

1-1-1999

Seasonal Variation in Phenolic Constituents of Hazelnut (*Coryllus avellana* L.) and Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) Leaves and Shoots

ŞÜKRIYE KURNAZ BİLGİNER

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture>



Part of the [Agriculture Commons](#), and the [Forest Sciences Commons](#)

Recommended Citation

BİLGİNER, ŞÜKRIYE KURNAZ (1999) "Seasonal Variation in Phenolic Constituents of Hazelnut (*Coryllus avellana* L.) and Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) Leaves and Shoots," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Vol. 23: No. 11, Article 26. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol23/iss11/26>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Agriculture and Forestry by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Fındık (*Coryllus avellana* L.) ve Kestane (*Castanea sativa* Mill.) Yaprak ve Sürgünlerinde Fenolik Madde İçeriklerinin Mevsimsel Değişimleri

Şükriye Kurnaz BİLGENER

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Samsun - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 09.06.1998

Özet : Bu çalışmada fındık ve kestane yaprak ve sürgünlerinde toplam fenolik madde içeriklerinin mevsimsel değişimi saptanmıştır. Ayrıca yaprakların ve sürgünlerin sulu alkolde çözünen ve asitle hidrolizi sonucu elde edilen ekstraktlarındaki fenolik maddeler kağıt kromatografisi ile ayrılarak incelenmiştir.

Kestane yaprak ve sürgünlerinde toplam fenolik madde içerikleri fındıktakilere göre daha yüksek oranlarda olduğu saptanmıştır. Her iki türde de toplam fenolikler genç sürgünlerde, bir yıllık sürgünlere göre daha yüksek oranlarda bulunmuştur. Fındık yapraklarının toplam fenolik madde içerikleri önemli bir değişiklik göstermemiş, fakat ağustos ve ekimde nispeten yüksek seviyelere çıkmıştır. Kestane yapraklarında da toplam fenolik maddeler fındıktakine benzer oranlarda mevsimsel değişimler göstermiştir.

Fındık yapraklarının sulu alkol ekstraktlarında iki boyutlu kağıt kromatografisiyle (birinci boyut %2 asetik asit; ikinci boyut n-butanol: asetik asit:su, 60:15:25 v/v) toplam 10 farklı madde saptanmıştır. Aynı ayırma metoduyla kestane yapraklarında toplam 8 farklı madde elde edilmiştir. Yaprakların forestal solventi ile yapılan tek boyutlu kağıt kromatogramlarında fındıkta 10, kestanede 11 farklı madde gözlenmiştir.

Seasonal Variation in Phenolic Constituents of Hazelnut (*Coryllus avellana* L.) and Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) Leaves and Shoots

Abstract : In this research, the seasonal variation in total phenolic contents in hazelnut and chestnut leaves and shoots was determined. In addition, the phenolic compounds extracted by aqueous alcohol or obtained by acid hydrolysis of the leaves and shoots were separated by paper chromatography (PC).

The total phenolic contents of the chestnut leaves and shoots were higher than the hazelnut. In both species, the young shoots had higher total phenolic contents than one year old shoots. The total phenolic content of hazelnut leaves did not show a significant variation, but it rose up to a relatively higher level in August and October. A similar pattern of variation was obtained in the phenolic contents of chestnut leaves.

The hazelnut leaf aqueous extracts gave a total of 10 different compounds when separated by two dimensional PC (2 % acetic acid on the first dimension, n-butanol: acetic acid: water on the second dimension). When the chestnut leaf extracts were separated by the same technique, a total of 8 different compounds were obtained on the chromatograms. One dimensional chromatograms obtained by forestal solvent showed that there were 10 and 11 different compounds separated from the leaves of hazelnut and chestnut respectively.

Giriş

Fenoller bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan en az bir aromatik halkaya sahip organik maddelerdir. Bitkilerde doğal olarak bulunan fenolik maddelerin en yaygın grubu flavonoidlerdir. Basit monosiklik fenoller, fenilpropanoidler ve fenolik kinonlar da bitkilerde yaygın olarak bulunur. Ayrıca ligninler ve tanenler de bitkilerde polimer fenoller olarak önemli bileşiklerdir (1). Fenolik maddeler bitki türlerini tanımlama ve sınıflama amacıyla

kemotaksonomik çalışmalarda kullanılmaktadır (2, 3). Bitkilerin sekonder metabolizma ürünlerinden olan bu maddelerin bitki fizyolojisi üzerindeki etkileri henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Flavonoidlerden antosiyaninlerin çiçek ve meyve pigmenti olduğu, ligninlerin hücre duvarında yapı materyali olarak görev yaptığı bilinmektedir. Fenolik maddeler konusunda yapılan birçok çalışmada, bunların bitki büyüme ve tohum çimlenmesini inhibe ederek allelopatik olarak bitki-bitki ilişkilerinde

görev yaptığı gösterilmiştir (4, 5). Aynı zamanda birçok çalışmada fenoliklerden bazılarının, zararlı ışık ve patojen saldırılarına karşı bitkilerin savunma sistemlerinde rol aldıkları gösterilmiştir (6, 7, 8, 9). Yine flavonoidlerden bazılarının böcekleri caydırma ve cezbetme olaylarındaki etkinlikleri ortaya çıkarılmıştır (7, 10).

Bitki hücre ve dokularında fenoliklerin metabolizmasını anlamak için onların biyosentetik orijinleri hakkında bilgi sahibi olmak gerekir. Basit fenolik bileşiklerin önemli bir kısmı, fenolik asitler, fenilpropanoidlerin çoğu ve flavonoidler şikimik asit ve fenilpropanoid sentez yollarının ara ve son ürünleridir (11,12). Antosiyaninler ve kondanse tanenleri içine alan flavonoidler, fenilpropanoid sentezi sırasında oluşan *p*-coumaric asitten oluşurlar. Tanenlerin diğer bir grubu hidroliz olabilen gallik asit ve türevlerinin şekerlerle esterleşmiş ürünleridir; gallik asit ve türevleri doğal ortamda şikimik asit sentez yolunda sentezlenirler. L-phenylalanine ammonia lyase (PAL) fenilpropanoidlerin ve flavonoidlerin biyosentezini kontrol eden anahtar bir enzimdir. L-phenylalanine'nin *trans*-cinnamic aside dönüşmesi fenilpropanoid sentez yolunun ilk adımıdır (11).

Bu araştırmanın amacı Karadeniz Bölgesinin önemli bitkilerinden fındık ve kestane türlerinde yaprak ve sürgün dokularındaki fenolik maddelerin mevsimsel değişimlerini kantitatif ve kalitatif olarak saptamaktır. Ayrıca bu araştırma gelecekte bu konuda yapılacak çalışmalara temel oluşturmak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada, Ordu-Fatsa'dan temin edilen Tombul fındık çeşidi ile Sinop Erfelek'ten selekte edilen SE 21-9 kestane tipine (13) ait bitkilerin yaprak ve sürgünleri kullanılmıştır. Denemelerde sürgün periyodunun başlamasıyla oluşan sürgünler yeni, bir yıl önce oluşmuş sürgünler ise bir yıllık sürgün olarak nitelendirilmiştir.

Toplam fenolik madde içeriklerini saptamak için, bir ay aralıklarla toplanan yaprak örnekleri ve sürgünlerin kambiyuma kadar olan kabuk ve floem doku örnekleri 60°C'de sabit ağırlığa kadar kurutulmuştur. 0.4 g öğütülmüş kuru bitki materyaline 40 ml % 50 kaynar metanol ile üç kez ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Bu ekstraktlar rotary evaporatörde 10 ml'ye yoğunlaştırıldıktan sonra konsantrasyonu 40 mg/ml olacak şekilde saf metanol ile seyreltilmiştir (14). Toplam

fenolik madde miktarının tespiti için Swain ve Hillis'in (15) bulunduğu ve Bilgener'in (14) geliştirdiği "Folin-Denis" spektrofotometrik yöntemi kullanılmıştır. 725 nm dalga boyunda alınan absorbans değerleri 0.01-0.06 mg/ml konsantrasyonlarındaki tanik asit çözeltilerinden hazırlanan standart eğri ile karşılaştırılarak, sonuçlar kuru ağırlığın %'si olarak hesaplanmıştır. Denemede elde edilen tüm verilerin varyans analizleri (MSTAT-C Paket Programı'na göre) yapılmış, ortalamalar arasındaki farklar F testi ile karşılaştırılmıştır.

Yaprak ve sürgün dokularından elde edilen metanol ekstraktları yoğunlaştırıldıktan sonra kağıt üzerinde birinci boyutta % 2 asetik asit (AA), ikinci boyutta *n*-butanol: asetik asit: su (BAS; 60:15:25, v/v) solventleri kullanılarak (16-18°C sıcaklıkta) iki boyutlu kromatografik analizleri yapılmıştır (16). Tek boyutlu kağıt kromatogramları forestal solventi (Asetik asit:HCl:Su; 30:3:10, v/v) ile elde edilmiştir. Bunun için, 0.4 g kuru bitki örnekleri 5 ml 2 N HCl ile kaynar su banyosunda 20 dakika hidrolize edilmiş ve daha sonra amil alkol içerisine alınarak hazırlanan ekstraksiyonlar kağıtlara uygulanmıştır. Analizlerde Whatmann No.1 kromatografi kağıtları kullanılmıştır.

Fenolik maddelerin tanımlanması, ultraviyole lamba ışığı ve amonyak yardımıyla oluşturdukları renklerden, R_f değerlerinden, verdikleri spektrumlardan yararlanılarak yapılmıştır.

Sonuçlar ve Tartışma

Toplam Fenolik Maddeler

Toplam fenolik maddeler kestanenin yaprak ve sürgünlerinde fındıkindikilere göre daha yüksek oranlarda bulunmuştur. Fındık ve kestanenin yaprak ve sürgünlerinde saptanan toplam fenolik madde oranları aylara göre istatistiksel olarak çok önemli düzeyde farklılıklar göstermiştir. Her iki türde de yeni sürgünlerde bir yıllık sürgünlere göre fenolik madde içeriklerinin daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu durum bitkilerin optimal savunma teorisiyle açıklanabilir (17,18). Bu teoriye göre bitkiler herbivor veya patojen saldırısı riskiyle doğru, savunma maliyeti ile ters orantılı olarak biyokimyasal savunma sistemi geliştirirler. Örneğin bitkinin odunlu organları yıl boyu, yapraklar vegetasyon boyunca (oluştuklarından dökülünceye kadar) saldırı riskiyle karşı karşıyadır. Yine büyüyen sürgünler ve yeni yapraklar, yaşlı sürgünler ve olgun yapraklardan daha değerlidir;

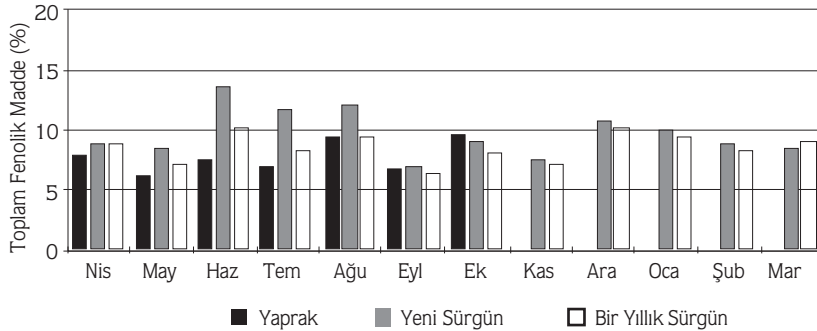
dolayısıyla bu organların kimyasal koruyucu maddeleri daha fazla bulundurması beklenir. Bununla birlikte odunsu dokular yıl boyu gereksinilen savunmalarının maliyetini azaltmak için depolanmasında fazla enerji gerektirmeyen lignin ve tanen gibi sekonder maddelere yönelirler (18).

Fındıkta vegetasyon başında olgunlaşmış yeni sürgünlerde nisan ve mayıs aylarında düşük oranlarda olduğu belirlenen fenolikler haziran ayından itibaren yaz boyunca en yüksek düzeylerde seyretmiş, sonbaharda ise kış dönemine göre düşük düzeylerde kalmıştır (Şekil 1). Kış mevsimi başında, yaz dönemindeki kadar olmasa da, artış gösteren fenoliklerde bu mevsim boyunca ve yaz başına kadar azalma kaydedilmiştir. Bir yıllık sürgünlerde de yaklaşık aynı gelişme ortaya çıkmış, ancak yaz aylarındaki artışlar yeni sürgünlerdeki kadar belirgin olmamıştır. Fındık yapraklarındaki fenolikler yaz sonuna kadar fazla değişim göstermemiş, ancak yeni sürgünlerdeki gibi belirgin olmasa da ağustos ve ekim aylarında nispeten yüksek seviyelere ulaşmıştır (Şekil 1).

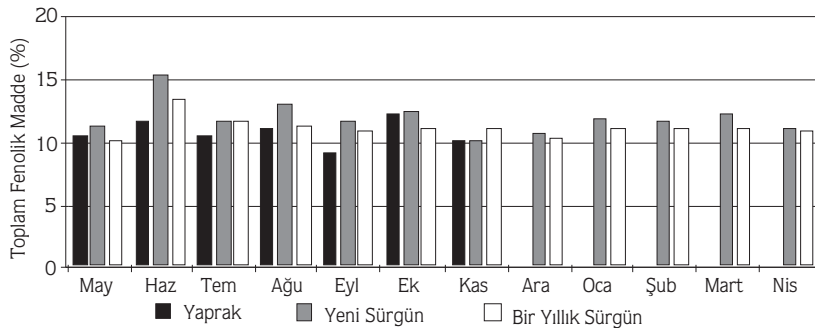
Çeşitli odunlu bitkilerin yapraklarında fenolik madde miktarının mevsimsel olarak değiştiği bilinmektedir (16,19,20,21,22,23). Bu değişimlerin nedenleri L-phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzim aktivitesindeki

değişimle açıklanabilir (24,25). Herbivor hayvanlar ve özellikle böcek larvaları hava sıcaklığı belli bir seviyeye erişince aktif olurlar. Sıcaklıktaki artış da gün uzunluğu ile ilişkilidir. Gün uzunluğundaki artış ise fenolik maddelerin sentezinde temel kontrol edici enzim olan PAL aktivasyonunu sağlar. Böylece gün uzunluğunun artması sıcaklığı artırarak herbivor ve patojenlerin faaliyetini hızlandırırken, bitkilerde de bunlara karşı caydırıcı veya direnç kazandıran fenolik maddelerin sentezini başlatarak, biriktirilmesini sağlar.

Yeni sürgünlerde yaz boyunca, yapraklarda özellikle ağustos ayında (hasat mevsiminde) fenoliklerin yüksek oranlarda saptanması metabolitlerin bitki büyümesi ve fındık meyvelerinin olgunlaştırılması için harcanmasından, dolayısıyla floem ve yapraklarda hasat öncesi fenoliklerin oran olarak fazla ölçülmesinden kaynaklanabilir. Aynı zamanda yaz boyu aktif olan herbivora ve mikrobiyal patojenlere karşı savunma geliştirmek amacıyla fenolikler artış gösterebilir. Hasattan sonra fenoliklerin sürgün ve yapraklarda çok azalması, primer metabolitlerin oran olarak artışına bağlanabilir. Yapraklarda ekim ayındaki fenolik artışı ise yaşlanmanın bir sonucu olarak gösterilebilir. Nitekim Rodriguez ve ark. (26) İspanya'da fındık yapraklarında yaz boyunca yüksek olan fenolik



Şekil 1. Fındık yaprak ve sürgünlerinde toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri (yaprak $LSD_{\%1}:1.393$, yeni sürgün $LSD_{\%1}:1.263$, bir yıllık sürgün $LSD_{\%1}:0.870$, her değer üç tekerürün ortalamasıdır).



Şekil 2. Kestane yaprak ve sürgünlerinde toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri (yaprak $LSD_{\%1}:1.234$, yeni sürgün $LSD_{\%1}:1.718$, bir yıllık sürgün $LSD_{\%1}:1.454$, her değer üç tekerürün ortalamasıdır).

maddelerin eylülde azalıp, ekimde bir parça arttıktan sonra kasımda tekrar azaldığını saptamışlardır.

Kestane sürgünlerinde de toplam fenolik madde oranı fındıktakine benzer mevsimsel değişimler göstermiştir (Şekil 2). Sürgünlerde özellikle yaz başında fenoliklerin yüksek düzeyde olması fındıkta ifade edilen nedenlerden kaynaklanabilir. Ancak eylüldeki (hasattan önce) tipik azalma kestane yapraklarında sürgünlere göre daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır. Sürgünlerde kış ve ilkbahar boyunca fenolikler fazla değişim göstermemiştir.

Kromatografik Çalışmalar

Asetik asit ve butanol:asetik asit:su (BAS) solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatografi çalışmaları

sonucunda farklı R_f değerine sahip fındık yapraklarında 10, kestane yapraklarında 8 fenolik madde saptanmıştır. Bu maddelerin R_f değerleri, tanımları, mevsimsel değişimleri Tablo 1 ve 2'de kromatogram üzerindeki yerleri Şekil 3 ve 4'de verilmiştir. Fındık ve kestane yaprak kromatogramlarında fındıkta 10 No.lu, kestane'de 7 No.lu maddelerin *p*-coumaric asit olabileceği saptanmıştır. Çalışılan bu solventlerde fındık yapraklarında 2 ve 4 No.lu lekelerin flavonollerden myricetin ve quercetin glikozitleri olabileceği kanısına varılmış, 3, 5, 6, 7, 8 ve 9 No.lu maddelerin fenilpropanoid özelliği gösterdiği saptanmış, bunlardan UV altında floresans (parlak) görünen 3, 5, 6 ve 9 No.lu maddelerin hydroxycinnamic asit türevleri olabileceği

Tablo 1. Fındık yapraklarında AA veBAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri.

Leke No.	R_f Değeri		Renk $NH_3 + UV$	Tanımı							
	AA	BAS			Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim
1	0.00	0.33	Mor-kahve	Ellagic asit	+	++	++	+++	+++	++	+
2	0.12	0.40	Parlak koyu sarı	Flavonol ⁽¹⁾	+	+	+	++	++	+++	+++
3	0.52	0.53	Parlak mavi	Fenilpropanoid	+	++	+++	+	+	+	
4	0.24	0.61	Parlak turuncu	Flavonol ⁽²⁾	+	++	++	+++	+++	+++	+++
5	0.71	0.61	Parlak mavi yeşil	Fenilpropanoid	+	+		+		+	+
6	0.55	0.62	Parlak açık mavi	Fenilpropanoid	+++	+++	+++	++	++	++	++
7	0.31	0.65	Mor-mavi	Fenilpropanoid	+	+	+	+	++	++	++
8	0.58	0.67	Açık-mavi	Fenilpropanoid		+	++	++			
9	0.81	0.67	Parlak mavi	Fenilpropanoid		+	++	+	+	+	
10	0.66	0.71	Koyu parlak mavi	<i>p</i> -coumaric asit	+	+++	+++	+++	+++	++	+

(1)Myricetin glikozidi, (2)Quercetin glikozidi, +: zayıf, ++: orta, +++: yüksek

Tablo 2. Kestane yapraklarında AA veBAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri.

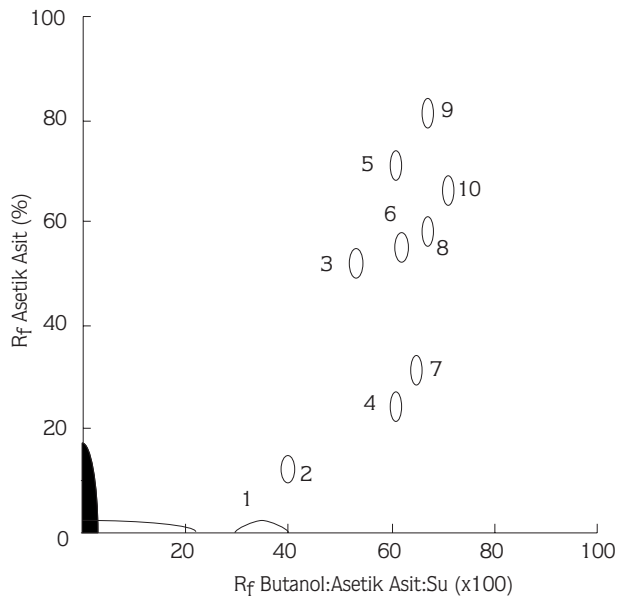
Leke No.	R_f Değeri		Renk $NH_3 + UV$	Tanımı								
	AA	BAS			Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım
1	0.00	0.29	Mor-kahve	Ellagic asit	+	++	++	++	+++	+++	+	+
2	0.24	0.51	Parlak sarı	Flavonol ⁽¹⁾	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
3	0.12	0.59	Parlak koyu sarı	Flavonol ⁽²⁾	+	++	++	++	++	+++	++	++
4	0.49	0.60	Parlak mavi yeşil	Fenilpropanoid	++	++	+++	+++	+++	++	+	+
5	0.00	0.67	Parlak sarı	Flavonol ⁽³⁾	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+
6	0.44	0.69	Parlak açık mavi	Fenilpropanoid	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
7	0.61	0.75	Koyu parlak mavi	<i>p</i> -coumaric asit	+	+	++	++	++	+++	+++	++
8	0.76	0.76	Parlak sarı	Flavonol ⁽⁴⁾	+	+	+++	+++	+++	+++		

(1)Quercetin glikozidi, (2)Kaempferol glikozidi, (3)Quercetin, (4)Kaempferol, +: zayıf, ++: orta, +++: yüksek

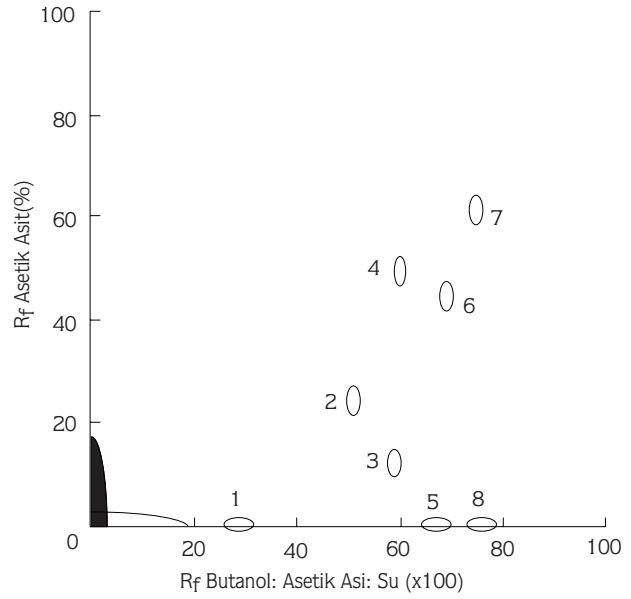
düşünülmüştür. Kestane yapraklarında ise 2 ve 3 No.lu lekelerin yine flavonollerden quercetin ve kaempferol aglikon bileşikleri olabileceği, 4 ve 6 No.lu lekelerin fenilpropanoidlerden hydroxycinnamic asit türevleri olabileceği kanısına varılmıştır (1,3,7, 16).

Şekil 3 ve 4'deki fındık ve kestane kromatogramlarında görülen AA boyutunda orijinden itibaren oluşan şerit şeklindeki ayrılmamış leke kondanse tanenler, BAS boyutundaki orijinden ayrılmamış leke ise hidroliz olabilen tanenler olarak nitelendirilebilir (16).

Yaprakların iki boyutlu kromatogramlarının vegetasyon boyunca aylık değişimleri incelendiğinde fındık yapraklarında ellagic asidin temmuz ve ağustos, *p*-coumaric asidin mayıs-ağustos aylarında yüksek yoğunlukta olduğu görülmektedir (Tablo 1). Quercetin ve myricetin glikozitleri vegetasyonun sonuna doğru artış göstermiştir. Fındık yaprak kromatogramlarında fenilpropanoid olarak tanımlanan 3 No.lu maddenin hazirandan sonra çok azaldığı, 5 No.lu maddenin haziran ve ağustos aylarında ortaya çıkmadığı, 6 No.lu maddenin temmuza kadar yüksek yoğunlukta görünüp daha sonra azaldığı, 7 No.lu maddenin vegetasyon sonuna doğru bir miktar arttığı, 8 No.lu maddenin mayıs, haziran ve temmuz ayları dışında, 9 No.lu maddenin ise vegetasyonun başında ve sonunda görülmediği saptanmıştır (Tablo 1).



Şekil 3. Fındık yapraklarında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı.



Şekil 4. Kestane yapraklarında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı.

Kestane yaprak kromatogramlarında ellagic asidin ağustos-eylül, *p*-coumaric asidin eylül-ekim aylarında diğer aylara oranla artan bir yoğunlukta, quercetin glikozitinin ise hemen hemen tüm vegetasyon boyunca yüksek yoğunlukta olduğu gözlenmiştir (Tablo 2). 4 ve 6 No.lu fenilpropanoid bileşikler ile 5 No.lu quercetin bileşiğinin ağustos ayından sonra yoğunluklarının azaldığı saptanmıştır. Ağustos ve eylül aylarında yüksek yoğunlukta olduğu belirlenen 8 No.lu flavonol bileşiği ekim-kasım aylarında gözlenmemiştir. 3 No.lu kaempferol glikozitinin ise sadece eylül ayında yüksek yoğunlukta olduğu gözlenmiştir. Aylık yaprak kromatogramlarında tanımlanan fenolik maddelerin fındıkta haziran-temmuz, kestane temmuz-ağustos aylarında yoğunlaştıkları dikkati çekmektedir. Ancak toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri (Şekil 1 ve 2) ile kromatogramlarda ayrıştırılan fenoliklerin mevsimsel değişimleri arasında kesin bir ilişki bulunamamıştır.

Forestal solventiyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarda fındık yapraklarına ait 10, kestane yapraklarına ait 11 fenolik madde saptanmıştır (Tablo 3). Fındık yaprak örneklerinin HCl ile hidrolizi sonucunda kromatogramlarda iki antosiyenin bileşiği (3 ve 4 No.lu lekeler) ortaya çıkmıştır. Bunlardan 4 No.lu lekelerin delfinidin olabileceği kanısına varılmıştır. En küçük Rf değerlerine sahip 1 ve 2 No.lu lekelerin myricetin ve

Tablo 3. Fındık ve Kestane yapraklarında forestal solventiyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler.

F İ N D İ K				K A S T A N E			
Leke No.	R _f	Renk NH ₃ + UV	Tanımı	Leke No.	R _f	Renk NH ₃ + UV	Tanımı
1	0.10	Parlak koyu sarı	Flavonol ⁽¹⁾	1	0.10	Parlak koyu sarı	Flavonol ⁽⁶⁾
2	0.15	Parlak açık sarı	Flavonol ⁽²⁾	2	0.15	Parlak açık sarı	Flavonol ⁽⁷⁾
3	0.16	Mor	Anthocyanin	3	0.33	Mor-kahve	Ellagic asit
4	0.24	Mor	Anthocyanin ⁽³⁾	4	0.41	Koyu sarı	Flavonol ⁽⁸⁾
5	0.60	Parlak açığı mavi	Fenilpropanoid	5	0.54	Parlak açığı mavi	Fenilpropanoid
6	0.70	Parlak mor-mavi	<i>p</i> -coumaric asit	6	0.60	Turuncu	Flavonol ⁽⁹⁾
7	0.77	Parlak mavi	Fenilpropanoid	7	0.67	Koyu parlak mavi	<i>p</i> -coumaric asit
8	0.81	Lacivert	Belirlenemedi	8	0.75	Parlak mavi	Fenilpropanoid
9	0.86	Parlak mor-mavi	<i>p</i> -coumaric asit ⁽⁴⁾	9	0.81	Lacivert	Belirlenemedi
10	0.92	Koyu sarı	Flavonol ⁽⁵⁾	10	0.87	Parlak sarı	Flavonol
				11	0.93	Sarı	Flavonol

(1) Myricetin, (2) Quercetin, (3) Delphinidin, (4) İzomer, (5) Flavonol glikozidi, (6) Myricetin, (7) Kaempferol, (8) Quercetin glikozidi, (9) Kaempferol glikozidi

quercetin ağırlıkları, 5 ve 7 No.lu lekelerin fenilpropanoidlerden hydroxycinnamic asit karakteri taşıdığı gözlenmiştir. Forestal kromatogramlarında görülen 6 No.lu lekenin *p*-coumaric asit, 9 No.lu lekenin de bunun izomeri olabileceği düşünülmektedir. Tablo 3'de en yüksek R_f değeri ile gösterilen 10 No.lu lekenin bir flavonol bileşiği olduğu tahmin edilmiş, 0.81 R_f değerine sahip 8 No.lu lekenin ise hangi fenol bileşiği olduğu belirlenememiştir.

Kestane yapraklarına ait tek boyutlu forestal kromatogramlarında en küçük R_f değerine sahip 1 ve 2 No.lu lekelerin quercetin ve kaempferol, 4 ve 6 No.lu lekelerin ise bunların glikozitleri olabileceği, 3 No.lu lekenin ellagic asit, 7 No.lu lekenin *p*-coumaric asit olabileceği kanısına varılmıştır. Fındık forestal kromatogramlarında görülen 0.81 R_f değerine sahip, tanımlanamayan fenolik madde kestane

kromatogramlarında da görülmüştür (9 No.lu leke). Tablo 3'de görülen 10 ve 11 No.lu lekelerin HCl hidrolizi sonucu ortaya çıkan flavonol bileşikler olduğu tahmin edilmektedir. 5 ve 8 No.lu lekelerin ise fenilpropanoidlerden hydroxycinnamic asit türevlerine ait olabileceği düşünülmüştür.

Fındık ve kestane sürgünlerinden elde edilen alkol ekstraktlarının da iki boyutlu kromatografik analizleri yapılmış, ancak fenolik maddeler ya hiç ayrıştırılamamış, ya da bir veya iki farklı özellikte leke elde edilmiştir. Muhtemelen bunların içerdiği fenolik maddelerin tümü tanen sınıfına aittir. Bu örneklerin, HCl ile hidroliz edildikten sonra forestal solventi ile kromatografisinde ayrılan bazı fenolik maddelerin yapraklarınkilerle uyduğu tespit edilmiştir. Ancak hem aylara göre belirgin farklar, hem de yapraklardaki kadar çeşitlilik saptanamamıştır.

Kaynaklar

1. Harborne, J.B., Phytochemical Methods, Chapman & Hall, London, 1974.
2. Bate-Smith E.C., Metcalfe, C.R., Leucoanthocyanins. 3. The Nature and Systematic Distribution of Tannins in Dicotyledonous Plants. J. Linn. Soc. of London Botany, LV 362: 669-705, 1957.
3. Bate-Smith E.C., The Phenolic Constituents of Plants and Their Taxonomic Significance. I. Dicotyledons. J. Linn. Soc. (Bot.), 58, 371: 95-173, 1962.
4. Whittaker, R.H. and P.P. Feeny., Allelochemicals: Chemical Interactions Between Species, Science, 171, 757-769, 1971.
5. Rice, E.L., Allelopathy, (second edn.), Academic Press, New York, 1984.
6. Swain, T., Secondary Compounds as Protective Agents, Ann. Rev. Plant Physiol., 28: 479-501, 1977.
7. Harborne, J.B., Flavonoid Pigments. In Herbivores: Their Interactions With Secondary Metabolites, Rosenthal, G.A. And D.H. Janzen (Eds), 619-656, Academic Press, New York, 1979.

8. Hedin P.A., Waage, S.K., Roles of Flavonoids in Plant Resistance to Insects Plant Flavonoids in Biology and Medicine, Biochemical Pharmacological and Structure-Activity Relationships, Alan R. Liss, Newyork, 1986.
9. Lamb, C.J., Lawton, M.A., Dron. M., Dixon, R.A., Signals and Transduction Mechanisms for Activation of Defenses Against Microbial Attack. Cell, 56:215, 1989.
10. Harborne, J.B., (ed), Phytochemical Ecology, Academic Press, New York, 1972
11. Mann, J., Secondary Metabolism Claredon Press, Oxford, 1978
12. Floss, H.G., The Shikimate Pathway, Rec. Adv. In Phytochemistry, 12: 59-90, 1979.
13. Serdar, İ., Selection of Chestnuts (*C.sativa* Mill.) in Sinop Vicinity. The Second International Symposium on Chestnut, 19-24 October, France, 1998.
14. Bilgener, M., Chemical Components of Howler Monkey (*Alouatta palliata*) Food Choice and Kinetics of Tannin Binding with Natural Polymers. Ph.D. Dissertation, Boston University, 1988.
15. Swain, T., Hillis, W.E., The Phenolic Constituents of *Prunus domestica*. J. Sci. Food Agric, 10: 63-68, 1959.
16. Feeny, P.P., Bostock, H., Seasonal Changes in The Tannin Content of Oak Leaves. Phytochemistry 7: 871-880, 1968.
17. Rhoades, D.F., Cates, R.G., Toward a General Theory of Plant Antiherbivory Chemistry, in Recent Advances in Phytochemistry 10, J. W. Wallace and R.L. Mansell, eds., Plenum Press, Newyork, 1976
18. Rhoades, D.F., Evolution of Plant Chemical Defense Against Herbivores, in Herbivores, G.A. Rosenthal and D.H. Janzen, eds., 1-47, Academic Press, Newyork, 1979.
19. Cooper-Driver G.A., Finch, S., Swain, T., Seasonal Variation in Secondary Plant Compounds in Relation to Palatability of *Pteridium Aquilium*. Biocem., Syst. and Ecol., 5:177-183, 1977.
20. Haukioja, E., Niemela, P., Birch Leaves as a Resource for Herbivores: Seasonal Occurrence of Increased Resistance in Foliage After Mechanical Damage of Adjacent Leaves. Oecologia, 39:151-159, 1979.
21. Haukioja, E., Induction of Defenses in Trees. Ann. Rev. Entomol. 36:25-42., 1990.
22. Marks, D. L., Ecological Chemistry of Primate Food Choice: II-Comparative Methods in Ecological Chemistry, Ph.D. Dissertation, Boston University, Boston., 1985.
23. Özeke, E., Tanrısever, A., Bazı Çilek Çeşitlerinin Farklı Organlarındaki Fenolik Maddeler Üzerinde Araştırmalar. E.İ., Zir. Fak. Der., 32(3):9-16, 1995
24. Camm, E.L., Towers, G.H.N., Review Article Phenylalanine Ammonia Lyase. Phytochemistry 12: 961-973, Pergamon Press, England, 1973
25. Jones, D.H., Phenylalanine Ammonia Lyase: Regulation of It's Induction, and Its Role in the Plant Development. Phytochemistry 23: 1349-1359, 1984.
26. Rodriguez, A., Canal M.J., Tames, R.S., Indoleacetic Acid, Abscisic Acid and Phenolic Substances During Development of Hazel Leaves, Physiologia Plantarum 73:92-96. Copenhagen., 1988.