DOI: 10.46876/ja.2022414

JOURNAL OF AGRICULTURE

ARAŞTIRMA MAKALESİ

ISSN: 2636-8757

Etanol-Su Çözücü Sistemi ile Elde Edilen Ceviz Yaprağı (*Juglans regia* L.) Ekstraktının HPLC-DAD Yöntemiyle Fenolik Bileşim Profilinin Belirlenmesi ve Kozmetik Bakım Kremine Dönüştürülmesi

Musa KARADAĞ [1,2]*

[1] Iğdır Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü, Iğdır, Türkiye

[2] Iğdır Üniversitesi, Araştırma Uygulama Laboratuvarı ve Araştırma Merkezi (ALUM), Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Sorumlu Yazar

Musa KARADAĞ, e-mail: dengemusa@hotmail.com

Özet: Ceviz (*Juglans regia* L.) yaprakları; geleneksel tıpta, kozmetik formülasyonlarda ve gıda takviyesi endüstrisinde yaygın biçimde değerlendirilen, zengin fenolik bileşim içeriğine sahip bir bitkisel materyaldir. Bu çalışmada, ceviz yapraklarından etanol-su çözücü sistemi kullanılarak elde edilen ekstraktın (10000 ppm) fenolik bileşim profili ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi-diyot dizi dedektörü (HPLC-DAD) yöntemiyle incelenmiştir. Analiz 300 nm sinyal ve 500 nm referans dalga boylarında, 0-65 dakikalık analiz süresinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kromatogramda alıkonma zamanı (tR) 3,266-35,712 dakika aralığında değişen toplam 16 pik tanımlanmıştır: askorbik asit, gallik asit, protokatekuik asit, kateşin, hidroksibenzoik asit, gentisik asit, parakumarik asit, rutin ferulik asit naringin o-kumarik asit neohesperidin kumarin resveratrol kuersetin ve trans-sinamik asit. Kromatogramda en yüksek absorbans şiddetine sahip pikler askorbik asit (tR=3.266 dk) ve kateşin (tR=6.440 dk) olarak belirlenmiş; erken eluasyon bölgesinde (tR<10 dk) yoğunlaşan bu bileşiklerin toplam pik alanının önemli bir kısmını oluşturduğu gözlenmiştir. Bulgular ceviz yaprağı ekstraktının başta gallik asit kateşin rutin ve kuersetin olmak üzere önemli düzeyde fenolik asit ve flavonoid içeriğine sahip olduğunu göstermekte olup literatürdeki önceki çalışmalarla genel eğilim bakımından örtüşmektedir. Sonuçlar ceviz yaprağı ekstraktının antioksidan potansiyel taşıyan doğal bir fenolik kaynak olarak kozmetik gıda takviyesi ve fonksiyonel ürün formülasyonlarında değerlendirilebileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Juglans regia, ceviz yaprağı, HPLC-DAD, fenolik bileşikler, flavonoid, bitkisel ekstrakt

Determination of the Phenolic Composition Profile of Walnut Leaf (*Juglans regia* L.) Extract Obtained Using an Ethanol-Water Solvent System by the HPLC-DAD Method and Its Conversion into a Cosmetic Skin Care Cream

Abstract: Walnut (*Juglans regia* L.) leaves are a plant material widely valorized in traditional medicine, cosmetic formulations, and the food supplement industry due to their rich phenolic composition. In this study, the phenolic composition profile of an extract (10000 ppm) obtained from walnut leaves using an ethanol–water solvent system was investigated by reversed-phase high-performance liquid chromatography with diode-array detection (HPLC-DAD). The analysis was performed at 300 nm signal and 500 nm reference wavelengths over a 0–65 min run time. A total of 16 peaks with retention times (tR) ranging from 3.266 to 35.712 min were identified in the resulting chromatogram: ascorbic acid, gallic acid, protocatechuic acid, catechin, hydroxybenzoic acid, gentisic acid, p-coumaric acid, rutin, ferulic acid, naringin, o-coumaric acid, neohesperidin, coumarin, resveratrol, quercetin, and trans-cinnamic acid. The peaks with the highest absorbance intensity were ascorbic acid (tR=3.266 min) and catechin (tR=6.440 min), both eluting in the early retention window (tR<10 min), which accounted for a considerable proportion of the total peak area. The findings indicate that the walnut leaf extract contains substantial levels of phenolic acids and flavonoids—particularly gallic acid, catechin, rutin, and quercetin—consistent with the general trends reported in the existing literature. These results support the potential use of walnut leaf extract as a natural phenolic source with antioxidant potential in cosmetic, food supplement, and functional product formulations.

Keywords: Juglans regia, walnut leaf, HPLC-DAD, phenolic compounds, flavonoid, plant extract

Geliş Tarihi: 20-08-2026 | Kabul Tarihi: 02-10-2026

GİRİŞ

Ceviz (*Juglans regia* L., Juglandaceae familyası), meyvesinin yanı sıra yaprak, kabuk ve yeşil kabuğu (husk) ile de geleneksel tıpta yüzyıllardır kullanılan çok yıllık bir ağaç türüdür. Ceviz yaprakları; Anadolu halk hekimliği başta olmak üzere birçok kültürde antiseptik, yara iyileştirici, antidiyabetik ve antioksidan amaçlarla infüzyon veya dekoksiyon şeklinde kullanılmaktadır. Bu geleneksel kullanımın bilimsel temeli, yaprakta yer alan zengin fenolik bileşik profiline dayandırılmaktadır. Literatürde ceviz yaprağı ekstraktlarının fenolik bileşim profili çok sayıda çalışmayla ortaya konmuştur. Pereira ve ark. (2007) sulu ceviz yaprağı ekstraktlarında kafeoilkinik asit ve p-kumaroilkinik asit izomerleri ile kuersetin 3-O-galaktozid başta olmak üzere kuersetin glikozitlerini baskın bileşikler olarak tanımlamıştır. Amaral ve ark. (2004) metanol ve asitlendirilmiş su ekstraktlarında yedi fenolik bileşik tespit etmiş, kuersetin 3-O-galaktozidi ana bileşen olarak bildirmiştir. Nour ve ark. (2013) ise ceviz yapraklarında HPLC yöntemiyle fenolik asitler, flavonoidler ve juglon (5-hidroksi-1,4-naftokinon) varlığını ortaya koymuş; elajik asidin baskın fenolik asit, kateşin hidrat ve rutinin ise başlıca flavonoidler olduğunu bildirmiştir. Santos ve ark. (2013) metanol ve dekoksiyon ekstraktlarında 25 fenolik bileşik tanımlamış; 3-O-kafeoilkinik asit ile kuersetin O-pentozidi ana bileşikler olarak belirlemiştir. Daha yakın tarihli bir çalışmada Fernández-Agulló ve ark., (2013) optimize edilmiş etanol–su (%50, 75 °C, 120 dk) ekstraksiyon koşullarında kuersetin 3-β-D-glukozit klorojenik asit neoklorojenik asidi baskın bileşikler olarak rapor etmiş; ayrıca bu çalışma verim ile antioksidan aktivite arasındaki ilişkiyi yanıt yüzey yöntemiyle modellemiştir. Bu çalışmalar bir arada değerlendirildiğinde ceviz yaprağı fenolik profilinin (i) hidroksibenzoik asitler (gallik protokatekuik gentisik asit vb.), (ii) hidroksisinnamik asitler (p-kumarik ferulik kafeik klorojenik sinamik asit vb.) ve (iii) flavonoidler (kateşin kuersetin glikozitleri rutin vb.) olmak üzere üç ana bileşik grubundan oluştuğu; bu profilin kültivar hasat dönemi kurutma koşulları ve özellikle kullanılan ekstraksiyon çözücüsüne bağlı olarak belirgin biçimde değiştiği görülmektedir. Ekstraksiyon çözücüsü seçimi bu noktada kritik bir değişkendir: sulu etanol karışımları hem polar hem de yarı polar fenolik bileşiklerin verimli biçimde ekstrakte edilmesine imkân tanıması, gıda ve kozmetik uygulamaları için toksikolojik açıdan kabul edilebilir (GRAS) bir çözücü sistemi olması nedeniyle literatürde sıklıkla tercih edilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, etanol–su çözücü sistemi ile elde edilen ceviz yaprağı ekstraktının (10000 ppm) fenolik ve ilişkili bileşen profilinin HPLC-DAD yöntemiyle nitel olarak belirlenmesi ve elde edilen bulguların literatürdeki mevcut ceviz yaprağı fenolik profili verileriyle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. Çalışma, ceviz yaprağının kozmetik, gıda takviyesi ve fonksiyonel ürün formülasyonlarında değerlendirilmesine yönelik bilimsel altyapıya katkı sağlamayı hedeflemektedir.

MATERYAL VE METOT

Bitkisel Materyal

Çalışmada kullanılan ceviz (*Juglans regia* L.) yaprakları, ağustos ayında Iğdır ili Hoşhaber beldesinden toplanmıştır. Toplanan yapraklar, Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ALUM) bünyesindeki kozmetik laboratuvarında kurutulmuş ve kurutma işleminin ardından öğütülerek analiz için hazır hale getirilmiştir. Bitki materyali ışıktan korunarak oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Ekstraksiyon

Kurutulup öğütülen ceviz yapraklarından 50 g tartılarak, 350 mL etil alkol ve 150 mL su içeren etanol–su (%70: %30, h/h) çözücü sistemi ile ekstrakte edilmiştir. Buna göre katı/sıvı oranı 1/10

(g/mL) olarak uygulanmıştır. Ekstraksiyon işlemi, maserasyon yöntemiyle, oda sıcaklığında ve karıştırılarak yaklaşık 72 saat süreyle gerçekleştirilmiştir(Panja, 2018). Ekstraksiyon süresi sonunda etanol–su karışımı rotary evaporatör yardımıyla uzaklaştırılarak konsantre ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt, analizler öncesinde ve biyoaktif bileşiklerin stabilitesini korumak amacıyla +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir (Karadağ, 2026); HPLC analizinde kullanılan çalışma konsantrasyonu 10000 ppm (µg/mL) olarak belirlenmiştir. %70 etanol–%30 su karışımı, farklı polaritedeki fenolik bileşiklerin etkin ekstraksiyonunu sağlamak amacıyla tercih edilmiştir. 1:10 katı/sıvı oranı, bitkisel materyalin çözücüyle yeterli temasını sağlarken 72 saatlik maserasyon, ekstrakte edilebilir bileşenlerin çözücü fazına yeterli geçişini desteklemek amacıyla uygulanmıştır (Yağcıoğlu, 2015). Bu koşullar, ceviz yaprağındaki fenolik bileşiklerin etkin şekilde elde edilmesi için seçilmiştir.

HPLC-DAD Analiz Koşulları

Bazı fenolik bileşiklerin belirlenmesine yönelik kromatografik ayırım, DAD dedektörüne sahip Agilent 1100 (Agilent, ABD) HPLC sisteminde, 250×4,6 mm, 4 µm partikül çaplı ODS kolon (HiChrom, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak Çözücü A: Metanol–asetik asit–su (10:2:88, h/h/h) ve Çözücü B: Metanol–asetik asit–su (90:2:8, h/h/h) kullanılmış; ayırma işlemi gradyent elüsyon programı ile yürütülmüştür. Dedeksiyon 254 ve 280 nm dalga boylarında gerçekleştirilmiş, akış hızı 1 mL dk^{-1} ve enjeksiyon hacmi 20 µL olarak belirlenmiştir (Karadağ, 2025; Karadağ, 2026). Bileşik teşhisi, otantik standartların alıkonma zamanları ve UV-Vis spektrumlarının numune pikleriyle karşılaştırılması esasına dayandırılmıştır.

Tablo 1. *Ceviz yaprağı ekstraktının HPLC-DAD analizinde kullanılan kromatografik koşullar*
Table 1. *Chromatographic conditions used in the HPLC-DAD analysis of walnut leaf extract*

HPLC Parametresi	Kullanılan Koşul
HPLC sistemi	Agilent 1100, DAD
Kolon	ODS, 250 × 4,6 mm, 4 µm
Mobil Faz A	Metanol–Asetik asit–Su (10:2:88, h/h/h)
Mobil Faz B	Metanol–Asetik asit–Su (90:2:8, h/h/h)
Elüsyon	Gradyan
Dedeksiyon dalga boyları	**254 ve 280 nm**
Akış hızı	**1,0 mL dk^{-1}**
Enjeksiyon hacmi	**20 µL**
Kolon sıcaklığı	Belirtilmemiş
Gradyan programı	**Belirtilmemiş**

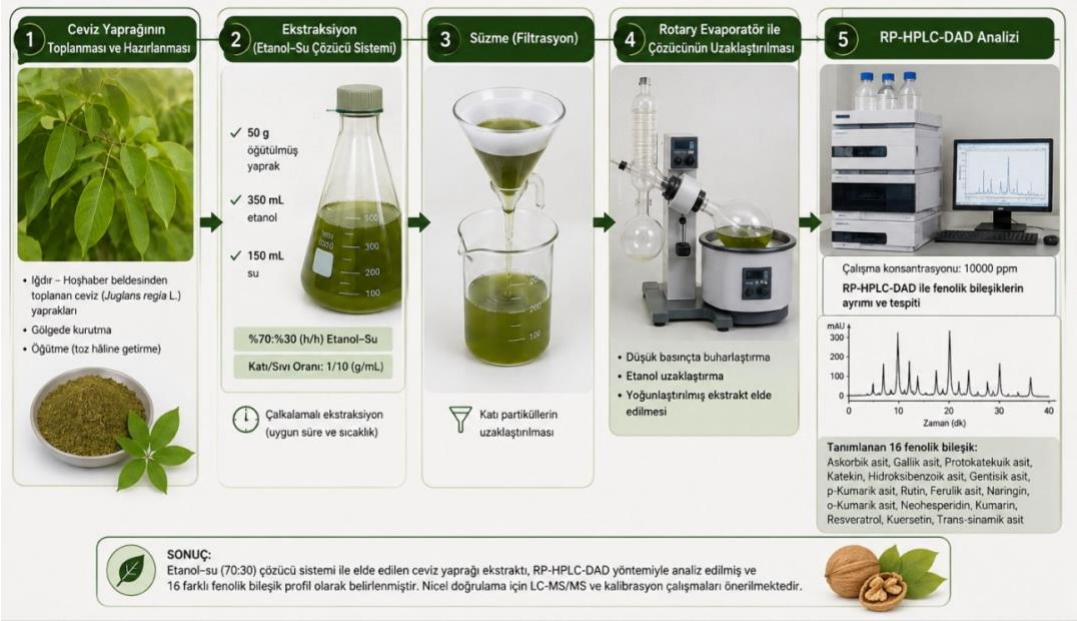
Nicel Analiz ve İstatistik

Tanımlanan bileşiklerin nicel içeriğinin (mg/g ekstrakt veya mg/100 g kuru yaprak) belirlenmesi için her bir standart bileşiğe ait kalibrasyon eğrileri (en az 5 konsantrasyon noktası, $R^2 \geq 0,99$) oluşturulmalı ve numune pik alanları bu eğrilere göre hesaplanmalıdır. Tüm analizler en az üç tekrarlı (n=3) olarak gerçekleştirilmeli, sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde ifade edilmelidir. Analizlerin tekrarlanabilirliğini değerlendirmek amacıyla ölçümler en az üç bağımsız tekrar (n=3) halinde gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak sunulmuştur. Gerekli durumlarda gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde uygun istatistiksel yöntemler kullanılmıştır (Yaman, 2022). Kromatografik piklerin bileşiklerle eşleştirilmesinde alıkonma zamanları ve standartlara ait kromatografik özellikler esas alınmıştır.

Bununla birlikte, bileşiklerin kesin yapısal doğrulamasının sağlanması amacıyla ileri çalışmalarda LC-MS/MS analizleriyle doğrulama yapılması önerilmektedir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Etanol-su ekstraksiyonu ile elde edilen ceviz yaprağı ekstraktının (10000 ppm) HPLC-DAD kromatogramı Şekil 2'de verilmiştir. Analiz sonucunda, alıkonma zamanları 3,266 ile 35,712 dakika arasında değişen toplam 16 pik, standart bileşiklerle eşleştirilerek tanımlanmıştır (Tablo 1). Tanımlanan bileşikler arasında fenolik asitler(gallik, protokatekuik, gentisik, hidroksibenzoik, p-kumarik, o-kumarik, ferulik ve trans-sinamik asit), flavonoidler (kateşin,rutin,naringin ve neohesperidin) bir stilbenoid (resveratrol), bir benzopiron(kumarin) ve askorbik asit yer almaktadır. Kromatogramın erken bölgesinde(tR<10dk)yer alan askorbik asit(tR=3.266dk) ve kateşin(tR=6.440dk)pikleri250mAU'nun üzerindeki absorbans şiddetleriyle kromatogramın en belirgin pikleri olarak dikkat çekmektedir;bu bölgede kümülatif pik alanı1112.93birimolarak hesaplanmıştır.Protokatekuik asit ve gentisik asidin yer aldığı ikinci bölgede(tR≈5.8-10.1dk)toplam pik alanı893.187birimolarak belirlenmiştir.Analizin orta ve geç bölgelerinde(16.8-35.7dk)ise parakumarik asit,rutin,ferulik asit,naringin, o-kumarik asit, neohesperidin, kumarin, resveratrol, kuersetin ve trans-sinamik asit pikleri,göreli olarak daha düşük fakat belirgin absorbans şiddetleriyle(ortalama10-125mAU) gözlenmiştir; bu bölgedeki en yüksek pik naringin(tR=27.180dk) olarak kaydedilmiştir. Bu çalışmada kullanılan metodla birlikte herhangi bir anlamlı pik gözlenmemiştir. Analiz ise 65.dakika tamamlanmıştır.



Şekil.1 *Ceviz yaprağı ekstraktının hazırlanması ve HPLC-DAD analizi için uygulanan deneysel işlem akışı*
Figure 1 *Experimental workflow for the preparation of walnut leaf extract and HPLC-DAD analysis*

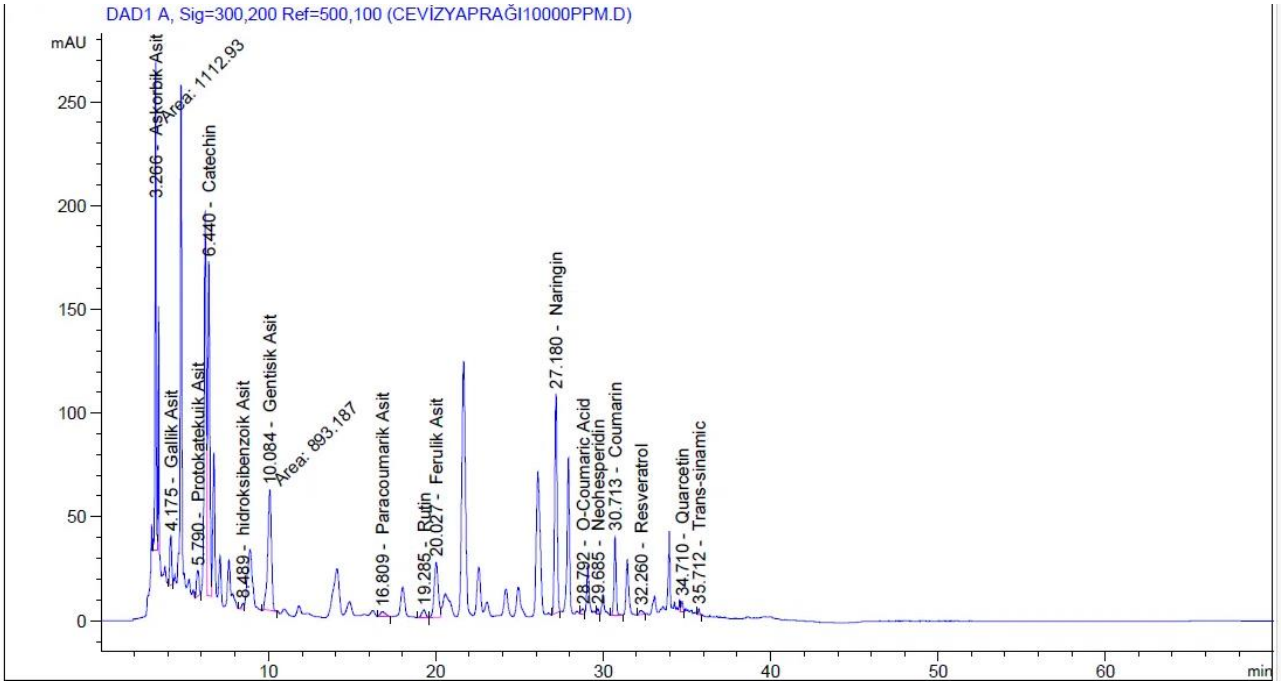
Şekil 1. Ceviz yaprağı ekstraktının elde edilmesi ve HPLC-DAD analizi için uygulanan deneysel işlem akışı. Iğdır ili Hoşhaber beldesinden toplanan ve kurutularak öğütülen ceviz yaprakları, %70:%30 (h/h) etanol–su çözücü sistemi kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzülerek katı partiküllerden ayrılmış, ardından rotary evaporatörde yoğunlaştırılmıştır. Hazırlanan ekstrakt 10.000 ppm çalışma konsantrasyonunda HPLC-DAD ile analiz edilmiş ve 3,266–35,712 dakika alıkonma zamanı aralığında 16 bileşik standartların alıkonma zamanlarıyla eşleştirilmiştir.

Tespit edilen pikler ve niteliksel özellikleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. *HPLC-DAD analizi ile ceviz yaprağı ekstraktında tanımlanan bileşikler*
Table 2. *Compounds identified in walnut leaf extract by HPLC-DAD analysis*

No	tR (dk)	Bileşik
1	3.266	Askorbik asit
2	4.175	Gallik asit
3	5.790	Protokatekuik asit
4	6.440	Kateşin (Catechin)
5	8.489	Hidroksibenzoik asit
6	10.084	Gentisik asit
7	16.809	Parakumarik asit (p-Kumarik asit)
8	19.285	Rutin
9	20.027	Ferulik asit
10	27.180	Naringin
11	28.792	O-Kumarik asit
12	29.685	Neohesperidin
13	30.713	Kumarin
14	32.260	Resveratrol
15	34.710	Kuersetin (Quercetin)
16	35.712	Trans-sinamik asit

Ceviz yaprağı (*Juglans regia* L.) ekstraktının HPLC-DAD analizi sonucunda belirlenen 16 bileşiği ve bunların alıkonma zamanlarını (tR) göstermektedir. Ekstraktta fenolik asitler, flavonoidler, flavonol glikozitleri, stilbenoid ve diğer fenolik ve ilişkili biyoaktif bileşikler tanımlanmıştır. Özellikle gallik asit, kateşin, rutin, ferulik asit, resveratrol ve kuersetin gibi bileşiklerin belirlenmesi, ekstraktın fenolik bileşikler açısından zengin bir profil sergilediğini göstermektedir (Önem ve Özaydın, 2018). Tanımlamalar standartların alıkonma zamanlarıyla eşleştirilmiş olup, kesin yapısal doğrulama için LC-MS/MS analizi önerilmektedir.



Şekil 2. *Ceviz yaprağı ekstraktının HPLC-DAD kromatogramı*
Figure 2. *HPLC-DAD chromatogram of walnut leaf extract*

Şekil 2.'de Ceviz yaprağı ekstraktının HPLC-DAD kromatogramı. Etanol–su (70:30) çözücü sistemiyle elde edilen ceviz yaprağı ekstraktının HPLC-DAD analizi sonucunda, 3,266–35,712 dakika alıkonma zamanı aralığında toplam 16 kromatografik pik belirlenmiştir. Pikler, otantik standartların alıkonma zamanlarıyla karşılaştırılarak askorbik asit, gallik asit, protokatekuik asit, kateşin, hidroksibenzoik asit, gentisik asit, p-kumarik asit, rutin, ferulik asit, naringin, o-kumarik asit, neohesperidin, kumarin, resveratrol, kuersetin ve trans-sinamik asit olarak eşleştirilmiştir.

Bu çalışmanın özgün yönü, belirli bir coğrafi kökene sahip Juglans regia L. yapraklarının %70 etanol–%30 su sistemiyle ekstrakte edilerek fenolik ve ilişkili biyoaktif bileşik profilinin HPLC-DAD yöntemiyle ortaya konulmasıdır. Elde edilen profil, bölgesel bitkisel materyalin kimyasal özelliklerinin literatürde bildirilen ceviz yaprağı örnekleriyle karşılaştırılmasına ve coğrafi köken ile ekstraksiyon koşullarının bileşik profili üzerindeki olası etkilerinin değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır. Ayrıca ekstraktın kozmetik krem formülasyonunda değerlendirilmesine yönelik yaklaşım, ceviz yapraklarının katma değerli ve sürdürülebilir bir kozmetik hammadde adayı olarak kullanım potansiyeline yeni bir uygulama perspektifi sunmaktadır.



Şekil 3. *Ceviz yaprağı (Juglans regia L.) ekstraktının antioksidan bakım kremi formülasyonunda değerlendirilmesine yönelik önerilen üretim akış şeması.*

Figure 3. *Proposed production flowchart for the evaluation of walnut leaf (Juglans regia L.) extract in the formulation of an antioxidant moisturizing cream.*

Şekil 3. 'de ekstraksiyon, filtrasyon, standardizasyon, yağ ve su fazlarının hazırlanması, emülsifikasyon, aktif bileşen ilavesi, pH ve kıvam kontrolü, dolum ve kalite kontrol aşamaları özetlenmektedir. Ceviz yaprağı ekstraktının fenolik bileşikler içerdiği, yüklenen çalışmada HPLC-DAD profiliyle ortaya konmuştur.

Fenolik profil bu çalışmada elde edilen, literatürdeki ceviz yaprağı çalışmalarıyla kısmi örtüşme göstermektedir. Gallik asit, kateşin, ferulik asit, p-kumarik asit, kuersetin ve rutinin varlığı; Nour ve ark. (2013) tarafından bildirilen ve kateşin hidrat ile rutini başlıca flavonoidler, çeşitli hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitleri ise majör fenolik asitler olarak tanımlayan çalışmayla genel eğilim bakımından uyumludur. Benzer şekilde kuersetinin ceviz yaprağı ekstraktlarında tekrarlayan biçimde baskın flavonoid olarak raporlanması bu çalışmadaki bulgularla örtüşmektedir; nitekim Pereira ve ark. (2007) ile Amaral ve ark. (2004) tarafından yürütülen çalışmalarda da kuersetin türevleri (özellikle glikozitleri) ana bileşikler arasında yer almaktadır. Diğer taraftan, bu çalışmada tanımlanan bazı bileşiklerin naringin, neohesperidin, kumarin, resveratrol ve askorbik asit gibi klasik ceviz yaprağı fenolik profili çalışmalarında (Pereira ve ark. (2007); Amaral ve ark. (2004); Nour ve ark. (2013); Fernández-Agulló ve ark. (2013)) sıklıkla raporlanan kafeoilkinik asit türevleri elajik asit ve kuersetin glikozitleri kadar yaygın biçimde bildirilmediği görülmektedir. Bu durum birkaç şekilde açıklanabilir: (i) kullanılan standart karışımının ve dolayısıyla teşhis kapsamının farklı olması; (ii) materyalin kültivar coğrafi köken hasat dönemi veya kurutma/depolama koşullarına bağlı doğal varyasyonu; (iii) ekstraksiyon çözücüsü ile koşullarının etanol oranı sıcaklık süre bileşik seçiciliği üzerindeki etkisi; (iv) sadece alıkonma zamanı eşleştirmesine dayalı teşhisin yapısal olarak benzer bileşikler örn izomer fenolik asitler arasında yanlış eşleştirme riski taşıması. Bu son noktaya özellikle dikkat edilmesi önerilmektedir teşhisin mümkünse LC-MS/MS gibi kütle spektrometrik bir yöntemle teyit edilmesi zira HPLC-DAD'de yalnızca alıkonma zamanı ve UV spektrumu eşleşmesine dayalı teşhis yapısal izomerler arasında ayrım yapmakta sınırlı kalabilmektedir.

Ekstraksiyonda etanol–su çözücü sisteminin tercih edilmesi, literatürle uyumlu bir yaklaşımdır. Fernández-Agulló ve ark., (2013) ceviz yaprağı ekstraksiyonunda %50 etanol oranının, hem ekstraksiyon verimi hem de antioksidan aktivite (FRAP, DPPH, ABTS) açısından optimum sonuç verdiğini; düşük etanol oranlarının polisakkarit ve protein gibi seçiciliği azaltan bileşiklerin de ekstrakte edilmesine yol açtığını, yüksek etanol oranlarının ise daha lipofilik bileşikleri çözdüğünü bildirmiştir. Bu bilgi ışığında, mevcut çalışmada kullanılan etanol–su oranının ve diğer ekstraksiyon parametrelerinin (sıcaklık, süre, katı/sıvı oranı) fenolik verim üzerindeki etkisinin ayrıca optimize edilmesi, ekstraktın hem toplam fenolik içeriği hem de spesifik bileşik profili açısından iyileştirilmesine katkı sağlayabilir. Tanımlanan bileşiklerin biyolojik aktivite potansiyeli açısından değerlendirildiğinde, gallik asit, kateşin, kuersetin ve rutinin güçlü antioksidan ve radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu; ferulik ve p-kumarik asit gibi hidroksisinnamik asitlerin de antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerle ilişkilendirildiği bilinmektedir (Li ve ark., 2014;Oluwole ve ark., 2022; Karagözoğlu, 2024; Ahmad ve ark. 2025). Bu bileşiklerin varlığı, ceviz yaprağı ekstraktının kozmetik (antioksidan/anti-aging formülasyonlar), gıda takviyesi ve fonksiyonel gıda uygulamaları için potansiyel bir hammadde kaynağı olabileceğini desteklemektedir. Bununla birlikte, bu potansiyelin ortaya konabilmesi için nicel içerik verilerinin (mg bileşik/g ekstrakt) yanı sıra, ekstraktın toplam fenolik/flavonoid içeriği (Folin-Ciocalteu, alüminyum klorür yöntemleri) ve doğrudan antioksidan aktivite tayinlerinin (DPPH, ABTS, FRAP) bu çalışmaya ek olarak yürütülmesi önerilmektedir.

Ceviz Yaprağı Ekstraktı ile Model Bir Kozmetik Formülasyon Örneği

Bulgularda ortaya konan fenolik ve flavonoid içeriğinin pratik uygulama potansiyelini göstermek amacıyla, ceviz yaprağı ekstraktının (*Juglans Regia* Leaf Extract) aktif bileşen olarak yer aldığı model bir antioksidan bakım kremi formülasyonu geliştirilmiştir. Formülasyonun hammadde bileşimi ve kullanım oranları Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 3. *Ceviz yaprağı ekstraktlı antioksidan bakım kremi formülasyonu*
Table 3. *Formulation of an antioxidant moisturizing cream containing walnut leaf extract*

Faz	Hammadde	INCI Adı	%
A	Saflaştırılmış su	Aqua	64.00
A	Gliserin	Glycerin	4.00
A	Disodyum EDTA	Disodium EDTA	0.10
A	Ksantan gam	Xanthan Gum	0.20
B	Caprylic/Capric Triglyceride	Caprylic/Capric Triglyceride	8.00
B	Zeytinyağı	Olea Europaea (Olive) Fruit Oil	5.00
B	Setearil alkol	Cetearyl Alcohol	4.00
B	Emülgatör	Cetearyl Olivate (and) Sorbitan Olivate	5.00
B	Skualan	Squalane	3.00
B	E vitamini	Tocopherol	0.50
C	Ceviz yaprağı ekstraktı	*Juglans Regia* Leaf Extract	3.00
C	Panthenol	Panthenol	2.00
C	Koruyucu	Phenoxyethanol (and) Ethylhexylglycerin	1.00
C	Sodyum hiyalüronat	Sodium Hyaluronate	0.10
C	pH düzenleyici	Citric Acid / Sodium Hydroxide	q.s.

Etanol-su çözücü sisteminin ekstraksiyonda kullanılması, literatürle uyumlu bir yaklaşımdır. Fernández-Agulló ve diğerleri, (2013) ceviz yaprağı ekstraksiyonunda %50 etanol oranının hem ekstraksiyon verimi hem de antioksidan aktivite (FRAP, DPPH, ABTS) açısından en iyi sonucu verdiğini; düşük etanol oranlarının polisakkarit ve protein gibi seçiciliği azaltan bileşenlerin de ekstrakte edilmesine yol açtığını, yüksek etanol oranlarının ise daha lipofilik bileşikleri çözdüğünü bildirmiştir. Bu bilgi ışığında mevcut çalışmada kullanılan etanol-su oranı ve diğer ekstraksiyon parametrelerinin (sıcaklık, süre, katı/sıvı oranı) fenolik verim üzerindeki etkisinin ayrıca optimize edilmesi; ekstraktın hem toplam fenolik içeriği hem de spesifik bileşik profili açısından iyileştirilmesine katkı sağlayabilir. Tanımlanan bileşiklerin biyolojik aktivite potansiyeli açısından değerlendirildiğinde gallik asit, kateşin, kuersetin ve rutin güçlü antioksidan ve radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu ferulik ve p-kumarik asitler gibi hidroksisinnamik asitler de antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerle ilişkilendirilmektedir. Bu bileşiklerin varlığı ceviz yaprağı ekstraktının kozmetik (antioksidan/anti-aging formülasyonlar), gıda takviyesi ve fonksiyonel gıda uygulamaları için potansiyel bir hammadde kaynağı olabileceğini desteklemektedir(Oluwole ve ark., 2022; Ahmad ve ark. 2025). Bununla birlikte bu potansiyelin ortaya konabilmesi için nicel içerik verileri (mg bileşik/g ekstrakt) yanı sıra; ekstraktın toplam fenolik/flavonoid içeriği (Folin-Ciocalteu alüminyum

klorür yöntemleri) ve doğrudan antioksidan aktivite tayinlerinin (DPPH ABTS FRAP) bu çalışmaya ek olarak yürütülmesi önerilmektedir.

Tablo 4. *Krem İçin yapılan Fiziksel Analizler*
Table 4. *Physical Analyses of the Cream*

Analiz Parametresi	Analiz Yöntemi	Önerilen Kabul Kriteri
Görünüş	Görsel inceleme, oda sıcaklığında	Homojen, düzgün yapılı, faz ayrılması ve topaklanma bulunmamalı
Renk	Görsel değerlendirme / renk ölçer	Ceviz yaprağı ekstraktına bağlı açık–orta yeşilimsi kahverengi ton; parti içinde belirgin renk farklılığı olmamalı
Koku	Organoleptik değerlendirme	Hammaddelere özgü, karakteristik; yabancı, yanık veya bozulmuş koku bulunmamalı
Homojenlik	Spatula ile yayma / mikroskobik inceleme	Homojen dağılım; partikül, aglomerat ve belirgin granül bulunmamalı
pH	Kalibre edilmiş pH metre, %10 sulu dispersiyon veya ürün metoduna göre	5,80
Santrifüj stabilitesi	Santrifüj, ör. 3000 rpm / 30 dk	Faz ayrılması, çökelme veya belirgin yapı bozulması olmadı.
Isıl stabilite	40 ± 2 °C'de depolama	Belirgin faz ayrılması, renk/koku değişimi veya viskozite kaybı olmadı.
Düşük sıcaklık stabilitesi	5 ± 2 °C'de depolama	Kristallenme, ayrışma veya geri dönüşü olmayan yapı değişikliği olmadı.
Donma–çözülme	Örn. 3–5 döngü	Faz ayrılması ve belirgin fiziksel bozulma olmadı.
Oda sıcaklığı stabilitesi	25 ± 2 °C	Görünüş, renk, koku, pH ve viskozite kabul limitlerinde kaldı.
Köpüklenme	Kontrollü çalkalama sonrası gözlem	Aşırı ve kalıcı köpük oluşmadı

Formülasyona ait fiziksel analizler, krem örneğinin homojen, fiziksel olarak kararlı ve kullanım açısından uygun bir emülsiyon yapısına sahip olduğunu göstermektedir. Görünüş, renk, koku ve homojenlik açısından belirgin bir fiziksel kusur gözlenmemesi; pH değerinin 5,80 aralığında bulunması ve stabilite koşullarında faz ayrılması, kristallenme veya belirgin yapı değişikliği oluşmaması formülasyonun fiziksel bütünlüğünü desteklemektedir. Santrifüj, sıcaklık, düşük sıcaklık ve donma–çözülme testlerinde belirgin ayrışma gözlenmemesi, emülsiyon sisteminin fiziksel stabilitesinin yeterli olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, nihai ürün stabilitesinin doğrulanması için viskozite, pH, renk ve diğer kritik fiziksel parametrelerin belirlenmiş zaman

aralıklarında nicel olarak izlenmesi ve sonuçların başlangıç değerleriyle karşılaştırılması gerekmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada etanol-su çözücü sistemi ile elde edilen ceviz yaprağı (*Juglans regia* L.) ekstraktının (10000 ppm) HPLC-DAD yöntemiyle incelenen fenolik ve ilişkili bileşen profili ortaya konmuştur. Analiz sonucunda askorbik asit, gallik asit, protokatekuik asit, kateşin, hidroksibenzoik asit, gentisik asit, parakumarik asit, rutin, ferulik asit, naringin, o-kumarik asit, neohesperidin, kumarin, resveratrol, kuersetin ve trans-sinamik asit olmak üzere 16 bileşik tanımlanmıştır. Özellikle gallik asit, kateşin, rutin ve kuersetin başta olmak üzere çeşitli fenolik asitler ve flavonoidlerin belirlenmesi, ceviz yaprağının fenolik bileşikler bakımından zengin bir bitkisel kaynak olduğunu desteklemektedir. Ekstraktın krem formülasyonuna %3,00 oranında dahil edilmesiyle hazırlanan ürünün fiziksel özellikleri de değerlendirilmiştir. Krem örneğinin görünüş, renk, koku ve homojenlik bakımından kabul edilebilir özellikler gösterdiği; pH değerinin 5,0–6,0 aralığında olduğu ve santrifüj stabilitesi, ısıl stabilite, düşük sıcaklık stabilitesi ve donma–çözülme koşullarında belirgin faz ayrılması, kristallenme veya geri dönüşü olmayan fiziksel yapı değişikliği gözlenmediği belirlenmiştir. Oda sıcaklığı koşullarında görünüş, renk, koku ve pH gibi temel fiziksel özelliklerin kabul edilebilir sınırlar içerisinde kalması, formülasyonun fiziksel stabilitesini desteklemiştir. Bununla birlikte, viskozite gibi nicel parametrelerin standartlaştırılmış cihaz, spindle, dönme hızı ve sıcaklık koşullarında izlenmesi, ürün spesifikasyonlarının daha güvenilir biçimde oluşturulması açısından önem taşımaktadır.

Elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde, ceviz yaprağı ekstraktının fenolik bileşen içeriği ile krem formülasyonunda gösterdiği fiziksel uyumluluk, bu bitkisel ekstraktın kozmetik ve benzeri fonksiyonel ürün geliştirme çalışmalarında değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, mevcut HPLC-DAD sonuçları bileşiklerin varlığına yönelik nitel/yarı nicel bir değerlendirme sağladığından, bilimsel geçerliliğin güçlendirilmesi amacıyla ileriki çalışmalarda bileşiklerin kesin miktarlarının belirlenmesi, tekrarlı analizlerle istatistiksel değerlendirme yapılması, LC-MS/MS ile bileşik kimliklerinin doğrulanması ve DPPH, ABTS, FRAP, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerik analizleri gibi tamamlayıcı antioksidan aktivite çalışmalarının gerçekleştirilmesi önerilmektedir. Ayrıca krem formülasyonunun uzun süreli ve hızlandırılmış stabilite çalışmalarında pH, viskozite, renk, görünüş ve diğer fiziksel parametrelerin belirli zaman aralıklarında nicel olarak takip edilmesi, ürünün stabilite profilinin ve kalite spesifikasyonlarının daha kapsamlı şekilde ortaya konulmasına katkı sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Makalede yer alan verilerin araştırılması ve hazırlanması aşamalarında finansal destek sağlayan **YİP0723İ08** projesine teşekkürlerimi sunarım.

YAZAR KATKILARI

Yazarlar bu çalışmaya eşit oranda katkıda bulunmuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bulunmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Ahmad, Z., Rauf, A., Orhan, I. E., Mubarak, M. S., Akram, Z., Islam, M. R., ... & Thiruvengadam, M. (2025). Antioxidant potential of polyphenolic compounds, sources, extraction, purification and characterization techniques: A focused review. Food science & nutrition, 13(12), e71259.

Amaral, J.S., Seabra, R.M., Andrade, P.B., Valentão, P., Pereira, J.A., Ferreres, F. (2004). Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. Food Chemistry, 88(3), 373–379. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.055

Carvalho, M., Ferreira, P.J., Mendes, V.S., Silva, R., Pereira, J.A., Jerónimo, C., Silva, B.M. (2010). Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of Juglans regia L. Food and Chemical Toxicology, 48(1), 441–447. https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.10.043

Dai, J., Mumper, R.J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15(10), 7313–7352. https://doi.org/10.3390/molecules15107313

Fernández-Agulló, A., Castro-Iglesias, A., Freire, M.S., González-Álvarez, J. (2019). Optimization of the extraction of bioactive compounds from walnut (Juglans major 209 x Juglans regia) leaves: Antioxidant capacity and phenolic profile. Antioxidants, 9(1), 18. https://doi.org/10.3390/antiox9010018

Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M.S., Valentão, P., Andrade, P.B., González-Álvarez, J., Pereira, J.A. (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (Juglans regia L.) green husk extracts. Industrial Crops and Products, 42, 126–132.

Karadağ, M. (2025). Mentha arvensis L. (Kır Nanesi) Örneklerinin Fenolik Bileşik Profili. Türkiye Teknik Bilimler ve İnovasyon Dergisi, 1(1), 12-23.

Karadağ, M. (2026). Kırmızı Frenküzümü (Ribes Rubrum L.) Tohumunun Metanol Ekstraktının Kozmetik Ve Sağlık Ürünlerinde Fonksiyonel Kullanımı. Journal of Agriculture, 9(1). https://doi.org/10.46876/ja.1865558

Karagözoğlu, A. S. (2024). Osmaniye Ilinden Toplanan Inula Germanıca L.'nın Fenolik Içerikleri ve Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi (Master's thesis, Osmaniye Korkut Ata University (Turkey)).

Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. Nutrients, 6(12), 6020-6047.

Nour, V., Trandafir, I., Cosmulescu, S. (2013). HPLC determination of phenolic acids, flavonoids and juglone in walnut leaves. Journal of Chromatographic Science, 51(9), 883–890. https://doi.org/10.1093/chromsci/bms180

Oluwole, O., Fernando, W. B., Lumanlan, J., Ademuyiwa, O., & Jayasena, V. (2022). Role of phenolic acid, tannins, stilbenes, lignans and flavonoids in human health–a review. International Journal of Food Science and Technology, 57(10), 6326-6335.

Önem, E., & Özaydın, A. (2018). Juglans regia fenolik bileşen içeriklerinin ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi. Biological Diversity and Conservation, 11(3), 166-173.

Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C.F.R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R., Estevinho, L. (2007). Walnut (Juglans regia L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. Food and Chemical Toxicology, 45(11), 2287–2295. https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.06.004

Santos, A., Barros, L., Calhelha, R.C., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R. (2013). Leaves and decoction of Juglans regia L.: Different performances regarding bioactive compounds and in vitro antioxidant and antitumor effects. Industrial Crops and Products, 51, 430–436. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.003

Vieira, V., Prieto, M.A., Barros, L., Coutinho, J.A.P., Ferreira, O., Ferreira, I.C.F.R. (2017). Optimization and comparison of maceration and microwave extraction systems for the production of phenolic compounds from Juglans regia L. for the valorization of walnut leaves. Industrial Crops and Products, 107, 341–352. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.012

Yaman, R. (2022). Bazı Üzümsü Meyve Türlerinin Karakteristik Fitokimsayal Bileşenlerinin Tayini, In-vitro Biyoerişebilirliğinin Ve In-vivo Yanık Yarası Iyileşmesi Üzerine Subakut Etkilerinin Araştırılması (Doctoral dissertation, Inonu University (Turkey)).

Yağcıoğlu, P. (2015). Farklı ekstraksiyon metotları ile adaçayı (Salvia officinalis L.) bitkisinden antioksidan ekstraksiyonunun optimizasyonu. http://hdl.handle.net/11527/13618

Panja, P. (2018). Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. Current Opinion in Food Science, 23, 173-182. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.11.012