

JOURNAL of AGRICULTURE

ISSN: 2636-8757

[HTTPS://DERGIPARK.ORG.TR/TR/PUB/JA](https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja)

INTERNATIONAL PEER REVIEWED JOURNAL

VOLUME
4

ISSUE
1

YEAR
JUNE, 2021





JOURNAL of AGRICULTURE

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

(Uluslararası Hakemli Dergi / International Peer Reviewed Journal)

International Indexing



ASOS
indeks

Yayınlanma Tarihi/Published

30.06.2021

CİLT/VOLUME

4

SAYI/ISSUE

1

YIL/YEAR

HAZİRAN/JUNE, 2021

bariseren86@gmail.com

DergiPark
AKADEMİK

Dergimiz Hakkında/ About Our Journal

Journal of Agriculture, hakemli uluslararası bir dergidir ve 2018 yılında yayın hayatına başlamıştır. DergiPark bünyesinde açık erişimli olarak, tarım ve yaşam bilimleri alanında hazırlanmış araştırma ve derleme makalelerini yayınlamak üzere Mayıs-2018 yılında faaliyete başlamıştır. Derginin desteklediği diller Türkçe ve İngilizce'dir. Yılda 2 (iki) sayı yayınlanır. Dergiye gönderilen makaleler önce editör tarafından şekil ve içerik yönünden incelenir. Uygun olmayanlar sorumlu yazara geri gönderilir. Gönderilen makaleler yazarlar tarafından kaynaklar hariç olmak üzere intihale karşı kontrol edilmektedir. Yapılan kontrollerde benzerlik oranının %20'nin altında olması zorunludur. İntihal raporları incelenerek %20 üzerinde olan yayınlar reddedilir. Yayımlanması istenilen eserlerin herhangi bir yerde yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur. Editörün onayladığı makaleler konu ile ilgili 2 (iki) hakeme gönderilir. Hakem incelemesi ve düzeltme süreci tamamlanan makaleler yayınlanır.

Journal of Agriculture is a refereed international journal and started its publication in 2018. DergiPark started its activities in May-2018 in order to publish research and compilation articles prepared in the field of agriculture and life sciences with open access. The languages supported by the journal are Turkish and English. 2 (two) issues are published annually. Articles submitted to the journal are first reviewed by the editor in terms of shape and content. Unsuitable ones are sent back to the responsible author. Submitted articles are checked against plagiarism by the authors, excluding the sources. It is mandatory that the similarity rate is below 20% in the controls. Publications over 20% are rejected by analyzing plagiarism reports. It is mandatory that the works to be published have not been published anywhere or sent to any journal to be published. Articles approved by the editor are sent to 2 (two) reviewers. Articles whose referee review and correction process are completed are published.

Amaç/Aim

Dergimiz bahçe bitkileri, bitki koruma, bitkisel ve hayvansal üretim, biyosistem mühendisliği, gıda mühendisliği, moleküler biyoloji ve genetik, peyzaj mimarlığı, su ürünleri, tarım ekonomisi, tarımsal mekanizasyon, tarımsal yapılar ve sulama, tarla bitkileri, toprak bilimi ve bitki besleme ve zootekni alanında hazırlanan araştırma ve derleme çalışmalarını Türkçe ve İngilizce dillerinde yayımlamayı amaç edinmiştir.

The articles that can be sent to the journal are horticulture, plant protection, plant and animal production, biosystem engineering, food engineering, molecular biology and genetic, landscape architecture, fisheries, agricultural economy, agricultural mechanization, agricultural structures and irrigation, field crops, soil science and plant nutrition and animal science. The journal aims to publish research and compilation studies in Turkish and English.

Kapsam/Scope

Journal of agriculture, Haziran ve Aralık aylarında yılda iki kez yayınlanan hakemli, akademik, bilimsel, uluslararası bir dergidir. Türkçe ve İngilizce makaleler kabul edilir ve çevrimiçi olarak yayımlanır.

Journal of agriculture is a refereed, academic, scientific, international journal published twice a year, in June and December. Turkish and English articles are accepted and are published online.



JOURNAL of AGRICULTURE

agrijournal@hotmail.com

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

Cilt/Volume: 4 Sayı/Issue: 1 Yıl/Year: Haziran/June, 2021

Sahibi / Owner

Dr. Öğr. Üyesi Barış EREN / Assist. Prof. Dr. Barış EREN
Iğdır University, TURKEY, bariseren86@gmail.com

Baş Editör / Editor in Chief

Dr. Öğr. Üyesi Barış EREN / Assist. Prof. Dr. Barış EREN
Iğdır University, TURKEY, bariseren86@gmail.com

Dr. Fatih DEMİREL
Iğdır University, TURKEY, fatih.demirel@igdir.edu.tr

Arş. Gör. Serap DEMİREL / Research Assistant Serap DEMİREL
Van Yüzüncü Yıl University, serap_comart@hotmail.com



JOURNAL of AGRICULTURE

agrijournal@hotmail.com

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

Cilt/Volume: 4 Sayı/Issue: 1 Yıl/Year: Haziran/June, 2021

Ulusal Editörler Kurulu / National Editorial Board

Prof. Dr. Ahmet ULUDAĞ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye	Doç. Dr. Mücahit PEHLÜVAN İğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Ali Rıza DEMİRKIRAN Bingöl Üniversitesi, Türkiye	Doç. Dr. Uğur ŞİMŞEK İğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Bahri KARLI Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye	Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR Bingöl Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Bilal KESKİN İğdır Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Barış EREN İğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Ali KAYGISIZ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Mücahit KARAOĞLU İğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Mustafa Rıza ÇANGA Ankara Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Emrah KUŞ İğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Ömer AKBULUT Atatürk Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Ersin GÜLSOY İğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Veli UYGUR Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi İsa YILMAZ Muş Alparslan Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. İsmet YILDIRIM Düzce Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜRBÜZ İğdır Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Ahmet Metin KUMLAY İğdır Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Fatih DEMİREL İğdır Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Arzu ÜNAL İğdır Üniversitesi, Türkiye	Dr. Menekşe BULUT İğdır Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Celalettin GÖZÜAÇIK İğdır Üniversitesi, Türkiye	Dr. Asude ÇAVUŞ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Hakkı AKDENİZ İğdır Üniversitesi, Türkiye	Dr. Fatih GÖKMEN İğdır Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Köksal KARADAŞ İğdır Üniversitesi, Türkiye	Arş. Gör. Serap DEMİREL Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Türkiye

Uluslararası Editörler Kurulu / International Editorial Board

PhD Mabrouk Elsabagh

Department of Nutrition and Clinical Nutrition /Veterinary Medicine, Egypt

PhD Ayman Elsabagh, Egypt

PhD. Jiban Shrestha

Nepal Agricultural Research Council, Nepal

PhD. Marija Saric-Krsmanovic, Serbia



JOURNAL of AGRICULTURE

agrijournal@hotmail.com

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

Cilt/Volume: 4 Sayı/Issue: 1 Yıl/Year: Haziran/June, 2021

BU SAYININ HAKEM LİSTESİ / REFEREE LIST IN THIS NUMBER

Prof. Dr. Ali ÖZER	İnönü Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Meryem TOPAL	Gümüşhane Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Uğur ÖZDEK	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Özkan KAYA	Erzincan Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye
Doç. Dr. Hüseyin ALKAN	Dicle Üniversitesi, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi İsmet MEYDAN	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Muhittin KULAK	Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKŞİT	Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Feyzi Sinan TOKALI	Kafkas Üniversitesi, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Abdülmelik ARAS	Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Ali ÖZKAN	Gaziantep Üniversitesi, Türkiye
Arş. Gör. Dr. Abdurrahim YILMAZ	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Türkiye
Dr. Müge ŞAHİN	Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye
Arş. Gör. Mualla KETEN	Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Türkiye
Arş. Gör. Ahmet SAY	Erciyes Üniversitesi, Türkiye



JOURNAL of AGRICULTURE

agrijournal@hotmail.com

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

Cilt/Volume: 4 Sayı/Issue: 1 Yıl/Year: Haziran/June, 2021

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

ARAŞTIRMA MAKALELERİ (Research Articles)

Antioxidant Effect of Achillea biebersteinii in Different Extracts and Extinguishing Activity on DPPH 1-9

Duygu DOĞAN, İsmet MEYDAN

Meyve Gelişimi Döneminde Kayısıda (Prunus armeniaca L.) Bazı Fiziksel ve Kimyasal Değişimler 10-15

Mücahit PEHLUVAN, Berna DOĞRU ÇOKRAN Esengül ÇATAK

Antibacterial and Antifungal Activity of Nanofungal Molecules Using *Pleurotus Eryngii* Mushroom 16-23

Hamdullah SEÇKİN

Türkiye'nin Doğu Ve Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki Kaplıca Sularının Kimyasal, Fiziksel ve Bakteriye Özelliklerinin Araştırılması 24-29

Orhan ULUÇAY, Arzu GÖRMEZ, Cem ÖZİÇ

Üniversite Öğrencilerinin Ağır Metal Konusundaki Bilgi Durumları Üzerine Bir İnceleme 30-38

Şemsinnur GÖÇER1* Hava Şeyma YILMAZ

Essential oil Composition of *Salvia officinalis* and *Rosmarinus officinalis* 39-47

Mehmet Zeki KOCAK, Musa KARADAG, Ferdi CELİKCAN

Soyada Protein Disülfid İzomeraz'ların İn Silico Analizi 48-56

Fatih DEMİREL

DERLEME MAKALELERİ (Review Articles)

Swab Analysis, Its Importance and Applications in Personnel Hygiene and Business Sanitation Monitoring 57-66

Menekşe BULUT, Melek ZOR



Research / Araştırma

Antioxidant Effect of *Achillea biebersteinii* in Different Extracts and Extinguishing Activity on DPPH

Duygu DOĞAN^{1*}, İsmet MEYDAN²

ABSTRACT

Achillea biebersteinii (*A. biebersteinii*), one of the *Achillea* species, has been proven to have positive effects in terms of pharmaceuticals thanks to the components it contains. Our study was designed to investigate the quenching activity of *A. biebersteinii* on total phenolic component, total flavonoid component and DPPH radical. The total flavonoid component amounts of the ethanol and water extract of *A. biebersteinii* plant were calculated to be equivalent to quercetin, and the total phenol component amounts to gallic acid. The DPPH radical quenching activity of the ethanol and water extract of the *A. biebersteinii* plant was investigated by modifying the Teixeira method. The copper II ion reduction method (CUPRAC) is inspired by the Apak method. We can say that the water and alcohol extract of *A. biebersteinii* gave good results compared to BHA and BHT, which have good quenching activity on DPPH radical. It was observed that *A. biebersteinii* was rich in flavonoids and phenolics. As a result of Cuprac analysis, it was stated that the effect of the aqueous extract was significant compared to the positive controls. The *A. biebersteinii* plant is thought to be effective in the treatment of many diseases, especially cancer, due to its powerful antioxidant and radical quenching activity..

Keywords: *Achillea biebersteinii*, Phenolic, Flavonoid, Cuprac, Antioxidant

***Achillea biebersteinii*'nin Farklı Ekstraktlarda Antioksidan Etkisi ve DPPH Üzerindeki Söndürme Aktivitesi**

ÖZET

Achillea türlerinden biri olan *Achillea biebersteinii* (*A. biebersteinii*), içerdiği bileşenler sayesinde farmasötik açıdan olumlu etkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmamız, *A. biebersteinii*'nin toplam fenolik bileşen, toplam flavonoid bileşen ve DPPH radikali üzerindeki söndürme aktivitesini araştırmak için tasarlanmıştır. *A. biebersteinii* bitkisinin etanol ve su ekstraktının toplam flavonoid bileşen miktarları quercetin'e, toplam fenol bileşen miktarları ise gallik aside eşdeğer olarak hesaplandı. *A. biebersteinii* bitkisinin etanol ve su özütünün DPPH radikali söndürme aktivitesi Teixeira yöntemi değiştirilerek araştırıldı. Bakır II iyon azaltma yöntemi (CUPRAC), Apak ve arkadaşlarının çalışmalarından esinlenerek yapılmıştır. *A. biebersteinii*'nin su ve alkol özütünün, DPPH radikali üzerinde iyi söndürme aktivitesine sahip olan BHA ve BHT'ye kıyasla iyi sonuçlar verdiğini söyleyebiliriz. *A. biebersteinii*'nin flavonoidler ve fenolikler açısından zengin olduğunu görüldü. Cuprac analizi sonucunda sulu ekstrenin etkisinin pozitif kontrollere göre önemli olduğu belirtildi. *A. biebersteinii* bitkisinin, güçlü antioksidan ve radikali söndürme aktivitesinden dolayı başta kanser olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Achillea biebersteinii*, Fenolik, Flavonoid, Kuprak, Antioksidan

¹ Duygu DOĞAN (Orcid ID: 0000-0001-8338-9063), Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Zeve Campus, 65800, Van, Turkey

² İsmet MEYDAN (Orcid ID: 0000-0001-5640-6665), Van Yüzüncü Yıl University, Van Vocational School of Health Services, Zeve Campus, 65800, Van, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Duygu DOĞAN, e-mail: dvg.gms1905@hotmail.com

INTRODUCTION

The defense systems that work in the body to prevent the formation of reactive oxygen species, prevent the damage caused by these substances and provide detoxification are called antioxidant defense systems or antioxidants. Antioxidants are substances that react very quickly with radicals and prevent the progress of oxidation and peroxidation. The roles of antioxidants include neutralizing excess free radicals, protecting cells against toxic effects of free radicals, and contributing to disease prevention. Studies have proven that plants have especially phenolic, flavonoid and many other antioxidant-rich components (Altındağ and Özdek, 2021; Meydan and Seckin, 2021).

Free radicals are known to cause many diseases, especially cancer. It has been proven that antioxidants in plants have preventive effects against these diseases (Sökmen et al., 2004; Ayeygin et al., 2020). It has been shown that plant extracts prevent the oxidative process, protect against diabetes and have antimicrobial effects (Özdek et al., 2020). In a previous study, it was revealed that evening primrose oil reduced oxidative stress in rats with metabolic syndrome (Mert et al., 2020). Plants are important bioactive products that attract attention in the field of pharmacology thanks to the phenolic compounds they contain. It is preferred in cosmetics, health and food sectors thanks to the essential oils in the plant. (Lobo et al., 2010; Altındağ and Rağbetli, 2021).

Achillea, one of the plant genera, is one of the most important species of the Asteraceae family and there are more than 100 species in the world (Mirahmadi et al., 2017). It has many varieties in Europe, West Asia, New Zealand and North America. Apart from this, this medicinal herb, which is found in different regions of Iran, is also used in hypoglycemic, anti-hemorrhoid, anti-diarrheal antacid, carminative, anthelmintic and antibacterial, antimicrobial drugs (Kojourian et al., 2017). We also see the effect of *Achillea* species preventing the formation of oxidative stress by eliminating free radicals. *A. biebersteinii* is called yellow flower. This perennial plant has erect stems with a height of 30-60 cm (Akkol et al., 2011). It is used as a natural remedy for pain and wounds among the public (Bariş et al., 2006).

In an antibacterial study on the plant of *A. biebersteinii*, it was seen to have a sensitive effect on the bacteria used (Hammad et al., 2013). In another study in which essential oil and methanol extracts were used, it showed an antimicrobial effect and proved its antioxidant activity to be positive as a result of the tests. In the research conducted on gastric ulcers, protective and therapeutic results against the stomach were obtained (Abd-Alla et al., 2016). *A. biebersteinii* has shown that it is an alternative for treatment in a study conducted as a new drug candidate on anticholinesterase molecules (Sevindik et al., 2015).

MATERIALS AND METHODS

Preparation of plant extract

A. biebersteinii, which has been used in traditional medicine for a long time, is known as yarrow (Baharara et al., 2015). *A. biebersteinii*, whose leaves are up to 10 cm, is also used as a folk remedy to increase appetite and stop bleeding (Yıldırım et al., 2015). The plant, which was properly collected from Van, was first washed with tap water and then pure water. After drying at room conditions and grinding, 50 g of samples were taken and dissolved in 250 ml of ethyl alcohol. Ethyl alcohol was removed by evaporator. The solid material obtained was stored at +4 degrees for study.

Determination of total phenolic contents

Total phenolic determination of *A. biebersteinii* was determined according to the Folin-Ciocalteu method (Alhakmani et al., 2013). Distilled water and methanol were added to 0.04 ml of the plant mixture. It was incubated for 2 hours by adding 20% Na₂CO₃ diluted with 0.2 ml of Folin-Ciocalteu reagent. It was measured at 765 nm absorbance value and compared with the gallic acid calibration curve.

$$(y = 315.56x + 28.202 \text{ R}^2 = 0.9983) \quad (1)$$

Total phenols were evaluated on gallic acid (mg gallic acid / g dry weight).

Antioxidant activity (DPPH)

The radical scavenging activities of the samples were adapted according to the DPPH method (Teixeira et al., 2013). DPPH and the same ratio extract solutions were prepared in 5 different concentrations as 25, 50, 100, 200 and 250 µg /ml. 3 ml of plant extract and positive control were taken and DPPH solution was added on them. The mixtures formed in the tubes were left to incubate for 30 minutes in the dark and at room temperature. At the end of this period, absorbance values were read at 517 nm.

$$\% I = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (2)$$

As a result of these processes, a graph of *A. biebersteinii* –water, *A. biebersteinii* –alcohol concentration was obtained, With the increasing DPPH ethanol concentration. The graph is based on the equation above.

Total flavonoid component amount determination

The component determination of *A. biebersteinii* ethanol and water extract was made by adapting from the work that previously determined this method (Zhishen et al., 1999). Quercetin is used as a standard. 0.1 ml of 10% Al (NO₃)₃, 0.1 ml of 1M KCH₃COO⁻ and 3.8 ml of methanol were added to the A. 1 ml of quercetin and 1 ml of extract are added to the prepared tubes and mixed. The mixtures obtained were incubated at 25 °C for 40 minutes. Then, absorbances at 415 nm were read.

Total antioxidant capacity cuprac test

The CUPRAC test, which is the copper ion-reducing antioxidant capacity method (Apak et al., 2004), is a selective assay based on electron transfer. The redox reagent used is bis (neocuproin) copper (II) chelate. The reagent, showing its effectiveness at pH 7.0, gives 450 nm measurement (Özyürek et al., 2011). In this study, neocuproin solution was prepared with 1 ml copper (II) chloride, 1 ml ammonium acetate buffer (at pH 7,0). The mixture was left for 30 minutes and was read against the empty reagent at 450 nm. Then, the samples with extracts were incubated at 50 °C for 20 minutes, and then measured at 450 nm absorbance.

RESULTS AND DISCUSSION

Determination of total phenolic contents

Phenolic compounds in plant ingredients contribute significantly as antioxidants. Studies show that there is a positive relationship between phenolic compounds and antioxidant activity (Meydan et al., 2020). In the comparative study of *Achillea phrygia*, it was observed that the

phenolic content of the methanol extract was found to be 41.13 ± 0.74 (mg GAE /g extract) and that it had a higher content than the other plant compared to it (Zengin et al., 2017). In another study conducted on different parts of *Achillea millefolium* plant, we see that the highest phenolic value was in flower-ethanol (19.30 PETP (mg)) (Keser et al., 2013).

Achillea species with a wide range of phenolic content are important for evaluation. In our study, we confirmed that both other species and *A. biebersteinii* have these complexes. When we compare it between its types, we see that it has a rich content. We found that the total phenolic content of *A. biebersteinii* ethanol and water extract was equivalent to the gallic acid we determined according to the Folin-Ciocalteus method. The absorbance values against the increasing absorbance value of gallic acid were plotted. It has been determined that it shows its high efficiency more in ethyl alcohol extract.

Table 1. Water and ethyl alcohol total phenolic component content

	Total phenolic ($\mu\text{g GEs/mg extract}$)*
Water ekstrakt	420.4431 ± 20.2478
Ethyl alcohol	131.7057 ± 21.7457

*: PEs, gallic acid equivalents ($y=315,56x + 28,202$ $R^2 = 0.9983$).

Values are given as the mean and standard deviation of 3 parallel measurements.

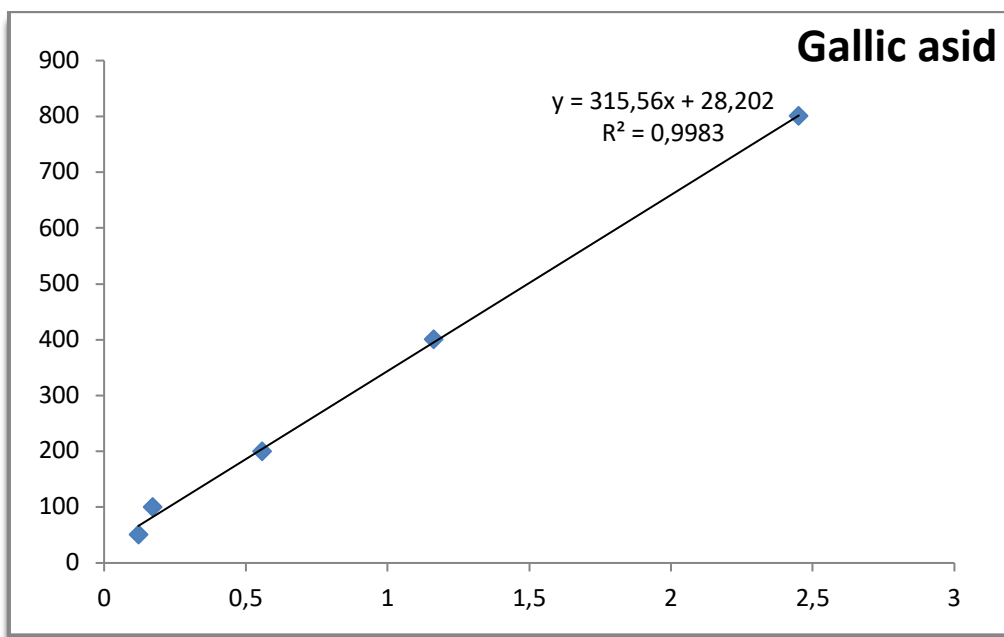


Figure 1. Gallic acid standard chart for total phenolic. The coefficient of determination (R^2), which expresses the explanatory power of the model, was found to be 0.9983

Antioxidant activity (DPPH)

DPPH, which depends on a characteristic absorption, is a spectrophotometric method used for radical scavenging. With the plant extract providing H atoms, there is a significant decrease in the reduced radical (Oke et al., 2009; Mirahmadi et al., 2017). The radical scavenging ability of *Achillea wilhelmsii* was determined as 0.08 mg /ml and it was found to be higher than the standards used BHA (0.07 mg / ml) and can be used in the medical field (Alfatemi et al., 2015).

In our study, the cleaning efficiency of *A. biebersteinii* BHA and BHT is shown in figure 2. It was observed that the radical scavenging activity increased due to the increasing concentration. Quenching activities at 500 µg /ml which is the highest concentration for BHA, BHT, water extract and alcohol extract, respectively; we see it as 95.07%, 93.28%, 75.21% and 87.26%. We can say that *A. biebersteinii* has high radical scavenging ability with this presented study.

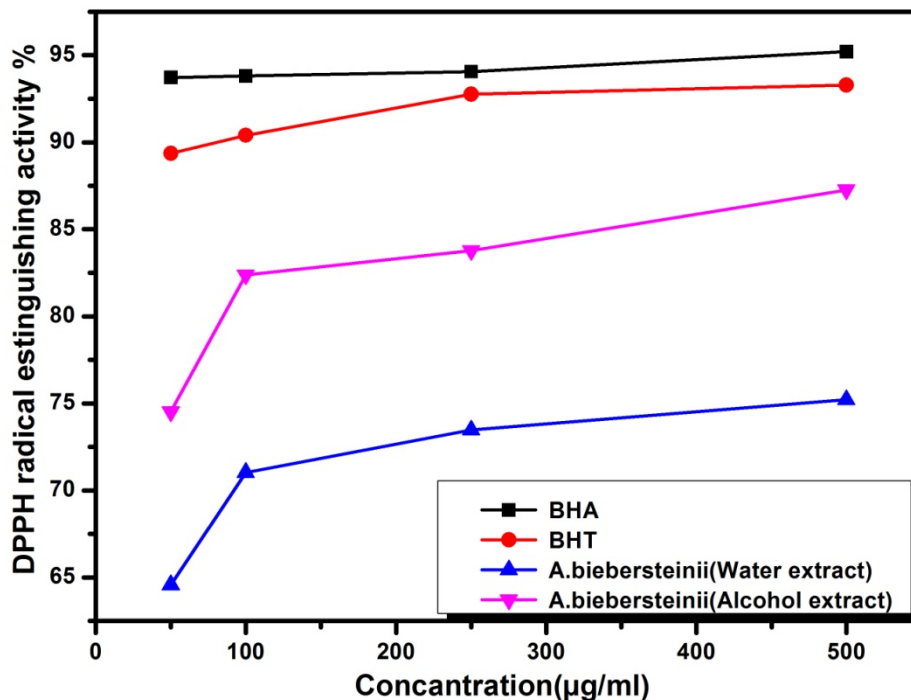


Figure 2. DPPH radical quenching activity

Total flavonoid component assay

The total flavonoid content is particularly linked to the antioxidant. Therefore, flavonoid contents are determined while looking at antioxidant activity (Kundakovic et al., 2005). In the determination of flavonoid content for *Achillea millefolium*, the flavonoid content of the methanol extract was found to be 41.2 ± 1.7 (QE / g) (Eghdami et al., 2010). In our study, the total flavonoid component content of *A. biebersteinii* ethanol and water extract was calculated as equivalent to quercetin. It was read at an absorbance of 415 nm. The values of *A. biebersteinii* extract were plotted against increasing quercetin concentration. (Figure 3) The total flavonoid component amount of the ethanol extract of the plant was found to be equivalent to 104.8814 ± 31.7487 µg / ml quercetin. Compared with other studies with *Achillea* species, it was seen that the plant in our current study has rich flavonoid contents.

Table 2. Total flavonoid component content of water and ethyl alcohol

	Total flavonoid (µgQEs/mg extract)*
Water ekstrakt	306.8412±18.47
Ethyl alcohol	104.8814±31.7487

*: QEs, quercetin equivalents ($y=355,37x + -23,191R^2 =0.9952$)

Values are given as the mean and standard deviation of 3 parallel measurements.

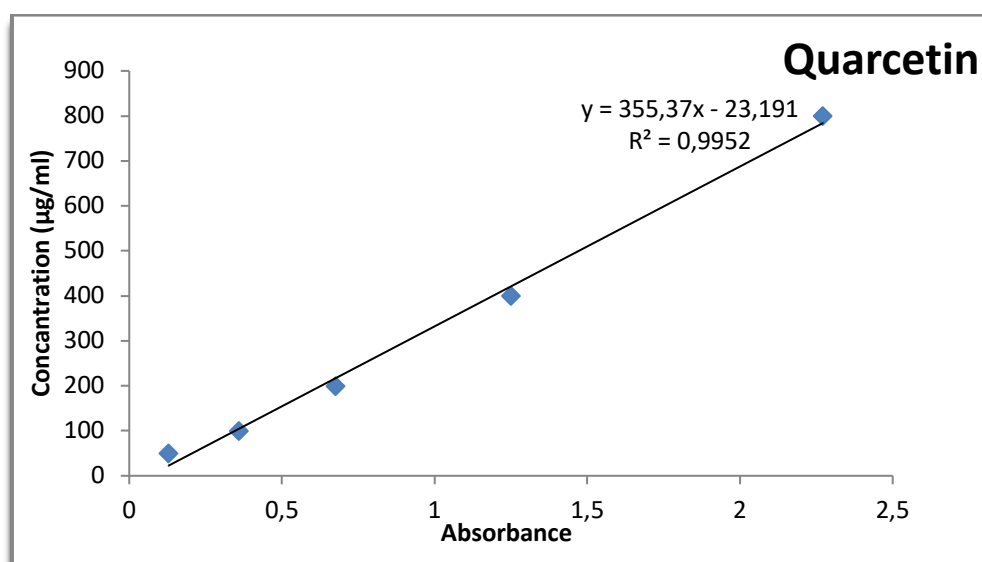


Figure 3. Quercetin standard chart for total flavonoid. Gallic acid standard chart for total phenolic. The coefficient of determination (R^2), which expresses the explanatory power of the model, was found to be 0.9952.

Total antioxidant capacity cuprac test

Studies have shown that the Cuprac method is superior to other antioxidant tests (Gorinstein et al., 2006). In the study in which antioxidant activities of *Achillea sivasica* were examined, it was found that the contents of methanol were between 0.6 ± 0.02 and 0.94 ± 0.02 as a result of the cuprac test. (Haliloğlu et al., 2017). In our study, the absorbance measurements made on the reagent used in this analysis on *A. biebersteinii* are shown in the graphic. Compared to the reagents we used, good results were obtained due to the increase in the amount of ethyl alcohol and aqueous extract.

Table 3. Cuprac test results for positive controls and extracts. The average of 3 parallel measurements obtained from the results cuprac tests was taken as means \pm SD (n = 3).

Extracts	100 µg/ml
Ethyl alcohol	0.78333 \pm 0.011
Water	1.231667 \pm 0.019
BHT	1.244 \pm 0.021
BHA	1.630 \pm 0.034
α -TOC	1.02733 \pm 0.015

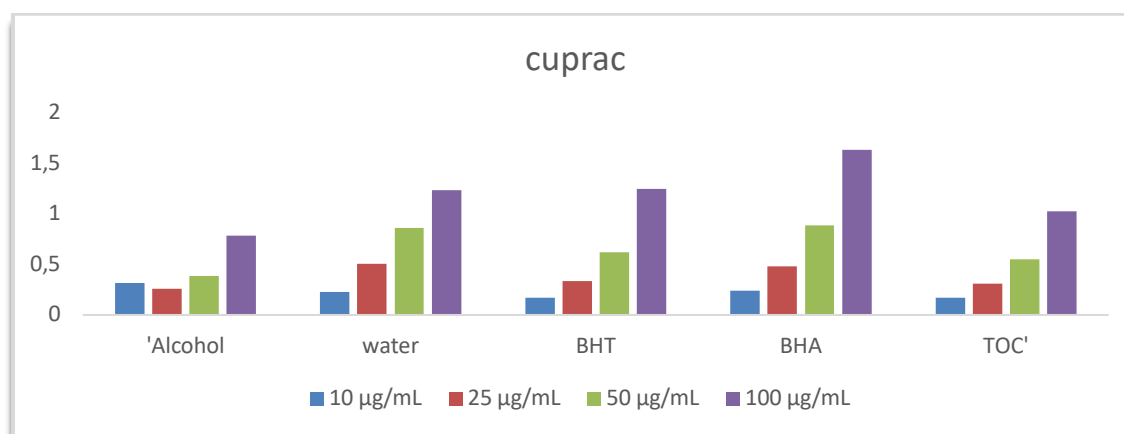


Figure 4. Cuprac test results at different concentrations

CONCLUSION

Herbal medicines used in the world constitute a significant part of the total medicines. The damages caused by chemical drugs have led to the study of the therapeutic effects of herbs. These bioactive compounds, potentially as preservative ingredients, are also used as food additives. Important effects such as antioxidant, antimicrobial, anti-fungal and antibacterial have been discovered in most of the plants from the sufficient amount of phenolic structures it contains. Most *Achillea* species, which are rich in content, have proven these properties as a result of studies and have been used in folk medicine for a long time. In our study, we investigated the antioxidant parameters of *A. biebersteinii*, one of the *Achillea* species, and its effect on DPPH radical.

We know that the phenolic and flavonoid compounds contained in plants have potential as antioxidants. In the present study, the phenolic contents of *A. biebersteinii* were calculated as equivalent to gallic acid. We see that the values obtained in ethanol and water extract are significant. The total flavonoid amount of *A. biebersteinii* was found to be equivalent to $104,881 \pm 31,7487 \mu\text{g} / \text{ml}$ quercetin for ethanol. We observed that the quenching activity of DPPH radical, especially the alcohol extract, was % 87 at $500 \mu\text{g}/\text{ml}$. In our cuprac test, we found that our plant had very good values compared to BHT, BHA and α -TOC 'used as reference. According to the results obtained, we believe that phytochemicals can be used as antioxidant agents in the health field. Considering the researches made with medicinal plants like this, it is predicted that it will provide more development in the field of medicine.

REFERENCES

- Abd-Alla, H. I., Shalaby, N. M., Hamed, M. A., El-Rigal, N. S., Al-Ghamdi, S. N., & Bouajila, J., 2016. Phytochemical composition, protective and therapeutic effect on gastric ulcer and α -amylase inhibitory activity of *Achillea biebersteinii* Afan. Archives of Pharmacal Research, 39 (1), 10-20.
- Akkol, E. K., Koca, U., Pesin, I., & Yilmazer, D., 2011. Evaluation of the wound healing potential of *Achillea biebersteinii* Afan.(Asteraceae) by in vivo excision and incision models. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- Alfatemi, S. M. H., Rad, J. S., Rad, M. S., Mohsenzadeh, S., & Da Silva, J. A. T., 2015. Chemical composition, antioxidant activity and in vitro antibacterial activity of *Achillea wilhelmsii* C. Koch essential oil on methicillin-susceptible and methicillin-resistant Staphylococcus aureus spp.3 Biotech, 5 (1), 39-44.
- Alhakmani, F., Kumar, S., & Khan, S. A., 2013. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3 (8), 623-627.
- Altındağ, F., & Özdek, U., 2021. Protective Effects of Chitosan and Chitosan Oligosaccharide on Sodium Fluoride-Induced Testicular Damage in Male Rats: A Stereological and Histopathological Study. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 27(2), 83-189.
- Altındağ, F., & Rağbetli, M. Ç., 2021. The effect of maternal treatment with diclofenac sodium and thymoquinone on testicular parameters in rat offspring. Revista Internacional de Andrología. 19(1), 34-40
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., and Karademir, S. E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. Journal of agricultural and food chemistry, 52(26), 7970-7981.
- Ayeygin, K., Alp, H. H., Huyut, Z., Yıldırım, S., Altındağ, F., & Avci, V., 2021. The effects of CoQ10 supplement on matrix metalloproteinases, oxidative DNA damage and pro-inflammatory cytokines in testicular ischaemia/reperfusion injury in rats. Andrologia. 53: e13839

- Baharara, J., Namvar, F., Ramezani, T., Mousavi, M., & Mohamad, R., 2015. Silver nanoparticles biosynthesized using *Achillea biebersteinii* flower extract: apoptosis induction in MCF-7 cells via caspase activation and regulation of Bax and Bcl-2 gene expression. *Molecules*, 20 (2), 2693-2706.
- Barış, Ö., Güllüce, M., Şahin, F., Özer, H., Kiliç, H., Özkan, H., & Özbek, T., 2006. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan.(Asteraceae). *Turkish Journal of Biology*, 30 (2), 65-73.
- Eghdami, A., & Fatemeh, S., 2010. Determination of total phenolic and flavonoids contents in methanolic and aqueous extract of *Achillea millefolium*. *The Journal of Organic Chemistry* (2), 81-84.
- Gorinstein, S., Leontowicz, M., Leontowicz, H., Najman, K., Namiesnik, J., Park, Y. S., & Trakhtenberg, S., 2006. Supplementation of garlic lowers lipids and increases antioxidant capacity in plasma of rats. *NutritionResearch*, 26(7), 362-368.
- Haliloglu, Y., Ozek, T., Tekin, M., Goger, F., Base, K. H. C., & Ozek, G., 2017. Phytochemicals, antioxidant, and antityrosinase activities of *Achillea sivasica* Çelik and Akpulat. *International Journal of Food Properties*, 20(1), 693-706.
- Hammad, H. M., Abu, C., Matar, S. A., Litescu, S. C., Al Jaber, H. I., Abualraghib, A. S., & Afifi, F. U., 2013. Biological activities of the hydro-alcoholic and aqueous extracts of *Achillea biebersteinii* Afan.(Asteraceae) grown in Jordan. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7 (25), 1686-1694.
- Keser S., Celik, S., Turkoglu, S., Yilmaz, Ö., & Turkoglu, I., 2013. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of water and ethanol extracts from *Achillea millefolium* L. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10 (3), p. 385
- Kundaković, T., Dukić, N. M., & Kovačević, N., 2005. Free radical scavenging activity of *Achillea alexandri-regis* extracts. *Fitoterapia*, 76 (6), 574-576.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8), 118.
- Mert, H., İrak, K., Çibuk, S., Yıldırım, S., Mert, N., 2020. The effect of evening primrose oil (*Oenothera biennis*) on the level of adiponectin and some biochemical parameters in rats with fructose induced metabolic syndrome. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 1-9.
- Meydan, İ., Seckin, H., 2021. Green synthesis, characterization, antimicrobial and antioxidant activities of zinc oxide nanoparticles using *Helichrysum arenarium* extract. *Int. J. of Agr. Env. and Food Sci.* 5(1), 33-41.
- Meydan, İ., Kizil, G., Demir, H., Toptanci, B. C., & Kizil, M., 2020. In vitro DNA damage, protein oxidation protective activity and antioxidant potentials of almond fruit (*Amygdalus trichamygdalus*) parts (hull and drupe) using soxhlet ethanol extraction. *Advances in Traditional Medicine*, 1-9.
- Mirahmadi, S. F., & Reza, N., 2017. Chemical composition, phenolic content, free radical scavenging and antifungal activities of *Achillea biebersteinii*. *Food Bioscience*, 18,53-59.
- Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., & Altundag, S., 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, 112(4), 874-879.
- Ozdek U, Seckin H, Cibuk S., 2020 Investigation of Antimicrobial Effects of *Amygdalus Trichamygdalus* (Sweet Almond) and *Amygdalus nana* L. (Bitter Almond) Plants. *Van Vet J.* 31 (1), 22-26.
- Özyürek, M., Güçlü, K., & Apak, R., 2011. The main and modified cuprac methods of antioxidant measurement. *Trends in Analytical Chemistry*, 30 (4), 652-664.
- Seçkin, H., Meydan, İ., 2021. Synthesis and Characterization of *Veronica beccabunga* Green Synthesized Silver Nanoparticles for The Antioxidant and Antimicrobial Activity *Turk J. Agric. Res.* 8(1), 49-55.
- Sevindik, H., Güvenalp, Z., Yerdelen, K., Yuca, H., & Demirezer, L. Ö., 2015. Research on drug candidate anticholinesterase molecules from *Achillea biebersteinii* Afan. using by molecular docking and in vitro methods. *Medicinal Chemistry Research*, 24(11), 3794-3802.
- Sökmen, A., Sökmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Ünlü, M., & Akpulat, H.A., 2004. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteinii* Afan(Asteraceae). *Phytotherapy Research*, 18(6),451-456.

- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N.R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L., 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43, 587-595.
- Varasteh-Kojourian, M., Abrishamchi, P., Matin, M. M., Asili, J., Ejtehad, H., & Khosravitar, F., 2017. Antioxidant, cytotoxic and DNA protective properties of *Achillea eriophora* DC. and *Achillea biebersteinii* Afan extracts: A comparative study. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 7 (2), 157.
- Yildirim, B., Ekici, K., & Rezaeieh, K. A. P., 2015. Volatile oil components and antibacterial activity of *Achillea biebersteinii* Afan. from lake Van Basin, Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 27 (12),4686.
- Zengin, G., Bulut, G., Mollica, A., Haznedaroglu, M. Z., Dogan, A., & Aktumsek, A., 2017. Bioactivities of *Achillea phrygia* and *Bupleurum croceum* based on the composition of phenolic compounds: In vitro and in silico approaches. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 597-608.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64 (4), 555-559.



Research / Araştırma

Meyve Gelişimi Döneminde Kayısıda (*Prunus armeniaca* L.) Bazı Fiziksel ve Kimyasal Değişimler**

Mücahit PEHLUVAN¹, Berna DOĞRU ÇOKRAN^{2*}, Esengül ÇATAK³

ÖZET

Bu çalışma 2015 yılında Iğdır ilinde yürütülmüş olup, Şalak ve Teberze kayısı çeşitlerinde tam çiçeklenmeden sonra 32. günden itibaren 20 gün aralıklar ile meyvede fiziksel ve bazı kimyasal içerikler incelenmiştir. Fiziksel ölçümlerde meyve ağırlığı, meyve eni, meyve boyu, meyve yüksekliği, meyve hacmi ve meyve yoğunluğu, kimyasal ölçümlerde ise titre edilebilir asitlik, suda çözünebilir kuru madde miktarı (SÇKM) ve meyve suyu pH'sı ele alınmıştır. Hasada kadar dört kez örneklenen meyvelerde fiziksel gelişim bakımından üç büyüme safhası tespit edilmiştir. Bu safhalar 1. hızlı büyüme safhası, 2. yavaş büyüme safhası ve 3. hızlı büyüme safhası olarak belirlenmiştir. Üçüncü hızlı büyüme safhasında incelenen kimyasal içeriklerden titre edilebilir asitlik azalırken, SÇKM ve meyve suyu pH'sı artmıştır. Araştırma sonucunda, incelenen kayısı çeşitlerinde optimum hasat kriterlerini belirlemek ve meyvedeki değişimleri daha iyi görebilmek için meyve tutumundan sonraki evrelerde beş günlük örnek alma sıklığının yanı sıra şekerler, vitaminler, renk, mineral ve fenolik bileşikler ile meyve sertliği gibi daha farklı meyve kalite parametreleri ilave edilerek çalışmanın genişletilmesi tavsiye edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kayısı, Iğdır, Meyve büyüme evreleri

Alteration of Some Physical and Chemical Composition in Apricot (*Prunus armeniaca* L.) During Fruit Development

ABSTRACT

This study was carried out in Iğdır province in 2015. Variation in the weight, dimensions (width, length and height), volume and density of apricot fruit as physical and in their content of total soluble solid (TSS), titratable acidity and pH as chemical characteristics were investigated in Şalak and Teberze apricot cultivars during fruit development from 32 days after last bloom to the sampled with 20 day intervals in the study. Fruit samples were taken four times until harvest. We determined three development stage in terms of physical alteration in the fruits such as first fast growing stage, second slow growing stage and third fast growing stage. In the third fast growing stage a remarkable decreasing determined titratable acidity of fruit juice while total soluble solid and pH was increased. As a result of the research, in order to determine the optimum harvesting criteria for the examined apricot cultivars and to better see the changes in fruit, besides the interval of sampling for five days in the stages after fruit set, it is suggested to broaden the study by adding more different fruit quality parameters such as sugars, vitamins, colour, minerals and phenolic compounds and hardness.

Keywords: Apricot (*Prunus armeniaca* L.), Iğdır, Fruit development stages

¹ Mücahit PEHLUVAN (Orcid ID: 0000-0002-9092-202X), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Iğdır, Türkiye

² Berna DOĞRU ÇOKRAN (Orcid ID: 0000-0003-4194-7826), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Iğdır, Türkiye

³ Esengül ÇATAK (Orcid ID: 0000-0002-9453-4067), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Iğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Berna DOĞRU ÇOKRAN, e-mail: berna_dogru@hotmail.com

** Bu çalışma Esengül ÇATAK'ın Lisans tezinden üretilmiştir. Makale 9-11 Ekim 2017 tarihlerinde Iğdır'da düzenlenen "II. Uluslararası Iğdır Sempozyumu'nda" sözlü sunum olarak sunulmuş, özet bildirisi olarak basılmıştır.

GİRİŞ

Meyveler içerdikleri mineral, vitamin, lif ve bazı fitokimyasallar ile insanların beslenmesinde çok önemli rolleri bulunmak ile birlikte renkleri, tat ve aromaları ile de insanları cezbetmektedirler. Bu meyvelerden biriside sert çekirdekli grubunda yer alan kayısı (*Prunus armeniaca* L.) olup, eşsiz tadı ile yaz aylarında sevilerek tüketilmektedir.

Diğer meyvelerde olduğu gibi kayısıda da kaliteli bir ürün elde etmek için fenolojik aşamalardan itibaren hasada kadar büyüme ve gelişme evrelerinin bilinmesi bir takım kültürel tedbirlerin (sulama, gübreleme vb.) hangi zamanda yapılacağı konusunda fikir vermesi açısından önemlidir. Bununla beraber meyvedeki fiziksel ve kimyasal değişimlerin izlenerek optimum hasadın belirlenmesi ve bu dönemde hasat edilmesi meyvedeki kalitenin korunması açısından gerekmektedir (Gülyüz ve ark., 2001). Kayısıda geç hasat raf ömrünü azaltırken çok ciddi kayıplarına oluşmasına sebep olmaktadır. Erken hasadın getireceği en önemli sorunlar rekoltede azalma, ağırlık kayıpları (Karaçalı, 2009) meyve tat ve aromasında noksanlık, tekstürde aşırı sertlik, olgunlukta eksiklik gibi meyve kalitesinde yaşanacak problemler olacaktır (Mencarelli et al., 2006).

Eşitken (1992) Erzincan ekolojik koşullarında Hasanbey, Şalak ve Şekerpare kayısı çeşitlerinde, Bolat (1993) Iğdır şartlarında Şalak kayısı çeşidinde, Karlıdağ (1998) Malatya'da farklı rakımlarda yetiştiriciliği yapılan Hacıhaliloğlu, Soğancı, Hasanbey, Kabaası ve Şekerpare kayısı çeşitlerinde yetiştirme dönemi boyunca meyvede fiziksel ve kimyasal değişimlerin seyrini incelemişler, meyve büyümesinin çift sigmoid eğri meydana getirdiğini ve meyve gelişiminin hızlı-yavaş-hızlı olmak üzere üç safhada gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar meyvede hasada doğru SÇKM, pH, şeker miktarında artışlar yaşanırken titre edilebilir asitlikte azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Özelçi ve ark. (2021) Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinde fiziksel gelişimin büyük bir bölümünün çağla döneminin ilk bir aylık periyodunda gerçekleştiğini, meyvedeki tatlanma ve renklenme gibi kalite parametrelerinin hasada yakın dönemde yükseldiğini bildirmişlerdir.

Dünya kayısı üretimi FAO 2019 yılı verilerine göre 4 083.861 tondur (FAO, 2021). Türkiye kayısı üretiminde 2019 yılı verilerine göre 846 606 ton ve %20.73'lük bir pay ile dünya lideri durumundadır. Türkiye kayısı üretiminin yaklaşık %4.6'lık kısmı sofralık olarak Aras havzasında yer alan Iğdır'dan karşılanmaktadır (TUIK, 2021). Bu bölgede üretilen kayısının yaklaşık %90'lık kısmını sofralık Şalak kayısı çeşidi oluşturmaktadır (Kaya ve ark., 2014; Kaya ve ark., 2016).

Yapılan bu araştırmada Iğdır ilinde önemli bir sofralık çeşit olan Şalak ile yine bölgenin önemli çeşitlerinden olan ve aynı zamanda Şalak kayısı çeşidinin tozlayıcısı olarak da kullanılan Teberze çeşidinde çiçeklenme sonundan itibaren hızlı hücre bölünmesinin olduğu ilk bir aylık dönemden sonra meyvelerde periyodik olarak fiziksel ve kimyasal değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışma Iğdır iline bağlı Enginalan köyünde bulunan bir üretici bahçesinde yürütülmüştür. Çalışma materyali olarak zerdali anaçları üzerine aşılanmış 9-10 yaşındaki Şalak ve Teberze kayısı çeşitlerinden her çeşide ait üçer ağaç kullanılmıştır. Deneme alanında eşit bakım koşullarına sahip, büyüme ve gelişme performansı birbirine yakın ağaçlar seçilmiştir.

Metot

Kayısı çeşitlerinde çiçeklenme sonu olarak belirlenen 27 Mart 2015 tarihinden itibaren 32 gün sonra 20 günlük aralıklar ile 4 kez örnek alınmıştır. 29 Haziran 2015 tarihinde hasat zamanına girildiği dönemde son örnekler alınmıştır. Deneme de her bir çeşit için üçer ağaç kullanılmış bir ağaç bir tekerrürü temsil edecek şekilde planlama yapılmış ve her ağaçtan 15'er meyve örneği alınmıştır. Örnekler ağaçların her yönünü temsil edecek şekilde tesadüfen alınmıştır. Bu işlem çiçeklenme sonu olarak belirlenen 27 Mart 2015 tarihinden itibaren 32. gün, 52. gün, 72. gün ve 92. gün dört kez gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen örneklerin meyve ağırlığı 0.01 g hassasiyete sahip terazi ile, meyve eni, meyve boyu ve meyve yüksekliği değerleri ise 0.01 mm hassasiyete sahip dijital kumpas kullanılarak ölçülmüştür. Meyve hacmi ölçü silindiri kullanılarak, yoğunluk ise ağırlığın hacim değerine bölümü sonucunda elde edilmiştir. Meyve örneklerinden çıkartılan meyve sularında SÇKM değeri dijital masaüstü WAY-2S marka refraktometre ile, meyve suyu pH'sı Jenco marka taşınabilir pH metre ile belirlenmiştir. Titre edilebilir asitlik değeri, bir miktar meyve suyu bir miktar saf su ile seyreltilip süzöldükten sonra 0.1 N NaOH ile pH 8.1'e gelinceye kadar titrasyon yapılmış ve harcanan hacim üzerinden hesaplama yapılarak $g \cdot 100^{-1}$ malik asit cinsinden ifade edilmiştir (AOAC, 1984).

İstatistik Analiz

Üç tekrarlamalı olarak yürütülen bu çalışmada verilere JMP 7.0 paket programı kullanılarak varyans analizi yapılmıştır. Örneklemeye yapılan dönemler arasındaki farkın belirlenmesinde ortalamalara LSD testi uygulanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

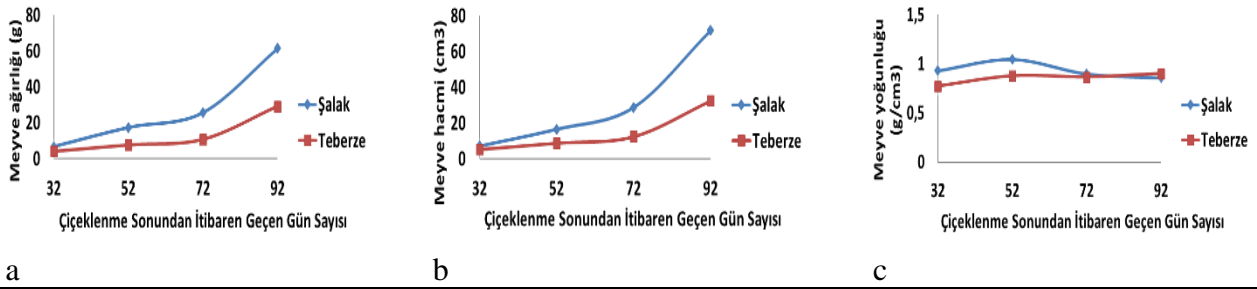
Yapılan veri analizi sonucunda meyve ağırlığı, meyve boyu, meyve eni, meyve yüksekliği, meyve hacmi ve meyve yoğunluğu gibi fiziksel özelliklerin örnek alma zamanları arasındaki fark her iki çeşitte de önemli bulunmuştur. Şalak çeşidinde ilk örnekten hasada doğru meyve ağırlığı 6.72-61.53 g, meyve boyu 31.38-49.58 mm, meyve eni 20.78-45.06 mm, meyve yüksekliği 18.68-46.43 mm, meyve hacmi 7.23-71.83 cm^3 ve meyve yoğunluğu ise 0.77-0.90 $g \cdot cm^{-3}$ değerleri arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Teberze çeşidinde ise meyve ağırlığı 4.14-29.29 g, meyve boyu 24.30-37.41 mm, meyve eni 19.27-35.61 mm, meyve yüksekliği 16.11-37.84 mm, meyve hacmi 5.37-32.30 cm^3 ve meyve yoğunluğu 0.77-0.90 $g \cdot cm^{-3}$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 1 ve Çizelge 2). Doğru ve ark. (2015) Şalak kayısı çeşidinde yaptıkları bir çalışmada ortalama meyve ağırlığını 53.42-73.82 g; meyve çapını 41.06-48.83 mm; çekirdek ağırlığını 1.81-4.85 g olarak saptamışlardır. Yine Şalak kayısı çeşidinde yapılan bir çalışmada Gülsoy ve ark. (2016) meyve ağırlığını 53.42-73.82 g, meyve boyunu 49.47-56.80 mm, meyve enini 41.06-48.83 mm, meyve yüksekliğini 40.53-47.27 mm olarak tespit etmişlerdir. Muradoğlu ve ark. (2016) ise meyve ağırlığını Şalak'ta 51.79 g, Teberze'de 46.69 g olduğunu bildirmiştir.

Şalak çeşidinde çiçeklenme sonundan itibaren geçen ilk 32. günde alınan meyve örneklerine göre 52. günde ağırlık artışı %159.1, 52. gün alınan meyve örneklerine göre 72. günde ağırlık artışı %47.7 ve 72. gün alınan meyve örneklerine göre 92. gün ağırlık artışı %139.2 olmuştur. Teberze çeşidinde ise sırasıyla %86.0, %40.5 ve %170.7 oranlarında ağırlık artışı saptanmıştır. Tam çiçeklenmeden sonra 20 günlük aralıklar ile dört kez alınan meyve örneklerindeki fiziksel değişimler 3 safhada gerçekleştiği belirlenmiştir. Bunlar 1. hızlı büyüme safhası, 2. yavaş büyüme safhası ve 3. hızlı büyüme safhalarıdır (Şekil 1 a ve b; Şekil 2 a, b ve c). Benzer şekilde Eşitken (1992) Erzincan koşullarında Şalak, Hasanbey ve Şekerpare çeşitlerinde meyvelerin çift sigmoid büyüme eğrisi oluşturduğunu ve hızlı-yavaş-hızlı olmak üzere üç büyüme safhasının olduğunu rapor etmiştir. İkinci dönemde büyümedeki durağanlaşma çekirdeğin taşlaşma sürecine girmesi, embriyonun büyüme ve gelişme dönemini tamamlaması ile açıklanabilir. Nitekim Karaçalı (2009) bu durağan dönemde perikarpta gelişmenin yavaşladığını, endokarpta ligninleşme ve doku sertleşmesinin olduğunu, embriyonun bu dönemde gelişme dönemini tamamladığını bildirmiştir.

Çizelge 1. Şalak ve Teberze kayısı çeşitlerinin farklı dönemlerde meyve ağırlığı (g), meyve hacmi (cm^3), meyve yoğunluğu ($g \cdot cm^{-3}$)

ÇSİGGS	Meyve Ağırlığı (g)		Meyve Hacmi (cm^3)		Meyve Yoğunluğu ($g \cdot cm^{-3}$)	
	Şalak	Teberze	Şalak	Teberze	Şalak	Teberze
32	6.72 d	4.14 d	7.23 d	5.37 d	0.93 b	0.77 b
52	17.41 c	7.70 c	16.67 c	8.90 c	1.04 a	0.88 ab
72	25.72 b	10.82 b	28.83 b	12.50 b	0.90 b	0.87 ab
92	61.53 a	29.29 a	71.83 a	32.50 a	0.86 b	0.90 a

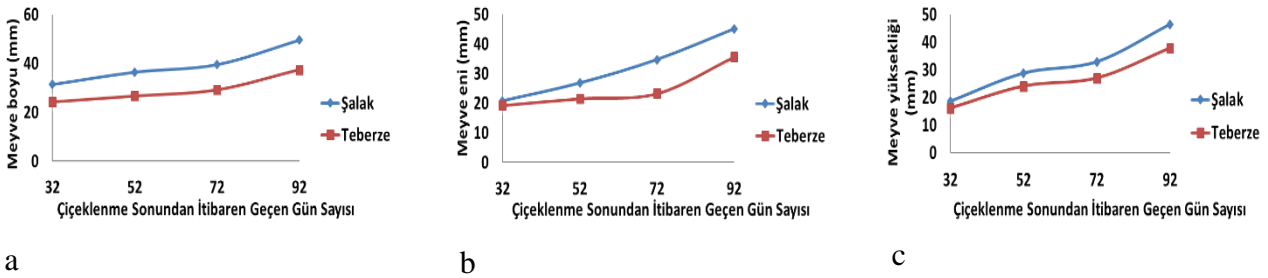
Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir. ÇSİGGS; çiçeklenme sonundan itibaren geçen gün sayısı.



Çizelge 2. Şalak ve Teberze kayısı çeşitlerinin farklı dönemlerde meyve boyu (mm), meyve eni (mm), meyve yüksekliği (mm)

ÇSİGGS	Meyve Boyu (mm)		Meyve Eni (mm)		Meyve Yüksekliği (mm)	
	Şalak	Teberze	Şalak	Teberze	Şalak	Teberze
32	31.38 d	24.30 d	20.78 d	19.27 d	18.68 d	16.11 d
52	36.44 c	26.71 c	26.82 c	21.55 c	28.79 c	24.07 c
72	39.55 b	29.21 b	34.72 b	23.28 b	32.92 b	26.99 b
92	49.58 a	37.41 a	45.06 a	35.61 a	46.43 a	37.84 a

Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir. ÇSİGGS; çiçeklenme sonundan itibaren geçen gün sayısı.



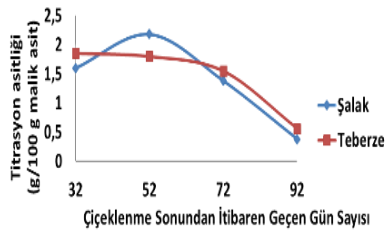
Örnek alma zamanlarının meyvenin titre edilebilir asitlik, suda çözünen kuru madde miktarı (SÇKM) ve meyve suyu pH'sı üzerine etkisi Şalak ve Teberze çeşitlerinde önemli bulunmuştur. Şalak çeşidinde asitlik $1.60-0.38 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$, SÇKM %5.08-%13.09, meyve suyu pH'sı 3.28-4.79, Teberze çeşidinde asitlik $1.85 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}-0.56 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$, SÇKM %6.01-%13.80, meyve suyu pH'sı 3.34-4.34 arasında değişim göstermiştir. Her iki çeşitte de hasada doğru asitlik azalırken, SÇKM ve meyve suyu pH değerleri artış göstermiştir (Çizelge 3). Özelçi ve ark. (2021) Malatya ekolojik koşullarında Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinde meyve gelişimi süresince meyvenin kimyasal değişimlerini incelemişler ve hasada doğru asitliğin azaldığını fakat SÇKM ve meyve suyu pH değerinin arttığını bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada kayısı çeşitlerinin çiçeklenme sonundan itibaren geçen 72. gün alınan meyve örneklerine oranla 92. günde alınan meyve örneklerinde asitlik oranında en fazla azalış ve SÇKM ve pH değerinde en fazla artış bu dönemde olmuştur (Şekil 3 a, b ve c). Bu dönem ise 3. hızlı büyüme safhasına tekabül etmektedir. Şalak çeşidinde asitlik %-72.46 azalış, SÇKM'de %65.70 artış, pH değerinde %37.64 artış belirlenmiştir. Teberze çeşidinde ise asitlikte %-63.87 azalış, SÇKM'de %177.67 artış ve pH değerinde ise %26.16 oranında artışın olduğu tespit edilmiştir. Eşitken (1992) benzer şekilde asitlikte olgunluğun artması ile 3. hızlı büyüme safhasında düşüş, SÇKM'de 2. yavaş büyüme evresine göre 3. hızlı büyüme safhasında hızlı artış ve pH'da ise olgunluk arttıkça artış olduğunu rapor etmiştir. Bolat ve ark. (2004) ve Karlıdağ (1998) bazı kurutmalık kayısı çeşitlerinde olgunluk arttıkça SÇKM'de artış olduğunu

asitlik miktarında ise azalışın olduğunu bildirmişlerdir. Muradoğlu ve ark. (2016) Şalak çeşidinde asitliği %0.21, SÇKM değerini %14.67, pH değerini 5.27 olarak, Teberze çeşidinde ise asitliği %0.24, SÇKM değerini %24.00 ve pH değerini 5.21 olarak tespit etmişlerdir.

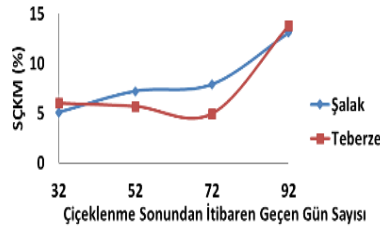
Çizelge 3. Şalak ve Teberze kayısı çeşitlerinin farklı dönemlerde titre edilebilir asitlik ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$), SÇKM (%) ve pH değerleri

ÇSİGGS	Titre Edilebilir Asitlik ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$)		SÇKM (%)		Meyve Suyu pH'sı	
	Şalak	Teberze	Şalak	Teberze	Şalak	Teberze
32	1.60 b	1.85 a	5.08 d	6.01 b	3.28 d	3.34 c
52	2.18 a	1.80 b	7.21 c	5.70 c	3.38 c	3.45 b
72	1.38 c	1.55 c	7.90 b	4.97 d	3.48 b	3.44 b
92	0.38 d	0.56 d	13.09 a	13.80 a	4.79 a	4.34 a

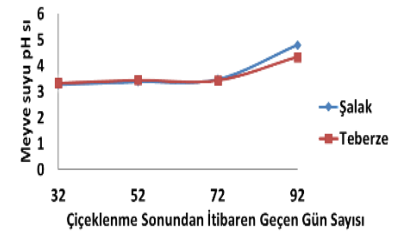
Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir. ÇSİGGS; çiçeklenme sonundan itibaren geçen gün sayısı.



a



b



c

Şekil 3. a: titre edilebilir asitlik, b: SÇKM, c: pH değerlerine ait değişimler

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, ülkemizin önemli bir sofralık kayısı çeşidi olan ve büyük pazarlarda aranan Şalak kayısı çeşidi ile Teberze çeşidinin çiçeklenme sonrası farklı meyve gelişim evrelerine ait örneklerdeki bazı fiziksel ve kimyasal değişimler ortaya konulmuştur. Sonuçlarımız her iki kayısı çeşidi için meyvelerin fiziksel gelişimi bakımından üç büyüme safhasının (ilk hızlı büyüme, yavaş büyüme ve ikinci hızlı büyüme) meydana geldiğini göstermektedir. Ayrıca ikinci hızlı büyüme safhasında iki çeşit için meyvenin kimyasal özelliklerinde (SÇKM ve pH) artışların meydana geldiği, titre edilebilir asitlik değerinde ise azalışların olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, sonraki araştırmalarda değerlendirilecek olan kayısı çeşitlerinde büyüme evrelerinin daha detaylı incelenebilmesi ve optimum hasat kriterlerinin daha net saptanabilmesi için farklı kalite parametrelerinin çalışmaya eklenerek örnekleme sıklığının 5 günlük aralıklar ile yapılması tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2021. Dünya 2019 yılı kayısı üretim miktarı. Food and agriculture organization of the United Nations, (FAO, 2021). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/> (Erişim tarihi:19.05.2021).
- Anonim, 2021. Türkiye 2019 yılı kayısı üretim miktarı. Türkiye İstatistik Kurumu, (TÜİK, 2021). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr/> (Erişim tarihi:19.05.2021).
- Anonymous, 1984. AOAC, Official methods of analysis (14th ed.). Arlington, VA, USA: Association of official analytical chemists (AOAC).
- Bolat, İ., 1993. Iğdır koşullarında yetiştirilen Şalak kayısı çeşidinde meyve gelişme periyodunda meydana gelen bazı fiziksel ve kimyasal değişimler ve birbirleri ile ilişkileri. Doğa Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi, 17, 841-853.
- Bolat, İ., Şahin, M., Uslu, S., Demirtaş, M.N., Asma, B.M., Pektekim, T., 2004. Hacıhaliloğlu ve Kabaası kayısı çeşitlerinde derim kriterlerinin ve optimum derim zamanının saptanması. TÜBİTAK TOGTAV/TARP-2573-11, Şanlıurfa.
- Doğru, B., Kaya, T., Pehlivan, M., Gülsoy, E., 2015. Aras Havzasında yetiştirilen Şalak kayısı çeşidinin fenolojik ve pomolojik özellikleri üzerine yetiştirme yerinin etkisi. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Çanakkale, Türkiye, 25-29 Ağustos 2015, Bildiri özetleri kitabı, 21.

- Eşitken, A., 1992. Erzincan’da yetiştirilen Hasanbey, Şalak, Şekerpare kayısı çeşitlerinin gelişme dönemlerinde meyvede meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler ile hasat kriterlerinin saptanması üzerinde bir araştırma. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Güleryüz, M., Ercişli, S., Erkan, E., 2001. Erzincan ovasında yetiştirilen bazı elma çeşitlerinin meyve gelişimi dönemlerinde meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler ile bunlar arasındaki ilişkiler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 32(1), 51-59.
- Gülsoy, E., Kaya, T., Pehlivan, M., Doğru Çokran, B., 2016. Textural and physicochemical characteristics of Şalak (Apricose) apricot cultivar. VII. International scientific agriculture symposium (AgroSim), Jahorina, Bosna and Herzegovina, 6-9 October 2016, 1092-1098.
- Karaçalı, İ., 2009. Bahçe Ürünlerinin Muhafaza ve Pazarlaması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 494, 486 sayfa.
- Karlıdağ, H., 1998. Hekimhan’da farklı rakımlarda yetiştirilen bazı kayısı çeşitlerinde meyvenin fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki kimyasal değişimin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Kaya, T., Pehlivan, M., Gülsoy, E., Doğru, B., 2016. Iğdır yöresinde Şalak kayısı ağaçlarında görülen fiziksel hasarların ağaç yaşı ile ilişkilerinin belirlenmesi. Bahçe, Özel Sayı (1), 8-15.
- Kaya, T., Pehlivan, M., Doğru, B., Bozhüyük, M.R., 2014. Aprikoz (Şalak) kayısı ağaçlarında farklı yaş gruplarının meyve dalı profili ve meyve tutumu oranı üzerine etkisi. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi, 7(1), 75-79.
- Mencarelli, F., Botondi, R., De Santis, D., Vizovitis, K., 2006. Post-harvest quality maintenance of fresh apricots. XIIth International Symposium on Apricot Culture and Decline, ActaHort., ISHS, September 2006, 701, 503-510.
- Muradoğlu, F., Pehlivan, M., Gündoğdu, M., Kaya, T., 2011. Iğdır yöresinde yetiştirilen bazı kayısı (*Prunus armeniaca* L.) genotiplerin fizikokimyasal özellikleri ile mineral içerikleri. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 1, 17-22.
- Özelçi, M., Aslantaş, R., Özelçi, D., Çöçen, E., 2021. Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinde meyve gelişimi sırasındaki fiziksel ve kimyasal değişimlerin belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 8(1), 58-65.

**Research / Araştırma****Antibacterial and Antifungal Activity of Nanofungal Molecules Using *Pleurotus eryngii* Mushroom****Hamdullah SEÇKİN^{1*}****ABSTRACT**

Molecular synthesis at nano level is becoming a growing field of science due to its treatment and solution-oriented applications. Plants and bacteria in particular have an important place in nanoparticle production. The positive results of nanofungal structures in scientific studies in recent years have led the scientific world to turn to fungal nanomolecule synthesis. Silver coated nanofungal structures are highly preferred in medical and industrial applications. In our study, the Antibacterial and Antifungal activity of nano molecules obtained by using *Pleurotus eryngii* (Heliz Mushroom) and AgNO₃ was investigated by using Disk diffusion method. Ten different clinical strains were used in the study. Looking at the results obtained, it was determined that nano molecules formed zones varying between 9.1-15.0 against pathogenic microorganisms used. In addition, it was observed that nanoparticles formed zones more effective against some pathogens than antibiotics used as positive control.

Keywords: Nanofungal, *Pleurotus eryngii*, Antibacterial, Antifungal, AgNO₃

Pleurotus eryngii* Mantarı Kullanılarak Elde Edilen Nanofungal Moleküllerin Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitesi*ÖZET**

Nano düzeyde molekül sentezi, tedavi eksenli ve çözüm odaklı uygulamaları nedeniyle her geçen gün büyüyen bir bilim alanı haline gelmektedir. Özellikle bitkiler ve bakteriler nanoparçacık üretiminde önemli bir yere sahiptir. Son yıllarda nanofungal yapıların bilimsel çalışmalarda olumlu sonuçlar vermesi, bilim dünyasının mantar yapılı nanomolekül sentezine yönelmesine neden olmuştur. Gümüş kaplı nanofungal yapılar tıbbi ve endüstriyel uygulamalarda çok fazla tercih edilmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada *Pleurotus eryngii* (Heliz Mantarı) ve AgNO₃ kullanılarak elde edilen nano moleküllerin Disk difüzyon metodu kullanılarak Antibakteriyel ve Antifungal aktivitesi araştırıldı. Çalışmada 10 farklı klinik suş kullanıldı. Elde edilen sonuçlara bakıldığında nano moleküllerin kullanılan patojen mikroorganizmalara karşı 9.1-15.0 arasında değişen oranlarda zonlar oluşturduğu belirlendi. Ayrıca nanoparçacıkların bazı patojenlere karşı pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiklerden daha etkili zonlar oluşturduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Nanofungal, *Pleurotus eryngii*, Antibakterial, Antifungal, AgNO₃

INTRODUCTION

Nanomolecules production technology has gained an increasing momentum in recent years. The scope of the study area has gradually expanded. Especially in terms of medicine and biotechnology, the use of nano materials has become widespread. Nanoparticles are known to have versatile research areas such as biomedical applications, drug discovery, and cosmetics (Chaudhuri & Paria, 2012). The most extensively used metals in nanoparticle production research are structures such as Ag, Au, Pt and Pd. Among these, silver-derived nanoparticles have shown good results due to their important application in biomedicine (Kumar et al., 2020). Silver-based nanomolecules have a significant antibacterial capacity (Mohanpuria et al., 2008). It has become important to use silver nanoparticles as antimicrobial agents against the ever-increasing threats created by antibiotic-resistant microorganisms compared to other metals (Parashar et al., 2009). The use of biological synthesis approaches (plants, fungi, bacteria, algae, and actinomycetes) in the production of nanoparticles provides more advantages over other methods, as they are simple, cost-effective, reliable and environmentally friendly (Kumar and Yadav, 2009). Mushrooms have been used by humans for nutritional and medicinal purposes, due to their many pharmacological properties (Muszyńska et al., 2018). *Pleurotus eryngii* mushroom, which grows mostly in the Eastern Anatolia Region in our country, is an important species that is consumed as food and has economic importance (Akyüz and Kırbağ, 2007). *Pleurotus eryngii* is a mushroom species whose cultivation is rapidly increasing in many countries due to its taste, high nutritional content, medicinal properties, aromatic structure and long shelf life (Rodriguez Estrada, 2008; Moonmoon et al., 2010). *Pleurotus eryngii* mushroom contains many compounds with antioxidant properties such as polysaccharides and polyphenols (Lin et al., 2014). In addition, *Pleurotus eryngii* mushroom is preferred by scientists in medical, pharmaceutical and biotechnological studies (Gregori et al., 2007). Among the medicinal effects of various biological compounds produced by *Pleurotus eryngii*, it has been determined that Eryngeolysin has an antibacterial effect and Eryngin has an antifungal effect (Staji et al., 2009). Because of the medical and biomedical applications of silver nanoparticles, the use of fungal-derived polysaccharides is an important step towards natural medicine development (Radhakrishnan and Peter, 2021).

In this study, the antibacterial and antifungal activity of nano molecules obtained by using *Pleurotus eryngii* (Heliz Mushroom) and Silver Nitrate grown in its natural environment in the province of Van was investigated.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of mushroom extract

Pleurotus eryngii (Heliz) mushroom (Figure 1) collected from the province of Van was first described in accordance with systematic principles. The species determination of the collected mushrooms was made in Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Science, Department of Biology. After the appropriate sterile conditions were provided in the laboratory, the washing process was performed. Then it was dried at room temperature for two weeks. After this time was completed, the mushrooms were powdered with the help of a powerful grinder. Taking 50 g of the sample obtained, it was mixed with 250 ml of distilled water. This solution was kept at 300 rpm for 24 hours with the help of magnetic stirrer. Then it was subjected to boiling process at 80 °C for 15 minutes. The solution obtained was filtered using Whatmann No: 1 filter paper. The resulting aqueous extract was stored at +4 ° C to be used in nanoparticle production study (Selvi and Sivakumar, 2014; Meydan, 2021).



Figure 1. *Pleurotus eryngii* (Heliz) mushroom

Synthesis of AgNO₃ structured nano molecules

1 mM 500 ml AgNO₃ solution and 100 ml *Pleurotus eryngii* aqueous extract prepared for nanomolecular synthesis were reacted in a flask. In this reaction that took place at room temperature, color change (yellow → brownish tone) occurred after 35-40 minutes (Figure-2). Centrifugation was used to separate the nanoparticles from the solution. The solution was centrifuged at 10,000 rpm for 8 minutes and the supernatant was removed with a micropipette. The pellet in the lower part was washed three times. The nano molecules obtained in this way were left to dry for four days at 40 °C. It was then kept at +4 ° C for Antibacterial and Antifungal activity (Prakash et al., 2013, Sun et al., 2014,).

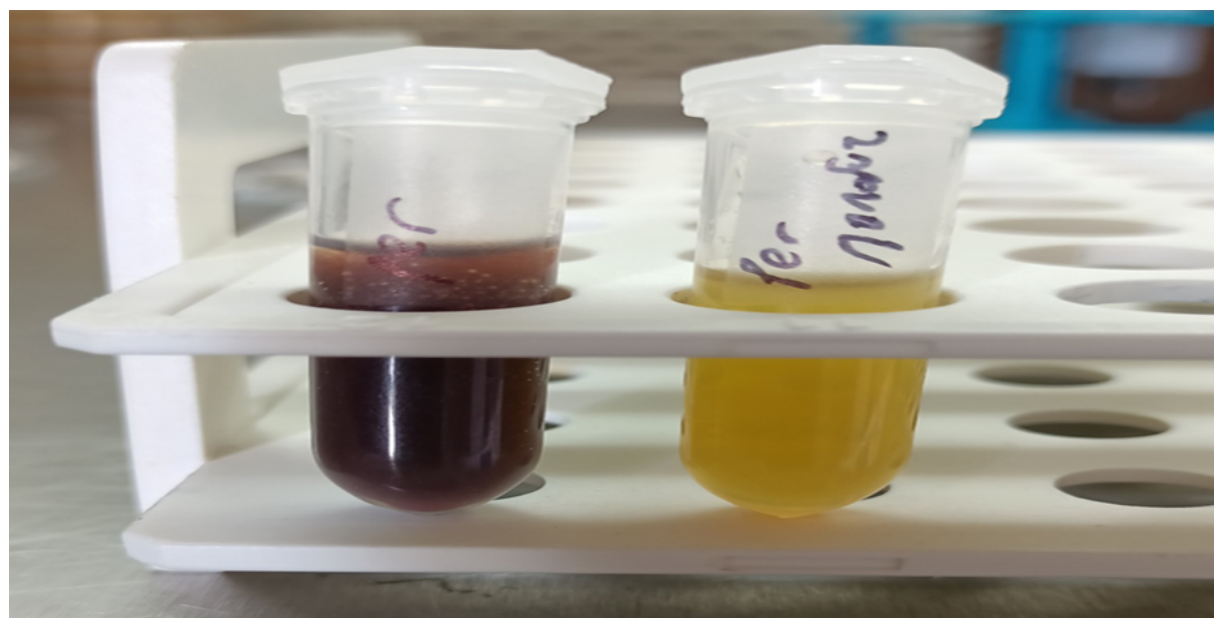


Figure 2. Color change during nanomolecule synthesis.

Antimicrobial activity

Antibacterial and Antifungal effects of nano molecules formed by using *Pleurotus eryngii* mushroom and AgNO₃ were investigated using disk diffusion method. Patented and clinical strains

used in the study (Table 1) were obtained from Van Yüzüncü Yıl University Research and Application Hospital. Pathogens were first allowed to grow in Tryptic Soy Broth broth (24 hours). Müller Hinton medium was used for the disk diffusion method. *Pleurotus eryngii* extract and AgNPs/Pe clusters were absorbed into 6 mm diameter blank discs. This process was carried out gradually with 25 μ L on each disk (Figure 3). Rifampin and Oleandomycin antibiotics were used as positive controls for the reliability of the study. Discs prepared at room temperature, Rifampin (5 μ g) and Oleandomycin (15 μ g) antibiotic discs were placed in pathogen-planted media with the help of a sterile forceps. It was kept in the oven for 24 hours at 36.5-37 $^{\circ}$ C for incubation. According to the results obtained, zone measurements were made and images were recorded (Senthilkumar and Sivakumar, 2014; Meydan and Seçkin 2021).

Table 1. Strains used in the study

Pathogenic Microorganisms
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Salmonella enterica</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 29213
<i>Candida albicans</i> ATTC 90028 (Fungus)

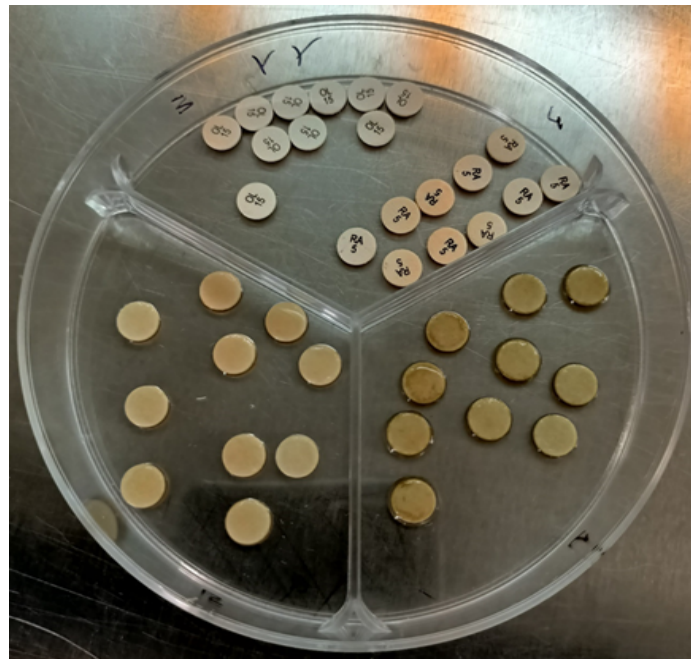


Figure 3. Absorption of samples on blank discs

RESULTS AND DISCUSSION

Many studies have been conducted on the antimicrobial activities of nanoparticles in recent years. Silver nanoparticles (AgNPs) obtained using *Pleurotus citrinopileatus* extract were found to have a bactericidal effect against pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* (Maurya et al., 2016). In our study, Antimicrobial activity of AgNPs/Pe, mushroom extract and antibiotics used as positive control, obtained by using *Pleurotus eryngii* mushroom and AgNO₃, were investigated using disk diffusion method. It was observed that Ag-NPs obtained using *Calotropis procera* leaf and fruit extract caused a significant decrease in the colonization levels of *Vibrio cholera* and enterotoxigenic *Escherichia coli* bacteria (Salem et al., 2015). According to a study in rabbits, silver-coated nanoparticulate implants were determined to inhibit *Staphylococcus aureus* biofilm formation (Gupta et al., 2014). Silver nanoparticles tend to affect more than one site in bacterial cells as biocides and therefore have a broad spectrum (Markowska et al., 2013). It has been determined that Ag NPs/Vb obtained by using *Veronica beccabunga* plant has antibacterial effect against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* microorganisms (Seçkin and Meydan, 2021). Syed et. al., (2019) found that silver nanoparticles synthesized using the root extract of *Cassia toral L.* showed antibacterial action against *P. pseudomonas* and *S. aureus* pathogens. According to the data obtained as a result of the study, it was determined that AgNPs/Pe formed zones varying between 9.1-12.2 mm against nine different pathogenic bacteria. It was seen that the nano molecules used had antibacterial activity. *C. albicans* and *C. tropicalis* showed high sensitivity to AgNPs (Mallmann et al., 2015). *Candida albicans* mushroom was used to determine the antifungal effect. It was determined that AgNPs formed an inhibition zone of 15 mm diameter against *Candida albicans* pathogen and thus showed antifungal effect. The zone diameters obtained as a result of the disk diffusion method are given in Table 2. Looking at the results, it was seen that Silver nanoparticles were more effective against *Bacillus cereus* ATCC 10876 bacteria than Rifampin antibiotics. In addition, AgNPs were determined to have a much better activity than Oleandomycin and Rifampin antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Candida albicans* ATTC 90028 pathogens. Some images obtained in the study are given in Figure 4.

Table 2. Zone diameters obtained as a result of the disk diffusion method.

Pathogenic Microorganisms	AgNPs/Pe (mm)	Pe Extract (mm)	Oleandomycin (mm)	Rifampin (mm)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	9.4	8.0	9.5	10
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	12.1	-	21.6	11.3
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	11.0	9.2	13.5	15.3
<i>Enterococcus faecium</i>	10.1	8.2	14.7	-
<i>Escherichia coli</i>	9.2	8.3	-	9.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12.2	-	13.3	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11.0	-	9.0	9.1
<i>Salmonella enterica</i>	9.1	8.1	11.3	12.2
<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 29213	11.2	-	20.5	11.4
<i>Candida albicans</i> ATTC 90028 (Fungus)	15.0	-	-	-

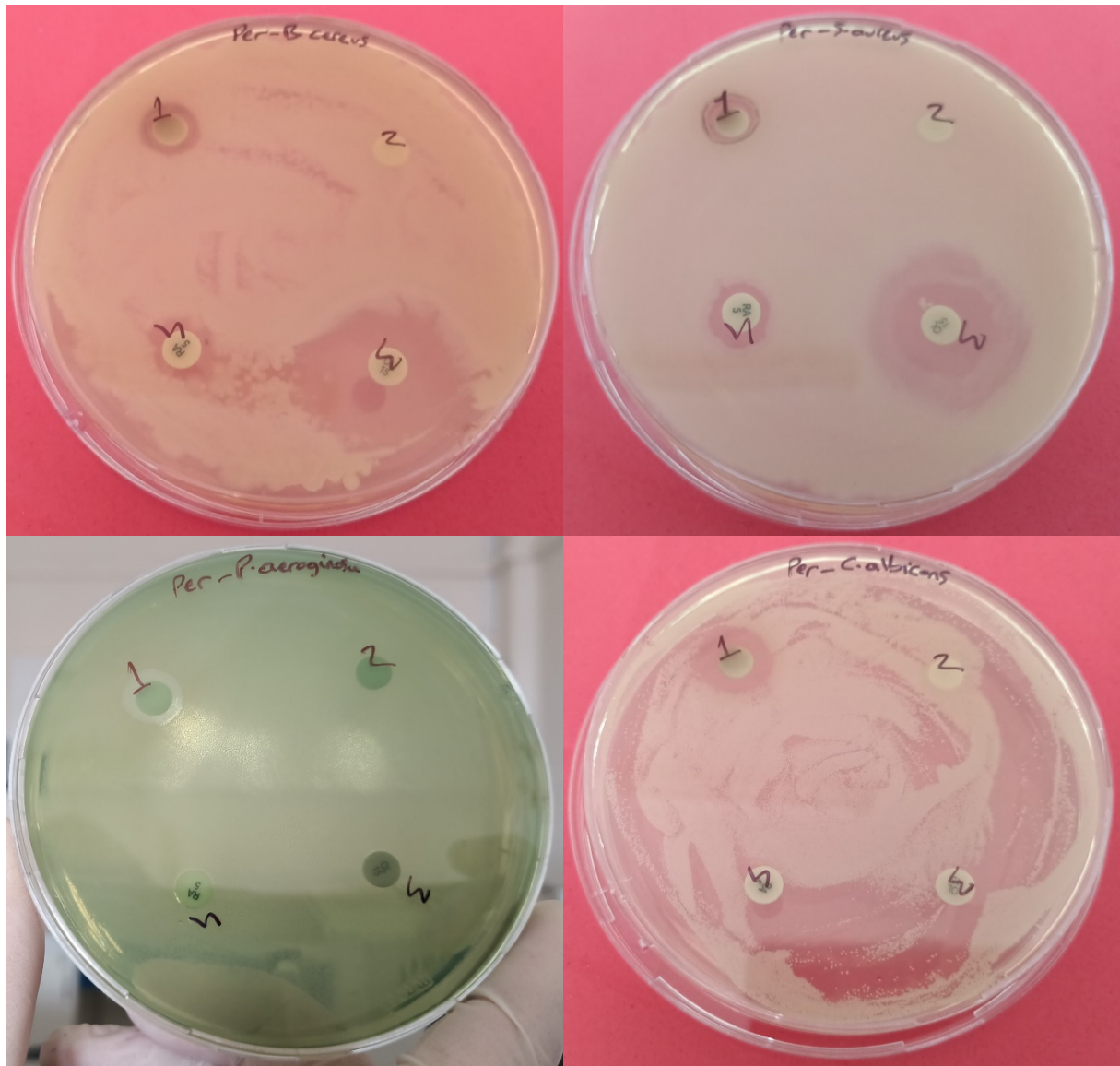


Figure 4. Some images obtained as a result of the Disk Diffusion method

CONCLUSION

Bacterial and fungal infections have become a serious health problem. The resistance of pathogenic microorganisms to existing antibiotics has become an urgent issue in the medical world. For this reason, developing new antibacterial and antifungal agents with antimicrobial activity and easily accessible is a must in terms of health. It is thought that the nano molecules obtained by using the *Pleurotus eryngii* mushroom have a high antimicrobial effect and can be used in the production of active ingredients, especially in the field of pharmacology.

REFERENCES

- Akyüz, M., Kırbağ, S., 2007. Ülkemizde sebze ve meyvelerin yanı sıra alternatif besin kaynağı: Yabani mantar (*Pleurotus eryngii* var. *ferulae*). Artvin Çoruh Üni Orman Fak Derg, 8(1), 26-36.
- Chaudhuri, R.G., Paria, S., 2012. A novel method for the templated synthesis of Ag₂S hollow nanospheres in aqueous surfactant media. J. Colloid. Inter. Sci. 369, 117-122.
- Gregori, A., Švagelj, M., Pohleven, J., 2007. Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp. Food Technol. Biotechnol. 45, 238-249.

- Gupta, K., Shabiha, N.H., Devabrata, S., Nima, D.N., Manabendra, M., 2014. One step green synthesis and antimicrobial and antibiofilm properties of *Psidium guajava* L. leaf extract-mediated silver nanoparticles. *Mater. Lett.* 125, 67-70.
- Kavyashree, D., Ananda-Kumari, R., Nagabhushana, H., Sharma, S.C., Vidya, Y.S., Anantharaju, K.S., Daruka-Prasad, B., Prashantha, S.C., Lingaraju, K., Rajanaik, H., 2015. Orange red emitting Eu³⁺ doped zinc oxide nanophosphor material prepared using *Guizotia abyssinica* seed extract: structural and photoluminescence studies. *J. Lumin.* 167, 91-100.
- Kumar, H., Bhardwaj, K., Nepovimova, E., Kuča, K., Singh-Dhanjal, D., Bhardwaj, S., Bhatia, S.K., Verma, R., Kumar, D., 2020. Antioxidant Functionalized Nanoparticles: A Combat against Oxidative Stress. *Nanomaterials (Basel)*, 10.
- Kumar, V., Yadav, S.K., 2009. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 84(2), 151-157.
- Lin, J.T., Liu, C.W., Chen, Y.C., Hu, C.C., Juang, L.D., Shiesh, C.C., Yang, D.J., 2014. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties for ethanolic extracts from *Pleurotus eryngii* fruiting bodies harvested at different time. *LWT-Food Science and Technology.* 55(1), 374-382.
- Mallmann EJJ, Cunha FA, Castro BNMF, Maciel AM, Menezes EA, Fechine PBA, (2015). Antifungal activity of silver nanoparticles obtained by green synthesis. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 57: 165-167.
- Markowska, K., Grudniak, A.M., Wolska, K.I., 2013. Silver nanoparticles as an alternative strategy against bacterial biofilms. *Acta Biochim. Pol.* 60, 523-530.
- Maurya, S., Bhardwaj, A.K., Gupta, K.K., Agarwal, S., Kushwaha, A., et al. 2016. Green Synthesis of Silver Nanoparticles using *Pleurotus* and its Bactericidal Activity. *Cell Mol. Biol.* 62, 131.
- Meydan, İ., 2021. Investigation of Antioxidant, Antimicrobial and DNA Damage Prevention Activity of the *Diplotaenia turcica* Plant Stabilized Silver Nanoparticles. *Fres Env Bull*, 30(2), 1231-1239.
- Meydan, İ., Seckin, H., 2021. Green synthesis, characterization, antimicrobial and antioxidant activities of zinc oxide nanoparticles using *Helichrysum arenarium* extract. *Int. J. of Agr. Env. and Food Sci.* 5(1), 33-41.
- Mohanpuria, P., Rana, N.K., Yadav, S.K., 2008. Biosynthesis of nanoparticles: Technological concepts and future applications. *J. Nanopart. Res.* 10, 507-517.
- Moonmoon, M., Uddin, N.M., Ahmed, S., Shelly, N., 2010. Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on sawdust and rice straw in Bangladesh. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 17(4), 341-345.
- Muszyńska, B., Grzywacz-Kisielewska, A., Kała, K., Gdula-Argasińska, J., 2018. Anti-inflammatory properties of edible mushrooms: A review. *Food Chem.* 243, 373-381.
- Prakash, P., Gnanaprakasam, P., Emmanuel, R., Arokiyaraj, S., Saravanan, M., 2013. Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of *Mimusops elengi*, Linn. for enhanced antibacterial activity against multi drug resistant clinical isolates. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* 108, 255-259.
- Parashar, V., Parashar, R., Sharma, B., Pandey, A.C., 2009. *Parthenium* leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles: a novel approach towards weed utilization. *Dig. J. Nanomater. Bios.* 4, 45-50.
- Sun, Q., Xiang, C., Jiangwei, L., Zheng, M., Chen, Z., Chang-Ping, Y., 2014. Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 444, 226-231.
- Radhakrishnan, M.C., Peter, P., 2021. Biological Properties of Silver Nanoparticles from β (1-3) Glucan Isolated from the Edible Mushroom *Pleurotus florida*. *Letters in Applied Nano. Bio. Science.* 10(2), 2096-2106.

- Rodriguez Estrada, A.E., 2008. Molecular phylogeny and increases of yield and the antioxidants selenium and ergothioneine in Basidiomata of *Pleurotus eryngii*, PhD Thesis, Pennsylvania State University, Department of Plant Pathology. 237 p.
- Salem, W., Leitner, D.R., Zingl, F.G., Schratte, G., Prassl, R., Goessler, W., Reidl, J., Schild, S., 2015. Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against *Vibrio cholerae* and enterotoxigenic *Escherichia coli*. Int. J. Med. Microbiol. 305, 85-95.
- Seçkin, H., Meydan, İ., 2021. Synthesis and Characterization of *Veronica beccabunga* Green Synthesized Silver Nanoparticles for The Antioxidant and Antimicrobial Activity Turk J. Agric. Res. 8(1), 49-55.
- Selvi, K.V., Sivakumar, T., 2014. Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from *Fusarium oxysporum* Research Article. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. 1(2), 115-123.
- Senthilkumar, S.R., Sivakumar, T., 2014. Green tea (*Camellia sinensis*) mediated synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and studies on their antimicrobial activities. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 6(6), 461-465.
- Staji, M., Vukojevi, J., Duleti-Lauševi, S., 2009. Biology of *Pleurotus eryngii* and role in biotechnological processes: a review. Critical Reviews in Biotechnology. 29(1), 55-66.
- Syed, I.Z., Shaikh, R., Bhende, P., 2019. Green synthesis of silver nanoparticles using root extracts of *Cassia toral* L. and its antimicrobial activities. Asian Journal of Green Chemistry, 3(1), 70-81.



Research / Araştırma

Determination of Chemical Properties of The Hot Springs Waters and Comparison of Bacteria: Hot Springs in The East and Southeast Anatolia Region of Turkey

Orhan ULUÇAY^{1*}, Arzu GÖRMEZ², Cem ÖZİÇ³

ABSTRACT

Thermal hot water samples were collected in 2017 from six different hot springs from eastern and southeastern Turkey's (Agri, Van, Sırnak, Mardin, Siirt and Erzurum). During the study period, the analysis of various physicochemical properties of the water samples and the diversity of microorganisms in the hot springs were investigated. During the study period, eleven physico-chemical parameters such as water temperature, pH, conductivity, nitrogen dioxide, ammonium, nitrate, iron, aluminum, copper, lead and sulfur were studied. Five different bacterial strains have been detected in one or more of different hot springs. The electrical conductivity (EC) was ranged from 942,8 mS/cm to 5,158 mS/cm in the water of the hot spring. The conductivity and pH value of only Hista thermal source were determined as 942.9 (mS/cm) and 9.1. In all other sources the conductivity varied above 1000 (mS/cm) and the pH between 6.9 and 8.5. The NO₂ value ranges of the hot springs are determined as 0.254 to 0.613 mg/L. The source temperatures of the hot spring water were determine minimum and maximum temperature values for Agri (Davut and Kopru), Erzurum (Pasinler), Van (Hasanabdal), Siirt (Hista), Mardin (Dargecit) and Sırnak (Guclukonak), (62-78°C), (40-46°C), (60-66°C), (62-67°C), (59-62°C) and (59-67°C) respectively. In terms of physical and chemical properties, it was observed that there are generally differences in the hot spring waters.

Keywords: *Bacillus*, Hot Springs, Physico-Chemical properties, Thermophilic, Hot water

Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki Kaplıca Sularının Kimyasal, Fiziksel ve Bakteriyel Özelliklerinin Araştırılması

ÖZET

Türkiye'nin doğu ve güneydoğusundaki altı farklı kaplıcadan 2017 yılında (Ağrı, Van, Şırnak, Mardin, Siirt ve Erzurum) termal sıcak su örnekleri toplanmıştır. Çalışma süresince su örneklerinin çeşitli fizikokimyasal özelliklerinin analizi ve kaplıcalarda bulunan mikroorganizma çeşitliliği araştırılmıştır. Çalışma süresince su sıcaklığı, pH, iletkenlik, nitrojen dioksit, amonyum, nitrat, demir, alüminyum, bakır, kurşun ve kükürt gibi on bir fiziko-kimyasal parametre incelenmiştir. Beş farklı bakteri türü bir veya daha fazla farklı kaplıcada tespit edilmiştir. Kaplıca suyunun kaynak sıcaklıkları sırasıyla Ağrı (Davut ve Köprü), Erzurum (Pasinler), Van (Hasanabdal), Siirt (Hista), Mardin (Dargeçit) ve Şırnak (Güçlükonak) için minimum ve maksimum sıcaklık değerleri (62-78°C), (40-46°C), (60-66°C), (62-67°C), (59-62°C) ve (59-67°C) olarak belirlendi. Kaplıca sularında fiziksel ve kimyasal özellikler bakımından da genel olarak farklılıklar gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus*, Kaplıcalar, Fiziko-Kimyasal özellikler, Termofilik, Sıcak su

¹Orhan ULUÇAY (Orcid ID: 0000-0002-0820-5372), Department of Bioengineering, Kafkas University, 36100, Kars, Turkey

²Arzu GÖRMEZ (Orcid ID: 0000-0003-3246-1824), Department of Molecular Biology and Genetics, Erzurum Technical University, 25050, Erzurum, Turkey

³ Cem ÖZİÇ (Orcid ID: 0000-0002-2086-8515), Department of Medical Biology, Kafkas University, Medicine Faculty, 36100, Kars, Turkey.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Orhan ULUÇAY, e-mail: orhanulucay@gmail.com; orhanulucay@kafkas.edu.tr

BEYAN: *This study was supported by Kafkas University Scientific Research Projects (2016-FM-24).

*This study was produced from Orhan ULUÇAY's PhD thesis.

INTRODUCTION

Water, which is the most fundamental component of vital activities and a good solvent, can be exposed to physical and chemical changes and biological contamination and therefore, it can be the source of many diseases that can pose problems for living things (Donderici et al., 2010). Waters that accumulate at the depths of the soil suitable for geological conditions and come out spontaneously from an exit point are defined as spring water (Agaoglu et al., 1999). Turkey, a region which is rich in terms of hidrothermal and grabens, faults, volcanoes and alpine regions of the Himalayas and is in the zone of hydrothermal alteration (Simsek, 1997). Turkey's continental crust, Anatolia fragmented and have changed over time as the lower plate northward movement of the Arabian plate with the right place. These displacements allowed the entrance of magma in Eastern Anatolia, resulting in the emergence of volcanic formations such as Agri, Tendurek and Nemrut (Pasvanoglu, 2013; Saroglu et al., 1980; Sengor and Kidd, 1979). The chemical, physical and microbial diversity of thermal waters, especially the effect of water-rock interactions and the differences of waters in geothermal systems, have attracted the attention of researchers in recent years (Fournier, 1979; Mahon, 1970; Federica Valeriani et al., 2018; F. Valeriani et al., 2017).

Microorganisms can be found in almost all places in the world (mountains, volcanic rocks, deep sea waters, glaciers and so on) under very extreme conditions to survive. Microorganisms differ in terms of their growth and development by maintaining their vitality in varying temperature parameter ranges. When microorganisms that survive are categorized according to these parameters; They are classified psychrophils, mesophiles, thermophiles and hyperthermophiles (Baltaci et al., 2017). Thermophilic bacteria are common in soil, hot springs and volcanic habitats. Thermophilic bacteria are divided into 4 groups as moderate thermophiles (50–60°C), extreme thermophiles (65-80°C), hyperthermophiles (80-110°C) and hyperthermophiles (110°C and above) (Oztas Gulmus and Gormez, 2020). Considering all these conditions, microorganisms that can survive in extremely hot conditions are known as extremophiles (Pathak and Rathod, 2014). Among extremophiles, thermophiles have attracted great attention from past to present because of their ability to survive very high temperatures; they are even active at a high temperature. In this respect, they are more resistant to both stable protein structures and various chemicals. Since thermophilic microorganisms can remain stable at very high temperatures in fields such as the pharmaceutical, food industry, paper industry and chemical industries, the enzymes of such microorganisms have also interested researchers (Uluçay, 2018).

Turkey has 133 pieces of thermal water is at a temperature of 40°C and above (Akkaya and Kivanc, 2009). Therefore, it is important to study these thermal water sources. In this context, in this study, it was aimed to determine of physical and chemical properties of water samples taken from different hot water sources. Thus, the physicochemical properties of the collected water samples were determined and compared with their biological contents obtained on our previous studies (Uluçay, 2018).

MATERIAL AND METHODS

Study area

In this study, the samples were examined taken from six different locations in the eastern and southeastern of Turkey. Agri (Davut and Kopru), Erzurum (Pasinler), Van (Hasanabdal), Siirt (Hista), Mardin (Dargecit) and, Sirnak (Guclukonak) are approximately 1925 m, 1869 m, 1890 m, 900 m, 940 m and, 950 meters above sea level, respectively (Uluçay, 2018). The highest temperature values of the hot spring waters were measured as approximately 78, 46, 66, 67, 62 and 67°C, respectively.

Water samples were collected from the exit points of hot water springs with autoclaved glass jars in June and July 2017.

Physical and chemical structure of waters

Water samples were analyzed for a pre-defined set of physical and chemical properties (Sample's conductivity, NO_3^{-1} (Nitrate), NH_4^{+1} (Ammonium), NO_2^{-1} (Nitrite), Fe (Iron), Al^{+3} (Aluminum), Cu (Copper) and Pb (Lead) values) in the water analysis laboratory of the Kars Provincial Directorate of Public Health. The water temperature and pH were measured (Model No. AZ 8685) by carefully immersing the digital thermometer 5 to 10 cm in the hot water of the source and the readings were noted.

Bacterial isolates

The bacteria isolated from the same hot springs on our previous study were used in this study. Thereby, the physical and chemical properties of the thermal waters were correlated with these isolates (Ulucay, 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

Physical and chemical structure of waters

The data of all ten physico-chemical properties got under the sampling process in June and July 2017 from the hot springs in six different locations are given in Table 1. The minimum and maximum temperature values: for Davut and Kopru, Pasinler, Hasanabdal, Hista, Dargecit and Guclukonak hot springs, (62-78°C), (40-46°C), (60-66°C), (62-67°C), (59-62°C) and (59-67°C) respectively. When the pH values of the water in the hot springs were examined, it was observed that the pH ranged from 6.9 to 9.1. These pH results showed that some of the thermal spring waters are acidic and the others are basic. Similarly, when the literature is examined, the pH range has also been reported in other hot springs (Ghilamical et al., 2017; Kumar and Sharma, 2019; Singh et al., 2015). The conductivity of water is a measure of the amount of electrolyte (total cation or anion) in the water. Conductivity value in water is closely related to the sum of dissolved solids and decreases with increasing temperature and increases in pollution. The presence of ammonium, possible bacterial cultures, sewage and livestock wastes in the waters are important parameters as an indicator of pollution. When looking at other parameters encountered in water, nitrate and nitrite found in nature are ions that are components of the nitrogen cycle. Considering the standard values in potable water, pH, conductivity, nitrate, nitrite and ammonium levels are reported as 6.5-9.5, 2500 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 50 mg/L, 0.5 mg/L and 0.5 mg/L, respectively (Cetin et al., 2016). In general, the electrical conductivity (EC) was ranged from 942,8 mS/cm to 5,158 mS/cm in the water of the hot spring. Similarly, it was observed that the electrical conductivity values varying between 281.94 and 9108.4 in samples taken from seven different hot spring in Ethiopia thermal springs (Haki and Gezmu, 2012). In studies conducted in some hot springs in Turkey, it was also observed the differences in terms of these values. For example, it was observed that the electrical conductivity was between 222 and 5750 (mS/cm) in samples taken from thirteen different hot spring (Pasvanoglu, 2013). Aksoy et al. (2009) in their study; Examining the thermal water resources in the Balcova region in Turkey, it was determined that the conductivity values of all samples taken because of the examination were over 1000 (mS/cm) and when the values in groundwater are examined; they have determined that their pH is between 7 and 8.9. (Aksoy et al., 2008). The amount of carbonate, bicarbonate and carbon dioxide dissolved in the water also has an effect on the pH of the water. pH is an important factor for chemical reactions and biological life in water (Alemdar et al., 2009). The specific electrical conductivity of groundwater is defined as the conductivity of one cubic centimeter of water at 25°C. In the previous study, chemical data show that Diyadin waters were heated by magmatic activity associated with Tendurek volcano (Pasvanoglu, 2013). With every 1°C increase in temperature, the electrical conductivity increases by 2%. Electrical conductivity increases depending on the dissolved salt content of the water. The specific conductivity is expressed in microsiemens/cm ($\mu\text{S}/\text{cm}$) (Orgev and Inanc, 2004). In our study, the conductivity and pH value of only Hista thermal source were determined as 942.9 (mS/cm) and 9.1. In all other sources the conductivity varied above 1000 (mS/cm) and the pH between 6.9 and 8.5. When compared with the potable water values, it is seen in Table 1 that the thermal spring waters are outside the reference ranges.

Iron is one of the abundant elements in the earth's crust and is one of the undesirable substances in water resources. These elements penetrate into the water as a result of erosion in the soil and rocks (Donderici et al., 2010). Ammonium has the capacity to be easily converted to nitrite first and then to nitrate under suitable reaction conditions with two-step biological oxidation. The nitrite in the environment plays an active role in the synthesis of carcinogenic nitrosamines by combining with amines and amides, which are harmful to human health. In addition, ammonium reacts with free chlorine to form chloramines (Kurama and Poetzschke, 2002). While the NO₂ value ranges of the hot springs are determined as 0.254 to 0.613 mg/L, the average NO₂ level of the thermal springs has been reported as 0.007 mg/L. When the copper (Cu), iron (Fe) and lead (Pb) values in groundwater are examined, it is determined as Cu (4.3 µg/L and 58.8 µg/L), Fe (24 µg/L-4886 µg/L) and Pb (0.3 µg/L-9.5 µg/L), respectively (Aksoy et al., 2008).

Table 1. Physico-chemical parameters analysis of hot springs water samples

Hot Springs Sources	pH	Conductivity (mS/cm)	NO ₂ (mg/L)	NH ₄ (mg/L)	NO ₃ (mg/L)	Fe (mg/L)	Al (mg/L)	Cu (mg/L)	Pb (mg/L)	S (mg/L)
Potable Water Value Limits	6,5-9,5	<2500	<0,5	<0,5	45-50	<0,2	<0,2	<0,05	<0,01	<0,01
Average Hot Springs Limits	7,79	1,899	0,007	2,15	38,5	0,377	0,09	0,5	1,69	0,02
Pasinler	6,94	3,177	0,378	1,06	0	0,749	0	0	0,860	0,03
Dargecit	6,90	1,782	0,613	2,39	2,5	>1,000	0,134	8,26	>1,000	0,039
Guclukonak	7,90	1,146	0,375	>2,58	0	0,925	0,50	3,19	>1,000	0,027
Hista	9,1	942,9	0,390	>2,58	0	1,099	0,4	1,81	>1,000	0,029
Hasanabdal	6,2	5,158	0,395	0,008	0	0,389	0,181	0	0,666	0,021
Davut	8,5	1,551	0,254	2,01	0	0,611	0,17	0	0,728	0,019
Kopru	7,4	2,254	0,273	0,79	0	0,817	0,23	0	0,454	0,017

Microbial cultures

Five different bacterial isolate (*Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* and *Geobacillus kaustophilus*) detected in the thermal springs (Ulucay, 2018) are given in Table 2.

Table 2. Bacterial isolates of hot springs

Bacteria	Regions						
	Kopru	Davut	Hasanabdal	Hista	Guclukonak	Dargecit	Pasinler
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	-	+	-	-	+
<i>Bacillus thuringiensis</i>	+	-	-	+	+	+	+
<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	-	-	-	-	+
<i>Bacillus coagulans</i>	+	-	+	-	-	-	+
<i>Geobacillus kaustophilus</i>	+	-	-	+	-	-	+

Present (+), absent (-)

All five different isolates were identified in the water samples collected from Kopru and Pasinler hot springs. As seen in the table, *B. subtilis* and *B. licheniformis* were detected in the Davut hot spring; *B. coagulans* was observed in the Hasanabdal hot spring; *B. subtilis*, *B. thuringiensis* and *Geobacillus kaustophilus* were identified in Hista; *B. thuringiensis* was observed in Guclukonak and Dargecit hot springs. Savas et al. (2009) identified various thermophilic *Bacillus* species in the East and Southeast of Turkey from hot springs (Savas et al., 2009).

CONCLUSION

Most geothermal areas in Turkey are directly related to underground volcanism. Kopru and Davut thermal geothermal systems in Diyaradin are also in contact with each other with networks where fault fractures are formed. Thermal spring waters are constantly renewed by recharging the rain water. With the flow from these cracks and fractures to the area where the major heat source is located, there is a continuous transition from rocks and soil to water. The precipitation in the studied areas penetrates deep fault and rupture zones and the waters are mixed.

Considering the temperature and various chemical values, only thermophilic microorganisms can survive here. The pH values determined from the springs revealed the structure that the water of the hot spring can be alkaline. According to the data got, it was concluded that all thermal springs except Pasinler have very high temperatures.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by Kafkas University Scientific Research Projects (2016-FM-24).

REFERENCES

- Agaoglu, S., Ekici, K., Alemdar, S., & Dede, S. 1999. Research on the microbiological, physical and chemical qualities of Van and its region spring waters. *Van Medical Journal*, 62, 30-33.
- Akkaya, S. E., & Kivanc, M. 2009. Thermophile Bacteria; Isolation and Identification Methods of Gram-Negative *Bacillus* Living in Hot Water Resources1. *Electronic Journal of Microbiology TR*, 7, 1-01.
- Aksoy, N., Simsek, C., & Gunduz, O. 2008. Groundwater contamination mechanism in a geothermal field: A case study of Balcova, Turkey. *Journal of contaminant hydrology*, 103, 13-28. doi:10.1016/j.jconhyd.2008.08.006.
- Alemdar, S., Kahraman, T., Agaoglu, S., & Alisarlı, M. 2009. Some microbiological and physicochemical properties of the drinking water of Bitlis province. *Ecology*, 1973, 29-38.
- Baltaci, M. O., Genc, B., Arslan, S., Adiguzel, G., & Adiguzel, A. 2017. Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Geothermal Areas in Turkey and Preliminary Research on Biotechnologically Important Enzyme Production. *Geomicrobiol Journal*, 341, 53-62. doi:<https://doi.org/10.1080/01490451.2015.1137662>.
- Cetin, B., Aloglu, H. S., Harun, U., & Karabulut, S. Y. 2016. Investigation of Water Used in Food Business in terms of Food Safety. *Academic Food*, 144, 375-381.
- Donderici, Z. S., Donderici, A., & Basari, F. 2010. A Research on Physical and Chemical Qualities of Spring Waters. *Turkish Journal of Hygiene and Experimental Biology*, 167.
- Fournier, R. O. 1979. A revised equation for the Na/K geothermometer. *Transactions of the Geothermal Resources Council*, 3, 221-224.
- Ghilimicael, A. M., Boga, H. I., Anami, S. E., Mehari, T., & Budambula, N. 2017. Physical and chemical characteristics of five hot springs in Eritrea *Journal of Natural Sciences Research*, 7, 88-94.
- Haki, G. D., & Gezmu, T. B. 2012. Physico-chemical properties of waters from some Ethiopian hot springs and the risk to the health of the community. *Greener Journal of Physical Sciences*, 24, 138-140.
- Kumar, R., & Sharma, R. 2019. Microbial diversity and physico-chemical attributes of two hot water springs in the Garhwal Himalaya, India. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 8, 1249-1253. doi:10.15414/jmbfs.2019.8.6.1249-1253.

- Kurama, H., & Poetzschke, J. 2002. Membrane filtration application for removing ammonium ions from drinking water. *Ecology Environment Journal*, 1142, 45-48.
- Mahon, W. A. J. 1970. Chemistry in the exploration and exploitation of hydrothermal systems. *Geothermics*, 2, 1310-1322.
- Miquel, P. (1888). *Monographie d'un bacille vivant au-delà de 70° centigrades*.
- Orgev, C., & Inanc, İ. 2004. The use of natural zeolite as a regulator of pH, conductivity and hardness properties in natural spring waters. *Biomedical Engineering National Meeting, BIOMUT*. Istanbul Turkey.
- Oztas Gulmus, E., & Gormez, A. 2020. Identification and Characterization of Novel Thermophilic Bacteria from Hot Springs, Erzurum, Turkey. *Current Microbiology*, 776, 979-987. doi:10.1007/s00284-020-01880-0.
- Pasvanoglu, S. 2013. Hydrogeochemistry of thermal and mineralized waters in the Diyadin (Ağrı) area, Eastern Turkey. *Applied Geochemistry*, 38, 70-81. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2013.08.010>.
- Pathak, A. P., & Rathod, M. G. 2014. Cultivable bacterial diversity of terrestrial thermal spring of Unkeshwar, India. *Journal Of Biochemical Technology*, 5, 814-818.
- Saroglu, F., Guner, Y., Kidd, W. S. F., Sengör, A., & M, C. 1980. Neotectonics of Eastern Turkey: new evidence for crustal shortening and thickening in a collision zone. *Eos, Transactions, American Geophysical Union*, 6117.
- Savas, S., Adiguzel, A., Inan, K., Ozkan, H., Gulluce, M., & Sahin, F. 2009. Molecular characterization of thermophilic bacteria isolated from Van City Ercis Town Hasanabdal hot spring. *Romanian Biotechnological Letters*, 143, 4445-4454.
- Sengor, A. M. C., & Kidd, W. S. F. 1979. Post-collisional tectonics of the Turkish-Iranian plateau and a comparison with Tibet. *Tectonophysics*, 553-4, 361-376. doi:10.1016/0040-1951(79)90184-7
- Simsek, S. 1997. Geothermal potential in northwestern Turkey. Active Tectonics of Northwestern Anatolia: The Marmara Poly-Project: a Multidisciplinary Approach by Space-geodesy, *Geology, Hydrogeology, Geothermics and Seismology*, 111.
- Singh, H. K., Chandrasekharam, D., Vaselli, O., Trupti, G., Singh, B., Lashin, A., & Arifi, N. A. 2015. Physico-chemical characteristics of Jharkhand and West Bengal thermal springs along SONATA mega lineament, India. *Journal of Earth System Science*, 1242, 419-430. doi:10.1007/s12040-015-0550-4.
- Ulucay, O. 2018. Purification, production and investigation of commercial use of 1,4-β-endo xylanase in various *Bacillus* species isolated from thermal resources. *Kafkas University Graduate School of Natural and Applied Sciences*, Doctoral Thesis (Printed).
- Valeriani, F., Margarucci, L. M., & Romano Spica, V. 2018. Recreational use of spa thermal waters: criticisms and perspectives for innovative treatments. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 1512, 2675.
- Valeriani, F., Protano, C., Gianfranceschi, G., Leoni, E., Galasso, V., Mucci, N., & Romano Spica, V. 2017. Microflora Thermarum Atlas project: biodiversity in thermal spring waters and natural SPA pools. *Water Supply*, 184, 1472-1483. doi:10.2166/ws.2017.215.



Research / Araştırma

Üniversite Öğrencilerinin Ağır Metal Konusundaki Bilgi Durumları Üzerine Bir İnceleme

Şemsinnur GÖÇER^{1*}, Hava Şeyma YILMAZ²

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, üniversite öğrencilerinin ağır metal konusundaki bilgi durumlarının belirlenmesidir. Tanımlayıcı tipteki bu araştırma, Yozgat Bozok Üniversitesi Eğitim Fakültesi 2019-2020 eğitim- öğretim yılında Temel Eğitim Bilimleri Okul Öncesi Öğretmenliği Ve Sınıf Eğitimi bölümlerinde öğrenim görmekte olan 523 öğrenciyle yapılmıştır. Verilerin analizinde Ki kare testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir. Öğrencilerin %78.2'si ağır metali duyduklarını, %69.4'ü ağır metalin bir kimyasal/katkı maddesi olduğunu ifade etti. Ağır metalin zararlı olduğunu ifade edenlerin oranı ise %73.6 idi. Öğretmen adayı öğrencilerin ağır metal hakkında belirli bir bilgi birikimine sahip oldukları ancak bu bilginin yüzeysel olduğu ve yeterli olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Öğrenci, Ağır metal, Çevre kirliliği

A Study on The Knowledge Status of University Students on Heavy Metal

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the knowledge of university students about heavy metal. This descriptive study was conducted with 523 students studying at Yozgat Bozok University Faculty of Education in the 2019-2020 academic year, in the departments of basic education sciences, preschool teaching and classroom education. Chi-square test was used in the analysis of the data. $p < 0.05$ was considered significant. Of the students 78.2% stated that they heard about heavy metal, them of 69.4% of stated that heavy metal is a chemical / additive. The rate of thos who stated that heavy metal is harmful was 73.6%. As a result of the research, it was determined that the teacher candidates have a certain knowledge about heavy metal, but this knowledge is superficial and not sufficient.

Keywords: Student, Heavy metal, Environmental pollution

¹ Şemsinnur GÖÇER (Orcid ID: 0000-0002-2735-0073), Yozgat Bozok Üniversitesisi, Sarıkaya Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu, Yozgat, Türkiye

² Hava Şeyma YILMAZ (Orcid ID: 0000-0002-2670-401X), Bingöl Üniversitesi, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Meslek Yüksekokulu, Bingöl, Türkiye

Etik Kurul Onayı / Ethics Committee Approval: Bu makale için "Yozgat Bozok Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu" nun Tarih: 23.06.2020 Toplantı No 11, Dosya No: 2020-06-35 ve Karar No: 2017-KAEK-189_2020.06.23_17 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı alınmıştır.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Şemsinnur GÖÇER, e-mail: semsinnurgocer@gmail.com

GİRİŞ

Çevre kirliliği, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de gün geçtikçe istenmeyen ve tehlikeli boyutlara ulaşan en önemli sorunlarından biridir (Vural ve ark., 2016). Çevre kirliliği denildiği zaman akla gelen ve en fazla üzerinde durulması gereken kirlilik türlerinden biri de ağır metal kirliliğidir. Termik santraller yaşadığımız çevreye, gerek katı halde bulunan ağır metallerle gerekse gaz halinde bulunan ağır metaller ile büyük zarar vermektedirler ve bunların sayısı ülkemizde de oldukça fazladır. Örneğin yakılan kömürlerden oluşan atıkların doğaya herhangi bir ön işlem yapılmaksızın bilinçsizce bırakılması çevre kirliliğine yol açmaktadır. Yine katı yakıtların yakılması ortama yüksek miktarda gaz halindeki ağır metal parçacıklarının salınmasına neden olmaktadır (Aydın, 2013). Ağır metaller insan vücudunda belirli bir dozda bulunan metaller olsa da vücuttaki miktarları belli bir değerin üzerine çıktığı zaman insan için toksik etki oluşturmaktadır. Özellikle, inorganik gübreler, fabrikalardan oluşan atıklar ve motorlu taşıtlar hem havada hem de toprakta ve suda ağır metal konsantrasyonlarında artışa ve dolayısıyla canlıların bünyesine girmesine neden olabilmektedir (Şahin ve ark., 2004). Örneğin toprak bünyesinde bulunan ağır metallerin bitki yapısına katılması ve besin zinciri yoluyla diğer canlılara da geçmeleri en tehlikeli durumlardandır. Yine serbest iyon şeklinde bulunan ağır metaller tabandaki suya sızarak içme sularına karışır ve bu şekilde içme sularının niteliğinin bozulmasına neden olmaktadır. Bununla beraber topraktaki canlılara da zarar vererek faaliyetlerini olumsuz bir biçimde etkilemektedirler (Vural ve ark., 2016; Çepel, 2003).

Ağır metallerin çevreye verdikleri zararın azaltılması için bireyler açısından riskli bir durum olarak algılanması ve tehdit olarak görülmesi son derece önemlidir (Erten, 2004). Bu nedenle öğretmen adayı olan üniversite öğrencilerinin konu ile ilgili sahip oldukları bilgiler çok önemlidir (Güler, 2009). Bu çalışmanın amacı, toplumda çevre konularına duyarlılığı sağlamada önemli bir grup olan üniversite öğrencilerinin ağır metal konusundaki bilgi durumlarının belirlenmesidir.

MATERYAL ve METOT

Üniversite öğrencilerinin ağır metal konusunda bilgilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmış tanımlayıcı tipteki bu araştırma, Eylül-Kasım 2020 tarihleri arasında yürütülmüştür. Yozgat Bozok Üniversitesi Eğitim Fakültesi 2019-2020 eğitim- öğretim yılında Temel Eğitim Bilimleri Okul Öncesi Öğretmenliği ve Sınıf Eğitimi bölümlerinde öğrenim görmekte olan 600 öğrencinin araştırma kapsamına alınması planlanmıştır. Araştırma sonunda 523 öğrenciye ulaşılmıştır.

Araştırmanın verileri; araştırmacılar tarafından literatür incelemesi sonucunda oluşturulan anket formu ile elde edilmiştir. Anket formu yaş, cinsiyet gibi sosyo demografik bilgilerin yanı sıra, öğrencilerin ağır metal konusuna ilişkin bilgilerini değerlendiren 15 sorudan oluşmaktadır. Veri toplama aracı olan anket formu öğrencilere online olarak uygulanmıştır. Araştırma sonunda 523 öğrenciye ait veriler değerlendirilmiştir. Veriler istatistik paket programda değerlendirilmiş olup, sonuçlar sayı ve yüzdelik dilimler ile ifade edilmiştir. Ağır metal ile ilgili sorulara verilen yanıtların cinsiyet, bölüm ve sınıf değişkenleri ile karşılaştırılmasında ise Ki kare testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir. Araştırma için gerekli kurum izni ve Yozgat Bozok Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul onayı (2017-KAEK-189_2020.06.23_17) alınmıştır. Araştırma sürecinde Helsinki Deklarasyonu kurallarına uyulmuştur.

BULGULAR

Araştırmamızda, öğrencilerin yaş ortalaması, 23.5 ± 0.2 idi. Araştırmaya katılan öğrencilerin %48.2'si erkekti. Öğrencilerin %57.0'si okul öncesi öğretmenliği, %43.0'ü ise sınıf eğitimi bölümünde, %26.6'sı ise 1. sınıfta öğrenim görmekteydi. Öğrencilerin %82.8'i kendilerinde tanı konulmuş bir hastalık olmadığını ifade etti.

Tablo 1. Öğrencilerin ağır metal ile ilgili sorulara verdikleri yanıtların dağılımı (n:523)

Sorular	Sayı	%	
Ağır metali duydunuz mu?	Evet	409	78.2
	Hayır	114	21.8
Sizce ağır metal nedir?*	Bir kimyasal/katkı maddesi	363	69.4
	Demir, bakır, civa, kurşun gibi elementler	86	16.5
	Bir taş/kaya parçası	50	9.6
	Antioksidan/probiyotik	40	7.6
	Sigarada bulunan bir madde	34	6.5
Ağır metal zararlı mıdır?	Evet	385	73.6
	Hayır	12	2.3
	Fikrim Yok	126	24.1
	Fabrika atıklarında	139	26.6
Ağır metal nerede bulunur?	Toprakta	80	15.3
	Çöplerde	29	5.5
	Havada	20	3.9
	Denizde	12	2.3
	Hepsinde	235	44.9
	Hiçbirinde	8	1.5
	Deniz balıkları	211	40.4
Ağır metal bulunan gıdalar nelerdir?	Sebze, meyve içeren bebek mamaları	33	6.3
	Gezen tavuk yumurtası	19	3.6
	Hepsi	174	33.3
	Hiçbiri	86	16.4
	Bazı boyalı oyuncaklar	93	17.8
Ağır metal bulunan maddeler nelerdir?	Deodorant, krem vb. kozmetik ürünler	75	14.3
	Yıpranmış mutfak kapları	49	9.4
	Folyo	44	8.4
	Hepsi	229	43.8
	Hiçbiri	32	6.1
	Piller	1	0.2
	Tüketilen gıdalarla	149	28.5
	Sanayi tesislerinde yakın mesafelerde bulunarak	113	21.6
	Otoyol gibi yerlerde havayı soluyarak	29	5.5
	Denizde yüzdüğümüz zamanlarda	13	2.5
Ağır metallerin vücuda alınma yolları nelerdir?	Hepsi	212	40.5
	Hiçbiri	7	1.3
	Gıda tüketimi ile	171	32.7
Sizce ağır metalleri vücudumuzdan nasıl atabiliriz?	İlaç kullanarak	38	7.3
	Yoga, plates yaparak	35	6.7
	Fikrim yok	278	53.3
	Ameliyat olarak	1	0.2
	Yoğurt	351	67.1
Ağır metalleri vücuttan atmak için hangi ürünü tercih ederdiniz?	Bal/polen/arı sütü	84	16.1
	Kinoa/çiya	48	9.1
	Çim suyu	40	7.7
Markette satılan ürünlerde ağır metal içerik ve miktarları yazsın ister miydiniz?	Evet	421	80.5
	Hayır	81	15.5
	Gerek yok	21	4.0
Üründe belirtilen ağır metal bilgisiyle ilgilenip almaktan vazgeçer miydiniz?(n:421)	Evet, okur ve almazdım	383	91.0
	Fikrim yok	38	9.0

	İnternet, sosyal medya	246	47.0
Ağır metaller ile ilgili bilgileri nereden öğrenmek isterdiniz?	Aile hekimi	159	30.4
	TV programında bir doktor	86	16.5
	Diğer(Okulda, alanda uzman kişilerden)	32	6.1
Sizce, son zamanlarda tüm dünyayı etkileyen Covid-19 virüsü ile doğadaki ağır metal miktarı nasıl değişmiştir?	Fikrim yok	155	29.6
	Azalmıştır	140	26.8
	Artmıştır	139	26.6
	Değişmemiştir	89	17.0

*: Birden fazla seçenek işaretlenmiştir

Öğrencilerin %78.2'si ağır metali duyduklarını ifade ederken, %69.4'ü ağır metali bir kimyasal/katkı maddesi olarak tanımladıklarını belirtmişlerdir. Ağır metalin zararlı olduğunu ifade edenlerin oranı ise %73.6 olarak belirlenmiştir.

Öğrenciler ağır metalin en fazla fabrika atıklarında (%26.6), ikinci olarak toprakta (%15.3), %44.9'u ise hepsinde (fabrika atıklarında toprakta çöplerde, denizde) bulunduğunu belirtmişlerdir. Öğrenciler en fazla ağır metal bulunan gıdanın deniz balıkları(%40.4), en fazla ağır metal bulunan maddenin ise bazı boyalı oyuncaklar (%17.8) olduğunu ifade etmişlerdir. Öğrencilerin %43.8'i ise seçeneklerin hepsinde (bazı boyalı oyuncaklar, deodorant, krem vb. kozmetik ürünlerle, yıpranmış mutfak kapları ve folyo) ağır metal bulunduğunu ifade etmişlerdir.

Ağır metallerin vücuda en çok tüketilen gıdalarla alındığını (%28.5) olduğunu, %40.5'i ise seçeneklerin hepsi ile (tüketilen gıdalarla, sanayi tesislerinde yakın mesafelerde bulunarak, otoyol gibi yerlerde havayı soluyarak ve denizde yüzdüğümüz zamanlarda) alındığını belirtmişlerdir.

Öğrencilerin %32.7'si ağır metallerin vücuttan gıdalarla atılabileceğini, ağır metalleri vücuttan atmak için ise en fazla yoğurdu (%57.7) tercih edeceklerini ifade etmişlerdir.

Öğrencilerin %80.5'i markette satılan ürünlerde ağır metal ile ilgili içerik ve miktarların yazılması gerektiğini, yine evet diyenlerin %73.2'side üründe belirtilen ağır metal bilgisiyle ilgilenip ürünü almaktan vazgeçeceğini belirtmişlerdir.

Öğrencilerin %47.0'ı ağır metaller ile ilgili bilgileri internet/sosyal medyadan öğrenmek istediklerini ifade etmişlerdir.

Öğrenciler tüm dünyayı etkileyen Covid-19 virüsünün, doğadaki ağır metal miktarı üzerine nasıl bir etkisi olduğu sorusuna ise %26.8'i azalmıştır derken, %29.6'sı fikrinin olmadığını belirtmişlerdir.

Tablo 2. Öğrencilerin bazı sosyo-demografik özelliklerinin ağır metali tanımlama ile ilgili soruya verdikleri yanıtlarla ilişkisi

	Bir kimyasal/katkı maddesi	Demir, bakır, civa, kurşun gibi elementler	Bir taş/kaya parçası	Antioksidan/probiyotik	Sigarada bulunan bir madde	X ² . p x ² :8.182
		Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	
Cinsiyet	Erkek(n:252)	171(67.9)	25 (%9.9)	23 (%9.1)	20 (%7.9)	13 (%5.2)
	Kadın(n:271)	192 (70.8)	11 (%4.1)	27 (%10.0)	20 (%7.4)	21 (%7.7)
Sınıf	1. (n:139)	97 (69.8)	14 (%10.1)	7 (%5.0)	13 (%9.4)	8 (%5.8)
	2. (n:125)	101 (%80.8)	8 (%6.4)	6 (%4.0)	7 (%5.6)	3 (%2.4)
	3. (n:128)	75 (%58.6)	6 (%4.7)	24 (%18.8)	11 (%8.6)	12 (%9.4)
	4. (n:131)	90 (68.7)	8	13	9	11

		(%6.1)	(%9.9)	(%6.9)	(%8.4)		
Bölüm	Okul öncesi öğretmenliği (n:298)	205 (%68.8)	23 (%7.7)	29 (%9.7)	23 (%7.7)	18 (%6.0)	$\chi^2:0.911$ p:0.910
	Sınıf eğitimi(n:225)	158 (%70.2)	13 (%5.8)	21 (%9.3)	17 (%7.6)	16 (%7.1)	

Tüm sınıflardaki öğrencilerde ağır metali bir kimyasal/katkı maddesi olarak tanımlayanların oranı, diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksekti (p=0.001)

Tablo 3. Öğrencilerin bazı sosyo-demografik özelliklerinin “Ağır metal zararlı mıdır?” sorusuna verdikleri yanıtlarla ilişkisi

		Evet	Hayır	Fikrim Yok	X ² . p
		Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	
Cinsiyet	Erkek(n:252)	189 (%75.0)	6 (%2.4)	57 (%22.6)	$\chi^2:0.581$ p:0.748
	Kadın(n:271)	196 (%72.3)	6 (%2.2)	69 (%25.5)	
Sınıf	1. (n:139)	105 (%75.5)	5 (%3.6)	29 (%20.9)	$\chi^2:12.940$ p:0.044
	2. (n:125)	99 (%79.2)	3 (%2.4)	23 (%18.4)	
	3. (n:128)	81 (%63.3)	3 (%2.3)	44 (%34.4)	
	4. (n:131)	100 (%76.3)	1 (%0.8)	30 (%22.9)	
Bölüm	Okul öncesi öğretmenliği (n:298)	231 (%77.5)	8 (%2.7)	59 (%19.8)	$\chi^2:7.192$ p:0.027
	Sınıf eğitimi(n:225)	154 (%68.4)	4 (%1.8)	67 (%29.8)	

Tüm sınıflardaki öğrencilerden ağır metali zararlı bulduklarını ifade edenlerin oranı, ağır metali faydalı bulan ve fikri olmayan gruba göre anlamlı derecede yüksekti (p=0.044).

Tablo 4. Öğrencilerin bazı sosyo-demografik özelliklerinin ağır metalin bulunduğu yer ile ilgili soruya verdikleri yanıtlarla ilişkisi

		Fabrika atıklarında	Toprakta	Çöplerde	Havada	Denizde	Hepsinde	Hiçbirinde	X ² . p
		Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	
Cinsiyet	Erkek(n:252)	55 (%21.8)	45 (%17.9)	14 (%5.6)	12 (%4.8)	6 (%2.4)	116 (%46.0)	4 (%1.6)	$\chi^2:7.493$ p:0.278
	Kadın(n:271)	84 (%31.0)	35 (%12.9)	15 (%5.5)	8 (%3.0)	6 (%2.2)	119 (%43.9)	4 (%1.5)	
Sınıf	1. (n:139)	27 (%19.4)	23 (%16.5)	7 (%5.0)	7 (%5.0)	3 (%2.2)	71 (%51.1)	1 (%0.7)	$\chi^2:45.649$ p:0.000
	2. (n:125)	30 (%24.0)	15 (%12.0)	0 (%0.0)	1 (%0.8)	6 (%4.8)	72 (%57.6)	1 (%0.8)	
	3. (n:128)	45 (%35.2)	20 (%15.6)	10 (%7.8)	3 (%2.3)	2 (%1.6)	44 (%34.4)	4 (%3.1)	
	4. (n:131)	37 (%28.2)	22 (%16.8)	12 (%9.2)	9 (%6.9)	1 (%0.8)	48 (%36.6)	2 (%1.5)	
Bölüm	Okul öncesi öğretmenliği	76 (%25.5)	44 (%14.8)	20 (%6.7)	10 (%3.4)	5 (%1.7)	142 (%47.7)	1 (%0.3)	$\chi^2:11.269$ p:0.080

(n:298)							
Sınıf	63	36	9	10	7	93	7
eğitimi(n:225)	(%28.0)	(%16.0)	(%4.0)	(%4.4)	(%3.1)	(%41.3)	(%3.1)

Ağır metalin; fabrika atıklarının, toprağın, çöplerin, denizin ve havanın hepsinde birlikte bulunduğunu ifade edenlerin oranı tüm sınıflardaki öğrencilerde, diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0.000$). Öğrencilerin ağır metalin bulunduğu yer ile ilgili soruya verdikleri yanıtlar ile cinsiyet ve bölüme göre yapılan karşılaştırmada ise anlamlı bir farklılık yoktu (Cinsiyet: $p=0.278$, Bölüm: $p=0.080$).

Tablo 5. Öğrencilerin bazı sosyo-demografik özelliklerinin ağır metalin vücuda alınma yolu ile ilgili soruya verdikleri yanıtlarla ilişkisi

		Tüketilen gıdalarla	Sanayi tesislerinde yakın mesafelerde bulunarak	Otoyol gibi yerlerde havayı soluyarak	Denizde yüzdüğümüz zamanlarda	Hepsi	Hiçbiri	X^2, p
		Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	Sayı(%)	
Cinsiyet	Erkek(n:252)	83 (%32.9)	51 (%20.2)	13 (%5.2)	7 (%2.8)	96 (%38.1)	2 (%0.8)	$x^2:5.888$ $p:0.317$
	Kadın(n:271)	66 (%24.4)	62 (%22.9)	16 (%5.9)	6 (%2.2)	116 (%42.8)	5 (%1.8)	
Sınıf	1. (n:139)	38 (%27.3)	30 (%21.6)	13 (%9.4)	5 (%3.6)	52 (%37.4)	1 (%0.7)	$x^2:24.866$ $p:0.052$
	2. (n:125)	31 (%24.8)	21 (%16.8)	1 (%0.8)	1 (%0.8)	69 (%55.2)	2 (%1.6)	
	3. (n:128)	39 (%30.5)	31 (%24.2)	7 (%5.5)	3 (%2.3)	45 (%35.2)	3 (%2.3)	
	4. (n:131)	41 (%31.3)	31 (%23.7)	8 (%6.1)	4 (%3.1)	46 (%35.1)	1 (%0.8)	
Bölüm	Okul öncesi öğretmenliği (n:298)	87 (%29.2)	66 (%22.1)	17 (%5.7)	8 (%2.7)	118 (%39.6)	2 (%0.7)	$x^2:2.812$ $p:0.729$
	Sınıf eğitimi(n:225)	62 (%27.6)	47 (%20.9)	12 (%5.3)	5 (%2.2)	94 (%41.8)	5 (%2.2)	

Erkek öğrencilerin %38.1'i, kız öğrencilerin %42.8'i ağır metalin; tüketilen gıdalarla, sanayi tesislerine yakın mesafelerde bulunulduğunda, otoyol gibi yerlerdeki havanın solunmasıyla ve denizde yüzülmesi ile vücuda alındığını ifade etmişlerdir. Tüm sınıflarda ve bölümlerde de benzer şekilde ağır metalin tüm bu seçeneklerin hepsi ile (tüketilen gıdalarla, sanayi tesislerinde yakın mesafelerde bulunarak, otoyol gibi yerlerde havayı soluyarak ve denizde yüzülen zamanlarda) vücuda alındığını ifade edenlerin oranı daha yüksekti (Tablo 5). Ancak öğrencilerin bazı özellikleri ile ağır metalin vücuda alınma yolu ile ilgili soruya verdikleri yanıtlar arasında anlamlı bir farklılık yoktu (Cinsiyet: $p=0.317$, Sınıf: $p=0.052$, Bölüm: $p=0.729$).

TARTIŞMA

Öğrencilerin ağır metal ile ilgili bilgilerinin belirlendiği araştırmamızda; öğrencilerin çoğu (%78.2) ağır metali duyduklarını ve yarıdan fazlası da (%69.4) ağır metali bir kimyasal/katkı maddesi olduğunu belirtmişlerdir (Tablo 1).

Araştırmamızda ağır metalin sigarada bulunan bir madde olduğunu ifade edenlerin oranı oldukça düşüktü (%6.5) (Tablo 1). Oysa sigarada arsenik, kadmiyum gibi birçok ağır metal bulunduğu, sigarada bulunan kadmiyumun ortalama %10'unun insanlar tarafından bulunduğu

bilinmektedir (Rakıcıoğlu, 1991). Yine Türkiye genelinde 18 ve daha yukarı yaştaki kişilerin %33,4'ü sigara kullanmakta olduğu bildirilmiştir (Bektaş ve ark., 2012). Araştırmamıza katılan öğrencilerin büyük bir bölümünün ağır metalin ne olduğunu biliyor olmasına, hatta kimyasal/katkı maddesi olarak görmesine rağmen sigarayı bu kadar masum kabul etmesi, Türkiye'de gençlerin büyük bir oranda sigara kullanmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Öğrenciler ağır metalin fabrika atıklarında (%26.6), ikinci olarak toprakta (%15.3), bulunduğunu belirtmişlerdir (Tablo 1). Literatürde hava, su ve toprağa ağır metal kirliliğinin bulaşma sebeplerinin; sanayi faaliyetleri, fabrikasyon gübreler, madencilik işletmeleri, volkanik süreçler, endüstriyel atıkları gibi etmenler olduğu belirtilmektedir (Stresty ve ark., 1999). Araştırmamızda öğrencilerin büyük çoğunluğu (%44.9) ağır metalin bulunduğu kaynakların fabrika atıkları, toprak, çöpler ve deniz olduğunu ifade etmişlerdir (Tablo 1). Bu sonuç öğrencilerin ağır metallerin nerelerde bulunabileceği ile ilgili bilgi sahibi olduklarını ortaya koymaktadır.

Öğrenciler en fazla ağır metal bulunan gıdanın deniz balıkları (%40.4), en fazla ağır metal bulunan maddenin ise bazı boyalı oyuncaklar (%17.8) olduğunu ifade etmişlerdir. Öğrencilerin %43.8'i ise seçeneklerin hepsinde (bazı boyalı oyuncaklar, deodorant, krem vb. kozmetik ürünlerle, yıpranmış mutfak kapları ve folyo) ağır metal bulunduğunu ifade etmişlerdir (Tablo 1). Bazı bilimsel çalışmalar da ağır metallerin balık türlerinde risk teşkil ettiğini belirtmiştir. Sönmez ve ark. (2016), Fe, Cu, Ni, Zn metallerinin bazı balık türlerinde Türk gıda kodeksi ve WHO tarafından izin verilen limitler içerisinde olduğunu belirtse de kadmiyum ve kurşunu bu limitlerin üzerinde tespit etmişlerdir. Ayrıca balıklardaki ağır metal riski haberlere de konu olmaktadır (Anonim, 2020a; Anonim, 2020b; Anonim, 2020c; Anonim, 2020d). Araştırmamızdan elde edilen bu sonuç; öğrencilerin bilimsel kanıtlar sunan çalışmalarda bilgileri ziyade televizyon/internet ekranlarında bu konunun haber yapılmasından da etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Araştırmamızda öğrencilerin %28.5'i ağır metallerin vücuda tüketilen gıdalarla, %40.5'i ise seçeneklerin hepsi ile (tüketilen gıdalarla, sanayi tesislerinde yakın mesafelerde bulunarak, otoyol gibi yerlerde havayı soluyarak ve denizde yüzdüğümüz zamanlarda) alındığını ifade etmişlerdir. "Otoyol gibi yerlerde havayı soluyarak" yanıtını verenlerin oranı ise %5.5 gibi düşük bir paya sahip olmuştur (Tablo 1). Kennedy ve ark. (2002), çalışmalarında öğrencilerin çevre bilgisi ve çevreye yönelik tutumunun araştırıldığı çalışmada, öğrencilerin, hava kirliliği konusunu, çevreye yönelik tutumlarını en fazla etkileyen değişken olarak belirlemiştir. Çalışmamızdaki bu sonuç; öğrencilerin ya hava kirliliği kavramı içerisinde ağır metali yerleştiremediklerinden ya da hava kirliliğini bir kirlilik olarak görmediklerinden kaynaklanabilir.

Araştırmamızda öğrencilerin %32.7'si ağır metallerin vücuttan gıdalarla atılabileceğini, ağır metalleri vücuttan atmak için ise en çok yoğurdu tercih edebileceklerini ifade etmişlerdir. Bunun yanı sıra öğrencilerin yarıdan fazlası ağır metallerin vücuttan atma konusunda "fikrim yok" seçeneğini işaretlerken ardından gelen soruya yine yarıdan fazlası "yoğurt" seçeneğini yanıtlamıştır (Tablo 1). Öğrencinin bu sorularda muhakeme yapamamış olduğu düşünülmektedir. Sosyobilimsel Muhakeme Yeteneği, istatistiksel olarak bakılan sonuçlarda öğrencilerin sosyo-bilimsel muhakeme yeteneklerinin düşük olduğu neticesine varılmıştır (Tüzüngüç, 2019).

Araştırmamızda öğrencilerin büyük çoğunluğu (%80.5) markette satılan ürünlerin ambalajında ağır metal ile ilgili içerik ve miktarların yazılması gerektiğini ve %73.2'si de üründe belirtilen ağır metal bilgisini dikkate alarak ürünü almaktan vazgeçebileceğini belirtmişlerdir (Tablo

1). Öğrenciler burada bilinçli bir tutum sergilemişlerdir. Nitekim literatürde tüketicilerin son yıllarda ürünlerin etiket bilgilerini daha dikkatli bir şekilde takip etmekte olduğu belirtilmektedir (Emeksiz ve ark., 2005).

Öğrencilerin %47'si ağır metaller ile ilgili bilgileri internet/sosyal medyadan öğrenmek istediklerini ifade etmişlerdir (Tablo 1). Literatürde gençlerin ihtiyaç duydukları bilgiye ya da herhangi bir konuda elde ettikleri bilgilere %90 oranında internetten ve %70 oranında Facebook'tan ulaştığı belirtilmektedir (Kamiloğlu ve ark., 2014). Araştırmamızdan elde edilen bu sonuç gençlerin sosyal medya kullanımını için yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Öğrenciler tüm dünyayı etkileyen Covid-19 virüsünün, doğadaki ağır metal miktarı üzerine nasıl bir etkisi olduğu sorusuna ise %26.8'i azalmıştır derken, %29.6'sı fikrinin olmadığını belirtmişlerdir (Tablo 1). Bu soruya artmıştır, azalmıştır ya da fikrim yok diyenlerin oranı birbirine yakın bulunmuştur. Ülkemizin içinden geçtiği pandemi sürecinde öğrencilerin de zihninde bu virüs ile ilgili gelişim sürecinin henüz tam olarak şekillenemediği düşünülmektedir.

Araştırmamızda öğrencilerden ağır metali bir kimyasal/katkı maddesi olarak tanımlayanların oranı (Tablo 2), ağır metali zararlı bulduklarını ifade edenlerin oranı (Tablo 3) ve ağır metalin; fabrika atıklarının, toprağın, çöplerin, denizin ve havanın hepsinde birlikte bulunduğunu ifade edenlerin oranı (Tablo 4); bu sorularda farklı yanıtlar veren öğrencilere göre tüm sınıflarda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Öğretmen adayları ile yapılan çalışmada (Aydın, 2013) fen bilgisi bölümü öğrencilerinin ağır metal ve radyasyon akademik başarı testi puanları bakımından 4. sınıflarda anlamlı bir fark olduğu belirlenirken, sınıf öğretmenliği öğrencilerin de ise sınıflara göre puan bakımından anlamlı bir fark bulunmadığı belirlenmiştir. Araştırmadan elde ettiğimiz bu sonuç; öğrencilerin ağır metali kimyasal ve katkı maddesi olarak algılayıp tehlikeli ve zararlı olduğunu, ayrıca ağır metallerin birçok alanda yaygın bir biçimde bulunabileceğini düşündüklerini göstermektedir.

Araştırmanın Kısıtlılıkları: Araştırmanın tek merkezli yürütülmüş olması sebebiyle elde edilen sonuçları topluma genellememiz mümkün değildir.

SONUÇ

Araştırma sonucunda, öğretmen adayı olan öğrencilerin ağır metal hakkında belirli bir bilgi birikimine sahip oldukları belirlenmiş olsa da ancak bu bilginin yüzeysel ve yeterli olmadığı tespit edilmiştir. Öğrencilerin eğitim süreçlerinde özellikle ağır metal konusunu da içine alan çevre eğitimi ile ilgili konulara daha fazla önem verilmesi önerilir.

KAYNAKLAR

- Anonim (2020a). <https://www.cumhuriyet.com.tr/haber/deniz-urunlerinde-civa-tehlikesi-vedat-milor-midye-yemek-pil-yemek-gibidir-1801576>; (Erişim tarihi:10.12.2020)
- Anonim (2020b). <https://www.haber7.com/saglik/haber/3049388-deniz-urunlerindeki-buyuk-tehlike-civa>; (Erişim tarihi:10.12.2020)
- Anonim (2020c). <https://www.sabah.com.tr/video/yasam/son-dakika-vedat-milordan-flas-midye-ve-balik-aciklamasi-pil-yemek-gibi-video>; (Erişim tarihi:10.12.2020)
- Anonim (2020d). <https://www.birgun.net/haber/zehir-sacan-baliklar-meclis-gundeminde-329428>. (Erişim tarihi:10.12.2020)

- Aydın, G., Bahadır, K. O. Z., & Bozdoğan, A. E. (2013). Fen bilgisi ve sınıf öğretmen adaylarının ağır metal ve radyasyon kirliliği konusunda bilgi düzeyleri: Giresun Üniversitesi örneği. *Karadeniz Sosyal Bilimler Dergisi*, 7(03), 264-280.
- Bektaş, M., & Öztürk, C. (2012). Sigara Kullanımı Önleme Programının Geliştirilmesi ve Programın Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Buca Eğitim Fakültesi Dergisi*, (34), 1-21.
- Çepel, N. (2003). *Ekolojik sorunlar ve çözümleri*. Tübitak.
- Emeksiz, F., Albayrak, M., Güneş, E., Özçelik, A., Özer, O. O., & Taşdan, K. (2005). Türkiye’de tarımsal ürünlerin pazarlama kanalları ve araçlarının değerlendirilmesi. *Türkiye Ziraat Mühendisleri Odası Teknik Kongresi, Bildiriler (II)*, 1155-1172.
- Erten, S. (2004). Çevre eğitimi ve çevre bilinci nedir, çevre eğitimi nasıl olmalıdır. *Çevre ve İnsan Dergisi*, 65(66), 1-13.
- Güler, T. (2010). Ekoloji temelli bir çevre eğitiminin öğretmenlerin çevre eğitimine karşı görüşlerine etkileri. *Eğitim ve Bilim*, 34(151).
- Kamiloğlu, F., & Yurttaş, Ö. U. (2014). Sosyal medyanın bilgi edinme ve kişisel gelişim sürecine katkısı ve lise öğrencileri üzerine bir alan çalışması. *Galatasaray Üniversitesi İletişim Dergisi*, (21), 129-150.
- Kennedy, C., Hyde, R., & Karney, B. (2002). Development of environmental knowledge and attitudes in engineering students. *Bulletin of Science, Technology & Society*, 22(6), 460-473.
- Rakıcıoğlu, N. (1991). Kadmiyumun Sağlık ve Beslenmedeki Önemi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 20(1), 107-115.
- Sönmez, A. Y., Kadak, A. E., Özdemir, R. C., & Bilen, S. (2016). Establishing on Heavy Metal Accumulation in Some Economically Important Fish Species Captured from Kastamonu Coastal. *Alınları Zirai Bilimler Dergisi*, 31(2), 84-90.
- Sresty, T. V. S., & Rao, K. M. (1999). Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cells of pigeonpea. *Environmental and Experimental Botany*, 41(1), 3-13.
- Şahin, N. F., Cerrah, L., Arzu, S. A. K. A., & Şahin, B. (2004). Yüksek öğretimde öğrenci merkezli çevre eğitimi dersine yönelik bir uygulama. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24(3).
- Tüzüngüç, B. (2019). *Ortaöğretim Öğrencilerinin Sosyobilimsel Muhakeme Yeteneklerinin Araştırılması* (Doctoral dissertation, Marmara Üniversitesi (Turkey)).
- Vural, H., & Yılmaz, S. (2016). Ortaokul Öğrencilerinin çevre ve doğa ile ilgili konularda bilgi ve davranış düzeylerinin belirlenmesi; Erzurum ili örneği. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(1), 107-115.



Research / Araştırma

Essential oil Composition of *Salvia officinalis* and *Rosmarinus officinalis*

Mehmet Zeki KOCAK^{1*}, Musa KARADAG², Ferdi CELİKCAN³

ABSTRACT

Secondary metabolites, especially essential oils are of the widely used phyto-chemicals for various purposes. In this regard, numerous studies have been reported on profile of these reputed metabolites in medicinal and aromatic plant (MAPs) species. Of the substantial family of the MAPs, Lamiaceae is of the reputed group with a notable number of plant species. Regarding the species of this group, sage (*Salvia officinalis*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) are of the well-known and widely-studied species. Herewith the current study, we profiled the essential oil composition in leaves of both species. Accordingly, the analysis revealed that camphene (29.40%), 1,8-cineole (37.26%), camphor (13.48%), borneol (3.69%), trans-caryophyllene (5.42%), and α -thujone (5.78%) were of the predominant compounds identified for *S. officinalis*, whilst camphene (22.45%), 1, 8-cineole (35.36%), linalool (3.67%), camphor (10.80%), cyclohexane,(1-methylethylidene) (3.09%), α -fenchyl alcohol (3.03), 2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl) (2.12%), and endo-bornyl acetate (4.50%) were of the principal components in leaves of *R. officinalis*. The next studies on the relevant species might be focused on the biological activity of the essential oils.

Keywords: Terpenoids, Secondary metabolites, Volatile oils, *Lamiaceae*

Salvia officinalis ve *Rosmarinus officinalis*'in Uçucu Yağ Bileşimi

ÖZET

Sekonder metabolitler, özellikle uçucu yağlar, çeşitli amaçlar için yaygın olarak kullanılan fitokimyasallardandır. Bu bağlamda, tıbbi ve aromatik bitki türlerinde bilinen bu metabolitlerin profili hakkında çok sayıda çalışma rapor edilmiştir. Çok sayıda önemli bitki türüne sahip olan Lamiaceae önemli tıbbi ve aromatik bitki gruplarındandır. Bu grubun türleriyle ilgili olarak adaçayı (*Salvia officinalis*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bilinen ve üzerinde çokça çalışılan türlerdendir. Bu çalışma ile birlikte her iki türün yapraklarındaki uçucu yağ bileşiminin profilini çıkardık. Buna göre analiz, camphene (%29.40), 1,8-cineole (%37.26), camphor (%13.48), borneol (%3.69), trans-caryophyllene (%5.42), and α -thujone (%5.78) *S. officinalis* için tanımlanan baskın bileşiklerden bazıları iken, *R. officinalis* için tanımlanan camphene (%22.45), 1, 8-cineole (%35.36), linalool (%3.67), camphor (%10.80), cyclohexane,(1-methylethylidene) (%3.09), α -fenchyl alcohol (%3.03), 2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl) (%2.12), ve endo-bornyl acetate (%4.50) yapraklarındaki ana bileşenler olduğunu ortaya çıkardı. Belirtilmiş olan türlerle ilgili sonraki çalışmalar, uçucu yağların biyolojik aktivitesine odaklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Terpenoidler, Sekonder metabolitler, Uçucu yağlar, *Lamiaceae*

¹ Mehmet Zeki KOCAK (Orcid ID: 0000-0002-8368-2478), Department of Organic Farming, College of Applied Science, Iğdir University, 76000, Iğdir, Turkey

² Musa KARADAG (Orcid ID: 0000-0003-2498-3403), Department of Chemical and Chemical Processing Technologies, Vocational School of Technical Sciences, Iğdir University, Iğdir, Turkey

³ Ferdi CELİKCAN (Orcid ID: 0000-0003-4169-5841), Department of Organic Farming, College of Applied Science, Iğdir University, 76000, Iğdir, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mehmet Zeki KOCAK,

e-mail: mehmetzekikocak@gmail.com

INTRODUCTION

Plants synthesize and accumulate metabolites for their sustainable and proper vegetative and generative development. Those metabolites are mainly sorted into the classes, *viz.* primary metabolites and secondary metabolites. Of those metabolites, primary metabolites are common to all organisms but the secondary metabolites are confined to the plant kingdom and specific to plant species, in general. Considering their functions, primary metabolites are strictly required for the proper growth and development of the plants. However, as reported above, the secondary metabolites are species-specific and not common to all plants, suggesting that the relevant metabolites are not essential for development and productivity of the plants but their assumed protective roles have been postulated in response to the abiotic and biotic environmental conditions (Rhodes, 1994; Pichersky and Gang, 2000; Akula and Ravishankar, 2011; Pagare et al., 2015). Regarding the detailed functions of secondary metabolites against stress factors, comprehensive analysis and deduction have been well-reported (see: Gershenzon, 1984; Mazid et al., 2011; Ahmad et al., 2018; Ashraf et al., 2018; Mahajan et al., 2020; Kulak et al., 2019).

Considering the chemical diversity of secondary metabolites; two major groups are elucidated and the first one is nitrogen-deficient molecules (terpenoids and phenolics) and the later is nitrogen-containing molecules (alkaloid) (Patra et al., 2013). Of these compounds, essential oils are composed of terpenoids and phenylpropanoids. The biosynthesis and regulation of the essential oil are mainly based on the genetic structure of the plants (Rodrigues et al., 2013; Webb et al., 2014). However, their production is also strictly affected and regulated by the environmental conditions (Yavari et al., 2010; Sangwan et al., 2011; Abdelmajeed et al., 2013; Hassiotis et al., 2014).

Regarding the plant species, MAPs are characterized with the secondary metabolites and they are reputed plant species due to their chemical composition for their pharmaceutical and relevant uses (Inoue and Craker, 2014; Bouyahya et al., 2020). Of the plant diversity of this group, Lamiaceae (also known as Mint family) possess 236 genera with an approximately identified of 7000 species, constituting the largest plant groups of MAPs (Gharib, 2006; Ramasubramania, 2012). Regarding the well-known and reputed species of MAPs, sage (*S. officinalis*) and rosemary (*R. officinalis*) are commonly studied for their chemical composition due to their significant uses in various fields (for sage: Okaiyeto et al., 2021; Ovidi et al., 2021; Jedidi et al., 2021; for rosemary: Lešnik et al., 2021; Nguyen et al., 2021; Ielciu et al., 2021).

Essential oil of sage is mainly characterized with 1,8-cineole, camphor, α -thujone, β -thujone, borneol, viridiflorol, an dmanool (Raal et al., 2007; Taarit et al., 2010), whilst α -pinene, 1,8-cineol, (+)-camphor, and piperitone are of the reported compounds for rosemary (Gachkar et al., 2007; Hussain et al., 2010). As previously reported in a quite number studies, the essential oil content and their composition are not constant but exhibit plasticity in response to the developmental stage and environmental conditions (Ashraf et al., 2018; Mahajan et al., 2020; Kulak et al., 2019). In this regard, it is common to profile the chemical composition of the same plant species collected from different origins due to possible alterations in the chemical diversity. The studies regarding sage and rosemary essential oil composition are relatively common (Es-sbihi et al., 2021; Göçer et al., 2021 for sage; Jafari-Sales and Pashazadeh, 2021; Soulaïmani et al., 2021 for rosemary). According to the postulated opinions regarding the reports of many studies, we can hypothesize that the sage and rosemary plants obtained from Igdır regions may exhibit different chemo-types or diversity of essential oils. In this context, along with the current work, essential oil yield and composition were revealed and then discussed with the former reports, in comparison.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Sage (*Salvia officinalis*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) were purchased from local spice shops in Iğdir province (Turkey). Their scientific identifications were done by Dr. Ramazan Gurbuz and Dr. Muhittin Kulak (Iğdir University).

Essential oil extraction

30 g of dried plant samples were subjected to hydro-distillation using Clevenger apparatus for two hours. Then the distillate of oils were separated and preserved at +4 °C for further chromatographic analysis (Karadağ et al., 2021).

GC-MS analysis of essential oil

For the identification of essential oil compounds, we used Thermo GC/MS Trace Ultra. Regarding GC conditions, DB-5MS column (30m*0, 25 mm*0, 25µm) was employed. Flow rate of carrier gas of helium was 1.0 mL/min. Oven temperature was kept at 40 °C for 1 min and then increased from 40 to 120 °C at a rate of 5 °C/min and waited for 2 min. The relevant temperature was then increased to 240 °C with a rate of 10 °C/min and kept for 3 min. The injection part temperature was set as 240 °C. The mass spectrometer was operated in EI mode at 70 eV. Split ratio was set as 20:1. Mass range 45–450 m/z; scan speed (amu/s): 1000. The components were identified using NIST08, Willey7n.1 and HPCH1607 libraries reference compounds (Celikcan, 2021).

RESULTS AND DISCUSSION

Essential oil compounds identified in sage and rosemary leaves are collectively presented in Table 1, following their elution order on the DB-5MS column as presented in Figure 1 A-B. Herewith, the present findings of the study revealed that camphene (29.40%), 1,8-cineole (37.26%), camphor (13.48%), borneol (3.69%), trans-caryophyllene (5.42%), and α -thujone (5.78%) were of the predominant compounds identified for sage leaves (*S. officinalis*), accounting 95.03% of the total variation of the compounds. In the former reports, Santos-Gomes and Fernandes-Ferreira (2001) reported that α -pinene, camphene, R-thujon, camphor, R-humulene, α -caryophyllene, and viridiflorol were mostly pronounced compounds in the chemical composition of sage leaves, reporting the percentage of camphene (4.22%), 1,8-cineole (6.47%), camphor (19.51%), borneol (0.06%), trans-caryophyllene (not detected), and α -thujone (25.50%). In the study by Raal et al. (2007), 1, 8-cineole (2.7-14.6%), camphor (11.3-29.8%), α -thujone (3.0-26.6%), β -thujone (1.6-12.9%), borneol (1.6-11.8%), and viridiflorol (1.1-15.7%) were revealed to be principal components of sage oils. In their studies, the samples were analyzed from the sage of various sources, viz. France, Hungary, Belgium, Russia, Greece, Ukraine, Scotland, Moldavia, Estonia, Estonia, and Estonia. In addition to the profiling the chemical variations of sage samples (Venkatachalam et al., 1984; Delamare et al., 2007; Alizadeh and Shaabani, 2012; Tosun et al., 2014; Khedher et al., 2017), the relevant species were also and widely exposed to the stress factors at aiming to increase or decrease the some desired metabolites for highest quality and to reveal the biosynthesis mechanisms of the concerned compounds (Bettaieb et al., 2009; Taarit et al., 2009; Taarit et al., 2010; Es-sbihi et al., 2020; Kulak et al., 2020).

Considering the essential oil composition of rosemary (*R. officinalis*); the same optimized chromatographic conditions coupled with DB-5MS column were employed. According the analysis,

camphene (22.45%), 1, 8-cineole (35.36%), linalool (3.67%), camphor (10.80%), cyclohexane,(1-methylethylidene) (3.09%), α -fenchyl alcohol (3.03), 2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl) (2.12%), and endobornyl acetate (4.50%) were of the principal components in leaves of rosemary (Table 1, Figure 1-B). Regarding the previous studies, in the study by Hussain et al. (2010), 1,8-cineol (38.5%), camphor (17.1%), α -pinene (12.3%), limonene (6.23%), camphene (6.00%) and linalool (5.70%) were of the identified major compounds. Moreover, Gachkar et al. (2007) reported that the rosemary samples included α -pinene (14.9%), 1,8-cineole (7.43%) and linalool (14.9%). As the case reported for *S. officinalis* exposed to various exogenous treatments, the similar applications were also employed for *R. officinalis* (Kulak, 2019; Abbaszadeh et al., 2020; Kulak, 2020; Mohamadi and Karimi, 2020; Raffo et al., 2020).

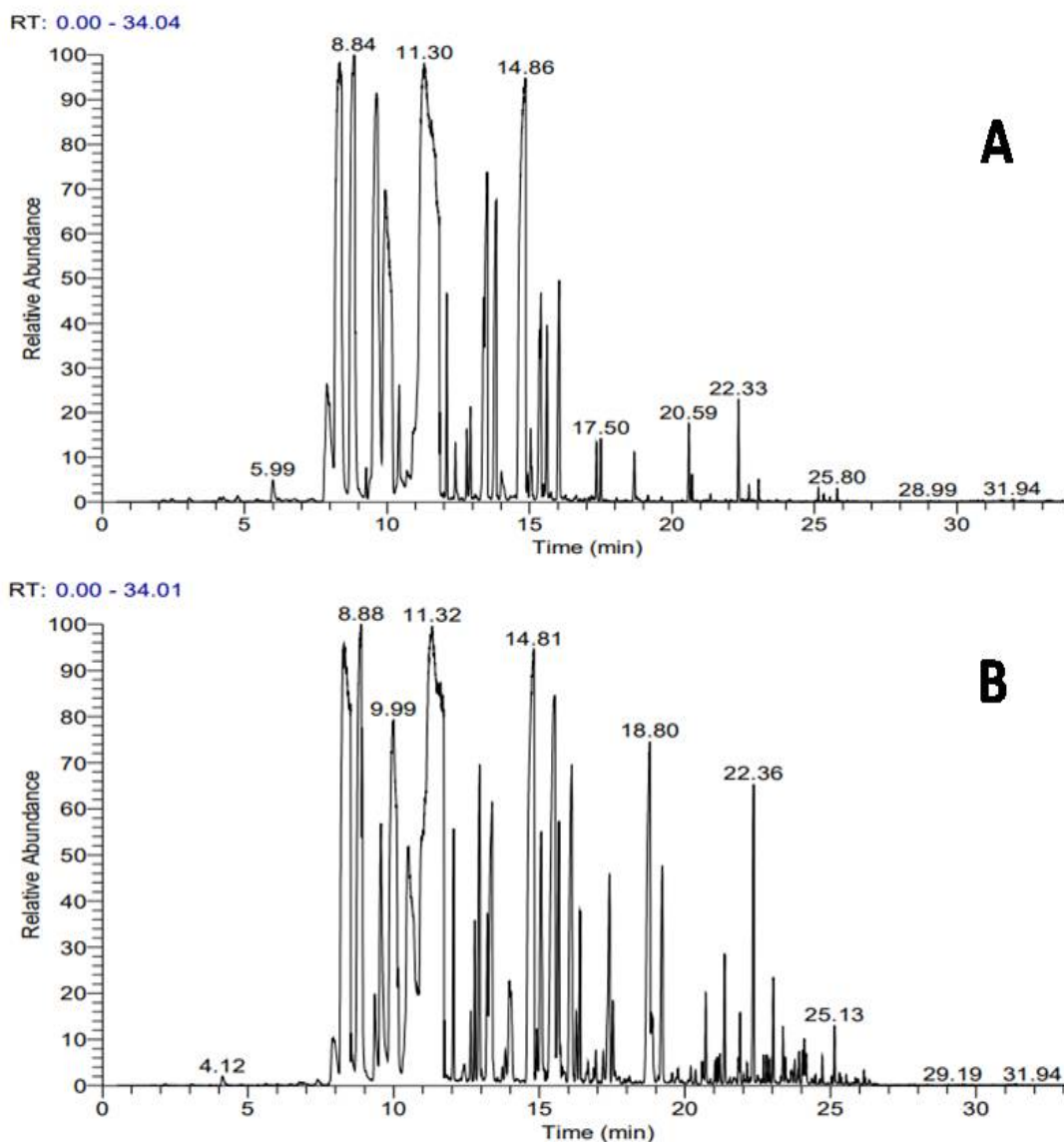


Figure 1: GC-MS chromatogram of A) *S. officinalis* and B) *R. officinalis*

Table 1. Essential oil compounds of *Salvia officinalis* and *Rosmarinus officinalis*

No	RT	Compounds	CAS	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
1	2.15	Hexane	110-54-3	ND	0.02
2	4.76	Hexanal	66-25-1	0.08	ND
3	5.99	Cyclohexane, (1-methylethylidene)-	5749-72-4	0.42	ND
4	7.38	Bornylene	464-17-5	0.07	ND
5	7.38	Cyclohexene	586-62-9	0.07	ND
6	7.39	α -Terpinene	99-86-5	ND	0,06
7	7.39	ζ -Terpinene	99-85-4	ND	0.06
8	7.39	4-Terpinenyl acetate	4821-04-9	ND	0.06
9	8.87	Camphene	79-92-5	29.40	22.45
10	11.30	1,8-Cineole	470-82-6	37.26	35.36
11	12.10	ζ -Terpinene	99-85-4	1.02	ND
12	13.37	Linalool	78-70-6	ND	3,67
13	13.51	α -Thujone	546-80-5	5.78	ND
14	13.97	Fenchyl acetate	13851-11-1	ND	1.41
15	14.01	α -Campholene Aldehyde	4501-58-0	0.34	ND
16	14.81	Cyclohexanol	2102-62-7	0.13	ND
17	14.84	Camphor	76-22-2	13.48	10.80
18	15.40	1-Borneol	464-45-9	3.69	8.26
19	16.04	α -Terpineol	98-55-5	2.03	ND
20	16.10	Cyclohexane,(1-methylethylidene)-	10482-56-1	ND	3.09
21	16.02	α -Fenchyl alcohol	470-08-6	2.04	3.03
22	16.39	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-	80-57-9	ND	1.14
23	16.64	trans-Carveol	1197-07-5	0.04	ND
24	17.08	cis-3-Hexenyl isovalerate	35154-45-1	0.01	ND
25	17.40	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-	99-49-0	ND	2.12
26	17.50	Linalyl Acetate	115-95-7	0.35	ND
27	18.05	Z-Citral	106-26-3	0.01	ND
28	18.78	Endobornyl Acetate	76-49-3	0.38	4.50
29	19.21	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	499-75-2	0.04	1.46
30	19.64	1-P-Menthen-8-Yl Acetate	80-26-2	0.03	ND
31	20.18	Citronellyl acetate	150-84-5	0.10	ND
32	20.20	α -Copaene	3856-25-5	ND	0.26
33	20.20	cis-Myrtanol	15358-92-6	ND	0.08
34	20.59	α -Terpinenyl Acetate	80-26-2	0.56	ND
35	20.71	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-	97-53-0	ND	0.44
36	20.87	Geranyl acetate	105-87-3	0.17	ND
37	20.87	Neryl acetate	141-12-8	0.17	ND
38	21.23	(-)-Isolatedene	95910-36-4	0.01	ND
39	21.36	α -Copaene	3856-25-5	0.03	0.48
40	21.89	Diphenyl ether	101-84-8	0.01	0.32
41	22.35	trans-Caryophyllene	87-44-5	5.42	1.59
42	22.81	Neryl acetate	3879-26-3	ND	0.08
43	23.37	Naphthalene	30021-74-0	0.01	0.29
44	23.66	Ledene	21747-46-6	0.01	ND
45	23.77	α -Muuroolene	31983-22-9	ND	0.17
46	23.91	α -Bisabolene	495-61-4	ND	0.12
47	25.05	(+) spathulenol	77171-55-2	0.00	ND
48	25.32	Veridiflorol	552-02-3	0.06	ND
49	25.30	α -elemene	5951-67-7	ND	0.04
50	30.62	Manool	596-85-0	0.01	ND
51	30.62	Sclareol	515-03-7	0.01	ND
52	33.70	Quercetin 7,3',4'-Trimethoxy	6068-80-0	0.00	ND

ND: Not detected; RT: Retention time

As reported in a quite number of studies, the percentage and in some cases are relatively different in sage leaves (Halbesleben and Wheeler, 2008). The differences might be attributed to the harvesting time (pre-blooming, during blooming, post-flowering) (Ostadi et al., 2020), organs (leaf, stem, flower, and aerial parts) (Açikgöz and Kara, 2020), ecological conditions of the growing area (Jordán et al., 2013), post-harvest processes (packaging, transporting, drying techniques storage,

harvest techniques etc.) (Szumny et al., 2010; Jaspal et al., 2021). Those, in an extent, can confirm our hypothesis and targets of the current report because plant system and therefore biosynthesis of metabolites are responsive to the numerous variables as uttered above. We can thereby deduce that the relevant essential oil profiling studies will always be great interest of the phyto-chemists and plant biologists. In order to support our comments or hypothesis; we had a quick a search on web of science (on May 16, 2021) using following criteria “(sage OR *Salvia* AND essential oil) Refined by: WEB OF SCIENCE CATEGORIES: (PLANT SCIENCES) Time-span: All years. Indexes: SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, BKCI-S, BKCI-SSH, ESCI.” From Web of Science Core Collection, 900 documents were roughly recorded. In the last five years, the number of studies were as 2017 (n=44), 2018 (n=44), 2019 (n=51), 2020 (n=70), and 2021 (n=20; between January and May 16, 2021). The same search was done for rosemary, being about 400 documents for the relevant species with a number of studies 2017 (n=20), 2018 (n=32), 2019 (n=30), 2020 (n=34), and 2021 (n=8; between January and May 16, 2021). The search trend confirms our comments, suggesting that those plants deserve to be investigated for their chemical composition and their uses.

CONCLUSION

Herewith the study, we profiled the essential oil composition of well-known species of Lamiaceae family, such as *S. officinalis* and *R. officinalis*. Considering the compounds, the principal compounds of *S. officinalis* were as camphene, 1, 8-cineole, camphor, borneol, trans-caryophyllene, and α -thujone, whilst camphene, 1,8-cineole, linalool, camphor, cyclohexane, (1-methylethylidene), α -fenchyl alcohol, 2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl), and endobornyl acetate were of the major compounds in *R. officinalis* oils. The differences were revealed with the previous reports, which were deemed to be consequences of the environmental conditions and post-harvest practices. In the ahead studies, the essential oils samples might be assayed for an array of biological activity tests to associate the compound profile and the possible biological activities.

REFERENCES

- Abbaszadeh, B., Layeghhighi, M., Azimi, R., Hadi, N., 2020. Improving water use efficiency through drought stress and using salicylic acid for proper production of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 144, 111893.
- Abdelmajeed, N. A., Danial, E. N., Ayad, H. S., 2013. The effect of environmental stress on qualitative and quantitative essential oil of aromatic and medicinal plants. *Archives Des Sciences*, 66(4), 100-120.
- Açikgöz, M. A., Kara, Ş. M., 2020. Morphogenetic, ontogenetic and diurnal variability in content and constituents of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Miller var. *vulgare*) essential oil. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(1), 127-134.
- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Singh, V. P., Tripathi, D. K., Alam, P., Alyemeni, M. N. (Eds.), 2018. *Plant metabolites and regulation under environmental stress*. Academic Press.
- Akula, R., Ravishankar, G. A., 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signalling & Behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Alizadeh, A., Shaabani, M., 2012. Essential oil composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity in *Salvia officinalis* L. cultivated in Iran. *Adv Environ Biol*, 6(1), 221-6.
- Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., Arif, M. S., 2018. Environmental stress and secondary metabolites in plants: An overview. *Plant metabolites and regulation under environmental stress*, 153-167.
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., Marzouk, B., 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120(2), 271-275.

- Bouyahya, A., Belmehdi, O., Benjouad, A., El Hassani, R. A., Amzazi, S., Dakka, N., Bakri, Y., 2020. Pharmacological properties and mechanism insights of Moroccan anticancer medicinal plants: What are the next steps? *Industrial Crops and Products*, 147, 112198.
- Çelikcan, F. (2021). Vermikompost uygulamalarının su stresi altındaki fesleğenin (*Ocimum basilicum* L.) büyüme, besin alımı ve seconder metabolit içeriğine etkisinin incelenmesi. Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Organik Tarım İşletmeciliği Anabilim Dalı, Iğdır.
- Corell, M., Garcia, M. C., Contreras, J. I., Segura, M. L., Cermeño, P., 2012. Effect of water stress on *Salvia officinalis* L. bioproductivity and its bioelement concentrations. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 43(1-2), 419-425.
- Delamare, A. P. L., Moschen-Pistorello, I. T., Artico, L., Atti-Serafini, L., Echeverrigaray, S., 2007. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food chemistry*, 100(2), 603-608.
- Es-sbihi, F. Z., Hazzoumi, Z., Aasfar, A., Joutei, K. A., 2021. Improving salinity tolerance in *Salvia officinalis* L. by foliar application of salicylic acid. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1), 1-12.
- Es-sbihi, F. Z., Hazzoumi, Z., Benhima, R., Amrani Joutei, K., 2020. Effects of salicylic acid on growth, mineral nutrition, glandular hairs distribution and essential oil composition in *Salvia officinalis* L. grown under copper stress. *Environmental Sustainability*, 3, 199-208.
- Gershenzon, J., 1984. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. In *Phytochemical adaptations to stress* (pp. 273-320). Springer, Boston, MA.
- Göçer, H., Yetişir, H., Ulaş, A., Arslan, M., Aydın, A., 2021. Plant growth, ion accumulation and essential oil content of *Salvia officinalis* Mill. and *S. tomentosa* L. grown under different salt stress. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 24(3), 505-514.
- Halbesleben, J. R., Wheeler, A. R., 2008. The relative roles of engagement and embeddedness in predicting job performance and intention to leave. *Work & Stress*, 22(3), 242-256.
- Hassiotis, C. N., Ntana, F., Lazari, D. M., Poullos, S., Vlachonassios, K. E., 2014. Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. *Industrial Crops and Products*, 62, 359-366.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Chatha, S. A. S., Jabbar, A., Mahboob, S., Nigam, P. S., 2010. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative and antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), 1070-1078.
- Ielciu, I., Sevastre, B., Olah, N. K., Turdean, A., Chiş, E., Marica, R., Hanganu, D., 2021. Evaluation of hepatoprotective activity and oxidative stress reduction of *Rosmarinus officinalis* L. shoots tincture in rats with experimentally induced hepatotoxicity. *Molecules*, 26(6), 1737.
- Inoue, M., Craker, L. E., 2014. Medicinal and aromatic plants uses and functions. In *Horticulture: Plants for People and Places*, Volume 2 (pp. 645-669). Springer, Dordrecht.
- Jafari-Sales, A., Pashazadeh, M., 2020. Study of chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 3(1), 62-69.
- Jaspal, M. H., Ijaz, M., ulHaq, H. A., Yar, M. K., Asghar, B., Manzoor, A., Hussain, J., 2021. Effect of oregano essential oil or lactic acid treatments combined with air and modified atmosphere packaging on the quality and storage properties of chicken breast meat. *LWT*, 146, 111459.
- Jedidi, S., Sammari, H., Selmi, H., Hosni, K., Rtibi, K., Aloui, F., Sebai, H., 2021. Strong protective effects of *Salvia officinalis* L. leaves decoction extract against acetic acid-induced ulcerative colitis and metabolic disorders in rat. *Journal of Functional Foods*, 79, 104406.
- Jordán, M. J., Lax, V., Rota, M. C., Lorán, S., Sotomayor, J. A., 2013. Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control*, 30(2), 463-468.
- Karadağ, M. K., Koyuncu, M., Atalar, M. N., Aras, A., 2021. Abdülmelik, A. R. A. S. Determination of Volatile Organic Compounds of *Artemisia campestris* subsp. *glutinosa*, *Lavandula angustifolia* Mill.

- and Ginger (*Zingiber officinale*) Plants using SPME/GC-MS. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(1), 41-49.
- Khedher, M. R. B., Khedher, S. B., Chaieb, I., Tounsi, S., Hammami, M., 2017. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI Journal*, 16, 160.
- Kulak, M., 2019. A time-course study on essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) under drought stress. *Adiyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1), 165-189.
- Kulak, M. 2020. Recurrent drought stress effects on essential oil profile of Lamiaceae plants: An approach regarding stress memory. *Industrial Crops and Products*, 154, 112695.
- Kulak, M., Gul, F., Sekeroglu, N., 2020. Changes in growth parameter and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in response to various salt stresses. *Industrial Crops and Products*, 145, 112078.
- Kulak, M., Ozkan, A., Bindak, R., 2019. A bibliometric analysis of the essential oil-bearing plants exposed to the water stress: How long way we have come and how much further? *Scientia Horticulturae*, 246, 418-436.
- Lešnik, S., Furlan, V., Bren, U., 2021. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extraction techniques, analytical methods and health-promoting biological effects. *Phytochemistry Reviews*, 1-56.
- Mahajan, M., Kuiry, R., Pal, P. K., 2020. Understanding the consequence of environmental stress for accumulation of secondary metabolites in medicinal and aromatic plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 100255.
- Mazid, M., Khan, T. A., Mohammad, F., 2011. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, 3(2), 232-249.
- Mohamadi, M., Karimi, M., 2020. Effect of exogenous melatonin on growth, electrolyte leakage and antioxidant enzyme activity in rosemary under salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*, 9(37), 60.
- Nguyen, H. C., Nguyen, H. N. T., Huang, M. Y., Lin, K. H., Pham, D. C., Tran, Y. B., Su, C. H., 2021. Optimization of aqueous enzyme-assisted extraction of rosmarinic acid from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves and the antioxidant activity of the extract. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15221.
- Okaiyeto, K., Hoppe, H., Okoh, A. I., 2021. Plant-based synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Salvia officinalis*: Characterization and its antiplasmodial activity. *Journal of Cluster Science*, 32(1), 101-109.
- Ostadi, A., Javanmard, A., Machiani, M. A., Morshedloo, M. R., Nouraein, M., Rasouli, F., Maggi, F., 2020. Effect of different fertilizer sources and harvesting time on the growth characteristics, nutrient uptakes, essential oil productivity and composition of *Mentha x piperita* L. *Industrial Crops and Products*, 148, 112290.
- Ovidi, E., LaghezzaMasci, V., Zambelli, M., Tiezzi, A., Vitalini, S., Garzoli, S., 2021. *Laurusnobilis*, *Salvia sclarea* and *Salvia officinalis* essential oils and hydrolates: Evaluation of Liquid and Vapor Phase Chemical Composition and Biological Activities. *Plants*, 10(4), 707.
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., Bansal, Y. K., 2015. Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3), 293-304.
- Patra B, Schluttenhofer C, Wu Y, Pattanaik S, Yuan L., 2013 Transcriptional regulation of secondary metabolite biosynthesis in plants. *BBA-Gene RegulMech* 1829 (11): 1236-1247.
- Pichersky, E., Gang, D. R., 2000. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science*, 5(10), 439-445.
- Raal, A., Orav, A., Arak, E., 2007. Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. *Natural Product Research*, 21(5), 406-411.
- Raffo, A., Mozzanini, E., Nicoli, S. F., Lupotto, E., Cervelli, C., 2020. Effect of light intensity and water availability on plant growth, essential oil production and composition in *Rosmarinus officinalis* L. *European Food Research and Technology*, 246(1), 167-177.

- Rhodes, M. J. C., 1994. Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. *Plant Molecular Biology*, 24(1), 1-20.
- Rodrigues, L., Póvoa, O., van den Berg, C., Figueiredo, A. C., Moldão, M., Monteiro, A., 2013. Genetic diversity in *Mentha cervina* based on morphological traits, essential oils profile and ISSRs markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 50-59.
- Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F., Sangwan, R. S., 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, 34(1), 3-21.
- Santos-Gomes, P. C., Fernandes-Ferreira, M., 2001. Organ-and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2908-2916.
- Soulaimani, B., El Hidar, N., El Fakir, S. B., Mezrioui, N., Hassani, L., Abbad, A., 2021. Combined antibacterial activity of essential oils extracted from *Lavandula maroccana* (Murb.), *Thymus pallidus* Batt. and *Rosmarinus officinalis* L. against antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. *European Journal of Integrative Medicine*, 43, 101312.
- Szumny, A., Figiel, A., Gutiérrez-Ortíz, A., Carbonell-Barrachina, Á. A., 2010. Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. *Journal of Food Engineering*, 97(2), 253-260.
- Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K., Marzouk, B., 2010. Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress. *Food Chemistry*, 119(3), 951-956.
- Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K., Hammami, M., Kchouk, M. E., Marzouk, B., 2009. Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 30(3), 333-337.
- Tosun, A., Khan, S., Kim, Y. S., Calín-Sánchez, Á., Hysenaj, X., Carbonell-Barrachina, A., 2014. Essential oil composition and anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) in murin macrophages. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(6), 937-942.
- Venkatachalam, K. V., Kjonaas, R., Croteau, R., 1984. Development and essential oil content of secretory glands of sage (*Salvia officinalis*). *Plant Physiology*, 76(1), 148-150.
- Webb, H., Foley, W. J., Külheim, C., 2014. The genetic basis of foliar terpene yield: Implications for breeding and profitability of Australian essential oil crops. *Plant Biotechnology*, 14-1009.
- Yavari, A., Nazeri, V., Sefidkon, F., Hassani, M. E., 2010. Influence of some environmental factors on the essential oil variability of *Thymus migricus*. *Natural Product Communications*, 5(6), 1934578X1000500629.



Research / Araştırma

Soyada Protein Disülfit İzomeraz'ların İn Silico Analizi

Fatih DEMİREL^{1*}

ÖZET

Protein disülfit izomerazlar protein katlanma sürecinde disülfit bağlarının doğru bir şekilde oluşmasında görev alan thioredoxin domaini içeren moleküler şaperonlardır. Hayvanlarda PDI proteinlerinin katalitik ve şaperon rollerinin araştırıldığı birçok çalışma mevcuttur. Bitkilerde ise PDI proteinlerinin varyasyonu ve fonksiyonu ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmada *Arabidopsis* PDI geni referans alınarak soya genomunda 12 PDI geninin varlığı gösterilmiş ve bu genlere ait proteinlerin özellikleri in silico yaklaşımlar ile ortaya konmuştur. WCXXC aktif dizi motifinin GmPDI6c ve GmPDI6d proteinlerinde korunmadığı ve diğer proteinlerde bu dizinin mevcut olduğu tespit edilmiştir. Protein modellemesi sonucunda soya PDI proteinlerinden GMQE skoru en yüksek olanı ele alınarak *Tobacco ringspot virus*'e ait kılıf proteini arasındaki etkileşim docking ile ortaya konmuştur. Çalışma sonucunda elde edilen in silico analiz sonuçlarının deneysel yaklaşımlar ile doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Soya, Protein disülfit izomeraz (PDI), İn silico, Protein-protein docking

In Silico Analysis of Protein Disulfide Isomerases in Soybean

ABSTRACT

Protein disulfide isomerases are molecular chaperones containing the thioredoxin domain that are involved in the correct formation of disulfide bonds during the protein folding process. There are many studies investigating the catalytic and chaperone roles of PDI proteins in animals. Studies on the diversity and function of PDI proteins in plants are limited. In this study, the presence of 12 PDI genes in the soybean genome was shown with reference to the *Arabidopsis* PDI gene. The properties of the proteins belonging to these genes were revealed by in silico approaches. It was found that the active site-WCXXC motif was not conserved in the GmPDI6c and GmPDI6d proteins, but this sequence was present in other proteins. As a result of protein modeling, the protein with the highest GMQE score among soy PDI proteins was taken into consideration and its interaction with the coat protein of *Tobacco ringspot virus* was revealed through docking. The in silico analysis results obtained from the study need to be verified by experimental approaches.

Keywords: Soybean, Protein disulfide isomerase (PDI), In silico, protein-protein docking

¹ Fatih DEMİREL (Orcid ID: 0000-0002-6846-8422), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Iğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Fatih DEMİREL, e-mail: drfdemirel@gmail.com

GİRİŞ

Protein disülfit izomerazlar'lar (PDI) grubu endoplazmik retikulumun lümenindeki yeni sentezlenmiş proteinlerde disülfit bağlarının oluşumundan, redüksiyonundan ve izomerizasyonundan sorumlu olan oxidoreductase sınıfındaki enzimlerdendir (Frandsen and Kaiser 1998; Tu et al. 2000; Wedemeyer et al., 2000). Hedef proteinde PDI aracılığıyla disülfit bağ oluşumu, proteinin doğru katlanması, stabilitesi, katalitik aktivitesi ve diğer proteinler ile interaksyonu için gereklidir (Freedman et al., 1994; Aslund and Beckwith, 1999). PDI'lar kendilerinin integral redox-aktif thioredoxin domain ile disülfit bağlarını değiştirirler (Kanai et al., 1998; Motohashi et al., 2001). PDI ile ilişkili birçok gen tüm genom sekanslaması aracılığıyla birçok ökaryotik genomda tanımlanmıştır. Bu genlere karşılık gelen birçok proteinin biyokimyasal fonksiyondan yoksun olduğu gösterilmiş ve bunlar PDI-benzeri (PDI-Like) proteinler olarak adlandırılmıştır. PDIL proteinleri thioredoxin (TRX) süper ailesi içerisinde çoklu gen ailesinin bir üyesidir (Jacquot et al., 2002). Bu atasal ailedeki bütün proteinler CXXC dörtlü peptid sekansında Cys kalıntıları aracılığıyla fonksiyona sahip olan en az bir yapısal domaine sahiptir (Ellgaard, 2004; Wilkinson and Gilbert, 2004). TRX adlı bu domainler korunmuş üç boyutlu konformasyonda dizili olan amino asitlere sahiptir (Kemink et al., 1997). Proteindeki CGHC motifi proteinin bütün potansiyel indirgeme reaksiyonlarını modüle eder ve böylece disülfit bağlarını aktif olarak okside etmek ya da indirgemek için aktif sistein dizilerinin katalitik yeteneğini düzenler (Chivers et al., 1997). Bütün PDI aile üyeleri disülfit bağlarını yeniden düzenlenme potansiyeline sahip olmasına rağmen, sadece birkaç üyede bu aktivitenin gerçekleştirildiği ve geriye kalanların fonksiyondan ziyade evrim aracılığıyla bu ailenin üyesi durumunda kaldığı görülmüştür (Galligan and Petersen, 2012). Thioredoxin ailesinde PDI'dan sonraki en yaygın çalışılan aile üyelerinin Erp57, Erp72, Erp29, Erp44 ve PDIA2 olduğu belirtilmiştir (Appenzeller-Herzog and Ellgaard, 2008).

Hayvanlarda ve mayalarda PDI'lar farklı hücre fonksiyonlarına sahiptir. PDI'lar hücrenin canlılığı, iyon alımı, gen transkripsiyonunun aktivasyonu, hücre farklılaşması gibi birçok hücre fonksiyonu için gereklidir (Ferrari and Soling, 1999; Honscha et al., 1993; Markus and Benezra, 1999; Ohtani et al., 1993; Fornes and Bustos-Obregon, 1994). PDI'lar çekirdekte, sitoplazmada, endoplazmik retikulumda, mitokondri ve hücre dışı ortamlarda bulunurlar (Cheng et al., 1987; Couet et al., 1996; Wilson et al., 1998; Lahav et al., 2000; Rigobello et al., 2001; Turano et al., 2002). PDI'ların proteinlerin agregasyonunu önleyerek şaperon görevi üstlendikleri de rapor edilmiştir (Irvine et al., 2014)

İnsan PDI proteini dört modül domaininden (a,b,b',a') ve karboksil uca endoplazmik retikulum retansiyon sinyalinin (KDEL) oluşmaktadır (Alanen et al., 2003). Domain a ve a' disistein motifi (CXXC) ile thioredoxin domainiyle homoloji paylaşan katalitik domainlerdir. b ve b' domain ise U-şeklinde tüm molekülün tersiyer yapısını muhafaza etmede rol oynamaktadır (Kemink et al., 1997; Byrne et al., 2009).

Hayvanlarda mevcut olan PDI'ların çoğu ER (Endoplazmik retikulum)'de stres durumunda katlanmamış protein cevabında yer alır. Bu süreç çoğunlukla diyabet ve nörodejenaratif hastalıklar gibi birçok hastalığın gelişimi ve ilerlemesi ile yakın ilişkilidir (Kemink et al., 1997; Byrne et al., 2009). Hayvanlarda çok çalışılan PDI proteinlerinin varlığı pirinç (12), buğday (9), şalgam (*Brassica napobrassica*) (32) ve mısır (22) gibi farklı bitkilerin genom sekanslarında da tanımlanmış olmasına rağmen, bu proteinin bitkilerdeki çalışmaları sınırlıdır (Houston et al., 2005; D'Aloisio et al., 2010; Onda and Kobori, 2016; Kayum et al., 2017). Bitkilerde bulunan PDI proteinlerinin hayvanlardaki gibi protein katlanması ya da yeniden katlanma süreçlerinde rol oynadığı rapor

edilmiştir (Takemoto et al., 2002; Lu and Christopher, 2008; Kimura et al., 2015; Onda and Kobori, 2016; Peng et al., 2017). Ayrıca bu proteinlerin bitkilerde embriyo kesesinin olgunlaşması, tohum gelişiminde endotelial hücrelerin programlı hücre ölümü ve biyotik strese cevap oluşturmada rol aldıkları da bildirilmiştir (Wang et al., 2008; Gruber et al., 2007; Ondzighi and Staehelin, 2008). Bitkiler büyüme ve gelişme dönemlerinde birçok stres faktörüne maruz kalmaktadır. Bitki PDI'larının abiyotik stres altında up-regüle olduğu bilinmektedir. *Brachypodium distachyon* L. ve *Brassica rapa* ssp. *pekinensis*'e ait PDI genlerinin abiyotik stres altında up regüle olduğu ve çoklu stres cevabında rol oynadığı görülmüştür (Zhu et al., 2014; Kayum et al., 2017).

Tahıllarda PDI proteinleri üzerine yapılan araştırmalarda çoğunlukla tohum depo proteinlerinin sınıflandırılmasındaki roller üzerine odaklanılmıştır. Buğdayda ve pirinçte tohum depo proteinin yeniden pozisyonlandırılması süreci, başlangıç polipeptitlerin ER lümenine transferi, peptitlerin katlanması ve endosperm hücrelerine depozosiyonunu kapsamaktadır (Shewry and Halford, 2002; Herman and Schmidt, 2004; Vitale and Ceriotti, 2004; Tosi et al., 2009). Bu olaylar birkaç günlük periyod içerisinde gerçekleşmektedir. Hücre içi ER stresini temsil eden tohum protein süreçleri ve dış çevresel faktörler depo proteinlerinin miktarı ve kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir (Dupont et al., 2006).

Son zamanlarda bilgisayar tabanlı teknoloji ile biyoinformatik yaklaşımlar geliştikçe, bitki, bakteri, fungus ve hayvan gibi farklı organizmalara ait sekans verilerinin kullanımına olanak sağlayan in silico analizlere izin veren yaklaşımlar yaygınlaşmıştır. İn silico analiz, günümüzde genlerin fonksiyonlarının anlaşılması, yeni genlerin ortaya çıkarılması ve ilaç geliştirme gibi amaçlar doğrultusunda sıkça kullanılan bir yaklaşımdır. Bu çalışmada hayvanlara kıyasla bitkilerde daha az çalışılmış olan PDI proteinlerinin soya genomunda varlığı araştırılmış ve bu genlere ait proteinlerin farklı özellikleri in silico analizler ile ortaya konmaya çalışılmıştır. Ayrıca, çalışmada PDI proteinleri ile soyada hastalığa neden olan *Turnip mosaic virus*'e ait kılıf proteini arasındaki interaksiyon da araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Arabidopsis PDI genomik sekansı (At3g54960) BLASTn araştırması için referans alındıktan sonra soya (*Glycine max Wm82.a2.v1*) genomunda PDI genlerinin varlığı Phytozome v13 database kullanılarak taranmıştır. Soya PDI genlerinin yapısı Houston ve ark. (2005)'nin rapor ettiği EST, TA ve cDNA'lar göz önüne alınarak oluşturulan gen modeli ile karşılaştırılarak Gene Structure Display Server (GSDS) (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) programı kullanılarak oluşturulmuştur (Şekil 1). Soya PDI'lara ait amino asit sekansları Phytozome database'den elde edilmiştir. Soya PDI amino sekans hizalama (align) PARALINE Multiple Sequence Align kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 2). Peptitlere ait fizikokimyasal özellikler ProtParam aracı (<https://web.expasy.org/protparam/>) kullanılarak elde edilmiştir (Çizelge 1). Proteinde disülfit bağları ve lokasyonları SCRATCH Protein Predictor programı (<http://scratch.proteomics.ics.uci.edu/>) kullanılarak araştırılmıştır (Çizelge 1). Peptit sekanslarına ait protein 3-D (3 boyut) yapısı swiss-model database (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) kullanılarak belirlenmiştir ve bu modeller protein docking için kullanılmıştır. Protein-Protein interaksiyonunun belirlenmesi için HDOCK SERVER kullanılmıştır (<http://hdock.phys.hust.edu.cn/>).

Çizelge 1. Soya PDI proteinlerinin fizikokimyasal özellikleri

Örnek	Gen ismi	Accession No	Kromozom	Başlangıç bölgesi	Bitiş bölgesi	pI (protein izoelektrik noktası)	MW (kDa) (moleküler ağırlık)	Amino asit sayısı	Disülfit bağ sayısı	Pozisyonlar
1	GmPDI14a	Glyma.14G152000	14	32942545	329479906	5.28	55834.16	496	2	61-64, 406-409
2	GmPDI14b	Glyma.14G050600	14	3961456	3965431	5.41	47650.66	483	3	290-296, 64-67, 192-195
3	GmPDI4	Glyma.04G247900	4	51508103	51512541	5.06	58714.88	525	2	418-421, 73-76
4	GmPDI6a	Glyma.06G114700	6	9307220	9315112	5.74	44398.02	394	2	37-40, 303,306
5	GmPDI6b	Glyma.06G114800	6	9319023	9322977	4.88	56115.09	503	2	61-64, 406-409
6	GmPDI6c	Glyma.06G218800	6	23847777	23849959	7.71	14296.90	126	2	67-75, 102-113
7	GmPDI6d	Glyma.06G245200	6	41415611	41418860	9.40	18372.44	196	2	27-57, 94-97
8	GmPDI13a	Glyma.13G077300	13	18273603	18279038	5.32	55699.98	495	2	60-63, 405-408
9	GmPDI13b	Glyma.13G326200	13	42127387	42131740	4.72	62382.13	558	2	106-109, 445-448
10	GmPDI2a	Glyma.02G266900	2	45143254	45147258	5.37	47827.82	438	3	64-67, 192-195, 290-296
11	GmPDI2b	Glyma.02G014000	2	1271043	1276316	5.37	40843.43	368	3	57-60, 87-94, 180-183
12	GmPDI10	Glyma.10G014700	10	1313154	1318059	5.73	40355.80	364	3	57-60, 87-94, 176-179

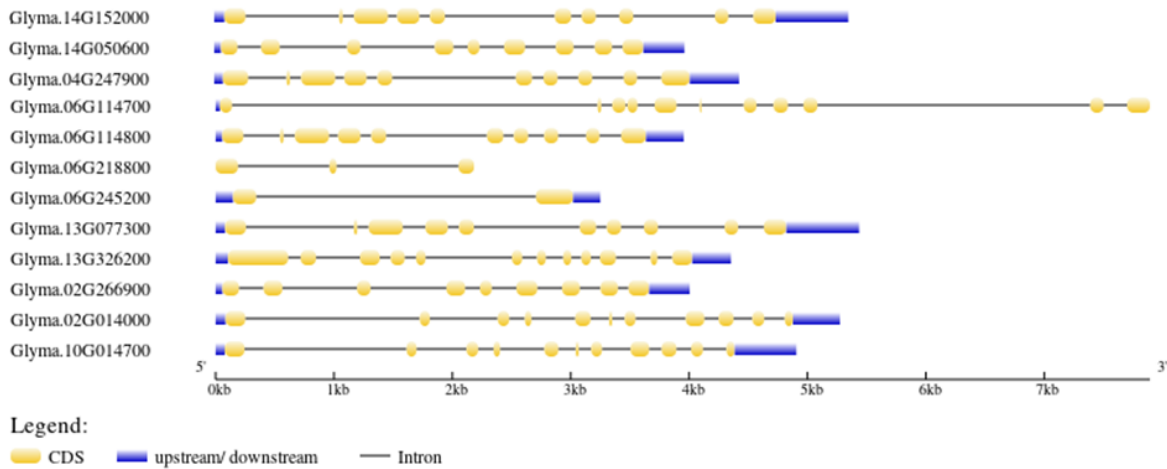
BULGULAR ve TARTIŞMA

Bitkilerde PDIL ailesine ait proteinler hakkında bilgi edinmek için veri tabanlarında gerçekleştirilen araştırmalarda sorgu kelimesi olarak *Arabidopsis* PDI kullanılmaktadır. Soya genomunda Blastn ile 12 GmPDI geninin varlığı belirlenmiştir (Şekil 1). Bu genlerdeki intron ve exon bölgeleri ve gen uzunlukları Şekil 2’de verilmiştir. Genler arasındaki intron sayısı 1 ile 10 arasında değişirken, ekzon sayısı ise 3 ile 11 arasında değişmektedir. PDIL proteinlerinde TRX (thioredoxin), ferredoxin, glutaredoxin, ferredoxin, peroxidoxin gibi domainler yer almaktadır (Jacquat et al., 2002). Multiple Sequence Aligment (Çoklu sekans hizalama) sonucunda CXXC terapeptit katalitik sekansın GmPDI proteinlerinde korunmuş olduğu ortaya konmuştur. Houston et al. (2005), *Arabidopsis* bitkisine ait AtPDI proteinlerindeki aktif dizi motiflerinin WCGAC, WCARS, WCVNC, WCINC şeklinde varyantlara sahip olduğunu göstermiştir. Holmgren (1985), WCXXC dizilerinin disülfit oksidasyon/reduksiyon ve izomerizasyondan sorumlu olduğunu rapor ederken, diğer araştırmacılar WCXXA motifinin sadece disülfit izomerizasyonundan sorumlu olduğunu belirtmiştir (Woycechowsky et al., 2000; Serratoet al., 2008). Iwasaki et al., (2009) CPRS/CXXC dizilerinin ER lümen’ine lokalizasyonda sorumlu olduğunu göstermiştir. Biyokimyasal ve hücre fraksiyon çalışmaları PDI aktivitesinin genellikle ER ile ilişkili olduğunu ve salgılama yollarının çoğuna katıldığını göstermiştir (Houston et al., 2005). Çoğu PDI proteini ER hedefleme için sinyal peptidi olarak tahmin edilen NH₂-uca ait sekansa sahiptir. Diğer taraftan birçok protein de COOH-terminal KDEL motifine sahiptir (Pelham, 1990). Bu çalışmada, amino asit aligment sonucunda proteinin N’ terminal ucunda bulunan korunmuş KDEL sekanslarının soya PDI proteinlerinde de korunmuş genellikle korunmuş olduğu belirlenmiştir (Şekil 3). Proteine ait disülfit bağlarının sayısı 2 ve 3’tür. Soya PDI proteinlerindeki en küçük amino asit sayısı GmPDI6 proteinine ait iken en büyük Amino asit sayısı 558’dir. GmPDI proteinlerindeki izoelektrik noktasının 4.72 ile 9.40 arasında değiştiği görülmüştür (Çizelge 1).

Defline	Score	E	Query View	3246
▶ Chr14	320.5	1.1E-84		850-1018 2490-2501 241-333 2087-2839 1928-2084 2513-2548
▶ Chr04	320.5	1.1E-84		859-1030 1931-2087 241-334 2084-2846 2500-2824 257-334
▶ Chr06	302.4	2.8E-79		859-1030 859-1030 1000-1150 241-334 1931-2087 2084-2911 2504-2504 257-334 2502-2578 1272-1428
▶ Chr13	208.7	4.6E-51		850-1110 2490-2501 241-333 1928-2084 2087-2850 272-332
▶ Chr18	174.4	9.9E-41		847-1155 1300-1428
▶ Chr20	165.4	5.1E-38		883-1428
▶ Chr17	163.6	1.8E-37		907-1428
▶ Chr03	80.6	1.7E-12		1080-1150
▶ Chr02	53.6	2.3E-4		2513-2548 2531-2559
▶ Chr12	50.0	2.8E-3		2502-2548 2504-2545
▶ Chr10	48.2	9.9E-3		2531-2559
▶ Chr07	46.4	3.5E-2		1709-1759

Şekil 1. Soyada Phytozome PDI blast sonucu

Bitki virüsleri tarafından kaynaklanan enfeksiyöz hastalıklar tarımsal üretimi ve küresel olarak tarımsal ürün miktarını negatif olarak etkilemektedir. Soya insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir besin kaynağıdır. *Tobacco ringspot virus* soya bitkisini enfekte eden virüsler arasındadır. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı hastalıklarda bitki ve patojen arasındaki protein interaksyonları hastalığın oluşum mekanizmasının anlaşılması adına önem taşımaktadır. PDI proteinlerinin hayvanlarda hastalıklarla ilişkili olduğu birçok çalışma da ele alınmıştır. Bitki hastalıklarında ile bu proteinin ilişkisi adına yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Yang ve ark. (2014), PDI proteinlerinin bitki virüslerine duyarlılıkta rol oynadığını bildirmiştir. Bu çalışmada *Tobacco ringspot virus* kılıf proteini ile soya PDI proteininin geni arasındaki interaksiyon araştırılmıştır. Kılıf proteini ve PDI proteini arasında bir ligan-reseptör bağlanmasının mümkün olduğu, protein docking sonucuna göre belirlenmiştir (Şekil 4).

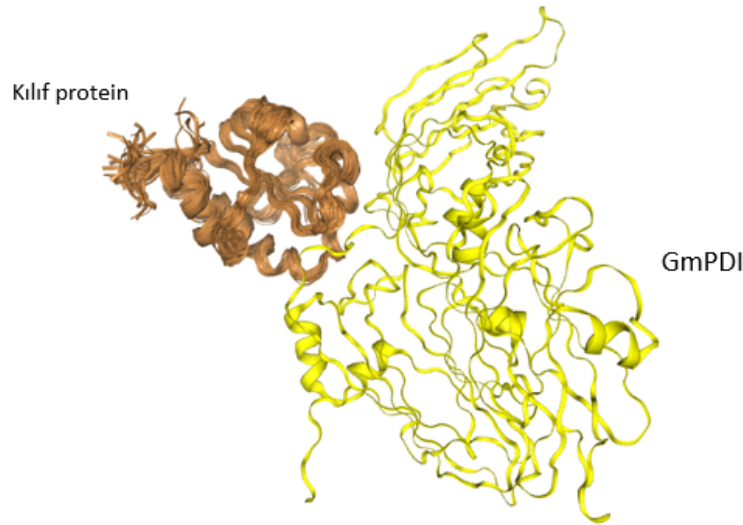


Şekil 2. Soya PDI genlerinin yapısı

```

Glyma_066245200      ...MATLFDLSLVRLP...      ...TAARRTSMVH...L...-PHCA-GLRLRP...      ...ATVLKG...-VVTVAIDADAHPS...-LQAEYIGRGPFTI...KVFAPG...-KPPVYDQGAR...DKVKPI
Glyma_146095600      ...HPKSFQRTFPLVLSLLFFLTPSHALYG...      ...ASSPVLQLTSPNF...KSVLNSNGVLLVVEFYAPICGHQALTPIN...EKAATLKG...-VVTVAIDADAHPS...-LQAEYIGRGPFTI...KVFAPG...-KPPVYDQGAR...DKVKPI
Glyma_026266900      ...HPKSFQRTFPLVLSLLFFLTPSHALYG...      ...ASTPVLQLTSPNF...KSVLNSNGVLLVVEFYAPICGHQALTPIN...EKAATELKGED...-VILAKVDATEENE...-LQAEYIGRGPFTI...KVFAPG...-IHKPYNGQRT...IDAI
MRLIVLISLALLLTFSSSPFTCDLADDEDLDFDEPSAAPHYHGHGDDSNFGDFEDFEEDDAEAYQPEDEIDVVLLEK...NF...TDVAINNFVH...VEFYAPICGHQALPEYAA...GSSFKKAK...-SVLTGK...VDCDEH...S...-LCSIKYGVSGYPTIQ...FPKGLSEAKIKYEGPRTAESL
Glyma_026914900      ...HEHYGHSRRIALGAFAPALLQ...-SA...      ...SADDVYVLEDFNEFEVQDQIGAL...VEFYAPICGHCKL...LAPEYEKL...GSSFKKAK...-SVLTGK...VDCDEH...S...-LCSIKYGVSGYPTIQ...FPKGLSEAKIKYEGPRTAESL
Glyma_066218800      ...-HIVY...-SA...      ...DESDVLTLDHNSFN...SDTVSTVSLIV...VEFYAPICGHCKL...LAPEYEK...ASTLSHDPPIVLA...KVDAN...EENK...DLASQYDVR...GYPTI...KILRNGG...VNVQY...IGPREADGI
Glyma_046247900      ...HPKFFHSIFRGTNAGVSTCFPPFVALSLLFFLQTSAEES...      ...KEFVLTLDHNSFN...HDTVSLH...VDF...VEFYAPICGHCKL...LAPEYEK...ASTLSHDPPIVLA...KVDAN...EENK...DLASQYDVR...GYPTI...KILRNGG...VNVQY...IGPREADGI
Glyma_066114800      ...HMGVSTCFPPFVALSLLFFLQTSAEES...      ...KEFVLTLDHNSFN...SDTVTHNFVY...VEFYAPICGHCKL...LAPEYEK...ASTLSHDPPIVLA...KVDAN...EENK...DLASQYDVR...GYPTI...KILRNGG...VNVQY...IGPREADGI
Glyma_146152000      ...HMHNNRNVSTHVF...FVSSLLSLFA-QIS...-SG...      ...KEFVLTLDHNSFN...SDTVTHNFVY...VEFYAPICGHCKL...LAPEYEK...ASTLSHDPPIVLA...KVDAN...EENK...DLASQYDVR...GYPTI...KILRNGG...VNVQY...IGPREADGI
Glyma_136077300      ...HAHNNRNVSTCFPPFVALSLLFA-QIS...-SG...      ...KEFVLTLDHNSFN...SDTVTHNFVY...VEFYAPICGHCKL...LAPEYEK...ASTLSHDPPIVLA...KVDAN...EENK...DLASQYDVR...GYPTI...KILRNGG...VNVQY...IGPREADGI
    
```

Şekil 3. Soya PDI proteinlerinin hizalaması



Complex Template Information

Molecule	Chain ID	Align_length	Coverage	Seq_ID (%)
Receptor	A	120	1.000	100.0
Ligand	A	513	1.000	100.0

Şekil 4. Protein-Protein docking sonucu

SONUÇ

Bu çalışma önemli bir baklagil bitkisi olan soya bitkisindeki PDI proteinlerinin yapısal olarak farklılığı ve fonksiyonel özellikleri üzerine önemli bilgiler sunmaktadır. İn silico analizler PDI ile *Tobacco ringspot virus* kılıf proteini arasında bağlanma deseni görselleştirilmiştir. Protein-protein interaksyonu ile ilgili amino asit kalıntılarının belirlenmesi için kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. İn silico çalışmalardan elde edilen bilgiler yeni genlerin karakterizasyonu ve fonksiyonel özelliğinin belirlenmesi için önemli veriler sunmaktadır. Dolayısıyla bu çalışmanın sonuçları ileride PDI proteinleri ile ilgili gerçekleştirilecek çalışmalara katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Alanen, H. I., Salo, K. E., Pekkala, M., Siekkinen, H. M., Pirmeskoski, A., and Ruddock, L. W. (2003). Defining the domain boundaries of the human protein disulfide isomerases. *Antioxid. Redox Signal.* 5, 367–374.
- Appenzeller-Herzog, C., and Ellgaard, L. (2008). The human PDI family: versatility packed into a single fold. *Biochim. Biophys. Acta* 1783, 535–548.
- Aslund F, J Beckwith 1999 Bridge over troubled waters: sensing stress by disulfide bond formation. *Cell* 96:751–753.
- Byrne, L. J., Sidhu, A., Wallis, A. K., Ruddock, L. W., Freedman, R. B., Howard, M. J., et al. (2009). Mapping of the ligand-binding site on the b0 domain of human PDI: interaction with peptide ligands and the x-linker region. *Biochem. J.* 423, 209–217.
- Cheng SY, QH Gong, C Parkison, EA Robinson, E Appella, GT Merlino, I Pastan 1987 The nucleotide sequence of a human cellular thyroid hormone binding protein present in endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 262:11221–11227.
- Chivers P. T., Prehoda K. E., Raines R. T. (1997). The CXXC motif: a rheostat in the active site. *Biochemistry* 36, 4061–4066.
- Couet J, S de Bernard, H Loosfelt, B Saunier, E Milgrom, M Misrahi 1996 Cell surface protein disulfide-isomerase is involved in the shedding of human thyrotropin receptor ectodomain. *Biochemistry* 35:14800–14805.
- D'Aloisio E., Paolacci A. R., Dhanapal A. P., Tanzarella O. A., Porceddu E., Ciaffi M. (2010). The protein disulfide isomerase gene family in bread wheat (*T. aestivum* L.). *BMC Plant Biol.* 10:101.
- DuPont F., Hurkman W., Vensel W., Chan R., Lopez R., Tanaka C. & Altenbach S. 2006. Differential accumulation of sulfur-rich and sulfur-poor wheat flour proteins is affected by temperature and mineral nutrition during grain development. *J. Cereal Sci.* 44: 101–112.
- Ellgaard L. & Ruddock L. 2005. The human protein disulphide isomerase family: substrate interactions and functional properties. *EMBO Rep.* 6: 28–32.
- Ferrari, D.M., Soling, H.D., 1999. The protein disulphide-isomerase family: unravelling a string of folds. *Biochem. J.* 339 (Pt 1), 1–10.
- Fornes MW, E Bustos-Obregon 1994 Study of nuclear decondensation of the rat spermatozoa by reducing agents during epididymal transit. *Andrologia* 26:87–92.
- Frand AR, CA Kaiser 1998 The ERO1 gene of yeast is required for oxidation of protein dithiols in the endoplasmic reticulum. *Mol Cell* 1:161–170.
- Freedman RB, TR Hirst, MF Tuite 1994 Protein disulphide isomerase: building bridges in protein folding. *Trends Biochem Sci* 19: 331–336.
- Galligan J. J., Petersen D. R. (2012). The human protein disulfide isomerase gene family. *Hum. Genomics* 6, 1–15.
- Gruber C. W., Cemazar M., Clark R. J., Horibe T., Renda R. F., Anderson M. A., et al. (2007). A novel plant protein-disulfide isomerase involved in the oxidative folding of cystine knot defense proteins. *J. Biol. Chem.* 282 20435–20446.

- Herman E. & Schmidt M. 2004. Endoplasmic reticulum to vacuole trafficking of endoplasmic reticulum bodies provides an alternate pathway for protein transfer to the vacuole. *Plant Physiol.* 136: 3440–3446.
- Holmgren A. 1985. Thioredoxin. *Annu. Rev. Biochem.* 54: 237–271.
- Honscha W, M Ottallah, A Kistner, H Platte, E Petzinger 1993 A membrane-bound form of protein disulfide isomerase (PDI) and the hepatic uptake of organic anions. *Biochim Biophys Acta* 1153: 175–183.
- Houston N. L., Fan C., Xiang J. Q., Schulze J. M., Jung R., Boston R. S. (2005). Phylogenetic analyses identify 10 classes of the protein disulfide isomerase family in plants, including single-domain protein disulfide isomerase-related proteins. *Plant Physiol.* 137 762–778.
- Houston N., Fan C., Xiang Q. & Schulze J. 2005. Phylogenetic analyses identify 10 classes of the protein disulfide isomerase family in plants, including single-domain protein disulfide isomerase-related proteins. *Plant Physiol.* 137: 762–778.
- Houston, N. L., Fan, C., Schulze, J. M., Jung, R., & Boston, R. S. (2005). Phylogenetic analyses identify 10 classes of the protein disulfide isomerase family in plants, including single-domain protein disulfide isomerase-related proteins. *Plant Physiology*, 137(2), 762-778.
- Irvine, A. G., Wallis, A. K., Sanghera, N., Rowe, M. L., Ruddock, L.W., Howard, M. J., et al. (2014). Protein disulfide-isomerase interacts with a substrate protein at all stages along its folding pathway. *PLoS ONE* 9:e82511.
- Jacquot J., Gelhaye E., Rouhier N., Corbier C., Didierjean C. & Aubry A. 2002. Thioredoxins and related proteins in photosynthetic organisms: molecular basis for thiol dependent regulation. *Biochem. Pharmacol.* 64: 1065–1069.
- Jacquot J., Gelhaye E., Rouhier N., Corbier C., Didierjean C. & Aubry A. 2002. Thioredoxins and related proteins in photosynthetic organisms: molecular basis for thiol dependent regulation. *Biochem. Pharmacol.* 64: 1065–1069.
- Kanai S, H Toh, T Hayano, M Kikuchi 1998 Molecular evolution of the domain structures of protein disulfide isomerases. *J Mol Evol* 47:200–210.
- Kayum M. A., Park J. I., Nath U. K., Saha G., Biswas M. K., Kim H. T., et al. (2017). Genome-wide characterization and expression profiling of PDI family gene reveals function as abiotic and biotic stress tolerance in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *BMC Genomics* 18:885.
- Kayum M. A., Park J. I., Nath U. K., Saha G., Biswas M. K., Kim H. T., et al. (2017). Genome-wide characterization and expression profiling of PDI family gene reveals function as abiotic and biotic stress tolerance in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *BMC Genomics* 18:885.
- Kemmink J., Darby N., Dijkstra K., Nilges M. & Creighton T. 1997. The folding catalyst protein disulfide isomerase is constructed of active and inactive thioredoxin modules. *Curr. Biol.* 7: 239–245.
- Kemmink, J., Darby, N. J., Dijkstra, K., Nilges, M., and Creighton, T. E. (1997). The folding catalyst protein disulfide isomerase is constructed of active and inactive thioredoxin modules. *Curr. Biol.* 7, 239–245.
- Kimura S., Higashino Y., Kitao Y., Masuda T., Urade R. (2015). Expression and characterization of protein disulfide isomerase family proteins in bread wheat. *BMC Plant Biol.* 15:73.
- Lahav J, N Gofer-Dadosh, J Luboshitz, O Hess, M Shaklai 2000 Protein disulfide isomerase mediates integrin-dependent adhesion. *FEBS Lett* 475:89–92.
- Lu D. P., Christopher D. A. (2008). Endoplasmic reticulum stress activates the expression of a sub-group of protein disulfide isomerase genes and AtbZIP60 modulates the response in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Genet. Genomics* 280 199–210.
- Markus M, R Benezra 1999 Two isoforms of protein disulfide isomerase alter the dimerization status of E2A proteins by a redox mechanism. *J Biol Chem* 274:1040–1049.
- Motohashi K, A Kondoh, MT Stumpp, T Hisabori 2001 Comprehensive survey of proteins targeted by chloroplast thioredoxin. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:11224–11229.
- Ohtani H, H Wakui, T Ishino, A Komatsuda, AB Miura 1993 An isoform of protein disulfide isomerase is expressed in the developing acrosome of spermatids during rat spermiogenesis and is transported into the nucleus of mature spermatids and epididymal spermatozoa. *Histochemistry* 100:423–429.

- Onda Y., Kobori Y. (2016). Differential activity of rice protein disulfide isomerase (PDI) family members for disulfide bond formation and reduction. *FEBS Open Bio.* 4 730–734.
- Ondzighi C. A., Staehelin L. A. (2008). *Arabidopsis* protein disulfide isomerase-5 inhibits cysteine proteases during trafficking to vacuoles before programmed cell death of the endothelium in developing seeds W. *Plant Cell* 20 2205–2220.
- Pelham HR (1990) The retention signal for soluble proteins of the endoplasmic reticulum. *Trends Biochem Sci* 15: 483–486
- Peng R. H., Qiu J., Tian Y. S., Gao J. J., Han H. J., Fu X. Y., et al. (2017). Disulfide isomerase-like protein AtPDIL1–2 is a good candidate for trichlorophenol phytodetoxification. *Sci. Rep.* 7:40130.
- Rigobello MP, A Donella-Deana, L Cesaro, A Bindoli 2001 Distribution of protein disulphide isomerase in rat liver mitochondria. *Biochem J* 356:567–570.
- Serrato A., Guillemot J., Meyer Y. & Vignols F. 2008. AtCXXS: atypical members of the *Arabidopsis thaliana* thioredoxin h family with a remarkably high disulfide isomerase activity. *Physiol. Plant.* 133: 611–622.
- Shewry P.R. & Halford N.G. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *J. Exp. Bot.* 53: 947–958.
- Takemoto Y., Coughlan S. J., Okita T. W., Satoh H., Ogawa M., Kumamaru T. (2002). The rice mutant esp2 greatly accumulates the glutelin precursor and deletes the protein disulfide isomerase. *Plant Physiol.* 128 1212–1222.
- Tosi P., Parker M., Gritsch C., Carzaniga R., Martin B. & Shewry S. 2009. Trafficking of storage proteins in developing grain of wheat. *J. Exp. Bot.* 60: 979–991.
- Tu B, SC Ho-Schleyer, KJ Travers, JS Weissman 2000 Biochemical basis of oxidative protein folding in the endoplasmic reticulum. *Science* 290:1571–1574.
- Turano C, S Coppari, F Altieri, A Ferraro 2002. Proteins of the PDI family: unpredicted non-ER locations and functions. *J Cell Physiol* 193:154–163.
- Vitale A. & Ceriotti A. 2004. Protein quality control mechanisms and protein storage in the endoplasmic reticulum. A conflict of interests? *Plant Physiol.* 136: 3420–3426.
- Wang H., Boavida L. C., Ron M., McCormick S. (2008). Truncation of a protein disulfide isomerase, PDIL2-1, delays embryo sac maturation and disrupts pollen tube guidance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 20 3300–3311. 10.1105/tpc.108.062919
- Wedemeyer WJ, E Welker, M Narayan, HA Scheraga 2000 Disulfide bonds and protein folding. *Biochem* 39:4207–4216.
- Wilkinson B. & Gilbert H. 2004. Protein disulfide isomerase. *Biochim. Biophys. Acta* 1699: 35–44.
- Wilson R, JF Lees, NJ Bulleid 1998 Protein disulfide isomerase acts as a molecular chaperone during the assembly of procollagen. *J Biol Chem* 273:9637–9643.
- Woycechowsky K, Raines R. 2000. Native disulfide bond formation in proteins. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 4: 533–539.
- Yang, P., Lüpken, T., Habekuss, A., Hensel, G., Steuernagel, B., Kilian, B., ... & Ordon, F. (2014). PROTEIN DISULFIDE ISOMERASE LIKE 5-1 is a susceptibility factor to plant viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(6), 2104-2109.
- Zhu C., Luo N., He M., Chen G., Zhu J., Yin G., et al. (2014). Molecular characterization and expression profiling of the protein disulfide isomerase gene family in *Brachypodium distachyon* L. *PLoS One* 9:e94704.



Review / Derleme

Swab Analysis, Its Importance and Applications in Personnel Hygiene and Business Sanitation Monitoring

Menekşe BULUT^{1*}, Melek ZOR²

ABSTRACT

Swab analysis is of paramount importance especially in the detection of microorganisms taken from surfaces as well as identification, counting and description of these microorganisms and hygiene monitoring. Responsible personnel, food contact tools and equipment play role in the contamination of food with bacteria. It can be identified by swab analysis whether foods, food production equipment, personnel and environment have bacteria or not. Swab samples are of great importance in taking any cross-fertilization under control. While performing analyses, correct selection of swab analysis method should be attached importance as correct swab analysis method selection influence the sensitivity of the results of analyses.

Keywords: Swab analysis, Hygiene and sanitation, Swab method

Swab Analizi, Personel Hijyeni ile İşletme Sanitasyonu Takibinde Önemi ve Uygulamaları

ÖZET

Swab analizi, özellikle yüzeylerden toplanan mikroorganizma tespitinde, bu mikroorganizmaların tespit edilmesi, sayılması ve tanımlanmasında, hijyen takibinde büyük önem taşımaktadır. Sorumlu personel, gıdalarla temas eden alet ve ekipmanlar, gıdalara bakterilerin bulaşmasında rol almaktadır. Özellikle gıdaların, gıda üretim ekipmanlarının, personelin ve ortamın bakteri taşıyıp taşımadığı swab analizi ile belirlenebilmektedir. Herhangi bir çapraz üremenin kontrol edilmesinde swab örnekleri büyük önem arz etmektedir. Analizler yapılırken, swab analiz metodunun doğru seçilmesi dikkate alınması gereken bir konudur. Çünkü swab analizinde metodların doğru seçilmesi, analiz sonuçlarının hassasiyetini etkilemektedir.

Anahtar Kelimeler: Swab analizi, Hijyen ve sanitasyon, Swab metodu

^{1*}Menekşe BULUT (Orcid ID: 0000-0003-3902-6403) Department of Food Engineering,, Faculty of Engineering, Iğdir University, 76000, Iğdir , Turkey

²Melek ZOR (Orcid ID: 0000-0002-5795-218X), Department of Gastronomy and Culinary Arts, School of Tourism and Hotel Management, Agri İbrahim Cecen University, 04100 Agri, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Menekşe BULUT, e-mail: gidabenefse@gmail.com

INTRODUCTION

Detection, counting and identification of pathogenic microorganisms collected from surfaces is the essential in hygiene monitoring, environmental sampling and bio-threat assessment across diverse fields of applications. For rapid and sensitive detection of bacteria and viruses, molecular analysis methods such as real-time PCR are commonly applied. To ensure optimal limits of detection, the initial sample collection must be highly efficient and reproducible. Cotton swabs have traditionally been recommended for microbial surface sampling as well as sampling of human biological traces (Jansson et al., 2020).

Swab and swab analysis methods

Swab consists of a flock layer with long support body structure for collection and transfer of biological material samples and defined by a large number of fibres attached and placed at the end (Triva, 2019). In Figure 1, a sterile disposable swab sample is given.



Figure 1. Sterile disposable swab (Anonymous, 2021a)

Today, it has been determined that traditionally used swab materials affect swab efficiency. Swab material selection may depend on the nature of the target organism, change in time after accumulation on the surface (namely, wet or dry sample). It is generally accepted that swabs of the same material show equal performance in sampling. In addition, another issue originates from the differences in recovery between swabs of the same material (Jansson et al., 2020).

In the study carried out by Jansson et al. (2020) in which they evaluated sampling efficiencies for 15 different swabs made of cotton (5), flocked nylon (3) and foam (7), they reported that cotton swabs and small foam swabs were advantageous for sampling from non-absorbent surfaces while foam swabs were advantageous for sampling from all surfaces, and wood areas tested, and foam sticks should be preferred when collecting viruses, regardless of the surface material. It was reported that foam swabs are generally advantageous on absorbent surfaces, such as wood (Figure 2), and recoveries under optimal were obtained for all surfaces tested by nylon flocked swabs. It was emphasized in the same study that there was also a high difference in recovery efficiencies between different swabs of the same material, and it was important to evaluate specific swabs for the intended use before application. (Jansson et al., 2020).



Figure 2. Foam tip swab and sponge swab (Anonymous, 2021b)

For sampling with swabs, the swab tip is first swept once on the surface in a slalom-like pattern (black arrow heads). Next, the swab is swept perpendicularly for a second time on the surface to the first sweeping direction (grey arrow heads) and sampling is performed (Figure 3).

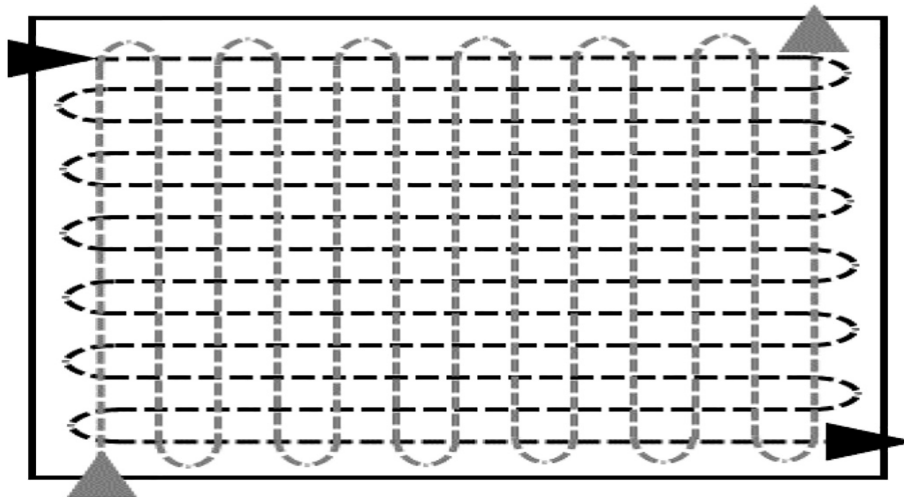


Figure 3. Sampling procedure by swab (Jansson et al., 2020).

After making sampling operation by sterile swabs, swab is put into a tube containing sterile physiological saline water or peptone water and transferred to laboratory quickly at +4 °C, and finally examination is conducted after appropriate dilutions are made according to the microorganism to be detected. (Öz and Özgen Arun, 2019). Vortexing operation is carried out before dilution so that the samples on swab are mixed with the peptone water thoroughly (Ünal and Özmen-Togay, 2017).

Adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence method, which is performed with swabs, except for the traditional use of swab sticks, enables the total surface cleanliness, including the presence of organic residue and microbial contamination, to be tested quickly by providing results within minutes. ATP bioluminescence is considered a highly effective biosensor providing a sensitive, non-destructive and real-time testing (Larson et al., 2003; CaPuto et al., 2011; Chollet and Ribault, 2012). The ATP bioluminescence detection test is based on the fact that ATP is an important source of biological energy found in various microbes and therefore reflects the presence of living microbes (Luo et al., 2009). Quantitative measurements of ATP bioluminescence have

been applied to biological and environmental systems for years (Căpriță and Căpriță, 2005). Thanks to these, the use of ATP bioluminescence method is getting widespread as a monitoring method at HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point). ATP measurement technique can be used successfully without any technical staff in order to train food processors and cleaning personnel on personal issues or kitchen hygiene, and to minimise possible errors that personnel may cause during applications. Moreover, ATP bioluminescence method must be used after being integrated with microbiological tests as part of a compatible surface cleanliness monitoring system as it does not have similar functions with quantification of the microbial load on food contact surfaces (Aycicek et al., 2006).

ATP is one of the building stones with significant functions in energy transfer reactions of all cells (Ünlütürk and Turantaş, 1999). ATP bioluminescence method is indeed based on the formation of bioluminescence light as a result of the reaction of oxygen and luciferin enzyme in the presence of ATP (İpek, 2017). ATP hygiene monitoring system detects ATP in all animal, plant origin cells, mould and yeast cells. (Erkoç, 2019). In ATP bioluminescence method, the devices called luminometers and specially developed, are used. The sample, received from a parallel of 100 cm² surfaces, was placed in the swab compartment of the device by using the special swabs of the device. After the cover is closed, the reading is started and the relative light unit (RLU) value, read on the screen at the end of the time of measurement, is recorded (İpek, 2017; Öz and Özgen Arun, 2019). In Figure 4, sampling, placement of swab into the device and reading are demonstrated.

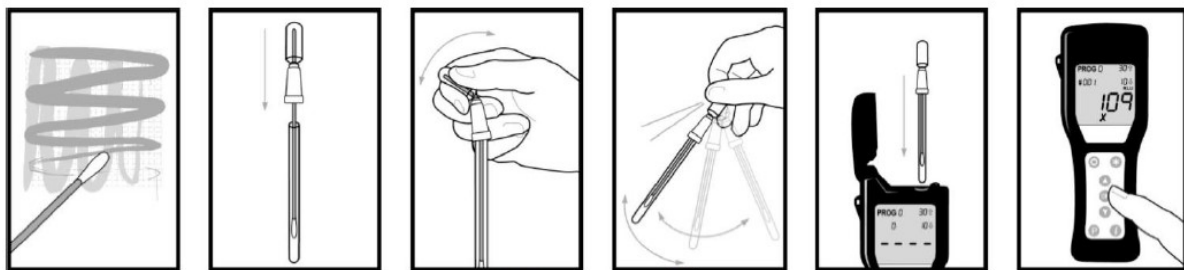


Figure 4. Basis of adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence method (Anonymous, 2020)

In their study comparing the results of ATP bioluminescence and traditional hygiene determination methods in order to identify surface cleanliness in a hospital kitchen, Ayciçek et al. (2006) found that there were more dirty surfaces than clean surfaces according to the ATP measurement results of steel meat processing bench, marble oven bench, wood meat processing bench, oven handle and tap head. In addition, the microbiological swab technique results for steel vegetable preparation bench, plastic meat processing bench, portable meat chopping table, portable vegetable chips tray, meat grinder, crushing machine, gastronome, meat and vegetable knives concluded that the number of clean surfaces was higher than dirty surfaces. In a similar, Öz and Özgen Arun (2019) performed tests on surfaces experimentally contaminated with different microorganisms by utilising ATP bioluminescence method and classical swab method in parallel. Moreover, it was stated that the most reliable results were obtained from the surfaces contaminated with *Salmonella*. İpek (2017) used ATP bioluminescence and standard swab method in the ezine cheese production line to specify the effectiveness of feasibility of disinfection with new disinfectant formulas. As a result of the study, common *Bacillus* spp. impurities were determined in process areas (36.75%), *Enterobacteriaceae* (25.64%) and *Pseudomonas* (23.93%) species.

The use of ATP bioluminescence technique is not also recommended in hygiene and sanitation practices at premises where dry cleaning methods are applied and the products, such as milk powder and flour are produced as product residues cannot be completely removed. The use of ATP bioluminescence technique is not recommended in hygiene and sanitation practices due to the adsorption possibility of sea-borne light-emitting bacteria in food premises that process fish and fish products. Ünlütürk and Turantaş (1999) urge that bioluminescence feature is found in lightning bugs, marine bacterium, some marine species and freshwater fish in the nature.

Use of swab methods in personnel hygiene and business sanitation monitoring

Hygiene is defined to be a science covering knowledge and applications required for the protection of health at every stage of human life and for ensuring the sustainability of the environment and human health. Personnel hygiene is described as keeping the body clean and all protective measures taken against the factors causing diseases. Personnel hygiene and health of individuals working in food premises affect food safety directly. For this reason, the personnel working in food premises must know and implement personnel hygiene rules and must have basic knowledge level regarding sanitation and kitchen at every stage where food is brought to our kitchen (Gürpınar et al., 2020).

Personnel hygiene is of paramount importance in ensuring ideal hygiene conditions at food premises, and the personnel working at food premises are one of the most important contamination causes. This type of personal illness, carelessness and negligence, is infecting and infecting other personality and plays the most important role in cross-contamination (Nerín et al., 2016). When evaluating individuals in terms of personal hygiene, there are differences between microbial loads on hands. In addition, there are natural differences due to skin flora, age, gender and geographical regions where lived in, physical and biological features of the skin area (Gürpınar et al., 2020).

Fields of administration

In the study carried out by Fida and Ağaoğlu (2004), in which they specified 20 restaurants as pilot in the region of Ağrı and examined these restaurants in terms of tool-equipment, environmental and personnel hygiene, they used the cotton swab method in taking samples from tool-equipment and other surfaces. As a result of the microbiological analyses, the samples received from the hands of the cook, working at the restaurants controlled, resulted in the primary sources of contamination, and general hygienic conditions of the restaurants examined in this study were not good.

In a thin sheet of dough plant, hands of personnel working in production and packaging were examined in terms of coliform bacteria and *Staphylococcus aureus* by utilising the swab-rubbing technique. Swabs soaked in sterile physiological saline were brought into contact with a surface of 5x5 cm for 20 seconds on the right-hand palm of the personnel, and the swabs were brought to the laboratory. Examination was made on suitable media for microorganisms. Accordingly, the number of coliform bacteria and *S. aureus* on the hand samples of the personnel working at the thin sheet of dough rolling section of all three facilities were found to be higher than the hand samples of the packaging personnel (Arda and Aydın, 2011). In the study (Dümenet al., 2019), 5 located in different geographical regions of Turkey and operates as a franchise under the same brand name 100 bakery business, has visited over 12 months. Visit him, he received a total of 6 swabs from a business, 3 from food contact surfaces and 3 from tools and equipment used in food production and sales. These swab samples were then examined regarding the parameters of total mesophilic aerobic

bacteria, coliform bacteria, *Escherichia coli* and *S. aureus*. The results showed that while the Marmara region had the lowest microbiological load, the Central Anatolia Region had the highest microbiological load.

Aydoğan (2016) identified Astrovirus (AsV), Norovirus (NoV) and Rotavirus (RoV), which are ranked among the most important factors of viral gastroenteritis cases, in the swab samples taken from the hands (palm, upper hand, fingers and fingernails) of 47 personnel working in the production department of 5 different milk and dairy products in Burdur City Center and Bucak District. At the end of the study, AsV, NoV and RoV virus antigens were not found in examined hand swab samples.

Swab samples were taken by sterile swab sticks from bench, cutting board, refrigerator handle, tap, dry storage shelf and serving spoons in 32 different meal preparation departments providing feeding programs to primary and secondary schools in Mpumalanga, Africa. In these swab samples, aerobic colony count, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, *S. aureus* and *Listeria monocytogenes* identifications were performed. When the results were assessed in accordance with South African Government Regulation 962, it was found that bench top and dry storage areas had the worst results and that most of the food contact surfaces had insufficient hygiene conditions (Sibanyoni and Tabit, 2019).

Erkoç (2019) carried out a total viable bacteria count by taking swabs from vegetable and all surfaces, equipment and hand of personnel that vegetable contacted for each stage of vegetable until they are bought by consumers. For total bacteria count, culture was received from the vegetable to be tested under sterile conditions by touching the cotton tip of the swab, and then a measurement with a luminometer was performed. When evaluated regarding the total number of viable bacteria, the highest number of bacteria was found in the carrot vegetable during the service stage.

Various diseases may occur due to the transfer of microorganisms from the surfaces contaminated with pathogenic microorganisms to the body by hands. In this regard, in the study conducted in the province of İzmir, a total of 100 samples were taken from shopping carts in 20 different markets, and total viable count and *E. coli* analyses were performed. The total viable count on push arms of the shopping carts was determined to be in the range of 0,82-4,88 log kob/10 cm². No coliform and *E. coli* was detected. Therefore, it was reported that high number of microorganisms on the shopping carts may pose a risk for public health, and proper cleaning and disinfection operations should be specified and applied for shopping carts (Gündüz et al., 2019).

Tümer (2014) argued that he specified the effectiveness of the steam disinfection device used in surface cleaning and disinfection in kitchens that provide catering services by counting the breeding colonies after receiving microbial swab samples from different parts of kitchen surfaces, such as meat bench, vegetable cutting, floor, door handle and napkin box and 25 cm² area by damp rod for colony counting (*E. Coli* and *Acinitobacter Baumanni*) before and after the procedure. It was reported that when comparing microbial colony count after steam cleaning-disinfection, a significant decrease was achieved excluding meat bench. No difference was found on meat bench regarding colony examination before and after the cleaning.

In order to determine the qualification of hygiene training at cafeterias, Adenosine Triphosphate Bioluminescence Test (ATPBT) was performed by receiving samples from kitchen surfaces, kitchen tools and hand surfaces of personnel by means of swab before and after training periods. After providing a hygiene training, a decrease was observed in median values of ATPBT

scores regarding the surfaces of work benches, dining tables and tool-equipment. Knowledge level of the personnel should be increased to prevent foodborne diseases (FBD). In addition to these, this knowledge should also be put into practice. It was reported that the hygiene awareness of the personnel would be increased more by the measurability of the effectiveness of hygiene training and practices (Dere, 2018).

In the study in which ten different areas of cheese making rooms of 16 factories, including five food contact surfaces and five non-food contact surfaces, were sampled before and after food safety or sanitation training, samples were taken by swab for microbiological analyses. The designated area was sampled with the swab using two perpendicular sequences of “S” strokes, followed by a third diagonal streak, always with rotation of the swab to ensure contact of all parts of the swab surface. It was reported that these swabs were used in ATP bioluminescence method and microbiological examination. Surfaces and drainages were determined to be the areas with the highest microbial load at the end of analyses. It was also expressed that *Listeria* spp. was identified in 5 samples before training and in 3 samples after training at all factories, and no more than one sampling site was found to be positive at any factory, and the same sampling area was identified to be positive only at one factory both before and after training (Machado and Cutter, 2016).

In yoghurt production, samples were received from hands of personnel and surfaces by swab method for HACCP practices, and the steps of raw milk, pasteurization, yeasting, filtering and storage process were labelled to be critical control points (Karabıyık, 2006). 2 different swab samples were received from an area bounded by a sterile frame with an internal area of 15 cm² in order to sample the cutting boards and knife handles in food processing areas at university canteens. In the first swab, sterile cotton swabs to be used for counting of total coliform *E. coli*, *Enterobacteriaceae*, *S. aureus* and sulphite-reducing anaerobic bacteria were soaked with maximum recovery dilution agent containing 0.05% Sodium thiosulfate and then were applied on the surfaces of knives and cutting boards for 3 times in 3 directions. In addition, the second swab was taken directly into sterile tubes containing 10 ml half fraser broth and used for the pre-enrichment phase (Pamuk et al., 2018).

Aksu et al. (2017) reported that they used sterile swabs, which were moistened by sterile 1/4 Ringer's solution before sampling and then wiped on specified surfaces and finally transferred to a test tube containing sterile 10 mL 1/4 Ringer's solution, when taking samples from the food contact surfaces of hypermarkets for microbiological analysis. For taking samples from the hands of the personnel working at the food section and contacting with food, the sterile swab sticks moistened with 1/4 Ringer's solution were wiped on the 10 cm² area of the hands of personnel in perpendicular direction for 20 seconds. In the study investigated the number of *E. coli* and *S. aureus* on the hand samples and the number of total aerobic mesophilic bacteria (TMVB) and coliform bacteria on the samples taken from food contact surfaces, it was indicated that food hygiene, good manufacturing practices and HACCP system had to be followed in the food preparation and sales sections of the hypermarkets (Aksu et al., 2017).

In the study carried out by Yalçın (2018) in which Total Mesophilic Viable Bacteria (TMCB) and Enterobacteriaceae number of carcasses before and after cooling was specified by taking samples from a total surface of 400 cm² by sponge swab technique, it was concluded that there were mistakes related to hygiene during the cutting process in the slaughterhouse according to the values determined before cooling while the values specified after cooling suggested that there was a contamination caused by cold storage room, personnel and/or tool-equipment. It was also identified

in the same study that *Salmonella* spp., which should not be detected on lamb carcasses according to the Turkish Food Codex Microbiological Criteria Communiqué, was found on 3 carcasses before cooling and on a different carcass after cooling.

In another study, total aerobic mesophilic viable bacteria, coliform and fecal coliform bacteria, *S. aureus* and mould-yeast were counted, respectively by utilising the swab samples taken from the hands and clothes of the personnel working in hospital kitchens, which were considered to be contamination source during the preparation of food in hospital kitchens (Ünal and Özmen Togay, 2017). In the study in which a food poisoning occurred at a hospital cafeteria was examined, *B. cereus* reproduction was identified in the samples of bread board, robot switch button and oven opening lever and *B. cereus* was specified to be the cause of the epidemic as a result of microbiological analysis of swab samples taken from the kitchen environment. The contamination occurred during the consumption of salad with cross-contamination since the raw vegetables used in the salad were not washed adequately or the preparation areas and materials in the kitchen were not cleaned sufficiently (Terzi et al., 2018).

In another study to which 50 students enrolled in the department of Gastronomy and Culinary Arts participated, it was reported that the swab samples were received from hand before hand washing and after proper hand washing, and swab examinations were performed on Plate Count Agar (PCA) medium to count total aerobic bacteria. The study concluded that there was a decrease of 99% and above in the initial load of 41 students, 85-75% in 4 students, and 50% and below in 5 students. It was also argued that the awareness of these students, who would work at food and beverage services business, was raised regarding that they were the sources of cross-contamination and having information and implementing correct hand washing techniques (Gürpınar et al., 2020).

In the study performed by Kocatepe et al. (2011), in which they took samples by cotton swab method from three different fishing benches for microbiological control (from the shelf on which silver hake would be sold when fishing benches were clean in the morning and on the evening when the benches were not cleaned), they reported that they obtained the best results from the bench with nine sections, smooth floor, rounded corners, bottom cooling and sufficient slope for water drainage and made of stainless steel.

Hareket (2019) stated that samples were taken from extraction unit, extraction tank, filling tank and three filling units, used in the manufacturing of orange juice, before and after CIP in order to examine regarding the yeast, total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) and lactic acid bacteria (LAB) parameters, and then yeasts in the environment were identified by molecular methods according to the findings obtained, and finally the microflora of the yeasts that were effective on the shelf life and quality of orange juices and spoil the freshly squeezed orange juice in the production and filling lines were determined.

CONCLUSION

Correct selection of tools and equipment to be used for healthy food production in the production area and hygienically valuable. At this point, various methods are used to detect personnel hygiene and business sanitation. It is important that the tools and equipment chosen for healthy food production in the production area are selected correctly and used hygienically. Swab method is a practical analysis method used in the detection of microorganisms regarding personnel hygiene and sanitation, surface control, environments and food. In our study, the application of swab method, which is one of the practical and widely used methods in the detection of

microorganisms related to personnel hygiene and sanitation, surface control, environments and food, has been discussed. At the same time, the traditional use of swab and ATP bioluminescence method were examined in detail in our study. In general, the use of ATP bioluminescence technique is recommended to give fast and reliable results, but it is not recommended for hygiene and sanitation use of ATP bioluminescence technique, except for product residues, in enterprises where drycleaning methods are applied, such as milk powder and flour. At this point, new swab analysis methods should be developed by taking these problems into consideration. In the swab analysis, it was emphasized that the swab material also affects the analysis sensitivity and the appropriate swab material should be used for appropriate analysis.

Briefly, with the swab method for the determination of personnel hygiene and facility sanitation, Total coliform bacteria, total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), sulphite-reducing anaerobic bacteria, lactic acid bacteria (LAB), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, aerobic colony count, *Escherichia coli* O157 : H7, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Acinetobacter Baumanni*, Enterobacteriaceae, *B. cereus*, Astrovirus (AsV), Norovirus (NoV) and Rotavirus (RoV) have been detected in the literature review.

REFERENCES

- Anonymous (2021a). <https://thedailychronicle.in/tag/global-medical-swab-market-analysis/>. (10.01.2021)
- Anonymous (2021b). <https://www.kemitekskimya.com.tr/Product/Detail/17996/sunger-swab#.YAKeK14zbIV>. (16.01.2021)
- Anonymous. (2020). https://www.kemitekskimya.com.tr/Product/Detail/20548/ultrasnap-surface_atp#.YAKf2F4zbIV, (13.03.2020).
- Arda, Ş., Aydın, A. (2011). A study on the relationship of thin sheet of dough microbiological quality between quality of raw material and some hygiene parameters. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University*. 37(2), 135-147.
- Aksu, F.Y., Altunatmaz, S.S., Uran, H., Altiner, D.D. (2017). The level of hand hygiene of sales staff and microbiological properties of food contact surfaces in the hypermarkets. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University*, 14(1), 17-23.
- Aycicek, H., Oguz, U., Karci, K. (2006). Comparison of results of ATP bioluminescence and traditional hygiene swabbing methods for the determination of surface cleanliness at a hospital kitchen. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 209(2), 203-206.
- Aydoğan, H. (2016). Investigation of Astrovirus, Norovirus and Rotavirus among employees of dairy plants. M.Sc. Thesis in Mehmet Akif Ersoy University Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Food Engineering, Burdur, Turkey, 46 p.
- Căpriță, A., & Căpriță, R. (2005). Applications of biochemiluminescence in quality assurance of food products. *Agroalimentary Processes and Technologies*, 11(1), 161-172.
- CaPuto, P., FERri, E. N., Girotti, S., Gozzi, S., & SaraCiNo, P. (2011). Application of luminescent ATP rapid checks at ready-to-eat foods producing plant. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(4), 382-390.
- Chollet, R., Ribault, S. (2012). Use of ATP bioluminescence for rapid detection and enumeration of contaminants: the milliflex rapid microbiology detection and enumeration system. In *Bioluminescence-Recent Advances in Oceanic Measurements and Laboratory Applications*. IntechOpen.
- Dere, H. (2018). The influence of hygiene education on the hygiene status of foodhandlers in catering systems. Post Graduate Thesis. *Başkent University, Institute of Health Sciences, Nutrition and Dietetics*. 91 p.
- Dümen, E., Çetin, Ö., Sezgin, F.H. (2009). Unlu mamül işletmelerinde temas yüzeylerinin ve aletlerin mikrobiyolojik kirliliğinin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 39(3-4), 108-114.
- Erkoç, Ö. (2019). Microbiological Assessment of Some Raw Eaten Salad Vegetables. *Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences, Nutritional Sciences Master's Degree Thesis*, Ankara, Turkey, 60 p.
- Fidan, F., Ağaoğlu, S. (2004). The Investigation of Hygiene Status of Restaurants in Ağrı Region. *The Journal of The Faculty of Veterinary Medicine University of Yuzuncu Yil*, 15(1-2), 107-114.
- Gündüz, G.T., Akgül, Ö., Demir, Ş.B. (2019). Investigation of Microbiological Status of Shopping Carts. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*, 7(8), 1132-1137.

- Gürpınar, S., Ağan C., Özer Ç. (2020). Gastronomi Ve Mutfak Sanatları Öğrencilerinin El Hijyen Uygulamaları: İstinye Üniversitesi Örneği, *Turizm Ekonomi ve İşletme Araştırmaları Dergisi*, 2(1), 5-17.
- Hareket, S.A. (2019). Study on determination of yeast causing deterioration in orange juice production line. MSc Thesis. *Cukurova University, Institute of Science Department of Food Engineering*. Adana, Turkey, 63 p.
- İpek, D. (2017). Applicability of Ezine cheese process lines disinfection by new disinfectant formulas: antibiofilm-antiquorum sensing agents. *Doctoral Dissertation in Food Science, Çanakkale Onsekiz Mart University Graduate School of Natural and Applied Sciences*. Çanakkale, Turkey. 166 p.
- Jansson, L., Akel, Y., Eriksson, R., Lavander, M., Hedman, J. (2020). Impact of swab material on microbial surface sampling. *Journal of Microbiological Methods*, 176, 106006.
- Karabıyık, S. (2006). Defining the microbiological critic control points in manufacturing of strained yoghurt. MSc Thesis. *Selçuk University Graduate School of Naturel and Applied Siences Department of Food Engineering*, Konya, Turkey, 63 p.
- Kocatepe, D., Taşkaya, G., Kaya, Y., Turan, H., Erkoyuncu, İ. (2011). Farklı balıkçı tezgâhlarının mikrobiyolojik yönden incelenmesi. *Research Journal of Biology Sciences*, 4(2), 73-77.
- Larson, E. L., Aiello, A. E., Gomez-Duarte, C., Lin, S. X., Lee, L., Della-Latta, P., & Lindhardt, C. (2003). Bioluminescence ATP monitoring as a surrogate marker for microbial load on hands and surfaces in the home. *Food microbiology*, 20(6), 735-739.
- Luo, J., Liu, X., Tian, Q., Yue, W., Zeng, J., Chen, G., & Cai, X. (2009). Disposable bioluminescence-based biosensor for detection of bacterial count in food. *Analytical biochemistry*, 394(1), 1-6.
- Machado, R.A., Cutter, C.N. (2017). Sanitation indicators as a tool to evaluate a food safety and sanitation training program for farmstead cheese processors. *Food Control*, 78, 264-269.
- Nerín, C., Aznar, M., Carrizo, D. (2016). Food contamination during food process. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 63-68.
- Sibanyoni, J.J., Tabit, F.T. (2019). An assessment of the hygiene status and incidence of foodborne pathogens on food contact surfaces in the food preparation facilities of schools. *Food Control*, 98, 94-99.
- Triva, D. (2019). *U.S. Patent No. 10,517,575*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Tümer, G. (2014). Buharlı Dezenfeksiyon Cihazının Mutfak Yüzeylerinin Temizliği ve Sanitasyonu Üzerine Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 42(1), 37-42.
- Ünal, M. M., Özmen Toğay, S. (2017). Determination of hygienic condition in surface samples and hygiene awareness of working personnel of hospital kitchens in Istanbul. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 74(4), 307-320.
- Ünlütürk, A., Turantaş, F. (1999). *Gıda Mikrobiyolojisi. İkinci Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir*. 598 s.
- Öz, P., & Arun, Ö. Ö. (2019). Evaluating the performance of ATP bioluminescence method by comparison with classical cultural method. *Food and Health*, 5(2), 77-82.
- Pamuk, Ş., Erdoğan, M., Yıldırım, Y., Hızlısoy, H., Serhat, A. L., Sepin, Ö. (2018). Üniversite kampüs kantinlerindeki gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin ve gıda çalışanlarının el hijyen durumlarının değerlendirilmesi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 11(4), 363-373.
- Terzi, Ö., Özdemir, Ş., Selçuk, M. Y. (2018). Bir Hastane Yemekhanesinde Yaşanan Gıda Zehirlenmesinin İncelenmesi. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 280.
- Yalçın, Y. (2018). Determination of the effect of cooling on the microbiological quality of lamb carcasses. *Adnan Menderes University, Institute Of Health Sciences, Department Of Food Hygiene And Technology Master's Thesis*, 56 p.