

Karayemişte siyanür içerikli amigdalin ve prunasin miktarlarının belirlenmesi*

Sevda DURSUN¹, Ali İSLAM²

¹Düzce Üniversitesi Çilimli Meslek Yüksekokulu, Çilimli, Düzce

²Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ordu

*Bu çalışma aynı adlı yüksek lisans tezinden alınmıştır.

Alınış tarihi: 10 Kasım 2020, Kabul tarihi: 8 Aralık 2020

Sorumlu yazar: Sevda DURSUN, e-posta: sevda0608@hotmail.com

Öz

Bu çalışmada karayemişlerde siyanür içerikli amigdalin ve prunasin içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma materyali olarak Ordu'da yetiştirilen karayemiş bitkisinin yaprak, meyve ve tohumları kullanılmıştır. Araştırmada her üç bitki organında amigdalin ve prunasin içerikleri incelenmiştir. Karayemiş yapraklarında vejetasyon dönemi içerisinde 7 dönemde, meyve eti ve tohumlarda ise iki dönemde amigdalin ve prunasin miktarı ölçülmüştür. Araştırma sonunda yaprak örneklerinde ortalama amigdalin miktarı 0.277 g/kg, prunasin miktarı 3.304 g/kg olarak ölçülmüş, ortalama HCN miktarı ise 0.315 g/kg olarak hesaplanmıştır. Meyve örneklerinde 0.700 g/kg amigdalin ve 0.110 g/kg prunasin; tohum örneklerinden ortalama 94.35 g/kg amigdalin ve 0.68 g/kg prunasin bulunduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, en fazla amigdalin miktarının karayemiş tohum örneklerinde bulunduğu saptanmış ve yüksek HCN değeri içerdiği hesaplanmıştır. Ayrıca sürgünlerde prunasin, tohumda ise amigdalin miktarının yüksek olduğu saptanmıştır. Amigdalin, kansızlık, astım, yüksek tansiyon, damar sertliği, şeker hastalığı, migren ve tümörlerin tedavisi amacıyla kullanılan ilaçların aktif bileşini olup, karayemiş tohumlarında yüksek miktarda gözlenen amigdalin glikozitinin bu amaçlarla alternatif bir kaynak olarak kullanılabilmesi, bu konularda yapılacak olan çalışmaların bilimsel ve endüstriyel olarak önemli gelişmelere yol açabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Laurocerasus officinalis* Roem., *Prunus*, amigdalin, HCN, prunasin

Determination of cyanogenic compounds (amygdaline and prunasin) in cherry laurel

Abstract

In this study, it was aimed to determine the content of cyanide-containing amygdalin and prunasin in cherry laurel. The leaves, fruits and seeds of the cherry laurel grown in Ordu were used as the study material. Amygdalin and prunasin contents were examined in all three organs. Amygdalin and prunasin levels were measured in 7 phase in the vegetation period and in two periods in fruit pulp and seeds. At the end of the study, the average amount of amygdalin in leaf samples was measured as 0.277 g / kg, prunasin amount was measured as 3.304 g / kg, and the average amount of HCN was calculated as 0.315 g / kg. It was determined that an average of 0.700 g / kg amygdalin and 0.110 g / kg prunasin in fruit samples, 94.35 g / kg amygdalin and 0.68 g / kg prunasin in the seed samples were found. As a result of the research, it was determined that the most amygdalin was found in the seed samples of the cherry laurel and it was calculated that it contained high HCN value. In addition, the amount of prunasin in the shoots was found to be high, while the amount of amygdalin in the seed was high. Amygdalin is the active ingredient of drugs used for the treatment of anemia, asthma, hypertension, vascular hypertension, diabetes, migraine and tumors, and it is thought that the high amount of amygdalin can be used as an alternative source for these purposes. And it is thought that studies on these subjects may lead to significant developments both scientifically and industrially.

Key words: *Laurocerasus officinalis* Roem., *Prunus*, amygdaline, hydrogen cyanide HCN, prunasin.

Giriş

Karadeniz Bölgesinin doğal meyvelerinden olan karayemiş bitkisinin tabii yayılma alanı Karadeniz'in doğu bölgeleri, Kafkaslar ile Kuzey ve Doğu Marmara'dır. Genel olarak ılıman iklim bölgelerinin meyvesidir. Karadeniz bölgesinin sahil kuşağında sofralık tüketime yönelik olarak yetiştiricilik yaygınlaşmıştır (İslam, 2002). Aynı zamanda bu bölgede yetiştirilme kültürünün yaygın oluşu sosyo-kültürel bir olgudur.

Karayemiş, *Rosaceae* familyası *Prunus* cinsi içerisinde *Laurocerasus officinalis* Roemer veya *Prunus laurocerasus* L. olarak bilinir. Her dem yeşil, 6 m' ye kadar uzayabilen nemli, ılıman iklimlerde yetişebilen bir bitkidir. Türkiye'nin kuzeyinde Karadeniz Bölgesi'nde yaygın yetiştirilen bu meyve türü, daha ziyade bireysel ağaç formundadır. Karayemiş diğer birçok meyve türünden farklı bir tat ve lezzete sahiptir. Bu özelliği dolayısı ile beğenilen genotipler üreticiler tarafından farklı alanlara taşınmaktadır. Özellikle sofralık tüketime yönelik olarak yenilebilir genotiplerin seçilmesi amacıyla pekçok çalışma yapılmıştır (İslam ve Odabaş, 1996; İslam, 2002; 2009). Doğal floradan karayemiş tiplerinin seçilmesi amacıyla 2007-2008 yılları arasında yürütülen bir çalışmada salkımdaki meyve sayıları 3.3-27.29 adet, meyve irilikleri 18.00-20.55 mm, meyve ağırlıkları 4.31-6.24 g, meyve et/çekirdek oranları 10.79-16.08, suda çözünür kuru madde miktarı %16.20-25.00 arasında olduğu belirtilmiştir (İslam ve Deligöz, 2012). Ayrıca benzer çalışma genişletilerek Doğu Karadeniz bölgesinden 32 genotip seçilmiş ve tanıtılmıştır (İslam ve ark, 2010).

İnsanoğlu gerek beslenme gerek tedavi amaçlı ve gerekse yardımcı araç gereçler olarak bitkilerle iç içe yaşamaktadır. Karayemiş meyvesinin birçok kullanım alanı bulunmaktadır. Ana kullanım sofralık, taze tüketimdir. İlaveten reçel, marmelat, meyve kurusu ve turşu olarak da değerlendirilir. Tokluk hissi verdiği için diyet yiyeceği olarak kullanılır. Pasta, kek ve özellikle hoşaf ve kompostolara tat ve aroma kazandırmak için ilave edilir. Kök yapısı ve herdem yeşil oluşu nedeniyle çay ve fındık bahçelerinin veya evlerin rüzgâr yönüne dikilerek rüzgârkırın olarak kullanılır. Güçlü gelişen uzun sürgünler Doğu Karadeniz Bölgesi'nde sepet yapımında kullanılır. Erken vejetasyon dönemine açan ve dik şamdan görünüşlü çiçekli bitkileri ve ayrıca herdem yeşil ve sık budamaya uygunluğu nedeni ile peyzaj amaçlı olarak da kullanılır (İslam,

2005). Meyve ve çekirdekleri halk arasında tıbbi olarak bilinmekte, mide ülseri, sindirim sistemi hastalıkları, bronşit, egzama, hemoroit gibi hastalıkların tedavilerinde etkili olduğu, sigaraya karşı isteksizlik oluşturduğu düşünülmektedir. Karayemişin taze ve genç yapraklarından elde edilen karayemiş suyu yatıştırıcı, öksürük kesici, bulantı kesici ve ağrı dindirici olarak kullanılır (Erdemoglu ve ark., 2001; Tanker ve ark., 2007). Kan şekerini düşürmek için de kullanılır. Karayemiş meyvesi kemik yapısını geliştirip, kasların düzenli çalışmasını sağlarken kan şekerini düşürmek için de kullanılır. Antioksidanların alzheimer, diyabet, doku ve cilt hastalıklarına karşı etkili olduğu ve karayemişte yüksek oranda bulunduğu ifade edilmektedir (Alaşalvar e ark., 2005; 2006; Eser ve ark., 2014).

Meyveler değişik oranda tanen, flavonol gibi maddeler ihtiva ettiği için burukluk, acılık tadı vermektedir. Burukluk genotiplere göre değişkendir. Tadın acı olması ise tüketimi doğrudan olumsuz etkileyen bir faktördür. Bu nedenle meyve etinde bulunan amigdalin miktarı sofralık tüketim açısından önem arz etmektedir. Acılık veren maddelerin kalıtsal olduğu da vurgulanmaktadır (Negri ve ark., 2008).

Bitkilerde yaygın bulunan siyanojenik glikozitlerin 2500'den fazla türde bulunmakta ve azot metabolizmasının ikincil metaboliti olarak üretilmektedir (Vetter, 2000). HCN oluşturma potansiyelleri dolayısı ile siyanojenik glikozitler bitkilerde parazit ve otoburlara karşı savunma sisteminin önemli bir kimyasal bileşimini oluşturmaktadır (Brimer ve ark., 1998; Zagrobelny ve ark., 2004). Siyanojenik glikozitlerin üretiminde başlangıç maddesi çeşitli aminoasitlerdir. Bunlardan prunasın, amigdalin ve sambunigrin fenilalaninden üretilmektedir. Aminoasitler nitrillere, nitriller hidrosillenerek α -hidroksinitrillere, α -hidroksinitriller de glikoz eklenecek siyanojenik glikozitlere dönüştürülmektedir (Çelik ve Yıldırım, 2017). Halk arasında tıbbi bitki olarak da bilinen veya sofralık meyve olarak kullanılan türlerin önemli bir kısmı doğal bitki toksinlerini de içermektedir. Amigdalin (D(-)-mandelonitril- β -D-gentiyoibiyozit), *Rosaceae* familyası *Prunus* cinsine ait türlerin birçoğunda yaygın bulunan siyanojenik di-glikozitlerden birisidir. Karayemiş türü de, meyvelere acılık vererek tad ve kalitenin düşmesine neden olan şeker türevi olan amigdalin glikozitini içermektedir. Meyvelerde kalitenin düşmesine sebep olan, meyve tadına acılık veren maddeler

karbonhidrat türevi olan glikozitlerdir ve başta badem olmak üzere kayısı meyvelerine, erik, şeftali ve kiraz tohumlarına acılık veren madde amigdalin glikozitidir (Gülyüz ve Aslantaş, 1997). Amigdalin glikozitinin hidrolizasyonu sonucu açığa çıkan hidrosiyanik asit bazı enzimlerin etkisiz hale gelmesine yol açarak zehirlenmelere neden olabileceği gibi, bazı ülkelerde kanser tedavisinde de kullanılmaktadır (Makarevic ve ark., 2014). Bazı araştırmacılar tarafından belirtildiği gibi kanser tedavisinde kullanılan ve ABD’de tabletler halinde satışına izin verilen amigdalin ya da diğer adıyla B17 vitamininin, kanserli hücrelerde rhodanese enziminin az miktarda bulunması sebebiyle kanserli hücreleri parçalayarak tümör oluşumunu engellediği, Newmark ve ark., (1981) amigdalin maddesinin Amerika’da 23 eyalette kanser tedavisinde oral kemoterapik amaçla kullanıldığını bildirmektedir.

Genç (2009) karayemiş çekirdeğinde fonksiyonel bileşik analizi ve antioksidan kapasitesinin araştırılması üzerine yapmış olduğu çalışmada amigdalin ve HCN miktarını belirlemiştir. HCN’nin insanlarda yüksek risk oluşturan en küçük dozunun 50–100 mg arasında olduğu ve siyanür bileşiklerinin ağız yolu ile alındığında toksik etki oluşturmaz dozun (Referans Doz) 70 kg’lık yetişkinde günde yaklaşık 5.6 mg olduğu ifade edilmektedir (Anonim, 2010). Yine Türk Gıda kodeksinde sert çekirdeklielerde kabul edilebilir en yüksek HCN miktarının 100 mg/kg olduğu bildirilmektedir (Anonim, 2020). Renklidağ ve Karaman (2003), siyanürün organizmada siyanat ve tiyosiyanata oksitlendiğini, düşük dozlarda, sülfür transferaz (rodenaz) enziminin etkisiyle tiyosiyanata (SCN) dönüşerek idrarla atıldığını, 30 ppm siyanürün, vücutta 8 saat içinde detoksifikasyona uğrayarak atıldığını aktarmaktadırlar.

Ayaz ve Yurttagül (2008), insan ve hayvanlar tarafından yenilen birçok bitkide siyanojenik glikozitler bulunduğunu, siyanojenik glikozitlerin hidroliz yoluyla bileşiminde bulunan siyanidi, HCN şeklinde açığa çıkarmaları nedeniyle toksik olduklarını bildirmişlerdir. Yenilebilen bazı bitki türlerinde (badem, limon, elma, kiraz, kayısı, erik) amigdalin, linamarin, dhurrin olarak adlandırılan siyanojenik glikozitler tanımlanmıştır.

Gossel ve Douglas (1984) siyanürün bir başka kaynağı doğada çeşitli meyvelerin (elma, şeftali, kayısı, kiraz, erik, vb.) tohumlarında bulunan, “Amigdalin” adlı bir glikozid olduğunu, amigdalinin

asit ortamda daha yavaş hidroliz olduğunu ifade etmektedirler. Amigdalin, kansızlık, astım, yüksek tansiyon, damar setliği, şeker hastalığı, migren ve tümörlerin tedavisi amacıyla kullanılan ilaçların aktif bileşimidir (Çelik ve Yıldırım, 2017). Rauws ve ark., (1982) karayemiş çekirdeklerindeki etken maddelerden olan amigdalinin (D-mandelonitril-β-Dglukozido-6-β-D-glukozit), anti-kanser aktivitesi olduğu ve “Laetrile” adı altında satılan siyanojenik bir glikozit olduğunu belirtmiştir. Fang ve ark. (1988), Frenher ve ark. (1990), Li ve ark. (1992), Poulton ve Li (1994), Gomez ve ark. (1998), Zhou ve ark. (2007), Elmastaş ve ark. (2013), Demirbolat ve Kartal (2019) farklı türlerde amigdalin ve prunasın seviyelerini ölçmüşler ve bu seviyelerin meyve olgunlaşmasına doğru azaldığını ifade etmektedirler.

Birçok meyve türünde yer alan siyanür içerikli bileşiklerin bilinmesi insan sağlığı açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmada sert çekirdekli meyve türlerinden biri olan karayemiş türünde yaprak, tohum ve meyve etinde siyanür içerikli amigdalin ve prunasının miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Araştırma materyalini Ordu ilinde yetiştirilen aynı genotipe ait karayemiş ağaçları oluşturmuştur. Yaprak örnekleri Nisan-Mayıs-Haziran-Ağustos-Eylül-Ekim- Kasım aylarında yeni sürgünlerin uç kısımlarından başlanarak ilk 4.-6. yaprak alınarak toplanmıştır. Meyve örnekleri Temmuz ayında olgunlaşmamış ve olgun meyveler iki dönemde alınarak çekirdeklerden ayrılmıştır (Şekil 1). Çekirdekler kırılarak tohumlar çıkarılmıştır. Tüm örnekler direk güneş ışığına maruz bırakılmadan, 25 °C yi geçmeyecek şekilde gölgede kurutulmuştur. Örnekler havanda dövülerek parçalanmıştır. Çalışma farklı dönemlerde 2 ağaç üzerinde 2 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.



Şekil 1. Karayemiş meyvesi, tohumu ve yaprağı

Yöntem

Siyanür içerikli amigdalin ve prunasının örneklerde bulunup bulunmadığı, varlığı tespit edilen siyanojenik glikozitlerin saflaştırılıp standart elde edilip edilebilmesi ve miktar tayininde kullanılacak

metodu belirlemek için aşağıda açıklanan bir dizi ön deneme çalışması yapılmıştır. Bu ön deneme çalışmaları Genç (2009)'a göre yapılmıştır.

Kolon Kromatografisi: Bitki örneğinde organik maddelerin ayrılması için kullanılmıştır. Hazırlanan kolona bitki örneği yerleştirilerek üzerine hegzan: etanol (1:3) eklenerek fraksiyonlar toplanmaya başladı. Devam eden süreçte kolona 50 ml hegzan, 900 ml etanol, 900 ml metanol eklenerek toplam 90 fraksiyon toplanmıştır.

İnce Tabaka Kromatografisi: Bu çalışmada örnek için uygun çözücünün saptanması ve kolon kromatografisi ile toplanan 90 fraksiyondan aynı olanları birleştirmek için kullanılmıştır.

Nükleer Manyetik Rezonans: Örneklerde amigdalin ve prunasinin varlığının saptanması, yapılarının aydınlatılması için kullanılmıştır. Siyanojenik glikozitlerin kantitatif analizi aşağıda açıklandığı gibi yapılmıştır (Genç, 2009).

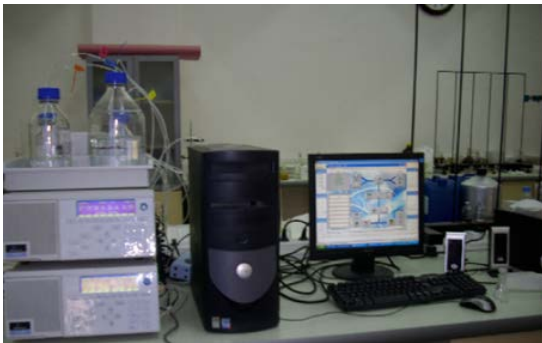
Analiz Yöntemi ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Siyanojenik Glikozitlerin (Prunasin ve Amigdalin) HPLC ile Kantitatif Tayini: Kantitatif analiz Perkin Elmer Serisi 200 pompa ve Serisi 200 UV detektör'e sahip HPLC sistemi ile yapılmıştır. Hareketli faz olarak asetonytril (Çözücü A) (Merck, HPLC grade) ve deiyonize su (Çözücü B) kullanılmıştır. Ayrım için Dionex C18 (4.6 x 150 mm, 0.5 µm partikül büyüklüğü) kolon kullanıldı. Çalışma 218 nm'de (Berenguer ve ark., 2002) yapılmıştır. Hareketli faz programı Çizelge 1'de verilmiştir.

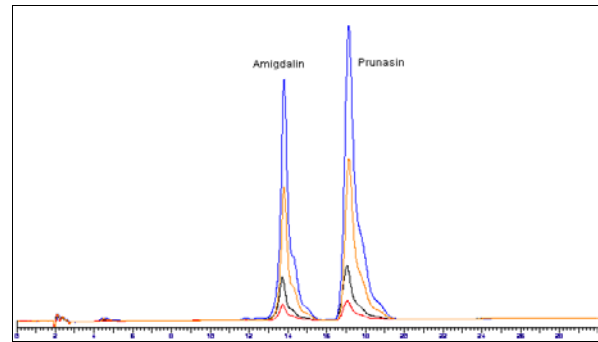
Çizelge 1. HPLC pompa programı

	Akış hızı (mL/dak)	Zaman (dakika)	Çözücü A (Deiyonize Su)	Çözücü B Asetonytril	Eğim
Adım1	1.00	3	97.0	3.0	0
Adım2	1.00	1	97.0	3.0	0
Adım3	1.00	5	94.0	6.0	1
Adım4	1.00	9	91.0	9.0	1
Adım5	1.00	15	85.0	15.0	1
Adım6	1.00	5	0.0	100.0	0

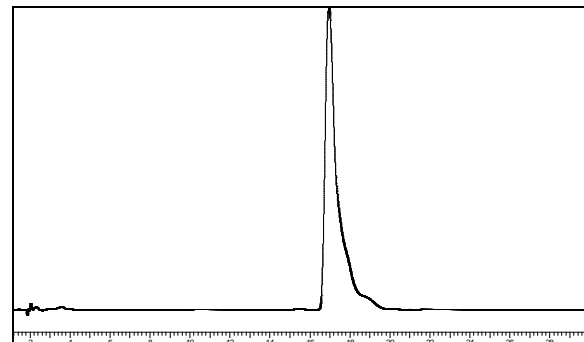
Standart olarak amigdalin ve karayemiş çekirdeklerinden saf olarak elde edilen prunasin kullanılmıştır. Her iki standardın da metanolde 15 mg/ml stok çözeltileri hazırlanmıştır. Kantitatif analiz için yukarıdaki analiz şartları kullanılarak amigdalin ve prunasinin 1000 ppm'lik stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden seyreltme ile (metanol ile) 25, 100, 250 ve 500 ppm'lik derişimlerden 20 µL hacimli enjektör ile cihaza verilmiştir. Elde edilen kromatogramlar Şekil 3, 4 ve 5'de verilmiştir.



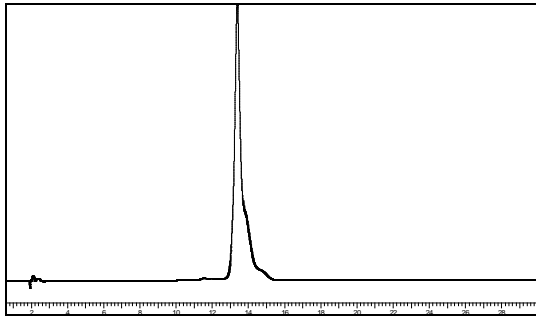
Şekil 2. HPLC (Perkin Elmer Serisi 200 pompa Serisi 200 UV-Vis detektör)



Şekil 3. Prunasin ve amigdalin HPLC kromatogramı



Şekil 4. Prunasin HPLC standardı



Şekil 5. Amigdalin HPLC standardı

Örnek numuneleri; 5 mg örnek 5 ml metanol-kloroform (1:1) çözücüsü içinde 24 saat oda sıcaklığında 8 devir/dakika hızla orbital çalkalayıcıda ekstrakte edilmiştir. Bitki posaları adi süzgeç kağıdı ile süzülmüştür. Süzüntü 0.22 naylon membrandan (Chrom tech.) geçirildikten sonra 20

µL alınarak direkt olarak analiz edilmiştir. Sonuçlar g siyanojenik glikozit/kg olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar kullanılarak HCN miktarı g/kg olarak hesaplanmıştır.

$$A = \frac{\text{Örnekten elde edilen prunasin miktarı (g/kg)}}{\text{Prunasin molekül ağırlığı (295 g/mol)}} \times \text{HCN molekül ağırlığı (27 g/mol)}$$

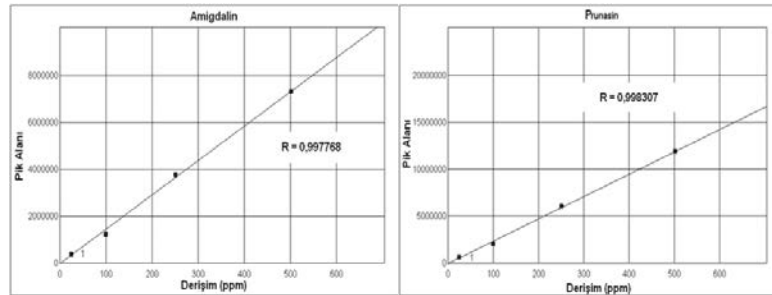
$$(A = \text{Prunasinden elde edilen HCN miktarı g/kg}) \quad (1)$$

$$B = \frac{\text{Örnekten elde edilen amigdalin miktarı (g/kg)}}{\text{Amigdalin molekül ağırlığı (457 g/mol)}} \times \text{HCN molekül ağırlığı (27 g/mol)}$$

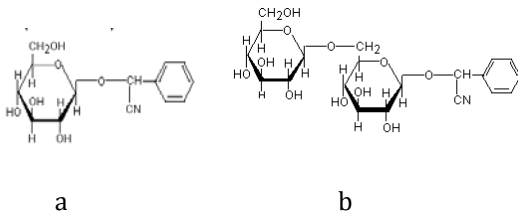
$$(B = \text{Amigdalinden elde edilen HCN miktarı g/kg}) \quad (2)$$

$$\text{Örnekten elde edilen toplam HCN miktarı} = A + B \quad (3)$$

Bu derişimlere HPLC'nin verdiği cevaplar Total Chrom v.1.2 yazılımı ile işlenerek kalibrasyon eğrileri hazırlanmıştır. Prunasin ve amigdalinin kalibrasyon eğrileri ve molekül yapısı Şekil 6 ve 7'de verilmiştir.



Şekil 6. Amigdalin (R = 0.997768) ve Prunasin (R = 0.998307) kalibrasyon eğrisi



Şekil 7. Prunasin (a) ve Amigdalin (b) molekül yapısı

Araştırmadan elde edilen sonuçlar ortalama değer olarak sunulmuştur. Bu sonuçlar JMP 7.0 programında varyans analizine tabi tutulmuş olup ortalamalar LSD testi ile karşılaştırılıp harflendirilmiştir. Ayrıca, amigdalin, prunasin ve HCN değerleri arasındaki korelasyonlar belirlenmiş ve regresyon eğrileri çizilmiştir.

Bulgular

Karayemiş yapraklarında vejetasyon dönemi içerisinde 7 dönemde (Nisan-Mayıs-Haziran-Ağustos-Eylül-Ekim-Kasım) elde edilen amigdalin miktarı sırası ile 0.175 g/kg, 0.233 g/kg, 0.975 g/kg, 0.109 g/kg, 0.101 g/kg, 0.166 g/kg ve 0.183 g/kg olarak, prunasin miktarı ise sırasıyla 5.140 g/kg, 3.673 g/kg, 2.706 g/kg, 3.785 g/kg, 0.826 g/kg, 1.235 g/kg, 5.765 g/kg olarak bulunmuştur. Ortalama amigdalin miktarı 0.277 g/kg, prunasin miktarı 3.304 g/kg olarak hesaplanmıştır. Aynı aylarda alınan örneklerden elde edilen HCN miktarı ise sırasıyla 0.480 g/kg, 0.345 g/kg, 0.304 g/kg, 0.352 g/kg, 0.080 g/kg, 0.115 g/kg, 0.530 g/kg, ortalama HCN miktarı ise 0.315 g/kg olarak hesaplanmıştır (Çizelge 2 ve Şekil 8).

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde yapraklardaki amigdalin, prunasin ve HCN miktarları arasında %1 düzeyinde önemli farklılıklar olduğu, yaprak örneklerinde prunasin miktarının amigdalin miktarından çok daha fazla, prunasin miktarına paralel olarak HCN miktarının en fazla Kasım ayında ve en az Eylül ayında olduğu belirlenmiştir.

Karayemiş yaprak örneklerinden elde edilen amigdalin ve prunasin miktarları incelendiğinde (Çizelge 2, Şekil 8), örnek alınan ilk 3 aylık süreçte amigdalin ve prunasin arasında ters bir ilişki gözlenmektedir (Şekil 9). Bu ters ilişki prunasinin yer değiştirme reaksiyonu geçirerek amigdaline dönüşmesi ile açıklanabilir. Devam eden süreçte ise yaprak örneklerindeki amigdalin ve prunasin miktarında bir artış gözlenmektedir. Bu durum ise ekolojik faktörlere bağlı olarak bitkinin fizyolojik durumundan kaynaklanabilir. Karayemiş yaprak örneklerindeki prunasin-HCN miktarları arasındaki ilişki incelendiğinde iki değer arasında doğru bir orantı olduğu gözlenmektedir. Prunasin miktarının artması HCN miktarının artmasını sağlamaktadır.

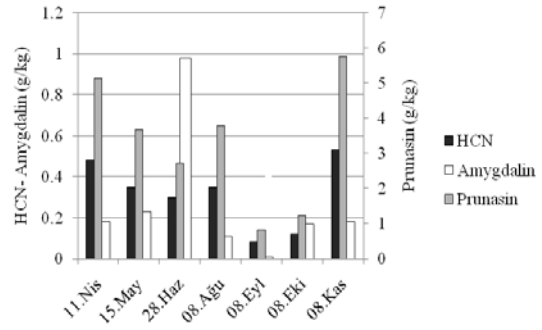
Çizelge 3 incelendiği zaman görüleceği gibi karayemiş tohum örneklerinin 12 Temmuz ve 27 Temmuz'da içerdiği amigdalin miktarı sırası ile 103.355 g/kg ve 85.267 g/kg olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2. Karayemiş yaprak örneklerindeki ortalama amigdalin, prunasin ve HCN miktarlarının zamana göre değişimi (g/kg)

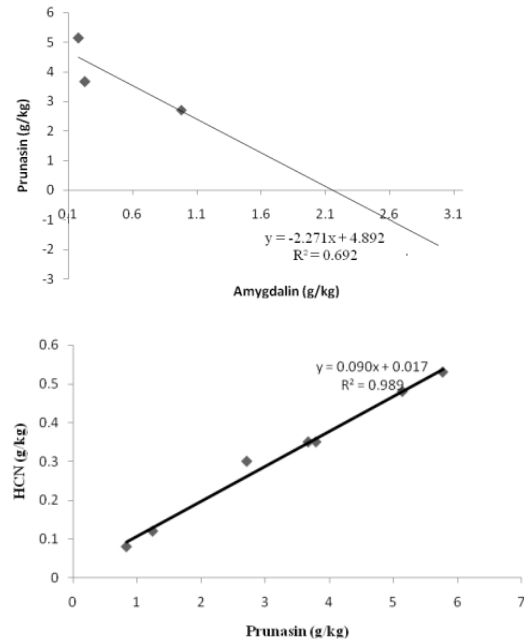
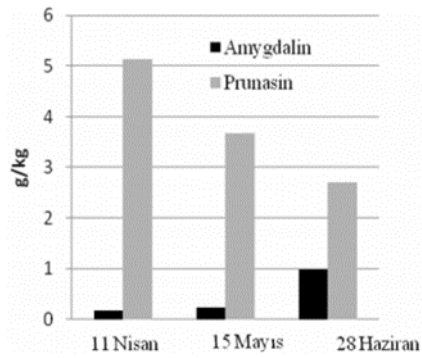
Zaman	Amigdalin (g/kg)	Prunasin (g/kg)	HCN (A+B) (g/kg)
11 Nisan	0.175e	5.140b	0.480b
15 Mayıs	0.233b	3.673c	0.345c
28 Haziran	0.975a	2.706e	0.304d
8 Ağustos	0.109g	3.785d	0.352d
8 Eylül	0.101c	0.826g	0.080f
8 Ekim	0.166f	1.235f	0.115e
8 Kasım	0.183d	5.765a	0.530a
Ortalama	0.277	3.304	0.315
	LSD _{%1} : 0.0005	LSD _{%1} : 0.0046	LSD _{%1} : 0.0032

Çizelge 3. Karayemiş tohum örneklerindeki ortalama amigdalin, prunasin ve HCN miktarlarının zamana göre değişimi (g/kg)

Zaman	Amigdalin (g/kg)	Prunasin (g/kg)	HCN (A+B) (g/kg)
12 Temmuz	103.355	0.905	6.180
27 Temmuz	85.267	0.443	5.096

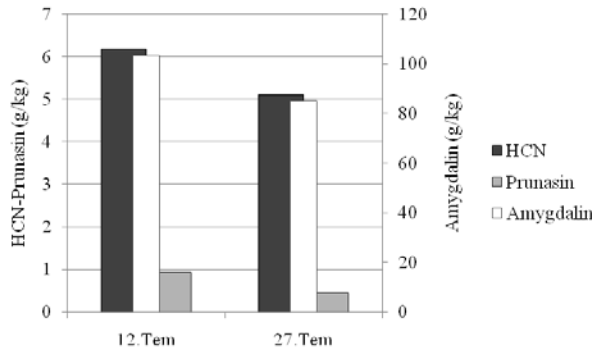


Şekil 8. Değişik dönemlerde alınan karayemiş yaprak örneklerinde amigdalin, prunasin, HCN miktarları (g/kg)



Şekil 9. Karayemiş yaprak örnekleri (ilk 3 dönem) amigdalin ve prunasin miktarları (g/kg) ve regresyon eğrileri

Yine aynı örneklerdeki prunasin miktarı sırası ile 0.905 g/kg ve 0.443 g/kg olarak belirlenmiştir. HCN miktarı ise sırası ile 6.180 g/kg ve 5.096 g/kg olarak hesaplanmıştır. Karayemiş tohum örneklerinde amigdalin miktarının prunasinden oldukça yüksek olduğu, tohumların HCN, prunasin ve amigdalin içeriğinin meyve olgunlaşmasına doğru azaldığı gözlenmektedir (Şekil 10)



Şekil 10. Değişik dönemlerde alınan karayemiş tohum örneklerinde amigdalin, prunasin, HCN miktarları (g/kg)

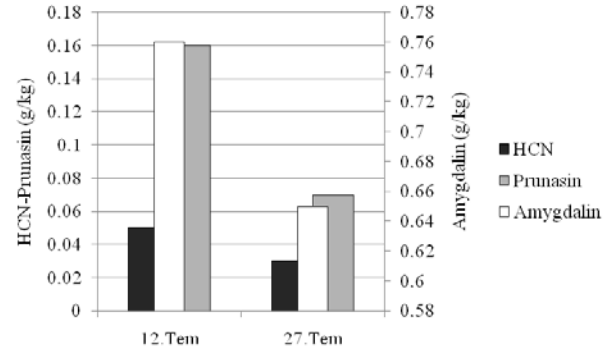
Çizelge 4'te 12 Temmuz ve 27 Temmuzda alınan karayemiş meyve eti örneklerindeki amigdalin miktarları 0.755 g/kg ve 0.645 g/kg olarak, prunasin miktarları 0.155 g/kg, 0.065 g/kg olarak belirlenmiştir. HCN miktarları sırası ile 0.054g/kg ve 0.034 g/kg olarak hesaplanmıştır. Şekil 11'de görüldüğü üzere karayemiş meyve eti örneklerindeki amigdalin miktarı HCN ve prunasinden daha fazla olduğu, HCN, prunasin ve amigdalin miktarlarının meyve olgunlaşmasına doğru azaldığı gözlenmektedir.

Tartışma

Çalışma sonuçlarımızın Genç (2009)'in meyve tohumunu kullanarak yapmış olduğu çalışmada elde ettiği 93.06 g/kg amigdalin ve 4.25 g/kg prunasin değerleriyle benzer sonuçlar teşkil ettiği gözlenmektedir. Zhou ve ark. (2007), yenidoğuşta çiçeğinde yapmış oldukları çalışma sonucunda amigdalin miktarını 1.23-1.56 mg/g saptamışlardır. Çalışmamızdaki meyve eti ve yaprağındaki amigdalin miktarının yenidoğuşta çiçeğinin içerdiği amigdalin miktarından daha düşük; karayemiş tohumları ile yenidoğuşta çiçeğinin içerdiği amigdalin miktarı karşılaştırıldığında ise karayemiş tohumlarının amigdalin içeriği daha yüksektir.

Çizelge 4. Karayemiş meyve örneklerindeki ortalama amigdalin, prunasin ve HCN miktarlarının zamana göre değişimi (g/kg)

Zaman	Amigdalin (g/kg)	Prunasin (g/kg)	HCN (A+B) (g/kg)
12 Temmuz	0.755	0.155	0.054
27 Temmuz	0.645	0.065	0.034



Şekil 11. Değişik dönemlerde alınan karayemiş meyve eti örneklerindeki amigdalin, prunasin, HCN, miktarları (g/kg)

Sefer (2000), tatlı ve acı kayısı çeşitlerinin yapraklarında yapmış olduğu çalışmada Mayıs ayında, tatlı ve acı kayısı çeşitlerinin yapraklarındaki siyanojenik glikozit miktarlarının (3.90 g/kg) Eylül ayındaki siyanojenik glikozit miktarından (0.93 g/kg) daha fazla olduğunu bildirmektedir. Aynı araştırmacı tatlı ve acı kayısı çeşitlerinin tohumlarında siyanojenik glikozit içeriğini incelenmiş sırasıyla 10.65-19.84 mg/g ve 0.21-0.37 mg/g değerlerini saptamıştır. Karayemiş tohumlarında tespit edilen toplam siyanojenik glikozit miktarı (85.71- 104.27 g/kg) kaysıda bulunan değerlerden daha yüksektir. Tür farklılığı göz önüne alındığında sonuçların değişken olabileceği ifade edilebilir.

Frehner ve Scalet (1990), yabani lima fasulyesi, keten yağı ve acı bademlerin meyvelerinde siyanid içeriğinin çiçeklerin açılmasından kısa bir süre sonra artmaya başladığını ve olgunluktan önce yavaşladığını aktarmışlardır. Li ve ark. (1992).

Prunus serotina'nın (kara kiraz) meyvelerinde döllemeden hemen sonra prunasin seviyesinin hızla arttığını, çiçeklenmeden yaklaşık 30 gün sonra ise bileşimdeki prunasin seviyesinin azaldığı ve amigdalin seviyesinin arttığını, tohumlarında bulunan amigdalin ve prunasinin hidrolizasyon ile HCN, benzaldehit ve glikoza indirgenmediğini bildirmişlerdir,

Fang ve ark. (1988), Japon kayısılarında amigdalin glikozitinin olduğunu, glikozit miktarının olgunluğa doğru hızlı bir şekilde amigdalin miktarının azaldığını tespit etmişlerdir. Poulton ve Li (1994), *Prunus* tohumlarında amigdalin glikozitinin baskın düzeyde olduğunu, prunasin glikozitinin ise daha az düzeyde mevcut olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmalara benzer sonuçlar elde edildiği ifade edilebilir.

Sonuç ve Öneriler

Karayemiş yaprak, tohum ve meyve örneklerinde prunasin, amigdalin ve HCN miktarının belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışma sonucunda olgun tohum örneklerinden 85.267 g/kg amigdalin ve 0.443 g/kg prunasin bulunduğu belirlenmiştir. Meyve etinde ise amigdalin 0.645 g/kg, prunasin 0.065 g/kg, HCN 0.034 g/kg'dır. Yaprak örneklerinde ortalama amigdalin 0.277g/kg, prunasin 3.304g/kg ve HCN 0.315 g/kg olarak saptanmıştır.

Bitki vejetatif organlarında (sürgün) prunasin miktarının baskın olduğu, tohumda ise amigdalin miktarının yüksek olduğu ifade edilebilir. HCN, prunasin ve amigdalin miktarlarının meyve olgunluğuna doğru azaldığı gözlenmektedir.

Karayemiş tohumlarında yüksek miktarda gözlenen amigdalin glikozitinin kansızlık, astım, yüksek tansiyon, damar setliği, şeker hastalığı, migren ve tümörlerin tedavisi amacıyla kullanılan ilaçlar için alternatif bir kaynak olarak kullanılabilmesi ifade edilebilir. Meyve etinde bu siyanojenik bileşiklerin düşük oranda bulunduğu saptanmıştır.

Bu konularda yapılacak olan çalışmaların bilimsel ve endüstriyel olarak önemli gelişmelere yol açabileceği düşünülmektedir. Bu bakımdan benzer çalışmaların daha detaylı ve farklı çeşitlerle yapılması ve devam ettirilmesi önem arz etmektedir.

Teşekkür

Çalışmaya katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ' a, teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Alaşalvar, C., Al-Farsı, M. & Shahhıdı, F. (2005). Compositional Characteristics and Antioxidant

Components of Cherry Laurel Varieties and Pekmez. *Journal of Food Science*, 47-52.

Alasalvar, C., Wanasundara, U., Zhong, Y., & Shahidi, F. (2006). Functional Lipid Characteristics of Cherry Laurel Seeds (*Laurocerasus Officinalis* Roem.), *Journal of Food Lipids*, 13: 223-234.

Anonim, (2019). <http://www.cancerhelp.org.uk> web sitesi (Erişim tarihi:07.12.2019).

Anonim, (2020). Türk Gıda Kodeksi. https://www.resmigazete.gov.tr/arsiv/23172_1.pdf (Erişim tarihi:07.09.2020).

Ayaz, A. & Yurttagül, M. (2008). Besinlerdeki Toksik Öğeler-1. *Hacettepe Üniversitesi -Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü. Ankara.*

Berenguer-Navarro, V., Giner-Galvaá M., & Graneá-Teruel, N. (2002). Chromatographic Determination of Cyanoglycosides Prunasin and Amygdalin in Plant Extracts Using a Porous Graphitic Carbon Column. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6960-6963.

Brimer, L., Cicaini, A.R., Federici, F., & Petruccioli, M., (1998). "Amygdalin Degradation by *Mucor Circinelloides* and *Penicillium Aurantiogriseum*: Mechanisms of Hydrolysis", *Archives of Microbiology*, 169, 106-112

Çelik, M., & Yıldırım, M. (2017). Amigdalin ve Özellikleri. *Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 28-37.

Demirbolat, İ. & Kartal, M. (2019). Prulaurasin Content of Leaves, Kernels and Pulps of *Prunus lauracerasus* L. (Cherry Laurel) During Ripening. *Journal of Research in Pharmacy*, 22(3):69-75

Elmastas, M., Genc, N., Demirtas, İ., Aksit, H. & Aboul-Enien, H. (2013). Isolation and Identification of Functional Components in Seed of Cherry Laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and Investigation of Their Antioxidant Capacity. *Journal of Biologically Active Products from Nature*. 3, 115-120.

Erdemoglu, N., Küpeli, E., & Yesilada, E. (2001). Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 89, 123-129.

- Eser M, Şentürkoğlu S, Tunçdemir M, Öztürk M, Balcı H, Karaca Ç, Uslu E, Atikeren P, Karabulut E, İslam A, (2014). The Antidiabetic Effects of The Fruits of 'Laurocerasus officinales Roemer' on Pancreatic Islands of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, 18th International Microscopy Congress, Prag, September 7-12, Bildiriler Kitabı:3398-3398 <http://www.microscopy.cz/proceedings/all.html#toc>
- Fang, T.T., Wang, D.Y., & Liaw, Y.M. (1988). Studies on Prerparation of Japonese Apricot Fruit Juice I. Effect of Different Ripening Stage on Juice Quality. *Gouli Taiwan Daxue Nongxue Yuan yanjiv Baogao*, 28(1), 26-36.
- Frenher, M., Scalet, E., & Conn, E. (1990). Pattern of the Cyanide-Potential in Developing Fruits. Implications for plants Accumulating Cyanogenic Monoglucosides (Phaseolus lunatus) or Cyanogenic Diglycosides in Their Seeds (*Linum usitatissimum*, *Prunus amygdalus*). *Plant Physiology*, 94(1), 28-34.
- Genç, N. (2009). Taflan Çekirdeğinde (*Laurocerasus officinalis* Roem.) Fonksiyonel Bileşik Analizi ve Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması. *Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi) Tokat*.
- Güleryüz, M. & Aslantaş, R. (1997). Amygdalin Glikozitinin Önemi, Kalıtımı, Biyosentezi ve Hidrolizasyonu. *Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(4), 656-661.
- Gomez, E., Burgos, L., Soriano, C., & Marin, J. (1998). Amygdalin content in the seeds of several apricot cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 184-186.
- Gossel, A.T. & Douglas, J.B. (1984). Principles of Clinical Toksikoloji. *Cyanide*, 90-94.
- İslam, A. & Odabaş, F. (1996). Vakfıkebir ve Çevresinde Yetiştirilmekte olan Karayemişlerin (*Prunus laurocerasus* L.) Seleksiyon Yoluyla İslahı-1. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 6(4), 147-158.
- İslam, A. (2002). Kiraz cherry laurel (*Prunus laurocerasus*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 30(4), 301-302.
- İslam, A. & Vardal, E. (2009). Pomological Characteristics of Cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) Grown in Rize. *I International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits Acta Horticulturae* 818.
- İslam, A., Çelik, H., Aygün, A., & Kalkışım, Ö. (2010). Selection of Native Cherry laurels (*Prunus laurocerasus* L.) in the Blacksea Region. International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems (03-07 February) Famagusta. Abstract book.
- İslam, A. & Deligöz, H. (2012). Ordu ilinde karayemiş (*Laurocerasus officinalis* L.) seleksiyonu. *Akademik Ziraat Dergisi*, 1(1), 37-44.
- Li, C.P., Swain, E., & Poulton, J.E. (1992). *Prunus serotina* Amygdalin Hydrolase and Prunasın Hydrolase. *Plant Physiology*, 100(1), 282-290.
- Makarevic, J., Rutz, J., Juengel, E., Kaufuss, S., Reiter, M., Tsaur, I., Bartsch, G., Haferkamp, A., & Blaheta. R.A. (2014). Amygdalin blocks bladder cancer cell growth in vitro by diminishing cyclin A and cdk2. *PLOS One*.9(8), 1-9.
- Negri, P., Bassi, D., Magnanini, E., Rizzo, M., & Bartolozzi, F. (2008). Bitterness inheritance in apricot (*P. armeniaca* L.) seeds. *TreeGenetic Genomes* 4, 767-776.
- Newmark, J., Brady, R.O., Grimley, P.M., Gal, A.E., Waller, S.G., & Thistlethwaite, J.R. (1981). Amygdalin (Laetrile) and prunasın β - glucosidases: Distribution in germ-free rat and in human tumor tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78, 6513-6516.
- Poulton, J.E. & Li, C.P. (1994). Tissue Level Compartmentment of (R)- Amygdalin and Amygdalin Hydrolase Prevents Large- Scale Cyanogenesis in Undamaged Prunus Seeds. *Plant Physiology*, 104(1), 29-35.
- Rauws, A.G., Olling, M. & Timmerman, A. (1982). The pharmacokinetics of amygdalin. *Arch. Toxicol*, 3-4, 311-319.
- Renklidağ, T. & Karaman, A.G. (2003). *Siyanür Zehirlenmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp AD*, Ankara.
- Sefer, F. (2000). Acı ve Tatlı Kayıslarda Bazı Sekonder Metabolitlerin Düzeylerinin Araştırılması. *Ege Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (Doktoro Tezi) İzmir*.
- Tanker, N., Koyuncu, M., & Coşkun, M. (2007). Farmasötik Botanik. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, 93, 288. Ankara.
- Vetter, J. (2000). "Plant Cyanogenic Glycosides", *Toxicon*, 38, 11-36.
- Zagrobelyny, M., Bak, S., Rasmusen, A.N., Jorgensen, B., Naumann, C.M., & Moller, B.L. (2004). "Cyanogenic Glycosides and Plant-Insect Interactions", *Phytochemistry*, 65, 293-306

Zhou, C., Chen, K., Sun, C., Chan, Q., Zhang, W., & Li, X. (2007). Determination of oleaolic acid, ursolic acid and amygdalin in the flower of *Eriobotrya japonica*

Lind. *By HPLC. Biomedical Chromatography*, 21, 755-761.