



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TÜRKİYE'DE YAYGIN OLARAK YETİŞTİRİLEN BAZI
CEVİZ ÇEŞİTLERİNİN TOPLAM FENOLİK MADDE
MİKTARI İLE ANTİRADİKAL VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hilal KAYA

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

KAPATILAN FATİH ÜNİVERSİTESİNDEN AKTARILAN YÜKSEK LİSANS ÖĞRENCİSİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Cevdet NERGİZ**

Temmuz, 2016

İSTANBUL

ONAY SAYFASI

Kimya Anabilim Dalı 502212007 numaralı öğrencisi Hilal KAYA tarafından hazırlanan bu tezin Yüksek Lisans Tezinde bulunması gereken yeterliliğe, kapsama ve niteliğine sahip olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Cevdet NERGİZ
Tez Danışmanı

Bu tezin şekil ve içerik açısından Fen Bilimleri Yüksek Lisans Tez Yazım Kılavuzunda belirtilen kurallara uygun formatta yazıldığını onaylıyorum.

Prof. Dr. Abdülhadi BAYKAL
Anabilim Dalı Başkanı

Tez Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr.CevdetNERGİZ

Doç. Dr.MehmetŞENEL

Prof. Dr.GülbüzGÜNEŞ

Bu tezin Fen Bilimleri enstitüsü yüksek lisans Tez Yazım Klavuzunda belirtilen kurallara uygun formatta yazıldığını onaylıyorum.

Prof. NurullahARSLAN
Enstitü Müdürü

Temmuz 2015

TÜRKİYE’DE YAYGIN OLARAK YETİŞTİRİLEN BAZI CEVİZ ÇEŞİTLERİNİN TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI İLE ANTİRADİKAL VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hilal KAYA

Yüksek Lisans Tezi–Kimya Bölümü
Temmuz 2015

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Cevdet NERGİZ

ÖZ

Ceviz, eski çağlardan beri tüketilen ve sağlığa birçok faydası olduğu bilinen bir besindir. Ayrıca bazı kanser türlerine, kalp damar hastalıklarına ve diyabete iyi geldiği bilinmektedir. Ceviz ağaçları çevresinde yetiştirilen ve olumsuz etkilenen bitkilerin yapraklarında sararma, solma ve nihai ölüm gibi belirtiler gözlemlenebilir. Ceviz ağacının tüm kısımlarında doğal olarak bulunan ve bu olaya neden olan maddeye ‘juglon’ (5-*hidroksi-1,4-naftalen dion*) adı verilir. *Juglon*; kuru yemişlerde, özellikle de cevizde bol miktarda bulunan bir naftokinondur.

Bu çalışmada, Türkiye’nin bazı bölgelerinden alınan (Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat) ceviz türlerinde toplam fenolik madde, antiradikal ve antimikrobiyal aktivite tayinleri yapılmıştır, kendi aralarında ve bazı yaygın ceviz türleri ile kıyaslanmıştır. Bu sonuca göre, analizleri yapılan ceviz numunelerinin toplam fenolik madde miktarları, antimikrobiyal ve antiradikal aktiviteleri farklı değerler göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: ceviz, juglon, naftokinon, antiradikal aktivite, antimikrobiyal aktivite, toplam fenolik madde.

INVESTIGATION OF ANTIRADICAL AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY WITH TOTAL PHENOLIC CONTENTS OF SOME WALNUT CULTIVARS WIDELY GROWN IN TURKEY

Hilal KAYA

M.S. Thesis – Chemistry
July 2015

Supervisor: Prof. Cevdet NERGİZ

ABSTRACT

Walnuts are nutrients being consumed since ancient times and have lots of benefits in health; some types of cancer, coronary artery diseases and diabetes are known. Grown plants around the walnut trees, which are affected negatively, might seen sign as yellowing, fading and death. This matter is found in all parts of the walnut trees naturally and it is called *juglone* (5-hidroxi-1,4-naphthalene dion). The *juglone*; is a naphthoquinone found in nuts and especially abundant in walnuts.

In this study, we determined the total phenolic content, antiradical and antimicrobial activity of some walnut types taken from different areas of Turkey (Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat) and they were compared within themselves and with some other common walnut types. According to the results, total phenolic content, antimicrobial and antiradical activity of analysed walnut samples indicated different values.

Keywords:walnut,juglone,naphthoquinone,antimicrobialactivity,antiradicalactivity,
total phenoliccontent

TEŞEKKÜR

Öncelikle çalıştığım konunun her aşamasında beni bilgilendiren ve yaptığım çalışmanın bu seviyeye gelmesinde büyük emek vererek tezimin hazırlanmasına yardımcı olan, çalışmalarım süresince karşılaştığım zorluklarda beni yalnız bırakmayan, vaktini hiçbir zaman esirgemeyen, birikimleriyle beni yönlendiren ve her zaman destekleyen hocam Prof. Dr. Cevdet NERGİZ'e ve laboratuvar imkânları sağlayan Doç. Dr. Mehmet ŞENEL'e içtenlikle teşekkür ederim.

Laboratuvarda deneysel çalışmamda yardımcı olan Sibel TOPDAĞ, Merve HUYSAL, Berna BÜYÜK ve Ümran KURTAN'a ve antimikrobiyal çalışmalarımda yardımcı olan Öğr.Gör.Ahmet GÜNER'e teşekkür ederim.

Her zaman olduğu gibi tez aşamamda da beni yalnız bırakmayıp yardımlarını esirgemeyen kardeşim Ömer Faruk KAYA'ya, kuzenlerim Miray KAYA TURGUT ve Sena KAYA ile arkadaşlarım Feyza TAŞÇIOĞLU, Merve Nur CENGİZ ve Ejona KOÇİBELLİ'ye teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi, hayatım boyunca beni her konuda destekleyen ve eğitimim süresince beni yalnız bırakmayan, her türlü destek sağlayan anneme ve babama sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
TABLOLAR LİSTESİ	viii
TABLOLAR	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ	x
GİRİŞ	1
BÖLÜM 1	3
GENEL BİLGİLER	3
1.1. Ceviz Üretimi	3
1.1.1. Dünyada Ceviz Üretimi	3
1.1.2. Türkiye’de Ceviz Üretimi	4
1.2. Cevizin Bileşimi	5
1.3 Cevizin İnsan Sağlığına Etkileri	6
1.3.1 Cevizde Bulunan Minerallerin İnsan Sağlığına Etkileri	6
1.3.2 Cevizde Bulunan Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri	7
1.3.3 Cevizde Bulunan Çoklu Doymamış Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığına Etkileri	10
1.3.4 Cevizde Bulunan Proteinlerin İnsan Sağlığına Etkileri	11
BÖLÜM 2	12
MATERYAL VE METOT	12
2.1. Materyal	12
2.1.1. Örneklerin Hazırlanması	12
2.1.2. Örnek Ekstraktlarının Hazırlanması	12
2.2. Metod	12
2.2.1 Toplam Fenolik Madde Tayini	12
2.2.2. Antiradikal Aktivite Tayini	13
2.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	14
BÖLÜM 3	16
BULGULAR	16
3.1. Toplam Fenolik Madde Tayini Bulguları	16
3.2. Antiradikal Aktivite Tayini Bulguları	17
3.2.1. İndirgeme Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini Bulguları	17
3.2.2. Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini Bulguları	19
3.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Bulguları	23
BÖLÜM 4	25
TARTIŞMA	25
4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini	25
4.2. Antiradikal Aktivite Tayini	25
4.2.1. İndirgeme Gücü Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini	25
4.2.2. Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini	26
4.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	27
EK-1	28
HESAPLAMALAR	28

1. Toplam Fenolik MaddeTayiniHesaplamaları.....	28
2. Antiradikal AktiviteTayinleriHesaplamaları	30
KAYNAKLAR.....	39



TABLÖLAR LİSTESİ

TABLÖLAR

1.1	Dünyada başlıca ceviz üreticisi ülkeler.....	3
1.2	Türkiye’de yıllara göre ceviz üretim miktarı	4
1.3.	Yıllara göre Türkiye ceviz ağacı varlığı	5
3.1	Toplam fenolik madde tayini için tüm değerler.....	17
3.2.	Farklı ceviz ekstraktlarının spektrofotometrede okunana absorbans değerleri	18
3.3.	Farklı ceviz ekstrakt konsantrasyonlarının DPPH radikali üzerine süpürücü etkisinin absorbans değerleri	20
3.4.	Bitlis cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri.....	21
3.5.	Bursa cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri	21
3.6.	Malatya cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri	21
3.7.	Sakarya cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri	22
3.8.	Tokat cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri	22
3.9.	Gram pozitif ve gram negative bakterilerin ortalama inhibisyon etkisi.....	23

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER

3.1	Gallik asitstandarteğrisi.....	16
3.2	Ceviz çeşitleri ve BHA'nın farklı konsntrasyonlarının indirgeme gücü	19
3.3	Gram -pozitif ve Gram -negatif bakterilere karşı farklı ceviz ekstrakt inhibisyonu bölgeleri	24
Ek1.1.	Bitlis cevizlerinin indirgeme yöntemi için Kons/Abs grafiği	36
Ek 1.2.	Bursa cevizlerinin indirgeme yöntemi için Kons/Abs grafiği	36
Ek1.3.	Malatya cevizlerinin indirgeme yöntemi içinKons/Abs grafiği	37
Ek1.4.	Sakarya cevizlerinin indirgeme yöntemi içinKons/Abs grafiği	37
Ek 1.5.	Tokat cevizlerinin indirgeme yöntemi için Kons/Absgrafiği	38

SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

SEMBOL/KISALTMA

ATCC	American Type CultureCollection
BHA	Tert-Butyl-4-hydroxyanisole
EC ₅₀	%50inhibisyonsaglayankonsantrasyondegeri
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
GAE	Gallik asitesdegeri
HDL	High-densitylipoprotein
LDL	Low-densitylipoprotein
M	Molarite
nm	Nanometre
MUFA	Monounsaturated FattyAcid
PUFA	Polyunsaturated FattyAcid
RSA	Radikal supurucuaktivite
TCA	Trichloroethanoicacid
µg	Mikrogram

GİRİŞ

Ceviz sert kabuklu meyve türlerinden birisi olup, genellikle ılıman ve serin subtropik iklimlerde doğal olarak yetişen bir türdür. Ceviz, *Dicotyledoneae* sınıfı, *Juglandales* takımı, *Juglandaceae* familyası ve *Juglans* cinsi içindedir. *Juglans* cinsinde 20 kadar tür bulunmaktadır. Bu cinsin içerdiği bütün türlerin değişik büyüklüklerde sert bir kabuğu olan ve aslında tohum olan meyveleri vardır. *Juglans* cinsi içinde en çok *J. regia* L. türünün ticareti yapılmaktadır.

Cevizde bulunan vitamin E ve fitosterol, polifenoller gibi antioksidan bileşiklerin insan sağlığına olumlu etkisinin anlaşılmasıyla, bilim insanları bu konuda araştırmalar yapmaya başlamıştır. *Juglon*; kuru yemişlerde, özellikle de cevizde bol miktarda bulunan bir naftokinondur (1, 2).

Akdeniz tipi beslenme ile beslenen insanların sağlıklı ve uzun yaşamaları, bilim insanlarının merak konusu olmuş ve bu durumun ceviz, fındık ve badem ile bağlantılı olabileceği düşünülmüş ve bunların antioksidan etkileri bulunduğubilinmektedir (3). Bu bileşikler özellikle düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksitlenmesini, yani damar sertliği oluşumunu engellemektedir (4,5). Bununla beraber ceviz tüketiminin; kandaki trigliseridler ile LDL kolesterolde düşüş, HDL ve apolipoprotein miktarında artma sağladığı belirtilmiştir (6,7). Cevizde yüksek miktarda bulunan bir diğer bileşik, temel aminoasitlerden *L-arjinin*; vücutta nitrikoksit dönüşüp, kan damarlarının iç yüzeyini yumuşatarak damarların rahatlamasını sağlamak ve böylece hipertansiyon tedavisinde olumlu etkileri bulunmaktadır (4).

Cevizinde dahil olduğu bir kuruyemişler araştırmasında, cevizde yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitleri ve α - tokoferol bulunduğu, bununla beraber β -sitosterol ve stigmasterol içerdiği, bu sebeplerle sağlıklı bir besin olduğu belirtilmiştir (8). Bunun yanında bileşiminde bulunan magnezyum ve potasyumun kan basıncını düzenlediği, arjininin de kan basıncını düşürdüğü bilinmektedir (9).

Cevizde bulunan yağ asitleri; kalp sağlığı için önerildiği gibi, tip 2 diyabet hastalarının da beslenmesinde mutlaka bulunması gereken bileşiklerdir. Özellikle Omega-6 ve Omega-3'ün 4:1 oranında alınması gerektiği belirtilmiştir. Cevizin bu yağ asitlerini bahsedilen oranda içermesi, fonksiyonel bir gıda olduğunun bir diğer göstergesidir (10,11). Bununla beraber Omega-3 yağ asitlerinin, damar kasılmalarının azalmasında etkili olduğu, tümör oluşumunu geciktirdiği, iltihaplı hastalıklarda, alerjik

astımda, bağıışıklık ve sinir sisteminde tedavi edici olduğu belirtilmektedir (12,13).

Ceviz meyvesinin yanı sıra, yaprağının ve kabuğunun alternatif tıpta kullanıldığđ; cevizyaprağının damardaraltıcı, hipoglisemi, keratolitik (siğılgiderici), ıshalkesici, cilt temizleyici, antiviral ve tümörelleyici etki sibilunduğubelirtilmiştir(14).

Ceviz yaprağı, yeşil meyve kabuğı ve hatta ağaç kabuğı güneşte bile solmayan önemli doğıal boya maddelerindendir. Boya sanayinin gelişimden önce kahverenginin tonlarının elde edilmesinde ve yün ipliğı boyanmasında uzun yıllar kullanılmıştır. Ayrıca kozmetik, halı ve tekstil endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (15,16).

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizlerinin toplam fenolik madde miktarı, antiradikal ve antimikrobiyal aktivite tayinleri ile bu cevizlerin kendi aralarında ve dünyada yaygın olarak yetiştirilen ceviz türleri ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

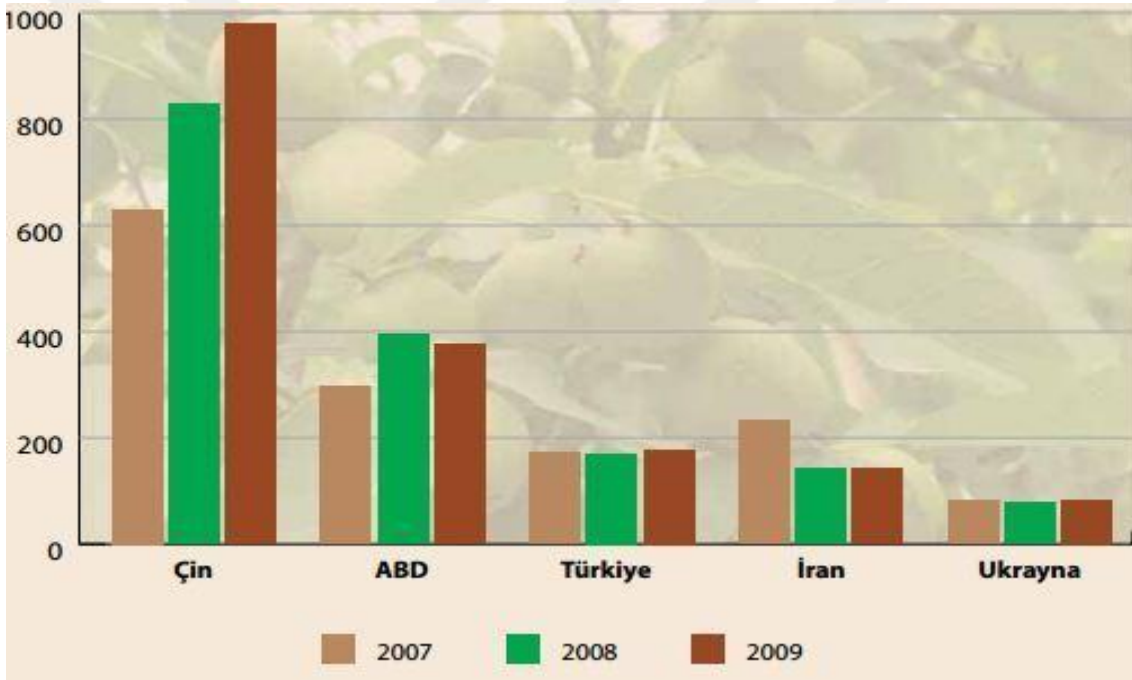
BÖLÜM 1

GENEL BİLGİLER

1.1. Ceviz Üretimi

Ceviz çok geniş doğal yayılma alanına sahip olup, göçler ve ticaret aracılığıyla üretim alanının dışında da dünyanın pek çok ülkesinde yetiştirilen bir meyve türü haline gelmiştir (17). Cevizin en fazla elde edildiği bölgeler; Türkiye'nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgeleri, Kafkaslar, İran, Tacikistan, Kırgızistan, Kuzey Afganistan, Doğu Türkmenistan, Batı Çin, Kuzey Pakistan, Nepal, Kuzey Hindistan, Kaşmir'dir (18).

1.1.1. Dünyada Ceviz Üretimi



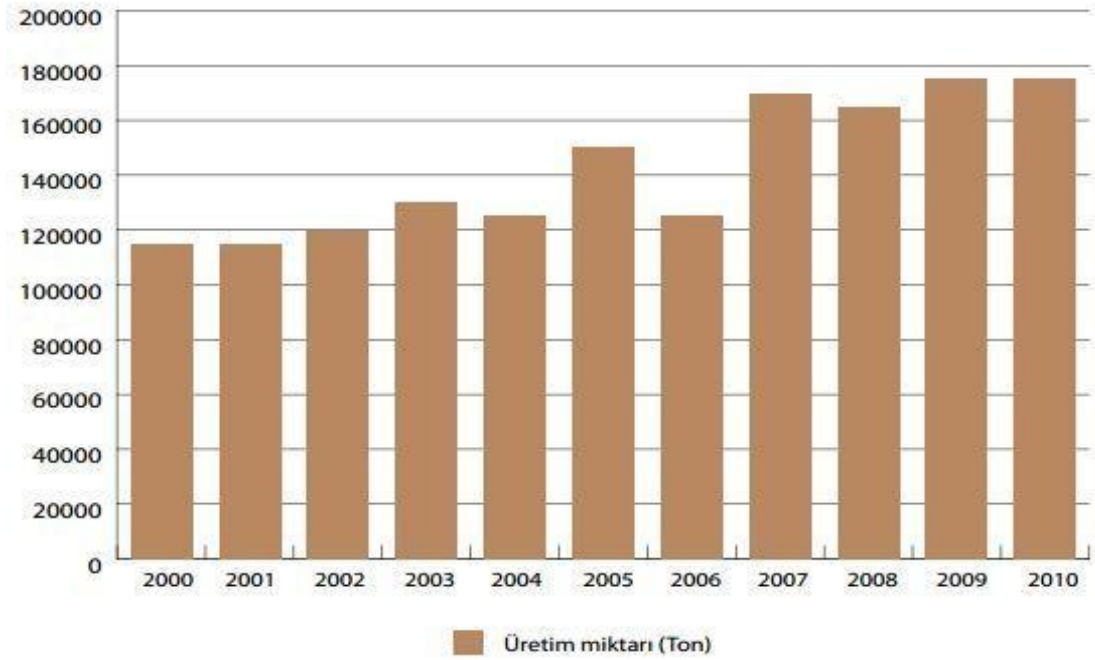
Tablo 1.1. Dünyada başlıca ceviz üreticisi ülkeler (1000 ton) (19)

Dünya üzerinde ceviz üretimi 2008 yılı itibarı ile 1.724.172 tona ulaşmıştır. Ceviz üretiminde Çin 503.000 ton ile ilk sırada, ABD 290.000 ton ile ikinci sırada, Türkiye 170.897 ton üretimi ile üçüncü sırada ve İran 170.000 ton ile dördüncü sırada gelmektedir. Çin 17 yıllık sürede üretimini 149.560 tondan 503.000 tona, Meksika ise 1000 tondan 69.620 tona çıkartmıştır.

1.1.2. Türkiye’de Ceviz Üretimi

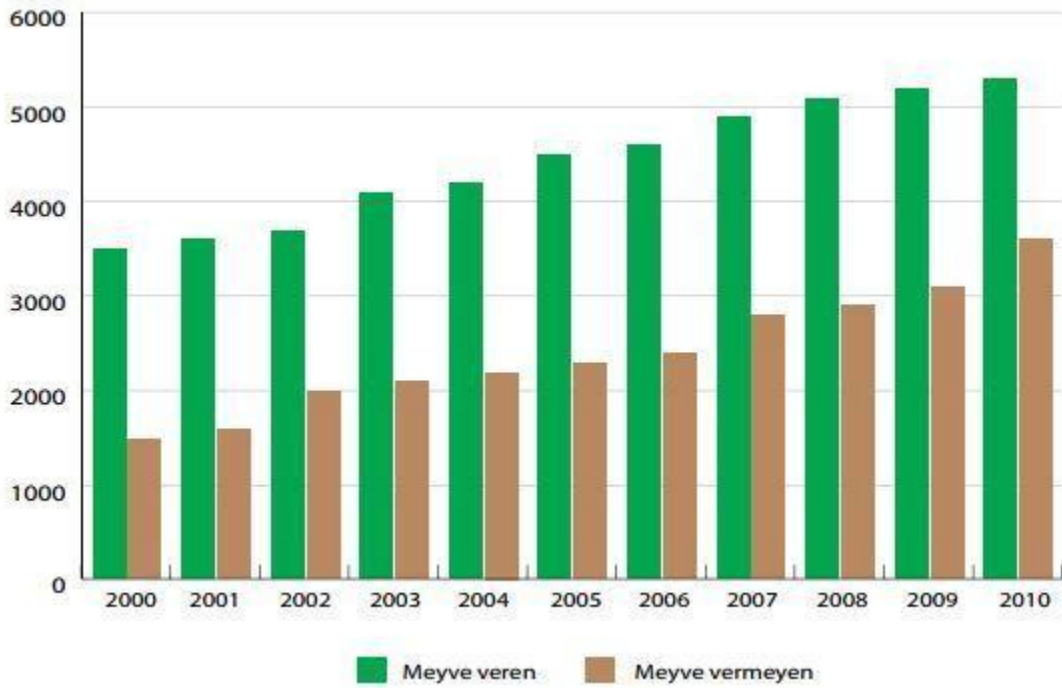
Ceviz ağaçlarına, ülkemizin her bölgesinde, kuzey rüzgarlarından korunan vadilerde ve dere yamaçlarında rastlanabilmektedir. Diğer meyve çeşitlerinin aksine, aşılama zorunluluğu olmadan meyve üretiminin gerçekleştirilmesi, cevizin sıklıkla yetiştirilen bir meyve olmasında önemli etkenlerden bir tanesidir. Ceviz yetiştiriciliğinin yaygın olmasının bir diğer sebebi de kerestesinin değerli olmasıdır. Ülkemizin birçok bölgesinde popülasyon halinde ceviz yetiştirilmektedir. Ve ceviz isimleri bölge isimlerine göre verilmektedir. Örneğin; Erzincan, Bitlis, Göynük, Kahramanmaraş Bahri, Ermenek, Niksar, Kaman, Adilcevaz, Hekimhan, Kemah bunlardan bazılarıdır (18).

Ülkemizde ağaç başına ceviz verimi 33-35 kg arasındadır. Ceviz üretimin en fazla olduğu şehirler ise sırasıyla, 13.481 ton ile Hakkari, 10.507 ton ile Kahramanmaraş, 6.264 ton ile Bursa ve 5.047 ton ile Van’dır. Hakkari ceviz üretimini 15 yılda 1.470 tondan 10.507 tona çıkartmıştır.



Tablo 1.2. Türkiye’de yıllara göre ceviz üretim miktarı (ton) (19)

Ülkemiz ceviz üretimden son yıllardır üretim artışıyla dikkat çekmektedir. Üretim miktarı 1990 yılında 115.000 ton iken 2010 yılında 170.897 tona ulaşmıştır. Bu artışın sebebi direkt yollardan ceviz ağacı sayısının artışıyla ilgilidir.



Tablo 1.3. Yıllara göre Türkiye ceviz ağacı varlığı (1000 adet) (19)

1.2. Cevizin Bileşimi

Ceviz; sert kabuklu meyvelerdendir ve kabuk önemli bir kısmını oluşturur. Ancak beslenme açısından bakıldığında cevizin kabuğu değil meyvesi önemlidir. Ceviz, temel besin değerleri bakımından incelendiğinde; %13,6-22,3 oranında protein, %56,4-70,6 oranında yağ içerdiği görülmüştür. Ceviz içinin nem oranı Belarus cevizlerinde %3 -10, İran cevizlerinde %2-3,2, ülkemiz cevizlerinde ise %3,44-7,38 arasındadır.

Cevizler esansiyel yağ asitleri vetokoferoller açısından çok zengindir; yağ içeriği, farklı araştırmacılarca farklı miktarlarda bulunmuştur. Ceviz yağı %5-6 doymuş ve%47,14 doymamış yağ asidi içermektedir(1). Doymamış yağ asitlerinin yaklaşık%80'ilinoleik asit (Omega-6) ve %20'si α -linolenik (Omega-3) asittir. Cevizin kül içeriği %2 civarında olup içerisinde kalsiyum, magnezyum, fosfor, demir ve potasyum bulunmaktadır (20). Ceviz; folat, vitamin E, antioksidan maddeler, δ - tokoferol, β -siterol içeriği açısından günlük beslenmede önemli rol oynar.Biyolojik açıdan yüksek kaliteli olması ve hazmı kolay protein içeriği sayesinde akdeniz diyetinde önemli bir yeri bulunmaktadır. Ayrıca bu tip beslenmede ceviz, baklagillerle tüketildiğinde, ihtiyaç duyulan proteinlerin çoğunluğunun karşılandığı bilinmektedir (3,4,5). Ceviz içinde yağda çözünen vitaminlerden; A ve E, suda çözünen vitaminlerden; C, B1, B2 ,folik asit, niasin ve pantotenik asit, minerallerden; bakır,magnezyum, fosfor, demir ve çinko

bulunmaktadır. Ayrıca ceviz özülerinde ellajik asit, gallik asit flavinoidleri bulunmaktadır (21).

1.3 Cevizin İnsan Sağlığına Etkileri

Ceviz, içerdiği vitamin E ve fitosterol, polifenoller gibi antioksidanlar sebebiyle fonksiyonel gıda olarak kabul görmektedir. Bulaşıklerin bazı kanserlere, yaşlanmanın olumsuz etkilerine ve kalp damar rahatsızlıklarına karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. İçerisinde bulunan ellajik asit ve gallik asit flavinoidleri, kan plazması ve düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu engelleyerek kalp damar hastalıklarına karşı koruyucu özellik göstermektedir.

1.3.1 Cevizde Bulunan Minerallerin İnsan Sağlığına Etkileri

Mineraller açısından değerlendirildiğinde kalsiyum, potasyum, magnezyum, fosfor ve demir içeriği oldukça yüksektir. İskelet ve diş gibi dokuların oluşumunda kalsiyum ihtiyacı öne çıkmaktadır. Besinler aracılığı ile insan vücuduna faydalı olan kalsiyumun sadece 3'te 1'i sağlanabilmektedir.

Yetişkin için günlük kalsiyum ihtiyacı 0,5-0,6 gram olup, bu oran çocuklarda 0,65 gram, gençlik döneminde 1,65 gram, kadınlarda menapoz öncesi 2,07 gr, menapoz sonrası 3,86 gr olarak belirtilmiştir (22). Tüketilen ceviz miktarı günlük 100 gram olduğu takdirde yetişkinlerde gereken kalsiyum miktarının %10-20'si karşılanmış olmaktadır.

Potasyum, yaşam fonksiyonlarının gerçekleşebilmesi için ihtiyaç duyulan enzim ve hormonların sağlanmasında, sinir sistemi, dolaşım sistemi ve diğer yaşamsal faaliyetin bir yapı taşı olarak görev alır. Bu bağlamda günlük 100 gram ceviz tüketimiyle alınması gereken 2-6 gram potasyumun 4'te 3'ünün karşılandığı belirtilmiştir (22).

Fosfor, insan yaşamında vazgeçilmez bir öneme sahiptir. Fizyolojik olayların gerçekleşmesinde faaliyet gösteren enzimlerin bulunmasının yanında, diş ve kemik gibi dokuların yapısında bulunmaktadır. Günlük alınması gereken fosfat miktarı 6,6 gram iken 100 gram ceviz tüketimiyle 0,73 gramı karşılanabilmektedir.

Hemoglobini yapı taşı olan demirin günlük gereksinim miktarı 10-15 mg olup, her gün tüketilen bir avuç cevizin bu oranı fazlasıyla karşıladığı belirlenmiştir.

1.3.2 Cevizde Bulunan Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri

Yaşamak için havadaki moleküler oksijen tüketimine ihtiyaç duyulmaktadır. Oksijen tüketiminin büyük bir çoğunluğunu elektron transport zinciri, kalan kısmını ise diğer oksijen gerektiren reaksiyonlar karşılamaktadır. Elektron transport zincirinde oksijen molekülü; glukoz, yağ asidi ve amino asitlerin karbon iskeleti gibi yakıtlardan açığa çıkan NADH ve FADH₂'den elektron alınarak su molekülüne dönüştürülmektedir. Böylece moleküler oksijenin kuvvetli yükseltgeyici gücü, ATP'nin yüksek enerjili fosfat bağına dönüştürülmüş olmaktadır.

Amino asitlerin yıkımı, ilaçların detoksifikasyonu ve steroid hormonların üretimi gibi reaksiyonlar ATP'nin oluşumu reaksiyonu ile ilgili olmadığı halde moleküler oksijen gerektirmektedir; oksijenazlar ve oksidazlar bu reaksiyonlarda görev alırlar.

Oksijen molekülü, paralel spin durumlu iki eşlenmemiş elektron bulundurmaktadır. Eşlenmemiş elektronu bulunan atom, atom grubu ve moleküllere serbest radikal adı verilmektedir. Serbest radikaller pozitif, negatif veya yüksüz bulunabilirler.

Oksijen molekülü bir biradikaldir ve biradikal oksijen; radikal olmayan maddeler ile yavaş, radikal maddeler ile hızlı reaksiyon vermektedir. Yükseltgenme reaksiyonları, organizmada geçiş metallerini içeren enzimler ile oksijen molekülüne tek elektronların transferi yoluyla gerçekleşmektedir. Oksijen molekülü; biradikal olması sebebiyle yüksek derecede reaktif oksijen türleri oluşturmaya yatkındır.

Vücutta yükseltgenme tepkimeleri sonucu oluşan ve çeşitli hasarlara yol açan serbest radikaller; damar tıkanıklığı ve kanser gibi bir çok hastalığın oluşumuna etki ettiği tahmin edilmektedir (8). Antioksidanlar; serbest radikallerin sebep olduğu zararları önleyen sistemlerdir. Vücutta enzim kaynaklı antioksidanlar bulunabildiği gibi, dışarıdan gıdalar ile de alınabilmektedir (9).

Ceviz polifenollerinin, bağışıklığı güçlendirici ve antioksidan etkileri, kansere ve kalp damar hastalıklarına yakalanma riskini azalttığı ve polifenollerin en çok cevizin meyvesinin dışını saran ince kabukta bulunduğu belirtilmiştir (10). Ayrıca içeriğinde bulunan melatonin varlığı ile antioksidan özelliği kazanıp kalp damar sistemine yararlı etkiler göstermektedir. Yapılan analizler sonucunda; polifenollerin in vitro plazmada

LDL oksidasyonunu büyük oranda engellediği, damar esnekliğini %64 oranında arttırdığı belirtilmiştir (23).

1.3.2.1. *Reaktif Oksijen Türleri*

Oksijen metabolizması sırasında meydana gelen süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali reaktif oksijen türleri olarak adlandırılmaktadır. Serbest radikal zincir reaksiyonları, reaktif oksijen türleri tarafından başlatılabilmekte ve hücrede karbon merkezli organik radikaller, peroksit radikalleri, alkoksiradikalleri, tiyil peroksit radikalleri gibi pek çok serbest radikal oluşumuna sebep olabilmektedir.

- Süperoksit Radikalleri: İndirgenmiş geçiş metallerinin yükseltgenmesi ve aerobik hücrelerin çoğunda oksijen molekülünün indirgenmesiyle oluşmaktadır. Hem yükseltgeyici hem de indirgeyici özelliğe sahiptir.
- Hidrojen Peroksit: Süperoksit çevresindeki moleküllerden bir elektron ya da moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alarak oluşan peroksit iki proton ile birleştiğinde hidrojen peroksit oluşmaktadır. Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksit esas olarak süperoksit dismutasyonu sayesinde oluşmaktadır.
- Hidroksil Radikali: Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Oldukça reaktif olup yarılanma süresi çok kısa ve reaktif oksijen türlerinin en güçlüsü olma özelliğine sahiptir.

1.3.2.2. *Antioksidanların lipidlere etkisi*

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu enflamasyon, radyasyon, olması gerekenden yüksek parsiyel oksijen basıncı, ozon, azot dioksit gibi kimyasal madde ve ilaçların etkisiyle artmaktadır ve bu bağlamda hücrelerin lipit, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki etmektedir. Bu etki sonucunda hücrede hasar meydana gelmekte ve ateroskleroz, amfizem/bronşit, Parkinson, gebelik preeklampsisi, seviks kanseri, alkolik karaciğer, akut renal yetmezlik, yaşlanma, Down sendromu gibi birçok hastalığa sebebiyet vermektedir.

Serbest radikallere karşı en duyarlı biyomolekül lipitler, poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı ile lipit peroksidasyonu oluşturmaktadır. Polisatüre yağ

asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron ihtiva eden hidrojen atomlarının çıkarılması ile başlayan lipid peroksidasyonu hücrede hasar meydana getirmektedir. Serbest radikaller etkisiyle oluşan lipid peroksidasyonu ise “nonenzimatik lipid peroksidasyonu” olarak adlandırılan bu zincir reaksiyon birçok doku hasarı ve hastalığa neden olur.

1.3.2.3. Antioksidanların proteinlere etkisi

Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenir ve oluşan hasar derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlı olmaktadır.

1.3.2.4. Antioksidanların nükleik asitler ve DNA'ya etkisi

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme sebebiyet vermektedir.

1.3.2.5. Antioksidanların karbonhidratlara etkisi

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir; Diyabet, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, romatoid artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretimi artar ancak bu hallerde serbest radikal artışının sebep mi yoksa sonuç mu olduğu tam olarak bilinmemektedir.

1.3.2.6. Serbest radikallere karşı hücre savunma

Antioksidanlar, Reaktif oksijen türleri sebebiyle oluşan hasarı bertaraf ettiği bilinen savunma mekanizmalarıdır. Antioksidanların dört etkisi:

- Toplayıcı etki olarak bilinen Serbest oksijen radikallerini tutarak ve daha zayıf bir moleküle çevirir durumudur.
- Bastırıcı etki; serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen transferiyle aktivitelerini azaltma işlemidir.
- Zincir kırıcı etki; serbest oksijen radikallerini bağlamak ve zincirlerini kırmak suretiyle fonksiyonlarını engelleme etkisidir.

Onarıcı etki; serbest radikallerin oluşturdukları hasarın giderilmesi işlemidir.

1.3.3 Cevizde Bulunan Çoklu Doymamış Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığına Etkileri

Çoklu doymamış yağ asitlerinin kalp damar rahatsızlıklarında engelleyici özelliği olduğu ve kandaki lipid miktarına etki ettiği bilinmektedir (23). Cevizde çoklu doymamış yağ asitlerinden Omega-3'ün 9.081 g/100g ve Omega-6'nın 38.095 g/100g olduğu belirtilmiştir (24). Çoklu doymamış yağ asitlerinin kalp damar hastalıklarını önlemede; antiinflamator, ve antihipertansif etki gösterdiği, kan lipide seviyesini azalttığı, tromboz ve damar tıkanıklığını önlediği belirtilmektedir (25).

Badem, fındık, yer fıstığı gibi sert kabuklu meyveler, tekli doymamış yağ asitleri (Monounsaturated Fatty Acid; MUFA) bakımından zengin iken, ceviz yüksek oranda çoklu doymamış yağ asidi (Polyunsaturated Fatty Acid; PUFA) bulundurmaktadır. Ayrıca bu kabuklu meyveler ile karşılaştırıldığında en yüksek Omega-3 miktarına sahiptir. Omega-3 ve Omega-6 esansiyel yağ asitleridir, yani gıdalar ile dışarıdan alınması zorunlu olduğundan ceviz bu özelliği ile de vazgeçilmez bir besindir. Bununla birlikte Omega-3'ün atardamarlardaki kan basıncını düşürerek hipertansiyonu olumlu etkilediği, damar kasılmalarında azalmaya sebep olduğu, tümör oluşumunu yavaşlattığı, iltihaplı hastalıklar, alerjik astım, bağışıklık sistemi ve sinir ağında tedavi edici etkileri bulunduğu belirtilmektedir (4,12). Yapılan araştırmalarda; cevizde bulunan doymamış yağ asitleri ve liflerin kandaki kolesterol ve trigliserol yoğunluğunu azaltmak suretiyle plazma lipidlerini düzenlediği gözlemlenmiştir (26). Bunun yanında bulundurduğu magnezyum ve potasyum minerallerinin kan basıncını düzenlediği ve arjininin de kan basıncını düşürdüğü belirtilmiştir (27).

Kolesterol, vücutta yaygın olarak bulunan; metabolizmada bazı hormon, D vitamini ve safra asitlerinin sentezinde rol oynayan, yaşam için gerekli bir çeşit yağdır. Kolesterolün yükselmesi zamanla kan damarlarının daralmasına ve tıkanmasına sebep olur. Bu süreçte kalbe giden kan miktarında azalma olmakta ve buna bağlı olarak göğüs ağrıları ve kalp krizi meydana gelmektedir. LDL kolesterolün yüksek ve HDL kolesterolünde düşüklü olması risk teşkil etmektedir. Bu risklerin bulunduğu durumlarda; damar tıkanıklığı, kalp krizi, kısmi felç, böbrek yetmezliği gibi rahatsızlıkların ortaya çıkma olasılığı artmaktadır (29). Ceviz tüketimi ile kandaki toplam ve LDL kolesterol ile trigliseritlerin azaldığı, HDL kolesterol ile apolipoproteinlerin de arttığı belirlenmiştir (28, 29). FDA'ya göre; düşük doymuş yağ ve kolesterol diyetinin kronik kalp hastalıklarının önlenmesinde günlük 42,5 gram ceviz tüketiminin etkili olacağı

belirtilmiştir (30). Yapılan çalışmalar; Akdeniz tipi ve etsiz beslenmede yer alanceviz, badem ve fındığın kuvvetli kalp koruyucu özellikte olduğu belirtilmektedir. Doymuş yağ asitleri ve %30 karbonhidrat yerine; ceviz, fındık, badem tüketerek koroner kalp hastalıklarının %45 azaltılabileceği belirtilmiştir (31).

1.3.4 Cevizde Bulunan Proteinlerin İnsan Sağlığına Etkileri

Cevizde yüksek oranda bulunan, L-arjinin aminoasidi hipertansiyonda büyük oranda etkilidir. L-arjinin aminoasidi insan vücudunda nitrik oksite dönüşüp, kan damarlarının iç duvarlarını yumuşatmaktadır. Nitrik asit miktarının normal olduğu dönemde ortaya çıkan hipertansiyonun, diyabet ya da kalp hastalıklarından kaynaklandığı belirtilmektedir. Bu sebeple, böyle hastaların diyetlerine ilaveten alacakları ceviz, büyük önem arz etmektedir. (7).

BÖLÜM 2

MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Örneklerin Hazırlanması

Türkiye’de yaygın olarak yetişen Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizleri toptancılardan ayrı ayrı 1’er kg alındı, 1 kilogramda yaklaşık 114 ila 120 arasında ceviz olduğu belirlendi, laboratuvara getirildi, oda şartlarında işlem yapılmadan analizi için bekletildi.

2.1.2. Örnek Ekstraktlarının Hazırlanması

Toplanan ceviz örnekleri, kabuklarından arındırıldı ve blenderda toz haline getirildi. 1,5 gram tartıldı, 25 ml. Metanol ilave edildikten sonra 1 saat, 40 °C’de karıştırıldı. Hazırlanan örnekler, 10 dk. 6000 devirde santrifüj edildi ve üstteki sıvı kısım (supernatant) süzgeç kağıdından geçirilerek ekstrakt elde edildi. Ekstrakt; analiz yapılana kadar 4 °C’de tutuldu.

2.2. Metod

Bu çalışmada; Türkiye’de yetişen Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizlerinde toplam fenolik madde, indirgeme gücü ve radikal süpürücü aktivite yöntemleri ile antiradikal madde ve antimikrobiyal aktivite tayinleri yapılması amaçlandı. Elde edilen sonuçlarla, kullanılan numuneler kendi aralarında ve dünyada yaygın olarak yetiştirilen ceviz türleri ile karşılaştırıldı.

2.2.1 Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde analizi küçük değişiklikler ile Slinkard ve Singleton (1997) ‘a göre (32) verilen metoda göre yapıldı. Hazırlanan metanolik ekstraktlardan gerekli miktarlarda alınarak 1, 2, 4, 6 mg ekstrakt/ml’lik çözeltiler hazırlandı. Her birinden 0,1 ml numune alındı, 11,5 ml saf su ve 0,25 ml Folin- Ciocalteu reaktifi ilave edilerek 3 dakika karıştırıldı. Çözeltiye 1 ml %2’lik sodyum karbonat ilave edilerek nötralize

olması sağlandı ve oda sıcaklığında 2 saat boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı.

Absorbans, spektrofotometrede 760 nm’ de okundu.

Tüm fenolik bileşiklerin konsantrasyonları mg gallik asit eşdeğerleri (GAEs) olarak ifade edildi. Bunun için; hazırlanan stok gallik asit (500 mikrogram/ml) çözeltisinden gerekli miktarlarda alınarak 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1 mg/ml’lik çözeltiler hazırlamak amacıyla her biri saf metanolle 50 ml’ye tamamlandı ve Toplam Fenolik Madde Analizi’ndeki her basamak tekrarlandı. Gallik asit için bir kalibrasyon grafiği oluşturmak amacıyla, hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri spektrofotometrede okundu ve bu değerlerle grafik çizildi. Fenolik bileşiklerin konsantrasyonu aşağıdaki gallik asit standart eğrisi kullanılarak elde edilen denkleme göre hesaplandı.

$$\text{Konsantrasyon} = F(\text{Absorbans}) = 0,7119X - 0,103$$

$$X = \text{Absorbans}$$

2.2.2. Antiradikal Aktivite Tayini

2.2.2.1. İndirgeme Gücü Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini

İndirgeme gücü yöntemi ile antiradikal aktivite tayini; Oyaizu (1986)’ya göre (33) ‘te verilen metoda göre yapıldı. Hazırlanan metanolik ekstraktlardan 1, 2, 4, 6 mg ekstrakt/ml’lik çözeltiler hazırlandı. Her birinden 50 mikrolitre alınarak üzerine; 2,5 ml fosfat tamponu (0,2M, pH:6,6) ve 2,5 ml potasyum ferrisiyanür (%1’lik) ilave edildi ve çözeltiler 20 dk. 50°C’de inkübe edildi. Ardından 2,5 ml TCA (%1’lik) eklendi ve 10 dk 6000 devirde santrifüj edildi. 2,5 ml süpernatanttan alındı, 2,5 ml saf su ve 0,5 ml ferrik klorür (%0,1) ilavesinden sonra 700 nm’de absorbans ölçüldü. Her bir örnek için 3’er çözelti hazırlandı ve ayrı ayrı absorbans alınarak ortalama değerler hesaplandı. 0,5 absorbansa denk gelen konsantrasyon olan EC₅₀ değeri; grafikten elde edilen denklem ile hesaplandı.

Referans bileşiği olarak BHA kullanıldı. Hazırlanan BHA stok çözeltisinden (500 mikrogram/ml) gerekli miktarlarda alınarak 1, 2, 4, 6 mg/ml’lik çözeltiler hazırlandı ve her birinden 50 mikrolitre alınarak, indirgeme gücü analizindeki bütün basamaklar uygulandı. Hazırlanan çözeltilerin 700 nm’de absorbansları okundu ve kalibrasyon grafiği oluşturuldu.

2.2.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini

Radikal süpürücü aktivite yöntemi ile antiradikal aktivite tayini, küçük değişiklikler ile Wu, Chen, and Shiau (2003)'ya göre (34)'te verilen metoda göre yapıldı. Hazırlanan metanolik ekstraktlardan 1, 2, 4, 6 mg/ml'lik çözeltiler hazırlandı ve her birinden 0,5 ml alındı. 14,787 mg DPPH tartıldı ve 250 ml'ye saf metanolle tamamlandı. Ekstraktların üzerine hazırlanan DPPH çözeltilerinden 1,5 ml. ilave edildi.

Karışım hızlıca karıştırıldı ve 30 dk oda sıcaklığında, karanlıkta beklemeye bırakıldı. Ardından absorbans değerleri 515 nm'de ölçüldü.

Radikal süpürücü aktivite yüzdesi; her bir numune için aşağıdaki denklem ile hesaplandı:

$$\% \text{ RSA} = (A_0 - A_1) / A_0 * 100$$

Denklemde A_0 kontrol örneğinin absorbansı (DPPH), A_1 ekstrakt ve DPPH karışımının absorbansıdır. %50 inhibisyon sağlayan konsantrasyon değeri (EC_{50}), radikal süpürücü aktivite yüzdesi grafiğinden hesaplandı. Referans bileşik olarak BHA kullanıldı.

2.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

2.2.3.1. Örnek Ekstraktların Hazırlanması

Kabuklarından ayrılıp blenderda toz haline getirilen ceviz örneklerinden 10'ar gram tartıldı ve her birine 10 ml destile su ilave edildi. Hazırlanan örnekler 1 saat, 40 °C'de karıştırılıp 10 dk 6000 devirde santrifüj edildi. Üstteki sıvı kısım (süpernatant), süzgeç kağıdından süzülerek ekstrakt elde edildi.

2.2.3.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Antimikrobiyal aktiviteler için kullanılan bakterilerin türleri, Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC) tarafından temin edildi. Gram-pozitif ve Gram-negatif olarak ikiye ayrılan 10 farklı bakteriye karşı milimetrik inhibisyon bölgesinin ölçülmesiyle *Juglans regia* ekstraktları agar kuyu difüzyon yöntemi ile antimikrobiyel aktivite için görüntülendi. *Bacillus cereus* ATCC® 14579™, *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™, *Streptococcus pneumonia* ATCC® 49619™, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 21060™ Gram-pozitif olarak

seçilirken, *Burkholderia cepacia* ATCC® 25416™, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC® 43895™, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853™, *Salmonella enteritidis* ATCC® 4931™ ve *Shigella spp.* ATCC® 12038™ Gram-negatif bakteri olarak seçildi.

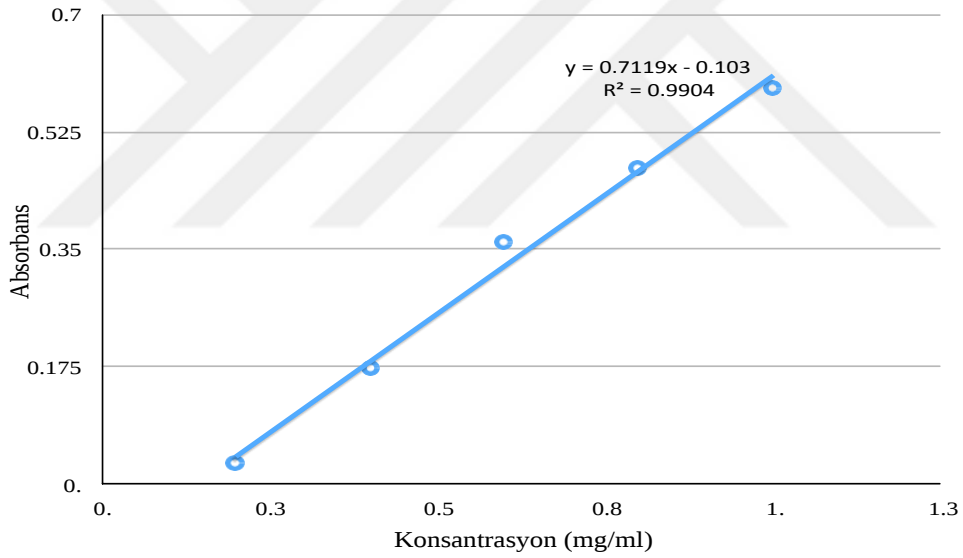
Önceden sterilize edilmiş agar, petri kabına döküldü ve katılaşmaya bırakıldı. Bakteri türleri orta Triptik Soy Agar (BD Difco™) içinde 37 °C’de (Memmert, Almanya) aerobik olarak kültüre edildi. Bakteri süspansiyonları, yaklaşık 1.5×10^8 cfu / ml içerecek şekilde ayarlandı, sterilize L şeklindeki cam döngü yardımcı ile orta agar içeren kaplar inoküle edildi (100 µL, yüzeye yaygın). 100 µL ceviz özleri orta agar yüzeyine (~ 3 mm derinlik, 5 mm çap) herbir hücreye döküldü. Negatif kontroller için ekstrakt hazırlanmasında aynı çözücü ve pozitif referans olarak doksisisiklin kullanıldı. Aşılanmış plakalar 18 saat boyunca 37 °C’ de aerobik olarak inkübe edildi. Her bakteri için inhibisyon bölgesinin çapı milimetre olarak ölçüldü. Her bakteri için üç farklı plakla inhibisyon ölçümü yapıldı ve ortalama hesaplandı.

BÖLÜM 3

BULGULAR

3.1. Toplam Fenolik Madde Tayini Bulguları

Fenolik içerik analizinde sırasıyla Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizleri incelendi. Ortalama fenolik madde miktarları 74,0879 ila 130,3943 mg/g arasında bulunmuştur (Tablo 3.1). Fenolik madde miktarları yaş ağırlık olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. Gallik asit standart eğrisi

Tablo 3.1. Toplam Fenolik Madde Tayini için tüm değerler

Ceviz	Absorbans	Toplam fenolik madde miktarı (mg/g)	Ortalama fenolik madde miktarı (mg/g)
Bitlis			90,19±14,11
1	0,7883	104,336	
2	0,6669	90,127	
3	0,5473	76,127	
Bursa			103,11±4,31
1	0,7375	98,383	
2	0,7868	104,157	
3	0,8095	106,813	
Malatya			126,93±5,06
1	0,9382	121,879	
2	10,248	132,013	
3	0,9812	126,911	
Sakarya			74,08±6,11
1	0,6905	67,908	
2	0,5312	74,233	
3	0,5815	80,122	
Tokat			130,39±10,33
1	10,521	137,444	
2	0,9095	135,212	
3	10,712	118,527	

3.2. Antiradikal Aktivite TayiniBulguları

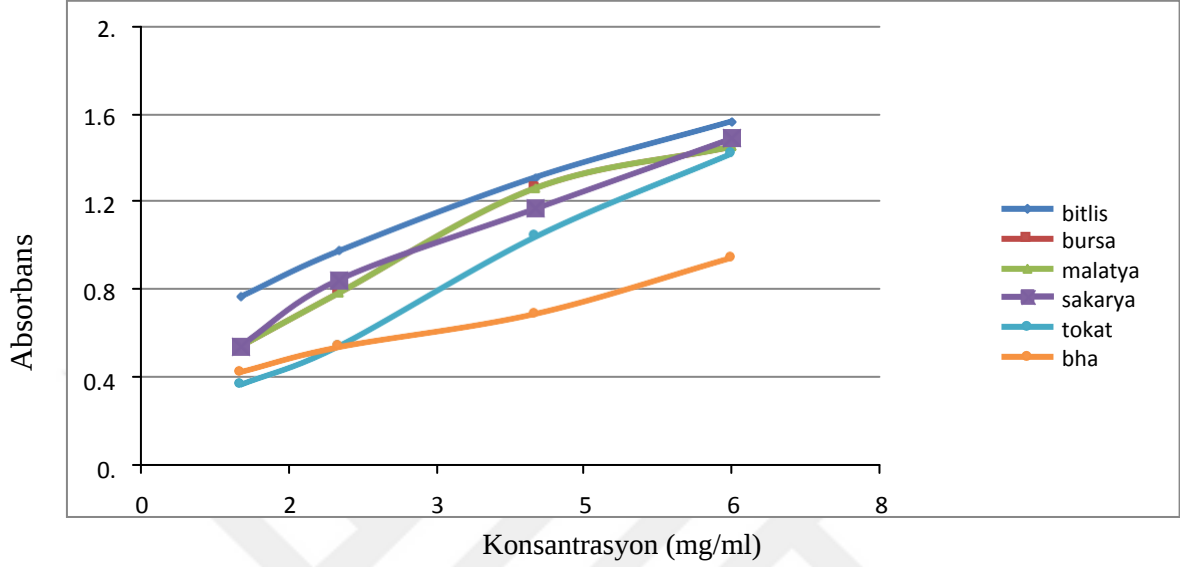
3.2.1. İndirgemeYöntemiileAntiradikalAktiviteTayiniBulguları

Tablo 3.2. Farklı ceviz ekstraktlarının spektrofotometrede okunan absorbanları

Ceviz	1 mg/ml	2 mg/ml	4 mg/ml	6 mg/ml	EC ₅₀ (mg/ml) grafikten bulunan	EC ₅₀ (mg/ml) Ortalama
Bitlis						
1	0,7313	0,85839	13,951	17,453	0,5928	0,6995±0,1135
2	0,74497	0,96587	129,735	156,639	0,68729	
3	0,81768	109,536	123,584	138,262	0,81859	
Ort Abs	0,76465	0,9732	130,943	156,477		
Bursa						
1	0,43521	0,6827	118,056	14,157	0,36412	0,5190±0,1360
2	0,64002	0,89403	141,898	149,166	0,57498	
3	0,54167	0,76838	117,997	143,862	0,61876	
Ort Abs	0,53896	0,7817	125,983	144,866		
Malatya						
1	0,39146	0,4853	105,403	14,512	0,22247	0,2780±0,0570
2	0,40403	0,73717	11,627	15,722	0,33624	
3	0,37252	0,67073	137,044	152,021	0,27577	
Ort Abs	0,38933	0,63106	191,572	151,453		
Sakarya						
1	0,4185	0,82331	0,96761	123,258	0,41597	0,5625±0,1470
2	0,52865	0,82917	117,262	147,293	0,70969	
3	0,67511	0,87304	135,784	175,213	0,56179	
Ort Abs	0,54075	0,84184	116,602	148,588		
Tokat						
1	0,29081	0,56732	110,795	159,604	0,17094	0,5625±0,0625
2	0,4373	0,48539	0,99207	125,663	0,29143	
3	0,36259	0,56507	1,013	140,036	0,25887	
Ort Abs	0,36356	0,53926	103,767	141,767		
BHA						
1	0,41966	0,53725	0,67466	112,033	18,435	1,7904±0,1452
2	0,41367	0,51548	0,68856	0,82709	0,9016	
3	0,43198	0,55368	0,6981	0,88236	16,261	
Ort Abs	0,42177	0,53547	0,6871	0,94326		

İndirgeme yöntemi ile antiradikal aktivite tayininde sırasıyla Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizleri incelendi. Ortalama EC₅₀ değerleri 0,2780±0,0570 ile 0,6995±0,1135 arasında bulunmuştur. (Tablo 3.2). Bu tayinde antiradikal aktivite

konsantrasyonu yaş ağırlık kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm cevizlerin BHA'dan daha yüksek antiradikal aktivite gösterdiği belirlendi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Ceviz çeşitleri ve BHA'nın farklı konsantrasyonlarının indirgeme gücü

3.2.2. Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini

Bulguları

İndirgeme yöntemi ile antiradikal aktivite tayininde sırasıyla Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizleri incelendi. Ortalama EC_{50} değerleri $0,2780 \pm 0,0570$ ila $0,6995 \pm 0,1135$ arasında bulunmuştur. (Tablo 3.2). Bu tayinde antiradikal aktivite konsantrasyonu yaş ağırlık kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm cevizlerin BHA'dan daha yüksek antiradikal aktivite gösterdiği belirlendi (Şekil 3.2).

Tablo 3.3. Farklı Ceviz ekstrakt konsantrasyonlarının DPPH radikali üzerine süpürücü etkisinin absorban değerleri

Ceviz	1 mg/ml	2 mg/ml	4 mg/ml	6 mg/ml	Ort EC ₅₀
Bitlis					
1	0,09844	0,09162	0,08367	0,08054	11,04±19,22
2	0,11353	0,09366	0,0889	0,08425	
3	0,10499	0,09927	0,09018	0,08241	
Ort Abs	0,10565	0,09485	0,08758	0,0824	
Bursa					
1	0,08211	0,08086	0,0747	0,07025	17,248±23,65
2	0,09037	0,08861	0,08023	0,07425	
3	0,09434	0,09063	0,08756	0,08028	
Ort Abs	0,08894	0,0867	0,08083	0,07492	
Malatya					
1	0,09048	0,08516	0,08359	0,08066	11,572±97,93
2	0,12473	0,11702	0,09303	0,09287	
3	0,1113	0,10089	0,09162	0,09028	
Ort Abs	0,10883	0,10102	0,08941	0,08793	
Sakarya					
1	0,09657	0,09435	0,08728	0,08155	15,047±37,97
2	0,10326	0,09878	0,09451	0,09123	
3	0,11408	0,10337	0,09782	0,09211	
Ort Abs	0,10463	0,09883	0,09320	0,08892	
Tokat					
1	0,10084	0,09906	0,09454	0,09392	21,197±73,81
2	0,10885	0,0986	0,09437	0,09011	
3	0,09887	0,09604	0,09124	0,09027	
Ort Abs	0,10285	0,0979	0,09338	0,09143	
BHA					
1	0,41966	0,53725	0,67466	1,12033	3,21±1,14
2	0,41367	0,51548	0,68856	0,82709	
3	0,43198	0,55368	0,6981	0,88236	
Ort Abs	0,42177	0,53547	0,6871	0,94326	

Radikal süpürücü aktivite yöntemiyle antiradikal aktivite tayininde sırasıyla Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizleri incelendi. Ortalama EC₅₀ değerleri 11,04 ila 21,197 arasında bulundu (Tablo 3). Butayinin hesaplamalarında cevizlerinyaş ağırlığı kullanılmıştır.

Tablo 3.4. Bitlis cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri

	A ₀	A ₁	%RSA
1 mg/ml	0,88455	0,10565	88,056
2 mg/ml	0,88455	0,09485	89,277
4 mg/ml	0,88455	0,08758	90,0979
6 mg/ml	0,88455	0,0824	90,6845

Tablo 3.5. Bursa cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri

	A ₀	A ₁	%RSA
1 mg/ml	0,88455	0,08894	89,9451
2 mg/ml	0,88455	0,0867	90,1984
4 mg/ml	0,88455	0,08083	90,862
6 mg/ml	0,88455	0,0749	91,5301

Tablo 3.6. Malatya cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri

	A ₀	A ₁	%RSA
1 mg/ml	0,88455	0,10883	87,6965
2 mg/ml	0,88455	0,10102	88,5795
4 mg/ml	0,88455	0,08941	89,892
6 mg/ml	0,88455	0,08793	90,0593

Tablo 3.7. Sakarya cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri

	A₀	A₁	%RSA
1 mg/ml	0,88455	0,10463	88,1713
2 mg/ml	0,88455	0,09883	88,827
4 mg/ml	0,88455	0,0932	89,4635
6 mg/ml	0,88455	0,08829	90,0186

Tablo 3.8. Tokat cevizleri için okunan absorbans ve hesaplanan %RSA değerleri

	A₀	A₁	%RSA
1 mg/ml	0,88455	0,10285	88,3726
2 mg/ml	0,88455	0,0979	88,9322
4 mg/ml	0,88455	0,09338	89,4432
6 mg/ml	0,88455	0,09143	89,6636

3.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Bulguları

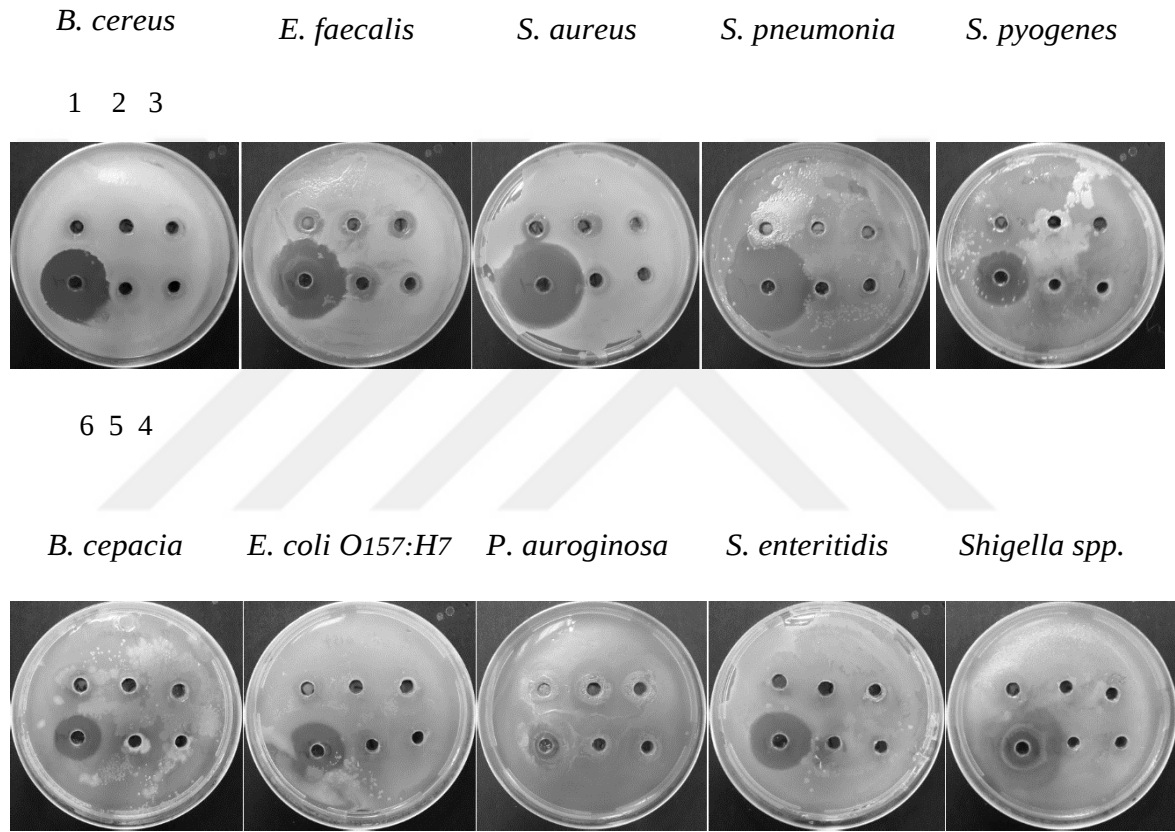
Tablo 3.9. Gram pozitif ve gram negatif bakterilerin ortalama inhibisyon etkisi

Referans Türler	Gram	İnhibisyon Alanlarının Çapı (mm)					Kontrol (mm)	
		Bitlis	Bursa	Malatya	Tokat	Sakarya	Negatif	Positif
<i>B. cereus</i>	+	-	8	10	9	7	-	23
<i>E. faecalis</i>	+	14	10	13	14	12	-	35
<i>S. aureus</i>	+	13	10	12	9	13	-	35
<i>S. pneumoniae</i>	+	14	11	12	14	14	-	35
<i>S. pyogenes</i>	+	-	-	-	-	-	-	22
<i>B. cepacia</i>	-	7	9	11	7	8	-	19
<i>E. coli O157:H7</i>	-	10	10	12	7	10	-	23
<i>P. aeruginosa</i>	-	12	9	12	15	12	-	20
<i>S. enteritidis</i>	-	14	12	15	16	15	-	25
<i>Shigella spp.</i>	-	8	10	10	7	9	-	17

Negatif kontrol: Su, Pozitif kontrol: Doksisisiklin (10 µg/ml), (-): İnhibisyon olmayan alan.

İnhibisyon alanları sulu ceviz ekstraktlarına göre ölçüldü. Negatif kontrol su ile pozitif kontrol doksisisiklin 10 µg/mL ile ölçüldü (Tablo 3.4.Şekil 3.14). CV'den sulu ceviz ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi Tablo 1'de gösterildi. Bitlis, Bursa,

Malatya, Tokat ve Sakarya: *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. pneumonia*, *S. pyogenes*, *B. cepacia*, *E. coli O157:H7*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* ve *Shigella spp* 'ye karşı tayin edildi. Test edilen bakteriler için iyi-difüzyon metodu antimikrobiyal aktivite örneklerinin ölçülmesinde kullanıldı. Analiz edilen tüm ekstraktlar antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Şekil 3.3). Ancak her ekstrakt çeşidinin aktivitesi, bakteritürlerine göre farklılık gösterdi.



Şekil 3.3. Gram - pozitif ve Gram -negatif bakterilere karşı , farklı ceviz ekstrakt inhibisyonu bölgeleri. (Üst sırada gram- pozitif, alt sırada gram- negatif bakterileri verilmiştir. 1, 2, 3, 4, 5, 6 sırasıyla Malatya, Sakarya, Tokat, Bursa, Bitlis ve kontrol örneklerini gösterir.)

BÖLÜM 4

TARTIŞMA

4.1. Toplam Fenolik MaddeTayini

Toplam fenolik madde miktarı; ceviz örneklerinde 74 ila 130 mg GAE/g arasında değişiklikler gösterdi. Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizlerindeki fenolik içeriklerde farklılıklar vardı. En yüksek fenolik içerik Tokat cevizlerinde gözlemlendi. (Tablo 3.1) Toplam fenolik içeriğinin azalması muhtemelen sülfür içerikli bileşiklerin artması ve çekirdeklerin esas yağında bulunan terpenoid maddelerden kaynaklanmaktadır. Sülfür içerikli bileşikler, metanolde çözündükleri için toplam fenolik içerik miktarını azaltırlar (34).

Toplam fenolik içeriği ölçümü fenolik yapıları arasında ayırım yapmadan, mevcut fenolik bileşiklerin değeridir. Ceviz fraksiyonlarının toplam fenolik içeriğinde bildirilen genotip farklılıkları, muhtemelen karşımıza çıkan farklı değerlerin sebebidir. Vali Akbari ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kullandıkları ceviz türlerinde toplam fenolik madde miktarını 112 ila 178 mg GAE/g arasında bulmuşlardır (35). Bu çalışmada bulunan sonuçlar ise 74 ila 130 mg GAE/100g arasında olmak üzere, Vali Akbari ve arkadaşlarının sonuçlarından yüksek bulunmuştur.

JoséAlbertoPereiravearkadaşlarıiseyaptıklarıçalışmadakullandıklarıceviz türlerinin toplam fenolik madde miktarını 58,78 ila 95,06 mg of GAE/g arasında bulmuşlardır ki bizim çalışmamızda bulduğumuz değerlerden düşüktür (36).

4.2. Antiradikal AktiviteTayini

4.2.1. İndirgemeGücüYöntemiileAntiradikalAktiviteTayini

İndirgeme gücü analizinin amacı; antiradikalın indirgeyici özelliğini ölçmektir ve numune ekstralarının varlığında Fe(III) – Fe(II) dönüşümü ile değerlendirilir. Reaksiyon karışımının yüksek absorpsiyonu yüksek indirgeme gücünü gösterir.

Numuneler ve BHA için EC₅₀değerleri elde edildi (Tablo 3.2). Cevizler için bulunan değerler 0,2780±0,0570 ile 0,6995±0,1135 arasında değişkenlik gösterirken BHA için EC₅₀ değeri ise 1,7904±0,1452 bulundu. Numunelerin EC₅₀ değerleri ile BHA karşılaştırıldığında ceviz ekstraktları daha yüksek indirgeme gücüne sahiptir (Şekil 3.2.). Buna ek olarak tüm cevizlerde belirgin farklılıklar gözlenmiştir. İndirgeme

özellikleri, genel olarak, bir hidrojen atomu transfer edip serbest radikal zinciri kırarak antiradikal işlem uygulamak için gösterilmiş olan indirgeyicilerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir.

Monireh Cheniany ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kullandıkları ceviz türlerinin indirgeme gücünü %50 absorbans noktasındaki konsantrasyonları ölçerek 0.374 ila 0.668 mg/ml olarak bulmuşlardır (37). Bizim çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar ise 0,2780 ila 0,6995 mg/ml arasındadır ve yukarıda bahsedilen sonuçlarla yakınlık göstermektedir.

Vali Akbari ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada cevizlerin (iç) EC₅₀ değerlerini 0,52 ila 0,87 mg/ml arasında bulmuştur ki bizim çalışmamızda bulduğumuz değerlerden yüksek olup yakınlık göstermektedir (35).

4.2.2 .Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini

Radikal süpürücü aktivite deneyinde; incelenen ceviz ekstraktlarının DPPH radikalinin indirgenmiş formu olan DPPH-H⁻'ye dönüşümünde hidrojen atom veya elektron verici olarak hareket etmeleri araştırılmıştır. Değerlendirilen tüm ekstraktlar sabit bir azalma göstermiş, mor renkli radikal DPPH' den sarı renkli DPPH-H⁻'ye dönüşmüştür. DPPH deneyinde, BHA ve numuneler için EC₅₀değerleri elde edilmiştir. EC₅₀ değerlerinin düşük olması durumunda antiradikal aktivitesinin yüksekliğini gösterir (Tablo 3.3).Tablodan da görüleceği gibi Bitlis cevizlerinin antiradikal etkisinin diğerlerine göre en yüksek olduğu söylenebilir. En düşük antiradikal etki ise Tokat cevizlerinde saptanmıştır. Bütün cevizlerin antiradikal etkisinin BHA'dan düşük olduğu görülmüştür. Aynı hacim kullanarak, her ceviz çeşidinin metanolik ekstraktlarının DPPH radikal süpürücü aktivite azalma sırası aşağıdaki gibidir:

Tokat>Bursa>Sakarya>Malatya>Bitlis.

Söz konusu ortalama EC₅₀ değerlerinin 11,04 ila 21,197 arasında olduğu hesaplanmıştır. Daha önce yayınlanan verilerde cevizin yüksek radikal süpürücü kapasitesi belirtilmiştir, ancak ceviz ekstraktlarını ve bunların farklı fenolik bileşikleri içerme ilişkilerinin temizleme faaliyetleri sonuçlarında farklılıklar belirtilmiştir (39). Ayrıca ekstraktların fraksiyonları kullanılan ekstraksiyon çözücülerine bağımlı olduklarından söz edilmiştir (39). Sonuçlar zengin bir fenolik kaynak olan cevizin bağımsız radikalleri etkin temizlemede sorumlu olduklarını desteklemektedir. Vali

Akbari ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ceviz örneklerinde (iç) ortalama EC_{50}



değerlerini 0,65 ila 0,95 arasında bulmuştur ki bu değerler bizim çalışmamızda bulduğumuz değerlerden düşüktür.

4.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Sonuç olarak elde edilen verilerde; cevizin hem gram- pozitif hem de gram-negatif mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği görüldü. Bununla beraber ceviz meyvesi ciddi hatalıklara sebep olan patojenik bakterilerin gelişimini inhibe eden doğal bileşiklerin kolayca bulunabildiği bir kaynak olarak kullanılabilir olduğu görülmüştür.



**EK-
1HESAPLAMALAR
R**

1. Toplam Fenolik Madde Tayini Hesaplamaları

Gallik asit kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklem ile sırasıyla Bitlis, Bursa, Malatya, Sakarya, Tokat cevizleri için toplam fenolik madde miktarı hesaplandı.

$$y = 0,7119x - 0,103$$

-Bitlis:

$$1) 0,78832 = 0,7119x - 0,103$$

$$x = 1,252 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,252 / 0,012 = 104,3358 \text{ mg/g}$$

$$2) 0,66694 = 0,7119x - 0,103$$

$$x = 1,0815 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,0815 / 0,012 = 90,127 \text{ mg/g}$$

$$3) 0,54734 = 0,7119x - 0,103$$

$$x = 0,9135 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 0,9135 / 0,012 = 76,1272 \text{ mg/g}$$

$$\text{Ortalama fenolik madde miktarı} = (104,3358 + 90,127 + 76,1272) / 3 = 90,1966 \text{ mg/g}$$

-Bursa:

$$1) 0,7375 = 0,7119x - 0,103$$

$$x = 1,1806 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,1806 / 0,012 = 98,3833 \text{ mg/g}$$

$$2) 0,78679 = 0,7119x - 0,103$$

$$x = 1,2498 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,2498 / 0,012 = 104,1567 \text{ mg/g}$$

$$3) 0,80948 = 0,7119x - 0,103$$

$$x = 1,2817 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,2817 / 0,012 = 106,8127 \text{ mg/g}$$

$$\text{Ortalama fenolik madde miktarı} = (98,383 + 104,1567 + 106,8127) / 3 = 103,1175 \text{ mg/g}$$

-Malatya:

1) $0,93819 = 0,7119x - 0,103$

$$x = 1,4625 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,4625 / 0,012 = 121,8792 \text{ mg/g}$$

2) $1,02476 = 0,7119x - 0,103$

$$x = 1,5841 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,5841 / 0,012 = 132,0129 \text{ mg/g}$$

3) $0,98117 = 0,7119x - 0,103$

$$x = 1,5229 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,5229 / 0,012 = 126,9103 \text{ mg/g}$$

$$\text{Ortalama fenolik madde miktarı} = (121,8792 + 132,0129 + 126,9103) / 3 = 126,934 \text{ mg/g}$$

-Sakarya:

1) $0,6905 = 0,7119x - 0,103$

$$x = 0,8149 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 0,8149 / 0,012 = 67,9083 \text{ mg/g}$$

2) $0,53116 = 0,7119x - 0,103$

$$x = 0,8907 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 0,8907 / 0,012 = 74,2332 \text{ mg/g}$$

3) $0,58147 = 0,7119x - 0,103$

$$x = 0,9614 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 0,9614 / 0,012 = 80,1224 \text{ mg/g}$$

$$\text{Ortalama fenolik madde miktarı} = (67,9083 + 74,2332 + 80,1224) / 3 = 74,0879 \text{ mg/g}$$

-Tokat:

• $1,05209 = 0,7119x - 0,103$

$$x = 1,6225 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,6225 / 0,012 = 135,2121 \text{ mg/g}$$

2) $0,90955 = 0,7119x - 0,103$

$$x = 1,4223 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,4223 / 0,012 = 118,5267 \text{ mg/g}$$

$$3) 1,07116 = 0,7119x - 0,103$$

$$x = 1,6493 \text{ mikrogram/ml}$$

$$x = 1,6493/0,012 = 137,4443 \text{ mg/g}$$

$$\text{Ortalama fenolik madde miktarı} = (135,2121 + 118,5267 + 137,4443)/3 = 130,3943 \text{ mg/g}$$

1.1. Gallikasitstandartgrafiğihesaplamaları

Stok gallik asit çözeltisi 500 ppm = 500 mikrogram/ml = 50 mg

Yani 50 mg gallik asit 100 ml saf metanolde çözüldü. 500 ppm'lik çözelti hazırlanmış oldu. Bu stoktan 0,2 , 0,4 , 0,6 , 0,8 , 1 mikrogram/ml'lik çözeltiler hazırlamak için;

$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$ denkleminde

$$0,2 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = 500 \text{ ppm} \cdot V_2 \quad V_2 = 0,02 \text{ ml} = 20 \text{ mikrolitre}$$

$$0,4 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = 500 \text{ ppm} \cdot V_3 \quad V_3 = 0,04 \text{ ml} = 40 \text{ mikrolitre}$$

$$0,6 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = 500 \text{ ppm} \cdot V_4 \quad V_4 = 0,06 \text{ ml} = 60 \text{ mikrolitre}$$

$$0,8 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = 500 \text{ ppm} \cdot V_5 \quad V_5 = 0,08 \text{ ml} = 80 \text{ mikrolitre}$$

$$1 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = 500 \text{ ppm} \cdot V_6 \quad V_6 = 0,1 \text{ ml} = 100 \text{ mikrolitre}$$

alınıp hepsi saf metanolle 10 ml'ye tamamlanarak seri gallik asit çözeltileri elde edildi.

Bu çözeltilerin absorbans değerleri ölçüldü ve absorbansa konsantrasyon şeklinde kalibrasyon grafiği çizildi. Elde edilen denklem: $y = 0,7119x - 0,103$

2. AntiradikalAktiviteTayinleriHesaplamaları

2.1. İndirgemeGücüYöntemiileAntiradikalAktiviteTayiniHesaplamaları

-Bitlis cevizleri için EC₅₀ değerleri hesaplamaları

$$a) y = 4,6639x - 2,2652$$

$$x = (0,5 + 2,2652) / 4,6639$$

$$x = 0,5928 \text{ mg/ml}$$

$$b) y = 10,689x - 6,8465$$

$$x = (0,5 + 6,8465) / 10,689$$

$$x = 0,68729 \text{ mg/ml}$$

$$c) y = 8,7498x - 6,6625$$

$$x = (0,5 + 6,6625) / 8,7498$$

$$x = 0,81859 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Bitlis cevizleri için ortalama EC}_{50} \text{ değeri} &= (0,5928 + 0,68729 + 0,81859) / 3 \\ &= 0,6995 \pm 0,1135 \end{aligned}$$

-Bursa cevizleri için EC₅₀ değerleri hesaplamaları

$$a) y = 4,7822x - 1,2741$$

$$x = (0,5 + 1,2741) / 4,8722$$

$$x = 0,3641 \text{ mg/ml}$$

$$b) y = 5,1287x - 2,4489$$

$$x = (0,5 + 2,4489) / 5,1287 \quad x = 0,57498 \text{ mg/ml}$$

$$c) y = 4,4109x - 2,2293$$

$$x = (0,5 + 2,2293) / 4,4109$$

$$x = 0,61876 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Bursa cevizleri için ortalama EC}_{50} \text{ değeri} &= (0,36412 + 0,57498 + 0,61876) / 3 \\ &= 0,5190 \pm 0,1360 \end{aligned}$$

-Malatya cevizleri için EC₅₀ değerleri hesaplamaları

$$a) y = 4,4139x - 0,482$$

$$x = (0,5 + 0,482) / 4,4139$$

$$x = 0,22247 \text{ mg/ml}$$

b) $y = 4,3459x - 0,9613$

$$x = (0,5 + 0,9613) / 4,3459$$

$$x = 0,33624 \text{ mg/ml}$$

c) $y = 3,8858x - 0,5716$

$$x = (0,5 + 0,5716) / 3,8858$$

$$x = 0,27577 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Malatya cevizleri için ortalama EC}_{50} \text{ değeri} &= (0,22247 + 0,33624 + 0,27577) / 3 \\ &= 0,2780 \pm 0,0570 \end{aligned}$$

-Sakarya cevizleri için EC₅₀ değerleri hesaplamaları

a) $y = 6,1862x - 2,0733$

$$x = (0,5 + 2,0733) / 6,1862$$

$$x = 0,41597 \text{ mg/ml}$$

b) $y = 4,3179x - 2,5644$ $x = (0,5 + 2,5644) / 4,3179$

$$x = 0,70969 \text{ mg/ml}$$

c) $y = 4,5627x - 2,0633$

$$x = (0,5 + 2,0633) / 4,5627$$

$$x = 0,56179 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Sakarya cevizleri için ortalama EC}_{50} \text{ değeri} &= (0,41597 + 0,70969 + 0,56179) / 3 \\ &= 0,5625 \pm 0,1470 \end{aligned}$$

-Tokat cevizleri için EC₅₀ değerleri hesaplamaları

a) $y = 3,8217x - 0,1533$

$$x = (0,5 + 0,1533) / 3,8217$$

$$x = 0,17094 \text{ mg/ml}$$

b) $y = 5,4845x - 1,0984$

$$x = (0,5 + 1,0984) / 5,4845$$

$$x = 0,29143 \text{ mg/ml}$$

$$c) y = 4,7711x - 0,7351$$

$$x = (0,5 + 0,7351) / 6,1862$$

$$x = 0,25887 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Tokat cevizleri için ortalama EC}_{50} \text{ değeri} &= (0,17094 + 0,29143 + 0,25887) / 3 \\ &= 0,5625 \pm 0,0625 \end{aligned}$$

-BHA için EC₅₀ değerleri hesaplamaları

$$a) y = 0,1336x + 0,2537$$

$$x = (0,5 - 0,2537) / 0,1336$$

$$x = 1,8435 \text{ mg/ml}$$

$$b) y = 0,0824x + 0,3433 \quad x = (0,5 - 0,3433) / 0,0824$$

$$x = 1,9016 \text{ mg/ml}$$

$$c) y = 0,0872x + 0,3582$$

$$x = (0,5 - 0,3582) / 0,0872$$

$$x = 1,6261 \text{ mg/ml}$$

$$\text{BHA için ortalama EC}_{50} \text{ değeri} = 1,7904 \pm 0,1452$$

2.2. Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi ile Antiradikal Aktivite Tayini Hesaplamaları

Radikal süpürücü aktivite yüzdesi; her bir numune için aşağıdaki denklem ile hesaplandı:

$$\% \text{ RSA} = (A_0 - A_1) / A_0 * 100$$

A₀ = 0,88455 olarak okundu.

-Bitlis cevizleri için %RSA değerleri hesaplamaları

a) $\%RSA = (0,88455 - 0,10565) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 88,056$

b) $\%RSA = (0,88455 - 0,09485) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 89,277$

c) $\%RSA = (0,88455 - 0,087589) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 90,0979$

d) $\%RSA = (0,88455 - 0,0824) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 90,6845$

-Bursa cevizleri için %RSA değerleri hesaplamaları

a) $\%RSA = (0,88455 - 0,08894) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 89,9451$

b) $\%RSA = (0,88455 - 0,0867) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 90,1984$ c) $\%RSA = (0,88455 - 0,08083) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 90,862$

d) $\%RSA = (0,88455 - 0,07492) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 91,5301$

-Malatya cevizleri için %RSA değerleri hesaplamaları

a) $\%RSA = (0,88455 - 0,10883) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 87,6965$

b) $\%RSA = (0,88455 - 0,10102) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 0,885795$

c) $\%RSA = (0,88455 - 0,08941) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 89,892$

d) $\%RSA = (0,88455 - 0,08793) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 90,0593$

-Sakarya cevizleri için %RSA değerleri hesaplamaları

a) $\%RSA = (0,88455 - 0,10463) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 88,1713$

b) $\%RSA = (0,88455 - 0,09883) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 88,827$

c) $\%RSA = (0,88455 - 0,09320) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 89,4635$

d) $\%RSA = (0,88455 - 0,08829) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 90,0186$

-Tokat cevizleri için %RSA değerleri hesaplamaları

a) $\%RSA = (0,88455 - 0,10285) / 0,88455 * 100$

$\%RSA = 88,3726$

b) $\%RSA = (0,88455 - 0,0979) / 0,88455 * 100$

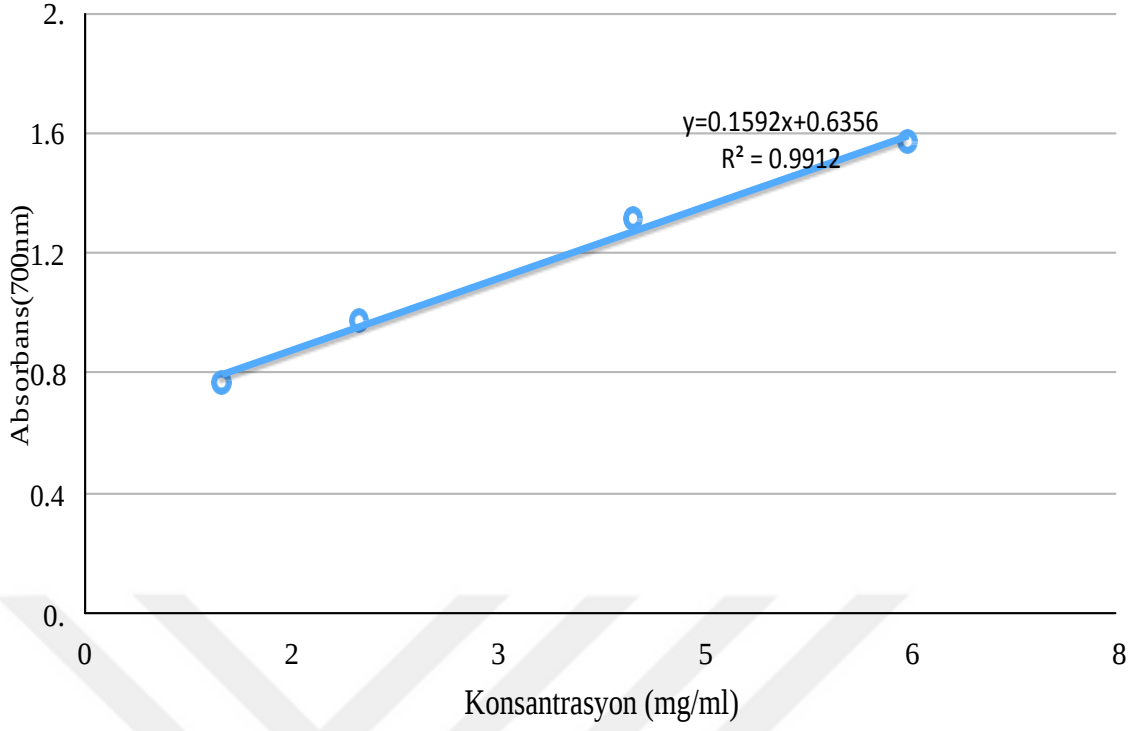
$\%RSA = 88,9322$

c) $\%RSA = (0,88455 - 0,09338) / 0,88455 * 100$

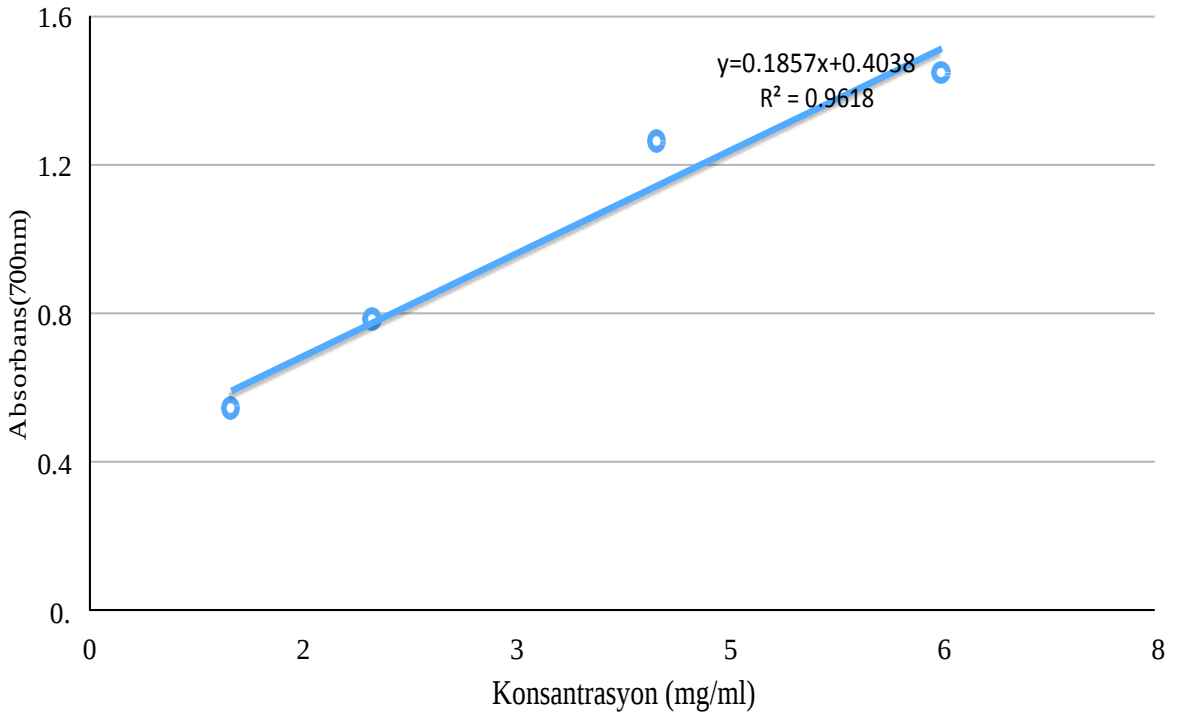
$\%RSA = 89,4432$

d) $\%RSA = (0,88455 - 0,09143) / 0,88455 * 100$

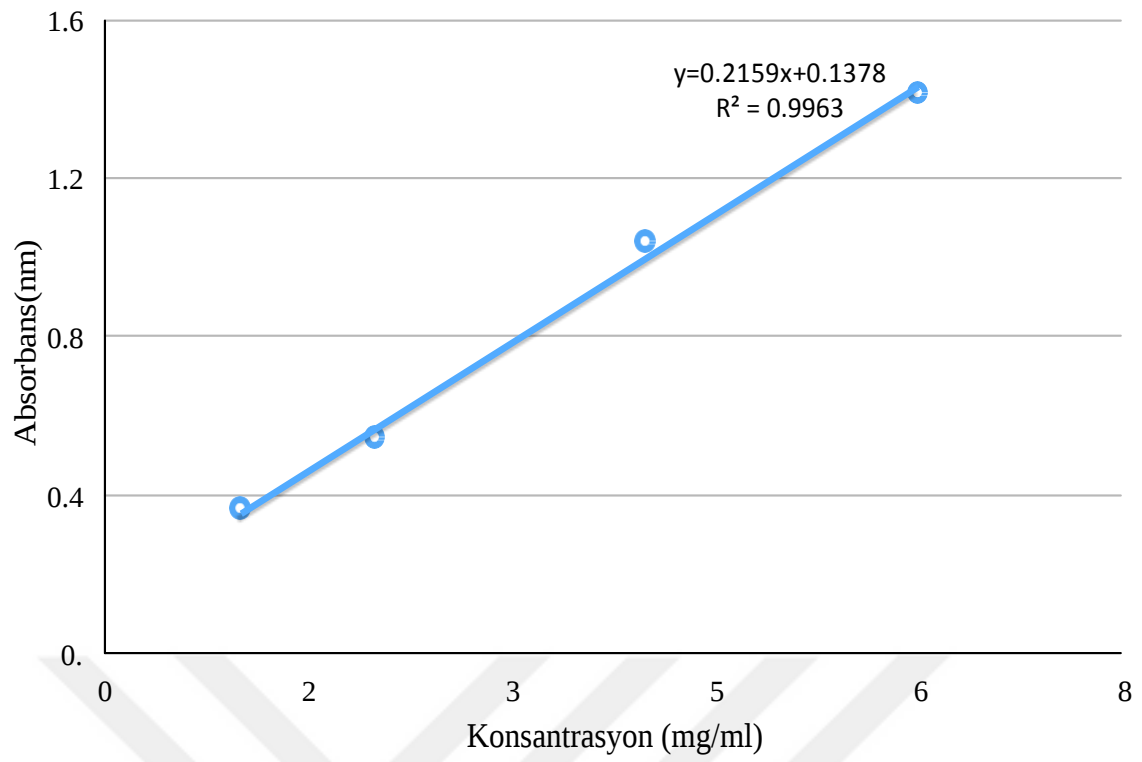
$\%RSA = 89,6636$



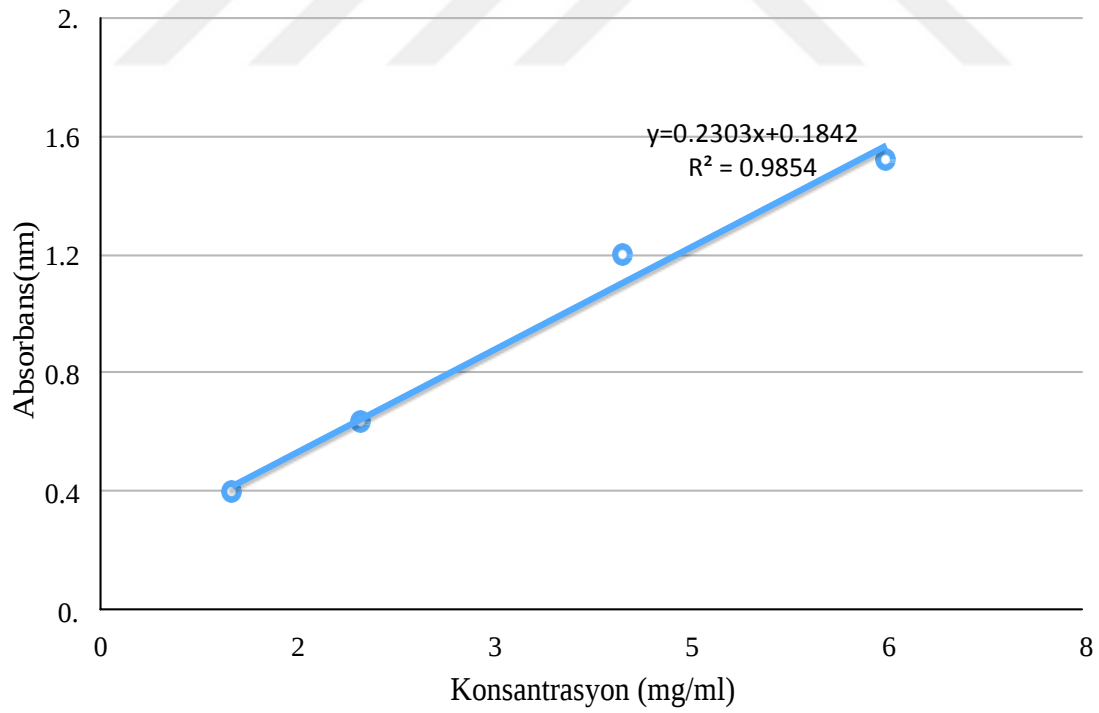
Şekil Ek 1.1. Bitlis cevizlerinin indirgeme yöntemi için Kons/ Abs grafiği



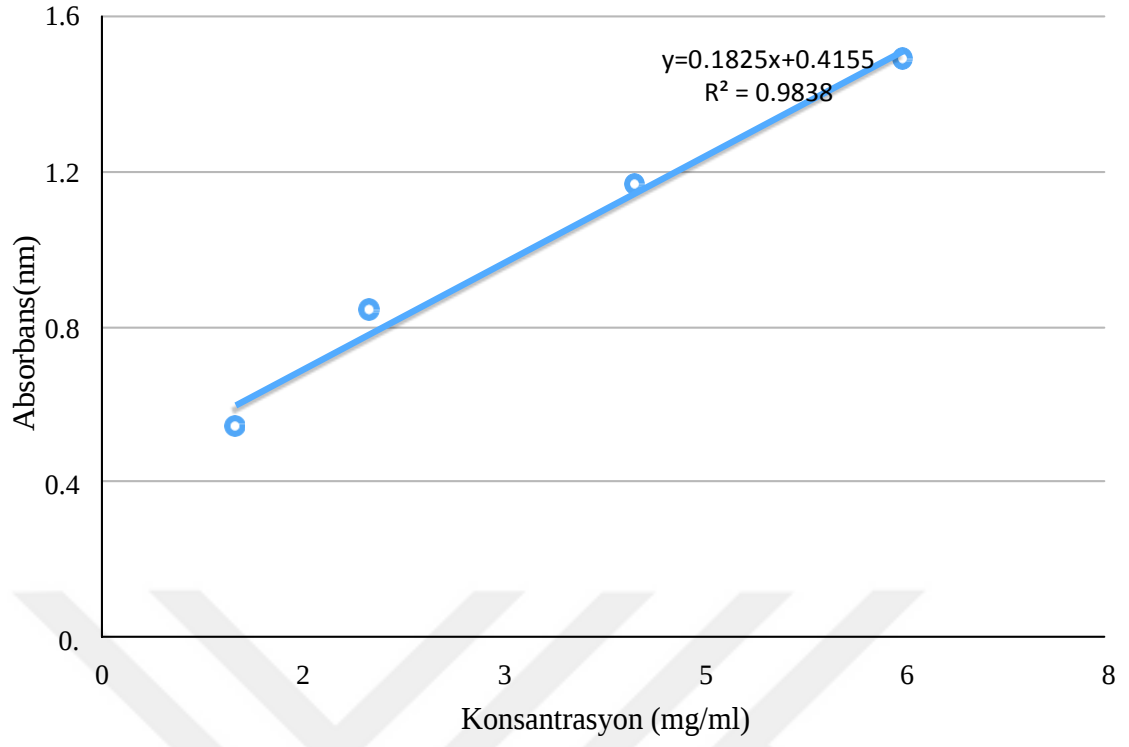
Şekil Ek 1.2. Bursa cevizlerinin indirgeme yöntemi için Kons/ Abs grafiği



Şekil Ek 1.3. Malatya cevizlerinin indirgeme yöntemi için Kons/ Abs grafiği



Şekil Ek 1.4. Sakarya cevizlerinin indirgeme yöntemi için Kons/ Abs grafiği



Şekil Ek 1.5. Tokat cevizlerinin indirgeme yöntemi için Kons/ Abs grafiği

KAYNAKLAR

1. J. Bruneton, Pharmacogonie, Phytochimie, Plantes Me'dicinales, 2nd ed., Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 1993, p.348.
2. M. Wichtl, N. Grainger-Bisset (Editor), Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Medpharm, Stuttgart, 1994, pp.281–282.
3. Fukuda, T. H Ito, T. Yoshida, 2003. Antioxidative Polyphenols From Walnuts(*Juglans regia*L.).*Phytochemistry*63,795-801.
4. 2005.Walnut.www.whfoods.com
5. Lavedrine, F., D.Zmirou, A. Ravel, F.Balducci, and J. Alary, 1999. Blood Cholesterol and Walnut Consumption: A Cross- Sectional Survey in France. *Preventive Medicine*. 28; 333-339.
6. Abbey, M., M. Noakes, G. B. Belluas and P. J. Netsel, 1994. Partial Replacement of Saturated Fatty Acids With Almonds Or Walnuts Lowers Total Plasma Cholesterol and Low-Density Lipoprotein Cholesterol.*Am.J.Clin.Nutr.*59:995-999.
7. Chisholm, A., J.Mann, M. Skeaff, C.Framtion, W.Sutherland, A.Duncan, and S. Tiszavari, 1998. A Diet Rich in Walnuts Favourably Influences Plasma Fatty Acid Profile in Moderately Hyperlipidaemic Subjects.*Eur.J.Clin.Nutr.*52:12-16.
8. Maguire, L.S., S.M. O'Sullivan, K.O. Galvin, T.P. O'Conor, N.M. O'Brain 2004. Fatty acid Profile, Tocopherol, Squalene and Phytosterol of Walnut, Almonds, Peanuts, Hazelnuts and the Macadamian nut *Int J. Food Sci. Nutr* 55, 171-178
9. Almario, R. U., V. Vonghavaravat, R. Wong, and S. Kasim-Karakas, 2001. Effect of Walnut Consumption on Plasma Fatty Acids and Lipoproteins in Combined Hyperlipidemia. *American Journal of Clinical Nutrition*. 74:72-79.
10. Patel, G., 2005. Essential Fats in Walnuts are Good for Heart and Diabetes. *Journal of the American Dietetic Association* 105(7):1096-1097.

11. Franz M. J., J.P.Bantle, C.A. Beebe, J.D. Brunzell, J.L. Chiasson, A. Garg, L.A. Holzmeister, B. Hoogwerf, E. Mayer- Davis, A.D. Mooradian, J.Q. Purnell and M. Wheeler, 2002. American Diabetes Association. Evidence-Based Nutrition Principles and Recommendations for the Treatment and Prevention of Diabetes and Related Complications. *DiabetesCare*.25:148-198.
12. Tatar, O., Y. Hışıl ve M. Dönmez, 2001. Bazı Balık Yumurtalarında Omega 3 YağAsitlerininAraştırılması.*DünyaGıda*.10:61-64.
13. Simopoulous, A. P., 1991. Omega 3 Fatty Acids in Health and Disease and in GrowthandDevelopment.*Am.J.Clin.Nutr*.54:438-463.
14. Girzu, M., A.Carnat, A. M. Privat, J. Fialip, A. P.Carnat, and J. L Lamaison, 1998. Sedative Effect of Walnut Leaf Extract and Juglone on Isoleted Contituent. *PharmaceuticalBiology*.36:4,280-286.
15. Oliveira I, Sousa A, CFR Isabel et al. Total phenols, antioxidantpotential and antimicrobial activity of walnut (*Jugglingregia* L.) green husks. *Food Chem Toxicol* 2008doi:10.1016/j.fct.2008.03.017,earlyonlinearticle
16. Mehrabian S, Majd A, Majd I. Antimicrobial eff ects of threeplants (*Rubai tinctorum*, *Carthamus tinctorius* and *Juglans regia*) on some airborne microorganisms. *Aerobiologia* 2000;16:455-58.
17. Tosun,İ.,Akçay,M.E.,Erdoğan,V.,Soyergin,S.,Hantaş,C.veÇelikel,F.G.2008. CevizYetiştiriciliği.AtatürkBahçeKültürleriMerkezAraştırmaEnstitüsü.Yayınno: 90.Yalova18.Anonymous.2010.FAOStatisticsDivision, <http://faostat.fao.org>.Erişim Tarihi:18.08.2010.
- 19.<http://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/Yayinlar/Ceviz%20Eylem%20Plan%C4%B1.pdf>
20. Simopoulous, A. P., 1991. Omega 3 Fatty Acids in Health and Disease and in GrowthandDevelopment.*Am.J.Clin.Nutr*.54:438-463.
21. Serrano, A.,S.Cofrades,C.Ruiz-Capillas,B.Olmedilla-Alonso,C.Herrero_Barbu- do and F. Jimenez-Colmenero, 2005. Nutritional Profile of Restructured Beef Steak With Added Walnuts. *Meat Science* 70:647-654.

22. Kornsteiner, M., K. H. Wagner and I. Elmadfa ,2006. Tocopherols and Total Phenolics in 10 Different Nut Types. *Food Chemistry, Article in press*.
23. Halifeoğlu, I., F. Karataş, R. Çolak, H. Canatan ve S. Telo, 2005. Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum. *Fırat Tıp Dergisi 10(3):117-122*.
24. Anderson, K. J., S. S. Teuber, A. Gobeille, P. Cremin, A. L. Waterhouse and F. M. Steinberg, 2001. Walnut Polyphenolics Inhibit *in vitro* Human Plasma and LDL Oxidation. *The Am. J. Nutr.* 131;2837-2842.
25. Lavedrine, F., D. Zmirou, A. Ravel, F. Balducci, and J. Alary, 1999. Blood Cholesterol and Walnut Consumption: A Cross- Sectional Survey in France. *Preventive Medicine.* 28;333-339.
26. 2004. Health Effects of Eating Walnuts. *Food Reviews International.* Vol20, No1, 91-98.
27. Carrero, J. J., L. Baro, J. Fonolla, M. Gonzalez-Santiago, A. Martinez-Ferez, R. Castillo, J. Jimenez, J. J. Boza and E. Lopez-Huertas, 2004. Cardiovascular Effects of Milk Enriched ω -3 Polyunsaturated Fatty Acids, Oleic Acid, Folic Acid and Vitamins E and B6 in Volunteers With Mild Hyperlipidemia. *Nutrition* 20:521-527.
28. Almario, R. U., V. Vonghavaravat, R. Wong, and S. Kasim-Karakas, 2001. Effect of Walnut Consumption on Plasma Fatty Acids and Lipoproteins in Combined Hyperlipidemia. *American Journal of Clinical Nutrition.* 74:72-79.
29. Heidal, K., N. Lewis and S. Evans, 2004. Survey of Omega 3 Fatty Acid Intakes and Omega 3 Food Selections in Cardiac Patients Living in a Section of the Midwestern United States. *Nutrition Research* 741-747.
30. Abbey, M., M. Noakes, G. B. Bellu and P. J. Netsel, 1994. Partial Replacement of Saturated Fatty Acids With Almonds Or Walnuts Lowers Total Plasma Cholesterol and Low-Density Lipoprotein Cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* 59:995-999.
31. 2004. U.S. Food and Drug Administration. Office of Nutritional Products, Labeling and Dietary Supplements. QualiWed Health Claims: Letter of Enforcement Discretion.

Walnuts and Coronary Heart Disease (Docket No 02P-0292), March, 9.A available from www.cfsan.fda.gov/~dms/qhcnuts3.html. Accessed 28/10/2004.

32. Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1997). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49–55.

33. Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.

34. Wu, H. C., Chen, H. M., & Shiau, C. Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36, 949–957.

35. Akbari V., R. Jamei, R. Heidari ve A. J. Esfahlan 2012. Antiradical activity of different parts of Walnut (*Juglans regia* L.) fruit as a function of genotype. *Food Chemistry* 12/2012;135(4):2404-10.

36. Pereira J. A., I. Oliveria, A. Sousa, I. C.F.R. Ferreira, A. Bento ve L.M. Estevinho 2008. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 07/2008;46(6):2103-11.

37. Cheniany, M., H. Ebrahimzadeh, K. Vahdati, J.E. Preece, A. Masoudinejad ve M. Mirmasoumi 2012. Content of different groups of phenolic compounds in microshoots of *Juglans regia* cultivars and studies on antioxidant activity. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plants*. 1-8.

38. Samaranayaka A.G.P., J.A. John ve F. Shahidi 2008. Antioxidant activity of English walnut (*Juglans Regia* L.). *Journal of Lipids*, 15, 384-397

39. Alasalvar C. ve F. Shahidi 2009. Natural antioxidants in tree nuts. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111:11, 1056-1062

