



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

Van Gölü Kıyısında Farklı Dönemlerde Hasat Edilen Yeşil Cevizlerin Fenolik Madde İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri

Serdar UĞURLU¹, Emine OKUMUŞ¹, Emre BAKKALBAŞI^{*1}

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 65090, Van, Türkiye

*Sorumlu yazar e-posta: ebakkalbasi@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 22.03.2019
Kabul: 17.07.2019
Online Yayınlanma 30.09.2019
DOI: 10.29133/yyutbd.543436

Anahtar kelimeler

Antioksidan aktivite,
Fenolik bileşik,
Juglon,
Yeşil ceviz.

Öz: Ekonomik değeri yüksek bir ürün olan Cevizin (*Juglans regia* L.), özellikle süt cevizi denilen olgunlaşmamış dönemleri özel fitokimyasalların doğal kaynağı olarak eczacılık ve kozmetikte kullanılmakta, ayrıca bazı geleneksel gıdaların üretiminde de yer almaktadır. Bu çalışmada, Van Gölü çevresinde 3 farklı ilçeden (Van Merkez, Edremit ve Gevaş), 4 ayrı dönemde (1 Haziran, 15 Haziran, 30 Haziran ve 15 Temmuz) toplanan yeşil cevizlerin fenolik bileşimi ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Yeşil cevizlerin toplam fenolik madde miktarı, DPPH ve ABTS analizi sonuçları sırasıyla 6907.83- 17842.26 mg GAE/kg, 49.03-208.8 ve 66.97-208.48 mmol TE/g aralıklarında bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre yeşil ceviz örneklerinde fenolik bileşiklerden juglon, gallik asit, neoklorojenik asit ve rutin tespit edilmiştir. Hasat edilen yeşil cevizlerde 1 Haziran döneminde toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite miktarının en yüksek olduğu saptanırken, en yüksek juglon miktarı 30 Haziran dönemine ait örneklerde olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda yeşil cevizlerin çalışma dönemi içinde başta juglon olmak üzere yüksek fenolik madde içeriğine ve antioksidan aktiviteye sahip oldukları ancak bunların cevizlerin hasat edildiği döneme göre farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir.

Phenolic Content and Antioxidant Activities of Green Walnuts Harvested at Different Periods on The Lake Van Coast

Article Info

Received: 22.03.2019
Accepted: 17.07.2019
Online Published 30.09.2019
DOI: 10.29133/yyutbd.543436

Keywords

Antioxidant activity,
Phenolic compound,
Juglone,
Green walnut.

Abstract: Walnut (*Juglans regia* L.) is a nut with high nutritional and economic values. Walnut is commonly used as a functional ingredient in several traditional food products and as a natural source of phytochemicals in pharmacy and cosmetics. Walnut harvested in the immature periods, known as milk walnut, have been used in formulation of some traditional foods. In this study, phenolic composition and antioxidant activities of green walnuts (immature) harvested from 3 different districts (Van Center, Edremit, and Gevas) around Lake Van in 4 different periods (1st June, 15th June, 30th June, and 15th July) were investigated. The total phenolic content, DPPH, and ABTS values of green walnuts were 17842.26-6907.83 mg GAE kg⁻¹, 208.8-49.03 and 208.48-66.97 mmol TE g⁻¹, respectively. Juglone, gallic acid, neochlorogenic acid, and rutin common phenolic compounds were determined in green walnut samples. While the highest total phenolic content and antioxidant activity were observed in green walnuts harvested on 1st June, the highest juglone was determined in samples collected on 30th June. As a result, it was determined that green walnut had high antioxidant activity and phenolic content, especially juglone. The harvesting period considerably affect the phenolic contents of samples.

1. Giriş

Ceviz (*Juglans regia* L.), yukarıda Balkanlardan, Türkiye ve Kafkas dağlarına, aşağıda Lübnan, Irak'ın kuzey bölgeleri ile İran üzerinden Çin'e kadar uzanan bölgede doğal yayılım göstermektedir (Davis, 1982; Şen, 1986). Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde ceviz yetiştiriciliği yapılmakta olup meyvesi ya da kerestesinden faydalanılmaktadır (Davis 1982; Şen 1986; Sutyemez 2016). Dünya genelinde bulunan birçok farklı ceviz türü içinde *Juglans regia* L. büyüklüğü, ince kabuğu, kolay kırılması ve tadı nedeniyle en fazla yetiştirilen ve ticari öneme sahip olan türdür (Rosengarten, 1984). Son yıllarda içerdiği doymamış yağ asitleri, fitosteroller, tokoferoller ve polifenoller gibi sağlığa yararlı bileşenlerinden dolayı cevizce olan ilgi artmıştır. Ceviz yapısında bulunan yağ, büyük ölçüde çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır (Bakkalbaşı ve ark., 2010; Beyhan ve ark., 2017; Kafkas ve ark., 2017). Çoklu doymamış yağ asitleri ile birlikte, içerdiği tokoferoller ve diğer antioksidan bileşiklerin kalp damar hastalıklarına, yaşlanmanın olumsuz etkilerine ve bazı kanser türlerine karşı koruyucu rol oynadığı belirtilmektedir (Shah ve ark., 2015; Jahanbani ve ark., 2016; Oguzhan ve Zeynep, 2016). Ceviz meyvesinin antioksidan aktivite açısından yağlı kısım (ekstraksiyon işlemi ile elde edilen yağ kısmı) ve yağsız kısım (yağının uzaklaştırılması ile geri kalan kısım) olarak iki fraksiyonda değerlendirilebileceği, yağlı kısımdaki bileşenlerin cevizin toplam antioksidan kapasitesine katkısının %5'ten daha düşük olduğu ve antioksidan aktiviteye asıl katkının yağsız kısımdaki bileşenlerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Cevizin antioksidan kapasitesine en büyük desteğin yağsız kısmın içerdiği fenolik bileşiklerden, özellikle de elajitaninlerden ileri geldiği belirtilmektedir (Arranz ve ark., 2008).

Bu özellikleri nedeniyle cevizler birçok gıdanın üretiminde kullanılmaktadır. Bu ürünlerin içinde yeşil cevizlerden üretilenleri son yıllarda dikkat çekmektedir. Yeşil cevizler çeşitli geleneksel ürünlerin (ceviz reçeli, ceviz salamurası, ceviz likörü vb.) üretiminde geçmişten beri kullanılmaktadırlar. Bu geleneksel ürünler içinde ceviz reçeli en dikkat çekici üründür. Ceviz reçeli süt cevizi denilen kabuğu sertleşmemiş yeşil cevizlerden, Kuzey Kıbrıs'ta ceviz macunu adıyla içine badem doldurularak, Azerbaycan ve ülkemizin farklı bölgelerinde ise ceviz reçeli/şekeri adı ile geleneksel olarak üretilmektedir. Ayrıca yeşil ceviz ve ceviz yaprakları ilaç ve kozmetik endüstrisinde de kullanılmaktadır (Stampar ve ark., 2006). Bu ürünler yüksek fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri sayesinde doğal antioksidan kaynağı olarak görülmektedirler.

Literatürde yeşil ceviz ve yeşil ceviz kullanılarak üretilen ürünler üzerine verilen bilgiler oldukça sınırlıdır. Rahimipanah ve ark. (2010) tarafından yeşil ceviz kabuğunda toplam fenolik madde miktarı (TFM) Haziran ortalarında 3428.11 mg gallik asit eşdeğeri (GAE) /100 g KM olarak bulunmuştur. Shi ve ark. (2017) 25 Nisan, 11 Mayıs, 7 Haziran, 6 Temmuz, 1 Ağustos, 21 Ağustos, 2 Eylül ve 19 Eylül dönemlerinde topladıkları yeşil ceviz (*Juglans sigilata* Dode) kabuğunun TFM içeriği ile ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) ve DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikallerini sönmüleme kapasitelerini belirlemişlerdir. TFM miktarının 25 Nisan'dan 7 Haziran dönemine doğru azaldığını ve bu tarihten sonra 1 Ağustos dönemine kadar artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca juglon içeriğinin, tüm hasat tarihlerinde en yüksek içeriğe sahip fenolik bileşik olduğu belirtmişlerdir (Shi ve ark., 2017). Alamprese ve ark. (2005), ceviz likörünün antioksidan potansiyelini inceledikleri farklı bir çalışmada, antioksidan aktivitenin, toplam fenol içeriği ile doğrudan ilişkili olduğunu ve bu özelliğin uzun yıllar boyunca bile depolama sırasında değişmediğini bildirmişlerdir.

Van ili ve çevresi ceviz yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı (Başer ve ark., 2016; Kasap ve ark., 2008) ve yeşil cevizden geleneksel ürünlerin üretildiği bir bölgedir (Bakkalbaşı ve Artık, 2005).Yapılan bu çalışmada, Van ili sınırları içinde hasat edilen yeşil ceviz örneklerinin bazı kimyasal özellikleri ile fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerine farklı ilçelerin ve farklı hasat dönemlerinin etkisi araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada yeşil cevizlerin hasat dönemindeki bileşim değişimini tespit etmek amacıyla 2017 yılında Van Gölü çevresindeki 3 farklı ilçeden (Van Merkez, Edremit, Gevaş) 4 farklı dönemde (1 Haziran, 15 Haziran, 30 Haziran, 15 Temmuz) toplanan yeşil ceviz örnekleri kullanılmıştır. Her dönemde her ilçeden belirlenmiş farklı ağaçlardan örnekler toplanmıştır. Tüm dönemler boyunca her

ağaçtan ortalama 10-20 adet ceviz örneği alınmıştır. Her dönem için farklı ilçelerden toplanan örnekler ayrı ayrı analiz edilmiş olup sonuçlar ortalama değerler olarak verilmiştir. Hasat edilen yeşil ceviz örnekleri en kısa sürede laboratuara getirilerek analiz edilinceye kadar -24°C'de depolanmıştır.

2.1. Kuru madde ve suda çözünür kuru madde İçeriği

Kuru madde ve suda çözünür kuru madde miktarı AOAC (2003)'e göre tespit edilmiştir.

2.2. Yeşil ceviz metanolik ekstraktları

Yeşil cevizlerden metanolik ekstraktı Bakkalbaşı ve ark. (2013)'e ait metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Bir kahve öğütücüsünde parçalanarak homojen hale getirilen yeşil cevizlerden 0.2- 0.45 g arasında santrifüj tüpüne tartılmıştır. Tartılan örneklerin üzerine 20 mL metanol eklenmiş ve içerik 2 saat çalkalayıcıda tutulduktan sonra 8000 g'de 10 °C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılıp kalan posaya aynı prosedür bir kez daha uygulanmıştır. Elde edilen süpernatantlar bir araya toplanarak 50 mL'ye metanol ile tamamlanıp analiz edilinceye kadar -24°C'de depolanmıştır.

2.3. Toplam fenolik madde analizi

Cevizlerin toplam fenolik madde içeriği Singleton ve Rossi (1965) tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. Yeşil ceviz ekstraktları uygun oranda metanol ile seyreltikten sonra 0.4 mL metanolik ekstrakta, 1/10 oranında su ile dilüe edilmiş Folin-Ciocalteu ajanından 2 mL ilave edilmiştir. Daha sonra elde edilen karışıma 1.6 mL %7.5 Sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Reaksiyon karışımları 60 dakika süresince oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir ($Y=0.0089x-0.0005$ $R^2=0.9951$).

2.4. Fenolik madde ve juglon içeriği

Örneklerin fenolik madde ve juglon içeriği Coloric ve ark. (2005)'e ait metot modifiye edilerek belirlenmiştir. Elde edilen ceviz metanolik ekstraktları 1:1 oranında metanol ile seyreltilmiştir ve 0.45 µm PVDF şırınga ucu filtreden filtre edilerek HPLC cihazına verilmiştir. Çalışmada DAD dedektöre sahip Shimadzu marka LC-20A/Prominence yüksek basınç sıvı kromatografisi kullanılmıştır. Fenolik bileşenlerin tespiti, 25 ° C'de bir Waters Symetry C18 (250x4 mm ID, partikül büyüklüğü 5 µm) kolon (Waters, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntemde, % 2 asetik asit ve su (A) ile % 0.5 asetik asit: asetonitril (1: 1, v/v; B)' den oluşan ikili bir mobil faz kullanıldı. Gradyan programı: 0.dk % 90 A, 50. dk % 45 A, 60.dk % 0 A olarak belirlenmiştir. Akış Hızı 1 mL/ min'dir. Okumalar Juglon için 254 nm, hidroksibenzoik asitler için 280 nm ve hidroksisanimik asitler için 320 nm'de yapılmıştır.

2.5. Flavonol içeriği

Flavonoller, Park ve ark. (2014) tarafından bildirilen yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Yeşil ceviz örnekleri (0.25 g), 2 g/L tert-butilhidrokinon içeren 10 mL % 62.5 sulu metanol ile karıştırılmıştır. 20 dakika sonikasyondan sonra, reaksiyon karışımına 2.5 mL 8 M HCl eklenmiştir. Flavonol glikozitlerin hidrolizi için, karışım 90°C'de bir su banyosunda 3.5 saat süreyle inkübe edildi. Soğutulduktan sonra, hidrolize edilmiş numuneler 5 dakika ultrasonik banyoda tutuldu. Karışım 0.45 µm PTFE şırınga filtresi (Millipour) kullanılarak süzülmüştür. Bu süzüntü, flavonol miktarının belirlenmesi için HPLC sistemine (Shimadzu, Kyoto, Japonya) enjekte edilmiştir. Flavonollerin tespiti, 25°C'de bir Symetry C18 (250 x 4.6 mm id, partikül büyüklüğü 5 µm) kolon (Waters, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Yöntemde % 2 asetik asit (A) ve % 0.5 asetik asitli su: asetonitril (1: 1, v/v; B)' den oluşan ikili bir mobil faz kullanılmıştır. Gradyan program; 0. dak % 50 A; 20. dak% 10 A; 28. dak % 0 A olacak şekilde uygulanmıştır. Okuma 360 nm'de yapılmıştır. Kromatogramlarda görünen pikler, alıkonma süreleri ve spektral verileri ticari standartlarla karşılaştırılarak tanımlanmıştır.

2.6. Antioksidan aktivite analizleri

2.6.1. DPPH

Örneklerin DPPH radikali sönmleme aktivitesi Pyo ve ark. (2004) tarafından bildirilen metod modifiye edilerek belirlenmiştir. Uygun oranda seyreltilmiş 0.1 mL ekstrakt 3.9 mL DPPH solüsyonu (0.025 g/L metanol) ile karıştırılarak oda sıcaklığında 60 dakika süre boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda örnek absorbanları 515 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülerek, % inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır. Sonuçlar mmol TE/g olarak ifade edilmiştir.

$$\% \text{İnhibisyon} = (\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}) / \text{Abs}_{\text{kontrol}} \times 100$$

2.6.2. ABTS

Bu analiz için Re ve ark. (1999) tarafından bildirilen yöntem uygulanmıştır. Çalışmada öncelikle 7 mmol ABTS ile 2.45 mmol potasyum persülfat oda sıcaklığında ve karanlıkta 12-16 saat reaksiyona sokularak ABTS^{•+} radikali oluşturulmuştur. Oluşturulan ABTS^{•+} radikali etanol ile seyreltilerek 734 nm'de 0.700±0.05 absorban verecek şekilde hazırlanmış ve bu çözeltilen 1980 µL alınarak üzerine 20 µL örneklerden elde edilmiş ekstrakt ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 6 dakika tutulduktan sonra 734 nm'de absorbanı ölçülmüştür. Sonuçlar mmol TE/g olarak verilmiştir.

2.7. İstatistik Analizler

Elde edilen veriler arasındaki farklar SPSS Statistic 20 bilgisayar programı kullanılarak varyans analizi ile belirlenmiştir. Ortalamalar arasındaki farkları değerlendirmek için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Yeşil cevizin bazı kimyasal özellikleri

Farklı 3 ilçe, 4 farklı döneme ait yeşil cevizlerin kuru madde (KM) miktarı ve suda çözünür kuru madde (ÇKM) içerikleri Çizelge 1.'de verilmiştir. En yüksek KM içeriği %20.82 ile Merkez ilçesinden 15 Temmuzda toplanan örneklerde tespit edilirken en düşük KM içeriği %11.61 ile Gevaş ilçesinden 15 Haziranda toplanan örneklerde tespit edilmiştir. Farklı hasat dönemleri arasındaki farklar Merkez için önemsiz (P>0.05) bulunurken, Edremit ve Gevaş ilçeleri için önemli bulunmuştur (P<0.05). Çalışmada en yüksek KM değerleri 15 Temmuz tarihinde hasat edilen örneklerde tespit edilirken, aynı dönemde sert kabuk oluşumunun başladığı da gözlenmiştir. Bu nedenle bu dönemde KM'nin yüksek olması sert kabuk oluşumunun başlaması ile açıklanabilir. En yüksek ÇKM içeriği 11.80 ile Edremit ilçesinden 15 Temmuzda toplanan örneklerde tespit edilirken en düşük ÇKM içeriği 8.50 ile Merkez ilçesinden 15 Temmuzda toplanan örneklerde tespit edilmiştir. Farklı hasat dönemlerinde ÇKM arasındaki farklar istatistiksel olarak Merkez ve Edremit ilçeleri için önemli bulunurken (P<0.05), Gevaş ilçesi için önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Yapılan literatür araştırmalarında yeşil cevizlere ait KM ve ÇKM değerlerine ait herhangi bir veri bulunamamıştır.

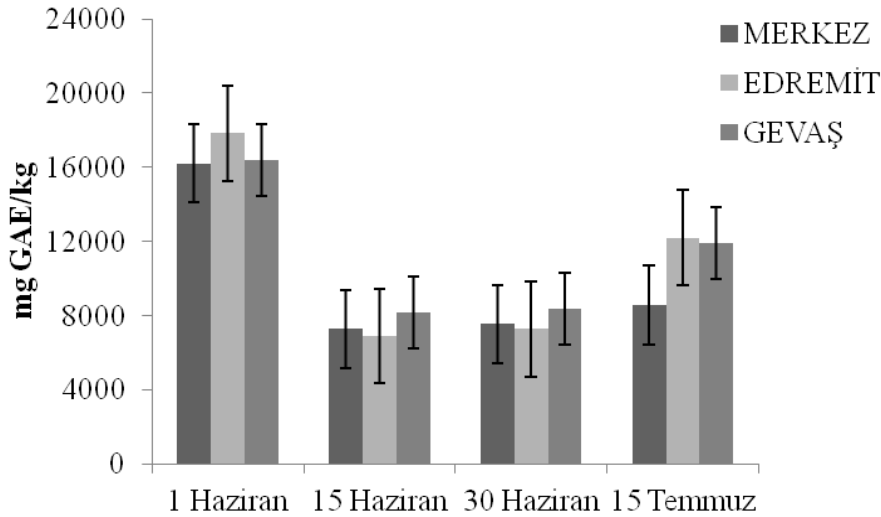
Çizelge 1. Farklı ilçelerden farklı dönemlerde toplanan yeşil ceviz örneklerinin kuru madde ve ÇKM miktarları

	Tarih	Kuru Madde (%)	ÇKM (%)
MERKEZ	1 Haz.	16.33±0.21 ^{aAB2α}	9.50±0.14 ^{aA2β}
	15 Haz.	12.26±1.24 ^{aA3α}	9.60±0.42 ^{aA2β}
	30 Haz.	12.23±0.81 ^{aA3α}	9.10±0.00 ^{aA2β}
	15 Tem.	20.82±0.00 ^{aA1α}	8.50±0.00 ^{bB1β}
EDREMİT	1 Haz.	17.38±1.20 ^{bA2α}	9.30±0.14 ^{cAB2α}
	15 Haz.	13.63±0.43 ^{cA3α}	9.70±0.00 ^{bA2α}
	30 Haz.	12.49±0.56 ^{cA3α}	9.40±0.14 ^{bcA2α}
	15 Tem.	19.69±0.88 ^{aA1α}	11.80±0.14 ^{aA1α}
GEVAŞ	1 Haz.	14.85±0.20 ^{bB2α}	9.00±0.14 ^{aB2β}
	15 Haz.	11.61±0.22 ^{cA3α}	9.10±0.28 ^{aA2β}
	30 Haz.	12.38±0.62 ^{cA3α}	9.25±0.21 ^{aA2β}
	15 Tem.	20.25±0.23 ^{aA1α}	9.45±0.63 ^{aB1β}

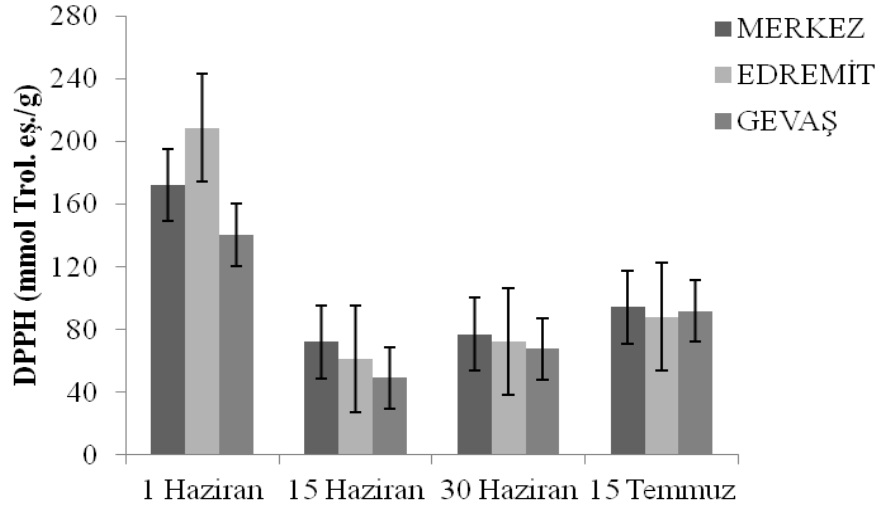
Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. Küçük harfler duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı ilçeden temin edilen örneklerde dönemler arasındaki farkı, Büyük harfler aynı dönemde toplanan örneklerde ilçeler arasındaki farkı, Rakamlar ilçe ayırımı yapılmaksızın dönemler arasındaki farkı, Yunan Alfabesi dönem ayırımı yapılmaksızın ilçeler arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05).

3.2. Yeşil cevizin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi

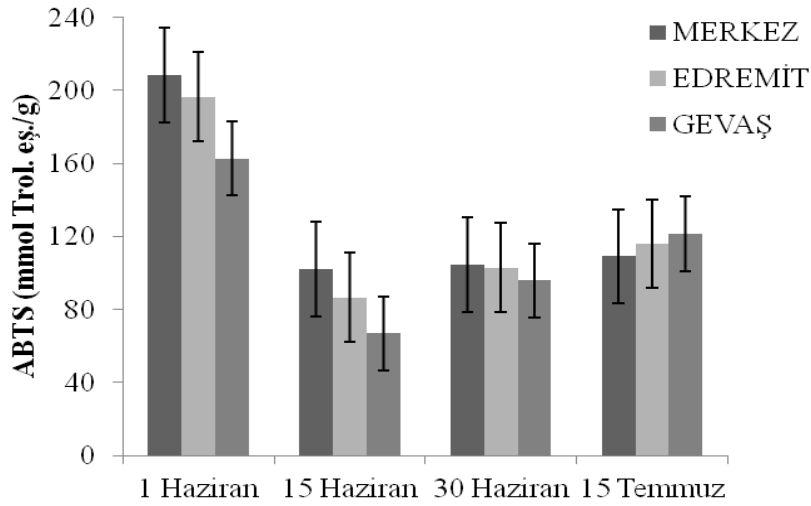
Üç ayrı ilçeye ait dört farklı dönemde toplanan yeşil cevizlerin toplam fenolik madde miktarı, DPPH ve ABTS değerleri sırasıyla Şekil 1., 2. ve 3.' de verilmiştir. En yüksek TFM, DPPH ve ABTS içeriği tüm ilçelerde 1 Haziran dönemine ait olup sırasıyla 17842.26 mg GAE/kg, ve 208.8 mmol Trol. eş./g ile Edremit ilçesinden ve 208.48 mmol Trol. eş./g ile Merkez ilçesinden toplanan örneklerde tespit edilmiştir. En düşük TFM, DPPH ve ABTS içeriği ise tüm ilçelerde 15 Haziran döneminde belirlenmiş olup sırasıyla 6907.83 mg GAE/kg ile Edremit'ten, 49.03 mmol Trol. eş./g ve 66.97 mmol Trol. eş./g ile Gevaş'tan toplanan örneklerde tespit edilmiştir. TFM, DPPH ve ABTS sonuçları için hasat dönemleri arasındaki farklar Merkez, Edremit ve Gevaş ilçeleri için istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).



Şekil 1. Farklı ilçelere ait farklı dönemlerde toplanan yeşil ceviz örneklerinin Toplam Fenolik Madde içerikleri.



Şekil 2. Farklı ilçelere ait farklı dönemlerde toplanan yeşil ceviz örneklerinin DPPH değerleri.



Şekil 3. Farklı ilçelere ait farklı dönemlerde toplanan yeşil ceviz örneklerinin ABTS değerleri.

TFM, DPPH ve ABTS değerleri incelendiğinde tüm ilçelerde en yüksek değerler 1 Haziran'da tespit edilmiş ve daha sonra 1 Haziran-15 Haziran arasında hızlı bir düşüş görülmüştür. TFM içeriği 30 Haziran'a kadar benzer düzeyde devam ederken bu dönemden sonra Gevaş ve Edremit ilçelerinde artmış, Merkezde ise benzer düzeyde kalmıştır. DPPH ve ABTS değerleri ise TFM içeriğinden farklı olarak 15 Haziran'dan sonra 15 Temmuz'a doğru yavaş ve düzenli bir artış göstermiştir. İncelenen TFM, DPPH ve ABTS değerleri açısından Merkez'den alınan örneklerde zamanla meydana gelen değişimin Edremit ve Gevaş'a göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen TFM değerleri Rahimipanaah ve ark. (2010) tarafından Haziran ortalarında yeşil ceviz kabuğunda bildirilen TFM miktarından (3428.11 mg GAE /100 g KM) düşüktür. Shi ve ark. (2017) farklı dönemlerinde topladıkları yeşil ceviz (*Juglans sigilata Dode*) kabuğunun TFM miktarının 25 Nisan'dan 7 Haziran dönemine doğru azaldığını ve bu tarihten sonra 1 Ağustos dönemine kadar artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızın kapsadığı dönemde TFM'deki değişimlerin yönünün Shi ve ark. (2017) tarafından bildirilen değişimler ile kısmen benzer olduğu görülmektedir. Aynı literatürde yeşil cevizdeki DPPH ve ABTS miktarlarının ise 25 Nisan'dan 7 Haziran dönemine doğru artış gösterirken, bu tarihten 1 Ağustos dönemine kadar azaldığı bildirilmiştir. Çalışmamızda yeşil ceviz örneklerinden elde edilen DPPH ve ABTS sonuçları ile literatür bulguları farklılık göstermektedir. Literatür bulguları ile çalışmada elde edilen bulgular arasındaki farkların çeşit, coğrafi koşullar, iklim ve yetiştirme tekniklerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.3. Yeşil cevizlerde fenolik madde dağılımı

Yapılan çalışma sonucunda yeşil ceviz örneklerinden elde edilen kromatogramlardaki piklerin alıkonma süreleri ve spektral verileri ticari standartlarla karşılaştırılması sonucu örneklerde juglon, gallik asit ve neoklorojenik asit tanımlanmış ve miktarları Çizelge 2.' de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde yeşil cevizlerdeki juglonun en fazla bulunan fenolik bileşik olduğu görülmektedir. Her üç ilçeden hasat edilen yeşil cevizlerin en yüksek juglon içeriği 30 Haziran döneminde saptanmıştır. En yüksek değer 2788.2 mg/kg ile Edremit ilçesinde tespit edilmiştir. Yeşil cevizlerde juglon miktarı 1 Haziran'dan 15 Haziran'a doğru azalırken bu dönemden itibaren 30 Haziran'a doğru tekrar artıp 15 Temmuz dönemine doğru tekrar azaldığı görülmüştür. Juglon içeriği için hasat dönemleri arasındaki farklar her üç ilçede de istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Stampar ve ark. (2006) yeşil cevizlerdeki juglon değerlerini 30 Mayıs, 21 Haziran, 18 Temmuz ve 19 Ağustos tarihlerinde sırasıyla 288, 1404, 412 ve 218 mg/100g olarak bulmuşlardır. Bildirilen bu sonuçlardan 30 Mayıs'ta tespit edilen değer çalışmadaki bulgularımıza yakınken, 21 Haziran'daki değer bulduğumuz değerlerden oldukça yüksektir. Bu durum çeşit, coğrafi koşullar, iklim ve yetiştirme tekniklerindeki farklılıkların bitkinin juglon içeriğinde meydana getirdiği farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Başka bir çalışmada ise Shi ve ark. (2017) 25 Nisan, 11 Mayıs, 7 Haziran, 6 Temmuz, 1 Ağustos, 21 Ağustos, 2 Eylül ve 19 Eylül dönemlerinde topladıkları yeşil cevizde ait kabuklarda juglon değerlerini sırasıyla, 89.19, 163.08, 179.60, 113.09, 92.04, 276.20, 305.55 ve 291.70 mg/100g olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışma dönemimiz içinde kalan 7 Haziran ve 6 Temmuz değerleri göz önüne alındığında, bildirilen değerlerin özellikle Merkezden temin edilen örneklerde bulduğumuz değerler ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmada tespit edilen en yüksek gallik asit içeriği 1017.44 mg/kg ile Edremit ilçesinden 1 Haziran'da toplanan örneklerde, en düşük gallik asit içeriği ise 157.52 mg/kg ile Merkezden 15 Temmuz'da toplanan örneklerde belirlenmiştir. Gallik asit miktarında 1 Haziran döneminden 15 Haziran'a doğru önemli bir azalma olurken bu tarihten itibaren 30 Haziran'a kadar Merkez hariç diğer ilçelerde değerlerin bir miktar arttığı ve bu tarihten sonra tüm ilçelerde gallik asit değerlerinin tekrar azaldığı görülmüştür. Genel olarak ilçeler karşılaştırıldığında Edremit ilçesinden toplanan örneklerdeki gallik asit miktarının diğer ilçelerden önemli oranda yüksek olduğu tespit edilmiştir. Stampar ve ark. (2006) 30 Mayıs, 21 Haziran, 18 Temmuz ve 19 Ağustos tarihlerinde yeşil cevizlerdeki gallik asit içeriğinin sırasıyla 122, 28.3, 13.8 ve 9.16 mg/100g olduğunu bildirmişlerdir. Shi ve ark. (2017) ise 25 Nisan, 11 Mayıs, 7 Haziran, 6 Temmuz, 1 Ağustos, 21 Ağustos, 2 Eylül ve 19 Eylül dönemlerinde topladıkları yeşil ceviz (*Juglans sigilata Dode*) kabuğunda gallik asit değerlerini sırasıyla, 12.22, 11.62, 3.06, 2.67, 0.28, 0.50, 0.49, 1.14 mg/100g olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada ilk defa yeşil cevizlerde neoklorojenik asit tespit edilmiştir. En yüksek neoklorojenik asit içeriği 1526.04 mg/kg ile Merkez ilçesinde 1 Haziran'da toplanan örneklerde, en düşük neoklorojenik asit içeriği 311.33 mg/kg ile Merkez'de 30 Haziranda toplanan örneklerde saptanmıştır. Neoklorojenik asit miktarı bütün ilçelerde 1 Haziran'dan 15 Haziran'a doğru önemli bir azalış gösterirken bu tarihten 15 Temmuz'a kadar küçük değişimlerle birlikte önemli bir değişim göstermemiştir. Hem gallik asit hem de neoklorojenik asit için hasat dönemleri arasındaki farklar Merkez, Edremit ve Gevaş ilçelerinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Çizelge 2. Farklı ilçelere ait farklı dönemlerde toplanan yeşil ceviz örneklerinin juglon, fenolik asit içerikleri (mg/kg)

	Tarih	Juglon	Gallik Asit	Neoklorojenik Asit	Toplam
Merkez	1 Haz.	1690.7±6.20 ^{aA1β}	901.13±60.33 ^{aA1β}	1526.04±369.1 ^{aA1α}	4117.9±423.2 ^{aA1β}
	15 Haz.	1400.2±535.9 ^{aA1β}	239.62±76.36 ^{bA2β}	719.25±4.7 ^{bA2α}	2359.1±457.8 ^{bA2β}
	30 Haz.	1739.7±386.6 ^{aA1β}	186.83±11.50 ^{bA2β}	311.33±55.9 ^{bA2α}	2237.9±454.0 ^{bA2β}
	15Tem.	1327.0±377.5 ^{aA1β}	157.52±42.39 ^{bA2β}	341.43±9.7 ^{bB2α}	1825.9±325.4 ^{bB2β}
Edremit	1 Haz.	2520.1±122.2 ^{aA1α}	1017.44±49.08 ^{aA1α}	1380.24±361.4 ^{aA1α}	4917.8±434.6 ^{aA1α}
	15 Haz.	2311.2±377.3 ^{aA1α}	335.35±0.26 ^{bA2α}	673.94±140.3 ^{bA2α}	3320.5±517.9 ^{bA2α}
	30 Haz.	2788.2±417.6 ^{aA1α}	345.72±70.26 ^{bA2α}	698.63±40.4 ^{bA2α}	3832.6±547.3 ^{abA2α}
	15Tem.	2500.5±73.7 ^{aA1α}	339.81±26.58 ^{bA2α}	518.88±32.8 ^{bA2α}	3359.2±14.3 ^{bA2α}
Gevaş	1 Haz.	2271.5±1.41 ^{aA1α}	593.82±101.19 ^{aB1β}	1284.68±48.2 ^{aA1α}	4150.0±148.0 ^{aA1αβ}
	15 Haz.	1982.6±124.3 ^{aA1α}	233.27±3.23 ^{bA2β}	335.08±300.5 ^{bA2α}	2550.9±179.4 ^{aA2αβ}
	30 Haz.	2468.0±1219.5 ^{aA1α}	293.38±59.08 ^{bA2β}	360.16±350.3 ^{bA2α}	3121.5±1628.9 ^{aA2αβ}
	15Tem.	1621.6±619.0 ^{aA1α}	217.06±126.35 ^{bA2β}	331.26±0 ^{bB2α}	2169.9±492.6 ^{abB2αβ}

Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. Küçük harfler duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı ilçeden temin edilen örneklerde dönemler arasındaki farkı, Büyük harfler aynı dönemde toplanan örneklerde ilçeler arasındaki farkı, Rakamlar ilçe ayrımı yapılmaksızın dönemler arasındaki farkı, Yunan Alfabeti dönem ayrımı yapılmaksızın ilçeler arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05).

3.4. Flavonol içeriği

Yeşil cevizlerde tespit edilen flavonollerden rutin ve kuarsetin içerikleri Çizelge 3.' de verilmiştir. Yeşil cevizlerdeki en yüksek rutin ve kuarsetin içeriği Merkez ilçesinden 1 Haziran'da toplanan örneklerde sırasıyla 302.80 mg/kg ve 179.67 mg/kg olarak tespit edilmiştir. En düşük rutin içeriği 166.33 mg/kg ile 30 Haziran'da, en düşük kuarsetin içeriği ise 7.88 mg/kg ile 15 Haziran'da Gevaş ilçesinden toplanan örneklerde tespit edilmiştir. Rutin miktarı incelendiğinde başlangıçta yüksek olan rutin miktarının 15 Temmuz'a doğru olgunlaşma ile azaldığı görülmüştür. Merkez ve Gevaş ilçesindeki örneklerde kuarsetin miktarı 1 Haziran'da en yüksek değere sahipken 15 Haziran'a doğru keskin bir azalma göstermiş ve daha sonra 15 Temmuz'a kadar benzer seviyede kalmıştır. Edremit ilçesinden alınan örneklerde ise kuarsetin miktarı zamanla değişkenlik göstermiştir. Hasat dönemleri arasındaki farklar rutin için tüm ilçelerde, kuarsetin için ise sadece Merkez ilçesinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Shi ve ark. (2017) 25 Nisan, 11 Mayıs, 7 Haziran, 6 Temmuz, 1 Ağustos, 21 Ağustos, 2 Eylül ve 19 Eylül dönemlerinde yeşil ceviz (*Juglans sigilata Dode*) kabuğuna ait rutin değerlerini sırasıyla, 28.49, 6.00, 1.66, 1.26, 4.85, 0.94, 3.72, 2.65 mg/100g olarak bildirmişlerdir. Bildirilen çalışmada 6 Temmuz'a kadar olan dönemdeki değişim çalışmamızla benzer yönde gelişmiştir. Ancak bildirilen değerler elde ettiğimiz rutin değerlerinden daha düşüktür.

Çizelge 3. Farklı ilçelere ait farklı dönemlerde toplanan yeşil ceviz örneklerinin flavonol içerikleri (mg/kg).

	Tarih	Rutin	Kuarsetin	Toplam
Merkez	1 Haz.	302.80±0.00 ^{aA1α}	179.67±13.72 ^{aA1α}	482.48±13.73 ^{aA1α}
	15 Haz.	212.91±0.62 ^{bA2α}	10.71±0.32 ^{bB2α}	223.61±0.30 ^{bA2α}
	30 Haz.	185.54±4.89 ^{cA23α}	24.23±0.35 ^{bAB2α}	209.77±5.25 ^{bB2α}
	15 Tem.	173.94±13.06 ^{cA3α}	29.25±1.06 ^{bB2α}	203.19±14.12 ^{bA2α}
Edremit	1 Haz.	283.51±11.75 ^{aAB1α}	32.17±2.38 ^{aB1α}	315.69±14.14 ^{aB1α}
	15 Haz.	205.40±29.06 ^{bA2α}	48.64±19.30 ^{aA2α}	254.05±48.36 ^{abA2α}
	30 Haz.	187.92±6.33 ^{bA23α}	69.63±25.80 ^{aA2α}	257.55±19.46 ^{abA2α}
	15 Tem.	181.66±4.32 ^{bA3α}	53.35±0.50 ^{aA2α}	235.01±4.82 ^{bA2α}
Gevaş	1 Haz.	261.67±8.47 ^{ab1α}	82.61±60.03 ^{aAB1α}	344.29±68.51 ^{aB1α}
	15 Haz.	181.30±23.37 ^{bA2α}	7.88±0.08 ^{ab2α}	189.19±23.29 ^{bA2α}
	30 Haz.	166.33±0.09 ^{bB23α}	17.98±1.14 ^{ab2α}	184.31±1.03 ^{bB2α}
	15 Tem.	172.05±19.62 ^{bA3α}	20.02±0.03 ^{aC2α}	192.07±19.59 ^{bA2α}

Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. Küçük harfler duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı ilçeden temin edilen örneklerde dönemler arasındaki farkı, Büyük harfler aynı dönemde toplanan örneklerde ilçeler arasındaki farkı, Rakamlar ilçe ayrımı yapılmaksızın dönemler arasındaki farkı, Yunan Alfabeti dönem ayrımı yapılmaksızın ilçeler arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05).

4. Sonuç

Cevizin kimyasal bileşenleri arasında yer alan fenolik bileşikler, insan sağlığının korunması ve hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle yeşil cevizlerin yüksek oranda fenolik bileşik ve güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmesine karşın farklı hasat sürelerinde bu bileşiklerde meydana gelen değişimin belirlenmesine yönelik çalışmalar sınırlıdır. Elde edilen veriler ile cevizlerin fenolik bileşiminin ve antioksidan aktivitelerinin hasat edildiği döneme ait farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Yeşil cevizlerde en fazla bulunan fenolik bileşik juglon olup miktarı 30 Haziran döneminde en yüksektir, buna karşın tespit edilen diğer fenolik bileşikler ve yeşil cevizlerin antioksidan aktivite düzeyleri 1 Haziran döneminde en yüksek bulunmuştur. Çalışmanın yapıldığı Van iline ait bu ilçelerde cevizlerin fenolik bileşik ve antioksidan aktivite miktarı 1 Haziran'dan sonra düşüş gösterse bile yinede yüksek fenolik içeriğine ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu dolayısıyla doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirleri belirlenmiştir. Yeşil cevizden yapılan birçok ürün için yeşil cevizin acılığı temel sorundur ve bunun giderilmesi procesteki en önemli aşamadır. Yeşil cevizde juglonun hasat döneminde baskın fenolik olması bu bileşiğin acılıktan sorumlu major bileşik olabileceğini ve acılık giderme işleminde indikatör bileşik olarak kullanılabilirliğini düşündürmüştür.

Teşekkür

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince desteklenmiştir (Proje no: FBA-2016-5358).

Kaynaklar

- Alamprese, C., Pompei, C., & Scaramuzzi, F. (2005). Characterization and antioxidant activity of nocino liqueur. *Food Chemistry*, 90, 495-502.
- AOAC. (2003). *Official Methods of Analysis* (17th Ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Arranz, S., Jimenez, J. P., & Saura-Calixto, F. (2008). Antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.): Contribution of oil and defatted matter. *Eur. Food Res. Technol.*, 227, 425-431.
- Başer, S., Kazankaya, A., Doğan, A., Yaviç, A., & Çelik, F. (2016). Van gölü havzasında soğuklara dayanıklı ceviz (*Juglans regia* L.) genotiplerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(4), 632-641.

- Bakkalbaşı, E. & Artık, N. (2005). Farklı proses uygulamaları ve dolgu maddesi kullanımının ceviz şekeri bileşimine etkisi. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 9(20), 43-49.
- Bakkalbaşı, E., Menten Yılmaz, Ö., & Artık, N. (2010). Türkiye'de yetiştirilen yerli bazı ceviz çeşitlerinin fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşenleri. *Akademik Gıda*, 8, 6-12.
- Bakkalbaşı, E., Menten Yılmaz, Ö., Yemiş, O., & Artık, N. (2013). Changes in the phenolic content and free radical-scavenging activity of vacuum packed walnut kernels during storage. *Food Sci. Technol. Res.*, 19, 105-112.
- Beyhan, Ö., Özcan, A., Özcan, H., Kafkas, E., Kafkas, S., Sütyemez, M., & Ercişli, S. (2017). Fat fatty acids and tocopherol content of several walnut genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45, 437-441.
- Colaric, M., Veberic, R., Solar, A., Hudina, M., & Stampar, F. (2005). Phenolic acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L.. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 6390-6396.
- Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* 7. University of Edinburgh, England.
- Jahanbani, R., Ghaffari, M., Salami, M., Vahdati, K., & Sepehri, K. (2016). Antioxidant and Anticancer Activities of Walnut (*Juglans regia* L.) Protein Hydrolysates Using Different Proteases. *Plant Foods Hum Nutr.*, 71, 402-409.
- Kafkas, E., Burgut, A., Özcan, H., Özcan, A., Sütyemez, M., Kafkas, S., & Türemiş, N. (2017). Fatty acid total phenol and tocopherol profiles of some walnut cultivars a comparative study. *Food and Nutrition Sciences*, 8, 1074-1084.
- Kasap, İ., Atlahan, R., Özgökçe, M.S., Kaydan, M.B., Polat, E., & Yarımbatman, A. (2008). Van gölü havzası ceviz bahçelerinde saptanan zararlı akarlar ve bunlar üzerinde beslenen avcı türler. *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi*, 18(2), 99-102.
- Oguzhan, D., & Zeynep, B. D. (2016). Evaluation of the selective anticancer potential and the genetic mechanisms of the induction of apoptosis by walnut milk in human breast and prostate cancer cells. *Biomed Res.*, 27, 268-78.
- Park, S., Arasu, M. V., Jiang, N., Choi, S. H., Lim, Y. P., Park, J. T., Al-Dhabi, N. F., & Kim, S. J. (2014). Metabolite profiling of phenolics, anthocyanins and flavonols in cabbage (*Brassica Oleracea* Var. *Capitata*). *Industrial Crops and Products*, 60, 8-14.
- Pyo, Y. H., Lee, T. C., Logendra, L., & Rosen, R. T. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of swiss chard (*Beta vulgaris* *Subspecies cyclo*) extracts. *Food Chemistry*, 85, 19-26.
- Rahimipanah, M., Hamed, M., & Mirzapour, M. (2010). Antioxidant activity and phenolic contents of Persian walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract. *African Journal of Food Science and Technology*, 1, 105-111.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Rosengarten, F. (1984). *The Book of Edible Nuts*. Walker and Company, New York.
- Shah, T. I., Sharma, E., & Shah, G. A. (2015). Anti-proliferative, Cytotoxicity and Antioxidant Activity of *Juglans regia* Extract. *American J Cancer Prev.*, 3, 45-50.
- Shi, B., Zhang, W., Li, X., & Pan, X. (2017). Seasonal variations of phenolic profiles and antioxidant activity of walnut (*Juglans sigillata* Dode) green husks. *International Journal of Food Properties*, 20, 2635-2646.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-58.
- Stampar, F., Solar, A., Hudina, R., & Colaric, V. M. (2006). Traditional walnut liqueur- cocktail of phenolics. *Food Chemistry*, 95, 627-631.
- Sutyemez, M. (2016). New walnut cultivars maras 18 sutyemez 1 and kaman 1. *Hort Science*, 51, 1301-1303.
- Şen, S. M. (1986). *Ceviz Yetiştiriciliği*. Eser Matbaası, Türkiye.