



## Giresun'da Yetişen Fındık Ağacı (*Corylus avellana L.*) Yapraklarında Bazı Fenolik Bileşiklerin ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması

Mehmet Emin ŞEKER<sup>1\*</sup>, Ayça Aktaş KARAÇELİK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Medicinal and Aromatic Plants, Giresun University, Giresun, Turkey, <sup>2</sup> Department of Food Processing, Giresun University, Giresun, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-4463-6898>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-5381-2924>

✉: mehmetemin\_seker@hotmail.com

### ÖZET

Fındık (*Corylus avellana L.*), ekonomik değeri yüksek, küresel üretimi önemli olan bir üründür. Ancak fındık yaprakları ile ilgili çalışmalar bugüne kadar sınırlı kalmıştır. Bu çalışmada, Giresun'un iki ayrı bölgesinden toplanan üç çeşit (Yağlı (Tombul), Sivri ve Ham) fındık ağacı yaprağı infüzyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Analiz öncesinde ekstraktların glove box içerisinde buharlaştırılması ve örneklerin hazırlanması bu çalışmanın en kritik noktalarından birisidir. Ekstraktlarda fenolik bileşiklerin miktarları, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Fenolik bileşiklerin tayini Sıvı Kromatografi – Kütle Spektroskopometri (LC-MS/MS) ile ve toplam fenolik miktarı ise Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Antioksidan aktivite, 2,2-azino-bis(3etilbenzo-tiazolin-6-sülfonik asit (ABTS<sup>•+</sup>), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) radikal giderme aktiviteleri ve demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) yöntemleri ile test edilmiştir. Espiye Merkez'den toplanan tombul fındık ağacı yaprağı (TFE) ekstraktı en yüksek ABTS<sup>•+</sup> radikal giderme (SC<sub>50</sub>: 0.00023±3.9E-06 mg mL<sup>-1</sup>) ve FRAP (882.75±8.24 µM TEAC (Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi) antioksidan aktivitesi sergiledi. Ayrıca, Espiye Merkez'den toplanan ham fındık ağacı yaprağı (HFE) (SC<sub>50</sub>: 0.00033±1.3E-06 mg mL<sup>-1</sup>) ve tombul fındık ağacı yaprağı (TFE) (SC<sub>50</sub>: 0.00034±1.7E-06 mg mL<sup>-1</sup>) ekstraktları hemen hemen aynı DPPH<sup>•</sup> giderme aktivitesi sergiledi. TFE ekstraktı en yüksek toplam fenolik içeriğe (163.33±4.36 GAE (Gallik Asit Eşdeğeri) µg mL<sup>-1</sup> ve 228.67±6.11 KE (Katesin Eşdeğeri) µg mL<sup>-1</sup>) sahipti. Analizlenen yapraklarda gallik asit, katesin, epikatesin, taksifolin, elajik asit, kuersetin ve kafeik asit tespit edilmiştir. Giresun'dan toplanan tombul fındık yapraklarında (TFG) ve sivri fındık yapraklarında (SFY) katesin miktarları sırasıyla 192.05±1.74 ve 367.63±2.6 µg g<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

### Biyokimya

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 28.03.2022

Kabul Tarihi : 22.08.2022

### Anahtar Kelimeler

Fındık yaprağı

Antioksidan aktivite

Fenolik bileşikler

Toplam fenolik içerik

*Corylus avellana*

## Investigation of Some Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of the Hazelnut Tree (*Corylus avellana L.*) Leaves Grown in Giresun

### ABSTRACT

Hazelnut (*Corylus avellana L.*) is an essential product with high economic value in global production. However, studies on hazelnut leaves have been limited so far. In this study, three types of (Yağlı (Tombul), Sivri and Haz) hazelnut tree leaves collected from two regions of Giresun were extracted with infusion method. Evaporation of the extracts and preparation of the samples in the glove box prior to analysis is one of the most critical points of this study. It was aimed to determine the amounts of phenolic compounds, the total amount of phenolic content and antioxidant activities in the extracts. The determination of phenolic compounds was determined by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS/MS), and total phenolic content was determined by Folin-Ciocalteu method. Antioxidant activity, 2,2-azino-bis(3ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid (ABTS<sup>•+</sup>), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH<sup>•</sup>) radical scavenging activities and iron (III) reduction/antioxidant power) tested with FRAP methods. The chubby

### Biochemistry

### Research Article

### Article History

Received : 28.03.2022

Accepted : 22.08.2022

### Keywords

Hazelnut leaf

Antioxidant activity

Phenolic compounds

Total phenolic content

*Corylus avellana*

hazelnut tree leaves (TFE) extract collected from Espiye Merkez has the highest ABTS<sup>•+</sup> radical scavenging (SC<sub>50</sub>: 0.00023±3.9<sup>E-06</sup> mg mL<sup>-1</sup>) and FRAP (882.75±8.24 µM TEAC) (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) exhibited antioxidant activity. In addition, raw hazelnut tree leaves (HFE) (SC<sub>50</sub>: 0.00033±1.3<sup>E-06</sup> mg mL<sup>-1</sup>) and chubby hazelnut tree leaves (TFE) (SC<sub>50</sub>: 0.00034±1.7<sup>E-06</sup> mg mL<sup>-1</sup>) collected from Espiye Merkez extracts exhibited almost the same DPPH<sup>•</sup> scavenging activity. TFE extract had the highest total phenolic content (163.33±4.36 GAE (Gallic Acid Equivalent) µg mL<sup>-1</sup> and 228.67±6.11 CE (Catechin Equivalent) µg mL<sup>-1</sup>). Gallic acid, catechin, epicatechin, taxifolin, ellagic acid, quercetin and caffeic acid were detected in the analyzed leaves. The catechin amounts were 192.05±1.74 and 367.63±2.6 µg g<sup>-1</sup> in the chubby (TFG) and pointed hazelnut leaves (SFY), respectively.

- Atıf Şekli:** Şeker, M. & Karaçelik, A.A. (2023). Giresun'da yetişen fındık ağacı (*Corylus avellana L.*) yapraklarında bazı fenolik bileşiklerin ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması . *KSÜ Tarım ve Doğa Derg 26 (2)*, 234-244. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1094507>
- To Cite :** Şeker, M. & Karaçelik, A.A. (2023). Investigation of some phenolic compounds and antioxidant activities of the hazelnut tree (*Corylus avellana L.*) leaves grown in Giresun *KSU J. Agric Nat 26 (2)*, 234-244. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1094507>

## GİRİŞ

Betulaceae familyasına ait fındık bitkisi (*Corylus avellana L.*), Avrupa ve Asya'ya özgü bir ağaçtır. C. Avellana doğal olarak Türkiye, İspanya ve İtalya gibi ılıman iklimlerde yetişmektedir (Bottone ve ark. 2019). Her ne kadar fındık ekimi için Türkiye ve İtalya başlıca üretici ülkeler olsalar da (dünya mahsulünün %80'i), son yıllarda güney yarımküre de yeni büyüme alanları arasına girmiştir (Alaşalvar ve ark., 2006).

Dünyada çok sayıda *Corylus* türü bulunmaktadır. *Coylus avellana L.* ve melezleri, 6 m yüksekliğe kadar büyüeyebilen, yaprak döken, yuvarlak, 6-12 cm uzunluğunda ve çapraz, her iki yüzeyi yumuşak tüylü ve çift tırtıklı ağaç veya çalılar olarak fındık üretimi açısından en önemli türleri oluştururlar (Oliveira ve ark., 2007; Masullo ve ark., 2015). Fındığın (*Corylus avellana L.*) Avrupa'da geniş bir coğrafi dağılıma sahip olduğu bilinmektedir ve genellikle ekonomik nedenlerle üretimi kontrollü olarak daha ziyade ılıman ve kışların nemli geçtiği bölgelerle yapılmaktadır (Silva ve ark., 1996). Fındık, Türkiyede ise en çok Karadeniz Bölgesinde yetişmektedir ve halk için ekonomik değeri olan önemli kaynaklardan biridir (Altunpala & Bozoğlu, 2018). Fındık bu bölgede yetiştirilip işlenerek yurt içi ve yurt dışı pazarlarına sunulmaktadır (Bozoğlu ve ark, 2019). Fındık hasadının bir yan ürünü olan fındık ağacı yaprağı da günümüzde potansiyel bir doğal gıda kaynağı olarak görülmektedir (Amaral ve ark., 2005).

Bitkisel ürünlere değer kazandıran en önemli gruplardan birisi sekonder metabolitler içerisinde yer alan fenolik bileşiklerdir. Aralarında fenoliklerin de bulunduğu bitki kimyasallarının araştırılmasına yönelik çalışmalar dünyada hızla devam etmektedir. Bu ikincil bitki metabolizmasından kaynaklanan (sekonder metabolitler) bileşikler önemli biyokimyasal, fizyolojik ve ekolojik işlevler yerine

getirirler ve bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunurlar. Bilinen önemli fonksiyonları arasında oksidatif strese ve UV radyasyonuna karşı koruma, allelopati, patojenlere karşı direnci arttırma ve hücre duvarına malzeme sağlayarak yara iyileşmesine katkı sağlama bulunmaktadır (Miller & Ruiz-Larrea, 2002; Yao ve ark., 2004; Pereira ve ark., 2006; Shahidi ve ark., 2007). Fenolik bileşiklerin içerdiği bir grup olan flavonoidler, serbest radikalleri giderme konusunda büyük bir yeteneğe sahiptirler (Miller & Ruiz-Larrea, 2002). Bazı flavonoidlerin, anti-alerjik, anti-inflamatuar, antiviral, antikanserjenik, antitrombotik, antihepatotoksik ve antioksidan aktiviteler dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Shi & Noguchi, 2001; Sivam, 2002; Yao ve ark., 2004). Fındığın (*Corylus avellana L.*) yaprağının galenik preparatları, vazokonstriktör ve hemorajik özellikleri nedeniyle geleneksel tıpta varisli damarları, hemoroidal semptomatolojiyi, ülserleri ve orofarenks enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla kullanılabilir (Cunha & Pereira, 2003). Ayrıca hafif antidizanterik, antifungal ve sikatrizan özellikleri olduğu da bilinmektedir (Bruneton, 1993; Fraisse ve ark., 1999; Cunha & Pereira, 2003).

Fındık ağacı yaprakları (*Corylus avellana L.*) halk hekimliğinde genellikle infüzyon (kaynar suda bekletme) şeklinde kullanılmaktadır (Oliveira ve ark. 2007; Alfredo Bottone ve ark., 2019). Güneydoğu Avrupa ve Güney Batı Asya'ya özgü bir *Corylus* türü olan filbert (*Corylus maxima L.*) yaprağının da Türk geleneksel tıbbında, kaynatılarak egzamaların tedavisi için ya da yaprakların parçalar halinde kesilip bir beze sarılması suretiyle şişlik ve kızarıklık tedavisi için kullanılmakta olduğu Tuzlacı ve Aymaz (2001) tarafından belirtilmiştir. Bir başka çalışmada Portekiz'den toplanan 3 farklı *Corylus avellana L.* ağacı yaprağının infüzyon yöntemi ile ekstraksiyonu

yapılarak bazı fenolik bileşikleri tayin edilmiş ve ekstraktın antimikrobiyel özellikleri incelenmiştir. İlgili çalışmada ilk defa fındık ağacı yapraklarının antimikrobiyel amaçla kullanılabilmesi de önerilmiştir (Oliveira ve ark., 2007).

Bitkilerin ve ağaçların çeşitli kısımları (kök, gövde, kabuk, yaprak, çiçek vb.) mevcuttur. Bunların her biri kendine özgü ve yüksek miktarda sekonder metabolitler içermektedir. Fındığın faydaları üzerine birçok araştırma yapılmıştır ve bu konuda yeni çalışmalar yapılmaya da devam etmektedir. Bununla beraber fındık ağacı yaprakları üzerine az sayıda çalışma yayınlanmıştır ve bu çalışmaların da genellikle belirli bazı fenolik bileşikler (5-kafeoilkinik asit, mirisetin 3-ramnozid, kuersetin 3-ramnozid ve kaempferol 3-ramnozid) üzerine yoğunlaşmıştır (Riethmüller ve ark., 2013). Fındık hasadının bir yan ürünü olan fındık ağacı yaprağı çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiğinden potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olarak görülmektedir (Shahidi ve ark., 2007). Özellikle Giresun ve Ordu şehirlerinin birçok bölgesinde tonlarca fındık yetiştirilmektedir. Ancak, fındığın bir yan ürünü olarak yine her sene tonlarca ziyan olan fındık yapraklarının da potansiyel olarak nutrasötikler, diyet takviyeleri ve farmasötik veya kozmetik bileşenler olarak kullanılabilmesi bildirilmektedir (Shahidi ve ark., 2007; Alasalvar ve ark., 2006). Ayrıca yapılan çalışmalar, fındık yan ürünlerinin (yaprak, kabuk, kabuk ve yeşil yapraklı örtü) içerisinde, fındık ağacı yaprağının en yüksek toplam fenolik içeriğe ve en yüksek toplam antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Shahidi ve ark., 2007). Bu konularda yapılacak her çalışma, literatüre katkıda bulunacaktır.

Bu çalışma, fındık yaprağının halk hekimliğinde kullanımına uygun olacak şekilde, kaynar su ile ekstrakte edilerek; toplam fenolik miktarlarını, antioksidan aktivitelerini ve bu fenolik bileşiklerden bazılarının miktarlarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. İnfüzyon yöntemi çalışmanın özgün yanlarından birisini oluşturmaktadır. Çünkü literatürde fındık yapraklarına halk hekimliğindeki etkileri nedeniyle infüzyon yöntemi uygulayan sadece bir çalışma mevcuttur (Oliveira ve ark., 2007). Çalışmanın önemli yanlarından birisi de özel bir örnek hazırlama yönteminin kullanılmış olmasıdır. Bu amaçla, inorganik kimya laboratuvarlarında havaya hassas inorganik ve organometalik bileşiklerin reaksiyonu veya sentezi için kullanılan glove box (Ashby & Schwartz, 1974), fındık yapraklarından ekstrakte edilen biyoaktif bileşiklerin havayla temas etmeden elde edilmesinde kullanılmıştır. İnorganik laboratuvarlarında kullanımı yaygın olan Schlenk sistemi veya glove box gibi ortamlar, havaya hassas ve kolay oksitlenebilen biyoaktif bileşiklerin (resveratrol ve karotenoidler gibi) vakum ortamında eldesinde

nadiren kullanılmıştır (Dall ve ark., 1995, McAndrew ve ark., 2016, Şeker ve ark., 2021). Bu amaçla, çalışmada tayini yapılan biyoaktif bileşiklerin, ekstraktlardan evaporatör ve süzme pompası kullanılmadan glove box içerisinde eldesi ilk defa yapılmıştır. Ayrıca fındık yaprağı ile ilgili literatürde bulunan çalışmalarda genellikle aynı baskın biyoaktif bileşikler çalışılmıştır (Amaral ve ark., 2005; Amaral ve ark., 2010; Riethmüller ve ark.; 2013, Bottone ve ark., 2019). Bazı fenolik asitleri (kafeik, p-kumarik, ferulik ve sinapik) sadece Alaşalvar ve arkadaşları çalışmıştır (Alaşalvar ve ark., 2006; Alaşalvar ve ark., 2007). Kateşin, epikateşin, taksifolin, elajik asit, serbest kuersetin gibi fenolik bileşiklerin miktarları ise ilk defa bu çalışmada belirlenmiştir. Literatürde yer alan çalışmalarda, fındık yaprağının belirlenen antioksidan etkilerine bu fenolik bileşiklerin de katkı sağladığı yapılan çalışma ile gösterilmiş olmaktadır.

Fındık yaprağı ekstraktlarının in vitro antioksidan aktivitelerini araştırmak için 2,2-azino-bis (3etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS•+) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) radikal giderme ve demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) testleri uygulanmıştır. Bunların yanında toplam fenolik içerik Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir. Fenolik bileşiklerin tayini LC-MS/MS ile yapılmıştır. Coğrafi konum, iklim koşulları ve tarımsal uygulamalar gibi çeşitli faktörler bitkilerin kimyasal bileşimini etkileyeceğinden dolayı (Amaral ve ark., 2010) Giresun şehrinde iki bölgeden, aynı türe ait üçer farklı yaprak örnekleri üzerinde çalışılmıştır.

## MATERYAL ve METOD

### Reaktifler ve Kimyasallar

Kateşin, epikateşin, taksifolin, kuersetin, gallik asit, ferulik asit, kafeik asit, elajik asit standartları Sigma Aldrich'den (Steinheim, Germany), HPLC saflıkta çözücü metanol, etil asetat, ekstraksiyon sırasında kullanılan sodyum klorür (NaCl) ve kurutmada kullanılan sodyum sülfat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) Merck (Darmstadt, Germany) firmasından satın alınmıştır.

Toplam fenolik ve antioksidan aktivite tayinlerinde kullanılan DPPH•, 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazin (TPTZ), Folin-Ciocalteu reaktif fenol ve Trolox® (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) Sigma Aldrich'den (Steinheim, Germany) satın alınmıştır. Deneylerde kullanılan ultra saf deiyonize su Sartorius ultra saf su arıtma sisteminden elde edilmiştir.

### Örnekleme yerleri

Bu çalışmada kullanılan fındık yaprakları, Giresun Merkez Osmaniye ve Giresun Espiye Kale bölgelerinden toplanmıştır. Bu amaçla kullanılan fındık ağacı yaprakları ve kodları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Fındık ağacı çeşitleri ve karşılarında yaprakların toplandığı yerler ve kısaltmaları.  
Table 1. Hazelnut tree varieties and the places where the leaves are collected and their abbreviations.

<b>Fındık Ağacı Yaprağı (Hazelnut Tree Leaf)</b>	<b>Toplandığı Yer (Kısaltması) (Gathering Place (Abbreviation))</b>
Tombul fındık ağacı yaprağı 1	Giresun Merkez (TFG)
Sivri fındık ağacı yaprağı 1	Giresun Merkez (SFG)
Ham fındık ağacı yaprağı 1	Giresun Merkez (HFG)
Tombul fındık ağacı yaprağı 2	Espiye Merkez (TFE)
Sivri fındık ağacı yaprağı 2	Espiye Merkez (SFE)
Ham fındık ağacı yaprağı 2	Espiye Merkez (HFE)

### Fenolik Bileşiklerin Sıvı Kromatografi/Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) ile Analizi

LC-MS/MS analizleri C18 kolon (ODS Hypersil, 4.6\*250mm 5µm) kullanılarak 30 °C'de ve 0.7 mL dak-1 akış hızında yapılmıştır (Şeker ve ark., 2021). Enjeksiyon hacmi 20µL ve toplam analiz süresi 20 dakikadır. Mobil faz olarak A: %0.1 formik asitli su ve B: %100 metanol kullanılmıştır. Analiz test koşulları Çizelge 2'de gösterilmiştir.

LC-MS/MS analizlerine ait alıkonma zamanları, çarpışma enerjileri ve ürünler Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 2. LC-MS/MS hareketli faz şartları.  
Table 2. LC-MS/MS mobile phase conditions.

Dakika Minute	%A (% 0.1 Formik Asitli Su) A% (0.1% Formic Acid Water)	%B (%100 Metanol) B% (100% Methanol)
0	100	0
1	100	0
12	5	95
15	5	95
20	0	100

Çizelge 3. LC-MS/MS analizine ait bazı değerler.  
Table 3. Some values of LC-MS/MS analysis.

Alıkonma Zamanı (dakika) Retention Time (minute)	Analizlenen Madde Analyzed Substance	Ana İyon Parent Ion	Ürün İyon Product Ion	Çarpışma Enerjisi (eV) Collision Energy (eV)
8.92	Gallik Asit	169.7	80.50	25
			126.20	16
10.92	Kateşin	289.2	245.70	17
			203.90	22
11.26	Epikateşin	291.5	139.30	16
			123.30	15
11.80	Kafeik Asit	179.7	136.20	18
			135.20	27
12.57	Taksifolin	303.0	126.20	23
			285.50	15
12.88	Ferulik Asit	195.4	89.40	30
			177.40	7
13.99	Ellagik Asit	300.9	229.70	28
			284.50	32
14.67	Kuersetin	301.00	152.10	23
			179.90	10

LC-MS/MS analizi için kapiler sıcaklığı 300 °C, buharlaştırıcı sıcaklığı 350 °C, dengeleyici gaz basıncı 30 psi, aux gaz basıncı 4 psi, pozitif ve negatif sprey voltajları 2500 V olarak ayarlanmıştır.

### Örnek Hazırlama ve Ekstraksiyon

Giresun ilinin iki ayrı bölgesinden *Corylus avellana* türünün 3 farklı varyetesine ait yaprakları hasat zamanı toplanmıştır. Yapraklar gölgede ve açık havada kurutulmuştur. Ardından yapraklar öğütülerek toz haline getirilmiş ve her bir tür için

10.000 ± 0.010 g'lık 3 paralel örnek tartılmıştır. Örnekler 150 mL kaynayan suda 15 dakika ekstrakte edildikten sonra oda sıcaklığına kadar soğumaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığına kadar soğumuş olan ekstrakt önce santrifüjlenip daha sonra kalan süspansiyon süzülerek ayrılmıştır. Süzülerek ayrılan koyu renkli çözelti üzerine doygunluğa kadar tuz (NaCl) eklenmiştir (Masquelier, 1987). Çöken kısımlar tekrar santrifüjlendikten sonra kalan süspansiyon tanecikler süzülerek ayrılmıştır. Elde edilen açık renkli çözelti 25 mL etil asetat ile 3 kez ekstrakte

edikten sonra (Tallini ve ark., 2015) etil asetat fazları toplanmış ve etil asetat içinde kalabilecek su, sodyum sülfat ile kurutulmuştur. Konvansiyonel yöntemlerde ise elde edilen etil asetat faz evaporatör yardımıyla 50°C'de deriştirilmekte ve derişik kısım alınarak üzerine kloroform eklenmektedir (Masquelier, 1987). Böylece fenolik bileşikler çökertilmekte, çökelek vakum pompası yardımıyla süzülerek açık havada elde edilmekte ve kurutulmaktadır. Biyoaktif bileşiklerin kolay bozunabildiği, ısı etkisi, oksijen varlığı ve pH gibi faktörlere bağılı olarak oksidasyona uğrayıp farklı türlere dönüştüğü, renklerinin değıştığı bu durumun da sonuçları etkilediği bilinmektedir (Biesaga ve ark., 2014; Lucille Pourcel ve ark., 2007). Bu nedenle kalan etil asetat faz konvansiyonel yöntemlerden farklı olarak evaporatörde değıl, vakumda azot gazı altında glove box içinde tamamen uçurulmuştur. Süzme için vakum pompası kullanılmadığından elde edilen çökelti oksijensiz ortamda izole edilmiştir. Bu yöntemle elde edilen çökelti hem evaporatörün ısısına maruz kalmamış hem de havayla teması engellenmiştir. Elde edilen bej renkli katı kısım %25 (h/h)'lik metanol/su çözücüsünde çözülmüş ve analize kadar +4 °C buzdolabında saklanmıştır.

### Folin-Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik Madde Tayini

Fındık ağacı yaprak ekstraktlarının toplam fenolikleri Slinkard ve Singleton yöntemine göre standart olarak gallik asit ve kateşin kullanılarak bazı modifikasyonlarla Folin-Ciocalteu reaktifi ile belirlenmiştir (Slinkard & Singleton, 1977). Bütün numuneler stok çözeltiden 1:4 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır. 50 µL numune çözeltisi 2.5 mL damıtılmış su ile seyreltilmiş ve 250 µL 0.2 N Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Vortekslenedikten ve 3 dakikalık bir inkübasyon periyodundan sonra 750 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (% 7.5) ilave edilmiş ve karışım vortekslenmiştir. Daha sonra 2 saat boyunca ortam sıcaklığında inkübe edildikten sonra 765 nm'de absorbans ölçülmüştür. Her bir numune ve standart konsantrasyonu 3 paralel çalışılmıştır. Ayrıca her bir numune ve standardın her bir konsantrasyonu için numune ve reaktif körü çalışılmıştır. Toplam fenolik içerik, gallik asit ve kateşin standartlarının 15.6-1000 µg mL<sup>-1</sup> konsantrasyon aralığında ayrı ayrı çizilen kalibrasyon grafikleri kullanılarak, mL numunesi başına µg gallik asit ya da kateşin eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

### Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Kuvvet (FRAP) Yöntemi

Bu çalışmada kullanılan yöntem, daha sonraları geliştirilen TPTZ-Fe (II) kompleksinin verdiği absorbansın ölçümüne dayanmaktadır (Benzie & Strain, 1999). Bütün numunelerin aktiviteleri, 31.25-1000 µM aralığında Troloks kullanılarak elde edilen

kalibrasyon grafiğı hazırlanarak, mikromolar TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) olarak belirlenmiştir. Bütün numuneler stok çözeltiden 1:4 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır. Yöntemde kısaca, 50 µL' lik örnek 1.5 mL FRAP reaktifi ile karıştırılmıştır (asetat tamponu, TPTZ ve FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) ve oda sıcaklığında 20 dakikalık inkübasyon sonunda 595 nm'de absorbanslar okunmuştur.

### ABTS•+ Radikal Giderme Yöntemi

ABTS•+ radikal giderme yöntemi, Re ve arkadaşları (1999) tarafından modifiye edilen prosedüre dayanmaktadır. Kısaca, 7 mM ABTS ve 2.45 mM potasyum persülfat çözeltileri karıştırılmıştır. ABTS radikal katyonunu (ABTS<sup>+</sup>) hazırlamak için 16-20 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Kullanıma hazır hale gelen mavi-yeşil renkli ABTS•+ radikal çözeltisi, 734 nm'de gösterdiği absorpsiyon 0.70 (±0.02) olacak şekilde seyreltilmiştir. Her bir deney tüpüne 50 µL numune + 1950 µL ABTS radikal çözeltisi pipetlenmiştir. 20 dakika oda sıcaklığındaki inkübasyon sonunda 734 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Her bir numune ve standart konsantrasyonu iki paralel çalışılmıştır. Ayrıca numune/standardın her bir konsantrasyonu için birer kör çalışılmıştır. Bulunan absorbansa karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğı geçirilerek SC<sub>50</sub> değerleri mg mL<sup>-1</sup> cinsinden hesaplanmıştır.

### DPPH• Radikal Giderme Yöntemi

Radikal giderme aktivitesi yaygın olarak kullanılan DPPH radikali kullanılarak test edilmiştir (Cuendet ve ark., 1997). Bütün numunelerde ön deneme yapılarak çalışma aralığı belirlendi ve standartlar (BHT, Troloks,) değışik konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Öncelikle gerekli tüplere numuneler pipetlendi ve daha sonra eşit hacimde (750 µL) 100 µM metanolik DPPH• çözeltisi eklenerek vortekslenmiş ve 50 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Süre sonunda DPPH•'ın maksimum absorbans verdiği 517 nm'de absorbanslar okunmuştur. Hesaplamalarda paralellerin ortalaması alınarak kör değerleri bu ortalamadan çıkarılmıştır. Bulunan absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğı geçirilerek SC<sub>50</sub> değerleri mg mL<sup>-1</sup> cinsinden hesaplanmıştır.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

#### LC-MS/MS ile Fenolik Bileşen Analizi

Fındık yaprağı ile yapılan az sayıdaki çalışmada, yapraktaki baskın türlerin myricetin, kaempferol ve quercetin ile bunların türevlerinden oluştuğu görülmektedir. Bu çalışmalarda ekstraksiyon işlemleri genellikle metanol ve etil asetat kullanılarak yapılmıştır. Yaprak içeriklerinin ve miktarlarının belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemler HPLC-DAD ve LC-MS/MS'tir. *Corylus maxima* türlerinde

mirisetin-3-O-ramnozid ve kuersetin-3-O-ramnozid miktarlarının sırasıyla 30 ve 20  $\mu\text{g mg}^{-1}$  olduğu bildirilirken (Riethmüllera ve ark., 2015) *Corylus avellana* türlerinde ise bu miktarların daha da yüksek olduğu gösterilmiştir (Riethmüllera ve ark., 2013;

2016). Bunların dışında yaprakta çok çeşitli fenolik bileşiklerin de olduğu belirtilmektedir (Riethmüllera ve ark., 2013). Fakat bunlar üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır ve sonuçları karşılaştıracak araştırma bulunmamaktadır.

Çizelge 4. Fındık ağacı yapraklarındaki fenolik bileşiklerin kantitatif sonuçları ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Table 4. Quantitative results of phenolic compounds in hazelnut tree leaves ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Fenolik Bileşik Phenolic Compound	TFG	SFG	HFG	TFE	SFE	HFE
Gallik Asit Gallic Acid	1.65±0.04	22.57±0.13	4.90±0.01	4.24±0.01	5.88±0.02	5.21±0.02
Kateşin Catechin	192.05±1.74	367.63±2.6	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
Kateşin Türevi Catechin Derivative	T.E.	T.E.	776.15±6.12	868.26±6.71	451.2±3.16	1441.51±12.16
Epikateşin Epicatechin	6.84±0.06	22.70±0.12	33.01±0.22	31.44±0.19	13.32± 0.03	38.25±0.24
Taksifolin Taxifolin	0.84±0.02	0.73±0.01	2.60±0.02	0.54±0.00	0.71±0.00	1.89±0.00
Elajik Asit Ellagic Acid	9.58±0.03	2.54±0.01	4.56±0.03	8.16±0.03	3.00±0.01	6.156±0.02
Kuersetin Quercetin	5.56±0.01	1.26±0.11	4.10±0.02	5.16±0.02	0.77±0.00	2.13±0.01
Kafeik Asit Caffeic Acid	0.54±0.00	10.62±0.03	7.44±0.03	11.15±0.03	5.23±0.02	1.98±0.00
Ferulik Asit Ferulic Acid	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.

T.E. Tespit Edilemedi (T.E.)

Veriler, üçlü ölçümlerin ortalama  $\pm$ SD (standart sapma) olarak temsil edilir.

Türkiye’de Giresun fındığı ve kısımları ile ilgili Alaşalvar ile arkadaşları tarafından çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde fındık yaprağında 5 çeşit fenolik asit (gallik asit, kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asit ve sinapik asit) aranmış ve bunların miktarları belirlenmiştir. Sonuçlar bu maddelerin serbest ve esterleşmiş halleri olarak toplam miktarlar halinde verilmiştir (Alaşalvar ve ark., 2007).

Bu çalışmada ise, sinapik ve kumarik asitler analizlenmemiş bunların yerine taksifolin, kateşin epikateşin, elajik asit ve kuersetin miktarları tayin edilmeye çalışılmıştır. Analiz sonuçları Alaşalvar ve ark. (2007) sonuçlarıyla genel olarak uyuşmakla birlikte Giresun Osmaniye ve Giresun Espiye’den toplanan ağaç yapraklarında ferulik asit bulunamamıştır. Alaşalvar ve ark. (2007) ferulik asit ve diğer fenolik asitlerin miktarını toplam olarak (serbest + esterleşmiş toplamı) verdiği için serbest miktarın olup olmadığı belli değildir. Örneğin çotanak (fındığı saran yaprak benzeri kılıf) ile yaptıkları bir çalışmada esterleşmiş halde ferulik asit ve kafeik asit bulunmuşken serbest halde ferulik asit ve kafeik asit bulunmadığı bildirilmiştir (Alaşalvar ve ark., 2006). Alaşalvar, ve ark. (2007) yapraklardaki toplam gallik asit miktarını 157  $\mu\text{g g}^{-1}$  ekstrakt olarak ifade ederken, TFG ve SFG örneklerinde sırasıyla en düşük ve en

yüksek serbest gallik asit miktarları 1.65-22.57  $\mu\text{g g}^{-1}$  olarak bulunmuştur (Çizelge 4). Yine bulunan kafeik asit miktarları karşılaştırılacak olursa, Alaşalvar ve ark. (2007) toplam kafeik asit miktarını gram ekstrakt başına 362 mikrogram bulurken TFG ve TFE örneklerinde serbest kafeik asit miktarları gram örnek başına 0.538-11.152 mikrogram olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar toplam örnek miktarı (g) üzerinden verildiği için Alaşalvar ve arkadaşlarının ekstrakt üzerinden ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) verilen sonuçlarına göre daha düşük çıkmıştır (Alaşalvar ve ark., 2006; Alaşalvar ve ark., 2007).

Bu fenolik asitlerin dışında fındık yapraklarında kateşinler ve diğer fenoliklerin miktarları üzerine literatürde çalışma bulunmamaktadır. Analizlenen örneklerden Giresun Osmaniye’den toplanan yağlı ve sivri fındık ağacı yapraklarında yüksek miktarlarda kateşin bulunurken diğer ağaç yapraklarında yüksek miktarlarda kateşin türevleri olduğu tespit edilmiştir. Yine tüm türlerde epikateşin tespit edilmiştir. Bu anlamda fındık yaprağının kateşin türevleri bakımından zengin bir kaynak olduğu anlaşılmaktadır. Kateşin, epikateşin, taksifolin, elajik asit ve serbest kuersetin miktarları ilk defa bu çalışmada tayin edilmiştir. *Corylus avellana* türlerinde mirisetin türevlerinin %60 oranında antioksidan aktiviteye katıldığı bildirilmiştir

(Riethmüllera ve ark., 2016). Diğer türlerin hepsinin antioksidan özellik gösteren ve antioksidan aktiviteye katkıda bulunan fenolik bileşenler olduğu bilindiğinden dolayı geri kalan %40'lık antioksidan aktiviteye bu türlerin de etkisi olduğu anlaşılmaktadır. Sekonder metabolitlerin içeriklerinin aynı fındık türü ve ürünleri için bölgeden bölgeye, mevsimden mevsime veya farklı fındık türüne göre de değiştiği görülmektedir (Amaral ve ark., 2010). Fındık yapraklarının halk hekimliğindeki kullanımları dikkate alındığında, diğer çözenler yerine infüzyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar, insan sağlığı üzerindeki etkilerin değerlendirilmesinde daha belirleyici olacaktır.

### Antioksidan aktivite

Bu çalışmada fındık ağacı yaprak ekstraktlarının antioksidan potansiyellerini belirlemek için DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> ve FRAP yöntemleri kullanılmıştır (Çizelge 5). Ayrıca Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde (TPC) miktarı tayin edilmiştir. ABTS<sup>•+</sup> ve DPPH<sup>•</sup> test sonuçları SC<sub>50</sub> (mg mL<sup>-1</sup>) (başlangıç radikal konsantrasyonunu yarıya düşüren numune konsantrasyonu), FRAP sonuçları μM TEAC (Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) ve TPC sonuçları gallik asit eşdeğeri (GAE μg mL<sup>-1</sup>) ve kateşin eşdeğeri (KE, μg mL<sup>-1</sup>) olarak ifade edilmiştir. SC<sub>50</sub> değerinin düşük olması, TEAC değerinin yüksek olması ve TPC miktarının yüksek olması yüksek antioksidan aktivitenin olduğunu göstermektedir (Karaçelik ve ark., 2015; Şeker ve ark., 2021).

Çizelge 5. Fındık yaprağı ekstraktlarının ve standartların toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi<sup>x</sup>  
Table 5. Total phenolic content and antioxidant activity of hazelnut leaf extracts and standards<sup>x</sup>

Numune ve standartlar / Samples and standards	TPC (GAE, μg mL <sup>-1</sup> )	TPC (KE, μg mL <sup>-1</sup> )	Antioksidan aktivite / Antioxidant Activity		
			DPPH <sup>•</sup> giderme (SC <sub>50</sub> , mg mL <sup>-1</sup> )	ABTS <sup>•+</sup> giderme (SC <sub>50</sub> , mg mL <sup>-1</sup> )	FRAP (TEAC, μM)
HFG	105.95±4.59	148.33±6.43	0.00060±1.6E <sup>-05</sup>	0.00045±3.6E <sup>-06</sup>	496.27±1.80
HFE	99.29±1.24	139.00±1.73	0.00033±1.3E <sup>-06</sup>	0.00026±1.4E <sup>-05</sup>	481.18±8.17
TFG	96.67±1.65	135.33±2.31	0.00231±1.0E <sup>-05</sup>	0.00161±2.7E <sup>-05</sup>	416.08±9.88
TFE	163.33±4.36	228.67±6.11	0.00034±1.7E <sup>-06</sup>	0.00023±3.9E <sup>-06</sup>	882.75±8.24
SFG	108.33±3.38	151.67±4.73	0.00088±1.4E <sup>-05</sup>	0.00068±6.0E <sup>-06</sup>	514.12±13.76
SFE	138.57±6.89	194.00±9.64	0.00051±1.1E <sup>-05</sup>	0.00043±5.1E <sup>-06</sup>	615.69±10.79
Troloks	NT	NT	0.00391±2.7E <sup>-05</sup>	0.00342±1.9E <sup>-04</sup>	#
BHT	NT	NT	0.00899±1.7E <sup>-04</sup>	0.00053±9.9E <sup>-06</sup>	NT
Gallik asit	#	NT	NT	NT	NT
Kateşin	NT	#	NT	NT	NT

<sup>x</sup>: Test sonuçları, üç deneyin ortalama ± standart hatası (SD) olarak ifade edilmiştir.

#: TEAC değerlerinin hesaplanmasında kalibrasyon eğrisi oluşturmak için Trolox ve TPC değerlerini elde etmek için gallik asit ve kuersetin kullanıldı. NT: Test edilmedi. TPC: Toplam fenolik içerik. DPPH<sup>•</sup>: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil. ABTS<sup>•+</sup>: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit). FRAP: Demir (III) indirgeme / antioksidan kuvvet. TEAC: Trolox eşdeğer antioksidan kapasite. SC<sub>50</sub>: %50 radikal gidermeye neden olan antioksidan konsantrasyonu. BHT: Bütillenmiş hidroksitoluen. GAE: Gallik asit eşdeğeri. KE: kateşin eşdeğeri.

Bütün numuneler çalışılan konsantrasyonlarda oldukça etkili DPPH<sup>•</sup> ve ABTS<sup>•+</sup> giderme aktivitesi sergilemiştir (Çizelge 5). Numuneler DPPH test sonuçlarına göre, BHT'den yaklaşık 2.30-27.24 kat Troloks'dan ise yaklaşık 1.69-11.85 kat daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. ABTS test sonuçlarına göre, numuneler Troloks'dan yaklaşık 2,12-14,87 kat BHT'den 1,18-2,30 kat daha yüksek radikal giderme aktivitesi göstermiştir. Fındık ağacı yapraklarının sulu ekstraktları arasında HFE ve TFE sulu ekstraktları en yüksek DPPH<sup>•</sup> (SC<sub>50</sub>: 0.00033±1.3E<sup>-06</sup> mg mL<sup>-1</sup> ve SC<sub>50</sub>: 0.00034±1.7E<sup>-06</sup> mg mL<sup>-1</sup>) ve ABTS<sup>•+</sup> (SC<sub>50</sub>: 0.00026±1.4E<sup>-05</sup> mg mL<sup>-1</sup> ve 0.00023±3.9E<sup>-06</sup> mg mL<sup>-1</sup>) radikal giderme aktivitesi, TFG sulu ekstraktı (SC<sub>50</sub>: 0.00231±1.0E<sup>-05</sup> mg mL<sup>-1</sup> ve SC<sub>50</sub>: 0.00161±2.7E<sup>-05</sup> mg mL<sup>-1</sup>) ise en düşük antioksidan aktivite göstermiştir. DPPH<sup>•</sup> ve ABTS<sup>•+</sup> radikal giderme test sonuçları arasında yüksek bir

doğrusal korelasyon katsayısı (R<sup>2</sup>:0.9962) belirlenmiştir. Ayrıca, Çizelge 5 'e göre Giresun Osmaniye'den toplanan numuneler (HFG, SFG ve TFG) ile Espiye Kale'den toplanan numunelerin (HFE, SFE ve TFE) karşılaştırılmasında en yüksek aktiviteye Espiye Kale'den toplanan numunelerin sahip olduğu görülmüştür.

Fındık yaprağı sulu ekstraktlarının demir (III) indirgeme / antioksidan kuvveti (FRAP) çalışması ilk defa bu çalışmada yapılmıştır. Numunelerin demir (III) indirgeme kuvvetleri 882.75±8.24, 615.69±10.79, 514.12±13.76, 496.27±1.80, 481.18±8.17 ve 416.08±9.88 μM TEAC olup Çizelge 5'de gösterilmiştir. FRAP sonuçları karşılaştırıldığında demir indirgeme potansiyeli en yüksek TFE (882.75±8.24 μM TEAC) olup antioksidan aktivitesi en yüksektir. En düşük FRAP değeri TFG (416.08±9.88 μM TEAC) numunesinde tespit edilmiştir. FRAP değerleri ile TPC

değerlerine karşı çizilen lineer grafikte, iki yöntemin sonuçları arasında iyi bir pozitif korelasyon tespit edilmiştir ( $R^2$ : 0.9359).

Fındık ağacı yapraklarının sulu ekstraktlarındaki toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitelerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir (Çizelge 5). TPC miktarları GAE cinsinden  $96.67 \pm 1.65$  -  $163.33 \pm 4.36$   $\mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında olup KE cinsinden  $135.33 \pm 2.31$  -  $228.67 \pm 6.11$   $\mu\text{g mL}^{-1}$  aralığındadır. TFE ekstraktı diğer ekstraktlar ile karşılaştırıldığında en yüksek toplam fenolik içeriğe ( $163.33 \pm 4.36$  GAE  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ve  $228.67 \pm 6.11$  KE  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) sahip olduğu gözlenmiştir. TFG ekstraktı, diğer fındık ağacı yapraklarından elde edilen ekstraktlardan önemli ölçüde daha düşük bir fenolik içeriğe ( $96.67 \pm 1.65$  GAE  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ve  $135.33 \pm 2.31$  KE  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) sahiptir. TFE ekstraktının, antioksidan aktivite testlerinde yüksek aktivite göstermesi nispeten toplam fenolik madde miktarının yüksek olmasının sonucu olabilir.

Literatür ile kıyaslama yapmak için en yüksek antioksidan aktiviteye sahip HFE ve TFE ekstraktlarının  $0.0004$   $\text{mg mL}^{-1}$  konsantrasyondaki %DPPH• giderme aktivitesi sırasıyla %60.47 ve %58.25 ve %ABTS•+ giderme aktivitesi sırasıyla %76.87 ve %85.62 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, *C. avellana* L. yapraklarının sulu ekstraktları ( $0.5$   $\text{mg mL}^{-1}$ 'de %93.1) (Oliveira ve ark., 2007) ve fındık metanol ekstraktları ( $2$   $\text{mg mL}^{-1}$ 'de %14.2) (Moure ve ark., 2001) için literatürde açıklanan %DPPH• giderme aktivite değerlerinden daha yüksektir. Oguzkan ve arkadaşları, yüksek konsantrasyonlarda *C. avellana* L. tipi fındığın yeşil kabuk ve yaprak ekstraktlarının DPPH• giderme aktivitesinin ( $\text{EC}_{50}$ :  $3.42$   $\mu\text{g mL}^{-1}$  ve  $\text{EC}_{50}$ :  $52.52$   $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) standartlara kıyasla daha düşük antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmiştir (Oguzkan ve ark., 2016). Bir başka çalışmada, maserasyon, infüzyon ve SLDE-Naviglio gibi farklı ekstraksiyon prosedürleri kullanarak hazırlanan *C. avellana* L. cv. Tonda di Giffoni yaprak ekstraktlarının ABTS•+ giderme aktivite değerleri  $\text{EC}_{50}$ :  $1.15 \pm 0.02$  -  $1.62 \pm 0.01$   $\text{mg mL}^{-1}$  aralığında olup DPPH• giderme aktivite değerleri  $\text{EC}_{50}$ :  $100.33 \pm 2.68$  -  $195.08 \pm 3.81$   $\mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında tespit edilmiştir (Cerulli ve ark., 2018). Fenolik bileşiklerin kanser, kalp hastalığı ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların riskini azalttığı literatürde bildirilmiştir (Shahidi ve ark., 2015; Costa ve ark., 2017). Fenolik bileşiklerin bu özellikleri sahip oldukları antioksidan özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Riethmuller ve ark., 2016). Hem fındık çekirdeğinde hem de yan ürünlerinden (fındık zarı, sert kabuk, yeşil yapraklı örtü, ağaç yaprağı gibi) elde edilen ekstraktların güçlü antioksidan aktiviteler sergiledikleri bildirilmiştir (Alasalvar ve ark., 2006; Alasalvar & Shahidi, 2009; Bolling ve ark., 2011; Alasalvar & Bolling, 2015). *C. avellana*'nın yan ürünlerinden elde edilen ekstraktların fındık çekirdeğine göre daha güçlü antioksidan aktivite

sergiledikleri görülmüştür (Alasalvar ve ark., 2006; Oliveira ve ark., 2007; Shahidi ve ark., 2007; Cerulli ve ark., 2017; Esposito ve ark., 2017; Cerulli ve ark., 2018; Bottone ve ark., 2019). Bu çalışmadan elde edilen veriler fındık çekirdeği ve kabuğuna ek olarak fındık ağacı yapraklarının da potansiyel olarak mükemmel ve kolayca bulunabilen bir doğal antioksidan kaynak olarak düşünülebileceğini ortaya koymuştur.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma sonuçlarına göre *C. avellana* yapraklarının kayda değer bir antioksidan fenolik kaynağı olduğu öne sürülebilir. Ayrıca fındığın farklı kısımlarından elde edilen ekstraktların, çeşitli oksidatif stresle ilişkili hastalıkların tedavisi için yeni doğal antioksidan ürünler geliştirmek açısından ayrıntılı farmakolojik çalışmalar için değerlendirilebileceğini de göstermektedir. Fındık yaprağındaki antioksidan etkiye majör türler dışında kateşin, epikateşin, elajik asit, taksifolin, gallik asit, kafeik asit ve kuersetin gibi fenolik bileşiklerin de katkısı olduğu ifade edilebilir. Örnek ekstraksiyonlarının infüzyon yöntemi ile yapılması ve bu şekilde elde edilen ekstraktların antioksidan etkilerinin incelenmesi, halk hekimliğindeki kullanıma uygun olduğu için önemlidir. Son olarak tayini yapılan fenolik bileşiklerin havaya hassas oldukları için glove box içinde, havayla hiç temas etmeden elde edilerek çözeltilere alınmaları ve analize gönderilmeleri bu türlerin oksidasyona uğramamaları açısından önemlidir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı FEN-BAP-A-140316-69 proje numarası ile destekleyen Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna, Glove Box kullanımındaki yardımlarından dolayı Dr. Ahmet KARAÇELİK ve Prof. Dr. Saim TOPÇU'ya teşekkür ederiz.

## Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## KAYNAKLAR

- Alasalvar, C., & Bolling, B. W. (2015). Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. *British Journal of Nutrition*, *113*(S2), S68-S78. <https://doi.org/10.1017/S0007114514003729>
- Alasalvar, C., Karamać, M., Amarowicz, R., & Shahidi, F. (2006). Antioxidant and antiradical activities in



- extracts of hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut green leafy cover. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4826-4832. <https://doi.org/10.1021/jf0601259>
- Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2009). Natural antioxidants in tree nuts. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111(11), 1056-1062. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900098>
- Amaral, J. S., Ferreres, F., Andrade, P. B., Valentão, P., Pinheiro, C., Santos, A., & Seabra, R. (2005). Phenolic profile of hazelnut (*Corylus avellana* L.) leaves cultivars grown in Portugal. *Natural product research*, 19(2), 157-163. <https://doi.org/10.1080/14786410410001704778>
- Ashby, E. C., & Schwartz, R. D. (1974). A glove BOX system for the manipulation of air sensitive compounds. *Journal of Chemical Education*, 51(1), 65. <https://doi.org/10.1021/ed051p65>
- Altunpala, B., & Bozoğlu, M. (2018). Fındık İşletmelerinin Destekleme Düzeyine Bağlı Yetiştirme İstekliliği. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(1), 161-167. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.472179>
- Benzil, I. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*, 299, 15-27.
- Biesaga, M. (2011). Influence of extraction methods on stability of flavonoids. *Journal of chromatography A*, 1218(18), 2505-2512. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.059>
- Bolling, B. W., Chen, C. Y. O., McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2011). Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutrition research reviews*, 24(2), 244-275. <https://doi.org/10.1017/S095442241100014X>
- Bottone, A., Cerulli, A., D'Urso, G., Masullo, M., Montoro, P., Napolitano, A., & Piacente, S. (2019). Plant specialized metabolites in hazelnut (*Corylus avellana*) kernel and byproducts: an update on chemistry, biological activity, and analytical aspects. *Planta medica*, 85(11/12), 840-855. <https://doi.org/10.1055/a-0947-5725>
- Bozoğlu, M., Başer, U., Topuz, B. K., & Eroğlu, N. A. (2019). An overview of hazelnut markets and policy in Turkey. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(5), 733-743. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.v22i45606.532645>
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. *Lavoisier, Paris*, 1120.
- Cerulli, A., Lauro, G., Masullo, M., Cantone, V., Olas, B., Kontek, B., ... & Piacente, S. (2017). Cyclic diarylheptanoids from *Corylus avellana* green leafy covers: determination of their absolute configurations and evaluation of their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Natural Products*, 80(6), 1703-1713. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00703>
- Cerulli, A., Masullo, M., Montoro, P., Hošek, J., Pizza, C., & Piacente, S. (2018). Metabolite profiling of "green" extracts of *Corylus avellana* leaves by 1H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 160, 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.07.046>
- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., & Dyatmiko, W. (1997). Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, 80(4), 1144-1152. <https://doi.org/10.1002/hlca.19970800411>
- Cunha, A. P., Silva, A. P., & Roque, O. R. (2003). Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes ativos e fitoterapia. Plantas e produtos vegetais em fitoterapia. *Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian*, 100.
- Dall, W., Smith, D. M., & Moore, L. E. (1995). Carotenoids in the tiger prawn *Penaeus esculentus* during ovarian maturation. *Marine Biology*, 123(3), 435-441. <https://doi.org/10.1007/BF00349222>
- Esposito, T., Sansone, F., Franceschelli, S., Del Gaudio, P., Picerno, P., Aquino, R. P., & Mencherini, T. (2017). Hazelnut (*Corylus avellana* L.) shells extract: phenolic composition, antioxidant effect and cytotoxic activity on human cancer cell lines. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 392. <https://doi.org/10.3390/ijms18020392>
- Fraisse, D., Carnat, A., Carnat, A. P., & Lamaison, J. L. (1999, September). Standardization of hazel leaf. In *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 57(5), 406-409.
- Karaçelik, A. A., Küçük, M., Iskefiyeli, Z., Aydemir, S., De Smet, S., Miserez, B., & Sandra, P. (2015). Antioxidant components of *Viburnum opulus* L. determined by on-line HPLC-UV-ABTS radical scavenging and LC-UV-ESI-MS methods. *Food chemistry*, 175, 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.085>
- Masullo, M., Cerulli, A., Olas, B., Pizza, C., & Piacente, S. (2015). Giffonins A-I, antioxidant cyclized diarylheptanoids from the leaves of the hazelnut tree (*Corylus avellana*), source of the Italian PGI Product "Nocciola di Giffoni". *Journal of Natural Products*, 78(1), 17-25. <https://doi.org/10.1021/np5004966>
- Masquelier, J. (1987). *U.S. Patent No. 4,698,360*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

- McAndrew, R. P., Sathitsuksanoh, N., Mbughuni, M. M., Heins, R. A., Pereira, J. H., George, A., ... & Adams, P. D. (2016). Structure and mechanism of NOV1, a resveratrol-cleaving dioxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(50), 14324-14329. <https://doi.org/10.1073/pnas.1608917113>
- Miller, N. J., & Ruiz-Larrea, M. B. (2002). Flavonoids and other plant phenols in the diet: Their significance as antioxidants. *Journal of nutritional & environmental medicine*, *12*(1), 39-51. <https://doi.org/10.1080/13590840220123352>
- Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., & Lema, J. M. (2001). Antioxidant activity of extracts from Gevuina avellana and Rosa rubiginosa defatted seeds. *Food Research International*, *34*(2-3), 103-109. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00136-8](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00136-8)
- Oğuzkan, S. B., Uğraş, S., Can, M., Uzun, A., Ülger, S., Üzmez, Ş., ... & Uğraş, H. İ. (2016). Biological activity analysis of hazelnut (Corylus avellana L.) green shell and leaf extracts. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, *19*(4), 373-378.
- Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreira, I. C., Ferreres, F., ... & Pereira, J. A. (2007). Hazel (Corylus avellana L.) leaves as source of antimicrobial and antioxidative compounds. *Food chemistry*, *105*(3), 1018-1025. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.059>
- Pereira, J. A., Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., ... & Bento, A. (2006). Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(22), 8425-8431. <https://doi.org/10.1021/jf061769j>
- Pourcel, L., Routaboul, J. M., Cheynier, V., Lepiniec, L., & Debeaujon, I. (2007). Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in plant science*, *12*(1), 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.11.006>
- 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*(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Riethmüller, E., Alberti, Á., Tóth, G., Béni, S., Ortolano, F., & Kéry, Á. (2013). Characterisation of Diarylheptanoid-and Flavonoid-type Phenolics in Corylus avellana L. Leaves and Bark by HPLC/DAD-ESI/MS. *Phytochemical Analysis*, *24*(5), 493-503. <https://doi.org/10.1002/pca.2452>
- Riethmüller, E., Könczöl, Á., Szakál, D., Végh, K., Balogh, G. T., & Kéry, Á. (2016). HPLC-DPPH screening method for evaluation of antioxidant compounds in Corylus species. *Natural Product Communications*, *11*(5), 1934578X1601100522. <https://doi.org/10.1177/1934578X1601100522>
- Riethmüller, E., Tóth, G., Alberti, Á., Végh, K., Burlini, I., Könczöl, Á., ... & Kéry, Á. (2015). First characterisation of flavonoid-and diarylheptanoid-type antioxidant phenolics in Corylus maxima by HPLC-DAD-ESI-MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, *107*, 159-167. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.12.016>
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, *18*, 820-897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shahidi, F., Alasalvar, C., & Liyana-Pathirana, C. M. (2007). Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (Corylus avellana L.) and hazelnut byproducts. *Journal of agricultural and food chemistry*, *55*(4), 1212-1220. <https://doi.org/10.1021/jf062472o>
- Shi, H., Noguchi, N., & Niki, E. (2001). Introducing natural Antioxidants. *Antioxidants in food: practical applications*, 147-158.
- Silva, A. P., Ribeiro, R. M., Santos, A., & Rosa, E. (1996). Blank fruits in hazelnut (Corylus avellana L.) cv. 'Butler': characterization and influence of climate. *Journal of Horticultural Science*, *71*(5), 709-720. <https://doi.org/10.1080/14620316.1996.11515451>
- Hurst, W. J. (2008). *Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420007152>
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, *28*(1), 49-55.
- Şeker, M. E., Ay, E., KaraÇelİK, A. A., HÜseyİnoğlu, R., & Efe, D. (2021). First determination of some phenolic compounds and antimicrobial activities of Geranium ibericum subsp. jubatum: A plant endemic to Turkey. *Turkish Journal of Chemistry*, *45*(1), 60-70. <https://doi.org/10.3906/kim-2005-38>
- Şeker, M. E., Çelik, A., Dost, K., & Erdoğan, A. (2021). Investigation of Phenolic Content in Five Different Pine Barks Species Grown in Turkey by HPLC-UV and LC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, *59*(6), 491-501. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmab022>
- Tallini, L. R., Pedrazza, G. P., Bordignon, S. A. D. L., Costa, A. C., Steppe, M., Fuentesfria, A., & Zuanazzi, J. A. (2015). Analysis of flavonoids in Rubus erythrocladus and Morus nigra leaves extracts by liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *25*, 219-227. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.04.003>

Tuzlacı, E., & Aymaz, P. E. (2001). Turkish folk medicinal plants, part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia*, 72(4), 323-343. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00277-X](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00277-X)

Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant foods for human nutrition*, 59(3), 113-122. <https://doi.org/10.1007/s11130-004-0049-7>