



Bartın İlinde Yetiştirilen Fındığın (*Corylus avellana* L.) Zurufunun (Yeşil Yapraklı Kabuk) Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi

Investigation on the Antioxidant Properties of Husks (Green Leafy Covers) of Hazelnut (*Corylus avellana* L.) Grown in Bartın

Mehmet KURTÇA

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, KONYA

email: mehmet.kurtca@selcuk.edu.tr

 0000-0003-3432-3871

ÖZET

Antioksidanlar insan vücudunda biriken serbest radikalleri temizleyerek, vücudun çeşitli hastalıklardan korunmasını sağlayan önemli yapılardır. Vücutta enzim, hormon ve protein olarak birçok antioksidan mevcuttur. Bunların dışında doğal olarak birçok besinde bulunan vitaminler, tanenler, flavonoidler, fenolik bileşikler gibi çok sayıda antioksidan madde de vardır. Fındık antioksidan madde içeren besinlerin başında gelmektedir. Ülkemizde bolca yetişen ve ülkemiz ekonomisine katkısı olan bir bitkidir. Fındık hasadı ve işlenmesi sırasında zuruf, kabuk, iç zar gibi yan ürünler ortaya çıkmakta fakat bu ürünlerden çok fazla ekonomik katkı sağlanamamaktadır. Bu çalışma fındık yan ürünü olan zurufun yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğunu ve sanayide farklı alanlarda kullanılarak ekonomiye katkı sağlanabileceğini göstermek amacıyla yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda Bartın ilinde yetiştirilen tombul fındık (*Corylus avellana* L.) türünün zurufları taze olarak toplanmış, su, aseton, su-aseton ve etanol gibi farklı çözücülerle ekstresi elde edilmiştir. Elde edilen ekstrelerin toplam fenolik, ve flavonoid miktarı, DPPH serbest radikal süpürücü aktivite, ABTS katyon radikal giderim aktivitesi ve Bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi tayinlerine (CUPRAC) bakılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde fındık zurufunun yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca su-aseton ekstresinin, diğer ekstrelere göre toplam fenolik miktar (273.56 ± 10.12 mg/g ekstre), DPPH (18.74 ± 0.87 µg/ml), ABTS (4.78 ± 0.56 µg/ml) ve CUPRAC

Gönderilme Tarihi: 19 Kasım 2020
Kabul Tarihi : 17 Mart 2020

(8.74±2.13 µg/ml) aktivitelerinde en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fındık, zuruf, yeşil yapraklı kabuk, antioksidan, DPPH, ABTS, CUPRAC, toplam fenolik miktar

ABSTRACT

Antioxidants are important structures that protect the body from various diseases by clearing the free radicals accumulated in the human body. There are many antioxidants in the body like enzymes, hormones, and proteins. Apart from these, there are many antioxidant substances such as vitamins, tannins, phenolic acids, flavonoids, which are naturally found in many foods. Hazelnuts are one of the foods that contain antioxidants. It is a plant that grows in abundance in our country and contributes to the country's economy. During the hazelnut harvest and processing, it also occurs by-products such as husk, shell, and skin and there is not much economic contribution from these products. This study was carried out to show that hazelnut husks which are a by-product of hazelnut also have high antioxidant properties and can be used in different fields in the industry to contribute to the economy. For this purpose, husks of the plump hazelnut (*Corylus avellana* L.) species grown in Bartın were freshly collected and extracted with different solvents such as water, water-acetone, acetone, and ethanol. The obtained extract of total phenolics and flavonoid amount, DPPH free radical scavenging activity, ABTS cation radical removal activity, and copper (II) reducing the determination of antioxidant capacity (CUPRAC) were measured. When the results were examined, it was seen that hazelnut husks had high antioxidant properties. In addition, the total phenolic amount (273.56 ± 10.12 mg / g extract), DPPH (18.74 ± 0.87 µg / ml), ABTS (4.78 ± 0.56 µg / ml) and CUPRAC (8.74 ± 2.13 µg / ml) activities of water-acetone extract compared to other extracts has been determined to give the best results.

Keywords: Hazelnut, husk, green leafy cover, antioxidant, DPPH, ABTS, CUPRAC, total phenolic amounts.

1. GİRİŞ

İnsan vücudunda zaman zaman metabolik reaksiyonlar sırasında UV ışınları, radyasyon, stres, sigara, alkol, ilaçlar gibi dış nedenlere bağlı olarak son derece aktif yapılar olan serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri oluşabilir. Antioksidanlar, vücutta bulunan oksitlenme özelliğine sahip maddelerin bu aktif yapılar tarafından oksidasyonunu önlemekte veya geciktirmektedir. Antioksidanların bu özelliği sayesinde kanser, kalp hastalıkları, diyabet, akciğer hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın ve hızlı yaşlanmanın önüne geçilebilmektedir (Cornelli, 2009; Matsingou ve ark., 2000; Yılmaz, 2010). Vücutta enzim, hormon ve protein olarak birçok antioksidan görev yapmakta ve bu antioksidanlarla serbest radikaller arasında bir denge bulunmaktadır. Fakat yaşlanmayla birlikte vücuttaki bu denge bozulur. Bu durumda dışarıdan beslenme yoluyla doğal kaynaklı antioksidan alınarak denge yeniden sağlanır ve serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı vücut yeniden korunmuş olur (Koca ve Karadeniz, 2005; Tawaha ve ark., 2007). Doğada antioksidan kaynağı olarak meyve, sebze, tahıl, bitki ve baharat gibi birçok ürün bulunmaktadır. Bu kaynakların içerisinde antioksidan bileşik olarak, fenolik asitler, flavonoidler, polifenoller, çeşitli vitaminler, tanenler ve çinko, bakır, selenyum gibi mineraller mevcuttur (Brewer, 2011; Khanduja ve Bhardwaj, 2003).

Güçlü antioksidan özelliğe sahip besinlerden biri de fındıktır. Kalp dostu bir besin olarak bilinen fındık yapısında yağ, karbonhidrat ve protein gibi ana bileşenlerin yanı sıra, fenolik asitler (kafeik asit, kumarik asit, ferulik asit, gallik asit, sinapik asit), flavonoidler (mirsetin, kamferol, kersetin), suda ve yağda çözünen çeşitli vitaminler (E vitamini, C vitamini, folik asit, tiamin, riboflavin, biotin, niasin, pridoksin, pantotenik asit) ve tanenler gibi antioksidan özellikte birçok sekonder metabolit de bulundurmaktadır. Fındığın iç çekirdeği ile birlikte çeşitli diğer kısımlarında da bu bileşiklere rastlanmaktadır (Alasalvar ve ark., 2008; Amaral ve ark., 2006; Köksal ve ark., 2006; Piccinelli ve ark., 2016). Nitekim yapılan bazı araştırmalar fındığın sert kabuk (Shahidi ve ark., 2007; Sürek ve Büyükkileci, 2018), iç zar (Piccinelli ve ark., 2016; Şahin ve ark., 2019), zuruf (yeşil yapraklı kabuk) (Alasalvar ve ark., 2006; Cerulli ve ark., 2017; Fernández-Agulló ve ark., 2012; Oğuzkan ve

ark., 2016), yaprak (Oğuzkan ve ark., 2016; Oliveira ve ark., 2007) ve dal (Sürek ve Büyükkileci, 2018) kısımlarının da antioksidan özelliği gösterdiğini bildirmektedir.

Ülkemiz dünyada fındık üretim ve ihracatında yaklaşık % 70'lik bir oranla ilk sırada bulunmaktadır. Bu özelliği ile fındık üretimi ülke ekonomisine oldukça önemli bir katkı sağlamaktadır (Özgüven ve ark., 2020). Diğer taraftan fındık üretimi sırasında binlerce ton yan ürün açığa çıkmakta ve düşük bir ekonomik değer olarak kullanılmaktadır. Örneğin fındığın yaprak, zuruf, dal, sert kabuk gibi kısımları tarlalarda yakılmakta veya evlerde yakıt olarak kullanılmaktadır. Ayrıca fındık içinin kavrulması sırasında açığa çıkan iç zar hayvan yem sanayinde kullanılmaktadır (Çöpür ve ark., 2013; Guney, 2013; Ozyurt ve Otles, 2018; Şahin ve ark., 2019; Sürek ve Büyükkileci, 2018). Oysa bu yan ürünlerde bulunan antioksidan bileşenler geri kazanılabilir ve fitoterapötik ürünlere dönüştürülerek ekonomiye katma değer sağlanabilir. Bu çalışmanın amacı Bartın ilinde yetiştirilen fındığın atık olarak kullanılan zuruf kısmının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi ve literatürdeki fındık ile ilgili yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırılarak fındık zuruf kısmının fitoterapötik ürün olarak kullanılabilirliğinin değerlendirilmesidir.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Deney Materyali

Çalışmada örnek olarak Bartın bölgesinde yetişen tombul fındık (*Corylus avellana* L.) türü ağaçlarından toplanan fındıkların taze zuruf (yeşil yapraklı kabuk) kısımları kullanılmıştır. Fındıklar ağaçlarından hasat mevsiminden önce yeşil iken toplanmış ve zuruf kısımları fındığın kabuklu çekirdek kısmından ayrılmıştır. Ayrılan yeşil zuruflar kesici aletlerle parçalanarak ekstraksiyon işlemi için kullanılmak üzere -18 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

2.2. Ekstraksiyon İşlemi

Küçük parçalar haline getirilen taze fındık zuruflarından 100'er g alınarak sokslet aparatında su, aseton ve etanol çözücülerini ile 10-12 saat ayrı ayrı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Diğer taraftan taze zuruf parçalarından 100 g alınarak 250 ml'lik balon içerisine konulmuş üzerine 200 ml su-aseton (1:1) karışımı eklenmiştir. Ara ara çalkalanmak suretiyle birkaç gün bekletilen karışım süzülüp alındıktan sonra örnek üzerine yine su-aseton (1:1)

karışımı eklenerek aynı işlem üç kez tekrarlanmıştır. Elde edilen su-aseton çözeltileri en son bir araya getirilmiştir. Ekstraksiyon işlemlerinden sonra organik fazlar 40 °C'de vakum altında evaporatörde (Buchi, Schweiz, Switzerland) uzaklaştırılmıştır. Daha sonra elde edilen tüm katı ekstratlar tartılarak her biri için verim hesabı yapılmıştır.

2.3. Antioksidan Aktivite Tayini

2.3.1. DPPH serbest radikal süpürücü aktivite tayini

DPPH serbest radikal süpürücü aktivite tayini Blois (1958) yöntemine göre yapılmıştır. Tüm katı ekstratlar, 250 µg/mL, 500 µg/mL ve 1000 µg/mL, DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) stok çözeltisi 6×10^{-5} mol/L konsantrasyonda olacak şekilde gerekli miktarlar tartılmış ve etanolde (%75'lik) çözülmüştür. Her örnekten deney tüplerine, mikropipet yardımıyla 300 µL alınarak üzerlerine 2700 µL DPPH çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra tüpler oda sıcaklığında, karanlıkta 20 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin absorbanası 517 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan etanole karşı Shimadzu UV-1800 UV-VIS Spektrofotometre cihazında okunmuştur. Örneklerin DPPH serbest radikaline karşı % inhibisyonları aşağıdaki eşitlikte verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen % süpürücü etkilerinin ortalaması ± standart hata olarak verilmiştir. Ayrıca DPPH serbest radikalinin % 50'sini gideren konsantrasyon olan IC₅₀ değeri de µg/ml olarak verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

A1 = DPPH stok çözeltisinin 517 nm dalga boyundaki absorbanası

A2 = Örnek çözeltilerinin 517 nm dalga boyundaki absorbanası

2.3.2. ABTS kation radikali giderim aktivite tayini

ABTS⁺ giderim aktivite spektrofotometrik analizi Re vd. (1999)'nin geliştirdiği metoda göre yapılmıştır. ABTS⁺ kasyonu, 7 mM suda çözülmüş ABTS [2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu] ile 2,45 mM potasyum persülfatın (K₂S₂O₈) sulu çözeltisi karıştırılıp yaklaşık 12 saat karanlıkta oda sıcaklığında bekletilerek elde edilmiştir. ABTS⁺ çözeltisi kullanılmadan önce 734 nm'deki absorbanası $0,708 \pm 0,025$ 'ye gelene kadar

etanolle seyreltilmiştir. Daha sonra etanolde çözülerek hazırlanan 25 µg/ml, 50 µg/mL, 100 µg/mL ve 200 µg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerden 600 µL alınarak her birinin üzerlerine 2400 µL ABTS⁺ çözeltisi eklenmiştir. Karışım 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 734 nm'deki absorbansları kör olarak kullanılan etanole karşı Shimadzu UV-1800 UV-VIS Spektrofotometre cihazında okutulmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış % ABTS giderim aktivitesi aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Ayrıca % 50 radikal giderici ekstre konsantrasyonu olan IC₅₀ değerleri µg/ml olarak verilmiştir.

$$\text{ABTS giderim aktivitesi (\%)} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

A_{kontrol} = ABTS⁺ çözeltisinin 734 nm dalga boyundaki absorbansı

$A_{\text{örnek}}$ = Örnek çözeltilerin 734 nm dalga boyundaki absorbansı

2.3.3. Bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi tayini (CUPRAC)

Örneklerin ekstrelerinin bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi tayini Apak vd. (2004)'nin geliştirdiği CUPRAC metoduna göre yapılmıştır. Metoda göre 10 mM suda çözülmüş Cu (II), 7,5 mM neokuprin çözeltisi ve 1 M pH 7,0 olan amonyum asetat (NH₄Ac) tamponunun her birinden test tüpüne 1'er mL alınmış farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış örneklerin her birinden üzerlerine toplam hacim 4,1 mL olacak şekilde eklenmiştir. Tüplerin ağzı kapatılarak 1 saat boyunca oda sıcaklığında beklenmiştir. Daha sonra karışımların 450 nm dalga boyunda etanole karşı absorbansları Shimadzu UV-1800 UV-VIS Spektrofotometre cihazında okunmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış sonuçlar absorbanlarının ortalaması ± standart hata olarak verilmiştir. Ayrıca 0.50 absorbansa karşı ölçülen konsantrasyon olan A_{0.50} değeri µg/ml olarak verilmiştir.

2.4. Toplam Fenolik Miktar Tayini

Toplam fenolik miktarını tayin etmek için Singleton vd. (1965)'nin modifiye ettiği Folin-Ciocalteau yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan bitki ekstreleri 1 mg/mL olacak şekilde etanolde çözülmüştür. Sonra örnekten 20 µL

alınır, üzerine sırasıyla 1580 µL distile su, 100 µL Folin-Ciocalteau reaktifi ve 300 µL %20'lik sodyum karbonat (Na₂CO₃) çözeltisi eklenmiştir. Diğer taraftan kalibrasyon eğrisini oluşturabilmek için 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL konsantrasyonlarda gallik asit dilüsyonları hazırlanmış ve örnek yerine gallik asit dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Tüm tüpler 40 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda absorbanslar 765 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan etanole karşı Shimadzu UV-1800 UV-VIS Spektrofotometre cihazında ölçülmüştür. Her örnek 2 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbansından, gallik asit kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam fenol konsantrasyonu gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrenin toplam fenol miktarı mg/g ekstre ± standart hata olarak verilmiştir.

2.5. Toplam Flavonoid Miktar Tayini

Toplam flavonoid miktarını tayin etmek için Woisky ve Salatino (1998)'nin geliştirdiği alüminyum klorür (AlCl₃) kolorimetrik yöntemi uygulanmıştır. Hazırlanan bitki ekstreleri, konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde etanolde çözülmüştür. Daha sonra örnekten tüplere 500 µL konulmuştur. Üzerine sırasıyla 1500 µL etanol, 100 µL %10'luk AlCl₃, 100 µL 1 M sodyum asetat çözeltisi ve 2800 µL distile su eklenmiştir. Diğer taraftan kalibrasyon eğrisini oluşturabilmek için 0,125 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,50 mg/mL, 1,0 mg/mL konsantrasyonlarda kuersetin kalibrasyon çözeltileri hazırlanmış ve örnek yerine kuersetin dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Karışımlar 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda absorbanslar 415 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan etanole karşı Shimadzu UV-1800 UV-VIS Spektrofotometre cihazında okunmuştur. Her örnek 2 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbansından, kuersetin kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam flavonoid konsantrasyonu kuersetin eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrenin toplam flavonoid miktarı mg/g ekstre ± standart hata olarak verilmiştir.

2.6. İstatistik Analiz

İstatistiksel analizler, SPSS 16.0 paketi ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrasında Tukey Testi ile p<0.05 önem

derecesinde yapılmıştır. Antioksidan analizleri 3, toplam fenolik ve toplam flavonoid miktar analizleri 2 tekrar yapılarak sonuçlar ortalama değerler ve standart hata değerler ile verilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Verim

Fındık zurufu farklı çözücülerdeki ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildikten sonra elde edilen ekstrenin verimi tartılarak g/100 g kuru örnek olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan verimler Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Fındık zuruf ekstralarının verimleri (g/100 g kuru örnek)

Ekstre	Verim (g/100 g kuru örnek)
Su	26.77
Su-aseton	27.00
Aseton	17.63
Etanol	29.90

Çizelge 1 incelendiğinde en yüksek verimin 29.9 g/100 g kuru örnek ile etanol ekstresinde olduğu görülmektedir. En düşük verimin ise aseton ekstresinde (17.63 g/100 g kuru örnek) olduğu tespit edilmiştir.

3.2. DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesine Ait Bulgular

Fındık zurufunun tüm ekstralarının DPPH serbest radikal süpürücü aktiviteleri 25 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml

(reaksiyon ortamında) konsantrasyonlarında denenmiş ve konsantrasyon arttıkça % aktivitenin de arttığı gözlenmiştir. Aktiviteler % inhibisyon ve IC₅₀ (µg/ml) olarak hesaplanmış ve Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2 incelediğinde tüm ekstralarda 100 µg/ml konsantrasyonda en yüksek aktivitelerin gözlemlendiği saptanmıştır. IC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında en iyi DPPH serbest süpürücü aktivitenin su-aseton ekstresinde (18.74±0.87 µg/ml) olduğu, daha sonra sırayla su (35.50±1.22 µg/ml), etanol (41.12±2.16 µg/ml) ve aseton (44.28±3.66 µg/ml) ekstralarının geldiği görülmektedir. Ayrıca 1:1 oranında su-aseton karışımıyla elde edilen ekstrenin aktivitesinin yalnızca su ve yalnızca aseton ile elde edilen ekstralardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Diğer taraftan su-aseton ekstresinin aktivitesinin (18.74±0.87 µg/ml) referans olarak kullanılan α-tokoferol'ün aktivitesine (7.31±0.17 µg/ml) en yakın değer olduğu da belirlenmiştir.

3.3. ABTS Katyon Radikalı Giderim Aktivitesine Ait Bulgular

Tüm ekstraların ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml ve 40 µg/ml (reaksiyon ortamında) denenmiş, sonuçlar % aktivite olarak ve IC₅₀ (µg/ml) olarak verilmiştir (Çizelge 3.).

Çizelge 3'teki verilere bakıldığında tüm ekstralarda konsantrasyon arttıkça % aktivitelerin de arttığı

Çizelge 2. Fındık zuruf ekstralarının DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesine ait bulgular

DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki

Ekstre	% inhibisyon ± S.H. ^a			IC ₅₀ (µg/ml) ± S.H. ^a
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	
Su	40.29±2.22	63.86±0.94	84.86±0.99	35.50±1.22
Su-aseton	64.94±0.55	86.98±0.75	87.82±1.36	18.74±0.87
Aseton	33.68±8.74	59.76±4.72	83.28±3.99	44.28±3.66
Etanol	37.57±1.46	59.76±0.75	82.64±1.88	41.12±2.16
α-tokoferol	*	*	97.45±0.91	7.31±0.17

a: Standart hata (n=3)

p<0.05

*: Ölçüm yapılmadı

görülmektedir. Elde edilen sonuçlar DPPH serbest radikal giderim aktivite tayinindeki sonuçlarla paralellik göstermektedir. Ekstreler IC₅₀ değerlerine göre karşılaştırıldığında yine DPPH aktivite tayininde olduğu gibi en yüksek aktivitenin su-aseton ekstresinde

3.4. Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Kapasitesi Tayinine (CUPRAC) Ait Bulgular

Elde edilen tüm ekstrelerin bakır (II) indirgeme antioksidan kapasiteleri farklı konsantrasyonlarda denenmiş 450 nm'deki absorbanları ve A_{0.50} (µg/ml) değerleri Çizelge 4'te

Çizelge 3. Fındık zuruf ekstrelerinin ABTS katyon giderim aktivitelerine ait bulgular

Ekstre	% aktivite ± S.H. ^a				IC ₅₀ (µg/ml) ± S.H. ^a
	5 µg/ml	10 µg/ml	20 µg/ml	40 µg/ml	
Su	41.49±2.87	53.61±1.92	73.57±1.30	94.87±0.57	8.06±1.12
Su-aseton	49.00±0.60	67.79±1.09	93.85±1.54	95.48±1.00	4.78±0.56
Aseton	38.83±2.38	52.03±2.43	69.74±2.28	93.29±0.34	9.78±2.15
Etanol	39.58±1.49	51.89±2.40	72.59±2.23	94.87±0.69	9.20±1.74
α-tokoferol	*	*	*	96.48±0.87	4.31±0,10

a: Standart hata (n=3)

p<0.05

*: Ölçüm yapılmadı

(4.78±0.56 µg/ml) olduğu ortaya konmuştur. Aktivite sıralamasında su-aseton ekstresini sırasıyla su (8.06±1.12 µg/ml), etanol (9.20±1.74 µg/ml) ve aseton (9.20±1.74 µg/ml) ekstreleri takip etmektedir. Ayrıca su-aseton ekstre aktivitesinin (4.78±0.56 µg/ml), referans olarak kullanılan α-tokoferol'ün aktivitesi (4.31±0,10 µg/ml) ile çok yakın olduğu tespit edilmiştir.

verilmiştir. Ekstrelerin hepsinde konsantrasyon artışıyla birlikte absorban değerlerinde bir artış yani aktivitede artış olduğu Çizelge 4'te görülmektedir. Diğer taraftan A_{0.50} (µg/ml) değerleri ekstrere arasında karşılaştırıldığında en yüksek aktivitenin yine diğer antioksidan tayinlerinde olduğu gibi su-aseton ekstresinde (8.74±2.13 µg/ml) olduğu tespit edilmiştir. Su-aseton ekstresini sırasıyla su (9.83±1.21 µg/ml) , aseton (14.30±1.41 µg/ml) ve etanol

Çizelge 4. Fındık zuruf ekstrelerinin bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi tayinine ait bulgular

Ekstre	Bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi (450 nm'deki absorban± S.H. ^a)				A _{0.50} (µg/ml) ± S.H. ^a
	31.25 µg/ml	62.5 µg/ml	125 µg/ml	250 µg/ml	
Su	0.658±0.03	1.258±0.03	2.297±0.06	3.740±0.03	9.83±1.21
Su-aseton	0.972±0.06	1.878±0.03	3.238±0.12	4.000±0.00	8.74±2.13
Aseton	0.610±0.05	1.144±0.06	2.000±0.08	3.391±0.04	14.30±1.41
Etanol	0.564±0.08	1.088±0.05	1.930±0.04	3.352±0.01	18.96±0.65
α-tokoferol	*	*	*	2.220±0.01	0.54 ± 0.01

a: Standart hata (n=3)

p<0.05

*: Ölçüm yapılmadı

(18.96±0.65 µg/ml) ekstreleri takip etmektedir.

3.5. Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktar Tayinine Ait Bulgular

Ekstrele ait toplam fenolik miktar tayinleri gallik asit eşdeğeri olarak, flavonoid miktar tayinleri kuersetin eşdeğeri olarak hesaplanmış ve değerler mg/g ekstre olarak verilmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5'teki veriler incelendiğinde su-aseton ekstresinin (273.56±10.12 mg/g) toplam fenolik miktarı en yüksek olarak görülmektedir. Su-aseton ekstresini sırasıyla su (257.69±46.99 mg/g), etanol (189.67±5.46 mg/g) ve aseton (172.49±17.48 mg/g) ekstreleri takip etmektedir. Diğer taraftan toplam flavonoid miktarları karşılaştırıldığında toplam fenolik miktarlarından farklı bir sonuç ortaya çıkmakta ve en yüksek miktarın su ekstresinde (10.61±3.96 mg/g) olduğu dikkati çekmektedir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmadan elde edilen tüm veriler incelendiğinde fındık zurufundaki toplam fenolik miktarı ile antioksidan aktiviteleri arasında bir bağlantı olduğu dikkati çekmektedir (Çizelge 6).

Çizelge 6 incelendiğinde toplam fenolik madde miktarı ile tüm antioksidan aktivitelerinde paralellik olduğu görülmektedir. Tüm ekstreler karşılaştırıldığında toplam fenolik madde miktarı en yüksek olan su-aseton ekstresi çıkarken, diğer taraftan DPPH serbest radikal süpürücü etki, ABTS katyon radikal giderim aktivitesi ve bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi tayinlerinin tümünde yine su-aseton ekstresinin en yüksek aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer ekstrelere bakıldığında da toplam fenolik miktarı düşük olan ekstrenin antioksidan aktivitelerinin daha düşük olduğu göze çarpmaktadır. Buradan yola çıkarak ekstrelerin antioksidan kapasitelerinin, içerdikleri

Çizelge 5. Fındık zuruf ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid miktar tayinlerine ait bulgular

Ekstre	Toplam Fenolik Miktar (mg/g ^a ± S.H. ^c)	Toplam Flavonoid Miktar (mg/g ^b ± S.H. ^c)
Su	257.69±46.99	10.61±3.96
Su-aseton	273.56±10.12	1.73±0.44
Aseton	172.49±17.48	4.16±0.58
Etanol	189.67±5.46	5.33±0.36

a: mg/g ekstre Gallik asit eşdeğeri

b: mg/g ekstre Kurtsetin eşdeğeri

c: Standart hata (n=2)

p<0.05

Çizelge 6. Fındık zuruf ekstrelerinin toplam fenolik miktar ve antioksidan aktivitelerinin karşılaştırılması

Ekstre	Toplam Fenolik Miktar (mg/g ^a ± S.H. ^b)	DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki IC ₅₀ (µg/ml) ± S.H. ^b	ABTS Katyon Radikal Giderim Aktivitesi IC ₅₀ (µg/ml) ± S.H. ^b	Bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi A _{0.50} (µg/ml) ± S.H. ^b
Su	257.69±46.99	35.50±1.22	8.06±1.12	9.83±1.21
Su-aseton	273.56±10.12	18.74±0.87	4.78±0.56	8.74±2.13
Aseton	172.49±17.48	44.28±3.66	9.78±2.15	14.30±1.41
Etanol	189.67±5.46	41.12±2.16	9.20±1.74	18.96±0.65

a: mg/g ekstre Gallik asit eşdeğeri

b: Standart hata

toplam fenolik miktara bağlı olduğu söylenebilmektedir. Diğer taraftan ekstrelerde en yüksek verim etanol ekstresinde görülürken toplam fenolik madde miktarı ise su-aseton ekstresinde belirlenmiştir. Bu farklılığın nedeni olarak etanol ekstresi içerisinde fenolik bileşenler dışında çözülmüş başka bileşiklerin de bulunduğu söylenebilir.

Yapılan bu çalışmada literatürde pek karşılaşılmayan fındığın zuruf kısmı kullanılmıştır. Fındık ağacının besin olarak kullanılan çekirdek kısmının antioksidan özelliği ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Fakat yaprak (Oğuzkan ve ark., 2016; Oliveira ve ark., 2007; Shahidi ve ark., 2007), dış kabuk (Shahidi ve ark., 2007; Sürek ve Büyükkileci, 2018), iç zar (Piccinelli ve ark., 2016; Şahin ve ark., 2019; Shahidi ve ark., 2007), dal (Sürek ve Büyükkileci, 2018) ve zuruf (Alasalvar ve ark., 2006; Cerulli ve ark., 2017; Fernández-Agulló ve ark., 2012; Oğuzkan ve ark., 2016; Shahidi ve ark., 2007; Sürek ve Büyükkileci, 2018) gibi yan ürün olan kısımları ile ilgili antioksidan çalışmaları sınırlıdır. Alasalvar ve ark. (2006) yaptığı bir çalışmada Giresun tombul fındığının zuruf kısmını güneşte kurutarak etanol-su (80:20) ve aseton-su (80:20) karışımlarında ekstraksiyonunu gerçekleştirmişler ve elde edilen ekstrelerin toplam fenolik ve DPPH serbest radikal giderici aktivitelerine bakmışlardır. Toplam fenolik miktarları etanol-su ve aseton-su ekstreslerinde sırasıyla 156 ± 1.0 ve 201 ± 2.0 mg kateşin eşdeğer/ g ekstre olarak hesaplanmıştır. DPPH serbest radikal süpürücü aktiviteleri ise IC50 olarak hesaplanmış etanol-su ve aseton-su ekstreslerinde sırasıyla 0.074 ± 0.002 ve 0.065 ± 0.002 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Fındık zurufu ile yapılan bir diğer çalışmada Fernández-Agulló ve ark. (2012) fındık zurufunu kurutarak farklı çözücülerdeki ekstralarının toplam fenolik miktar, DPPH, ABTS ve FRAP demir indirgeme antioksidan kapasitesi aktivitelerini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlarda en yüksek toplam fenolik miktar 13.43 ± 0.20 g Gallik asit eşdeğer/ 100 g ekstre ile etanol-su (1:1) ekstresinde bulunmuştur. En yüksek DPPH (0.155 ± 0.002 mg/ml) ve ABTS (0.988 ± 0.008 mg/ml) aktivitelerinin yine aynı ekstrede olduğunu tespit etmişlerdir. Oğuzkan ve ark. (2016) ise yaptıkları çalışmada fındık zurufunun metanol ekstresinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesine bakmışlar ve sonucu IC50 cinsinden $3.42 \mu\text{g/ml}$ olarak bulmuşlardır. Shahidi ve ark. (2007) fındık zurufunun etanol-su (80:20) ekstresi ile

yaptıkları çalışmada toplam fenolik miktar 127.3 ± 0.7 mg kateşin eşdeğer/ g ekstre, DPPH aktivitesi ise 50 ppm'de % 97.3 ± 0.1 , 100 ppm'de % 99.5 ± 0.1 olarak belirlenmiştir. Çalışmada Bartın ilinde yetiştirilen tombul fındık türü kullanılmıştır. Yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak fındığın zurufu taze yeşil olarak toplanıp kurutulmadan kullanılmıştır. Ayrıca çalışmada fındık zurufunun dört farklı ekstresi (su, su-aseton, aseton, etanol) ile üç farklı antioksidan aktivite tayini (DPPH, ABTS, CUPRAC) yapılmıştır. Tüm ekstraların toplam fenolik miktar tayininin yanında toplam flavonoid miktar tayini de çalışılmıştır. Elde ettiğimiz toplam fenolik miktar, DPPH ve ABTS aktivite sonuçlarına bakıldığında özellikle su-aseton ekstresinin sonuçlarının literatürde yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlarla karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu söylenebilir. Bu çalışma ile fındığın zuruf kısmının da antioksidan özelliğinin yüksek olduğu fındık ağacının besin olarak kullanılan çekirdek kısmıyla birlikte atık olarak görülen bu kısmının da farklı alanlarda değerlendirilebileceği görülmüştür. Diğer taraftan zurufun yüksek antioksidan özelliğe sahip olması, yapılacak diğer biyolojik çalışmalara ışık tutmaktadır.

5. KAYNAKLAR

- Alasalvar, C., Hoffman, A., ve Shahidi, F. (2008). Antioxidant Activities and Phytochemicals in Hazelnut (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut By-Products. In *Tree Nuts: Composition, Phytochemicals, and Health Effects* (Issue December, pp. 217–235). CRC Press.
- Alasalvar, C., Karamać, M., Amarowicz, R., ve 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.
- Amaral, J. S., Casal, S., Citová, I., Santos, A., Seabra, R. M., ve Oliveira, B. P. P. (2006). Characterization of several hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars based in chemical, fatty acid and sterol composition. *European Food Research and Technology*, 222, 274–280.
- Brewer, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221–247.

- Cerulli, A., Lauro, G., Masullo, M., Cantone, V., Olas, B., Kontek, B., Nazzaro, F., Bifulco, G., ve 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.
- Çöpür, Y., Tozluoglu, A., ve Özkan, M. (2013). Evaluating pretreatment techniques for converting hazelnut husks to bioethanol. *Bioresource Technology*, 129, 182–190.
- Cornelli, U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, 27(2), 175–194.
- Fernández-Agulló, A., Gómez-Castro, C., Soto, L., Freire, M. S., ve González-Álvarez, J. (2012). Study of the antioxidant potential of forestry biomass waste. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*, 163, 323–334.
- Guney, M. S. (2013). Utilization of hazelnut husk as biomass. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 4, 72–77.
- Khanduja, K. L., ve Bhardwaj, A. (2003). Stable free radical scavenging and antiperoxidative properties of resveratrol compared in vitro with some other bioflavonoids. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 40(6), 416–422.
- Koca, N., ve Karadeniz, F. (2005). Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda Dergisi* 30(4), 229–236.
- Köksal, A. I., Artık, N., Şimşek, A., ve Güneş, N. (2006). Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chemistry*, 99(3), 509–515.
- Matsingou, T. C., Kapsokefalou, M., ve Salifoglou, A. (2000). In vitro antioxidant activity of Black Tea and Mediterranean herb infusions toward iron under stimulated gastrointestinal conditions. *Journal of Food Science*, 65(6), 1060–1065.
- Oğuzkan, S. B., Uğraş, S., Can, M., Uzun, A., Ülger, S., ve Üzmez, Ş. (2016). Fındık (*Corylus avellana* L.) Yeşil Kabuk ve Yaprak Ekstraktlarında Biyolojik Aktivite Tayini. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 19(4), 373–378.
- Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreira, I. C. F. R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R., Estevinho, L., ve Pereira, J. A. (2007). Hazel (*Corylus avellana* L.) leaves as source of antimicrobial and antioxidative compounds. *Food Chemistry*, 105(3), 1018–1025.
- Özgülven, M., Beyde, B., ve Özçelik, B. (2020). Atıkların Değerlendirmesi: Fındık (*Corylus avellana* L.) ve Antep Fıstığı (*Pistacia vera* L.) İç Zarlarından Elde Edilen Fenolikçe Zengin Ekstraktlara Lipozomal Taşıma Sistemlerinin Uygulanabilirliği. *European Journal of Science and Technology*, 19, 241–246.
- Ozyurt, V. H., ve Otleş, S. (2018). Hazelnut testa as a by-product: Nutritional composition, antioxidant activity, phenolic compound profile and dietary fiber content. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 42(3), 38–57.
- Piccinelli, A. L., Pagano, I., Esposito, T., Mencherini, T., Porta, A., Petrone, A. M., Gazzero, P., Picerno, P., Sansone, F., Rastrelli, L., ve Aquino, R. P. (2016). HRMS Profile of a Hazelnut Skin Proanthocyanidin-rich Fraction with Antioxidant and Anti-Candida albicans Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(3), 585–595.
- Şahin, S., Kiliç, Ö., Şengül, S., ve Perçin, S. (2019). Farklı İllerden Temin Edilen Fındık Zarının Bileşimi ve Antioksidan Etkinliğinin Araştırılması. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 9(1), 27–35.
- Shahidi, F., Alasalvar, C., Liyana-Pathirana, ve M., C. (2007). Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L) and hazelnut byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1212–1220.
- Sürek, E., ve Büyükkileci, A. O. (2018). Extraction of Antioxidant Compounds From Hazelnut Wastes Using Subcritical Water. *The Journal of Food*, 43(2), 211–221.
- Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., ve El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104(4), 1372–1378.
- Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17(2), 143–153.