

Evaluation of some biochemical characteristics of walnut kernels (*Juglans regia* L.) in different habitats in western Iran

Saiedeh Salavati¹ , Mehdi Kakaei² 

1. Corresponding Author: Department of Agricultural Sciences, Faculty of Technology and Engineering, Payame Noor University, Tehran, Iran. E-mail: s.salavati@pnu.ac.ir
2. Department of Agricultural Sciences, Faculty of Technology and Engineering, Payame Noor University, Tehran, Iran. E-mail: m.kakaei@pnu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 12 March 2026
Received in revised form 30 June 2026
Accepted 27 July 2026
Available online 22 September 2026

Keywords:
Antioxidant,
Ecotype,
Flavonoid,
Total Phenol,
Tuyserkan

ABSTRACT

Objective: Walnut is classified as a strategic species for human nutrition and is an important product widely used in the pharmaceutical and cosmetic industries for its green husk, shell, kernel, and leaves.

Methods: To investigate the biochemical properties of walnut kernels in some regions of western Iran (Hamedan, Kurdistan, and Kermanshah provinces), an experiment was designed, and walnuts were collected from three ecotypes: Tuyserkan, Marivan, and Kangavar and the total phenolic content, flavonoids, and antioxidant capacity of the kernels were studied.

Results: Results of variance analysis for each trait showed significant differences in total phenolic content, flavonoids, and antioxidant activity among the three sites. The highest and lowest total phenolic content was observed in walnuts from Tuyserkan and Kangavar, respectively. The highest flavonoid content was found in the kernels of Tuyserkan walnuts, while the lowest was in Marivan walnuts; the highest antioxidant capacity was also obtained from the kernels of Tuyserkan county.

Conclusion: Therefore, it appears that among the studied regions, Tuyserkan County provides better conditions for the growth and accumulation of biochemical compounds in walnut kernels, making Tuyserkan walnuts suitable for both the food industry as a quality nut and for the pharmaceutical and cosmetic industries due to their favorable biochemical properties.

Cite this article: Salavati, S. & Kakaei, M. (2026). Evaluation of some biochemical characteristics of walnut kernels (*Juglans regia* L.) in different habitats in western Iran. *Nova Biologica Reperta*, 13 (2), 1-19. <https://doi.org/10.22034/nbr.2026.11738>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22034/nbr.2026.11738>

Publisher: Kharazmi University.

Introduction

Walnut (*Juglans regia* L.) is the most widely distributed tree nut in the world and one of the most economically valuable horticultural crops, which has long been consumed as a highly nutritious food. This crop has attracted attention due to its rich content of macronutrients, micronutrients, proteins, vitamins, and carbohydrates, as well as its potential as a source of polyphenols (Wu et al., 2021).

In the past decade, phenolic compounds in the diet have drawn considerable attention because of their diverse biological activities and benefits for human health. These compounds are known as essential antioxidants with anti-cancer, anti-inflammatory, antibacterial, anti-aging, antifungal, and neuroprotective effects (Bouali et al., 2023). The phenolic compounds identified in walnut include hydroxycinnamic acids (chlorogenic, caffeic, ferulic, and sinapic acids), hydroxybenzoic acids (gallic, ellagic, protocatechuic, syringic, and vanillic acids), flavonoids (catechin, epicatechin, and myricetin), and juglone. Juglone is one of the most important phenolic compounds in walnut with strong antioxidant activity, and walnut husk is recognized as a cost-effective source for its preparation (Rafiei Dehkordi et al., 2023).

The content of phenolic compounds in plants is influenced by various factors such as genetic factors, environmental conditions, and storage conditions, and may even vary among cultivated varieties of the same species. Ripening stage and harvest time also affect phenolic content. The combined effect of climatic, environmental, and genetic parameters ultimately determines the nutritional quality of horticultural products. The mechanism by which the environment affects the accumulation of secondary metabolites is not fully understood; however, it is clear that the environment influences the type and intensity of chemical reactions by affecting the metabolite production process and related factors such as enzymes. Plants produce secondary metabolites as a means of adaptation to different ecological conditions; therefore, populations of the same species growing under different ecological conditions form different types in terms of quantity and quality of effective compounds (Ahmadi Sabegh and Eghbal, 2021). Understanding climatic and edaphic parameters and their effects on plants is one of the most important factors in increasing yield and production stability. Neglecting climatic and environmental potentials leads to low and fluctuating yields. Therefore, feasibility assessment and identification of suitable cultivation areas based on climatic and edaphic factors can provide a suitable basis for cultivation and increase production stability (Salavati and Kakaei, 2024).

Considering the importance of walnut in terms of biochemical traits and kernel quality, the present study aimed to evaluate the phenol, flavonoid, and antioxidant properties of samples collected from mountainous regions of western Iran, particularly Hamadan, Kermanshah, and Kurdistan provinces.

Method

This study was conducted in summer 2024 on the Chandler walnut cultivar. Samples were randomly collected from three different habitats: Tuyserkan (southwest of Hamadan), Kangavar (east of Kermanshah), and Marivan (northwest of Kurdistan). The orchards in all three regions had trees of similar age and relatively similar management conditions. Healthy samples were kept at room temperature for 48 hours, then manually dehulled and cracked.

Dehulled samples were dried at 50 °C and ground. Maceration was used for extraction; briefly, 2 g of dried walnut powder was dissolved in 75 mL of 70% methanol and placed on a shaker for 24 hours. Then, another 75 mL of solvent was added, and the extract was filtered through Whatman No. 1 filter paper. Solvent separation was performed using a rotary evaporator (Mohajerani et al., 2024).

Total phenol: measured by colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent (Sharafati-Chaleshtori et al., 2011). 500 µL of extract was mixed with 4500 µL of distilled water and 100 µL of Folin reagent; after 2 minutes, 1 mL of 20% sodium carbonate was added. Samples were kept in darkness for 2 hours, and absorbance was read at 765 nm. Results were expressed as mg gallic acid per g extract (Chen et al., 2013; Mlcek et al., 2015).

Total flavonoid: measured by aluminum chloride colorimetric method (Chang et al., 2002). 0.1 mL of 10% methanolic aluminum chloride was mixed with 0.1 mL of 1 M potassium acetate and 2.8 mL of

distilled water. Then, 0.5 mL of extract (mixed with 1.5 mL of 70% methanol) was added, and the final mixture was kept at room temperature for 30 minutes. Absorbance was read at 415 nm and calculated as mg quercetin per g extract.

Antioxidant activity: evaluated by DPPH method (Brand-Williams et al., 1995). 300 mg of dried sample was mixed with 9 mL of pure methanol and kept at 4 °C in darkness for 24 hours. Then, 0.1 mL of extract was added to 3.9 mL of DPPH solution, and after 30 minutes in darkness, absorbance was read at 517 nm. Results were calculated as IC₅₀.

Statistical analysis was performed in a randomized complete block design with three replications using SPSS version 19, and means were compared by Duncan's multiple range test at the 5% probability level.

Results

Analysis of variance showed significant differences among different walnut collection sites for traits such as total phenol, flavonoid, and antioxidant capacity, and the effect of geographical region of harvest was significant for all measured traits at the 1% probability level ($p \leq 1\%$).

Mean comparison by Duncan's test showed that walnut from Tuyserkan had the highest total phenol content (14.27 mg gallic acid per g extract) and walnut from Kangavar had the lowest (6.67 mg gallic acid per g extract). The highest flavonoid content was found in walnut collected from Tuyserkan (3.89 mg quercetin per g extract) and the lowest (1.58 mg quercetin per g extract) in walnut from Marivan. The highest DPPH inhibition was also recorded in Tuyserkan walnut, indicating its highest antioxidant capacity.

In this study, significant differences were observed in total phenol and flavonoid content among samples from three regions with different climatic conditions. These results confirm that geography and climate in different regions have a significant effect on the content of bioactive compounds and their activity. Indeed, the production of secondary metabolites in plants is influenced by environmental and genetic factors. Differences in chemical properties across locations—in other words, the habitat effect on plants—have been demonstrated in numerous studies (Mazaraie and Fahmideh, 2020). Ghasemi et al. (2019) also showed that environmental conditions and sampling location have a significant effect on total phenol and flavonoid.

Differences were observed in soil salt content among sampling regions, and a major part of the differences in plants is related to soil salts. Also, plant access to soil nutrients depends on soil pH. Therefore, the difference in total phenol content of walnut can be attributed to soil elements and altitude in different regions. Nejad-Alimoradi and Rezanejad (2022) also reported that soil physicochemical properties affect plant establishment, growth, photosynthesis, and secondary metabolite production, and differences in phenolic compound content can depend on factors such as geographical region, plant habitat, and extraction method (Kianipour et al., 2023).

Since different habitats exert different effects on plant species based on climatic and edaphic conditions, suitable and balanced environmental conditions and soil characteristics in the Tuyserkan habitat could be among the factors contributing to increased secondary metabolites in walnut from this region. The qualitative and quantitative content of effective secondary metabolites in medicinal plants of each region is influenced by climatic conditions, environmental factors, and ecological stresses of that region (Akbari and Kakaei, 2024).

In the present study, the highest flavonoid content was observed in the region with the highest altitude, and the lowest flavonoid content in the region with the lowest altitude. These observations are consistent with the results of Saboora et al. (2013), who stated that differences in regional conditions such as climatic variations, altitude, and genetic pool changes have a significant effect on phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity. Sohrabi Muri et al. (2022) also showed that collection location has a significant effect on phytochemical properties including total phenol and flavonoid content.

To compare the antioxidant activity of extracts, the IC₅₀ factor is used, which is the concentration of extract at which 50% of DPPH radicals in the reaction medium are inhibited. The lower this concentration, the higher the antioxidant activity of the extract (Kianipour et al., 2023; Qingyang et al.,

2023). Walnuts have antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, neuroprotective, and anti-carcinogenic properties for human health (Ros et al., 2018).

The biological functions of the body are significantly improved by the antioxidant activities of phenolic compounds (Vu et al., 2018). Therefore, the high antioxidant capacity of the product in the study region can be attributed to the high phenol content of walnut. Studies have shown a strong relationship between total phenolic content of walnut and the antioxidant activity of walnut extracts. Ali and Zeb (2024) also showed that walnut kernel contains phenolic compounds that play a vital role in human health due to various antioxidants. According to the results of our study (Ma et al., 2021), a positive correlation between DPPH and total phenol has been observed in fruit trees. Among 25 different commonly consumed nuts, walnut seeds have the highest antioxidant activity. This difference in antioxidant capacity can be attributed both to its positive correlation with total phenol content and to climatic conditions and altitude differences in the studied habitats. The action of antioxidants is always variable and widely changes with several factors such as maturity stages, climatic conditions, plant organs used, harvest conditions, storage, and maintenance (Kaur et al., 2011).

Conclusions

The traits of total phenol, flavonoid, and antioxidant capacity in walnut collected from different geographical regions showed significant differences, and the results showed that walnut from Tuyserkan had the highest total phenol content and walnut from Kangavar had the lowest. The highest flavonoid content was also observed in walnut collected from Tuyserkan and the lowest in walnut from Marivan. Walnuts from Tuyserkan had the highest antioxidant activity, while walnuts from Kangavar had the lowest antioxidant activity. Therefore, among the studied regions, Tuyserkan appears to be more suitable in terms of providing the conditions required for growth and accumulation of biochemical compounds, which are generally also useful in the pharmaceutical industry. Additionally, it is suggested to investigate soil characteristics, particularly acidity, electrical conductivity, and organic and chemical compounds of soil in the mentioned regions, and to determine the effect of these factors on the chemical composition of walnut, as well as to compare the qualitative and apparent characteristics of walnut kernels such as fatty acid content and kernel color in these regions.

Author Contributions

First author: Preparation and preparation of samples, performing experiments and data collection, performing calculations, statistical analysis of data, analysis and interpretation of information and results, preparing the manuscript draft.

Second author: Revision, review, and finalization of the manuscript, statistical analysis of data.

Acknowledgements

The authors deem it necessary to express their gratitude for the cooperation of the Pishgaman Part Hamadan Laboratory.

Conflict of Interest

According to the authors' statement, this article has no conflict of interest.

ارزیابی برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی مغز گردو (*Juglans regia* L.) در

رویشگاه‌های مختلف غرب ایران

سعیده صلواتی^۱، مهدی کاکایی^۲

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم کشاورزی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. رایانامه: s.salavati@pnu.ac.ir

۲. گروه علوم کشاورزی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. رایانامه: m.kakaei@pnu.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	مقدمه: گردو (<i>Juglans regia</i>) به عنوان یک گونه استراتژیک برای تغذیه انسان طبقه‌بندی می‌شود و نیز محصولی مهم است که از پوست سبز، پوسته، مغز و برگ آن به طور گسترده‌ای در صنایع دارویی و آرایشی استفاده می‌شود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۲/۲۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۴/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۰۵ تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۳۱	مواد و روش‌ها: به منظور بررسی خواص بیوشیمیایی مغز گردو در برخی مناطق غرب کشور (استان‌های همدان، کردستان و کرمانشاه)، آزمایشی طراحی شد و از هر اکوتیپ، شامل سه رویشگاه توپسرکان، مریوان و کنگاور، گردوها جمع‌آوری و صفات فنول کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز آن مطالعه شدند.
کلیدواژه‌ها: آنتی اکسیدان، اکوتیپ، توپسرکان، فلاونوئید، فنول کل	نتایج: نتایج تجزیه واریانس روی هریک از صفات بررسی شده نشان داد: از نظر میزان فنول کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی، تفاوت معنی‌داری بین سه رویشگاه مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان فنول کل، به ترتیب در گردوی توپسرکان و کنگاور مشاهده گردید. بیشترین میزان فلاونوئید در مغز گردوی توپسرکان وجود داشت. در حالی که کمترین مقدار فلاونوئید متعلق به مغز گردوی مریوان بود؛ بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی نیز در مغز گردوی توپسرکان به دست آمد.
	نتیجه‌گیری: بنابراین، به نظر می‌رسد از بین مناطق مطالعه شده، شهرستان توپسرکان شرایط بهتری را برای رشد و تجمع ترکیبات بیوشیمیایی در مغز گردو تأمین می‌کند و می‌توان مغز گردوی توپسرکان را هم در صنایع غذایی، به عنوان یک آجیل با کیفیت و هم در صنایع دارویی و آرایشی-بهداشتی با خواص بیوشیمیایی مناسب در نظر گرفت.

استناد: صلواتی، سعیده و کاکایی، مهدی (۱۴۰۵). ارزیابی برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی مغز گردو (*Juglans regia* L.) در رویشگاه‌های مختلف

غرب ایران. یافته‌های نوین در علوم زیستی، ۱۳ (۲)، ۱-۱۹. <https://doi.org/10.22034/nbr.2026.11738>



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه خوارزمی.

مقدمه

گردو (*Juglans regia* L.)، گسترده‌ترین آجیل درختی در جهان است و از دیرباز به عنوان یک غذای بسیار مغذی در بسیاری از کشورها مصرف می‌شده است (Regueiro et al., 2014). این محصول، یک میوه آجیلی اقتصادی است که به دلیل داشتن مواد مغذی فراوان، ارزشمند است و به طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شود (Noshirvani et al., 2015). گردو یک مغز دانه‌ای با کشت جهانی و ارزش اقتصادی بالا است که به دلیل محتوای غنی از درشت مغذی‌ها و پتانسیل آن به عنوان منبع غذایی پلی‌فنول‌ها، مورد توجه است (Wu et al., 2021). گردو به عنوان یک گونه استراتژیک برای تغذیه انسان طبقه‌بندی می‌شود؛ زیرا سازمان غذا و کشاورزی آن را در گروه گیاهان اولویت‌دار قرار داده است. گزارش شده که فواید گردو برای سلامتی، به طور کلی به مشخصات شیمیایی آن‌ها مربوط می‌شود (Asadi-Shekaari et al., 2013). گردو شامل اشکال قابل توجهی از درختان خزان کننده است که عمدتاً در مناطق معتدل شناسایی شده، و به صورت تجاری در آسیا، غرب آمریکای جنوبی، ایالات متحده ایالات، اروپای مرکزی و جنوبی کشت می‌شود (Sabatier & Barthélémy, 2001).

گردو از جمله مهم‌ترین گونه‌های میوه‌های سخت‌مغز در جهان است. درخت گردو درختی با برگ‌های معطر و پرمایند، گل‌های تک‌پایه و تک‌جنسی است، که گرده‌افشانی آن بیشتر توسط باد انجام می‌شود. گل‌های نر، به صورت گل‌آذین‌های آویزان روی شاخه‌های یک ساله ظاهر می‌شوند، در حالی که گل‌های ماده، روی ساقه‌های سال جاری یافت می‌شوند (Schwindl et al., 2017). جنس *Juglans* از خانواده گردوسانان (Juglandaceae)، شامل چندین گونه است و در سراسر جهان به طور گسترده پراکندگی دارد. گردو یک محصول مهم است، و از پوست سبز، پوسته، مغز، ریشه و برگ آن به طور گسترده‌ای در صنایع دارویی و آرایشی استفاده می‌شود. در این راستا می‌توان از تمام قسمت‌های درخت گردو به عنوان منبع عالی از ترکیبات مختلف که بیان کننده پتانسیل آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی محصول است استفاده کرد (Nabavi et al., 2011). مردم جوامع مختلف هم برای درمان برخی بیماری‌ها، به محصولات طبیعی روی آورده‌اند و جایگزینی مواد نگهدارنده شیمیایی مصنوعی سمی در غذاهای فرآوری شده، با محصولات سالم هر روز در حال افزایش است (Malekjani and Jafari, 2022).

گردو یکی از مهم‌ترین خشکبارهایی است، که به طور وسیع در سراسر جهان کشت می‌گردد و امروزه مصرف کنندگان هم تمایل بیشتری به استفاده از افزودنی‌های سالم و طبیعی دارند. ترکیبات فنولی که از محصولات طبیعی به دست می‌آیند، گزینه خوبی برای به حداقل رساندن اکسیداسیون لیپیدها هستند (Rafiei Dehkordi et al., 2023). اجزای تغذیه‌ای مغز گردو، سرشار از ریزمغذی‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و کربوهیدرات‌ها است (Cosmulescu et al., 2009; Erturk et al., 2014). همچنین، مغز گردو منبع خوبی از فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک است که به دلیل خواص آنتی اکسیدانی‌شان، ترکیباتی مورد توجه هستند (Pereira et al., 2008; Jamali et al., 2015). هفت ترکیب فنولی حاوی فعالیت‌های آنتی اکسیدانی قابل توجه، توسط ژانگ و همکارانش در مغز گردو جداسازی و شناسایی شدند (Zhang et al., 2009). آنتی اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنولی از انواع متابولیت‌های ثانویه هستند، که در همه بخش‌های یک گیاه وجود دارند (Cheraghali et al., 2016). تعداد ۱۳ ترکیب فنولی شامل: هیدروکسی سینامیک اسیدها (اسید کلروژنیک، اسید کافئیک، اسید فرولیک و اسید سیناپیک)، هیدروکسی بنزوئیک اسیدها (اسید گالیک، اسید الاژیک، اسید پروتوکاتئیک، اسید سیرینژیک و اسید وانیلیک)، فلاونوئیدها (کاتکین، اپی کاتکین، میرستن) و ژاگلون ۵ هیدروکسی ۱ و ۴ نفتوکینون، در گردو شناسایی شده است. ترکیباتی نظیر نفتوکیتون، فلاونوئیدها و ژاگلوناز، ترکیبات مهم آنتی اکسیدانی برگ گردو محسوب می‌شوند. ژاگلون، یکی از مهم‌ترین ترکیبات فنولی موجود در گردو و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی می‌باشد. همچنین پوست گردو، به عنوان منبع مقرون به صرفه‌ای برای تهیه ژاگلون است (Rafiei Dehkordi et al., 2023).

در طول دهه گذشته، ترکیبات فنولی که در رژیم غذایی رایج هستند، به دلیل فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع و فوایدشان برای سلامت انسان، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. فنول‌ها، به عنوان آنتی اکسیدان‌های ضروری با اثرات ضد سرطان، ضد التهاب، ضد باکتری، ضد پیری، ضد قارچ و محافظت عصبی شناخته می‌شوند (Bouali et al., 2023; Ni et al., 2021). گردو، با متنوع‌ترین ترکیب فنولی و بالاترین میزان فنولی در بین آجیل‌های درختی، کاربردهای بسیاری دارد (Persic et al., 2018).

مطالعات نشان داده است؛ که پوست یا پوسته اطراف مغز گردو، حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی است که به فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن در مقایسه با سایر آجیل‌ها کمک می‌کند (Wang et al., 2022). این عملکردهای بیولوژیکی، ناشی از یک ویژگی اساسی به نام فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی هستند (Vu et al., 2018). ترکیبات فنولی، موادی هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. این ترکیبات در تمامی بخش‌های درخت گردو (میوه، پوست و برگ) موجود است و اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن شناخته شده است. بنابراین، اجزای مختلف درخت گردو، می‌تواند به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی و عوامل ضد میکروبی، ارزشمند باشد (Latifi et al., 2021). در میان بسیاری از آجیل‌های درختی، فنولیک کل (Total Phenolic Content) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گردو، به طور قابل توجهی بالاتر از بادام، فندق، بادام هندی و بادام زمینی بود (Wu et al., 2004). حتی گزارشی نشان داد؛ که توانایی آنتی‌اکسیدانی مغز گردو در بین بیست و پنج نوع غذای رایج، بالاترین مقدار را دارد (Gunduc and El, 2003). فلاونوئیدهای موجود در گردو نیز، در واقع گروهی از ترکیبات پلی فنولی با منشأ گیاهی و وزن مولکولی کم هستند، که به‌طور طبیعی در میوه، برگ و سایر اندام‌های گیاهی توزیع شده‌اند (Dastoo et al., 2017). ژاگلون، یکی از مهم‌ترین ترکیبات فنولیک موجود در گردو، و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد (Noshirvani et al., 2015). در پژوهش‌های مختلف ثابت شده است، که ترکیبات فنولی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Akbari et al., 2023).

مقدار ترکیب‌های فنولی در گیاهان، تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند عوامل ژنتیکی، شرایط محیطی و شرایط نگهداری قرار گرفته، و حتی بین واریته‌های زراعی یک گونه متغیر هستند. همچنین میزان رسیدن و زمان برداشت، بر محتوای فنولی مؤثرند (Jakopic et al., 2007). جعفری و همکاران (Jafari et al., 2019) اعلام کردند؛ برآیندی از فراسنجه‌های اقلیمی، محیطی و ژنتیکی، در نهایت تعیین‌کننده کیفیت غذایی محصولات باغبانی هستند. با آگاهی از اثر همزمان و متقابل تمام این عوامل، می‌توان شرایط را برای رسیدن به بهترین عملکرد و کیفیت در محصولات با ارزش غذایی بالا فراهم کرد. تأثیر رویشگاه، بر میزان ترکیبات غذایی، در گیاهان مختلف بررسی شده، که در اکثر موارد، بر نقش رویشگاه، به‌عنوان عامل تأثیرگذار در تجمع این ترکیبات تأکید شده است.

مکانیسم تأثیرات محیط بر تجمع متابولیت‌های ثانویه، به‌درستی روشن نیست، و برآیندی از عوامل مختلف بر آن اثرگذار هستند؛ با وجود این، روشن است که محیط از طریق تأثیر بر فرایند تولید متابولیت، و عوامل مرتبط با فرایند تولید مانند آنزیم‌ها، در نوع و شدت واکنش‌های شیمیایی مؤثر است. با توجه به تأثیر محیط بر فعالیت آنزیم‌ها، و مسیرهای بیوسنتزی، چنین استنباط می‌شود؛ که تغییرات ارتفاع، از طریق اثرگذاری بر ساختار تنوع زیستی، و مؤلفه‌های بیولوژیکی جمعیت‌های گیاهی، می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای، در کمیت عملکرد (عملکرد زیستی) و ویژگی‌های کیفی، نظیر محتوای متابولیت‌های ثانویه ایفا نمایند. درختان گردو، به دلیل شرایط محیطی و تغییرات آب و هوایی در سراسر جهان، به ویژه در مناطق معتدل جهان، کاشته می‌شوند (Ali and Zeb, 2024). در همین راستا، و در مطالعه‌ای دیگر، احمدی سابق و اقبال (Ahmadi Sabegh and Eghbal, 2021) اعلام کردند؛ گیاهان، متابولیت‌های ثانویه را به‌عنوان ابزار سازگاری به شرایط و پدیده‌های مختلف اکولوژیکی پیرامونی، برای حفظ خود و نسل‌های آینده تولید می‌کنند. به همین دلیل، زمانی که گیاه در شرایط اکولوژیکی مختلف قرار می‌گیرد، کمیت، کیفیت و متابولیت‌های ثانویه خود را، برای سازگاری به این شرایط تغییر می‌دهد؛ بنابراین، جمعیت‌های یک گونه که در شرایط اکولوژیکی مختلف رویش یافته‌اند، از نظر کمیت و کیفیت مواد مؤثر، تیپ‌های متفاوت و متنوعی را تشکیل می‌دهند که البته این تنوع، به تفاوت در دامنه فعالیت دارویی و بیولوژیک نیز منجر می‌شود. صلواتی و کاکایی (Salavati and Kakaei, 2024) نیز در پژوهشی نشان دادند؛ که مکان کشت، از لحاظ تأمین شرایط مورد نیاز برای رشد و تجمع ترکیبات فیتوشیمیایی در محصولات کشاورزی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. شناخت فراسنجه‌های اقلیمی و ادا فیزیکی، و اثر آنها روی گیاه، یکی از مهمترین عوامل مؤثر در افزایش عملکرد، و میزان تولید می‌باشد (Kamali et al., 2010). به‌عبارت دیگر، عدم توجه به پتانسیل‌های اقلیمی و محیطی، سبب باردهی اندک و پر نوسان می‌شود. بنابراین امکان‌سنجی و شناسایی مناطق مستعد کشت، بر پایه شناخت عوامل مختلف اقلیمی و ادا فیزیکی، می‌تواند ضمن فراهم‌سازی بستر مناسب برای کشت، سبب افزایش و پایداری تولید شود.

با توجه به اهمیت محصول گردو، از نظر صفات بیوشیمیایی و کیفیت مغز آن، مطالعه پیش‌رو برای ارزیابی میزان فنول، فلاونوئید و ویژگی آنتی اکسیدانی، در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق کوهستانی غرب کشور، به‌ویژه استان‌های همدان، کرمانشاه و کردستان است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

در تابستان سال ۱۴۰۳، پس از شناسایی دقیق باغ‌های محلی، نمونه‌برداری از گردوهای رقم چندلر، به‌صورت تصادفی از سه رویشگاه شامل؛ توپسرکان (جنوب‌غربی استان همدان)، کنگاور (شرق استان کرمانشاه)، و مریوان (شمال‌غربی استان کردستان) انجام شد. برخی از مشخصات خاک و شرایط محیطی محل جمع‌آوری نمونه‌ها، در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. در هر رویشگاه، تعداد ۳ باغ انتخاب گردید، و از هر باغ، تعداد ۳ درخت با سن تقریبی یکسان، و مدیریت مشابه، به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. از هر درخت، تعداد ۱۰ گردوی سالم (عاری از آفت و آسیب مکانیکی)، به‌صورت تصادفی، از چهار جهت جغرافیایی درخت، جمع‌آوری گردید. نمونه‌های انتخابی، به مدت ۴۸ ساعت، در دمای محیط نگهداری شده، و سپس به‌روش دستی پوست‌گیری، و شکسته شدند (شکل ۱).

جدول ۱- مشخصات محل جمع‌آوری نمونه‌های گردو

Table 1. Specifications of the walnut samples collection location

محل جمع‌آوری	اقلیم	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)
توپسرکان	معتدل-نیمه‌خشک	۳۴°۳۳'	۴۸°۲۶'	۱۸۲۱
کنگاور	معتدل-نیمه‌خشک	۳۴°۳۰'	۴۷°۵۷'	۱۴۶۸
مریوان	سرد-مرطوب	۳۵°۵۱'	۴۶°۱۷'	۱۳۱۰

جدول ۲- مشخصات خاک، و شرایط محیطی رویشگاه‌ها

Table 2. Soil characteristics and environmental conditions of habitats

رویشگاه	محدوده pH خاک	محدوده Ec خاک	مواد آلی	میانگین دمای تابستان	میانگین بارندگی تابستان
		(دسی‌زیمنس بر متر)	(درصد)	(درجه سانتی‌گراد)	(میلی‌متر)
توپسرکان	۷/۵	۰/۶۵	۲	۲۳	<۱۰
کنگاور	۷/۷	۰/۸۵	۱/۵	۲۷	۰
مریوان	۷/۱	۰/۵۵	۲/۷	۲۵	۲۰



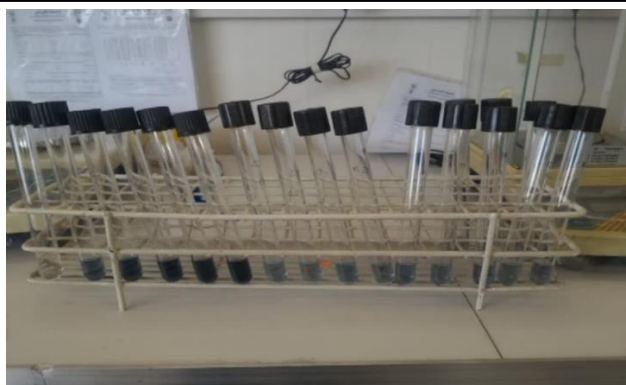
شکل ۱- نمونه گردوهای جمع آوری شده
Figure 1. Sample of collected walnuts

آماده‌سازی نمونه‌ها

در آزمایشگاه، نمونه‌های پوست‌کنده در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، خشک، و آسیاب، و به‌منظور تهیه محلول آزمون، استفاده شدند. جهت عصاره‌گیری از مغز گردوی خشک شده، از روش خیساندن استفاده شد. به این صورت که؛ ابتدا مقدار ۲ گرم از پودر گردوی خشک، در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد، و ۷۵ میلی‌لیتر از حلال (متانول ۷۰ درصد) اضافه گردید، تا جایی که سطح مغز پودر شده، کاملاً با حلال پوشیده شده باشد. درب ارلن با پارافیلیم بسته شد، و به مدت ۲۴ ساعت بر روی همزن قرار داده شد. عصاره به‌دست آمده، به یک ظرف تمیز منتقل، و ۷۵ میلی‌لیتر از حلال اضافه شد. سپس عصاره، توسط کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. برای جلوگیری از اتلاف انرژی، دمای زیاد، و همچنین جلوگیری از تجزیه شدن ترکیبات حاصله، جداسازی حلال از عصاره، با دستگاه تبخیرکننده دوار انجام گرفت (Mohajerani et al., 2024).

اندازه‌گیری فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فنول کل، از عصاره‌های متانولی به‌دست‌آمده (متانول ۷۰ درصد) استفاده شد، و به روش رنگ‌سنجی، و با استفاده از معرف فولین سیو کالتو، ارزیابی انجام گرفت (Sharafati-chalesshtori et al., 2011). فسفوتنگستیک اسید موجود در معرف، به‌عنوان اکسیدکننده است که گروه هیدروکسی فنول اکسیدشده را سریعاً احیا می‌کند، و در پایان روش، یک رنگ آبی ایجاد می‌شود، که حداکثر جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر است (شکل ۲). به این منظور، ۵۰۰ میکرولیتر عصاره تهیه‌شده با ۴۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر، و ۱۰۰ میکرولیتر محلول فولین، مخلوط، و پس از ۲ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم (Na_2CO_3) ۲۰ درصد، به آن اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در تاریکی قرار گرفتند، و سپس جذب نمونه‌ها، در ۷۶۵ نانومتر، برحسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره، محاسبه شد (Chen et al., 2013; Mlcek et al., 2015). برای رسم منحنی کالیبراسیون، گالیک اسید به عنوان استاندارد به کار رفت، و میزان آن برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره (برحسب میانگین آن‌ها)، گزارش شد (Kamali et al., 2014).



شکل ۲- اندازه‌گیری فنول کل، در آزمایشگاه

Figure 2. Measuring total phenol in the laboratory

برای اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید در مغز گردو، از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد، به این صورت که؛ ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد متانولی، با ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار مخلوط شد، و سپس ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. در مرحله بعد، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره، که با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۷۰ درصد) مخلوط شده بود، به مخلوط حاوی کلرید آلومینیوم، استات پتاسیم و آب مقطر اضافه شد. مخلوط نهایی حاصل، با حجم ۵ میلی‌لیتر، برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط واکنش، در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری، و برحسب میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم عصاره محاسبه شد (Chang et al., 2002).

جهت مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره، از فاکتوری تحت عنوان IC₅₀ استفاده می‌شود، که به غلظتی از عصاره گفته می‌شود که؛ در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط واکنش مهار می‌شوند، و هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان‌دهنده این است که؛ عصاره مورد نظر، فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارد (Kianipour et al., 2023). IC₅₀ به عنوان غلظت هر عصاره (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH است، و IC₅₀ پایین‌تر، نشان‌دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر یک ترکیب است (Qingyang et al., 2023). فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره، با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی، به کمک ۲-۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت (Brand-Williams et al., 1995). در این روش، ۳۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های خشک شده پودر، و به همراه ۹ میلی‌لیتر متانول خالص، به داخل فالکون منتقل شد. فالکون‌ها به مدت ۲۴ ساعت، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، در محیط تاریک نگهداری شدند. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی، به ۳/۹ میلی‌لیتر DPPH استوک ساخته شده (۰/۰۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) اضافه شده، و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت، و میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر، با اسپکتروفوتومتر خوانده شد. در نهایت، نتایج به صورت IC₅₀، از طریق رابطه ۱ محاسبه شد؛ که در آن، A_{sample} و A_{blank}، به ترتیب، میزان جذب شاهد، و نمونه را نشان می‌دهند (Siahpoosh et al., 2011).

$$IC_{50} = [(A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}] \quad \text{رابطه (۱)}$$

آنالیز آماری

این پژوهش، در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار، توسط نرم‌افزار آماری SPSS، نسخه ۱۹ انجام شد، و مقایسه میانگین، با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد، صورت پذیرفت. به منظور تفکیک اثرات محیطی ناخواسته، از اثرات اصلی آزمایش، از طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) استفاده گردید، و در جدول تجزیه واریانس (ANOVA)، منابع تغییرات برای هر صفت، به شرح زیر مورد تفسیر قرار گرفت:

- بلوک (Block): بلوک‌ها به عنوان یک منبع تغییرات تصادفی، در نظر گرفته شدند. هدف اصلی از گنجاندن بلوک در مدل، جذب و کنترل ناهمگونی‌های احتمالی محیطی (مانند شیب، رطوبت خاک، مواد مغذی یا نور) است، تا واریانس ناشی از این عوامل از واریانس تیمارها، تفکیک گردد.

- تیمار (Treatment): این منبع تغییرات، هدف اصلی آزمایش را نشان می‌دهد، و در این مطالعه، بیانگر تأثیر شرایط رویشگاه‌های مختلف، بر صفات مورد اندازه‌گیری است. ماهیت این منبع تغییرات، ثابت در نظر گرفته شده، و معنی‌داری آماری آن (مبتنی بر آزمون F)، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارها بوده، و ردکننده فرض صفر (برابری اثر تیمارها) است.

- خطا (Error): این منبع تغییرات، واریانس تصادفی ناشی از عوامل کنترل نشده، خطاهای اندازه‌گیری، و اثرات متقابل فردی را در بر می‌گیرد، و مبنای اصلی برای محاسبه حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) است، و پایه آزمون‌های مقایسه میانگین، پس از آزمون واریانس را تشکیل می‌دهد. هرچه مجموع مربعات خطا کوچک‌تر باشد، نشان‌دهنده دقت بالاتر آزمایش، و تشابه بیشتر واحدهای آزمایشی درون هر بلوک است.

- ضریب تغییرات (CV): ضریب تغییرات که از تقسیم ریشه میانگین مربعات خطا، بر میانگین کل صفت مربوطه محاسبه می‌شود، به عنوان شاخصی نسبی از دقت، و تکرارپذیری کل آزمایش تلقی می‌گردد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس روی هریک از صفات بررسی شده در جدول ۳، نشان دادند؛ از نظر صفاتی مانند: میزان فنول کل، فلاونوئید، و ظرفیت آنتی اکسیدانی، تفاوت معنی‌داری، بین نقاط مختلف جمع‌آوری گردو وجود داشت، و اثر منطقه‌ای جغرافیایی محل برداشت، در همه‌ی صفات اندازه‌گیری شده، در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 1\%$)، معنی‌دار بود.

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر شرایط جغرافیایی، بر تعدادی از خواص بیوشیمیایی مغز گردو

Table 3. Variance analysis of the effect of geographical conditions on several biochemical properties of walnut kernels

میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	فنول کل	فلاونوئید	میزان مهار DPPH
بلوک	۲	۲۳/۸۹	۱۰/۹۰	۱۳
تیمار	۲	۱۳۸۴/۲۷**	۱۵۴۸۷۲/۴۰**	۴۲۷**
خطا	۴	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۵
ضریب تغییرات		۳/۲۴	۴/۷۸	۱۱/۰۳

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن (جدول ۴)، نشان داد؛ محصول گردو، در شهرستان تویسرکان، از نظر فنول کل، از بیشترین مقدار (۱۴/۲۷ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره)، و در شهرستان کنگاور، از کمترین مقدار (۶/۶۷ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره)، برخوردار است.

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر شرایط جغرافیایی، بر تعدادی از خواص بیوشیمیایی مغز گردو

Table 4. Mean comparison effect of geographical conditions on some biochemical properties of walnut kernels

میزان مهار DPPH (درصد)	فلاونوئید (میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره)	فنول کل (میلی گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره)	منطقه جغرافیایی
۰/۱۴a	۳/۸۹a	۱۴/۲۷a	تویسرکان
۰/۰۷b	۲/۱۷b	۶/۶۷c	کنگاور
۰/۰۸b	۱/۵۸c	۱۱/۶۱b	مریوان

میانگین‌هایی با حروف یکسان در هر ستون، اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری، در سطح احتمال پنج درصد براساس آزمون دانکن، با یکدیگر ندارند.

بیشترین فلاونوئید، در محصول جمع‌آوری شده از شهرستان تویسرکان (۳/۸۹ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره)، و کمترین آن (۱/۵۸ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره)، در گردوی جمع‌آوری شده از شهرستان مریوان وجود داشت (جدول ۴). بیشترین میزان مهار DPPH نیز، در گردوی تویسرکان مشاهده شد، که نشان‌دهنده بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی آن می‌باشد (جدول ۴).

ضریب تغییرات برای شاخص‌های مورد مطالعه در این پژوهش، بین ۳/۲۴ تا ۱۱/۰۳ درصد متغیر بود، که نشان‌دهنده دقت قابل قبول آزمایش است.

بحث

با توجه به اینکه استفاده بهینه از منابع آب، خاک، و هوا، به عنوان یکی از ارکان اصلی تولید پایدار، مستلزم مکان‌یابی مناطق مستعد کشت در هر منطقه است (Vahdati et al., 2018)، در این تحقیق، نقشه‌های اولیه، براساس هر یک از فراسنجه‌های مورد مطالعه مانند؛ مختصات جغرافیایی، دما، نیاز سرمایی، هدایت الکتریکی خاک و آب، رطوبت نسبی در فصل رشد، و شیب زمین به دست آمد، و در نهایت با تلفیق لایه‌های نامبرده، نقشه نهایی مناطق مستعد کاشت گردو ارائه شد، و براساس نقشه به دست آمده مشخص گردید؛ که بهترین مکان‌ها برای کاشت درختان گردو، نوار شمالی، شمال غربی، و غرب کشور می‌باشد.

بین خاک مناطق نمونه‌برداری، در میزان املاح اختلاف وجود داشته، و بخش عمده تفاوت‌های موجود در گیاهان، به وجود املاح موجود در خاک مربوط است. همچنین، دسترسی گیاه به عناصر غذایی خاک، وابسته به pH خاک است. بنابراین، می‌توان تفاوت در میزان فنول کل گردو را، به میزان عناصر خاک، و نیز ارتفاع از سطح دریا در مناطق مختلف مربوط دانست. نژادعلیمرادی و رضائزاد (Nejad-Alimoradi and Rezanejad, 2022) نیز طی پژوهشی، گزارش کرده‌اند؛ خصوصیات فیزیکیوشیمیایی خاک، به نحوی استقرار، رشد، فتوسنتز، و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه را، تحت تأثیر قرار می‌دهند، و اختلاف در مقدار ترکیبات فنولی، می‌تواند به عوامل مختلفی از قبیل: منطقه جغرافیایی، محل رویش گیاه، و روش استخراج وابسته باشد (Kianipour et al., 2023).

در مطالعه حاضر، اختلاف معنی‌داری بین محتوای فنول، و فلاونوئید کل نمونه‌ها، در سه منطقه متفاوت از نظر آب و هوایی مشاهده شد. این نتایج تأیید می‌کند که؛ جغرافیا و اقلیم در مناطق مختلف، تأثیر معنی‌داری در محتوای ترکیبات زیست فعال، و فعالیت آنها دارد. در واقع؛ تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، تحت تأثیر عوامل محیطی، و ژنی قرار دارد. تفاوت بودن خصوصیات شیمیایی در مکان‌های مختلف، یا به عبارتی دیگر، اثر رویشگاه روی گیاهان مختلف، در پژوهش‌های مختلف به اثبات رسیده است (Mazaraie and Fahmideh, 2020). قاسمی و همکاران (Ghasemi et al., 2019) نیز، در مطالعه خود بر روی ویژگی‌های فیتوشیمیایی ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان از نقاط مختلف ایران، نشان دادند؛ شرایط محیطی و محل نمونه‌برداری، تأثیر معنی‌داری روی فنول و فلاونوئید کل دارد.

با توجه به اینکه انواع رویشگاه‌ها در مناطق مختلف، براساس شرایط اقلیمی و اداپیک، تأثیرات متفاوتی بر روی گونه‌های مختلف می‌گذارند، شرایط محیطی، و ویژگی‌های خاک در رویشگاه توپسرکان، می‌تواند از عوامل مؤثر بر افزایش متابولیت‌های ثانویه، در گردوی این منطقه باشد. میزان کیفی و کمی متابولیت‌های ثانویه مؤثر در گیاهان دارویی هر منطقه، تحت تأثیر شرایط اقلیمی، عوامل محیطی، و تنش‌های اکولوژیک آن منطقه می‌باشد. تغییرات حاصل از محتوای ترکیبات بیوشیمیایی نمونه‌ها، می‌تواند تحت تأثیر عوامل دیگری مانند؛ محل رشد گیاه، و سن برگ‌ها باشد (Akbari and Kakaei, 2024).

اگرچه تولید متابولیت‌های ثانویه با هدایت و فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، اما ساخت آنها در گیاه، به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد، و به دفعات گزارش شده است؛ که شرایط اقلیمی حاکم بر رویشگاه، در مراحل فنولوژی مختلف، تغییراتی در محتوای متابولیت‌های ثانویه، مثل فنل، فلاونوئید، و ویژگی‌های اسانس (غلظت و نوع ترکیبات) گیاهان اعمال می‌کند (Pourhosseini et al., 2018).

درجه حرارت، از جمله عوامل محیطی تأثیرگذار در تشکیل، و تجمع متابولیت‌های ثانویه است، و در مناطقی با درجه حرارت پایین‌تر، تجمع فلاونوئید، بیشتر خواهد بود. با افزایش ارتفاع، بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی در اندام‌های گیاهی افزوده می‌شود، چرا که؛ ترکیبات فلاونوئیدی جاذب نور، مانند فالون‌ها، در پاسخ به اشعه UV، و برای محافظت بافت‌های درونی ساقه، و برگ از آسیب‌های ناشی از این اشعه، در سلول‌های اپیدرم، تجمع پیدا می‌کنند. این گونه به‌نظر می‌رسد که؛ افزایش ارتفاع رویشگاه در تجمع میزان متابولیت‌های ثانویه مؤثر بوده، و یکی از دلایل آن می‌تواند کیفیت تشعشعات، مخصوصاً B-UV، در ارتفاعات باشد. در این راستا گزارش شده؛ که اشعه B-UV، در ارتفاعات بالاتر بیشتر است، و در نتیجه می‌تواند سبب تحریک، و تولید بیشتر برخی از فلاونوئیدهای محافظتی شود (Arvin and Firouzeh, 2023).

در مطالعه حاضر، بیشترین میزان فلاونوئید، در منطقه‌ای که بیشترین ارتفاع از سطح دریا را داشته است مشاهده شد، و کمترین میزان فلاونوئید، در منطقه‌ای با کمترین ارتفاع از سطح دریا به‌دست آمد این مشاهدات، با نتایج حاصل از پژوهش صورا و همکاران (Saboora et al., 2013)، که اعلام کردند؛ تفاوت شرایط منطقه مانند تغییرات اقلیمی، ارتفاع، و تغییر خزانه ژنتیکی در سطح سرده، تأثیر معناداری بر میزان ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی، و فعالیت آن‌تی اکسیدانی نمونه‌ها دارد، همخوانی دارد. به نظر می‌رسد؛ مرتفع‌تر بودن رویشگاه توپسرکان، و به‌تبع آن کاهش دما، و افزایش شدت وزش باد، بر مقدار رطوبت هوا، و خاک اثر گذاشته، و منجر به ایجاد شرایط تنش‌زا در ارتفاعات بالا می‌شود. در این رابطه، گیاهان، سیستم‌های آنزیمی، و غیر آنزیمی قوی دارند، که جهت سازگاری گیاه، به شرایط ویژه فعال می‌شوند. از جمله این ترکیبات، می‌توان به توکوفرول‌ها، گلوکاتینون‌ها، اسیدآسکوربیک، فنول، و فلاونوئید اشاره کرد (Arvin and Firouzeh, 2023). میرآزادی و همکاران (Mir Azadi et al., 2011) نیز، بیان کردند که وجود اختلاف بین عوامل اکولوژیکی، و خاکی بین رویشگاه‌های مختلف می‌تواند بر نوع، و درصد اجزای متشکله اسانس، تأثیر عمده‌ای داشته باشد. طبق نتیجه پژوهش‌های سهرابی موری و همکاران (Sohrabi Muri et al., 2022)، مکان جمع‌آوری، تأثیر معنی‌داری روی خصوصیات فیتوشیمیایی شامل محتوای فنول، و فلاونوئید کل دارد. پژوهش‌ها، نتایج متفاوتی را در زمینه ارتباط رویشگاه و شرایط اقلیمی حاکم بر آن، و کمیت و کیفیت ترکیبات مؤثر موجود در گیاهان نشان داده است (Ghasemnezhad et al., 2021). در همین ارتباط، قاسمی و همکاران (Ghasemi et al., 2011)، با بررسی تأثیر فاکتورهای محیطی بر میزان آن‌تی اکسیدان‌ها، ترکیبات فنلی، و فلاونوئیدی در گیاه گردو (*Juglans regia*)، به این نتیجه رسیدند که؛ بیشترین میزان ترکیبات فنلی، و فلاونوئیدی در منطقه آبدلی، با بیشترین ارتفاع، و کمترین میانگین دمای روزانه به‌دست آمد.

گردوها دارای خواص آن‌تی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد باکتریایی، محافظت عصبی، و ضد سرطان‌زایی برای سلامت انسان هستند (Ros et al., 2018).

عملکردهای بیولوژیکی بدن، به طور قابل توجهی، توسط فعالیت‌های آن‌تی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی بهبود می‌یابد (Vu et al., 2018). بنابراین، بالا بودن ظرفیت آن‌تی اکسیدانی محصول، در منطقه مورد مطالعه را می‌توان به میزان بالای فنول گردو مرتبط دانست. مطالعات هم نشان داده‌اند؛ که رابطه قوی بین محتوای فنولی کل گردو، و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی عصاره‌های گردو وجود دارد. نتایج مطالعات علی و زب (Ali and Zeb, 2024) نیز، نشان داد مغز گردو، حاوی ترکیبات فنولی است. ترکیبات

فنولی، به دلیل وجود انواع آنتی‌اکسیدان‌ها، نقش حیاتی در سلامت انسان دارند. بر اساس نتایج پژوهش ما (Ma et al., 2021) نیز، همبستگی مثبتی بین DPPH، و فنول کل در درختان میوه مشاهده شده است. از بین ۲۵ نوع مختلف آجیل که معمولاً مصرف می‌شوند، دانه‌های گردو، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارند. این تفاوت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را، می‌توان هم به همبستگی مثبت آن با میزان فنول کل، و هم به شرایط آب و هوایی، و تفاوت در ارتفاع از سطح دریا در رویشگاه‌های مورد مطالعه نسبت داد. عمل آنتی‌اکسیدان‌ها همیشه متفاوت است، و به‌طور گسترده با چندین فاکتور مثل مراحل بلوغ، شرایط آب و هوایی، اندام‌های مورد استفاده گیاه، شرایط برداشت، انبارداری، و نگهداری تغییر می‌کند (Kaur et al., 2011).

نتیجه‌گیری

صفات میزان فنول کل، فلاونوئید، و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گردوی برداشت‌شده از مناطق جغرافیایی مختلف، دارای تفاوت معنی‌دار بودند، و نتایج نشان دادند؛ محصول گردو در منطقه توپسرکان، از نظر میزان فنول کل، از بیشترین مقدار، و در شهرستان کنگاور، از کمترین مقدار برخوردار است. بیشترین میزان فلاونوئید نیز، در گردوی جمع‌آوری‌شده از شهرستان توپسرکان، و کمترین آن در گردوی جمع‌آوری‌شده از شهرستان مریوان ملاحظه شد. گردوهای تهیه شده از شهرستان توپسرکان، دارای بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بوده‌اند؛ درحالی‌که کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، در گردوهای جمع‌آوری‌شده از شهرستان کنگاور وجود داشت؛ بنابراین، به نظر می‌رسد از بین مناطق مطالعه‌شده، شهرستان توپسرکان، از لحاظ تأمین شرایط مورد نیاز برای رشد، و تجمع ترکیبات بیوشیمیایی که معمولاً در صنعت داروسازی هم مفید هستند، مناسب‌تر است. ضمناً پیشنهاد می‌شود؛ وضعیت خاک‌شناسی، به‌ویژه اسیدیته، هدایت الکتریکی، و ترکیبات آلی، و شیمیایی خاک در مناطق ذکرشده، بررسی، و تأثیرگذاری این فاکتورها، بر ترکیبات شیمیایی گردو مشخص شود، همچنین مقایسه بین خصوصیات کیفی، و ظاهری مغز گردو، مانند میزان اسیدهای چرب، و نیز رنگ آن در این مناطق صورت پذیرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌ها است.

مشارکت نویسندگان

نویسنده اول: تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، انجام آزمایش، و گردآوری داده‌ها، انجام محاسبات، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تحلیل و تفسیر اطلاعات و نتایج، تهیه پیش‌نویس مقاله
نویسنده دوم: اصلاح، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند؛ از همکاری آزمایشگاه پیشگامان پارت همدان، سپاسگزاری نمایند.

References

- Ahmadi Sabegh M, Eghbal H. Phytochemical study of mineral elements of medicinal plant (*Tragopogon collinus*) collected from the vegetation areas of northwestern Iran. The application of chemistry in environment. 2021; 12(47): 43-51. <https://sanad.iau.ir/fa/Article/942947?FullText=FullText> (In Persian).
- Akbari A, Izadi-Darbandi A, Bahmani K, Farhadpour M, Ebrahim M, Ramshini H, Esmaeili Z. Assessment of phenolic profile, and antioxidant activity in developed breeding populations of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2023; 48(8): 102639. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102639>
- Akbari L, Kakaei M. Grouping of medicinal Pecan plant ecotypes (*Peganum harmala* L.) based on biochemical traits in Hamadan and Kermanshah provinces. Crop Biotechnology. 2024; 13(4): 33-44. <https://doi.org/10.30473/cb.2024.70434.1952> (In Persian).
- Ali G, Zeb A. Bioactive composition and medicinal properties of Walnut kernels. Journal of Agriculture and Food Research. 2024; 18: 101442. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101442>
- Arvin P, Firouzeh R. Study of phenolic and flavonoid compounds and essential oil content of medicinal plant of *Proveskia abrotanoides* Karel in three natural habitats of Raz and Jargalan County. Plant Process and Function. 2023; 11(47): 69-82. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23222727.1401.11.47.20.9> (In Persian).
- Asadi-Shekaari M, Karimi A, Shabani M, Sheibani V, Esmaeilpour K. Maternal feeding with walnuts (*Juglans regia* L.) improves learning and memory in their adult pups. Avicenna journal of phytomedicine. 2013; 3(4): 341-346. https://ajp.mums.ac.ir/article_575.html
- Bouali I, Tsafouros A, Ntanos E, Albouchi A, Boukhchina S, Roussos PA. Influence of ripening process on pecan nut (*Carya illinoensis*) kernel quality: Phenolic profile, antioxidant activity, and carbohydrate composition. Horticulturae. 2023; 9(10): 1093. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9101093>
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology. 1995; 28(1): 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis. 2002; 10(3): 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chen S, Shen X, Cheng S, Li P, Du J, Chang Y, Meng H. Evaluation of garlic cultivars for polyphenolic content and antioxidant properties. PLoS One. 2013; 8(11): 1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079730>
- Cheraghali F, Mirmoghtadaie L, Shojaee-aliabadi S, Hosseini SM. A comprative study of antimicrobial and antioxidant properties of walnut green husk aqueous extract before and after microencapsulation. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology. 2011; 11(2): 113-124. <http://nsft.sbm.ac.ir/article-1-2097-en.html> (In Persian).
- Cosmulescu S, Baci A, Achim G, Botu M, Trandafir I. Mineral composition of fruits in different walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 2009; 37(2): 156-160. <http://dx.doi.org/10.15835/nbha3723169>
- Dastoo R, Bakhshi D, Aliakbar A. The assessment of total Phenol, Flavonoid, resveratrol content and antioxidant capacity of *Vitis vinifera* L., *Pistacia vera* L., *Samolus virga* L. and *Ilex spinigera* Loes. Eco-Phytochemical journal of Medicinal Plant. 2017; 5(2): 37-48. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23223235.1396.5.2.4.5> (In Persian).

- Erturk U, Sisman T, Yerlikaya C, Erturk O, Karadeniz T. Chemical composition and nutritive value of selected walnuts (*Juglans regia* L.) from Turkey. *Acta Horticulturae*. 2014; 1050: 231-234. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1050.30>
- Ghasemi G, Fattahi M, Alirezalou A. The study of phytochemical properties and antioxidant activity of different genotypes *Rheum ribes* L. collected from different regions of Iran. *Food Research Journal*. 2019; 28(4): 73-88. https://foodresearch.tabrizu.ac.ir/article_8414.html?lang=fa (In Persian).
- Ghasemi K, Ghasemi Y, Ehteshamnia A, Nabavi M, Nabavi F, Ebrahimzadeh A, Pourmand F. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. *Medicinal Plant*. 2011; 5: 1128-1133. <https://doi.org/10.5897/JMPR.9000791>
- Ghasemnezhad A, Sanei M, Ghorbani Kh, Masoumi M, Sadeghi Mahonak A. Evaluation of environmental parameters effect on the antioxidant capacity of medicinal plants. *Journal of Plant Production Research*. 2021; 27(4): 241-262. <https://doi.org/10.22069/jopp.2020.17646.2631> (In Persian).
- Gunduc N, El SN. Assessing antioxidant activities of phenolic compounds of common Turkish food and drinks on in vitro low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Food Science*. 2003; 68(8): 2591-2595. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb07066.x>
- Jafari S, Hassandokht MR, Taheri M, Kashi A. Determination of nutritive value and antioxidant capacity of various organs of two Iranian Valak species (*Allium akaka* S.G. Gmelin and *Allium elburzense* W.) in different habitats conditions and field. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 2019; 50(1): 105-118. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008482.1398.50.1.9.6> (In Persian).
- Jakopic J, Colaric M, Veberic R, Hudina M, Solar A, Stampar F. How much do cultivar and preparation time influence on phenolics content in walnut liqueur?. *Food Chemistry*. 2007; 104(1): 100-105.
- Jamali S, Rabiei V, Fattahi Moghadam J. Effect of coating and methyl salicylate on quality and chilling injury in blood oranges 'Moro' in during cold storage. *Journal of Horticultural Science*. 2015; 28(4): 554-564. <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.25292> (In Persian).
- Kamali GA, Mollaei P, Behyar MB. Development of Zanjan province dry land wheat atlas by using climatic data and GIS. *Water and Soil*. 2010; 24(5): 894-907. <https://doi.org/10.22067/jsw.v0i0.5281> (In Persian).
- Kamali M, Khosroyar S, Jalilvand M. Evaluation of phenolic, flavonoids, anthocyanin contents and antioxidant capacities of different extracts of aerial parts of *Dracocephalum kotschyi*. *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*. 2014; 6(3): 627-634. <http://dx.doi.org/10.29252/jnkums.6.3.627> (In Persian).
- Kaur R, Kapoor K, Kaur H. Plants as a source of anticancer agents. *Journal of Natural Product and Plant Resources*. 2011; 1(1): 119-124. <https://www.scholarsresearchlibrary.com/abstract/plants-as-a-source-of-anticancer-agents-1287.html>
- Kianipour A, Baghaeifar Z, Darvishnia H, Saeidian S. A comparative study of total phenolic, total flavonoid contents and antioxidant capacity of aerial parts extracts of *ferulago angulata* in different developmental stages. *Journal of Crop Breeding*. 2023; 15(47): 165-173. <http://dx.doi.org/10.61186/jcb.15.47.165> (In Persian).
- Latifi Y, Chaharlang M, Daneshniya M, Khaki Arani S, Barzanooni M, Boghori P. Antioxidant and antimicrobial properties of methanolic extract of green walnut skin. *Journal of food science and technology*. 2021; 17(108): 127-136. <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-32475-fa.html> (In Persian).
- Ma Y, Wang C, Liu C, Tan J, Ma H, Wang J. Physiochemical responses of the kernel quality, total phenols and antioxidant enzymes of walnut in different forms to the low-temperature storage. *Foods*. 2021; 10: 2027. <https://doi.org/10.3390/foods10092027>

- Malekjani N, Jafari SM. Valorization of olive processing by-products via drying technologies: A case study on the recovery of bioactive phenolic compounds from olive leaves, pomace, and wastewater. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022; 63(29): 9797-9815. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2068123>
- Mazaraie A, Fahmideh L. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity of three widely-used medicinal plant in natural habitats of Fars province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*. 2020; 8(1): 90-105. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23223235.1399.8.1.6.6> (In Persian).
- Mir Azadi Z, Pile Var B, Meshaktosadat MH, Karamian R. Site quality and essential oil composition of *Myrtus Communis* L. (case study: Cham moord site in Lorestan province). *Agricultural Biotechnology Journal*. 2011; 3(2): 71-80. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.22286705.1390.3.2.6.7> (In Persian).
- Mlcek J, Valsikova M, Druzvikova H, Ryant P, Jurikova T, Sochor J, Borkovcova M. The antioxidant capacity and macroelement content of several onion cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2015; 39(6): 999-1004. <https://doi.org/10.3906/tar-1501-71>
- Mohajerani M, Hosseinzadeh R, Moghimi R, Esmaeili B. Investigation the antioxidant activity and total phenol and flavonoid contents of wild grapevines (*Vitis vinifera* subsp. *Sylvestris*) fruit and leaf extracts. *Journal of Food Science and Technology*. 2024; 21(154): 37-48. <https://doi.org/10.22034/FSCT.21.154.37> (In Persian).
- Nabavi SF, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Mahmoudi M, Rad SK. Biological activities of *Juglans regia* flowers. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2011; 21(3): 465-470. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000092>
- Nejad-Alimoradi F, Rezanejad F. Evaluation of soil edaphic factors, morphology and comparison of phenolic compounds in vegetative and reproductive organs of *Periploca aphylla* Decne. *Plant Process and Function*. 2022; 11(51): 307-320. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23222727.1401.11.51.19.6> (In Persian).
- Ni ZJ, Zhang YG, Chen SX, Thakur K, Wang S, Zhang JG, Wei ZJ. Exploration of walnut components and their association with health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021; 62(19): 5113-5129. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1881439>
- Noshirvani N, Fasihi H, Moradipayam A. Study on the antioxidant effects of extract and powder of green walnut hulls on the oxidation of sunflower oil. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 2015; 10(3): 79-90. <https://nsft.sbm.ac.ir/article-1-1763-en.html> (In Persian).
- Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Ferreira IC, Bento A, Estevinho L. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology*. 2008; 46(6): 2103-2111. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.02.002>
- Persic M, Mikulic-Petkovsek M, Slatnar A, Solar A, Veberic R. Changes in phenolic profiles of red-colored pellicle walnut and hazelnut kernel during ripening. *Food Chemistry*. 2018; 252: 349-355. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.124>
- Pourhosseini S, Mirjalili M, Nejad Ebrahimi S, Sonboli A. Essential oil quantity and quality of different plant organs from *Perovskia abrotanoides* Karel in natural habitat of north Khorasan province. *Plant Productions*. 2018; 40(4): 53-62. <https://doi.org/10.22055/ppd.2018.13446> (In Persian).
- Qingyang L, Ruohui W, Shiman S, Danyu S, Runhong M, Yihua L. Comparison of different drying technologies for walnut (*Juglans regia* L.) pellicles: Changes from phenolic composition, antioxidant activity to potential application. *Food Chemistry*. 2023; 20: 101037. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.101037>

- Rafiei Dehkordi Z, Sedaghat N, Sabahi S. Evaluation the chemical composition, phenol, flavonoid and antioxidant activity of walnut skin extract (*Juglans regia* L.). Journal of food science and technology. 2023; 20(135): 103-112. <http://dx.doi.org/10.22034/FSCT.19.135.103>
- Regueiro J, Sanchez-Gonzalez C, Vallverdu-Queral A, Simal-Gandara J, LamuelaRaventos R, Izquierdo-Pulido M. Comprehensive identification of walnut polyphenols by liquid chromatography coupled to linear ion trap-Orbitrap mass spectrometry. Food Chemistry. 2014; 152: 340-348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.158>
- Ros E, Izquierdo-Pulido M, Sala-Vila A. Beneficial effects of walnut consumption on human health: role of micronutrients. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care. 2018; 21(6): 498-504. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000508>
- Sabatier S, Barthélémy D. Bud structure in relation to shoot morphology and position on the vegetative annual shoots of *Juglans regia* L. (Juglandaceae). Annals of Botany. 2011; 87(1): 117-123. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1312>
- Saboora A, Dadmehr Kh, Ranjbar M. Total phenolic and flavonoid contents and investigation on antioxidant properties of stem and leaf extracts in six Iranian species of wild *Dianthus* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 2013; 29(2): 281-295. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2013.2856> (In Persian).
- Salavati S, Kakaei M. Investigating the phytochemical properties of Mosir (*Allium stipitatum* Regel.) collected from various western regions of Iran. Taxonomy and Biosystematics. 2024; 16(58): 1-14. <https://doi.org/10.22108/tbj.2024.141646.1267> (In Persian).
- Schwindl S, Kraus B, Heilmann J. Phytochemical study of *Juglans regia* L. leaves. Phytochemistry. 2017; 144: 58-70. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.08.012>
- Sharafati-chaeshtori R, Sharafati-chaeshtori F, Rafieian-kopaei M, Ashrafi K. Ethanolic walnut kernel phenolic compounds and its antimicrobial effect. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2011; 19(4): 525-532. <http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-1640-fa.html> (In Persian).
- Siahpoosh A, Gol Fakhrabadi F, Jorkesh F. Deterimiation and comparison of antioxidant activity of aqueous and methanol extracts of date palm (*Phoenix dactylifera* L.var dayri). Research in Medicine. 2011; 35 (2):68-81. <http://pejouhesh.sbmu.ac.ir/article-1-885-fa.html> (In Persian).
- Sohrabi Muri V, Azadfar D, Hemmati K, Saeedi Z. Study of essential oil, phenol and flavonoid compounds of *Myrtus communis* L. in three forest habitats of Zagros. Plant Process and Function. 2022; 11(50): 327-340. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23222727.1401.11.50.20.5> (In Persian).
- Vahdati K, Massah Bavani A, Khosh-khui M, Fakor P, Sarikhani Khorami S. Land suitability classification for persian walnut cultivation in iran using geographic information system (GIS). Iranian Journal of Horticultural Science and Technology. 2018; 19(4): 403-418. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.16807154.1397.19.4.4.0> (In Persian).
- Vu DC, Vo PH, Coggeshall MV, Lin CH. Identification and characterization of phenolic compounds in black walnut kernels. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2018; 66(17): 4503-4511. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01181>
- Wang R, Tian X, Li Q, Liao L, Wu S, Tang F, Shen D, Liu Y. Walnut pellicle color affects its phenolic composition: Free, esterified and bound phenolic compounds in various colored-pellicle walnuts. Journal of Food Composition and Analysis. 2022; 109: 104470. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104470>
- Wu XL, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004; 52(12): 4026-4037. <https://doi.org/10.1021/jf049696w>

- Wu S, Shen D, Wang R, Li Q, Mo R, Zheng Y, Zhou Y, Liu Y. Phenolic profiles and antioxidant activities of free, esterified and bound phenolic compounds in walnut kernel. Food Chemistry. 2021; 350: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129217>
- Zhang Z, Liao L, Moore J, Wu T, Wang Z. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). Food Chemistry. 2009; 113(1): 160-165. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.061>