



KESTANE KABUĞUNDAN ELDE EDİLEN POLİFENOLLERİN BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ VE ERİŞTE FORMÜLASYONUNDA KULLANIMI

Nihal Türkmen Erol*

Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 20.05.2022; Kabul / Accepted: 18.08.2022; Online baskı / Published online: 01.09.2022

Türkmen-Erol, N. (2022). Kestane kabuğundan elde edilen polifenollerin biyoerişilebilirliği ve erişte formülasyonunda kullanımı. *GIDA* (2022) 47 (5) 754-764 doi: 10.15237/ gida.GD22052

Türkmen-Erol, N. (2022). Bioaccessibility of polyphenols from chestnut peel and their use in noodle formulation. GIDA (2022) 47 (5) 754-764 doi: 10.15237/ gida.GD22052

ÖZ

Bu çalışmada, atık kestane kabuğundan su ile elde edilen ekstraktın, toplam polifenol (TP) miktarı, bireysel fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesi (AK) ile antioksidanların ve polifenollerin in-vitro biyoerişilebilirliği incelenmiştir. Ayrıca, kestane kabuğu ekstraktının erişte üretimindeki potansiyel kullanımı da araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda kestane kabuğunda HPLC ile gallik asit ve ellajik asit tespit edilmiş; gallik asit miktarı (33.55 mg/g KM), ellajik aside (12.70 mg/g KM) göre daha yüksek bulunmuştur. Kabukların TP içeriği ve AK'sı sırasıyla 172.67 mg gallik asit eşdeğeri/g KM ve 174319.64 mmol askorbik asit eşdeğeri /100 g KM olarak saptanmıştır. Kabuk polifenollerinin biyoerişilebilirliği en fazla gastrik aşama sonrasında gözlenmiş, en düşük AK ise intestinal aşama sonrasında tespit edilmiştir. Erişte hamuruna, kabuk ekstraktının %1.0 oranında ilave edilmesi, son ürünün TP ve AK' sını, kabuk ekstraktı içermeyen erişteye (kontrol) göre sırasıyla %89.36 ve %102.66 oranında artırmıştır. Bu çalışma, kestane kabuğunun önemli bir polifenol kaynağı olarak, gıdaların zenginleştirilmesi amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kestane kabuğu, polifenol, in-vitro sindirim, erişte

BIOACCESSIBILITY OF POLYPHENOLS FROM CHESTNUT PEEL AND THEIR USE IN NOODLE FORMULATION

ABSTRACT

In this study, total polyphenol (TP) content, individual phenolics, antioxidant capacity (AC) and in-vitro digestion of antioxidants and polyphenols of the extract obtained from chestnut peel with water were investigated. In addition, the potential use of chestnut peel extract in noodle production was investigated. The results showed that gallic and ellagic acids were determined by HPLC; gallic acid content (33.55 mg/g DM) of chestnut peel was found higher than ellagic acid (12.70 mg/g DM). TP and AC of chestnut peel were 172.67 mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry matter (DM) and 174319.64 mmol ascorbic acid equivalent (AAE)/100 g DM, respectively. The highest bioaccessibility of peel polyphenols was observed after the gastric stage. The lowest AC in the peel extract was detected after the intestinal stage. The addition of the peel extract (1.0%) to the noodle dough increased the TP (89.36%) and AC (102.66%) of the final product compared to the noodle without the peel extract (control). Therefore, this study showed that chestnut peel, as an important source of polyphenols, may be useful for food enrichment.

Keywords: Chestnut peel, polyphenol, in-vitro digestion, noodle

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding Author

✉: nihalt@uludag.edu.tr

☎: (+90) 224 294 0000/41565,

☎: (+90) 224 294 1402

Nihal Türkmen Erol; ORCID no: 0000-0002-5682-0177

GİRİŞ

Gıda sanayinde hammadde olarak kullanılan kestane meyvesinin (*Castanea sativa*) işlenmesi sonucunda; sert dış kabuk (ağırlığının %8.9–13.5'i) ve iç zar (ağırlığının %6.3–10.1'i) olmak üzere önemli miktarda atık ortaya çıkmakta ve bu atıklar genellikle hayvansal gübre ve yakıt olarak değerlendirilmektedir (Vázquez vd., 2012; Fernández-Agulló vd., 2014; Lee vd., 2016). Çevresel faktörler ve ekonomik nedenlerle son yıllarda bu atıkların değerlendirilerek faydalı çıktılara dönüştürülmesi yönündeki çalışmalar giderek artmıştır. Literatürde kestane kabuğu ile ilgili yapılan çalışmalar yetersiz olmakla birlikte, son yıllarda yapılan bazı çalışmalar, kestane kabuğu özellikle de iç zarının biyoaktif bileşiklerden olan polifenollerini fazla miktarda içerdiğini ortaya koymuştur (Obiang-Obounou ve Ryu, 2013; Youn vd., 2016). Bununla ilişkili olarak, kestane kabuğu ekstraktının antimikrobiyal (Fernández-Agulló vd., 2014; Zhan vd., 2014; Lee vd., 2016), antioksidan (Tsujiya vd., 2011; Ham vd., 2015) ve antikanser (Jung vd., 2016) etkilerinin olduğu da belirtilmektedir.

Fenolik bileşikler kuvvetli antioksidan aktiviteye sahip olmasına rağmen, biyoaktiviteleri biyoerişilebilirlik derecelerine bağlıdır (Wang vd., 2017). Bileşiklerin, sindirim sırasında gıdadan serbest bırakılması ve çözünür hale geçmesi biyoerişilebilirlik olarak adlandırılmakta ve bu bileşiklerin intestinal absorpsiyonu için biyoerişilebilirlik oranının yüksek olması gerekmektedir. İnsan ya da hayvan vücudundaki bir fenolik bileşiğin gerçek biyoyararlılığını değerlendirmek zor ve maliyetlidir. Bunun yerine, in-vitro gastrointestinal sindirim yöntemi, gıda maddesinden bir fenolik bileşiğin serbest bırakılması ve sindirim sistemi koşullarındaki stabilitesi hakkında bilgi edinmek için kullanılan daha basit ve hızlı bir yöntemdir. Nar kabuğu unu (Gullon vd., 2015), kakao tozu (Giltekin-Özgiyen vd., 2016), elma (Bouayed vd., 2012) ve mürver meyvesi (Pinto vd., 2017) gibi farklı materyallerle daha önce yapılan bazı çalışmalarda, fenolik bileşiklerin in-vitro gastrointestinal sindirim yöntemine göre biyoerişilebilirliği tespit edilmiş olup, literatürde kestane polifenollerinin

biyoerişilebilirliği üzerine yok denecek kadar az çalışmaya rastlanmıştır (Tu vd., 2021).

Fenolik bileşikler gibi biyoaktif maddeleri fazlaca içeren bitki ya da onların atıklarından elde edilen ekstraktların, yapay katkı maddelerine alternatif olarak ya da zenginleştirme amacıyla çeşitli gıdalarda kullanımı giderek artış göstermektedir. Amado vd. (2014), patates kabuğu atığından elde edilen ekstraktın, antioksidan aktivitesi nedeniyle soya yağında oksidasyonu önlediğini tespit etmiştir. Rashidinejad vd. (2016), yeşil çay kateşinlerinin tam yağlı süte eklenmesiyle elde edilen peynirlerde, toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan kapasitenin arttığını belirtmiştir. Benzer şekilde enginar atığı ekstraktı ile zenginleştirilen taze eriştinin, fenolik bileşik ve antioksidan aktivitesinde artış gözlenirken, tekstürel özellikleri ve pişirme parametreleri ekstrakt ilavesinden etkilenmemiştir (Pasqualone vd., 2017). Diğer taraftan kestane kabuğu ekstraktının, gıdalara fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla kullanımına yönelik literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmalar kestane kabuğu ekstraktının antimikrobiyal etkisi üzerine yoğunlaşmıştır (Zhan vd., 2014; Lee vd., 2016).

Erişte ve makarna gibi genellikle buğdayın endosperm kısmı kullanılarak üretilen basit bileşime sahip unlu mamuller, bileşiminde karbohidratlardan ağırlıklı olarak nişastayı içerdikleri için nispeten düşük besin değerine sahiptir. Dolayısıyla bu tip ürünlerin kalitesini ve fonksiyonelliğini arttırmak giderek önem kazanmaktadır. Kestane kabuğundan ekstrakte edilen polifenollerin bu açıdan iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma ile (1) kestane kabuğundan elde edilen ekstraktın TP, bireysel fenolik bileşikleri, AK ve polifenollerinin biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi (2) kestane kabuğu ekstraktının erişte üretiminde zenginleştirme amacıyla kullanılması ve (3) eriştinin TP, AK ve polifenollerini ile antioksidanlarının biyoerişilebilirliğinin saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan kestane (*C. sativa*) atık kabukları, Bursa'da kestane işleyen bir işletmeden temin edilmiştir. Kabuklar, kullanılabildiği kadar polietilen torbalarda 4 ± 2 °C de muhafaza edilmiştir. Erişte üretiminde kullanılan un ve yumurta ise yerel marketten alınmıştır. Analizlerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta veya HPLC saflığında olup, Sigma Co. (St. Louis, MO, USA) ve Merck (Darmstadt, Germany) firmalarından temin edilmiştir.

Polifenol Ekstraksiyonu

Kabuk ve erişte örneklerinden polifenol ekstraksiyonu, Turkmen vd. (2005)' na göre yapılmıştır. Buna göre, kahve öğütücüsü ile toz haline getirilen örnekler, saf su ile su banyosu (Memmert WNB 22, Almanya) kullanılarak 60 °C sıcaklıkta, 22 dk süre ile 1:40 (kabuk:solvent) oranında ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrasında karışım 10.000 rpm de 15 dk santrifüj edilmiş ve Whatman No.1 filtre kağıdından süzülür. Elde edilen berrak ekstraktlar, TP, AK, fenolik madde profili ve in-vitro biyoerişilebilirlik (mide ve bağırsak aşaması olarak) analizleri için kullanılabildiği kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Kabuktan elde edilen berrak ekstraktın bir kısmı erişte üretiminde kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Erişte Üretimi

Kestane kabuğu ekstraktı dondurularak kurutulduktan (-50 °C ve 0.1 mbar/ 0.75 mm Hg vakum altında) sonra, Collins ve Pangloli (1997) tarafından uygulanan reçete modifiye edilerek erişte üretiminde kullanılmıştır. Kabuk ekstraktı içermeyen erişteler, kontrol grubunu oluşturmuştur. İlk aşamada kuru bileşenler olan beyaz un (%64) ve kurutulmuş ekstrakt (%1) bir kaptaki karıştırılmıştır. Ardından su (%22) ve yumurta (%13) eklenmiş ve karışım, katı kıvamda bir hamur elde edilene kadar karıştırıcı (Siemens FQ.1) yardımıyla 5 dk boyunca yoğrulmuştur. Hazırlanan hamur, 5 dk daha elle yoğrulduktan sonra, eşit parçalara bölünerek bezeler hazırlanmıştır. Bezeler streç film ile sarılarak, oda sıcaklığında 20 dk dinlendirilmiştir. Sürenin sonunda hamur, merdane ve ardından hamur

inceltme makinası (Titania, Italy) kullanılarak inceltmiştir. Daha sonra, fazla nem uzaklaştırmak, dolayısıyla kesim sırasında oluşabilecek yapışmaları engellemek için oda sıcaklığında 20 dk dinlendirilmiştir. Sürenin bitiminde hamur, erişte kesme makinesiyi iki aşamada 0.4 x 3 cm ebatlarındaki şeritler halinde kesilmiştir. Yaş erişteler tepsilere ince tabaka halinde yayılarak, oda sıcaklığında, nem içeriği %8-9'a düşene kadar kurutulmuştur. Kuru erişteler, -20 °C'de polietilen poşetler içinde, analiz edilene kadar muhafaza edilmiştir.

Folin-Ciocalteu Ayırıcı ile Toplam Polifenol (TP) Tayini

Örneklerin TP içeriği, ISO 14502-1:2005 yöntemi kullanılarak saptanmıştır. 0.5 mL ekstrakt, 2.5 mL Folin-Ciocalteu (%10'luk, v/v) reaktifi ile karıştırılmış, 5 dk sonra üzerine 2 mL sodyum karbonat çözeltisi (%7.5) ilave edilmiştir. Elde edilen karışım, 60 dk karanlıkta bekletildikten sonra oluşan mavi rengin absorbansı spektrofotometrede (Shimadzu UV-VIS 1208) 765 nm'de köre karşı okunmuştur. Bu analiz için, kör çözelti olarak, ekstrakt yerine saf su kullanılmıştır. Sonuçlar, stok standart gallik asit çözeltisinin farklı konsantrasyonları (0-50 ppm; $R^2=0.99$) ile elde edilmiş olan kalibrasyon eğrisinin regresyon eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmış ve mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru madde (KM) olarak ifade edilmiştir.

Kabuk Ekstraktı Fenolik Bileşiklerinin HPLC ile Belirlenmesi

Kabuk ekstraktı örnekleri, 0.45 µm'lik membran filtreden süzülür ve filtrat HPLC (Perkin Elmer, Flexar model) kolonuna enjekte edilmiştir. Ekstrakttaki bireysel fenolik bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının saptanması LC-20 AD Shimadzu pompa, CTO-10 ASVP kolon fırını ve SPD-M20A photo diode array (PDA) dedektöre sahip bir HPLC sistemi ile 25 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Kolon olarak C18 ters faz kolonu (250 × 4.6 mm ID, 5µm) kullanılmıştır. Pik alanları, 270 nm dalga boyunda hesaplanmıştır. Mobil faz olarak ortofosforik asit (%0.1) (A) ve asetonitril (B) kullanılmıştır. Elusyon profili 0-6 dk, %7 B; 6-82 dk, %7-38 B; 82-90 dk, %38-60 B olarak uygulanmıştır. Bir

sonraki enjeksiyondan önce kolonun 5 dk içinde başlangıç koşullarına tekrar gelmesi sağlanmıştır. Akış oranı 1.0 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 20 µL olarak uygulanmıştır.

Örneklerdeki fenolik bileşiklerin tanımlanması, bileşiklerin kolondaki alıkonma süresi ve UV-spektrumlarının ilgili standart maddelere ait süre ve spektrumlarla karşılaştırılmasıyla yapılmıştır. Fenolik bileşiklere ait piklerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanması, bileşiklerin maksimum absorbanis değeri verdiği dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin miktarlarının tespit edilmesinde bileşiklere ait HPLC kromatogramlarından elde edilmiş integre alanlar ve standart maddelerin ara stok çözeltileri ile hazırlanmış kalibrasyon eğrilerinden yararlanılmıştır.

Antioksidan Kapasite (AK)

Örneklerin AK'sı, Türkmen Erol vd. (2009) yöntemine göre yapılmıştır. 50 µL ekstrakt, metanolde hazırlanmış 1950 µL DPPH radikali (6×10^{-5} M) ile karıştırılmıştır. Kontrol örneğinde, ekstrakt yerine saf su kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı kuvvetlice karıştırıldıktan sonra, karanlıkta 25 °C'de 60 dk bekletilmiştir. Sürenin bitiminde karışımın ve kontrol örneğinin absorbanisi, spektrofotometrede 517 nm'de metanole karşı okunmuştur. Antioksidan kapasite (%), AK), aşağıdaki eşitlikten (Eşitlik 1) yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$AK (\%) = \frac{Abs_{Kontrol} - Abs_{örnek}}{Abs_{Kontrol}} \times 100 \quad (1)$$

Abs kontrol : Örnek içermeyen DPPH çözeltisinin absorbanisi,

Abs örnek : Örnek içeren DPPH çözeltisinin absorbanisi

Aynı koşullar altında referans antioksidan olarak askorbik asit çözeltisinin 0-150 µg/mL aralığındaki farklı konsantrasyonları ile bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Örneklerin AK'sı askorbik asit eşdeğerine dönüştürülerek g askorbik asit eşdeğeri (AAE)/100 g KM olarak belirlenmiştir.

In-vitro Sindirim (Biyoerişilebilirlik) Tayini

In-vitro sindirim yöntemi, ekstrakt örneklerinin antioksidan ve fenolik bileşiklerinin biyoerişilebilirliğini değerlendirmek amacıyla,

Minckus vd. (2014) yöntemine göre, gastrik ve intestinal sindirim olmak üzere 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. Yöntem kısaca aşağıdaki gibi uygulanmıştır:

Gastrik aşama:

10 mL ekstrakt, 7.5 mL mide sıvısı, 1.6 mL stok pepsin çözeltisi (mide sıvısı ile hazırlanmış, 25000 U/mL; pepsinin aktivitesi 3200- 4500 U/mg protein), 5 µL 0.3 M CaCl₂, 0.2 mL 1M HCl (pH'yi 3'e ayarlamak için) ve 0.695 µL su ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışımın enzim aktivitesi 2000 U/mL olmuştur. Karışım daha sonra 37 °C'de çalkalamalı su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ekstrakt dışında solvent olarak kullanılan saf su ve aynı kimyasallar kullanılarak aynı koşullar altında kör örnek hazırlanmıştır.

Bağırsak aşaması:

10 mL gastrik kısım, 5.5 mL bağırsak sıvısı, 2.5 mL stok tripsin bazlı pankreatin çözeltisi (bağırsak sıvısı ile hazırlanmış, 800 U/mL; pankreatinin aktivitesi 100 USP U/mg protein), 1.25 mL 160 mM safra, 20 µL 0.3 M CaCl₂, 0.075 mL 1M NaOH (pH'yi 7'ye ayarlamak için) ve 0.655 mL su ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışımın enzim aktivitesi 100 U/mL olmuştur. Karışım daha sonra 37 °C'de çalkalamalı su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ekstrakt dışında solvent olarak kullanılan saf su ve aynı kimyasallar aynı koşullar altında kullanılarak kör örnek hazırlanmıştır.

Son olarak, gastrik ve intestinal sindirim sonrası karışımlar 12000 x g'de 4 °C'de 10 dk santrifüj edildikten sonra, Whatman No:1 ile filtre edilmiş ve TP ve AK analizleri için -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Her iki aşama için (mide ve bağırsak); antioksidanların ve fenolik bileşiklerin miktarı spektrofotometre ile belirlendikten sonra, bileşiklerin biyoerişilebilirliği (%) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır (Eşitlik 2).

$$Biyoerişilebilirlik (\%) = (K_{sindirilmiş} / K_{sindirilmemiş}) \times 100 \quad (2)$$

K sindirilmiş: Mide/bağırsak aşamasından sonraki konsantrasyon (mg)

K sindirilmemiş: Sindirilmemiş örnekteki konsantrasyon (mg)

İstatistiksel Analiz

İstatistik analizleri SPSS (SPSS statistics 23, IBM.2015) programı ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, 3 tekrarlı ölçümlerin ortalaması \pm standart sapma olarak verilmiştir. Elde edilen verilere, tek yönlü ANOVA kullanılarak varyans analizleri uygulanmıştır. Ortalamalar arasındaki önemli farklılıklar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

İn-vitro Sindirimin Kestane Kabuğu Ekstraktının TP ve AK Üzerine Etkisi

Kestane kabuğu ekstraktının başlangıç ve sindirim sonrasındaki TP (43.97-172.67 mg GAE/g KM) ve AK (29856.46-174319.64 mmol AAE/100 g KM) değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Vella vd. (2018) ile Jung vd. (2016) kestane kabuğunun TP miktarını sırasıyla 2.38-17.68 mg GAE/g KM ve 11.53-53.30 mg GAE/g KM aralığında bulmuşlardır. Diğer taraftan, farklı çeşitte kestanelere ait kabuklarda yapılan bir çalışmada, iç zarda bu çalışmadan daha yüksek (212.82-337.33 mg GAE/g kuru ağırlık-KA) düzeyde TP saptanmıştır (Vella vd., 2019). Çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıkların, analiz yöntemi, ekstraksiyon koşulları ve kestane çeşidinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kestane kabuğunda, bitkisel atıklar üzerine daha önce yapılan bazı çalışmalarda bulunan değerlerden daha fazla miktarda TP (172.67 mg GAE/g KM) tespit edilmiştir. Bu değer, ayçekirdeği küspesinde 7.51-18.51 mg GAE/g KA (Zardo vd., 2019), fındık kabuğunda en fazla 9.18 mg GAE/g kabuk (Stevigny vd., 2007) ve patates kabuğunda en fazla 1.13 mg GAE/g KA (Amado vd., 2014) şeklinde tespit edilmiştir. Bu durum, kestane kabuğunun iyi bir polifenol kaynağı olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma ile kabuk ekstraktında tespit edilen AK değerinin (174319.64 mmol AAE/100 g KM) literatür değerleriyle karşılaştırılması mümkün olamamıştır. Bu durum, çalışmalarda kullanılan aynı antioksidan yönteminin modifiye edilerek uygulanmasından ve sonuçların farklı birimler üzerinden ifade edilmesinden kaynaklanmaktadır. Kestane kabuğu da dahil olmak üzere bitkisel atıklara ilişkin daha önce yapılan çalışmalara göre; kestane kabuğunda 3.24 mmol Trolox eşdeğeri-

TE/g ekstrakt (Vázquez vd., 2012) ve 854.47-1004.98 μ M TE/g KA (Bertolino vd., 2015), enginar atıklarında 2077- 5214 μ mol TE/kg taze ağırlık (Punzi vd., 2014) ve fındık zarında 309 - 1375 μ mol TE/g zar (Taş ve Gökmen, 2015) AK tespit edilmiştir.

Kabuk ekstraktının TP ve AK değerleri, sindirim sonrasında benzer bir eğilim göstermiş olup, her ikisi de başlangıç değerlerine göre önemli düzeyde azalmıştır ($P < 0.05$) (Çizelge 1). TP ve AK değerlerinde en fazla düşüş, intestinal aşamada tespit edilmiştir. Polifenollerin biyoerişilebilirliği gastrik ve intestinal aşamada sırasıyla %49.95 ve %25.47 olarak belirlenmiştir. Bu durum, intestinal sindirim sırasındaki alkali ortamdan dolayı, polifenollerin stabilitesinin daha düşük olmasıyla ilişkilendirilmektedir (Fawole ve Opara, 2016). TP ve dolayısıyla AK'nın, gastrointestinal sindirim sonrasında azalması, daha önce farklı gıdalarla yapılan çalışmalarda da ortaya konmuştur. Bouayed vd. (2012), ortalama 44.42 mg/100 g taze ağırlık düzeyinde TP içeren dört farklı elma çeşidinin gastrik aşama sonrası TP içeriğinin 35.95 mg/100 g taze ağırlığa, pankreatik aşama sonrası ise 21.84 mg/100 g taze ağırlığa düştüğünü belirtmişlerdir. Benzer şekilde, on farklı ceviz çeşidinin TP ve AK değerleri in-vitro sindirim sonrasında, başlangıç değerlerine göre sırasıyla ortalama %74.1 ve %77 oranında azalmıştır (Figueroa vd., 2016). Söz konusu azalış biyoalınabilirlik düzeylerine de yansımıştır ($P < 0.05$). Ancak, bu sonuçlardan farklı olarak, Wang vd. (2017), in-vitro sindirimin üzüm posasının TP ve AK üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, gastrik aşama sonrasında, TP ve AK'nın sindirim öncesi değerlerine göre değişmediğini, intestinal aşama sonrasında ise azaldığını bildirmiştir. Nar ürünleri ve atıkları ile yapılan bir çalışmanın sonucuna göre de, başlangıç TP ve AK değerleri in-vitro sindirim sonrasında, materyale ve ekstraksiyonda kullanılan çözeltilere göre farklı eğilimler göstermiştir. Her iki aşama sonunda TP içeriklerinde, azalma veya artış görülürken, AK değerlerinde, gastrik aşama sonunda azalma, intestinal aşama sonunda ise artış gözlenmiştir (Fawole ve Opara, 2016). Sonuçlar arasındaki bu farklılıkların, çalışılan materyallerin yapısının ve in-vitro sindirim koşullarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 1. Kestane kabuğunun TP miktarı, AK ve biyoerişilebilirliği
Table 1. TP content, AC and bioaccessibility of chestnut peel

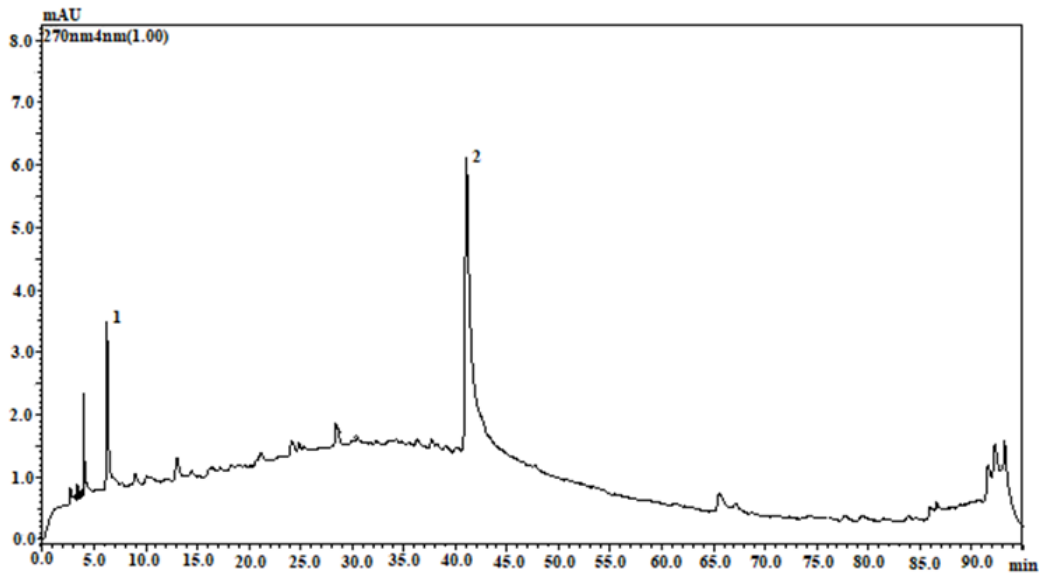
	Sindirim basamağı (<i>Digestion stage</i>)		
	Başlangıç (<i>Initial</i>)	Gastrik (<i>Gastric</i>)	İntestinal (<i>Intestinal</i>)
TP (mg GAE/g KM)	172.67 ± 1.33 ^{c*}	86.25 ± 1.04 ^b	43.97 ± 0.62 ^a
AK (mmol AAE/100 g KM)	174319.64 ± 978.57 ^c	52385.15 ± 157.53 ^b	29856.46 ± 445.31 ^a
TP biyoerişilebilirliği (%) <i>TP bioaccessibility</i>	100.00 ± 0.00 ^c	49.95 ± 0.27 ^b	25.47 ± 0.33 ^a
Antioksidanların biyoerişilebilirliği (%) <i>AC bioaccessibility</i>	100.00 ± 0.00 ^c	30.05 ± 0.26 ^b	17.13 ± 0.30 ^a

*: Aynı satırdaki harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0.05$).

*: Differences between means in letters in the same row are statistically significant ($P < 0.05$).

Kestane kabuğunun HPLC ile fenolik bileşikleri incelenmiş ve analiz sonucunda önemli fenolik asitlerden sadece ellajik (12.70 ± 1.23 mg/100 g KM) ve gallik asit (33.55 ± 1.48 mg/100 g KM) tespit edilmiştir (Şekil 1). Ancak daha önce yapılan bazı çalışmalarda (Fernández-Agulló vd., 2014; Sorice vd., 2016) saptanan kafeik asit, rutin, kuersetin glukosid, luteolin, apigenin ve galangin ise bulunamamıştır. Gallik ve ellajik asitten her ikisi de antioksidan aktivitesi yüksek fenolik bileşikler olup, bunlardan gallik asit, vücuda alındığında diğer polifenollere göre daha iyi

absorbe olmaktadır (Vella vd., 2019). Gallik asidin kestane kabuğunda ellajik aside göre 2.64 kat daha fazla tespit edilmesi nedeniyle vücut tarafından daha fazla yararlanılacağı düşünülmektedir. Diğer taraftan gallik asidin bir türevi olan ellajik asit antimutajenik, antiviral, antibakteriyel, antioksidan ve antikarsinojenik özelliklere sahiptir (Vekari vd., 2008; Jung vd., 2016). Bu çalışma ile uyumlu olarak, kestane kabuğunda fenolik asitlerden en fazla gallik asit tespit edildiği bildirilmiştir (Sorice vd., 2016; Cacciola vd., 2019).



Şekil 1. Kestane kabuğu ekstraktına ait kromatogram (1: gallik asit; 2: ellajik asit)
Figure 1. Chromatogram of chestnut peel extract (1: gallic acid; 2: ellagic acid)

İn-vitro Sindirimin Eriştenin TP ve AK Üzerine Etkisi

Zenginleştirilmiş erişte elde etmek amacıyla, kestane kabuk ekstraktı dondurularak kurutulmuş ve erişte hamuruna ilave edilmiştir. Eriştede yapılan analiz sonucuna göre, ekstrakt ilavesi beklenildiği gibi, eriştenin TP içeriğini ve AK'sını, kontrol erişteye göre belirgin şekilde (sırasıyla %89.36 ve %102.66) arttırmıştır (Çizelge 2). Benzer şekilde, noodle (Kazemi vd., 2017) ve taze eriştenin (Pasqualone vd., 2017) sırasıyla nar kabuğu ve enginar atığı ekstraktları ile zenginleştirildiği çalışmalardan elde edilen sonuçlar, bu çalışmanın sonucu ile uyum sağlamıştır. Ancak araştırmacılar, bu çalışmaya göre daha az bir artış tespit etmişlerdir. Bu durum, nar kabuğu (72.21 mg GAE/g; Ranjha vd., 2020) ve enginar atıklarının (0.77-1.45 mg GAE/g taze ağırlık; Punzi vd., 2014) kestane kabuğuna göre daha az TP içermesi, polifenollerinin stabilitelerinin farklı olması ve gıdanın üretim koşullarının (yoğurma, inceltme ve kurutma vb.) farklılık göstermesi gibi sebeplerden kaynaklanabilmektedir.

İn-vitro sindirim, erişte örneklerinin TP içeriğini ve AK' ni önemli ölçüde etkilemiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 2). Proses koşulları, bileşenler arasındaki kimyasal etkileşimler, gıdada bulunan biyoaktif maddeler ve ayrıca analizler için kullanılan reaktifler, fenolik maddelerin ve dolayısıyla

antioksidanların biyoerişilebilirliğini etkileyebilmektedir (Parada ve Aguilera, 2007). Kontrol erişte örneklerinin TP içeriği, sindirim sonrasında başlangıç değerine göre gastrik aşamada daha az olmak üzere özellikle, ortam pH'sının yüksek olduğu intestinal aşamada, önemli oranda azalarak ($P < 0.05$), kabuk ekstraktının TP miktarındaki değişime benzer bir eğilim göstermiştir. Zaten polifenollerin, pH değişikliği, ışık ve ısı gibi çevresel faktörlere duyarlı olup, sindirim enzimleri ile kolaylıkla parçalandığı belirtilmektedir (Pinto vd., 2017). Diğer taraftan, eriştenin yapısında bulunan polifenollerin biyoerişilebilirliğinin, kestane kabuğu polifenollerinin biyoerişilebilirliğine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durumun, erişte polifenollerinin, proteinlere bağlanarak sindirim sırasında stabilitelerinin artmasından (Xiong vd., 2020) kaynaklandığı düşünülmektedir. Zenginleştirilmiş erişte örneklerinin TP içeriği ise, sindirim sonrasında gastrik aşamada artarken, intestinal aşamada önemli oranda ($P < 0.05$) azalmıştır. Dolayısıyla, zenginleştirilmiş eriştenin polifenollerinin biyoerişilebilirliği kontrol eriştesine göre daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 2). Bu durum, kabuktan gelen polifenollerin cinsinin ve stabilitesinin, eriştenin doğal yapısındaki polifenollere göre farklı olmasından kaynaklanabilmektedir.

Çizelge 2. İn-vitro sindirim sonrası eriştenin TP miktarı, AK ve biyoerişilebilirliği
Table 2. TP content, AC and bioaccessibility of noodle after in-vitro digestion

	Erişte çeşidi (Noodle type)	Sindirim aşaması (Digestion stage)		
		Başlangıç (Initial)	Gastrik (Gastric)	İntestinal (Intestinal)
TP (mg GAE/g KM)	Kontrol (Control)	0.94 ± 0.03 ^{c*}	0.86 ± 0.03 ^b	0.57 ± 0.01 ^a
	Zenginleştirilmiş (Enriched)	1.78 ± 0.03 ^b	2.29 ± 0.10 ^c	1.27 ± 0.09 ^a
TP biyoerişilebilirliği (%) TP bioaccessibility	Kontrol (Control)	100.00 ± 0.00 ^c	91.07 ± 0.30 ^b	60.74 ± 0.48 ^a
	Zenginleştirilmiş (Enriched)	100.00 ± 0.00 ^b	129.11 ± 7.27 ^c	71.58 ± 6.38 ^a
AK (mmol AAE/100 g KM)	Kontrol (Control)	316.62 ± 7.41 ^b	236.24 ± 6.61 ^a	-
	Zenginleştirilmiş (Enriched)	641.67 ± 13.53	653.65 ± 24.38	-
Antioksidanların biyoerişilebilirliği (%) AC bioaccessibility	Kontrol (Control)	100.00 ± 0.00 ^b	74.79 ± 3.86 ^a	-
	Zenginleştirilmiş (Enriched)	100.00 ± 0.00	101.97 ± 4.62	-

* : Aynı satırdaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

* : The difference between the means denoted by different letters in the same row is significant ($P < 0.05$).

İn-vitro sindirim sonrasında, kontrol eriştinin AK'sı, gastrik aşama sonrası azalma eğilimi gösterirken, intestinal aşama sonrasında AK tespit edilememiştir. Zenginleştirilmiş eriştinin AK'sı ise, gastrik aşama sonrası korunurken, intestinal aşama sonrasında bulunamamıştır. Antioksidanların biyoerişilebilirliği açısından kontrol ve zenginleştirilmiş erişte örnekleri arasında önemli bir farklılık saptanamamıştır ($P < 0.05$).

SONUÇ

Kestane kabuğu, TP, bireysel fenolik bileşikler, AK ile antioksidanların ve polifenollerin biyoerişilebilirliği açısından değerlendirilmiştir. Kestane kabuğunun TP içeriğinin ve AK'nın yüksek olması nedeniyle, kabuk ekstraktı, erişte formülasyonunda kullanılmak üzere dondurularak kurutulmuştur. Kestane kabuğu ilavesi, zenginleştirilmiş eriştinin TP içeriği ve AK'sını kontrol erişteye göre arttırmıştır. Kabuk polifenollerinin biyoerişilebilirliği, gastrik ve intestinal aşama sonrasında sırasıyla %49.95 ve %25.47 olarak saptanmıştır. Kontrol ve zenginleştirilmiş erişte polifenollerinin biyoerişilebilirliği ise zenginleştirilmiş erişte polifenollerinin daha fazla olmak üzere kabuk polifenollerine göre daha yüksek bulunmuştur. Kabuk ve kontrol eriştinin AK'sı, sindirim sonrasında azalma eğilimi göstermiştir. Ancak, zenginleştirilmiş eriştinin AK'sı, gastrik aşama sırasında korunurken intestinal aşamada gözlenmemiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, kestane kabuğunun, gıdaların zenginleştirilmesi amacıyla iyi bir polifenol kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın bu makale ile ilgili olarak üçüncü şahıslarla bir çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKLAR

Amado, I. R., Franco, D., Sánchez, M., Zapata, C., Vázquez, J. A. (2014). Optimisation of antioxidant extraction from *Solanum tuberosum* potato peel waste by surface response methodology. *Food Chemistry*, 165, 290–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.103>

Bertolino, M., Belviso, S., Dal Bello, B., Ghirardello, D., Giordano, M., Rolle, L., Gerbi, V., Zeppa, G. (2015). Influence of the addition of different hazelnut skins on the physicochemical, antioxidant, polyphenol and sensory properties of yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 1145–1154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.113>

Bouayed, J., Deuber, H., Hoffmann, L., Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131(4), 1466–1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>

Cacciola, N. A., Squillaci, G., D'Apolito, M., Petillo, O., Veraldi, F., Cara, F. La, Peluso, G., Margarucci, S., Morana, A. (2019). *Castanea sativa* Mill. shells aqueous extract exhibits anticancer properties inducing cytotoxic and pro-apoptotic effects. *Molecules*, 24(18), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules24183401>

Collins, J. L., Pangloli, P. (1997). Chemical, physical and sensory attributes of noodles with added sweet potato and soy flour. *Journal of Food Science*, 62(3), 622–625. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb04446.x>

Fawole, O. A., Opara, U. L. (2016). Stability of total phenolic concentration and antioxidant capacity of extracts from pomegranate co-products subjected to *in vitro* digestion. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1343-2>

Fernández-Agulló, A., Freire, M. S., Antorrena, G., Pereira, J. A., González-Álvarez, J. (2014). Effect of the Extraction technique and operational conditions on the recovery of bioactive compounds from chestnut (*Castanea sativa*) bur and shell. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 49(2), 267–277. <https://doi.org/10.1080/01496395.2013.838264>

Figuroa, F., Marhuenda, J., Zafrilla, P., Martínez-Cachá, A., Mulero, J., Cerdá, B. (2016). Total phenolics content, bioavailability and antioxidant capacity of 10 different genotypes of walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Food and Nutrition Research*, 55(3), 229–236.

- Giltekin-Özğiven, M., Berktaş, I., Özçelik, B. (2016). Change in stability of procyanidins, antioxidant capacity and in-vitro bioaccessibility during processing of cocoa powder from cocoa beans. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.065>
- Gullon, B., Pintado, M. E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., Viuda-Martos, M. (2015). *In vitro* gastrointestinal digestion of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-products: Changes in the antioxidant potential and bioactive compounds stability. *Journal of Functional Foods*, 19, 617–628. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.056>
- Ham, J. S., Kim, H. Y., Lim, S. T. (2015). Antioxidant and deodorizing activities of phenolic components in chestnut inner shell extracts. *Industrial Crops and Products*, 73, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.017>
- ISO 14502-1:2005. *Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. 8p.* International Standard.
- Jung, B. S., Lee, N. K., Na, D. S., Yu, H. H., Paik, H. D. (2016). Comparative analysis of the antioxidant and anticancer activities of chestnut inner shell extracts prepared with various solvents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(6), 2097–2102. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7324>
- Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H., Hamid, A. A., Tamnak, S. (2017). Processing of parboiled wheat noodles fortified with pulsed ultrasound pomegranate (*Punica granatum* L. var. Malas) peel extract. *Food and Bioprocess Technology*, 10(2), 379–393. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1825-8>
- Lee, N. K., Jung, B. S., Na, D. S., Yu, H. H., Kim, J. S., Paik, H. D. (2016). The impact of antimicrobial effect of chestnut inner shell extracts against *Campylobacter jejuni* in chicken meat. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 746–750. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.004>
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., MacIerzanka, A., MacKie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., Brodtkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 5(6), 1113–1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Obiang-Obounou, B. W., Ryu, G. H. (2013). The effect of feed moisture and temperature on tannin content, antioxidant and antimicrobial activities of extruded chestnuts. *Food Chemistry*, 141(4), 4166–4170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.129>
- Parada, J., Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, 72(2), 21–32. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x>
- Pasqualone, A., Punzi, R., Trani, A., Summo, C., Paradiso, V. M., Caponio, F., Gambacorta, G. (2017). Enrichment of fresh pasta with antioxidant extracts obtained from artichoke canning by-products by ultrasound-assisted technology and quality characterisation of the end product. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 2078–2087. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13486>
- Pinto, J., Spínola, V., Llorent-Martínez, E. J., Fernández-de Córdoba, M. L., Molina-García, L., Castilho, P. C. (2017). Polyphenolic profile and antioxidant activities of Madeiran elderberry (*Sambucus lanceolata*) as affected by simulated *in vitro* digestion. *Food Research International*, 100, 404–410. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.044>
- Punzi, R., Paradiso, A., Fasciano, C., Trani, A., Faccia, M., De Pinto, M. C., Gambacorta, G. (2014). Phenols and antioxidant activity *in vitro* and *in vivo* of aqueous extracts obtained by ultrasound-assisted extraction from artichoke by-products. *Natural Product Communications*, 9(9), 1315–1318. <https://doi.org/10.1177/1934578x1400900924>
- Ranjha, M. M. A. N., Amjad, S., Ashraf, S., Khawar, L., Safdar, M. N., Jabbar, S., Nadeem,

- M., Mahmood, S., Murtaza, M. A. (2020). Extraction of polyphenols from apple and pomegranate peels employing different extraction techniques for the development of functional date bars. *International Journal of Fruit Science*, 20(S3), 1201–1221. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1782804>
- Rashidinejad, A., Birch, E. J., Everett, D. W. (2016). The behaviour of green tea catechins in a full-fat milk system under conditions mimicking the cheesemaking process. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(6), 624–631. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1195797>
- Sorice, A., Siano, F., Capone, F., Guerriero, E., Picariello, G., Budillon, A., Ciliberto, G., Paolucci, M., Costantini, S., Volpe, M. G. (2016). Potential anticancer effects of polyphenols from chestnut shell extracts: Modulation of cell growth, and cytokinomic and metabolomic profiles. *Molecules*, 21(10), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules21101411>
- Stevigny, C., Rolle, L., Valentini, N., Zeppa, G. (2007). Optimization of extraction of phenolic content from hazelnut shell using response surface methodology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 2817–2822. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Taş, N. G., Gökmen, V. (2015). Bioactive compounds in different hazelnut varieties and their skins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, 203–208. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.07.003>
- Tsujita, T., Yamada, M., Takaku, T., Shintani, T., Teramoto, K., Sato, T. (2011). Purification and characterization of polyphenols from chestnut astringent skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(16), 8646–8654. <https://doi.org/10.1021/jf201679q>
- Tu, F., Xie, C., Li, H., Lei, S., Li, J., Huang, X., Yang, F. (2021). Effect of *in vitro* digestion on chestnut outer-skin and inner-skin bioaccessibility: The relationship between biotransformation and antioxidant activity of polyphenols by metabolomics. *Food Chemistry*, 363, 130277. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130277>
- Türkmen Erol, N., Sari, F., Çalikoğlu, E., Velioglu, Y. S. (2009). Green and roasted mate: Phenolic profile and antioxidant activity. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33(4), 353–362. <https://doi.org/10.3906/tar-0901-4>
- Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93(4), 713–718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.038>
- Vázquez, G., Fernández-Agulló, A., Gómez-Castro, C., Freire, M. S., Antorrena, G., González-Álvarez, J. (2012). Response surface optimization of antioxidants extraction from chestnut (*Castanea sativa*) bur. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.022>
- Vekiari, S. A., Gordon, M. H., García-Macías, P., Labrinea, H. (2008). Extraction and determination of ellagic acid content in chestnut bark and fruit. *Food Chemistry*, 110(4), 1007–1011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.005>
- Vella, F. M., De Masi, L., Calandrelli, R., Morana, A., Laratta, B. (2019). Valorization of the agroforestry wastes from Italian chestnut cultivars for the recovery of bioactive compounds. *European Food Research and Technology*, 245(12), 2679–2686. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03379-w>
- Vella, F. M., Laratta, B., La Cara, F., Morana, A. (2018). Recovery of bioactive molecules from chestnut (*Castanea sativa* Mill.) by-products through extraction by different solvents. *Natural Product Research*, 32(9), 1022–1032. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1378199>
- Wang, J., Fang, X. M., Mujumdar, A. S., Qian, J. Y., Zhang, Q., Yang, X. H., Liu, Y. H., Gao, Z. J., Xiao, H. W. (2017). Effect of high-humidity hot air impingement blanching (HHAIB) on drying and quality of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 220, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.200>
- Xiong, J., Chan, Y. H., Rathinasabapathy, T., Grace, M. H., Komarnytsky, S., Lila, M. A. (2020). Enhanced stability of berry pomace polyphenols delivered in protein-polyphenol aggregate particles to an *in vitro* gastrointestinal digestion

model. *Food Chemistry*, 331(March), 127279. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127279>

Youn, U. Y., Shon, M. S., Kim, G. N., Katagiri, R., Harata, K., Ishida, Y., Lee, S. C. (2016). Antioxidant and anti-adipogenic activities of chestnut (*Castanea crenata*) byproducts. *Food Science and Biotechnology*, 25(4), 1169–1174. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0186-4>

Zardo, I., de Espíndola Sobczyk, A., Marczak, L. D. F., Sarkis, J. (2019). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from sunflower seed cake using response surface methodology. *Waste and Biomass*

Valorization, 10(1), 33–44. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0038-3>

Zhan, G., Pan, L. Q., Mao, S. B., Zhang, W., Wei, Y. Y., Tu, K. (2014). Study on antibacterial properties and major bioactive constituents of Chinese water chestnut (*Eleocharis dulcis*) peels extracts/fractions. *European Food Research and Technology*, 238(5), 789–796. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2151-2>