 7 ^{Bb}	984±3 5,1 ^{Ba}	nd	281±1 ,4 ^{Bc}	512±1 9,4 ^{Bb}	1002± 9,5 ^{Ba}	nd	288±2 1,4 ^{Bc}	532±3, 5 ^{Bb}	972±7 ,9 ^{Ba}
4 9	Galangin (3,5,7-Trihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5 0	Quercetin	84±0, 84 ^{Ad}	130,± 4,04 ^{Ac}	168±7, 4 ^{Ab}	234±6 ,4 ^{Aa}	74±0 ,6 ^{ABd}	112± 1,3 ^{ABc}	146,±0 ,2 ^{ABb}	200±1 2,9 ^{ABa}	nd	99±1, 3 ^{Bc}	133±2, 1 ^{Bb}	175±1, 7 ^{Ba}	nd	111±4, 1 ^{Bc}	147±4, 9 ^{Bb}	204±2 ,1 ^{Ba}
5 1	İsoquercitrin (Quercetin 3-glucoside)	nd	30±1, 5 ^{Ac}	66±4,6 Ab	134±4 ,7 ^{Aa}	nd	18±0, 8 ^{ABc}	59±4,5 ABb	122±2, 2 ^{ABa}	nd	18±11 ,8 ^{Bc}	46±8,6 Bb	112±1, 7 ^{Ba}	nd	23±6,2 Bc	54±7,1 Bb	109±0 ,1 ^{Ba}
5 2	Narcissin (Narcissoside, Isorhamnetin 3-rutinoside)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5 3	Quercetin 3-rutinoside 7-glucoside	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5 4	Isorhamnetin (Quercetin 3'-methyl ether)	nd	3,42± 0,87 ^{Ac}	19,23± 1,46 ^{Ab}	47,8± 3,2 ^{Aa}	nd	2,0±0 ,04 ^{Ac}	17,2±0 ,16 ^{Ab}	46,53± 0,52 ^{Aa}	nd	1,32± 0,28 ^{Bc}	13,89± 0,24 ^{Bb}	43,11± 0,81 ^{Ba}	nd	2,92±0 ,37 ^{AAc}	19,48± 0,98 ^{Ab}	46,3± 1,46 ^{Aa}
5 5	Kaempferol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5 6	Afzelin (Kaempferol 3-rhamnoside)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5 7	Kaempferide	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5 8	Kaempferitrin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5 9	Nicotiflorin (Kaempferol 3-rutinoside, Kaempferol 3-O-β -rutinoside)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6 0	Astragalın (Kaempferol 3-glucoside)	nd	51±4, 7 ^{Ac}	118±3, 4 ^{Ab}	236±2 0,3 ^{Aa}	nd	43,8± 1,6 ^{Ac}	105,8± 10,3 ^{Ab}	231±8, 3 ^{Aa}	nd	28±12 ,1 ^{Ac}	107±3, 9 ^{Ab}	237±1, 5 ^{Aa}	nd	28,5±8 ,2 ^{Bc}	104±3, 8 ^{Bb}	198±2 ,5 ^{Ba}

Tablo 4.13. devam ediyor

		1. gün				7. gün				14. gün				21. gün			
	Fenolikler	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1	K	K-0,25	K-0,5	K-1
7 6	ellagic acid	25,55±8,10 ^{Aa}	17,58±2,11 ^{Aa}	16,34±2,97 ^{Aa}	nd	12,8±1,13 ^{ABa}	12,9±0,07 ^{ABa}	13,5±0,8 ^{ABa}	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	Nd
7 7	Esculin hydrate	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7 8	Phloridzin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7 9	Rosmarinic acid	13,2±0,5 ^{Aa}	15±0,3 ^{Aa}	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
8 0	Glabridin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
8 1	Arbutin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
8 2	emodin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
8 3	Etoposide	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
8 4	Doxorubicin Hydrchloride	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
8 5	ethylgallate	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	TOPLAM	17087±872	20419,±535	23306,9±749	30059,9±840	13081±370	17328±69	21467±820	27252±669	11399±33	15849±45	18921±169	24671±766	9342±326	13979±47	16751.68±571	22672±71

Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0,25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı satırdaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b,c,d: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05).*Aynı satırdaki büyük harfler günler arasındaki, küçük harfler ise örnekler arasındaki farkı göstermektedir.



Şekil 4.14. Kefir örneklerinin depolama süresi boyunca fenolik madde içeriği

Fenolik bileşikler kefirin antioksidan aktivitesinde önemli bir rol oynamaktadır. Çalışmalar, kefirin fermantasyon sürecinin fenolik bileşiklerde artışa yol açarak antioksidan özelliklerin artmasına katkıda bulunduğunu göstermiştir (Frag vd., 2020b). Soya ve inek sütünden yapılanlar gibi farklı kefir türleri, farklı seviyelerde antioksidan aktivite sergiler ve fenolik bileşikler bu farklılığa katkıda bulunan temel faktörler olarak tanımlanır (Talib vd., 2019). Kefirdeki fenolik bileşiklerin varlığı, bu bileşikler anti-enflamatuvar ve antioksidan etkiler de dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif özelliklerle bağlantılı olduğundan, sağlık yararları için esastır (Vieira vd., 2021). Ayrıca, kefirin fermantasyonunun fenolik bileşiklerin üretimini artırdığı ve böylece antioksidan kapasitesini geliştirdiği bulunmuştur (Bensmira ve Jiang, 2015). Çalışmalar ayrıca, kefire

bal ve uçucu yağlar gibi belirli bileşenlerin eklenmesinin, nihai ürünün toplam fenolik içeriğini ve antioksidan aktivitesini daha da artırabileceğini vurgulamıştır (Perna vd., 2019). Ayrıca, kefir fermentasyonunun kompleks substratlardan fenolik bileşikler serbest bırakarak antioksidan aktivitede artışa yol açtığı gösterilmiştir (Ankolekar vd., 2012).

Genel olarak, kefirin fermentasyon yoluyla fenolik bileşiklerle zenginleştirilmesi ve biyoaktif bileşenlerin eklenmesi, antioksidan özelliklerini önemli ölçüde artırabilir ve bu da onu potansiyel sağlık yararları olan değerli bir fonksiyonel gıda haline getirebilir. Bu çalışmada, kefirin fenolik bileşenlerle zenginleştirilmesi için, kefire arı poleni ekstraktı ilave edilmiştir. LC-MS MS cihazı ile yapılan fenolik bileşen tayini sonucu kefir örneklerinde toplam 22 adet fenolik bileşen tespit edilmiştir. Arı poleni ekstraktı ilave edilen kefirlerin fenolik içeriği, bu sayede artırılmıştır. Arı polenin flavanoid içeriği yüksek olduğu için, arı poleni ilaveli kefir örneklerinde, arı poleni içermeyen kontrolde bulunmayan, flavanoidler (isorhamnetin, isokuersitrin, luteolin, eridiktiyol) saptanmıştır.

Gunenc vd., (2017), tarafından yapılan çalışmada, filizlenmiş ve filizlenmemiş mercimek ile zenginleştirilmiş kefir örneklerinde, kateşin, protokateşik asit, şiringik asit, pirogalol belirlenmiştir. Rutin çimlenmiş mercimek katkılı kefir örneğinde saptanmış olup, bunun aksine bu çalışmada arı poleni katkılı kefir örneklerinde rutin saptanmamıştır.

Taheur vd., (2023), tarafından yapılan bir çalışmada, *Opuntia dillenii* meyve tozu ile zenginleştirilmiş kefir örneğinin LC-ESI-MS ile yapılan fenolik bileşen tayininde, en fazla luteolin, protokateşik asit, quersetin, quersetin bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise kefir örneklerinde en yüksek oranlarda sırası ile benzoik asit, eridiktiyol, luteolin bulunmuştur.

4.6. Kefirlerin Mikrobiyolojik Değerlendirmeleri

Farklı konsantrasyonlarda arı poleni ekstraktı ile hazırlanan ve arı poleni ekstraktı içermeyen kefir örneklerinin 1., 7., 14. ve 21. günlerde toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam, laktobasil sayımı, toplam laktokok sayımı, asetik asit bakteri sayımı ve toplam küf ve maya analizleri mikrobiyolojik analizler olarak yapılmıştır. Sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir (Tablo 4.13, 14, 15, 16).

Şekerli Brezilya kefirinin fermentasyonu sırasında mikrobiyal topluluklar ve kimyasal değişikliklerin araştırıldığı çalışmada 24 saat fermentasyon süresinin sonunda toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı $8,21 \pm 0,12$ log kob/mL olarak saptanmış bu değer çalışmamızdaki değer aralığı ile uyumlu bulunmuştur (Magalhães vd., 2010).

Yeni geliştirilen kahve aromalı kefirin fizikokimyasal, reolojik, mikrobiyolojik ve duyuusal özelliklerine etkisinin araştırılmış örneklerin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı 8,66-9,24 log kob/mL aralığında bulunmuştur. Bu değerler çalışmamız kapsamında incelenen arı poleni ekstraktı katkılı kefir örneklerinde saptanan 7,60-9,27 log kob/mL değer aralığının içerisinde yer almaktadır (Vimercati vd., 2020).

İtalyan salla balı ve biberiye esansiyel yağı ile güçlendirilmiş kefir örneklerinin antioksidan ve fenolik içeriklerinin incelendiği bir çalışma kapsamında kefir örneklerinde yapılan laktobasil sayılarında depolama boyunca 1., 9. ve 15. günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmediği bulunmuştur. Yapılan çalışmada laktobasil sayıları 9,62-10,41 log kob/mL aralığında bulunmuş olup bu değerlerin çalışmamız kapsamında tespit ettiğimiz aralıktan (8,15-9,99 log kob/mL) daha yüksek olduğu görülmektedir (Perna vd., 2019).

İnek, keçi ve koyun sütünden deproteine edilmiş peynir altı suyu ve karşılık gelen hayvan türlerinin pastörize sütü ile elde edilen kefir örneklerinin kalitesindeki değişikliklerin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada 20, 25 ve 30 °C olmak üzere farklı sıcaklıklarda üretilen kefirlerin 24 saat inkübasyon sonucunda toplam laktobasil sayıları hesaplanmış olup bütün örnekler değerlendirildiğinde bu değerlerin 4,20-8,08 log kob/mL olarak geniş bir aralıkta değiştiği saptanmıştır. Bu aralığın çalışmamızda incelediğimiz arı polen ekstraktı kefir örneklerimizin bütününden daha düşük olduğu görülmektedir (Settanni vd., 2020).

Yapılan bir çalışmada, %0.2 kefir tanesi kullanılarak 20°–22°C’de 20 saat fermentasyonla Norveç kefirleri üretilmiş olup 8 log kob/mL *Lactobacillus* içerdiği saptanmıştır (Grønnevik vd., 2011). Diğer yandan, başka bir çalışmada DVI liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin 8,6 log kob/mL aerobik *Lactobacillus* spp. içerdiği saptanmıştır (Wszolek vd., 2001). Norveç kefirlerinin laktobasil değerinin tez çalışmamız

kapsamında incelediğimiz bütün arı poleni ekstraktlı kefir örneklerinin toplam laktobasil sayısı değerinden daha düşük olduğu görülmektedir.

Farklı tatlarda kefir elde etmek amacıyla %10 mürdüm eriği marmelatı ve %7,5 pekmez ilave edildiği bir çalışmada, depolamanın 1. gününde kontrol, erik marmelatı ve pekmez ilaveli kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. içeriğinin, sırasıyla, 8,99, 9,35 ve 9,11 log kob/mL olduğu bulunmuştur olup 14. günde tüm kefir örneklerinde 1 log kob/mL düzeyinde bir azalma olduğu bildirilmiştir (Taş vd., 2014). Bu kefir örneklerinin 1. gün değerlerinin çalışmamız kapsamında araştırılan arı poleni ekstraktlı kefir örneklerinin toplam laktobasil sayısı (8,15-9,99 log kob/mL) aralığında olduğu saptanmıştır.

Şekerli Brezilya kefirinin fermentasyonu sırasında mikrobiyal topluluklar ve kimyasal değişikliklerin araştırıldığı çalışmada 24 saat fermentasyon süresinin sonunda toplam laktobasil sayısı $8,32 \pm 0,04$ log kob/mL olarak saptanmış bu değer çalışmamızdaki değer aralığı ile uyumlu bulunmuştur (Magalhães vd., 2010).

Bursa ilindeki farklı perakende satış yerlerinden satın alınan 50 adet kefir örneğinin mikrobiyolojik kalitesini ve bazı kimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada ortalama laktobasil sayısı 7,56 log kob/mL olarak bulunmuş olup bu değer çalışmamız kapsamında incelenen kefir örneklerinde belirlenen laktobasil sayısı değer aralığından düşük olduğu görülmüştür (Cetinkaya ve Elal Mus, 2012)

Yeni geliştirilen kahve aromalı kefirin fizikokimyasal, reolojik, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerine etkisinin araştırılmış örneklerin laktobasil sayısı 7,30 ile 8,13 log kob/mL aralığında bulunmuştur. Bu değerler çalışmamız kapsamında incelenen arı poleni ekstraktı katkılı kefir örneklerinde saptanan 8,15-9,99 log kob/mL değer aralığının altında yer almaktadır (Vimercati vd., 2020).

Mikrobiyal sayımlar, organik asitler, uçucu bileşikler ve duyuşal özellikler üzerine oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin kefir üzerindeki etkileri bir çalışmada araştırılmış ve 1, 10 ve 21 günlük süreçlerde laktobasil sayımı yapılmıştır. Toplam laktobasil sayısı tüm örneklerde 4,52-7,54 log kob/mL aralığında bulunmuş olup bu sonuçlar proje kapsamında

incelenen arı poleni ekstraktı katkılı kefir örneklerinde tespit edilen (8,15-9,99 log cfu/mL) aralığın altındadır (Bulat ve Topcu, 2021).

Depolama sırasında kefirin mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerinin incelendiğı bir çalışmada kefir örneklerinde 8 log kob/mL laktokok sayılmış olup bu değ er raf ömrü de dahil olmak üzere proje kapsamında değ erlendirilen kefir örneklerinin bütününden daha düşük olduğı görölmektedir (Irigoyen vd., 2005).

Şekerli Brezilya kefirinin fermentasyonu sırasında mikrobiyal topluluklar ve kimyasal değ iş ikliklerin araştırıldığı çalışmada 24 saat fermentasyon süresinin sonunda toplam laktokok sayısı $8,41 \pm 0,08$ log kob/mL olarak saptanmış bu değ er çalışmamızdaki değ er aralığı ile uyumlu bulunmuştur (Magalhães vd., 2010).

Bursa ilindeki farklı perakende satış yerlerinden satın alınan 50 adet kefir örneğ inin mikrobiyolojik kalitesini ve bazı kimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada ortalama laktokok sayısı 8,25 log kob/mL olarak bulunmuş olup bu değ erin çalışmamız kapsamında incelenen kefir örneklerinde belirlenen laktokok sayısı değ er aralığı ile uyumlu olduğı görölmüştür (Cetinkaya ve Elal Mus, 2012).

Mikrobiyal sayımlar, organik asitler, uçucu bileş ikler ve duyuşsal özellikler üzerine oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin kefir üzerindeki etkileri bir çalışmada araştırılmış ve 1, 10 ve 21 günlük süreçlerde laktokok sayımı yapılmıştır. Toplam laktokok sayısı tüm örneklerde 4,56-9,36 log kob/mL aralığında bulunmuş olup bu sonuçlar proje kapsamında incelenen arı poleni ekstraktı katkılı kefir örneklerinde tespit edilen (8,15-9,96 log cfu/mL) aralık ile uyumlu sonuçlar olup bazı sonuçlar tespit edilen değ erlerin oldukça altındadır (Bulat ve Topcu, 2021).

Asetik asit sayısı aralığı 7,9-9,9 log kob/mL olarak bulunmuş bu değ er aralığ ının (Irigoyen vd., 2005) bulduğı 6 log kob/mL değ erinden daha yüksek olduğı tespit edilmiştir. Yeni geliştirilen kahve aromalı kefirin fizikokimyasal, reolojik, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerine etkisinin araştırılmış örneklerin asetik asit bakteri sayısı 8,19-9,16 log kob/mL aralığında bulunmuştur. Bu değ erler çalışmamız kapsamında incelenen arı poleni

ekstraktı katkılı kefir örneklerinde saptanan 7,93-9,89 log kob/mLdeğer aralığının içerisinde yer almaktadır (Vimercati et al., 2020).

4.6.1. Kefir Örneklerinde Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı

Farklı konsantrasyonlarda arı poleni ekstraktı ile hazırlanan ve arı poleni ekstraktı içermeyen kefir örneklerinin 1., 7., 14. ve 21. günlerde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı değişimini içeren sonuçlar (log kob/mL) Tablo 4.14’de verilmiştir.

Tablo 4.14. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı değişimi

Örnekler*	Depolama Süreci			
	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Kontrol	9,27±0,02 ^{Aa}	8,13±0,01 ^{Ab}	8,16±0,01 ^{Ab}	7,90±0,03 ^{Ac}
K-0.25	9,20±0,01 ^{Ba}	8,11±0,01 ^{Ab}	8,10±0,01 ^{Bb}	7,81±0,02 ^{Bc}
K-0.5	9,14±0,02 ^{Ca}	8,12±0,01 ^{Ab}	8,09±0,02 ^{Bb}	7,74±0,02 ^{Cc}
K-1	9,1±0,012 ^{Da}	8,05±0,01 ^{Bb}	8,09±0,03 ^{Bb}	7,6±0,01 ^{Dc}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0.25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b,c: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05). Sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir.

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayılarının 1. güne kıyasla 7., 14. ve 21. günlerde azaldığı görülmüştür. En yüksek bakteri sayısı 1. gün K örneğinde (9,27 log kob/mL) bulunurken, en düşük bakteri sayısı ise 21. gün K-1 kefir örneğinde (7,60 log kob/mL) sayılmıştır. 21 günlük süreç boyunca yapılan toplam mezofilik aerobik bakteri sayımında artan arı poleni ekstraktı konsantrasyonu ile kefir örneklerinin mezofilik aerobik bakterileri sayılarının azaldığı bulunmuştur. İstatistiksel analiz sonucu p<0,05 olarak tespit edilmiş olup artan arı poleni konsantrasyonunun kefirlerin mezofilik aerobik bakteri sayısını önemli ölçüde azalttığı söylenebilmektedir. Aynı zamanda elde edilen verilerde p<0,05 olup depolama günleri boyunca 1., 7., 14 ve 21. günlerde kefir örneklerinde görülen toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı azalışının önemli olduğu belirlenmiştir.

4.6.2. Toplam Maya ve Küf Sayım

Kefir örneklerinin toplam küf maya sayısını belirlemek için Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC) agar kullanılmıştır. Örneklerin hiçbirinde küf maya belirlenmemiştir.

4.6.3. Kefir Örneklerinde Laktobasil Sayımı

Farklı konsantrasyonlarda arı poleni ekstraktı ile hazırlanan ve arı poleni ekstraktı içermeyen kefir örneklerinin 1., 7., 14. ve 21. günlerde toplam laktobasil sayımı değişimini içeren sonuçlar (log kob/mL) Tablo 4.15'te verilmiştir.

Tablo 4.15. Kefir örneklerinde toplam laktobasil sayımı

Örnekler*	Depolama Süreci			
	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Kontrol	9,30±0,0 ^{Cb}	9,6±0,0 ^{Da}	9,04±0,03 ^{Cc}	8,15±0,01^{Cd}
K-0.25	9,40±0,0 ^{Bb}	9,6±0,0 ^{Ca}	9,12±0,03 ^{Bc}	8,34±0,01 ^{Ad}
K-0.5	9,5±0,0 ^{Ab}	9,8±0,01 ^{Ba}	9,256±0,02 ^{Ac}	8,32±0,02 ^{Ad}
K-1	9,4±0,0 ^{ABb}	10,0±0,01^{Aa}	9,32±0,02 ^{Ac}	8,25±0,02 ^{Bd}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0,25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0,50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. (p<0,05) a,b,c: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p<0,05). Sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir.

Kefir örneklerinin laktobasil sayıları 7. gün analizinde en yüksek sayıda bulunurken 14. gün analizleri ile birlikte laktobasil sayısında azalma görülmüştür. İncelenen örnekler arasında en yüksek laktobasil sayısı 7. gün K-1 kefir örneğinde (9,99 log kob/mL) bulunmuştur. En düşük laktobasil sayısı ise 21. gün K kefir örneğinde (8,15 log kob/mL) saptanmıştır. Raf ömrü süresince yapılan laktobasil sayım analizlerinde artan arı poleni ekstraktı konsantrasyonu ile birlikte laktobasil sayısının da arttığı tespit edilmiştir. 1., 7., 14. ve 21. günlerde yapılan sayımlarda en düşük laktobasil sayısı kontrol örneklerinde bulunurken, en yüksek laktobasil sayısı K-1 örneklerinde olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara dayanarak bakıldığında kefirlerin laktobasiller yönünden zenginleştirilmesinde

arı poleni ekstraktı ilavesinin etkin olduğu düşünülmektedir. İstatistiksel verilerle $p<0,05$ olup arı poleni ekstraktı katkılı kefir örneklerinin artan arı poleni ekstraktı ile birlikte laktobasillerin artışının önemli olduğu bulunmuştur. Ayrıca kefir örneklerinde toplam laktobasil sayısının depolama süresi boyunca bu veriler sonucunda $p<0,05$ olarak bulunmuş olup istatistiksel veriler 7. güne kadar olan artışının ve 14. günden sonra görülen azalışın önemli olduğunu göstermektedir.

4.6.4. Kefir Örneklerinde Laktokok Sayımı

Farklı konsantrasyonlarda arı poleni ekstraktı ile hazırlanan ve arı poleni ekstraktı içermeyen kefir örneklerinin 1., 7., 14. ve 21. günlerde toplam laktokok sayımı değişimini içeren sonuçlar (log kob/mL) Tablo 4.16’te verilmiştir.

Tablo 4.16. Kefir örneklerinin laktokok sayımı analiz sonuçları

Örnekler*	Depolama Süreci			
	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Kontrol	9,13±0,00 ^{Db}	9,6±0,03 ^{Da}	8,9±0,03 ^{Dc}	8,15±0,01^{Cd}
K-0,25	9,2±0,01 ^{Cb}	9,7±0,03 ^{Ca}	9,14±0,02 ^{Cb}	8,3±0,01 ^{Ac}
K-0,5	9,3±0,02 ^{Bb}	9,9±0,023 ^{Ba}	9,2±0,01 ^{Bb}	8,3±0,02 ^{Ac}
K-1	9,34±0,00 ^{Ab}	10,0±0,03^{Aa}	9,3±0,00 ^{Ab}	8,3±0,02 ^{Bc}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0,25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0,50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. ($p<0,05$) a,b,c: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$). Sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir.

Toplam laktokok sayısı değişimi 7. günde yapılan analizlerde en yüksek sayıda bulunmuş olup 14. gün analizleri ile birlikte azalış göstermiştir. İncelenen örnekler arasında en yüksek laktokok sayısı 7. gün K-1 örneğinde 10,0 log kob/mL, en düşük laktokok sayısı 21. gün K örneğinde 8,15 log kob/mL olarak bulunmuştur. Raf ömrü süresince yapılan laktokok sayım analizlerinde artan arı poleni ekstraktı konsantrasyonu ile birlikte laktobasil sayısının da arttığı tespit edilmiştir. 1., 7., ve 14. günlerde yapılan sayımlarda en düşük laktobasil sayısı K örneklerinde bulunurken, en yüksek laktokok sayısı K-1 örneklerinde olduğu görülmüştür. Artan arı poleni konsantrasyonunun kefir örneklerinde laktokok sayısı üzerinde etkisi istatistiksel verilerle $p<0,05$ olarak bulunarak sonucun önemli olduğu

saptanmıştır. Aynı zamanda elde edilen veriler depolama süresince kefir örneklerinin laktokok sayılarının 7. gün analizlerinde artışının ve 14. gün analizleri ile birlikte azalışının önemli olduğu sonucu $p<0,05$ olarak hesaplanarak belirlenmiştir.

4.6.5. Kefir Örneklerinde Asetik Asit Bakteri Sayımı

Farklı konsantrasyonlarda arı poleni ekstraktı ile hazırlanan ve arı poleni ekstraktı içermeyen kefir örneklerinin 1., 7., 14. ve 21. günlerde asetik asit bakteri sayımı değişimini içeren sonuçlar (log kob/mL) Tablo 4.17’de verilmiştir.

Tablo 4.17. Kefir örneklerinin asetik asit bakteri sayımı değişimi

Örnekler*	Depolama Süreci			
	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Kontrol	8,4±0,04 ^{Dc}	8,8±0,07 ^{Cb}	9,6±0,03 ^{Ca}	7,9±0,03^{Bd}
7. Gün	8,6±0,04 ^{Cc}	9,2±0,01 ^{Bb}	9,8±0,01 ^{Ba}	8,02±0,01 ^{Ad}
14. Gün	8,9±0,01 ^{Bc}	9,3±0,02 ^{ABb}	9,8±0,03 ^{ABa}	8,06±0,01 ^{Ad}
21. gün	9,0±0,02 ^{Ac}	9,3±0,01 ^{Bb}	9,9±0,02^{Aa}	8,08±0,01 ^{Ad}

*Kontrol: %0 arı poleni ilaveli, K-0,25: %0,25 arı poleni ilaveli, K-0.50: %0,5 arı poleni ilaveli, K-1: %1 arı poleni ilaveli. A, B, C,D: Aynı sütundaki farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılık önemlidir. ($p<0,05$) a,b,c: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p<0,05$). Sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde kefir örneklerinin asetik asit sayısı 14. güne kadar artan polen ekstraktı konsantrasyonu ile birlikte artış göstermiştir. 21. günde ise asetik asit sayısının azaldığı saptanmıştır. İncelenen örnekler arasında en yüksek asetik asit sayısı 14. gün K-1 örneğinde 9,89 log kob/mL olarak bulunmuş olup en düşük asetik asit sayısı 21. gün K örneğinde 7,93 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Raf ömrü süresince yapılan asetik asit sayım analizlerinde artan arı poleni ekstraktı konsantrasyonu ile birlikte asetik asit sayısının da arttığı tespit edilmiştir. 1., 7., 14. ve 21. günlerde yapılan sayımlarda konsantrasyonlar kıyaslandığında en düşük asetik asit sayısı K örneklerinde bulunurken, en yüksek asetik asit sayısı K-1 örneklerinde olduğu görülmüştür. Asetik asit bakteri sayısı kapsamında yapılan istatistiki analiz sonucunda artan arı poleni ekstraktı konsantrasyonunun etkisinin önemli olduğu $p<0,05$ olarak hesaplanarak bulunmuştur.

Depolama süresinin etkisi değerlendirildiğinde asetik asit bakteri sayısının 14. gün analizleri ile artışının ve 21. gün analizi ile birlikte azalışının önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p<0,05$).



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Arı polenin kimyasal kompozisyonu ve antioksidan içeriği bitkisel kaynağına bağlı olarak değişmektedir. Çalışmada kullanılan arı poleni baskın olarak *Verbascum* sp. ve *Hypericum* sp. bitkilerine ait bifloral bir polendir. Farklı botanik kaynağa ait arı polenleri ile de aynı çalışmanın tekrarlanabileceği önerilmektedir.

Arı poleni ilavesi, kefir örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinde değişim göstermiştir. Arı poleni ilave edilen kefirlerin, toplam kuru madde, protein ve yağ içeriği, kül miktarı, titrasyon asitliği artmıştır. Panelistler tarafından en çok beğenilen örnek %0,25 oranında arı poleni ilaveli kefir olmuştur.

Kefir örneklerine eklenen arı poleni ekstraktı konsantrasyonu arttıkça, kefir örneklerinin antioksidan içeriği de artmaktadır. Toplam Fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi en yüksek K-1 no'lu örneğin 7. depolama gününde belirlenmiştir. Gerek kefirin tadını iyileştirerek kefirin tüketimini kolaylaştırması, gerekse de yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması nedeniyle, %0,25 arı poleni ilavesi önerilmektedir.

Bu çalışma sonuçlarına göre, kefir örneklerinde raf ömrü boyunca meydana gelebilecek mikrobiyolojik ve kimyasal bozulmaların arı poleni ekstraktı ile önlenilebileceği yada azaltılabileceği sonucuna varılmıştır. Bu tez çalışmasında arı poleni ekstraktı ile zenginleştirilmiş zengin fenolik bileşenler, yüksek probiyotik içeren ve antioksidan içeriği yüksek fonksiyonel bir gıda başarı ile geliştirilmiştir. Aynı zamanda arı poleni ekstraktı ilave edilmiş kefirin raf ömrü üzerine olumlu etkilerinin olduğu sonucuna varılmıştır. Bu tez çalışmasının diğer arı ürünleri ile zenginleştirilmiş çalışmalara referans olabilecek bir çalışma olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

AA, A. (2016). The Production of Bio-yoghurt with Probiotic Bacteria, Royal Jelly and Bee Pollen Grains. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 06(03).

Abd Elhamid, A., Elbayoumi, M. (2017). Influence of Bee Pollen on the Bioactive Behavior, Sensory and Physicochemical Properties of White Cheese Made from Camel and Cow Milk Mixture. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 8(11), 419–424.

Abdi-Moghadam, Z., Darroudi, M., Mahmoudzadeh, M., Mohtashami, M., Jamal, A. M., Shamloo, E. and Rezaei, Z. (2023). Functional yogurt, enriched and probiotic: A focus on human health. *Clinical Nutrition ESPEN*, 57, 575–586.

Acar, C. (2023). Kahveli Kefirin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerin Belirlenmesi. Aksaray Üniversitesi.

Adaškevičiūtė, V., Kaškonien, V., Barčauskaitė, K., Kaškonas, P. and Maruška, A. (2022). The Impact of Fermentation on Bee Pollen Polyphenolic Compounds Composition. *Antioxidants*, 11(645), 1–16.

Afshari-Jouybari H. and Farahnaky, A. (2011). Evaluation of photoshop software potential for food colorimetry. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 170–175.

Aiello, F., Restuccia, D., Spizzirri, U. G., Carullo, G., Leporini, M. and Loizzo, M. R. (2020). Improving kefir bioactive properties by functional enrichment with plant and agro-food waste extracts. *Fermentation*, 6(3).

Alhssan, E., Ercan, S. Ş. and Bozkurt, H. 2023. Effect of Flaxseed Mucilage and Gum Arabic on Probiotic Survival and Quality of Kefir during Cold Storage. *Foods* (2023), Vol. 12, Page 662, 12(3), 662.

Amores-Arrocha, A., Roldán, A., Jiménez-Cantizano, A., Caro, I. and Palacios, V. (2018). Effect on white grape must of multiflora bee pollen addition during the alcoholic fermentation process. *Molecules*, 23(6).

Amores-Arrocha, A., Sancho-Galán, P., Jiménez-Cantizano, A. and Palacios, V. (2021). A Comparative Study on Volatile Compounds and Sensory Profile of White and Red Wines Elaborated Using Bee Pollen versus Commercial Activators. *Foods* 2021, Vol. 10, Page 1082, 10(5), 1082.

Ankolekar, C., Johnson, K., Pinto, M., Johnson, D., Labbe, R. G., Greene, D. and Shetty, K. (2012). Fermentation Of Whole Apple Juice Using *Lactobacillus Acidophilus* For Potential Dietary Management Of Hyperglycemia, Hypertension, And Modulation Of Beneficial Bacterial Responses. *Journal of Food Biochemistry*, 36(6), 718–738.

Anonim. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğ, Pub. L. No. 27143, 6 (2022). ANKARA.

Arráez-Román, D., Zurek, G., Bäßmann, C., Almaraz-Abarca, N., Quirantes, R., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. (2007). Identification of phenolic compounds from pollen extracts using capillary electrophoresis-electrospray time-of-flight mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(6), 1909–1917.

Arslan, S. (2015). A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *CyTA - Journal of Food*, 13(3), 340–345.

Atalar, I. (2019). Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. *LWT - Food Science and Technology*, 107, 256–263.

Aylanc, V., Ertosun, S., Russo-Almeida, P., Falcão, S. I. and Vilas-Boas, M. (2022). Performance of green and conventional techniques for the optimal extraction of bioactive compounds in bee pollen. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(6), 3490–3502.

Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203.

Barbieri, D., Gabriele, M., Summa, M., Colosimo, R., Leonardi, D., Domenici, V. and Pucci, L. (2020). Antioxidant, nutraceutical properties, and fluorescence spectral profiles of bee pollen samples from different botanical origins. *Antioxidants*, 9(10), 1–17.

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 Ciencias*, 82(4), 893–902.

Bartra, J., Sastre, J., Del Cuvillo, A., Montoro, J., Jáuregui, I., Dávila, I. and Valero, A. (2009). From pollinosis to digestive allergy. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 19(SUPPL. 1), 3–10.

Ben Taheur, F., Mansour, C., Mechri, S., Laaouar, H., Safta Skhiri, S., Bouricha, M. and Zouari, N. (2022). Protective effects of dietary Kefir against aflatoxin B1-induced hepatotoxicity in Nile tilapia fish, *Oreochromis niloticus*. *Food Science & Nutrition*, 10(7), 2300–2311.

Bengi, S., Gürsoy, O., Güler Dal, H. Ö. ve Yılmaz, Y. (2023). Effect of propolis extract addition on some physicochemical, microbiological, and sensory properties of kefir drinks. *Food Science & Nutrition*, 11(11), 7407–7417.

Bensmira, M. and Jiang, B. (2015). Total phenolic compounds and antioxidant activity of a novel peanut based kefir. *Food Science and Biotechnology*, 24(3), 1055–1060.

- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15–27.
- Beshkova, D. M., Simova, E. D., Frengova, G. I., Simov, Z. I. and Dimitrov, Z. P. (2003). Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. *International Dairy Journal*, 13(7), 529–535.
- Bielska, P., Cais-Sokolińska, D., Teichert, J., Biegalski, J., Kaczyński, Ł. K. and Chudy, S. (2021). Effect of honeydew honey addition on the water activity and water holding capacity of kefir in the context of its sensory acceptability. *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 1–9.
- Bobis, O., Marghitas, L., Dezmirean, D., Morar, O., Bonta, V. and Chirila, F. (2010). Quality parameters and nutritional value of different commercial bee products. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj–Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 67(1–2), 91–96.
- Bogdanov, S. (2020). Antiviral properties of the bee products: a review. *Bee products Science*, 1–16.
- Bourrie, B. C. T., Richard, C. and Willing, B. P. (2020). Kefir in the Prevention and Treatment of Obesity and Metabolic Disorders. *Current Nutrition Reports*, 9(3), 184–192.
- Brochard, M., Correia, P., Barroca, M. J. and Guiné, R. P. F. (2021). Development of a new pasta product by the incorporation of chestnut flour and bee pollen. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(14).
- Bulat, T. and Topcu, A. (2021). Influences of oxidation-reduction potential on kefir: Microbial counts, organic acids, volatile compounds and sensory properties. *Lwt*, 144(February), 111195.
- Carullo, G., Governa, P., Spizzirri, U. G., Biagi, M., Sciubba, F., Giorgi, G. and Restuccia, D. (2020). Sangiovese cv Pomace Seeds Extract-Fortified Kefir Exerts Anti-Inflammatory Activity in an In Vitro Model of Intestinal Epithelium Using Caco-2 Cells. *Antioxidants* 2020, Vol. 9, Page 54, 9(1), 54.
- Cetinkaya, F. and Elal Mus, T. (2012). Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59(3), 217–221.
- Chen, H. L., Tsai, T. C., Tsai, Y. C., Liao, J. W., Yen, C. C. and Chen, C. M. (2016). Kefir peptides prevent high-fructose corn syrup-induced non-alcoholic fatty liver disease in a murine model by modulation of inflammation and the JAK2 signaling pathway. *Nutrition & Diabetes* 2016 6:12, 6(12), e237–e237.
- Choi, J. W., Kang, H. W., Lim, W. C., Kim, M. K., Lee, I. Y. and Cho, H. Y. (2017). Kefir prevented excess fat accumulation in diet-induced obese mice. *Bioscience*,

Biotechnology, and Biochemistry, 81(5), 958–965.

Çiftçi, M., Öncül, N. (2024). The viability of microorganism of probiotic yogurt enriched with bee pollen. CYTA - Journal of Food, 22(1).

Çınar, K. (2019). Farklı Konsantrasyonlarda Maviyemiş İlavesiyle Üretilen Kefirlerin Depolama Süresince Mikrobiyolojik, Fizikokimyasal Ve İn Vitro Antioksidan Kapasitesindeki Değişimin Tespiti. T.C. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi.

Çobanoğlu, D. N., Kizilpınar 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.

Conforti, F., Menichini, F., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Arnold, N. A. and Piozzi, F. (2009). Comparative chemical composition, free radical-scavenging and cytotoxic properties of essential oils of six Stachys species from different regions of the Mediterranean Area. Food Chemistry, 116(4), 898–905.

Cornara, L., Biagi, M., Xiao, J. and Burlando, B. (2017). Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. Frontiers in Pharmacology, 8(JUN), 261216.

da Costa, M. R., de Alencar, E. R., dos Santos Leandro, E., Mendonça, M. A. and de Souza Ferreira, W. F. (2018). Characterization of the kefir beverage produced from yam (Colocasia esculenta L.), sesame seed (Sesamum indicum L.) and bean (Phaseolus vulgaris L.) extracts. Journal of Food Science and Technology, 55(12), 4851–4858.

da SILVA, C. F. G., Santos, F. L., de SANTANA, L. R. R., Silva, M. V. L. and Conceição, T. de A. (2018). Development and characterization of a soymilk kefir-based functional beverage. Food Science and Technology (Brazil), 38(3), 543–550.

de Souza, R. R., de Abreu, V. H. R. and de Novais, J. S. (2019). Melissopalynology in Brazil: a map of pollen types and published productions between 2005 and 2017. Palynology, 43(4), 690–700.

Demir, B. (2020). Kuşburnu Marmelatı İlaveli Kefirin Depolama Süresince Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi.

Denisow, Bożena, Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. Journal of the science of food and agriculture, 96(13), 4303–4309.

Denisow, Bożena, Denisow, P. M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. Science of Food and Agriculture, 96, 4303–4309.

Dobson, A., O’Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, P. and Hill, C. (2011). High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. FEMS Microbiology Letters, 320(1), 56–62.

Dursun, İ., Felek, İ. and Çobanoğlu, D. N. (2024). Analyzing the Antioxidant Activity and Fatty Acid Composition of Monofloral Mullein (*Verbascum* sp.) Pollen Oil obtained via Various Extraction Techniques. *Chemistry & Biodiversity*, 21(3), e202400117.

Farag, M. A., Jomaa, S. A., El-wahed, A. A. and El-seedi, H. R. (2020a). The Many Faces of Kefir Fermented Dairy Products: Quality Characteristics, Flavour Chemistry, Nutritional Value, Health Benefits, and Safety. *Nutrients*, 12(2).

Farag, M. A., Jomaa, S. A., El-wahed, A. A. and El-seedi, H. R. (2020b). The Many Faces of Kefir Fermented Dairy Products: Quality Characteristics, Flavour Chemistry, Nutritional Value, Health Benefits, and Safety. *Nutrients* 2020, Vol. 12, Page 346, 12(2), 346.

Fatahi, A., Soleimani, N. and Afrough, P. (2021). Anticancer Activity of Kefir on Glioblastoma Cancer Cell as a New Treatment. *International Journal of Food Science*, 2021.

Feas, X., Vazquez-Tato, M. P., Estevinho, L., Seijas, J. A. and Iglesias, A. (2012). Organic bee pollen: Botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17(7), 8359–8377.

Felek, İ., Dündar, O. and Çobanoğlu, D. N. (2021). Palynological, Antioxidant and Physicochemical Properties of Pollen Loads from Eastern Anatolia. *Bee Studies-Apiculture Research Institute*, 13(2), 31–38.

Frengova, G. I., Simova, E. D. and Beshkova, D. M. (2002). Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria of Kefir Grains.

Ganatsios, V., Nigam, P., Plessas, S. and Terpou, A. (2021). Kefir as a functional beverage gaining momentum towards its health promoting attributes. *Beverages*, 7(3), 1–15.

Gilliam, M. (1979). Microbiology of Pollen and Bee Bread: the Yeasts. *Apidologie*, 10(1), 43–53.

Gizem, A. (2018). Yenilebilir Kıvamda Üretilen Meyveli Kefirlerin Fizikokimyasal, Duyusal Ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Akdeniz Üniversitesi.

Goncu, B., Celikel, A., Guler-Akin, M. B. and Akin, M. S. (2017). Some properties of kefir enriched with apple and lemon fiber. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 67(3), 208–216.

Granato, D., Nunes, D. S. and Barba, F. J. (2017). An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal. *Trends in Food Science and Technology*, 62(December 2016), 13–22.

Grishina, A., Kulikova, I., Alieva, L., Dodson, A., Rowland, I. and Jin, J. (2011). Antigenotoxic effect of kefir and ayran supernatants on fecal water-induced DNA

damage in human colon cells. *Nutrition and Cancer*, 63(1), 73–79.

Grønnevik, H., Falstad, M. and Narvhus, J. A. (2011). Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International Dairy Journal*, 21(9), 601–606.

Gul, O., Atalar, I., Mortas, M. and Dervisoglu, M. (2018a). Orig In Al Rese Arch Rheological, textural, colour and sensorial properties of kefir produced with buffalo milk using kefir grains and starter culture: A comparison with cows' milk kefir.

Gul, O., Atalar, I., Mortas, M. and Dervisoglu, M. (2018b). Rheological, textural, colour and sensorial properties of kefir produced with buffalo milk using kefir grains and starter culture: A comparison with cows' milk kefir. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 73–80.

Gün, İ. (2022). Comparison of composition, sensory properties and aroma compounds of kefir produced from donkey milk and cow milk. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 72(4), 213–225.

Gunenc, A., Yeung, M. H., Laverne, C., Bertinato, J. and Hosseinian, F. (2017). Enhancements of antioxidant activity and mineral solubility of germinated wrinkled lentils during fermentation in kefir. *Journal of Functional Foods*, 32, 72–79.

Guzel-Seydim, Z. B., Kok-Tas, T., Greene, A. K. and Seydim, A. C. (2011). Review: Functional properties of kefir. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 261–268.

Güzel-Seydim, Z. B., Seydim, A. C., Greene, A. K. and Bodine, A. B. (2000). Determination of Organic Acids and Volatile Flavor Substances in Kefir during Fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(1), 35–43.

Ham, S. S., Kim, S. H., Moon, S. Y., Chung, M. J., Cui, C. B., Han, E. K. and Choe, M. (2009). Antimutagenic effects of subfractions of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 672(1), 55–59.

Hsu, Y. J., Huang, W. C., Lin, J. S., Chen, Y. M., Ho, S. T., Huang, C. C. and Tung, Y. T. (2018). Kefir Supplementation Modifies Gut Microbiota Composition, Reduces Physical Fatigue, and Improves Exercise Performance in Mice. *Nutrients* 2018, Vol. 10, Page 862, 10(7), 862.

Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. and Ibanez, F. C. (2005). Food Chemistry Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90, 613–620.

Ishikawa, Y., Tokura, T., Nakano, N., Hara, M., Niyonsaba, F., Ushio, H. and Ogawa, H. (2008). Inhibitory Effect of Honeybee-Collected Pollen on Mast Cell Degranulation In Vivo and In Vitro. <https://home.liebertpub.com/jmf>, 11(1), 14–20.

Jiménez, P. J., Serrano, J., Tabernero, M., Arranz, S., Díaz-Rubio, M. E., García-Diz, L. and Saura-Calixto, F. (2008). Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. *Nutrition*, 24(7–8), 646–653.

Kabak, B. and Dobson, A. D. W. (2011). An Introduction to the Traditional Fermented Foods and Beverages of Turkey An Introduction to the Traditional. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 248–260.

Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H. and Turkoglu, H. (2011). Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4), 1065–1072.

Karabagias, I. K., Karabagias, V. K., Gatzias, I. and Riganakos, K. A. (2018a). Bio-functional properties of bee pollen: The case of bee pollen yoghurt. *Coatings*, 8(12).

Karabagias, I. K., Karabagias, V. K., Gatzias, I. and Riganakos, K. A. (2018b). Bio-Functional Properties of Bee Pollen: The Case of Bee Pollen Yoghurt. *Coatings* 2018, Vol. 8, Page 423, 8(12), 423.

Karagözlü, C., Ünal, G., Akalın, A. S., Akan, E. and Kınık, Ö. (2018). the Supplementary Effect of Black and Green Tea Infusion on Antimicrobial Activities of Kefir. *Food and Health*, (April), 124–131.

Kaškonienė, V., Adaškevičiūtė, V., Kaškonas, P., Mickienė, R. and Maruška, A. (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of natural and fermented bee pollen. *Food Bioscience*, 34(January).

Khalifa, S. A. M., Elashal, M. H., Yosri, N., Du, M., Musharraf, S. G., Nahar, L. and El-Seedi, H. R. (2021). Bee Pollen: Current Status and Therapeutic Potential *Nutrients* 2021, Vol. 13, Page 1876, 13(6), 1876.

Khider, M., Elbanna, K., Mahmoud, A. and Owayss, A. A. (2013). Egyptian honeybee pollen as antimicrobial, antioxidant agents, and dietary food supplements. *Food Science and Biotechnology*, 22(5), 1–9.

Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Błazejak, S., Chlebowska-Śmigiel, A. and Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 71(March 2017), 170–180.

Kim, D.-H., Jeong, D., Oh, Y.-T., Song, K.-Y., Kim, H.-S., Chon, J.-W. and Seo, K.-H. (2017). Stimulating the Growth of Kefir-isolated Lactic Acid Bacteria using Addition of Crude Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) Extract. *Journal of Milk Science and Biotechnology*, 35(2), 93–97.

Kim, D. H., Jeong, D., Kim, H. and Seo, K. H. (2019). Modern perspectives on the health benefits of kefir in next generation sequencing era: Improvement of the host gut microbiota. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(11), 1782–1793.

Kim, G. N., Shin, J. G. and Jang, H. D. (2009). Antioxidant and antidiabetic activity of

Dangyuja (*Citrus grandis* Osbeck) extract treated with *Aspergillus saitoi*. *Food Chemistry*, 117(1), 35–41.

Kim, Y. J. and Liu, R. (2002). Increase of Conjugated Linoleic Acid Content in Milk by Fermentation. *Food and Chemical Toxicology*, 67(5), 1731–1737.

Kırdar, S. S. (2019). *Süt ve Ürünlerinde Laboratuvar Uygulamaları-Analiz Yöntemleri*. (S. S. KIRDAR, Ed.), Sidas. Ankara, Türkiye.

Kıvanç, M., Yapıcı, E. (2015). Kefir as a Probiotic Dairy Beverage: Determination Lactic Acid Bacteria and Yeast. *ETP International Journal of Food Engineering*, 1(1), 55–60.

Kolaç, T., Gürbüz, P. ve Yetiş, G. (2017). Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 5(1), 26–42.

Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kafmierczak, J., Mencner, L. and Olczyk, K. (2015). Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application.

Kostić, A., Milinčić, D. D., Barać, M. B., Shariati, M. A., Tešić, Ž. L. and Pešić, M. B. (2020). The application of pollen as a functional food and feed ingredient—the present and perspectives. *Biomolecules*, 10(1).

Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F. and Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113(9), 71–88.

Kumar, M. R., Yeap, S. K., Lee, H. C., Mohamad, N. E., Nazirul Mubin Aziz, M., Khalid, M. and Alitheen, N. B. (2021). Selected Kefir Water from Malaysia Attenuates Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress by Upregulating Endogenous Antioxidant Levels in SH-SY5Y Neuroblastoma Cells. *Antioxidants* 2021, Vol. 10, Page 940, 10(6), 940.

Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar, A. (2012). *Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi* (10. Baskı). Erzurum: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesis.

Kwon, Y. I., Apostolidis, E. and Shetty, K. (2006). Anti-diabetes functionality of Kefir culture-Mediated fermented soymilk supplemented with *Rhodiola* extracts. *Food Biotechnology*, 20(1), 13–29.

Lagouri, V., Dimitreli, G. and Kouvatsi, A. (2018). Effects of Greek Pomegranate Extracts in the Antioxidant Properties and Storage Stability of Kefir. *Current Bioactive Compounds*, 15(4), 437–441.

Li, Q. Q., Wang, K., Marcucci, M. C., Sawaya, A. C. H. F., Hu, L., Xue, X. F. and Hu, F. L. 2018a. Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. *Journal of Functional Foods*, 49(June), 472–484.

- Li, Q. Q., Wang, K., Marcucci, M. C., Sawaya, A. C. H. F., Hu, L., Xue, X. F. and Hu, F. L. (2018b). Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. *Journal of Functional Foods*, 49, 472–484.
- Loper, G. M., Standifer, L. N., Thomson, M. J. and Gilliam, M. (1980). Biochemistry And Microbiology Of Bee-Collected Almond (*Prunus Dulcis*) Pollen And Bee Bread. *Apidologie*, 11(1), 63–73.
- Lubna, M. H., Rifda, N., Erminawati, M., Tir, Y. and Ibrahim, Khideer, I. K. (2023). Effect of incubation temperature, time and skimmed milk ratio on the quality of peanut kefir. *Journal homepage*, 7(1), 177–181.
- Luo, J., Liu, S., Lu, H., Chen, Q. and Shi, Y. (2023). Microbial Community Variations and Bioconversion Improvements during Soybean-Based Fermentation by Kefir Grains. *Foods*, 12(8).
- Magalhães, K. T., de Pereira, G. V. M., Dias, D. R. and Schwan, R. F. (2010). Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(7), 1241–1250.
- Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N. and Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, 29(3), 365–373.
- Mechmeche, M., Kachouri, F., Ksontini, H., Setti, K. and Hamdi, M. (2018). Bioprocess development and preservation of functional food from tomato seed isolate fermented by kefir culture mixture. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 3911–3921.
- Medeiros, K. C. P., Figueiredo, C. A. V., Figueredo, T. B., Freire, K. R. L., Santos, F. A. R., Alcantara-Neves, N. M. and Piuvezam, M. R. (2008). Anti-allergic effect of bee pollen phenolic extract and myricetin in ovalbumin-sensitized mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 41–46.
- Moita, E., Sousa, C., Andrade, P. B., Fernandes, F., Pinho, B. R., Silva, L. R. and Valentão, P. (2014). Effects of echium plantagineum L. Bee pollen on basophil degranulation: Relationship with metabolic profile. *Molecules*, 19(7), 10635–10649.
- Montibeller, M. J., de Lima Monteiro, P., Tupuna-Yerovi, D. S., Rios, A. de O. and Manfro, V. (2018). Stability assessment of anthocyanins obtained from skin grape applied in kefir and carbonated water as a natural colorant. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(8), e13698.
- Moradi, S. and Nouri, M. (2023). Production of functional kefir supplemented by *Portulaca oleracea* L. seed oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(5), 5000–5011.
- Mozaffarian, D. (2016). Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity. *Circulation*, 133(2), 187–225.

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. *Revista de Biologia Tropical*, 66(4), 1597–1605.

Nejati, F., Junne, S. and Neubauer, P. (2020). A big world in small grain: A review of natural milk Kefir starters. *Microorganisms*, 8(2).

Okur, Ö. D. (2022). An evaluation of the quality characteristics of kefir fortified with olive (*Olea europaea*) leaf extract. *British Food Journal*, 124(5), 1727–1736.

Ozmen-Togay, S., Gulkun, G., Degirmencioglu, N., Guldaz, M., Yildiz, E., Sahan, Y. and Gurbuz, O. (2022). Impact of coffee silverskin on in vitro viability of kefir culture during storage. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 72(1), 22–32.

Panche, A. N., Diwan, A. D. and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, 1–15.

Perna, A., Simonetti, A. and Gambacorta, E. (2019). Phenolic content and antioxidant activity of donkey milk kefir fortified with sulla honey and rosemary essential oil during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1), 74–81.

Prado, M. R., Blandón, L. M., Vandenberghe, L. P. S., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V. and Soccol, C. R. (2015). Milk kefir: Composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology*, 6(OCT).

Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabała-Dzik, A., Kubina, R. and Buszman, E. (2015). Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity. *Molecules*, 20, 21732–21749.

Saadi, L. O., Zaidi, F., Oomah, B. D., Haros, M., Yebra, M. J. and Hosseinian, F. (2017). Pulse ingredients supplementation affects kefir quality and antioxidant capacity during storage. *LWT*, 86, 619–626.

Saleem, K., Ikram, A., Saeed, F., Afzaal, M., Ateeq, H., Hussain, M. and Asif Shah, M. 2023. Nutritional and functional properties of kefir: review. *International Journal of Food Properties*, 26(2), 3261–3274.

Sanjukta, S. and Rai, A. K. (2016). Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits. *Trends in Food Science and Technology*, 50, 1–10.

Seglina, D., Krasnova, I. and Alsina, S. (2021). *Lonicera caerulea* L. as a Source of Biologically Active Compounds for the Enrichment of Fermented Milk Product. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences*, 75(6), 449–456.

Settanni, L., Cruciata, M., Guarcello, R., Francesca, N., Moschetti, G., La Carrubba, V. and Gaglio, R. (2020). Valorisation of Dairy Wastes Through Kefir Grain Production. *Waste and Biomass Valorization*, 11(8), 3979–3985.

Setyawardani, T., Sumarmono, J. and Widayaka, K. (2020). Physical and Microstructural Characteristics of Kefir Made of Milk and Colostrum. *Buletin Peternakan*, 44(1), 43–49.

Silici, S. (2014). Ari Polenî ve Ari Ekmeği. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 14(2), 99–105.

Soares de Arruda, V. A., Vieria dos Santos, A., Figueiredo Sampaio, D., da Silva Araújo, E., de Castro Peixoto, A. L., Estevinho, L. M. and de Almeida-Muradian, L. B. (2021). Brazilian bee pollen: phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Journal of Apicultural Research*, 60(5), 775–783.

Sözeri Atik, D., Gürbüz, B., Bölük, E. and Palabıyık, İ. (2021). Development of vegan kefir fortified with *Spirulina platensis*. *Food Bioscience*, 42(March).

Sulmiyati, Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R. and Maruddin, F. (2019). The Physicochemical, Microbiology, and Sensory Characteristics of Kefir Goat Milk with Different Levels of Kefir Grain. *Tropical Animal Science Journal*, 42(2), 152–158.

Taheur, F. Ben, Chahbani, A., Mansour, C., Mokni, A., Amira, A. Ben, Jridi, M., and Zouari, N. (2023). Functional properties of a kefir-based probiotic dairy product enriched with red prickly pear (*Opuntia dillenii*) powder. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(6), 6522–6535.

Talib, N., Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Hussin, Y., Mubin Aziz, M. N., Masarudin, M. J. and Alitheen, N. B. (2019). Isolation and Characterization of *Lactobacillus* spp. from Kefir Samples in Malaysia. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 2606, 24(14), 2606.

Taş, T. K., İlay, E. ve Öker, A. (2014). Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi Pekmez ve Erik Kullanılarak Üretilen Kefirlerin, 2(2), 86–91.

Taşkın, B. and Bağdatlıoğlu, N. (2020). Influence of Conventional Fermentation on Antioxidant Activity and Phenolic Contents of Two Common Dairy Products: Yogurt and Kefir. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(6), 1277–1282.

Terzaghi, B. E. and Sandine, W. E. (1975). Improved Medium for Lactic Streptococci and Their Bacteriophages. *Applied Microbiology*, 29(6), 807–813.

Tomar, O., Akarca, G. 2018. Farklı Yağ İçeriklerine Sahip İnek ve Manda Sütünün Kefir Danesi ve Starter Kültürle Kefir İçeceği Üretiminde Kullanılması: Depolama Süresince Protein ve Tirozin İçerikleri. *Akademik Gıda*, 16, 395–402.

Travičić, V., Šovljanski, O., Tomić, A., Perović, M., Milošević, M., Četković, N. and Antov, M. (2023). Augmenting Functional and Sensorial Quality Attributes of Kefir through Fortification with Encapsulated Blackberry Juice. *Foods*, 12(22).

Uslu, G. (2019). Ankara Piyasasında Satılan Kefirlerin Mikrobiyolojik, Fiziksel, Kimyasal Ve Duyusal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma . Ankara Üniversitesi.

Üstün-Aytekin, Ö., Çoban, I. and Aktaş, B. (2022). Nutritional value, sensory properties, and antioxidant activity of a traditional kefir produced with *Arthrospira platensis*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), e16380.

Uțoiu, E., Matei, F., Toma, A., Diguță, C. F., Ștefan, L. M., Mănoiu, S. and Oancea, F. (2018). Bee collected pollen with enhanced health benefits, produced by fermentation with a Kombucha Consortium. *Nutrients*, 10(10), 1–24.

Vet, T. J., Sci, A., Selin, S., Yirmibeşoğlu, S., Emine, B. and Öztürk, T. (2020). Comparing microbiological profiles, bioactivities, and physicochemical and sensory properties of donkey milk kefir and cow milk kefir. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 44(4), 774–781.

Vieira, C. P., Rosario, A. I. L. S., Lelis, C. A., Rekowsky, B. S. S., Carvalho, A. P. A., Rosário, D. K. A. and Conte-Junior, C. A. (2021). Bioactive Compounds from Kefir and Their Potential Benefits on Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021.

Vimercati, W. C., Araújo, C. da S., Macedo, L. L., Fonseca, H. C., Guimarães, J. S., Abreu, L. R. de, Pinto, S. M. (2020). Physicochemical, rheological, microbiological and sensory properties of newly developed coffee flavored kefir. *Lwt*, 123(October 2019), 109069.

Witthuhn, R. C., Schoeman, T. and Britz, T. J. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *International Dairy Journal*, 15(4), 383–389.

Wszolek, M., Tamime, A. Y., Muir, D. D. and Barclay, M. N. I. (2001). Properties of Kefir made in Scotland and Poland using Bovine, Caprine and Ovine Milk with Different Starter Cultures. *Lwt*, 34(4), 251–261.

Wulansari, P. D., Nurliyani, Endah, S. R. N., Nofriyaldi, A. and Harmayani, E. (2022). Microbiological, chemical, fatty acid and antioxidant characteristics of goat milk kefir enriched with *Moringa oleifera* leaf powder during storage. *Food Science and Technology (Brazil)*, 42, 1–10.

Wulansari, P. D., Rahayu, N. and Frasiska, N. (2020). The Effect of Incorporating Ginger Extract (*Zingiber officinale*) to Cow Milk Kefir: An Analysis of Antioxidant and Microbiological and Physicochemical Characteristics. *Animal Production*, 22(3), 148–153. Tarihinde adresinden erişildi <https://cabidigitallibrary.org>

Xi, X., Li, J., Guo, S., Li, Y., Xu, F., Zheng, M. and Han, C. (2018). The potential of using bee pollen in cosmetics: A review. *Journal of Oleo Science*, 67(9), 1071–1082.

Yan, S., Li, Q., Xue, X., Wang, K., Zhao, L. and Wu, L. (2019). Analysis of improved nutritional composition of bee pollen (*Brassica campestris* L.) after different fermentation

treatments. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(6), 2169–2181.

Ye, Q., Georges, N. and Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science and Technology*, 78(June), 167–179.

Yegin, Z., Yurt, M. N. Z., Tasbasi, B. B., Acar, E. E., Altunbas, O., Ucak, S. and Sudagidan, M. (2022). Determination of bacterial community structure of Turkish kefir beverages via metagenomic approach. *International Dairy Journal*, 129, 105337.

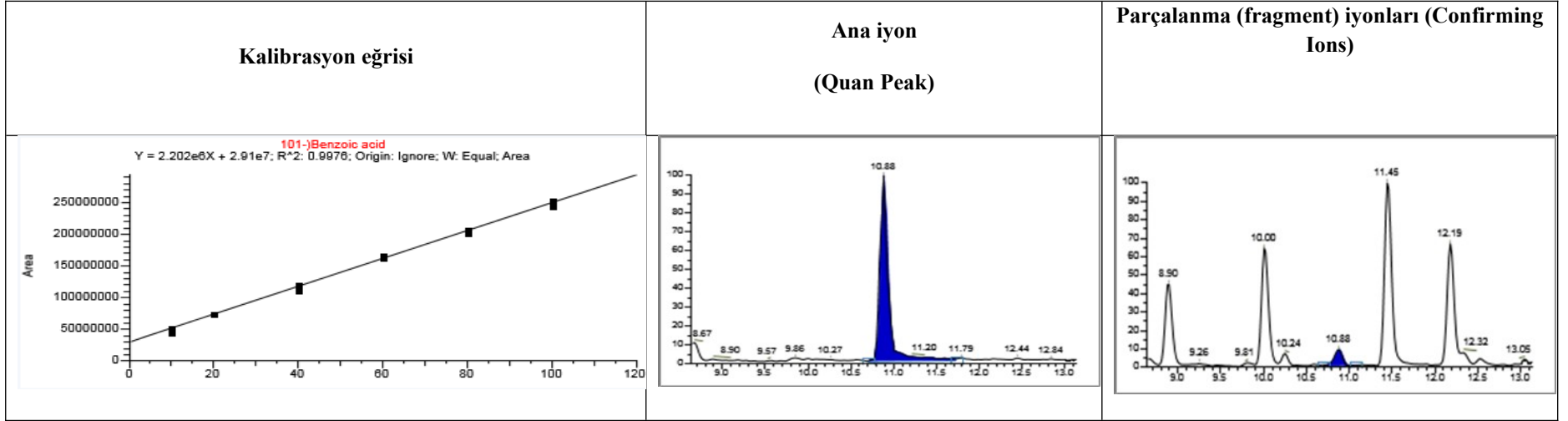
Yilmaz-Ersan, L., Ozcan, T., Akpınar-Bayizit, A. and Sahin, S. (2018). Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefirs. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3788–3798.

Zhang, Z., Cao, H., Chen, C., Chen, X., Wei, Q. and Zhao, F. (2017). Effects of fermentation by *Ganoderma lucidum* and *Saccharomyces cerevisiae* on rape pollen morphology and its wall. *Journal of Food Science and Technology*, 54(12), 4026–4034.

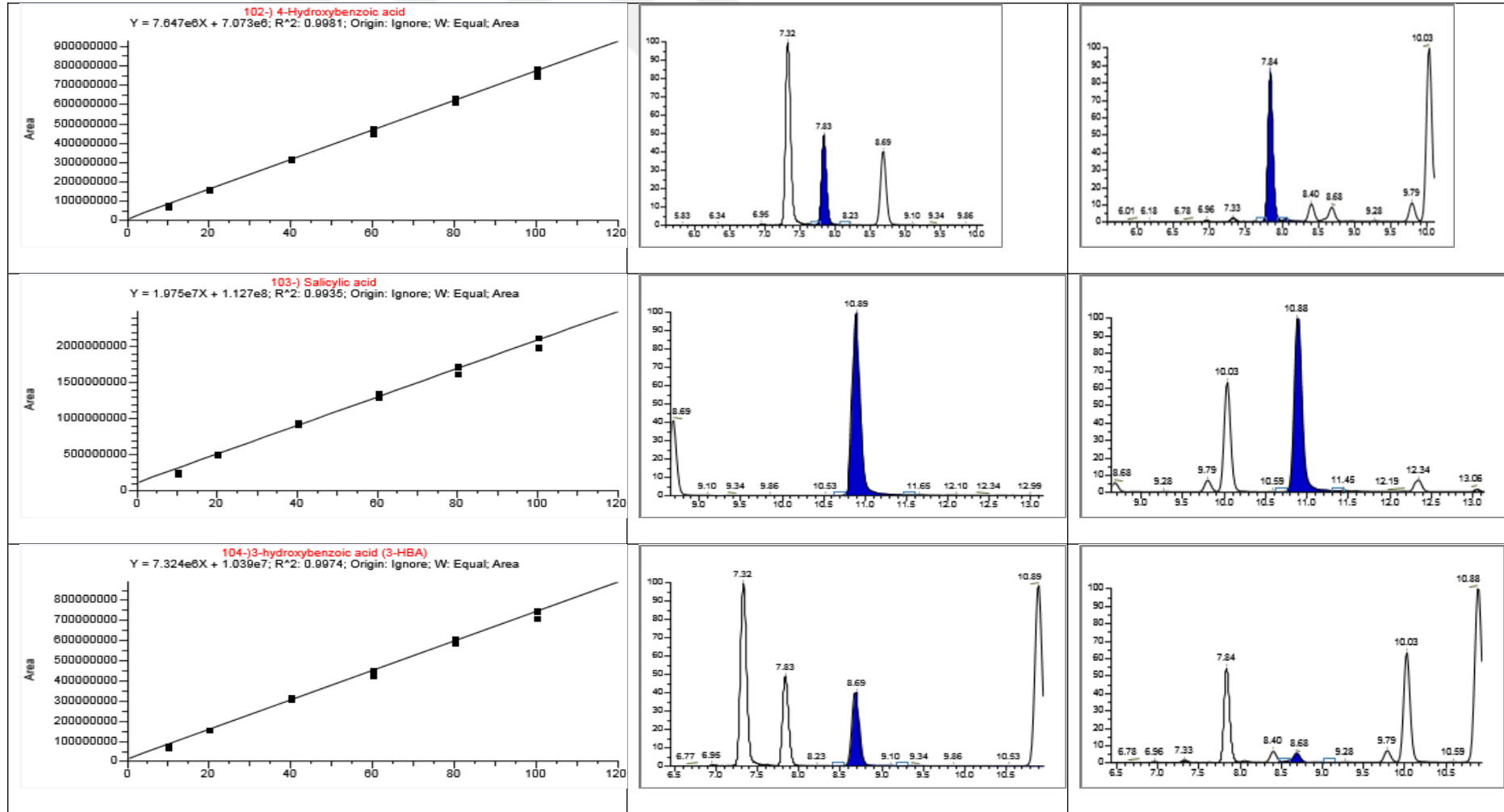
Znamirowska, A., Szajnar, K., Rożek, P., Kalicka, D., Kuzacutęniar, P., Hanus, P. and Kluz, M. (2017). Effect of addition of wild garlic (*Allium ursinum*) on the quality of kefirs from sheep's milk. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*, 16(2), 209–215.

EKLER

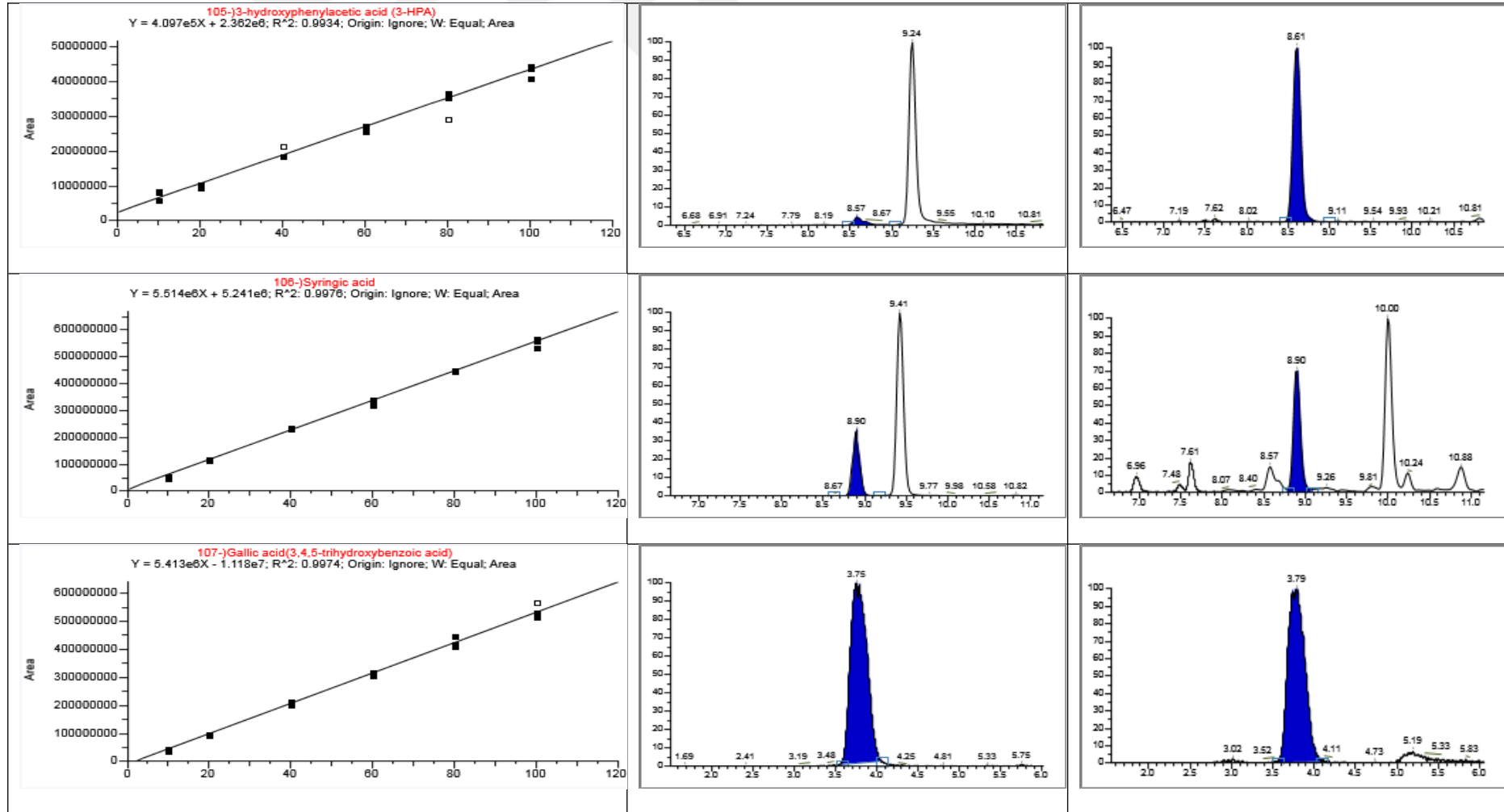
EK Tablo 1. LC-HRMS modundaki kalibrasyon grafiği, standart bileşiklerinin Quan peak (ana iyon) kromatogramları ve confirming ions (parçalanma fragment iyonları)'nın kromatogramları ve iyonlarının m/z oranları grafiği



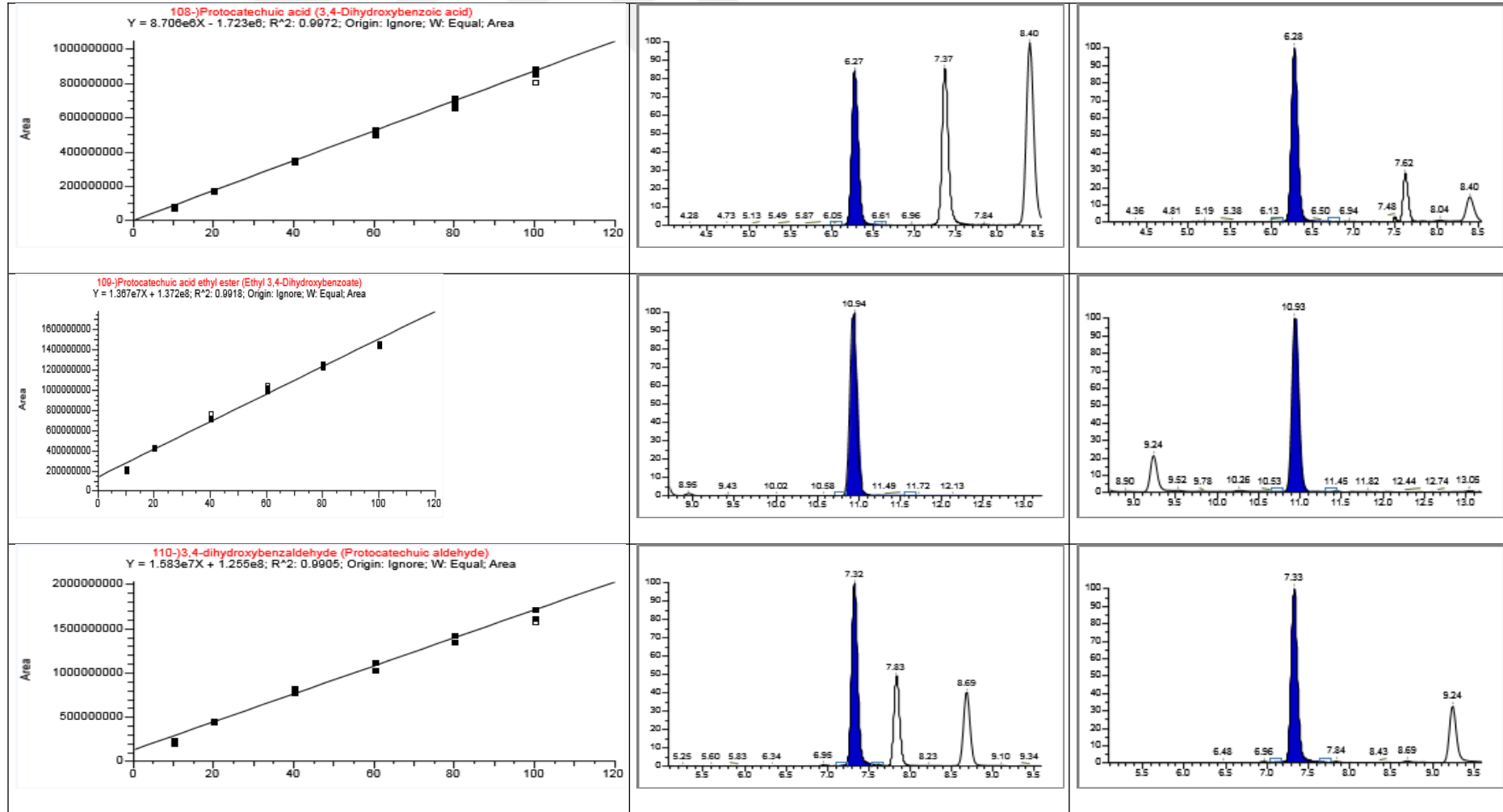
EK Tablo 1. devam ediyor



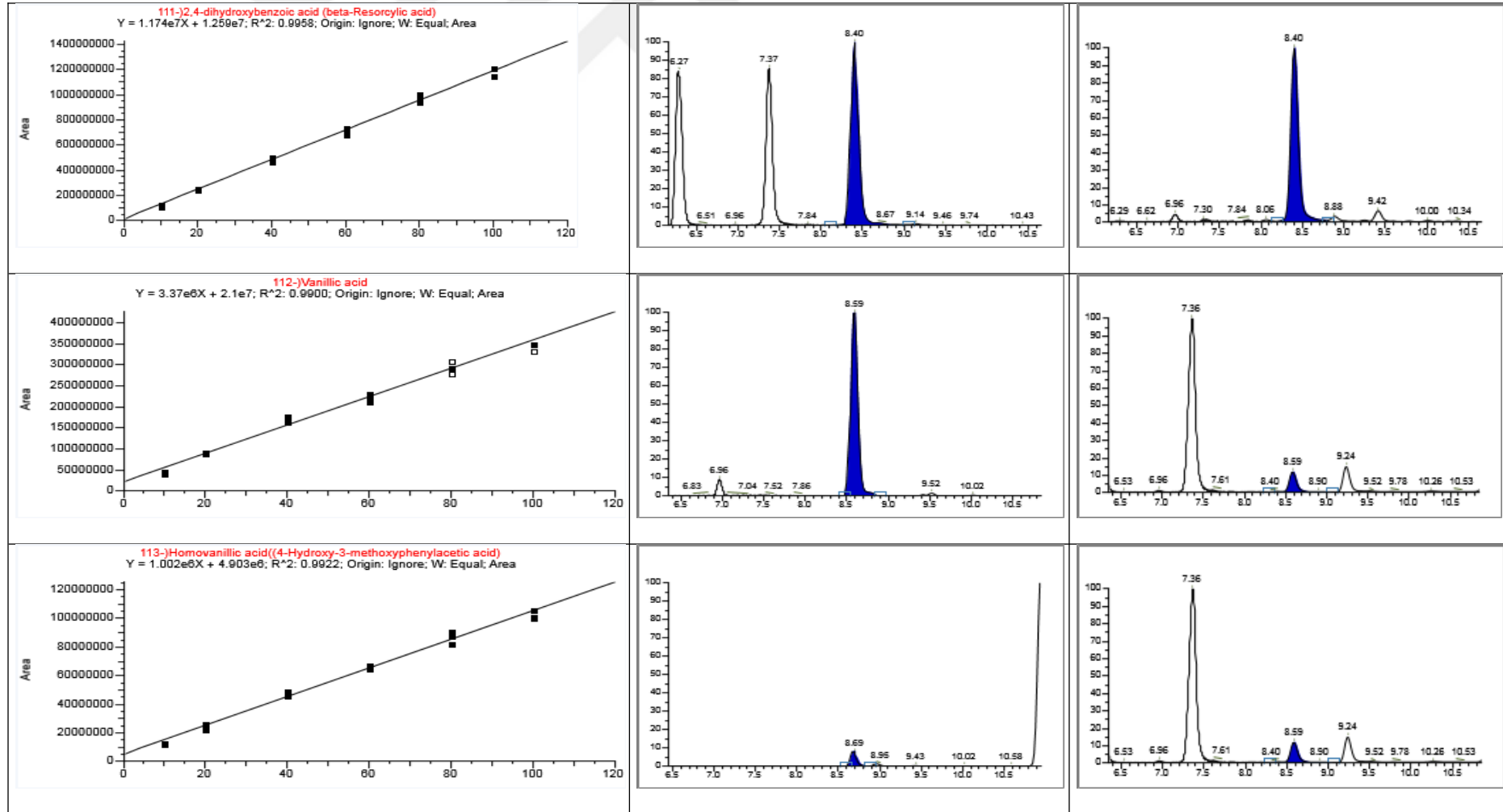
EK Tablo 1. devam ediyor



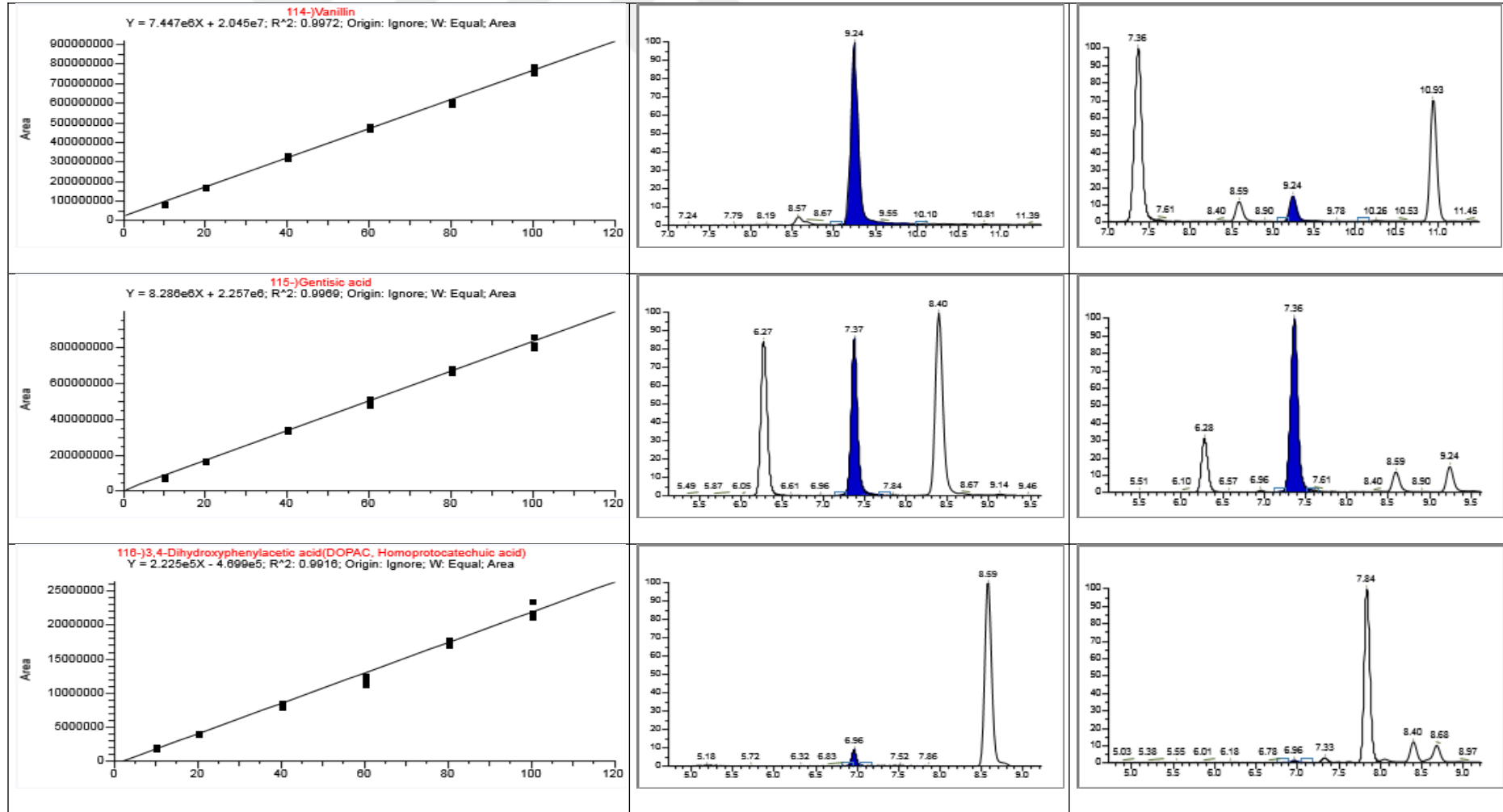
EK Tablo 1. devam ediyor



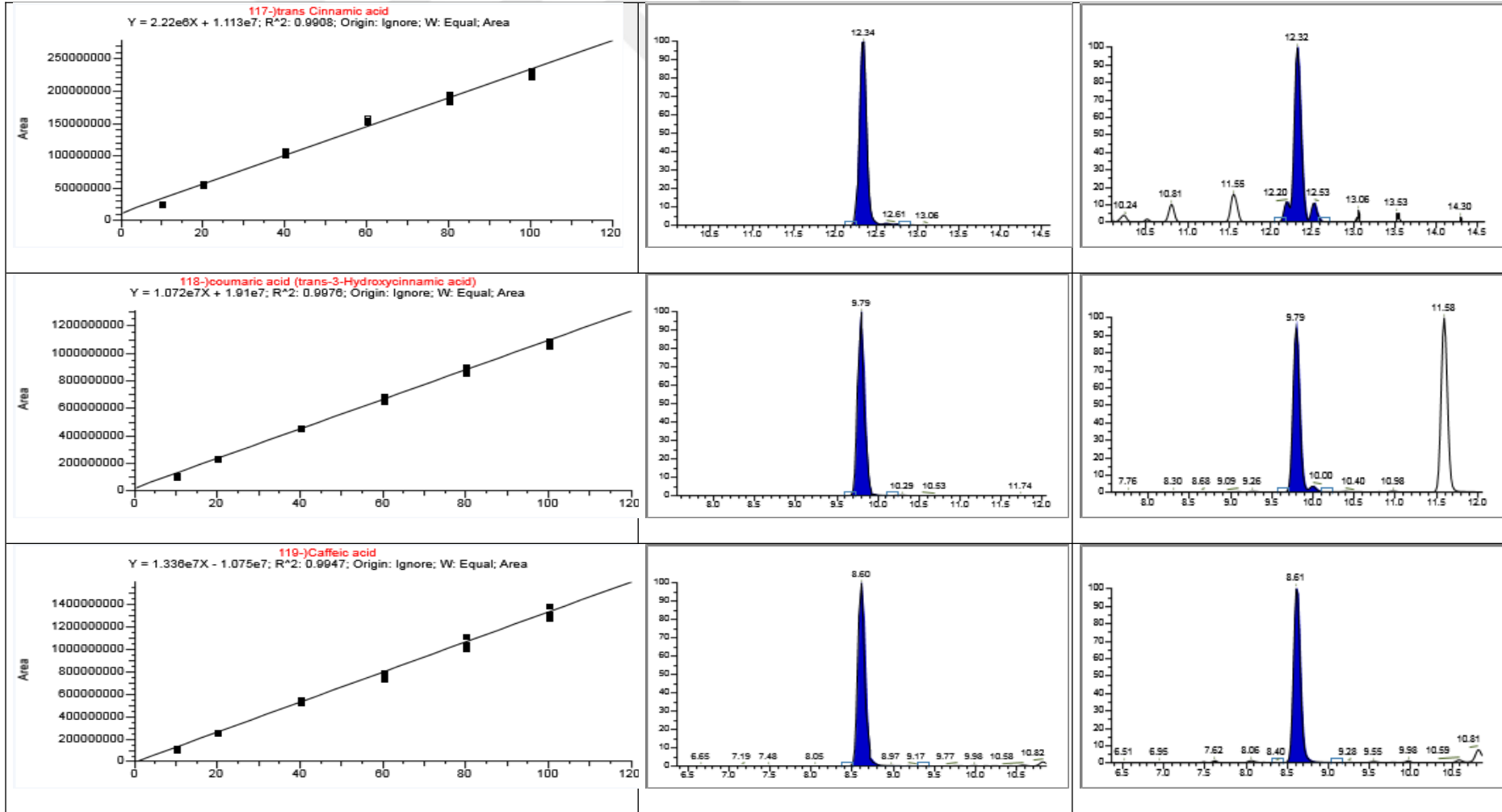
EK Tablo 1. devam ediyor



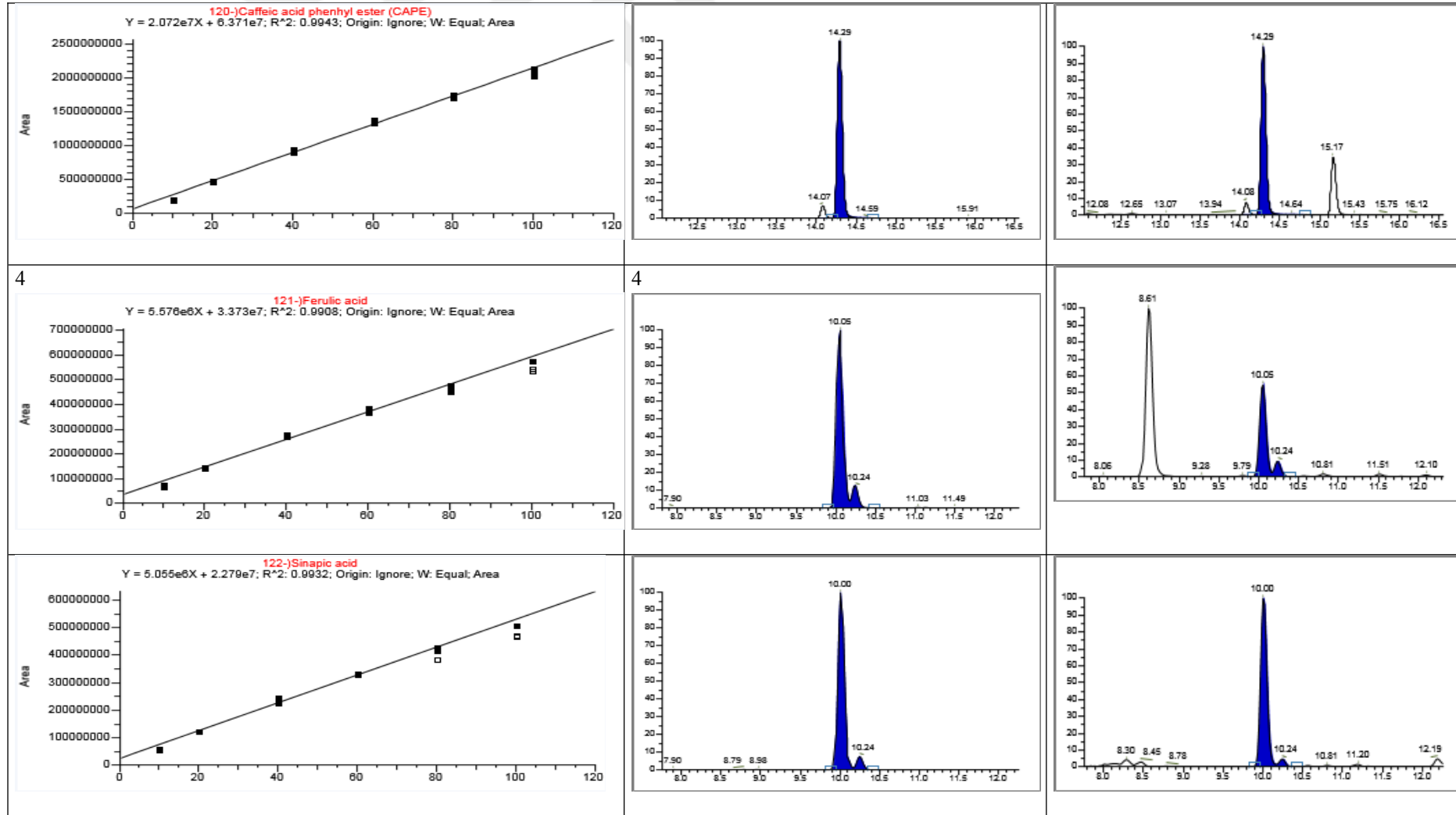
EK Tablo 1. devam ediyor



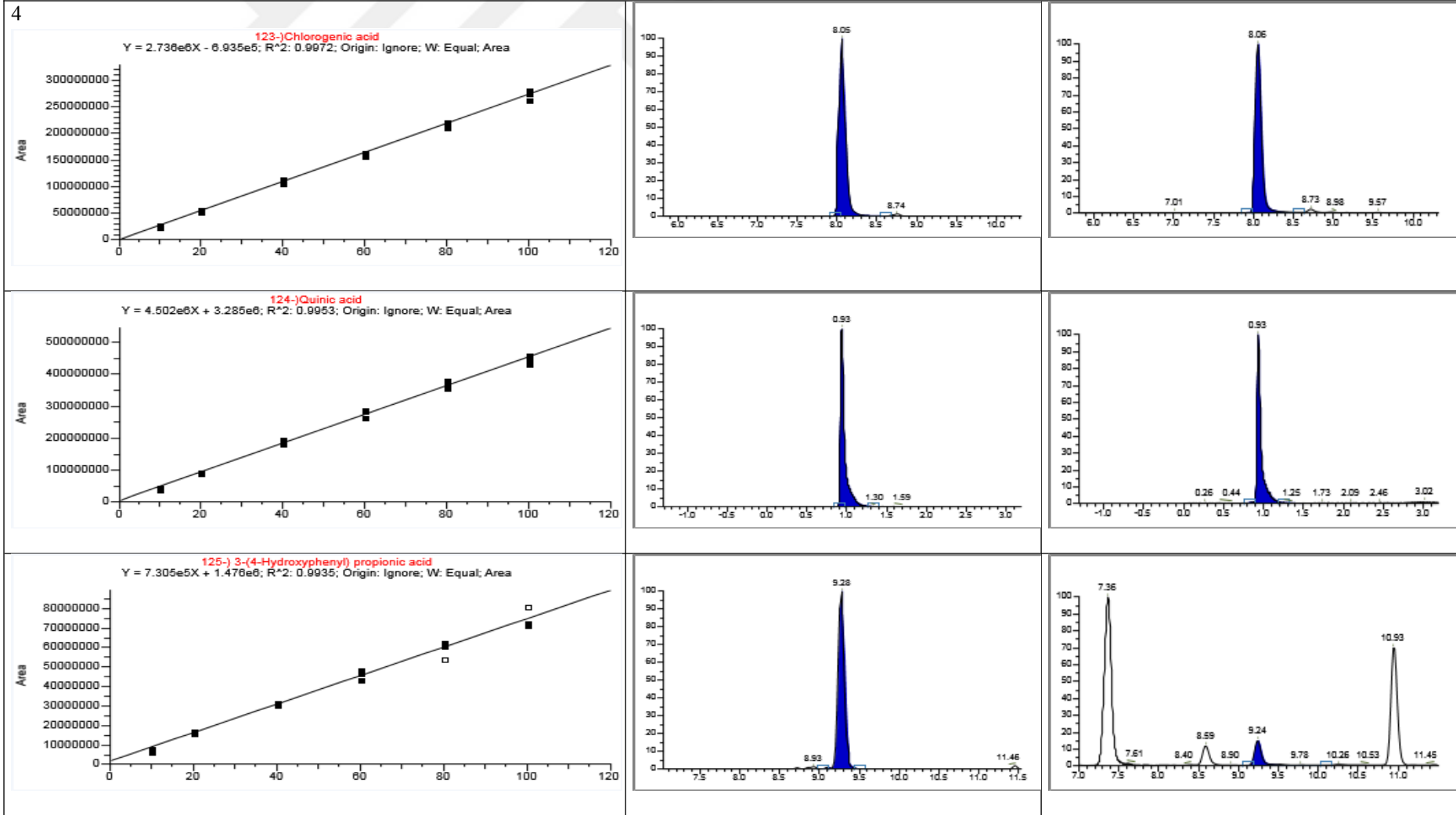
EK Tablo 1. devam ediyor



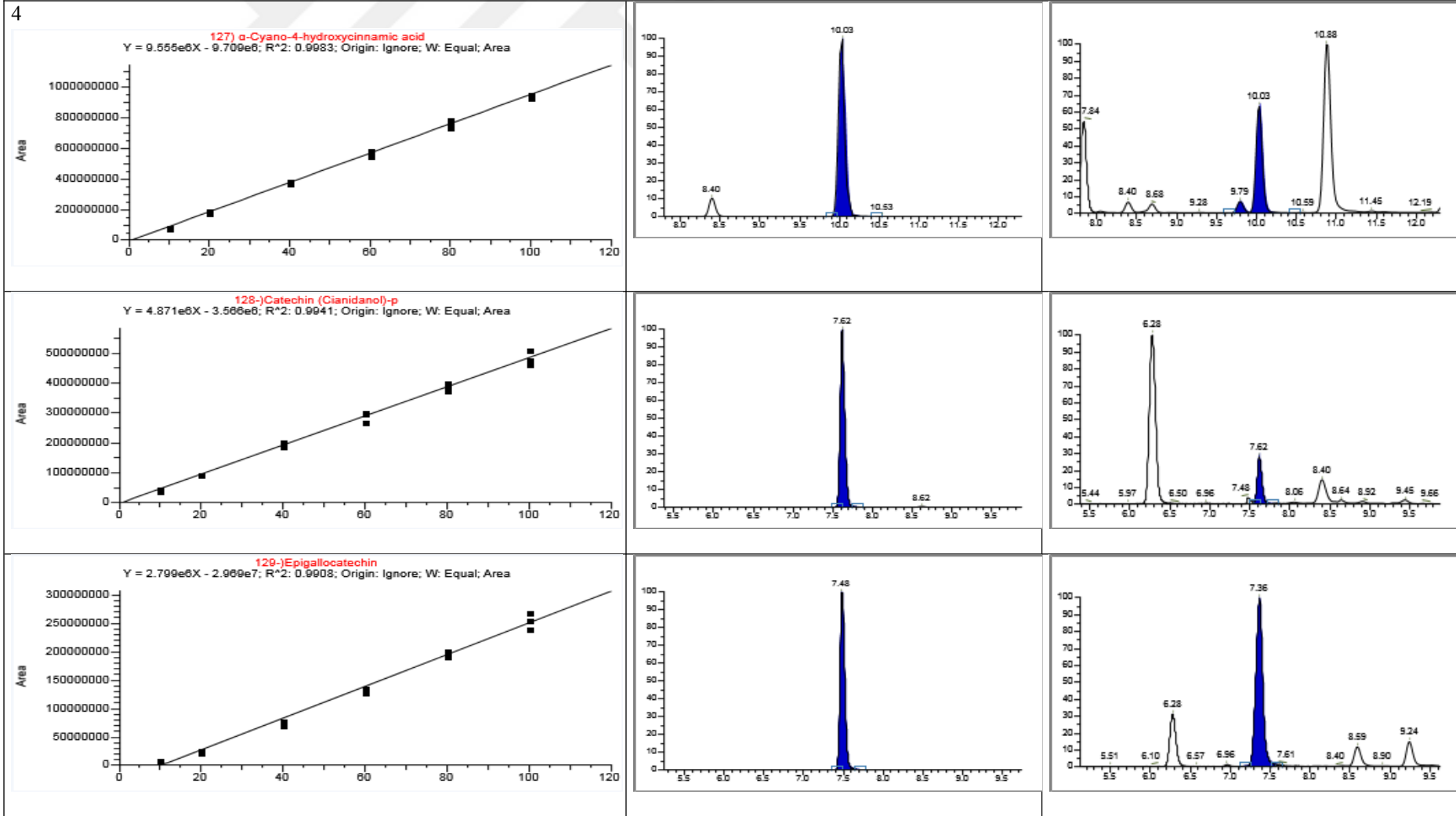
EK Tablo 1. devam ediyor



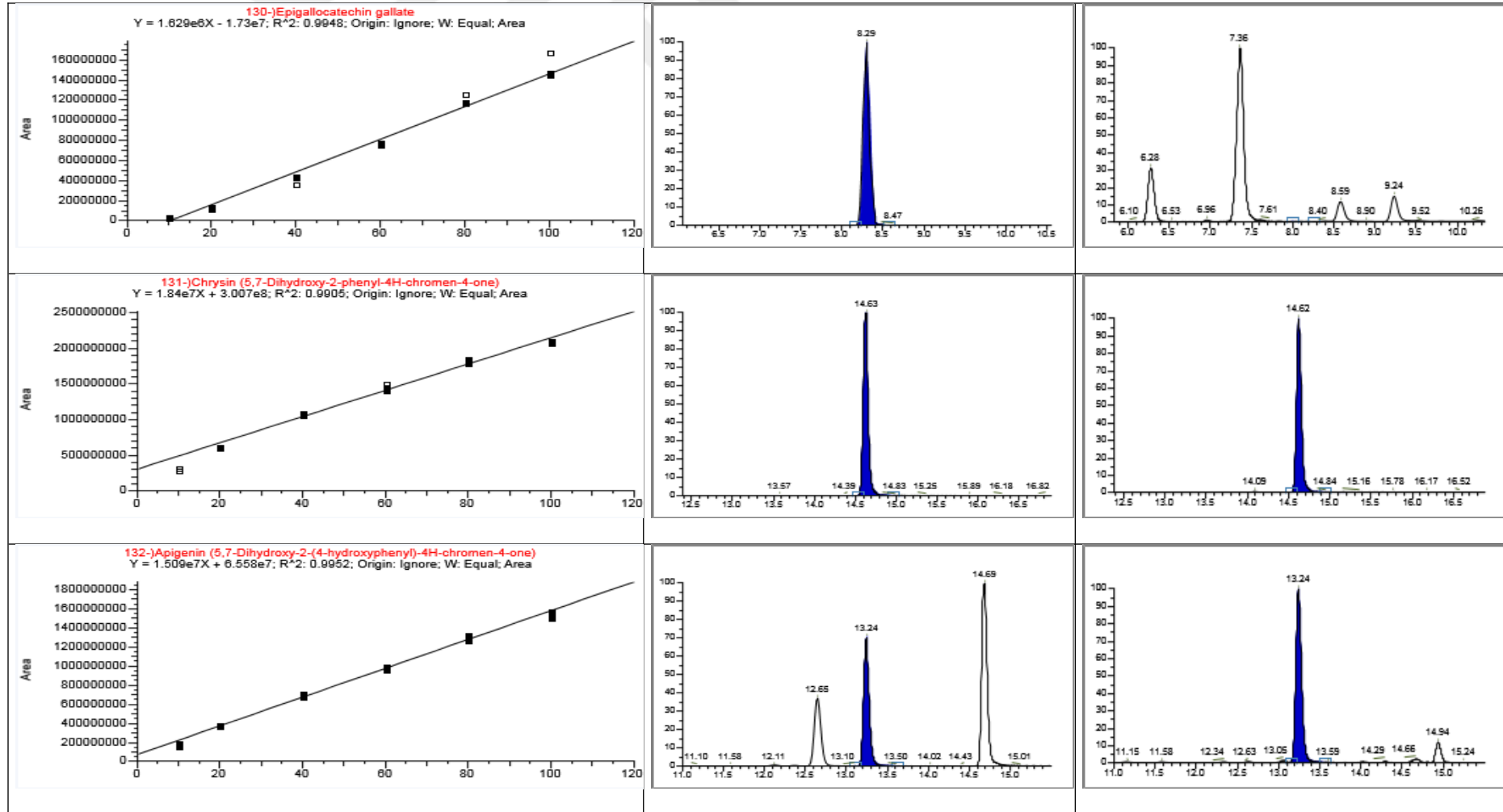
EK Tablo 1. devam ediyor



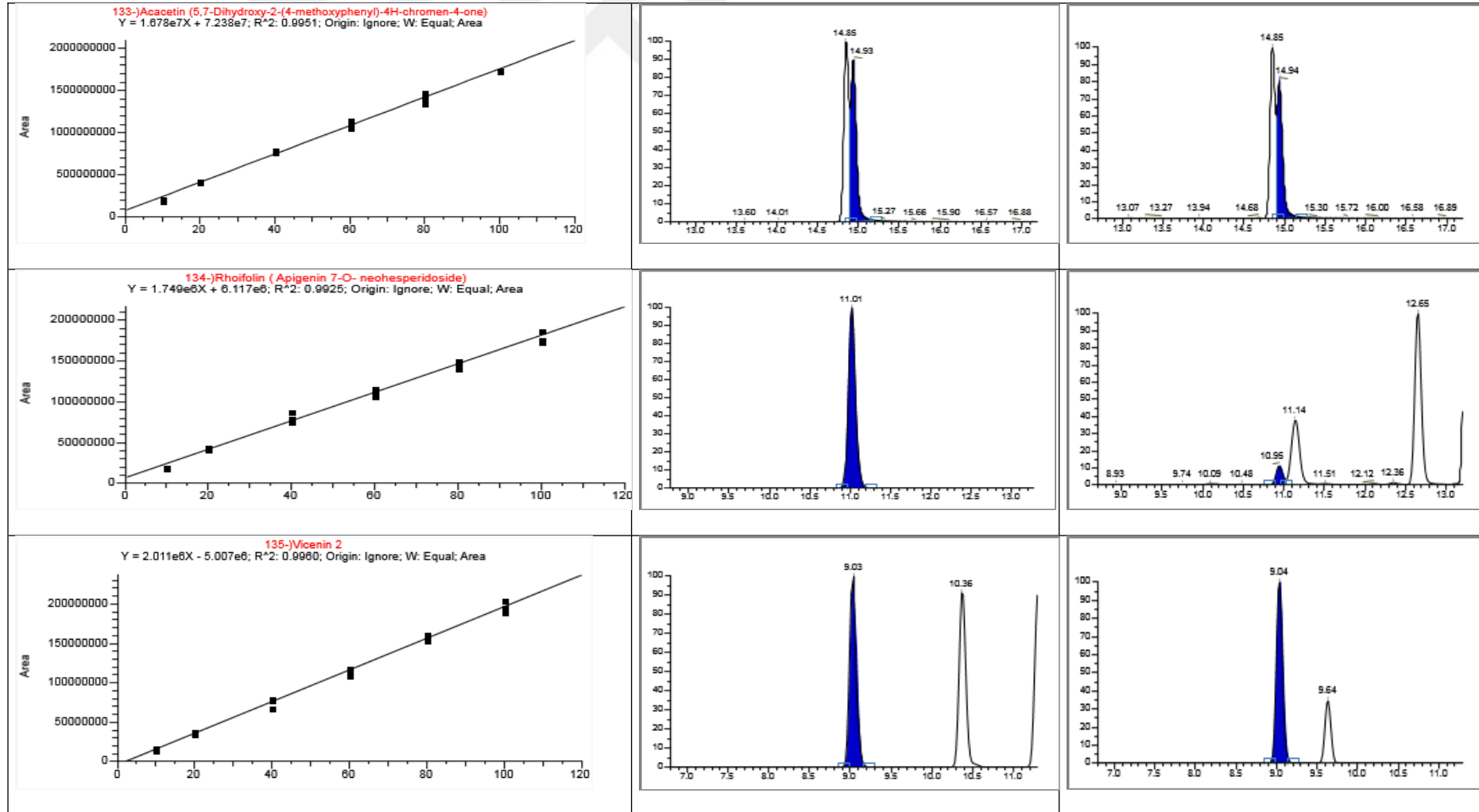
EK Tablo 1. devam ediyor



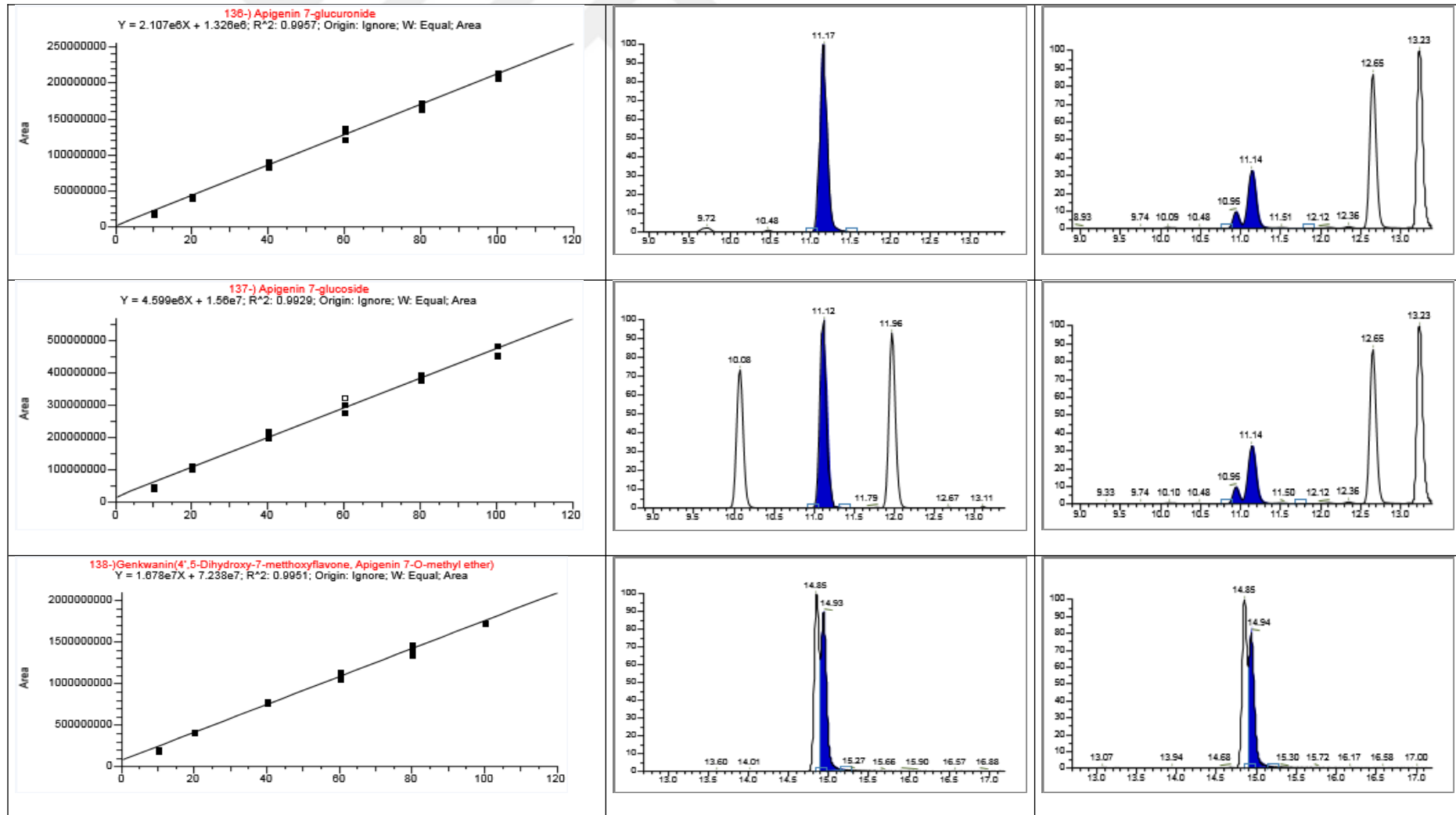
EK Tablo 1. devam ediyor



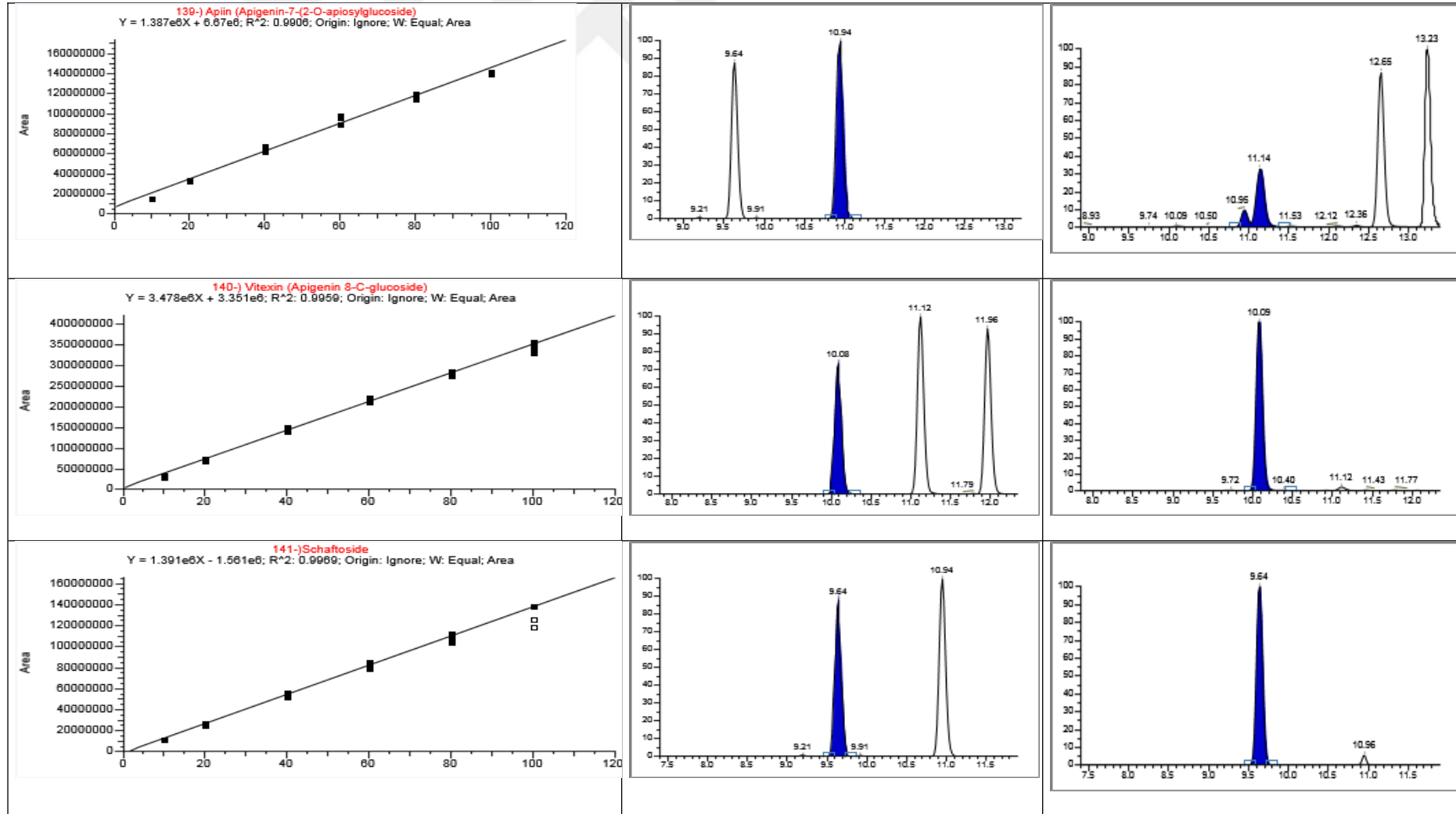
EK Tablo 1. devam ediyor



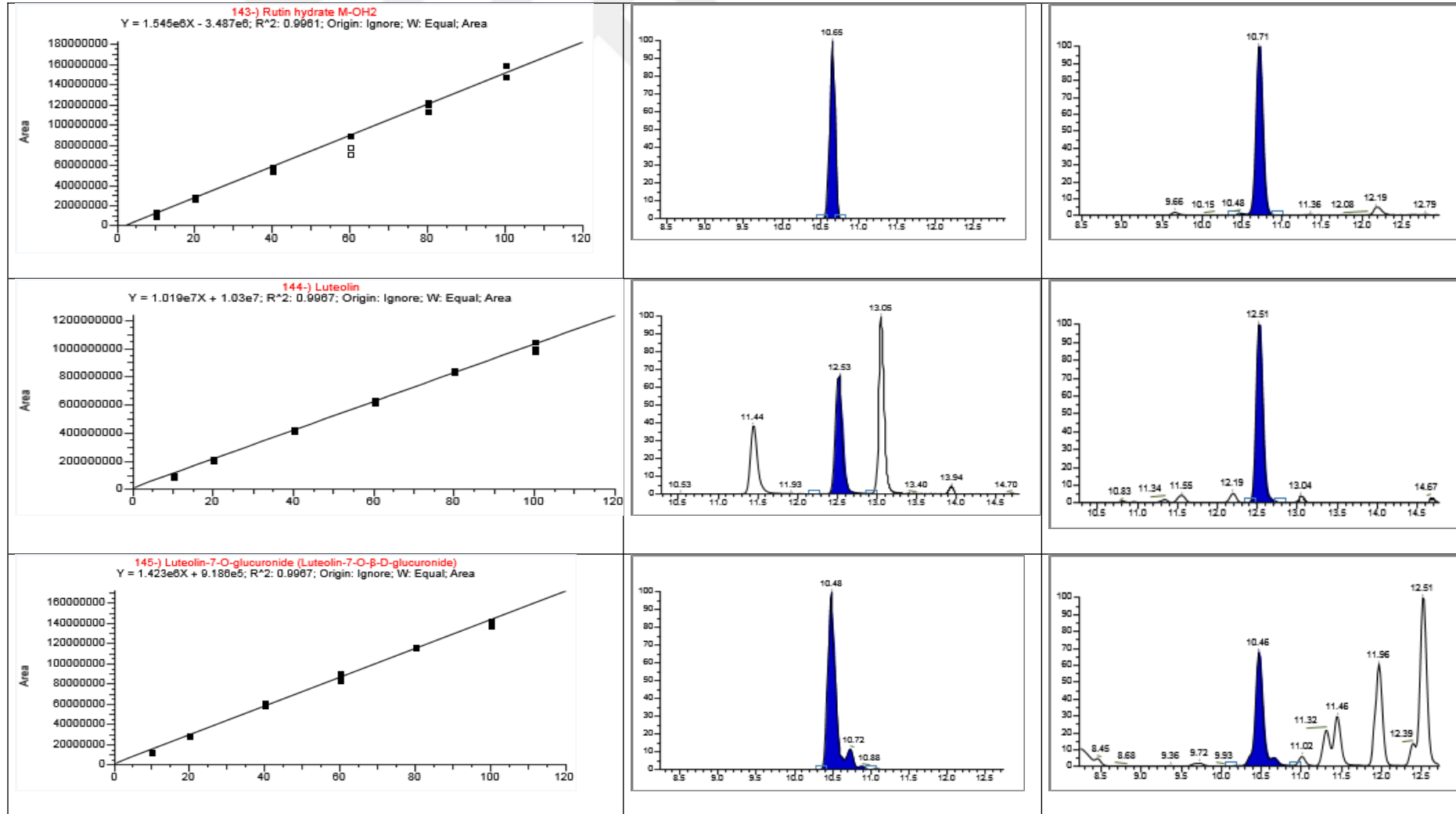
EK Tablo 1. devam ediyor



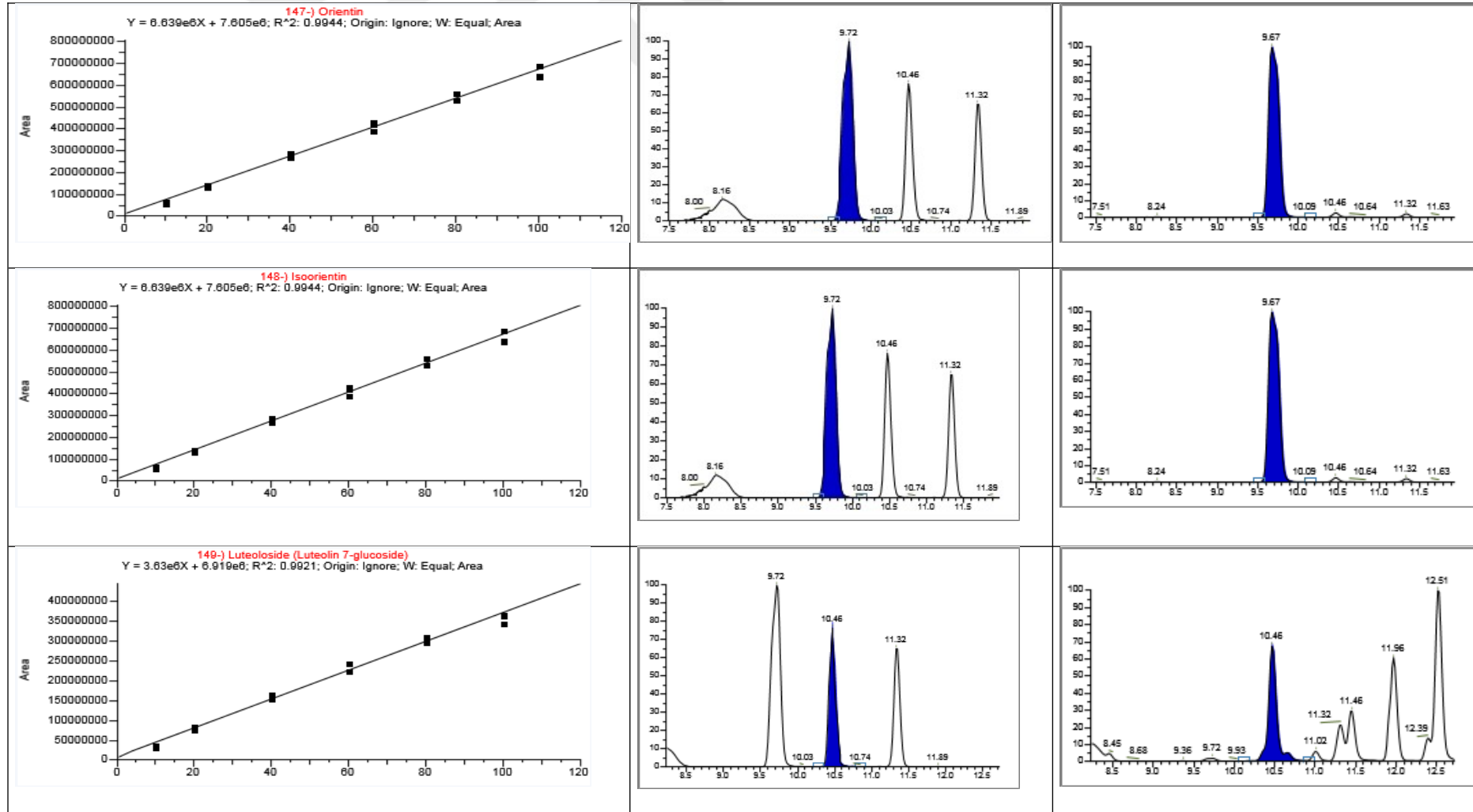
EK Tablo 1. devam ediyor



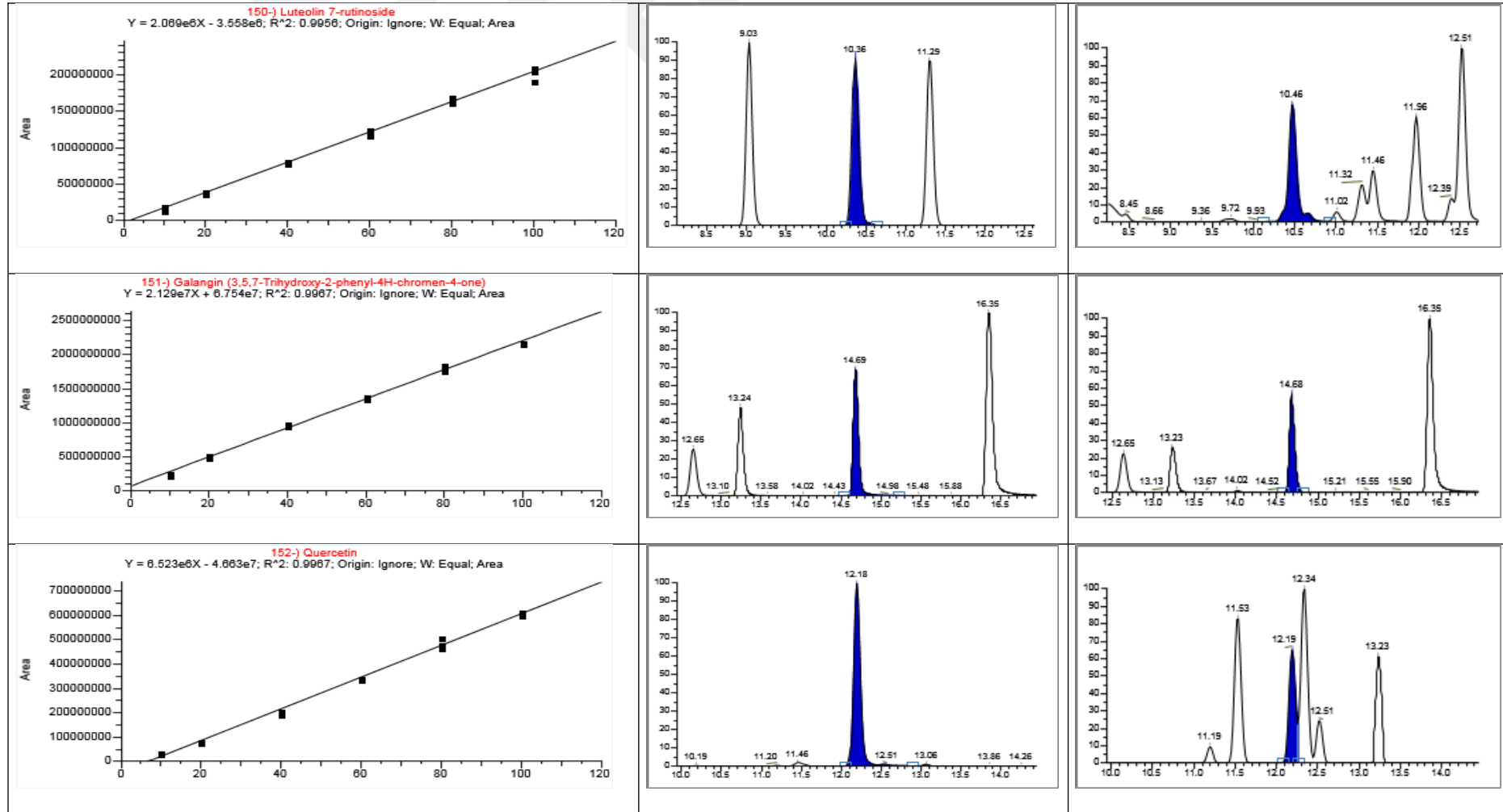
EK Tablo 1. devam ediyor



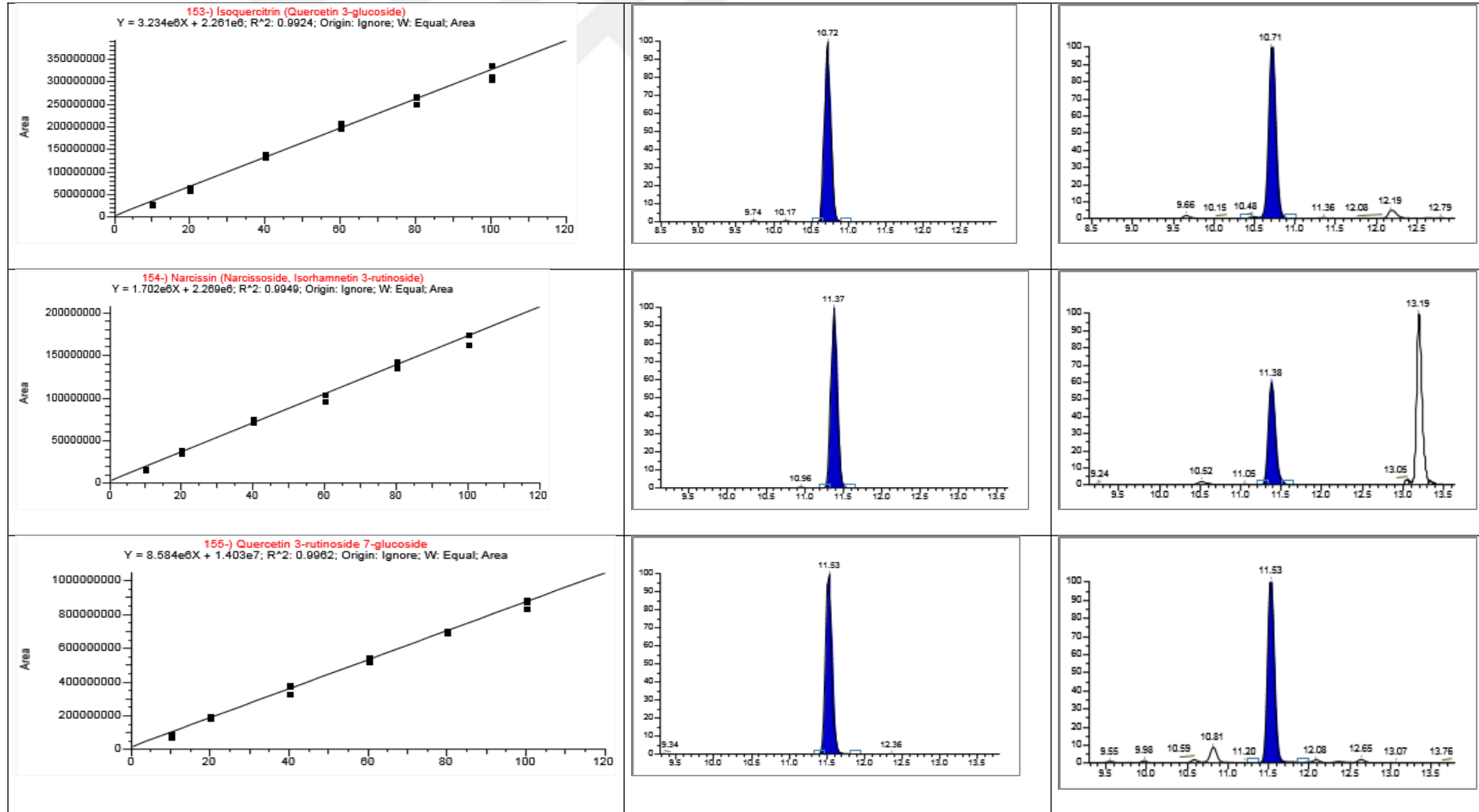
EK Tablo 1. devam ediyor



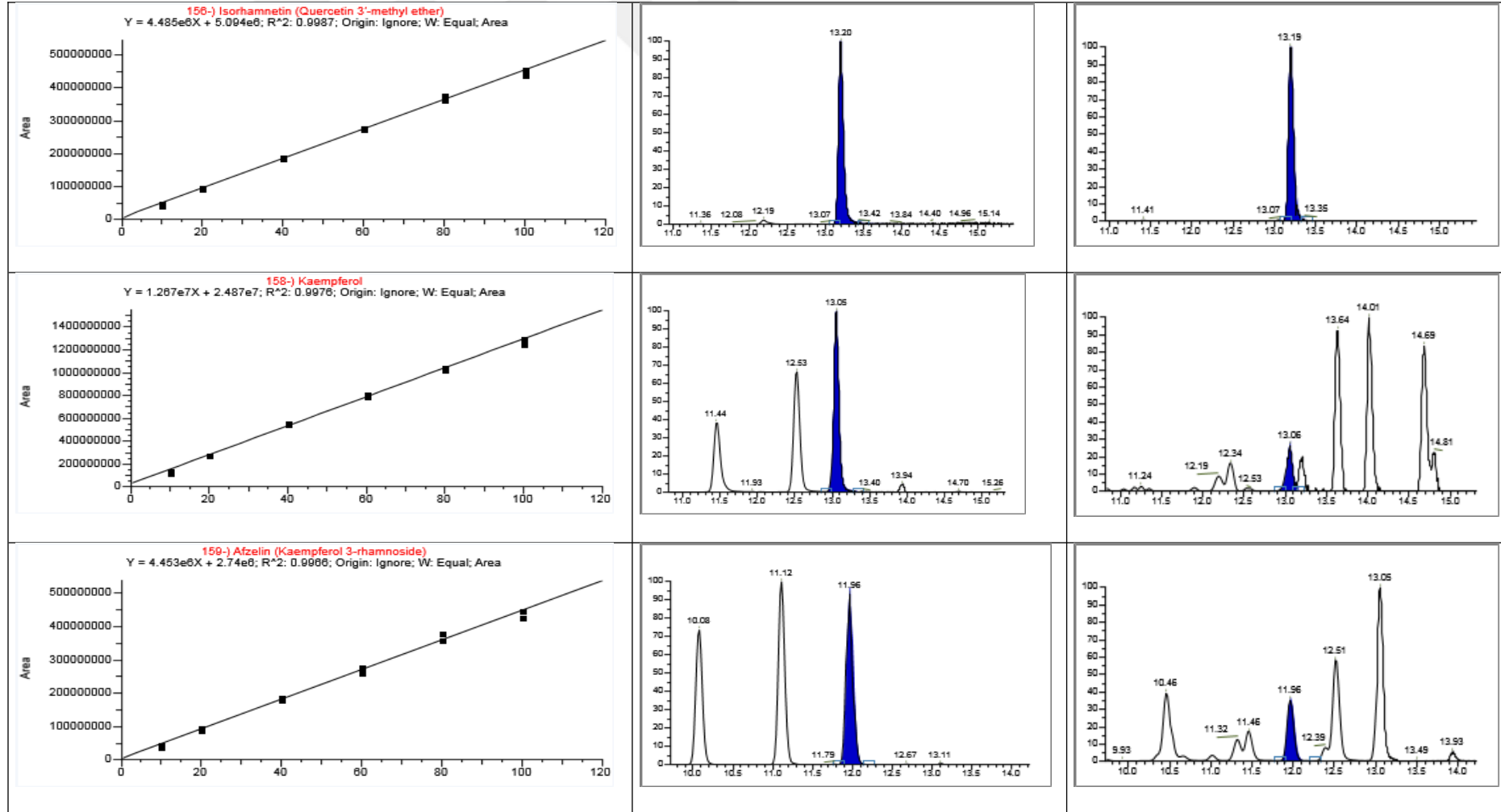
EK Tablo 1. devam ediyor



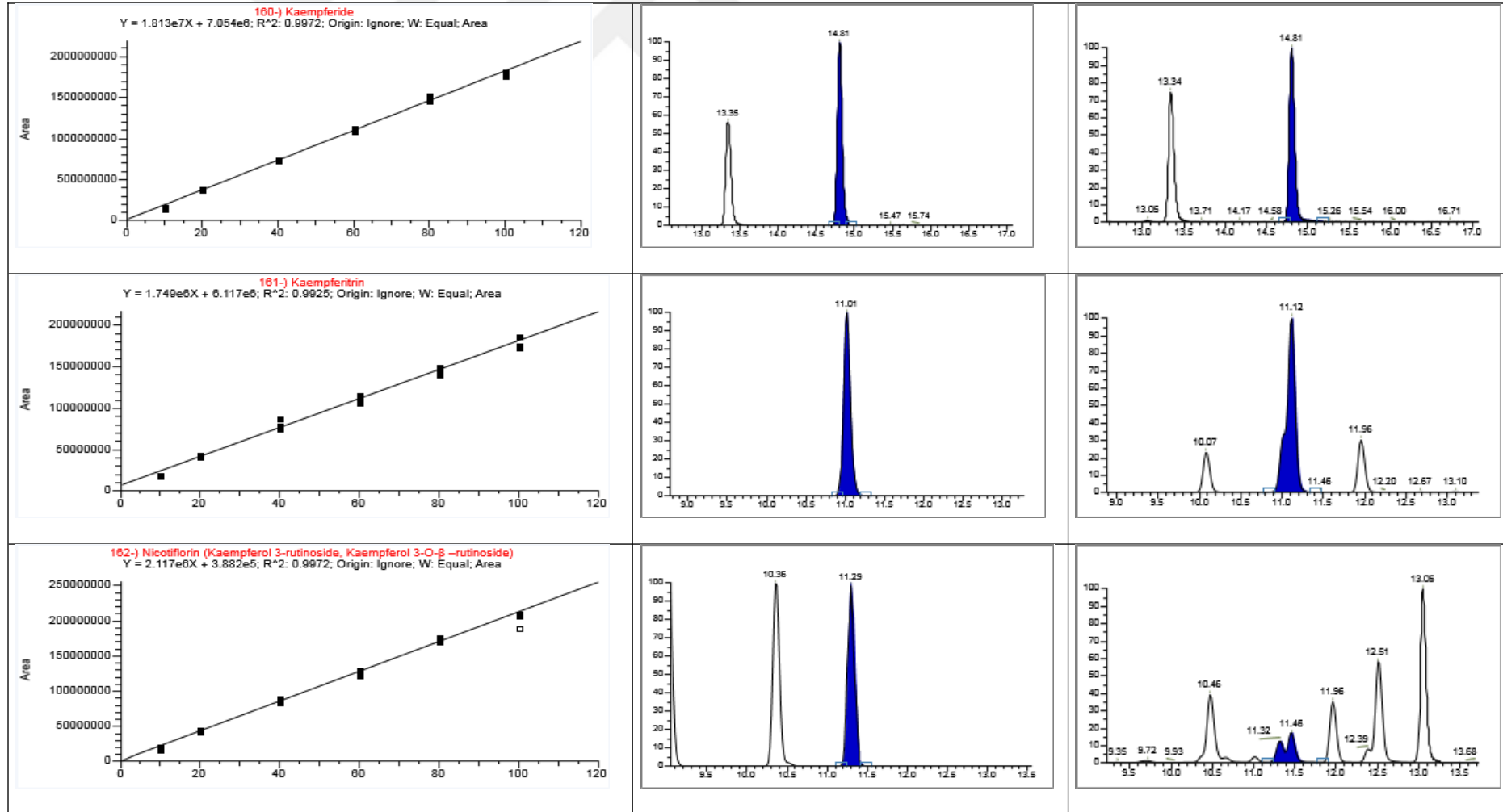
EK Tablo 1. devam ediyor



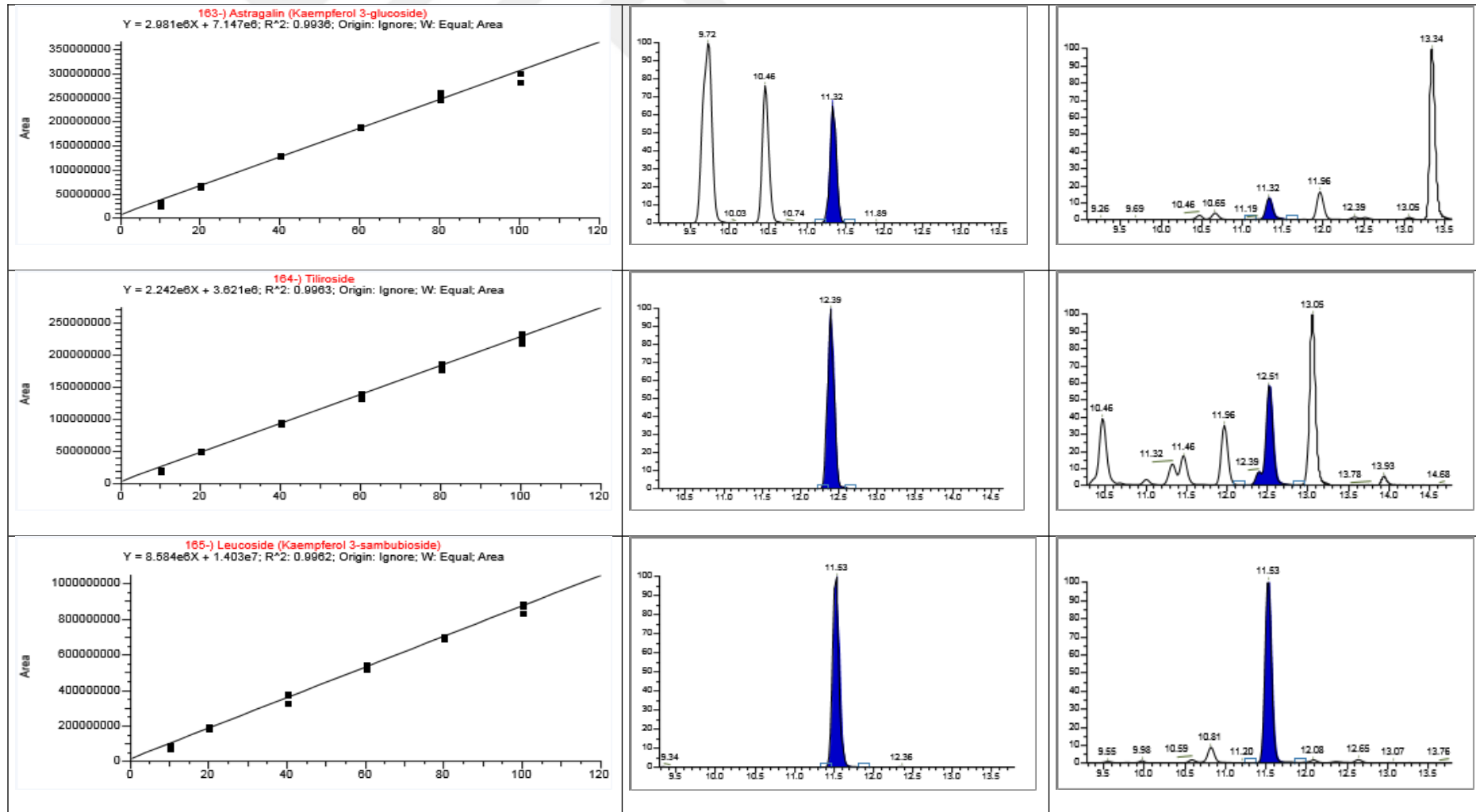
EK Tablo 1. devam ediyor



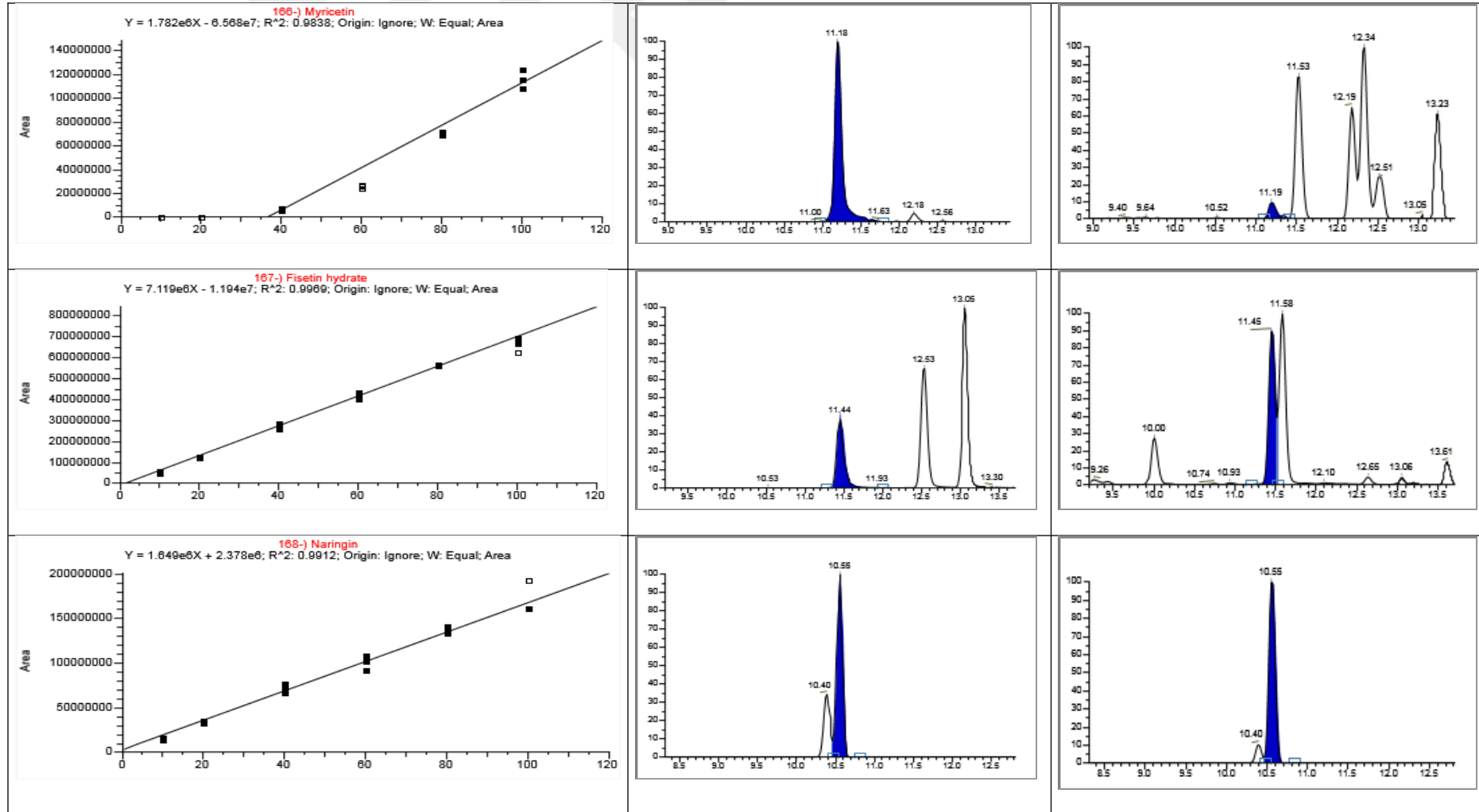
EK Tablo 1. devam ediyor



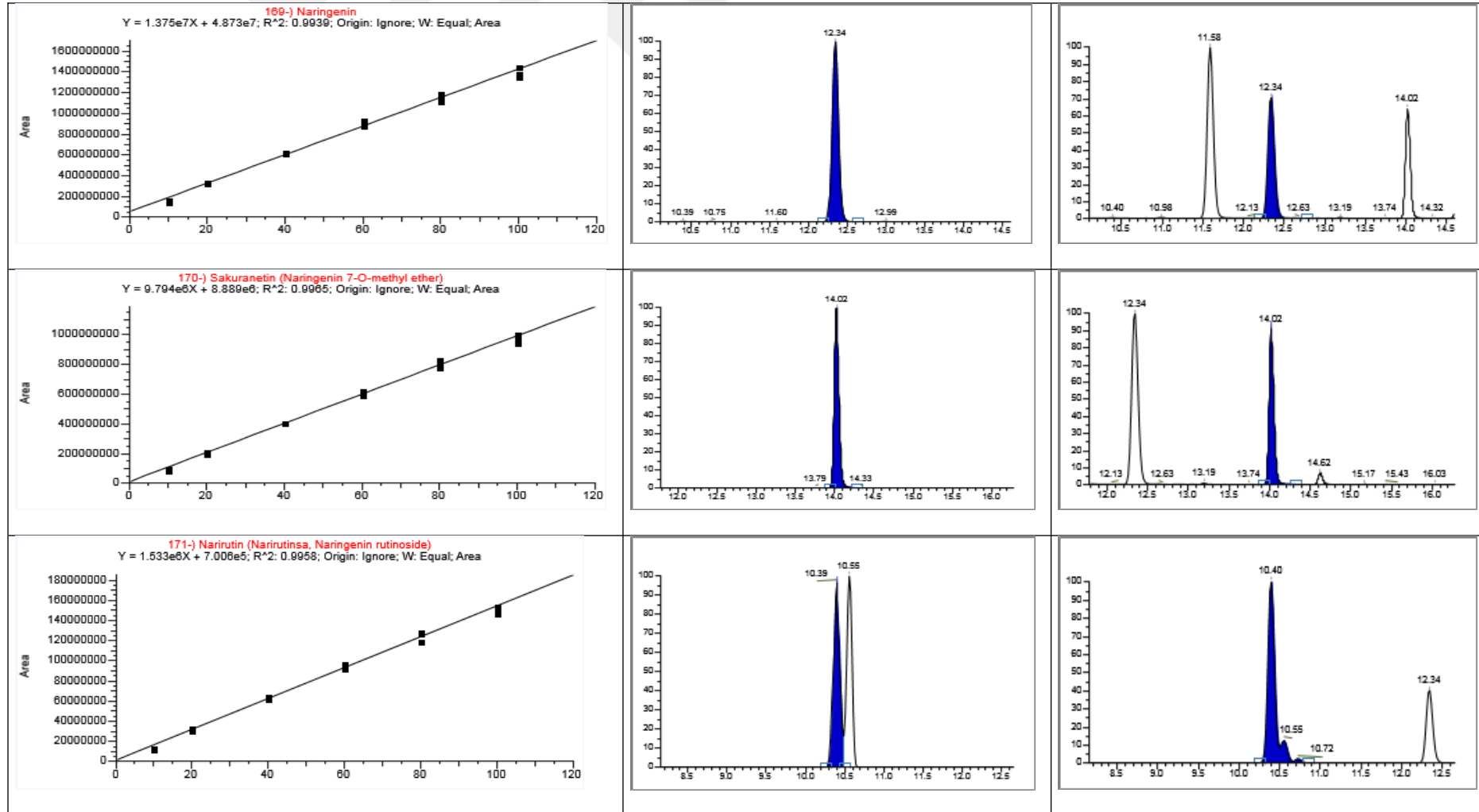
EK Tablo 1. devam ediyor



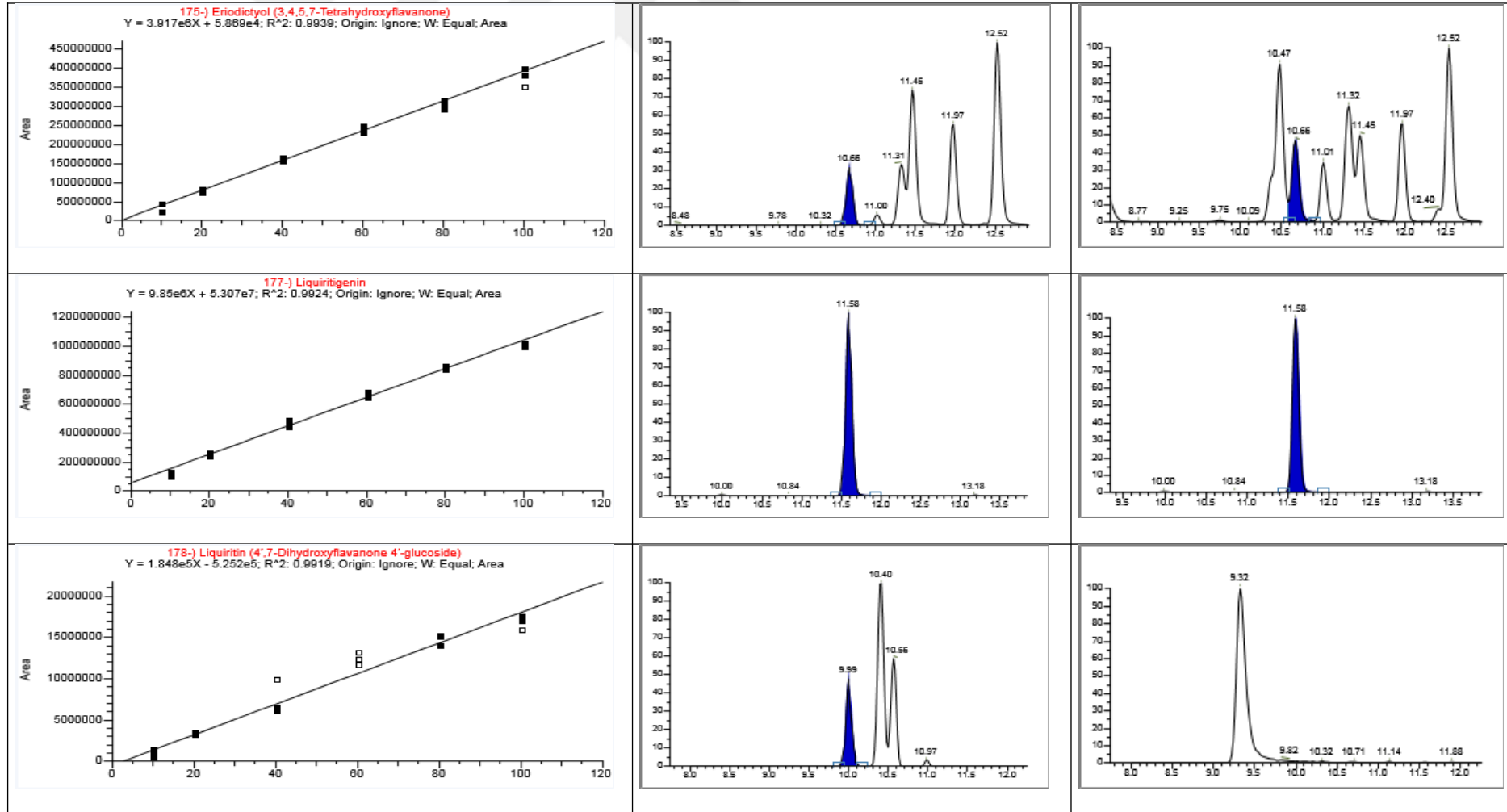
EK Tablo 1. devam ediyor



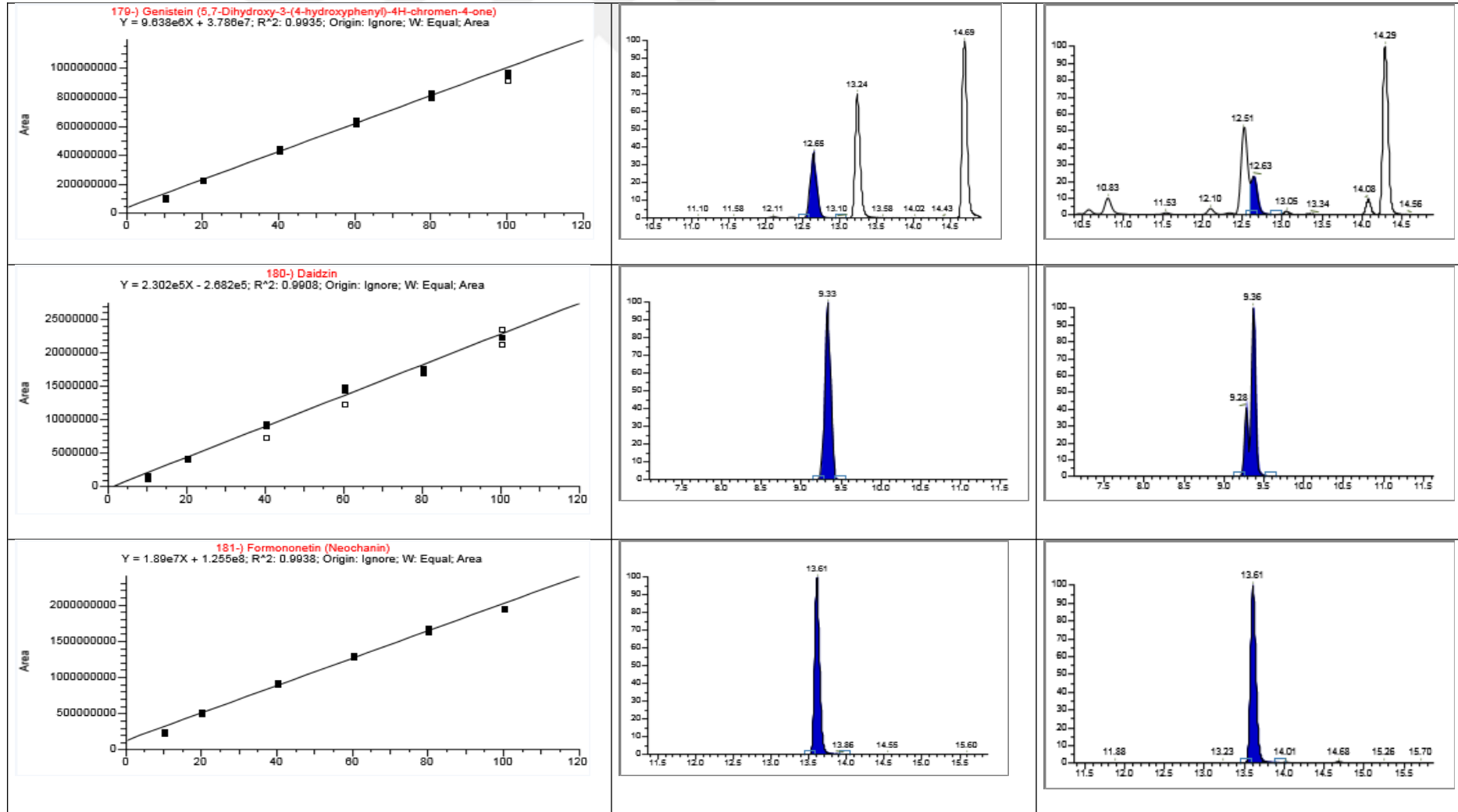
EK Tablo 1. devam ediyor



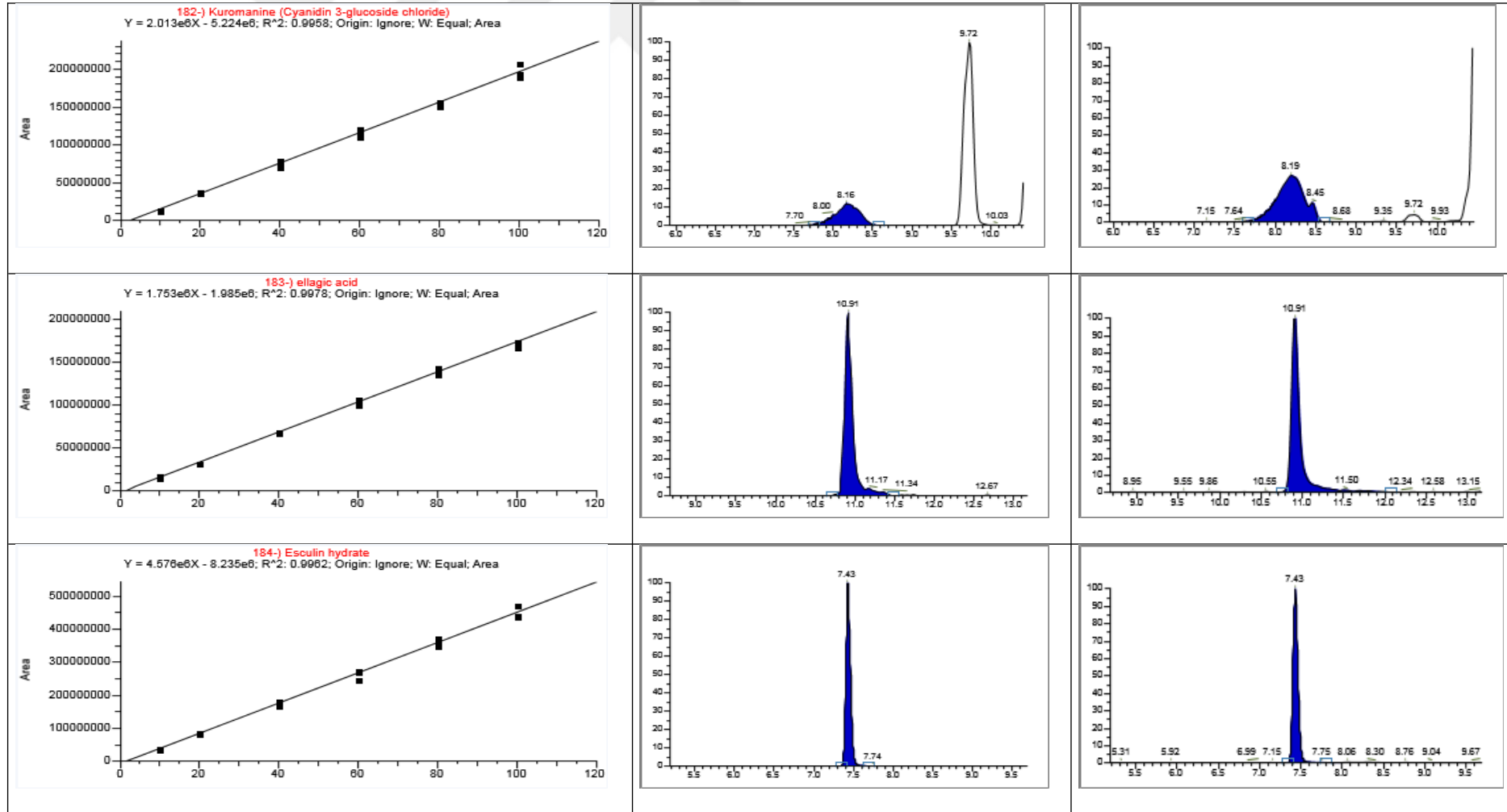
EK Tablo 1. devam ediyor



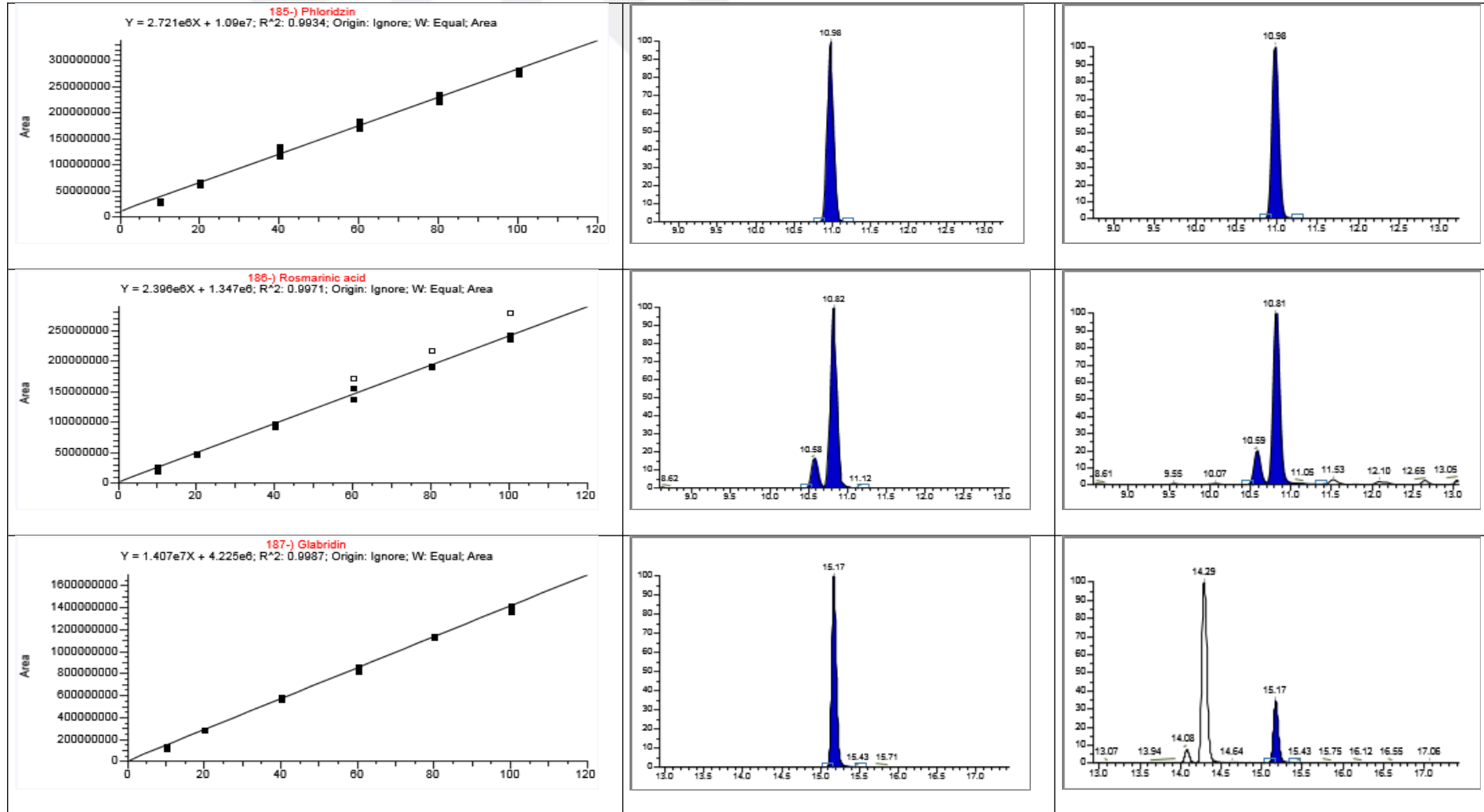
EK Tablo 1. devam ediyor



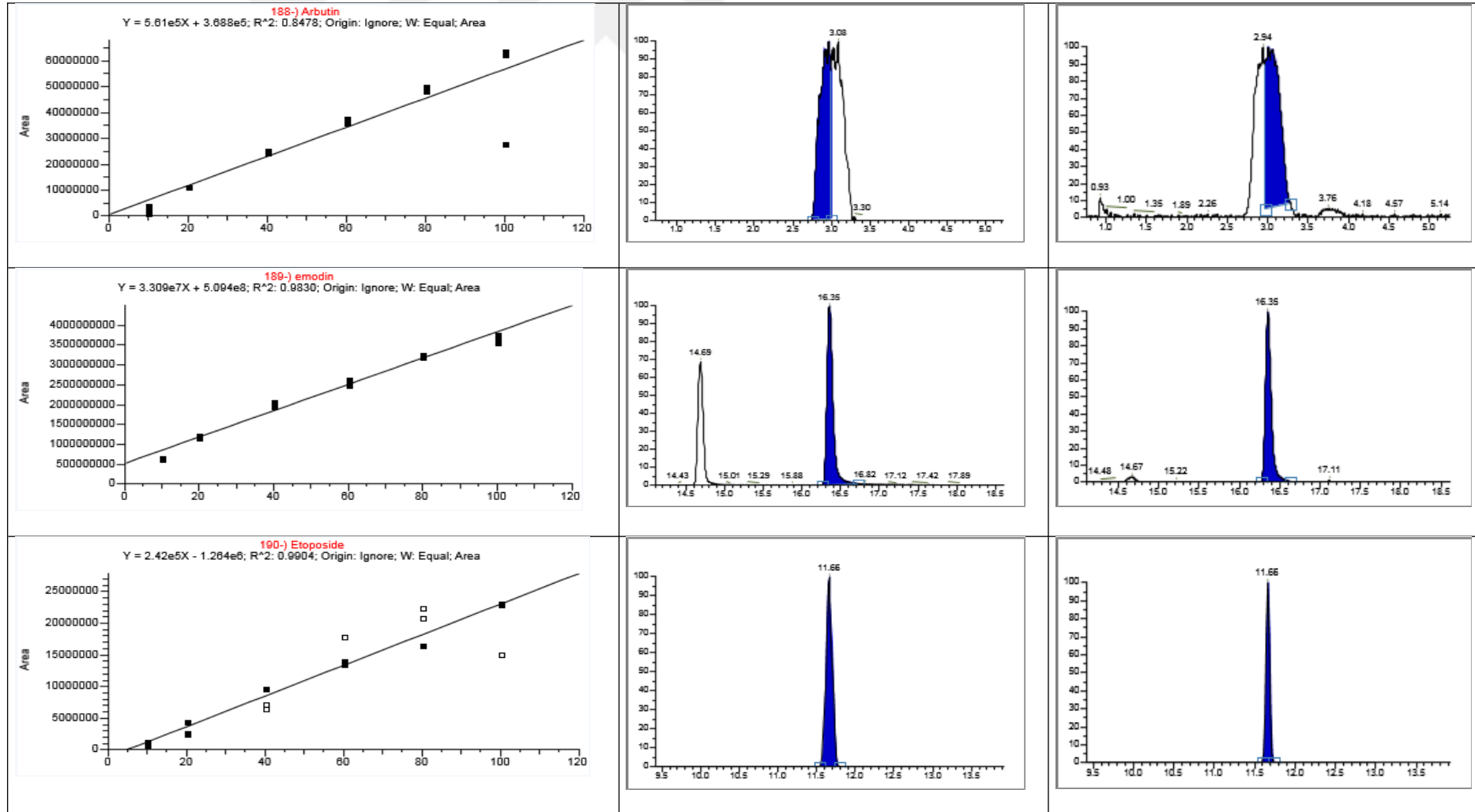
EK Tablo 1. devam ediyor



EK Tablo 1. devam ediyor



EK Tablo 1. devam ediyor



EK Tablo 1. devam ediyor

