

## ***Amygdalus communis* (Badem) Meyvesinden Elde Edilen Özütlelerin Bazı *in vitro* Biyolojik Aktivitelerinin, Kimyasal ve Pestisit Kompozisyonlarının Araştırılması**

Cumali KESKİN<sup>1\*</sup>, İbrahim Oğuz ARAS<sup>2</sup>, Ayşe BARAN<sup>2</sup>, Mehmet Fırat BARAN<sup>3</sup>

Songül ÇETİK YILDIZ<sup>1</sup>, Rozerin TARHAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Mardin

<sup>2</sup> Mardin Artuklu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Mardin

<sup>3</sup> Batman Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Batman

\*Sorumlu Yazar (Corresponding author): cumalikeskin@artuklu.edu.tr

### **Özet**

*Amygdalus communis* (*A. communis*) yüksek düzeyde protein ve doymamış yağ asitlerinden oluşur ve bu da onları doğal kaynakların sınırlı olması gereken diyet beslenmesinde faydalı kılar. Bu çalışmada badem meyvesinden elde edilen kloroform ve metanol özütlelerinin antioksidan, antikolinesteraz, antimikrobiyal özellikleri, kimyasal bileşen miktarı ile ağır metal kompozisyonu ve pestisit kalıntı miktarları araştırıldı. *A. communis* meyvesinde en yüksek toplam fenolik bileşen ve flavonoid içeriğinin kloroform özütleğinde olduğu ayrıca kloroform özütleünün DPPH radikal söndürme aktivitesinin daha yüksek olduğu belirlendi. *A. communis* meyve kloroform ve metanol özütlelerinin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakteri suşları ve *Candida albicans* mayasının üremesi üzerinde standart antibiyotikler ile kıyaslandığında düşük konsantrasyonlarda oldukça güçlü inhibisyona sebep olduğu belirlendi. *A. communis* meyve metanol ve kloroform özütlelerinin kimyasal bileşen içerikleri LCMS/MS kullanılarak belirlendi. Metanol (Me-OH) özütleğinde ana bileşenlerin sırasıyla sitrik asit, şikorik asit ve 4-Hidroksibenzoik asit kloroform özütleğinde ise 4-Hidroksibenzoik asit, p-kumarik asit ve klorojenik asit olduğu belirlendi. *A. communis* meyve numunesi için pestisit kalıntı analizi GC-MS ve LCMS-MS kullanılarak yapıldı. Test edilen numune içeriğinde Deltametrin kalıntısının varlığı belirlendi. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde *A. communis* meyvesinin zengin biyokimyasal içeriği ve güçlü antibakteriyel, antioksidan ve antikolinesteraz enzim inhibisyon kapasitesi ile biyomedikal ve gıda endüstrilerinde potansiyel uygulamalara sahip olması beklenmelidir.

### **Araştırma Makalesi**

### **Makale Tarihiçesi**

Geliş Tarihi :23.04.2024

Kabul Tarihi :28.05.2024

### **Anahtar Kelimeler**

*Amygdalus communis*  
antimikrobiyal aktivite  
enzim inhibisyon aktivitesi  
kimyasal kompozisyon  
pestisit kalıntı

## **Investigation of Some *in vitro* Biological Activities, Chemical and Pesticide Compositions of Extracts Obtained from *Amygdalus communis* (Almond) Fruit**

### **Abstract**

*Amygdalus communis* (*A. communis*) consists of high levels of protein and unsaturated fatty acids, making them useful in dietary nutrition where natural resources must be limited. In this study, the antioxidant, anticholinesterase, antimicrobial properties, amount of chemical components, heavy metal composition, and pesticide residue amounts of chloroform and methanol extracts obtained from almond fruit were investigated. It was determined that the highest total phenolic component and flavonoid content in *A. communis* fruit was in the chloroform extract, and the DPPH radical quenching activity of the chloroform extract was higher. It was determined that *A. communis* fruit chloroform and methanol extracts caused powerful inhibition on the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacterial strains and *Candida albicans* yeast at low concentrations compared to standard antibiotics. Chemical component contents of *A. communis* fruit methanol and chloroform extracts were determined using LCMS/MS. It was determined that the major components in the methanol (Me-OH) extract were citric acid, chicoric acid, and 4-Hydroxybenzoic acid, respectively, and in the chloroform extract, 4-Hydroxybenzoic acid, p-coumaric acid, and chlorogenic acid. The inhibition effect of chloroform and methanol extracts obtained from *A. communis* fruit on the acetylcholinesterase enzyme was tested. Pesticide residue analysis was performed for the *A. communis* fruit sample using GC-MS and LCMS-MS. The presence of Deltamethrin residue was determined in the tested sample content. When the obtained data were evaluated, it should be expected that *A. communis* fruit, with its rich biochemical content and strong antibacterial, antioxidant, and anticholinesterase enzyme inhibition capacity, will have potential applications in the biomedical and food industries.

### **Research Article**

### **Article History**

Received :23.04.2024

Accepted :28.05.2024

### **Keywords**

*Amygdalus communis*  
antimicrobial activity  
enzyme inhibition activity  
chemical composition  
pesticide residue

## 1.Giriş

Bitkiler, tozlayıcıları çekmek veya avcılara karşı bariyer görevi görmek, olumsuz stres koşullarına karşı kendini korumak gibi çeşitli amaçlara hizmet eden ikincil metabolitler (SM'ler) üretirler. Bu Metabolitlerin üretimi için çeşitli minerallerde ihtiyaç duyarlar (Yaşar ve ark., 2024 a, b). SM'ler organizmanın büyümesi, gelişmesi ve üremesi gibi temel işlevlerde doğrudan yer almasa da, uzun süreli hayatta kalma için gereklidirler. SM'ler çok çeşitli biyolojik işlevlere sahip olduklarından, insan sağlığı ve refahının korunması için de çok önemlidirler. Ayrıca kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı SM'ler pigment, kozmetik, beslenme önleyici olarak ve diğer birçok endüstride kullanılmaktadır. Bitkiler tarafından oluşturulan SM'lerin en büyük ve en karmaşık ailelerinden biri, aromatik bileşikler için öncüller üreten şikimat biyosentetik yolunun bir yan ürünü olan polifenollerdir. Basit fenoller, fenolik asitler, flavonoidler ve tanenler, biyosentetik yola, aromatik halkaların miktarına, karbon atomlarına ve hidroksil gruplarına göre sınıflandırıldıkları alt sınıflardan bazılarıdır (Bravo, 1998; Chiochio ve ark., 2021).

Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grubuna sahip en az bir aromatik halkaya sahiptir ve flavonoidler ve flavonoid olmayanlar olarak sınıflandırılabilir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler, biyoaktif nitelikleri nedeniyle değerlidir ve önemli doğal kimyasallar olarak kabul edilir. Fenoller metal şelatör olmalarının yanı sıra serbest radikalleri de ortadan kaldırır. Antioksidanlar olarak çeşitli fizyolojik etkilere sahiptirler ve lipid peroksidasyonunu önleyebilirler. Bitkinin savunma mekanizmaları, adaptasyonu ve pigmentasyon süreçleri bu kimyasallar sayesinde kolaylaştırılmaktadır. İnsan sağlığıyla ilgili diğer konuların yanı sıra kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar da dahil olmak üzere birçok kronik hastalığın önlenmesine ve tedavi edilmesine yardımcı olabilirler. Ayrıca bitkilerde ve bunların ekstraktlarında bulunan fenolik bileşikler, çeşitli gıda kaynaklı patojenik ve bozulmaya

neden olan bakterilerin engellenmesinde çok etkili olabilir. Gıdaya bağlanan çeşitli mikroorganizmalar biyofilm oluşturabildiklerinden gıda sektörünü ciddi şekilde kirletebilmektedir (Takó ve ark., 2020).

Bitkiler tarafından üretilen biyoaktif bileşiklerin antimikrobiyal, antioksidan, antikolinerjik aktiviteleri son yıllarda birçok araştırmaya konu olmuştur (Ndhlala ve ark., 2024; Kavaz ve ark., 2022; Kızıldağ ve ark., 2021; Yüksel ve ark., 2021). Biyoaktif gıda bileşenlerinin çoğu bitkilerden elde edilir ve bu şekilde üretilenlere topluca fitokimyasallar denir. Bu fitokimyasalların büyük çoğunluğu redoks aktif moleküllerdir ve bu nedenle antioksidanlar olarak tanımlanırlar. Antioksidanlar pek çok kronik hastalığın sebebi olarak gösterilen serbest radikalleri ve diğer reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin olumsuz etkilerini ortadan kaldırabilir. Meyve ve sebzeler, zararlı serbest radikalleri temizleyen, besin içeriğini iyileştiren, gıda bozulmasını önleyen ve oksidasyona karşı koruma sağlayan doğal olarak oluşan antioksidanlar içerir. Ayrıca, antioksidanların tüketilmesi, çoğu dejeneratif hastalığın önlenmesi ve hücre içi oksidasyonu önleyerek sağlığın teşviği ile bağlantılıdır. Hücreleri ve yapılarını oksidatif strese ve hasara karşı koruyan düşük molekülü antioksidanlar, meyvelerin, sebzelerin, şifalı otların ve baharatların sağlığı geliştiren niteliklere sahip olmasının bir başka nedenidir (Advas ve ark., 2019; Ali ve ark., 2020; Sarv ve ark., 2020; Poljsak ve ark., 2021).

Yiyecek ve içeceklerdeki polifenol içeriği, her biri kendi avantaj ve dezavantajlarını sunan çeşitli yöntemlerle belirlenebilir. Antioksidan maddeler doğal veya sentetik olabilir. Doğal antioksidanlar tamamen doğal kaynaklardan elde edilir ve bir süredir gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kullanılmaktadır. Öte yandan, sentetik antioksidanlar kimyasal işlemlerden oluşturulan maddelerdir (Augustyniak ve ark., 2010; Dini, 2022). Bu sebeplerle araştırmacıların doğal antioksidanları içeren bitkisel kaynaklara olan ilgisi giderek artmıştır. Nörodejeneratif hastalıklar özellikle

oksidatif stresle ilişkilidir. Önemli bir nörotransmitter olan asetilkolinin konsantrasyonu ve aktivitesindeki değişiklikler de bu hastalıkların karakteristik özelliğidir. Spesifik bir tedavi, bu nörotransmitterin parçalanmasında anahtar enzimler olan asetilkolinesteraz (AChE) ve bütilkolinesteraz (BChE) aktivitesinin engellenmesi yoluyla asetilkolin konsantrasyonunun artırılmasına dayanmaktadır. Bitkilerden elde edilen fenolik bileşiklerin aynı anda antioksidan ve antikolinesteraz özellikleri gösterdiği ve nöronları oksidatif stresten koruduğu ileri sürülmüştür. Bu nedenle bu nörolojik bozuklukların önlenmesi ve tedavisinde büyük ilgi görüyorlar (Jara-Palacios ve ark., 2020; De Morais ve ark., 2021).

En çok çalışılan bitkilerden biri *Amygdalus communis* L. (Badem) ağacıdır. 40'ı aşkın türüyle badem (*Amygdalus* L.), güneybatı ve orta Asya ile güneydoğu Avrupa'nın İran-Turan bölgesinde dağıtılan, ekonomik açıdan en önemli Rosaceae meyve bitkileri arasındadır. *Amygdalus*, Asya ülkelerinde floristik tedavilerde ayrı bir cins olarak kabul edilirken, diğer tedavilerde *Prunus* L.'nin bir alt cinsi veya bölümüdür (Vafadar ve ark., 2014). Bu özellikleri bakımından insan sağlığı birçok yararı olan bademin, bulundurduğu yağ, vitaminler ve zengin mineraller sebebiyle üretimi ve tüketimi gün geçtikçe yükselmektedir (Beyhan ve ark., 2011, Gülsoy ve Balta, 2014). Badem kalsiyum, potasyum, fosfor ve magnezyum gibi mineraller ve başta tokoferoller olmak üzere antioksidanlar açısından zengindir. Badem besin özelliklerinin yanı sıra glikoz seviyesi ve vücut ağırlığını düşürme, oksidatif stres ve iltihaplanma üzerinde etkili olmak rapor edilmiştir (Kamil ve Chen, 2012). Bütün badem tohumu, kahverengi deri, kabuk, yeşil kabuk örtüsü (kabuk) ve yaprakların özleri, flavonoidlerin ve diğer fenolik bileşiklerin varlığıyla ilişkili olarak güçlü radikal temizleme kapasitelerine sahiptir (Esfahlan ve ark., 2010).

Bu nedenle, çalışmada, *A. communis* kloroform ve metanol özütlerinde bulunan

fenolik ve flavonoid bileşiklerin miktarını, kimyasal kompozisyonunu belirlemeyi ve özütlerin biyolojik aktivitelerini antimikrobiyal, antioksidan ve enzimatik inhibisyon yoluyla değerlendirmeyi ve karşılaştırmayı ayrıca test edilen numune içeriğindeki ağır metal konsantrasyonu ve pestisit kalıntı analizleri de yapılarak besinsel değeri hakkında detaylı bilgi edinilmesi amaçlandı.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

*Amygdalus communis* (badem) meyve örnekleri Zınar vadisi (Mardin) olarak bilinen mevkiden 2022 Mart-Haziran dönemleri arasında toplandı. Mardin Artuklu Üniversitesi'nden Dr. Cumali Keskin, bitki örneğinin taksonomik kimliğini doğruladı. Bitki örnekleri aynı kurumun Herbaryumunda (Herbaryum No: MAU: 2022-20) saklandı. Örnekler özellikleri ve kullanılacak yöntemler dikkate alınarak yapılan kurutma işleminden sonra analizlere hazır hale getirildi.

#### 2.1.1. Kullanılan mikroorganizmalar ve reaktifler

*A. communis* kloroform ve metanol özütlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*; ATCC 25923) ve *Escherichia coli* (*E. coli*; ATCC 25922), standart bakteri suşları ve *Candida albicans* (*C. albicans*; ATCC 10231) mayası kullanıldı (LGC Standarts GmbH, Marcatorstr 51, 46485 Wesel, Germany). DMSO (dimethyl sulfoxide), gallik asit (3,4,5-trihidroksi benzoik asit), DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl), BHT (bütillenmiş hidroksi toluen), BHA (bütillenmiş hidroksi anisol), kuersetin dihidrat, alüminyum nitrat [Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], potasyum asetat (CH<sub>3</sub>COOK), etanol, metanol ve kloroform ticari olarak (Merck; % 99 saflıkta) temin edildi. 96 kuyucuklu hücre doku kültürü U plakaları, (Sigma-Aldrich), 0.5 Polymer McFarland Standard (Thermo Scientific), vankomisin (VancomisinHclDbl 500 Mg), flukonazol (Candimax 100 Mg), kolistin (Colitim 150 Mg) standart antibiyotikleri (Thermo Scientific) ticari olarak temin edildi. *E. coli* ve

*S. aureus* üremesi için Nutrient Broth (BD234000) ve Nutrient Agar (BD213000) besiyerleri (Difco laboratories Detroit Mich.) kullanıldı. Sabouraud % 2 Dextrose Broth (SDB) ve Sabouraud % 4 Dextrose Agar (SDA) besiyerleri (Oxoid) *C. albicans* mayası üremesi için kullanıldı.

## 2.2.Yöntem

### 2.2.1.Bitki özütlerinin elde edilmesi ve stok çözeltilerin hazırlanması

Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş bitki numunesinden 30 g tartıldı ve özütleme için soxlet kartuşuna yerleştirildi. Polariteye bağlı fraksiyonlamayı gerçekleştirmek için ilk olarak solvent haznesine 300 mL kloroform ilave edildi. Bitki örneği 4 saat boyunca özütleme için Soxlet cihazında işlendi. Elde edilen özüt süzülükten sonra aynı işlemler aynı miktarda metanol kullanılarak tekrarlandı. Böylece iki farklı fraksiyone edilmiş bitki özütü elde edildi. Döner bir buharlaştırıcı (Heidolph 4000 Rotavapor), elde edilen bitki özütlerinin çözücülerinden ayırmak için kullanıldı. Düşük sıcaklıkta tutulan ve vakumlanan özütler çözücülerinden uzaklaştırılarak ham özütler elde edildi. Çalışma için DPPH radikal söndürme aktivitesi ve toplam fenolik madde ölçümleri için 1 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonda stok çözeltiler, toplam flavonoid bileşen miktarı tespiti için ise 5 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonda stok çözeltiler hazırlandı.

### 2.2.2.Toplam fenolik bileşen miktar tayini

Özütlerin içeriğindeki toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine göre tayin edildi. Test için gallik asit ve özüt çözeltilerinden 40 µL alınıp, üzerine 1160 µL saf su ve 200 µL folin & ciocalteus fenol reaktifi (2.0 N) ilave edildi daha sonra karışıma 600 µL % 20'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilerek 2 saat reaksiyon oluşu için çalkalama işlemine tabi tutuldu. UV spektrofotometre kullanılarak 765 nm'de absorbans değerleri okundu (Keskin ve ark., 2018).

### 2.2.3.Toplam flavonoid bileşen miktar tayini

Badem meyve özütlerinin toplam flavonoid bileşen içeriği modifiye moreno yöntemini kullanarak belirlendi (Moreno-Montoro ve ark., 2015). Standart flavonoid bileşiği olarak quercetin kullanıldı. Etanol içerisinde 5 mg mL<sup>-1</sup> fraksiyone badem meyvesi kloroform ve metanol ekstraktlarının çözeltileri hazırlandı. Reaksiyon ortamına 0.1 mL % 10 Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 1 M CH<sub>3</sub>COOK ve 3.8 mL etanol eklendi. Son olarak 1 mL quercetin/bitki solüsyonunu ekleyip 25 °C su banyosunda 40 dakika inkübe edildi. Renk değişiminden sonra absorbans değerleri 415 nm'de ölçüldü.

### 2.2.4.Bitki özütlerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi

#### 2.2.4.1.DPPH radikalini söndürme aktivitesi

Bu test için tüplere bir mililitre DPPH çözeltisi (0,1 mM) ve çeşitli konsantrasyonlarda (5-500 µg mL<sup>-1</sup>) üretilen üç mililitre bitki özütü eklendi. Oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra karışımın çeşitli konsantrasyonlardaki absorbans değerleri 517 nm'de ölçüldü. % inhibisyon değeri, artan özüt konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirildi ve mg mL<sup>-1</sup> cinsinden hesaplandı (Zhang ve ark., 2023). Serbest radikal söndürme aktivitesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı; DPPH Söndürme Aktivitesi (%) = [(A<sub>0</sub> - A<sub>1</sub> / A<sub>0</sub>) x 100] A<sub>0</sub> = Negatif kontrol numunesinin (DPPH) absorbansı, A<sub>1</sub> = Örnek çözeltisinin absorbansı.

### 2.2.5.Antimikrobiyal aktivite testi

Mevcut çalışma için *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram-pozitif) ve *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram-negatif) ve *Candida albicans* mayası kullanıldı. Bakteri kültürleri Muller Hinton sıvı besiyeri (MHA) üzerinde maya ise RPMI sıvı besiyeri üzerinde üremeye bırakıldı.

İlk inkübasyonun ardından organizmalar, 10 mL fizyolojik tuzlu su çözeltisi içinde süspanse edildi ve optik yoğunluk okumaları, bir 0.5 McFarland standardı ile karşılaştırıldı. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) tayini için  $5 \times 10^5$  koloni oluşturan birim (CFU) mL'lik bakteri solüsyonları kullanıldı. Bitki özlerinin antimikrobiyal aktivitesi, steril 2 mL 96 oyuklu plakalar kullanılarak belirlendi.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) mikrodilüsyon tekniği özütlerin patojen mikroorganizmalara karşı inhibisyon özelliklerini test etmek için uygulandı (Keskin ve ark., 2022). Bakteri için büyüme ortamı olarak Muller-Hinton, maya için ise RPMI sıvı ortamını kullandı. Her mikroorganizma için 96'lık mikro plaka kuyucuklarına özel olarak hazırlanmış besiyerinden  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  ilave edildi. Her bir özütten ve ticari olarak temin edilen antibiyotik çözeltilerinden ilk kuyucuklara  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  ilave edildi. İlk kuyucuktan başlamak üzere sonraki kuyucuğa  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  test edilen tüm çözeltilerden aktararak seyrelme işlemi yapıldı. Bu işlem toplam on kuyucuk için yapıldı. On birinci kuyucuk boş bırakılırken, on ikinci kuyucuğa yalnızca büyüme ortamı ve mikroorganizma kültürü eklendi. Böylece kontrol için kullanılan kuyucuklar hariç diğer kuyucuklarda  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  hacimde farklı konsantrasyonlarda test edilen çözeltiler eklenmiş oldu. On birinci kuyucuk hariç diğer tüm kuyucuklara MacFarland standardı (0.5 bulanıklık) eklendi. Ticari antibiyotikler vankomisin (gram-pozitif), colistin (gram negatif) ve flukonazol (maya) özütlerin inhibisyon etkisini kıyaslamak için pozitif kontrol olarak kullanıldı. Hazırlanan mikropalakalar  $37^\circ\text{C}$  de 24 saat inkübasyon işlemine tabi tutuldu. Bu periyot sonunda üremeden kaynaklanan bulanıklığın görüldüğü kuyucuktan bir önceki kuyucuktaki konsantrasyon miktarı MİK değeri olarak belirlendi.

### 3.2.6. Antikolinesteraz aktivitenin belirlenmesi

A. *communis* meyvesinden elde edilen kloroform ve metanol özütlerinin asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki inhibisyon etkisi Ellman metoduna göre test edildi (Ellman ve ark., 1961). Asetiltiyokolin iyodür reaksiyonun substratı olarak, DTNB (5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoic) acid) de antikolinesteraz aktivitesi ölçümü için kullanıldı. Takrin (9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahidroakridin) geri dönüşümlü bir kolinesteraz inhibitörüdür ve Alzheimer 'in plasatif tedavisi için ilk ilaçtır, dolayısıyla verilerimizi standart olarak takrin ile karşılaştırıldı.

Enzim kaynağı olarak *Electrophorus electricus* 'tan (elektrikli yılan balığı) izole edilen AChE'nin ticari formu kullanıldı (EC 3.1.1.7, Sigma). Asetiltiyokolin iyodür (AChI), kolinerjik reaksiyonlar için substrat olarak kullanıldı. Reaksiyonları başlatmak için  $50 \mu\text{L}$  AChE enzim solüsyonuna ( $5.32 \times 10^{-3}$ ) bir miktar Tris/HCl tampon (1.0 M, pH 8.0) ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış *Amygdalus communis* özüt solüsyonları ( $00-0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) eklendi.

Tüm numuneler,  $4000 \mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonda stok solüsyonlarını hazırlamak için etanol içinde çözüldü.  $150 \text{ mL}$   $100 \text{ mM}$  sodyum fosfat tamponu (pH 8.0),  $10 \mu\text{L}$  numune solüsyonu ve  $20 \mu\text{L}$  AChE solüsyonu alikotları karıştırıldı.  $25^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika inkübe edildi ve  $10 \mu\text{L}$  DTNB eklendi. Daha sonra reaksiyon  $10 \mu\text{L}$  asetiltiyokolin iyodür ilavesiyle başlatıldı. Test edilen solüsyonların son konsantrasyonu  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$  idi. Bu substratın hidrolizi, bir BioTek Power Wave XS kullanılarak, DTNB'nin tiyokolin ile reaksiyonunun sonucu olarak sarı 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun oluşturulmasıyla  $412 \text{ nm}$  dalga boyunda izlendi. Deneylerde üç tekrar gerçekleştirildi. Takrin kıyaslama yapmak için standart ilaç olarak kullanıldı ve % inhibisyon aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$\text{İnhibisyon \%} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

## 2.2.7. Kimyasal kompozisyonun belirlenmesi

Sıvı kromatografiye (LC) uygun formik asit, amonyum format, analitik saflıkta 31 fenolik standart ve metanol ve asetonitril, ticari olarak Sigma-Aldrich'ten (Almanya) temin edildi. 50 mg ham özüt, 0.1 formik asit içeren 50 mL metanol içerisinde tamamen çözüldü. Bir ayırma fazı oluşturmak için bir mL hegzan ilave edildi. Hazırlanan karışım 9000 devir dakikada<sup>-1</sup> 10 dakika santrifüj edildi. Bu işlemden sonra 100 µL metanol fazı alınarak 5 mM amonyum format ve 0.1 formik asit içeren metanol karışımına aktararak 1 mL'ye tamamlandı. Çözelti, gözenek çapı 0.22 olan membran filtreden geçirildi ve analiz için cihaza enjekte edildi. Bileşenleri ayırmak için bir Poroshell 120 EC-C18 kolonu (100 mm, 4.6 mm iç çap, 2.7 mm) kullanıldı. Filtrelenen bitki karışımı, % 0.1 formik asit taşıyıcı faz ve 5 mM amonyum format mobil fazının yanı sıra metanol içindeki % 0.1 formik asit ve 5 mM amonyum format mobil faz ile kolondan aşağı geçirildi (Irteğün-Kandemir ve ark., 2024).

### 2.2.8.A. *communis* meyvelerinde pestisit kalıntı analizi

*A. communis* meyvelerinin ekstrakte edilmesi için QuEChERS metodu kullanıldı (Wilkowska ve Biziuk, 2011). Analiz için kurutulmuş ve öğütülmüş bitki örneğinden 10 gram tartıldı ve bir teflon tüp içerisine konuldu, üzerlerine 15 mL % 1 asetik asitli asetonitril, 6 g magnezyum sülfat, 1.5 g sodyum asetat ilave edildikten sonra örnek iki dakika boyunca santrifüj edildi (10000 devir dakika<sup>-1</sup>). Santrifüj edilen örneğin üst fazından 4 mL alınıp başka bir kaba aktarıldı ve üzerine 0.6 g magnezyum sülfat ve 0.2 g primer sekonder amin ilave edildi. Örnekler tekrar santrifüjleme işlemine tabi tutulduktan sonra üst fazlarından alınan sıvı numune uygun kaplara konularak analize hazır hale getirildi. Pestisit kalıntı analizi Tablo 5'teki parametreler ve ölçüm limitleri kullanılarak AOAC (Resmi Analitik Kimyacılar Derneği)

2007.01. analiz metodu uygulanarak belirlendi (Varela-Martínez ve ark., 2020).

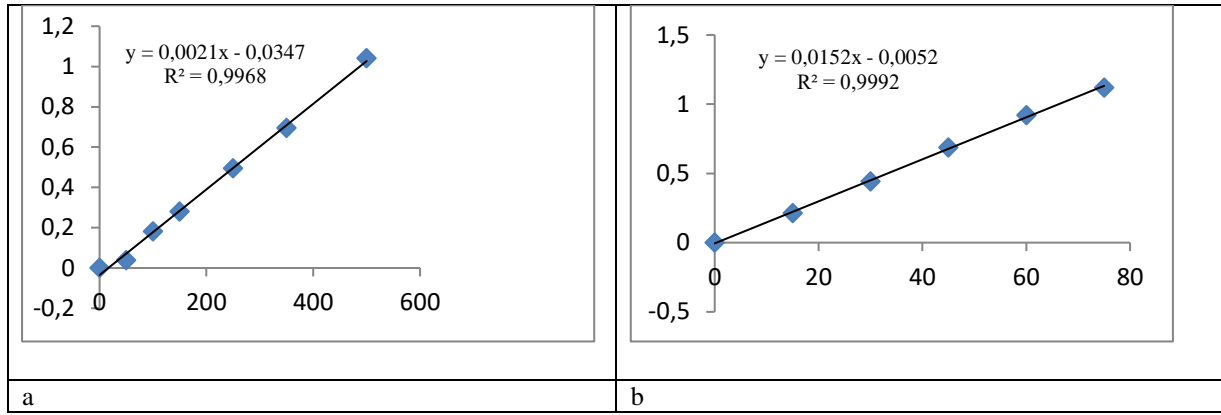
## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. Bitki özütlerinin miktarları

*A. communis* (badem), meyvelerinin kloroform ve metanol ile sırasıyla muamele edilmesi sonucu kloroform fazından (polarite indeksi; 4.4) 1.12 g, metanol fazından (polarite indeksi; 6.6) 2.86 g fraksiyonlandırılmış özüt elde edildi. Polariteye bağlı olarak özüt miktarının arttığı görüldü.

### 3.2. Toplam fenolik ve flavonoid bileşen miktarları

Polifenoller, bitki bazlı gıdalardaki biyolojik olarak aktif bileşiklerin bir grubudur. Bu bileşikler insan beslenmesinde yer almaktadır ve meyveler, sebzeler, tahıllar ve kahve gibi bitkilerden kaynaklanmaktadır. Polifenoller aynı zamanda dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu olarak da bilinmektedir. Polifenoller üzerine yapılan araştırmalar, onların kendine has özellikleri ve yapısal karmaşıklıkları nedeniyle gecikmektedir. Diyetimizde en sık bulunan antioksidanlar polifenollerdir (Abbas ve ark., 2017). Total fenolik miktar tayini modifiye Folin-Ciocalteu metoduna göre belirlendi (Keskin ve ark., 2018). *A. communis* için kloroform ve metanol özütlerinin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplandı. Standart olarak kullanılan gallik asitin 50–500 µg mL<sup>-1</sup> konsantrasyon aralığına denk gelen absorbans değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 1a). *A. communis* meyvelerinden elde edilen kloroform ve metanol özütlerinin etanolde hazırlanan 2 mg mL<sup>-1</sup>'lik çözeltileri içindeki toplam flavonoid bileşen miktarı ölçüldü. Kuersetinin metanol içindeki 500 µg mL<sup>-1</sup>'lik stok çözeltisinden 15 µg mL<sup>-1</sup>, 30 µg mL<sup>-1</sup>, 45 µg mL<sup>-1</sup>, 60 µg mL<sup>-1</sup>, 75 µg mL<sup>-1</sup>'lik çözeltiler hazırlandı, 415 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 1b).



Şekil 1. a. Toplam fenolik bileşen miktarı kalibrasyon eğrisi b. Toplam flavonoid bileşen miktarı kalibrasyon eğrisi

Çalışmada düşük polariteye sahip çözücünden başlayıp polar çözücüye doğru yapılan fraksiyonlandırma işlemi sonucunda elde edilen özütlerinin, fenolik ve flavonoid bileşen

miktarları bakımından düşük polariteye sahip kloroform özütünde daha yüksek olduğu belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. *A. communis* (badem)' dan elde edilen özütlerin toplam fenolik ve toplam flavonoid bileşen miktarları

	Total Fenolik İçerik Miktarı* (µg GAE/mg özüt)		Total Flavonoid İçerik Miktarı* (µg QE/mg özüt)	
	Kloroform	Metanol	Kloroform	Metanol
<i>A. communis</i>	68.42±1.69	40.65±1.13	166.34±2.39	64.91±0.86

\*Her bir değer üç kez (n=3) tekrarlandı ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verildi.

### 3.3.DPPH radikalini söndürme aktivite sonuçları

*A. communis* meyve özütlerinin serbest radikal söndürme aktivitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) metodu kullanılarak test edildi. Sonuçlar test edilen konsantrasyonlarda (5-500 µg mL<sup>-1</sup>) pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve BHA değerleri ile karşılaştırıldı. Çalışılan konsantrasyon aralığında pozitif kontrol olarak kullanılan BHA 40.24–98.37, BHT 19.98–93,67

arasında, *A. communis* bitkisinin kloroform özütü 4.15–92.46, metanol özütü 8.31–84.81 aralığında % inhibisyon gösterdi. Elde edilen sonuçlara göre çalışmada kullanılan *A. communis* meyve kısımlarından elde edilen kloroform ve metanol özütlerinin artan konsantrasyonlarının DPPH radikal söndürme aktivitelerinin pozitif kontrollere oldukça yakın aktivite gösterdiği ve antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğu belirlendi (Tablo 2).

Tablo 2. *A. communis* (badem) meyvesinden elde edilen özütlerin ve pozitif kontrollerin % DPPH radikalini giderme aktiviteleri

	% DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi* (µg mL <sup>-1</sup> özüt)						
	5	25	50	100	250	350	500
<b>BHA</b>	40.24±0.08	87.70±0.09	90.78±0.53	95.57±0.37	98.46±0.09	98.46±0.00	98.37±0.00
<b>BHT</b>	19.98±0.59	40.51±0.59	66.00±1.57	81.92±2.04	91.59±1.44	93.58±0.08	93.67±0.45
<b>Klf</b>	4.15±0.09	13.69±0.59	22.74±0.28	46.48±0.56	78.89±1.48	90.45±0.28	92.46±0.09
<b>MeOH</b>	8.31±0.56	19.29±0.59	28.05±1.30	50.55±0.09	75.95±0.00	82.83±0.09	84.81±0.19

\*Her bir değer üç kez (n=3) tekrarlandı ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verildi. BHA: Bütilenmiş hidroksi anisol; BHT: Bütilenmiş hidroksi tolüen; Klf: Kloroform; MeOH: Metanol

### 3.4. Antimikrobiyal aktivite sonuçları

*A. communis* meyve kloroform ve metanol özütlerinin ve çalışmada kullanılan patojen mikroorganizmalara karşı etkili olduğu bilinen ticari antibiyotiklerin minimum inhibisyon

konsantrasyonları (MİK) test edildi. Denenen tüm özütlerin patojen mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon etkisinin ticari antibiyotikler ile kıyaslandığında oldukça yüksek olduğu belirlendi (Tablo 3).

**Tablo 3.** *Amygdalus communis* meyve özütlerinin patojen mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon aktiviteleri

	Patojen Mikroorganizmalar	<i>Amygdalus communis</i> meyve özütleri		Ticari Antibiyotikler
		Kloroform [mg mL <sup>-1</sup> ]	Metanol [mg mL <sup>-1</sup> ]	Antibiyotikler* [mg mL <sup>-1</sup> ]
Gram (+) Suş	<i>S. aureus</i> (ATCC 2921)	0.125	0.0625	1
Gram (-) Suş	<i>E. coli</i> (ATCC25922)	0.0312	0.125	2
Maya	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	0.0312	0.125	2

\* Antibiyotikler: kolistin (gram pozitif bakteri), vankomisin (gram negatif bakteri) ve flukonazol (maya).

*S. aureus* gıdalar üzerinde rahatlıkla çoğalabilen ve ürettikleri toksinler sebebiyle intoksikasyona sebep olan bir bakteri türüdür. İnsanlarda hastalık etkeni olan bir patojendir ve menenjit, septisemi ve geç iyileşen yaralara sebebiyet verebilmektedir. Çalışmada kullanılan metanol özütünün *S. aureus*'a karşı oldukça güçlü inhibisyon göstermesi bu bakımdan oldukça önemlidir (Tablo 3). *E. coli* normalde bağırsak florasında yaşayan bir bakteridir. Ancak ortam değiştirip bulup üreme fırsatı bulduğunda patojen özellik kazanabilmektedir. Başta idrar yolu enfeksiyonları olmak üzere menenjit ve pönomoni gibi insanlar için oldukça tehlikeli hastalık tabloları oluşturabilmektedir.

Çalışmada kullanılan tüm özütlerin *E. coli* çoğalması üzerinde standart antibiyotik ile kıyaslandığında yüksek inhibisyon etkisi göstermesi çalışmamızın olumlu sonuçlarından biridir (Tablo 3). *Candida albicans* insan vücut florasında yaşayan fırsatçı bir mikroorganizmadır. Özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda sebep olduğu enfeksiyonlar sebebi ile hastalık ve hatta ölümlere sebep olabilmektedir. Bu

bakımdan sağaltımı oldukça büyük önem arz etmektedir. Çalışmada kullanılan meyve özütlerinin *C. albicans*'ın üremesi üzerindeki baskılayıcı etkisi standart ilaç olarak kullanılan flukonazol ile kıyaslandığında oldukça düşük konsantrasyonda daha etkili olduğu belirlendi (Tablo 3).

### 3.5. Antikolinesteraz aktivite sonuçları

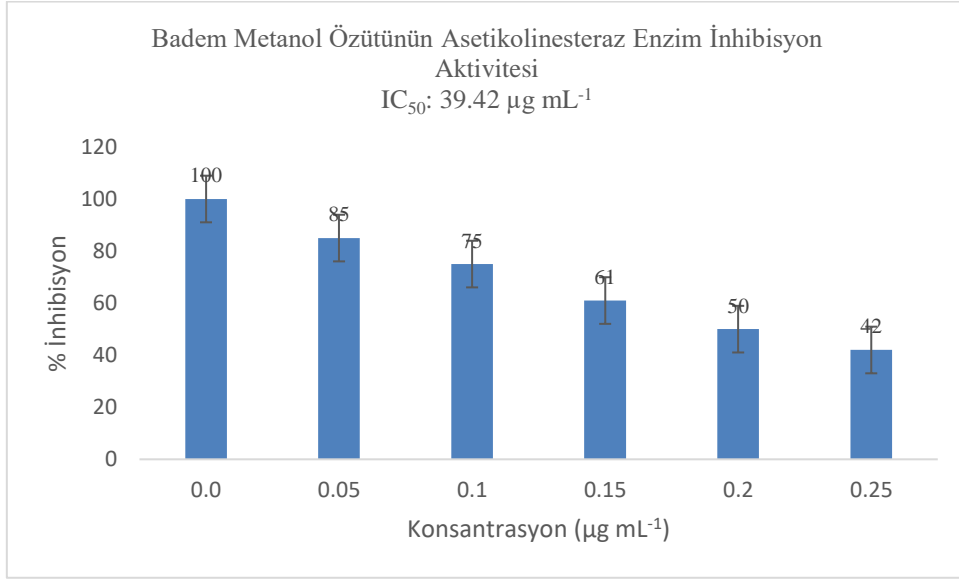
Asetilkolinesteraz kolinerjik enzimi (AChE) sinir sisteminde (periferik) etki gösteren nörotransmitterlerden biri olan asetilkolini (ACh) hidrolize ederek kolin ve asetata dönüştürür. ACh seviyeleri yaşlanma süreciyle birlikte azalır ve bu durum Alzheimer hastalığı (AD) gibi nörolojik bozuklukların ilerlemesiyle sonuçlanır. Araştırmalar AChE aktivitesinin AD erken evresinde arttığını göstermektedir. Bu nedenle, kolinerjik eksikliğin iyileştirilmesinde AChE inhibitörlerinin önemli bir yer olabileceği düşünülmektedir (Taslami ve Gulçin, 2018; Türkan ve ark., 2020). Asetilkolinesteraz inhibitörleri yan etkilerinin az olması ve faydalı sonuçlar vermesiyle nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde tercih edilen ilaçlar



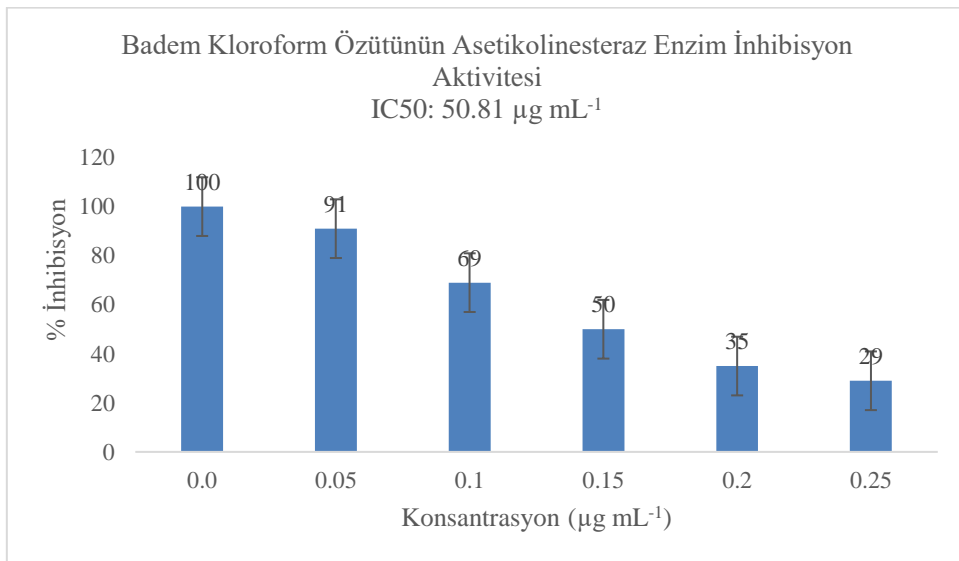
arasında yerini almıştır (Pohanka, 2011; Mukherjee ve ark., 2007).

*A. communis* meyvelerinin metanol ve kloroform özütleri için bulunan AChE IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 39.42 ve 50.81 µg/mL olarak, kolinerjik enzimler için standart inhibitör olarak kullanılan takrinin AChE'ye karşı IC<sub>50</sub> değeri 98.4 µg mL<sup>-1</sup> hesaplandı (Şekil 2, 3). Sonuçlar *A. communis* meyve kloroform özütünün daha yüksek enzim

inhibisyonu aktivitesi gösterdiğini ortaya koymaktadır (Şekil 4). (R<sup>2</sup>: 0.9904) olarak hesaplandı. Fenolik bileşiklerin kolinerjik enzimleri inhibe edebildiği bilinmektedir. Özellikle vanilik, ferulik ve kafeik asitler nörodejeneratif hastalıkların geriletilmesinde oldukça etkili bileşikler olarak bilinmektedir (Tohma ve ark., 2019). Bu sebeple *A. communis* meyve özütlerinde bulunan fenolik bileşiklerin AChE inhibitörleri olarak işlev gördüğünü düşünüyoruz.



Şekil 2. *A. communis* metanol özütü enzim inhibisyonu aktivitesi



Şekil 3. *A. communis* kloroform özütü enzim inhibisyonu aktivitesi

### 3.7.LCMS/MS ile fenolik bileşen analiz sonuçları

*A. communis* meyvesi özütlerindeki 31 standart fenolik bileşimin varlığını belirlemek için LC-MS/MS tekniği kullanıldı. *A. communis* metanol özütünde majör bileşenler sitrik asit (2022.70 ng mL<sup>-1</sup>), şikorik asit (553.00 ng mL<sup>-1</sup>), 4-Hidroksibenzoik asit (355.95) ve klorojenik asit (160.05 ng mL<sup>-1</sup>) olarak tespit edilirken kloroform özütünde majör bileşenler 4-Hidroksibenzoik asit (653.09 ng mL<sup>-1</sup>), p-kumarik asit (162.92 ng mL<sup>-1</sup>), klorojenik asit (158.83 ng mL<sup>-1</sup>) ve sitrik asit (131.75 ng mL<sup>-1</sup>) olarak tespit edildi (Tablo 4).

Sitrik asit, belirli sinir sistemi dejenerasyonlarını, obeziteyi, hepatoproteksiyonu, hiperlipidemi ve immünmodülasyonu önleyebilen bir maddedir (Brimson ve ark., 2019; Izquierdo-Vega ve ark., 2020). Ek olarak, *A. communis*'in metanol ve kloroform özütleri, hindistan cevizinde ve yeşil çay için kişilerde doğal olarak bulunan ana kateşin metabolitlerinden biri olan 4-hidroksibenzoik asit ve yüksek çay tüketiminin getirdiği oksidatif hasarı durdurabilen epikateşin içermektedir. Şikorik asit, fenilpropanoid ailesinin bir üyesidir ve birçok

bitkinin köklerinde bulunur. Bu bitkilerin birçoğu geleneksel tıp uygulamalarında ve besin takviyesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Peng ve ark., 2019). Şikorik asit, özellikle antioksidan, antiviral ve antikanser özelliklerinden dolayı biyolojik aktivite açısından önemli rollere sahiptir (Lee ve Scagel, 2013; Kuban-Jankowska ve ark., 2016; Peng ve ark., 2019). McDougall ve ark. (1998), farklı konsantrasyonlarda şikorik asidin insan immün yetmezlik virüsünün girişini ve özellikle replikasyonunu inhibe ettiğini bildirmiştir.

Klorojenik asit (CGA), gıdalarda en çok bulunan fenolik asit bileşiklerinden biridir. CGA, antioksidan aktivite, antibakteriyel, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, antiinflamatuvar, antipiretik, nöroprotektif, anti-obezite, antiviral, antimikrobiyal, antihipertansiyon, serbest radikal temizleyici gibi birçok önemli ve terapötik rol oynayan önemli ve biyolojik olarak aktif bir diyet polifenolüdür. Ek olarak CGA'nın hem genetik olarak hem de metabolik olarak ilişkili sağlıklı hastalıklarda lipid metabolizmasını ve glikozu modüle edebildiği bulunmuştur (Naveed ve ark., 2018).

**Tablo 4.** LC-MS/MS kullanılarak *A. communis* metanol ve kloroform özüt içeriğinde tespit edilen fenolik bileşenlerin kantitatif sonuçları

Kantitatif Sonuçlar									Khl	Met-OH
Bileşikler	R.T	M.I (m/)	T (m/)	I.M	R <sup>2</sup>	LOD (ng/m)	LOQ(ng/m)	Geri dönüşüm (%)	Final Kons.	Final Kons.
Tartarik Asit	1.696	149	87	-	0.999	12.31	37.3	98.91	34.31	49.75
Sitrik Asit	1.793	19.1	111	-	0.999	6.28	18.9	98.35	131.75	2022.70
Askorbik Asit	1.802	175.1	114.9	-	0.999	7.75	23.5	96.70	59.59	92.97
Fumarik Asit	1.821	115	71.1	-	0.999	6.43	19.5	99.76	14.26	29.10
Maleik Asit	1.821	115	71.2	-	0.999	6	18.2	101.03	ND	185.11
Şikorik Asit	1.989	472.8	310.5	-	0.999	50.16	152	88.73	ND	553.00
Gallik Asit	2.605	169	125	-	0.998	9	54.6	101.13	ND	ND
Klorojenik Asit	5.526	353	191	-	0.999	64.68	196	88.83	158.83	160.05
4-Hidroksibenzoik Asit	6.531	137	93.1	-	0.999	2.38	7.2	94.67	653.09	355.95
Kateşin	6.660	28.9	245.1	-	0.999	2.57	7.8	98.03	29.47	43.88
Epikateşin	6.666	353	191	+	0.998	2.90	8.8	93.70	46.57	45.71
Hesperidin	6.674	611.3	357	+	0.999	32.67	99	102.77	5.19	167.77
Rutin	6.675	60.9	299.4	-	0.997	28.5	85	101.33	ND	151.50
Vanilik Asit	6.687	167	151.8	-	0.998	2.54	7.7	95.60	77.64	91.32
Sirinjik Asit	6.703	197.1	181.8	-	0.999	4.22	12.8	101.90	ND	ND
Kafeik Asit	6.703	178.9	135.1	-	0.999	25.74	78	100.70	0.66	0.02
Luteolin-7-Glukozid	6.740	449	286.9	+	0.997	16.5	50	104.33	ND	96.11

<b>Apigenin-7-O-Glikozid</b>	6.808	430.8	267.4	-	0.998	18.24	55.3	96.53	ND	ND
<b>Quercetin-3-Xyloside</b>	6.816	432.7	299.5	-	0.995	9.87	29.9	103.77	ND	ND
<b>Oleuropein</b>	6.849	539.1	275.1	-	0.999	17.35	52.6	102.37	ND	ND
<b>Rosmarinik Asit</b>	6.875	35.9	160.7	-	0.998	15.9	48.2	96.07	16.95	16.24
<b>P-Kumarik Asit</b>	6.919	163	119	-	0.999	3	9.1	100.03	162.92	70.25
<b>4-Hidroksibenzaldehit</b>	6.929	121	92	-	0.999	1.91	5.7	99.83	48.79	21.58
<b>Trans-Ferulik Asit</b>	6.967	193.0	133.8	-	0.998	7.26	22.3	95.90	69.90	37.53
<b>Gentisik Asit</b>	7.243	153	109	-	0.999	44.55	135	98.27	ND	ND
<b>Protokateşoik Asit</b>	7.243	15.9	108.9	-	0.999	15.44	46.8	96.85	28.38	27.77
<b>Kuersitin</b>	7.306	300.7	150.9	-	0.997	14.85	45	101.67	ND	9.58
<b>Apigenin</b>	7.555	269	117	-	0.999	17.82	54	102.40	ND	ND
<b>Naringenin</b>	7.588	270.9	119.1	-	0.999	24.37	73.8	100.27	ND	ND
<b>Trans-Sinnamik Asit</b>	7.592	148.9	104.9	-	0.999	13.59	41.2	101.33	27.82	26.84
<b>Kaempferol</b>	7.613	284.9	116.9	-	0.998	12.39	37.5	100.93	34.31	N.D

RT: Saklama süresi; R<sup>2</sup>: Belirleme katsayısı; RSD: Bağıl standart sapma; LOD / LOQ (µg / L): Tespit sınırı/Kantitasyon

### 3.8.A. *communis* meyvelerinde pestisit kalıntı analiz sonuçları

GS/MS ve LC/MSMS cihazları kullanılarak *Amygdalus communis* meyveleri üzerinde pestisit kalıntı analizi yapıldı. LC/MSMS sonuçları meyvelerde yaygın kullanılan bir pestisit olan deltametrin varlığı gösterdi. Ölçülen değerlerin TGK pestisit maksimum kalıntı limitleri yönetmeliğine (25.11.2016-29899) göre kabul edilebilir aralıkta olduğu belirlendi (Gazete, 2016, Kodeksi, 2021). Tablo 5 ayrıntılı analitik bulgular sunmaktadır FAO/WHO'nun pestisit kalıntılarına ilişkin

ortak toplantısında deltametrin için günlük vücut ağırlığı başına 0.01 mg'lık bir ADI belirlenmiştir (McGregor, 2000). Deltametrin, zararlılara ve parazitlere karşı değerli böcek öldürücü aktivitesi nedeniyle dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Artan kanıtlar deltametrinin değişen derecelerde toksisiteye neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca oksidatif stres ve metabolizma toksisite ile oldukça ilişkilidir (Lu ve ark., 2019). Bu tip toksik pestisit kalıntısı içermesi yüksek olasılık dahilinde olan meyvelerin tüketilmeden önce mutlaka bol su ile yıkanması maruz kalma riskini önemli ölçüde azaltabilir.

**Tablo 5.** Badem meyvesinden elde edilen numunenin pestisit analiz sonuçları

Yapılan Analizler	Birim	Sonuçlar	Ölçüm limiti	Analiz Metodu	Değerlendirme Kaynağı
<b>Pestisitler-GCMS</b>	mg/kg	Tespit edilmedi	≤0.01 mg/kg	AOAC Official Method 2007.01	TGK Pestisitlerin maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği (25.11.2016-29899)
<b>Pestisitler-LCMSMS</b>	mg/kg	Deltamethrin: 94.74±47.36	≤0.01 mg/kg	AOAC Official Method 2007.01	TGK Pestisitlerin maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği (25.11.2016-29899)

### 4.Sonuçlar

Bitkiler üretmiş oldukları doğal metabolizma ürünleri sayesinde pek çok araştırmacının ilgisini çekmektedir. Değişen çevre şartlarına, herbivorlara ve patojen mikroorganizmalara karşı bitkiler hayatlarını koruyabilmek için fenolikler, flavonoidler, terpenler ve proantosiyandinler gibi çok çeşitli sekonder metabolitler sentezlemektedirler. Bu ürünler pek çok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bunların içerisinde en önemlilerinden biride

antioksidan aktivitedir. Antioksidan özellik göstermesi sebebiyle en iyi bilinen maddelerden biri fenoliklerdir. En sık karşılaşılan fenolik asitler ise kafeik asit klorojenik asit, epikateşin, kuersetin ve ferulik asittir. Polifenoller insan bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, antimikrobiyal, viral replikasyonu önleme ve konakçı hedef hücre zarından viral geçişin azaltılması gibi işlevlere de sahiptir. Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etki mekanizmaları henüz yeterince

açıklanamamıştır. Bu aktivite şimdiye kadar yapılan araştırmalarda hücre zarlarının geçirgenliğini artırmak, çeşitli hücre enzimlerine fenolik bileşiklerin hidrojen bağlanması ile çeşitli hücre içi fonksiyonlarının değiştirilmesi ile ve parazitin hücre bütünlüğünün kaybettirilmesi ile olduğu açıklanmaktadır. Bununla birlikte fenolik bileşiklerin kolinerjik enzim inhibitörlerine sahip olduğu da bilinmektedir. Çalışmamızda kullandığımız *A. communis* kloroform ve metanol özütlerin yüksek fenolik ve flavonoid bileşen içeren kimyasal kompozisyonları antioksidan, antimikrobiyal ve antikolinesteraz aktiviten sorumlu olarak görülmektedir. *A. communis* meyve özütleri içerdikleri zengin içerikler sayesinde hem pek çok bilimsel çalışmada hem de endüstriyel proseslerde kullanılabilecek potansiyele sahiptir.

#### Yazarların Katkı Beyanı

Yazarlar makaleye eşit katkıda bulduklarını, makalenin yayına hazır son halini gördüklerini/okuduklarını ve onayladıklarını beyan ederler.

#### Çıkar Çatışması Beyanı

Tüm yazarlar, bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

#### Kaynaklar

- Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M.S., Suleria, H.A.R., 2017. Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20(8):1689-1699.
- Augustyniak, A., Bartosz, G., Čipak, A., Duburs, G., Horáková, L.U., Łuczaj, W., Žarković, N., 2010. Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radical Research*, 44(10):1216-1262.
- Ali, S.S., Ahsan, H., Zia, M.K., Siddiqui, T., Khan, F.H., 2020. Understanding oxidants and antioxidants: classical team with new players. *Journal of Food Biochemistry*, 44(3): e13145.
- Beyhan, Ö., Aktaş, M., Yılmaz, N., Şimşek, N., Gerçekcioğlu, R., 2011. Determination of fatty acid composition in seed oils of

some important almond (*Prunus amygdalus* L.) genotypes growing in Tokat province and Aegean region of Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(19): 4907–4911.

- Bravo, L., 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(1):317–333.
- Brimson, J.M., Onlamoon, N., Tencomnao, T., Thitilertdecha, P., 2019. *Clerodendrum petasites* S. Moore: The therapeutic potential of phytochemicals, hispidulin, vanillic acid, verbascoside, and apigenin. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 118(1):109319.
- Chiocchio I, Mandrone M, Tomasi P, Marincich L, Poli F., 2021 Plant Secondary Metabolites: An opportunity for circular economy. *Molecules*, 26(2):495-526.
- De Morais, S.M., da Silva Lopes, F.F., Fontenele, G.A., da Silva, M.V.F., Fernandes, V.B., Alves, D.R., 2021. Total phenolic content and antioxidant and anticholinesterase activities of medicinal plants from the State's Cocó Park (Fortaleza-CE, Brazil). *Research, Society and Development*, 10(5): e7510514493.
- Dini, I., 2022. Contribution of nanoscience research in antioxidants delivery used in nutricosmetic sector. *Antioxidants*, 11(3):563.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres Jr, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2): 88-95.
- Esfahlan, A.J., Jamei, R., Esfahlan, R.J., 2010. The importance of almond (*Prunus amygdalus* L.) and its by-products. *Food Chemistry*, 120: 349-360.
- Gazete, R., 2016. Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği. *Resmi Gazete*, 27.

- Gülsoy, E., Balta, F., 2014. Aydın ili Yenipazar, Bozdoğan ve Karacasu ilçelerinden selekte edilen badem (*Prunus amygdalus* Batch) genotiplerinin protein, yağ ve yağ asidi bileşimlerinin belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1): 9-14.
- Irteğün Kandemir, S., Aktepe, N., Baran, A., Baran, M.F., Atalar, M.N., Keskin, C., Khalilov, R., 2024. Determination of chemical composition and antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, and enzyme inhibition activities of *Rumex acetosella* L. plant extract. *Chemical Papers*, 78:4583–4592.
- Izquierdo-Vega, J.A., Arteaga-Badillo, D.A., Sánchez-Gutiérrez, M., Morales-González, J.A., Vargas-Mendoza, N., Gómez-Aldapa, C.A., Castro-Rosas, J., Delgado-Olivares, L., Madrigal-Bujaidar, E., Madrigal-Santillán, E., 2020. Organic acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)-A Brief review of its pharmacological effects. *Biomedicines*, 8(5):100-116.
- Jara-Palacios, M.J., Gonçalves, S., Heredia, F.J., Hernanz, D., Romano, A., 2020. Extraction of antioxidants from winemaking byproducts: Effect of the solvent on phenolic composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities, and electrochemical behaviour. *Antioxidants*, 9(8): 675-685.
- Kamil, A., Chen, C.Y.O., 2012. Health benefits of almonds beyond cholesterol reduction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(27): 6694-6702.
- Kavaz, A., Işık, M., Dikici, E., Yüksel, M., 2022. Anticholinergic, antioxidant, and antibacterial properties of *Vitex agnus-castus* L. seed extract: assessment of its phenolic content by LC/MS/MS. *Chemistry & Biodiversity*, 19(10): e202200143.
- Keskin, C., Baran, A., Baran, M. F., Hatipoğlu, A., Adıcan, M.T., Atalar, M.N., Eftekhari, A., 2022. Green synthesis, characterization of gold nanomaterials using *Gundelia tournefortii* leaf extract, and determination of their nanomedicinal (antibacterial, antifungal, and cytotoxic) potential. *Journal of Nanomaterials*, 2022(1):1-10.
- Keskin, C., Özen, H.Ç., Toker, Z., Kızıl, G., Kızıl, M., 2018. Determination of in vitro antioxidant and antimicrobial properties of shoot and root extracts of *Astragalus diphtherites* Fenzl var. *diphtherites* and *Astragalus gymnaopecias* Rech. Fil. obtained by different solvents. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(2):157-166.
- Kızıldaş, H., Bingöl, Z., Gören, A.C., Kose, L.P., Durmaz, L., Topal, F., Gulcin, İ., 2021. LC-HRMS profiling and antidiabetic, anticholinergic, and antioxidant activities of aerial parts of kinkor (*Ferulago stellata*). *Molecules*, 26(9): 2469-2481.
- Kodeksi, T.G., 2021. TGK Pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri yönetmeliği. Resmi Gazete, 27.
- Kuban-Jankowska, A., Sahu, K.K., Gorska, M., Tuszyński, J.A., Wozniak, M., 2016. Chicoric acid binds to two sites and decreases the activity of the YopH bacterial virulence factor. *Oncotarget*, 7(3): 2229–2238.
- Lee, J., Scagel, C.F., 2013. Chicoric acid: chemistry, distribution, and production. *Frontiers in Chemistry*, 1(40): 1-17.
- Lu, Q., Sun, Y., Ares, I., Anadón, A., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M.R., Martínez, M.A., 2019. Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism. *Environmental Research*, 170(1):260-281.
- McDougall, B., King, P.J., Wu, B.W., Hostomsky, Z., Reinecke, M.G., Robinson Jr, W.E., 1998. Dicafeoylquinic and dicafeoyltartaric acids are selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(1):140-146.
- McGregor, D.B., 2000. Pesticide residues in food 2000: Deltamethrin. *International Agency for Research on Cancer*. France. 1(1):253-261.

- Moreno-Montoro, M., Olalla-Herrera, M., Gimenez-Martinez, R., Navarro-Alarcon, M., Rufian-Henares, J.A., 2015. Phenolic compounds and antioxidant activity of Spanish commercial grape juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 38(1):19-26.
- Mukherjee, P.K., Kumar, V., Mal, M., Houghton, P.J., 2007. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14(4): 289-300.
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A.A., Khan, G.J., Shumzaid, M., XiaoHui, Z., 2018. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 97(1): 67-74.
- Ndhilala, A. R., Işık, M., Kavaz-Yüksel, A., Dikici, E., 2024. Phenolic content analysis of two species belonging to the lamiaceae family: antioxidant, anticholinergic, and antibacterial activities. *Molecules*, 29(2): 480-492.
- Peng, Y., Sun, Q., Park, Y., 2019. The bioactive effects of chicoric acid as a functional food ingredient. *Journal of Medicinal Food*, 22(7):645-652.
- Pohanka, M., 2011. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc*, 155(3):219-230.
- Poljsak, B., Kovač, V., Milisav, I., 2021. Antioxidants, Food Processing and Health. *Antioxidants*. 10(3):433-445.
- Sarv, V., Venskutonis, P.R., Bhat, R., 2020. The Sorbus spp.-underutilised plants for foods and nutraceuticals: Review on polyphenolic phytochemicals and antioxidant potential. *Antioxidants*. 9(9): 813-836.
- Taslimi, P., Gulçin, İ., 2018. Antioxidant and anticholinergic properties of olivetol. *Journal of Food Biochemistry*, 42(3):e12516.
- Takó, M., Kerekes, E. B., Zambrano, C., Kotogán, A., Papp, T., Krisch, J., Vágvölgyi, C., 2020. Plant phenolics and phenolic-enriched extracts as antimicrobial agents against food-contaminating microorganisms. *Antioxidants*, 9(2):165-186.
- Tohma, H., Altay, A., Köksal, E., Gören, A.C., Gülçin, İ., 2019. Measurement of anticancer, antidiabetic and anticholinergic properties of sumac (*Rhus coriaria*): analysis of its phenolic compounds by LC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1):1607-1619.
- Türkan, F., Atalar, M.N., Aras, A., Gülçin, İ., Bursal, E., 2020. ICP-MS and HPLC analyses, enzyme inhibition and antioxidant potential of *Achillea schischkinii* Sosn. *Bioorganic Chemistry*, 94(1):103333.
- Varela-Martínez, D.A., González-Curbelo, M.Á., González-Sálamo, J., Hernández-Borges, J., 2020. Analysis of pesticides in cherimoya and gulupa minor tropical fruits using AOAC 2007.1 and ammonium formate QuEChERS versions: A comparative study. *Microchemical Journal*, 157(1):104950.
- Vafadar, M., Osaloo, S.K., Attar, F., 2014. Molecular phylogeny of the genus *Amygdalus* (Rosaceae) based on nrDNA ITS and cpDNA trnS-trnG sequences. *Turkish Journal of Botany*. 38(3):439-452.
- Wilkowska, A., Biziuk, M., 2011. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chemistry*, 125(3):803-812.
- Yaşar, F., Üzal, Ö., Erez, M.E., Tuğra, H., Baytin Alacı, R., Kaymaz, Ö., Hassan, D.A., Yaşar, Ö., 2024a. Kuraklık stresi uygulanmış ve uygulanmamış domates bitkilerine farklı dozlarda mangan uygulamalarının bitki gelişimi üzerine etkisi. *ISPEC Tarım Bilimleri Dergisi*, 8(3): 105-115.

- Yaşar, F., Üzal, Ö., Erez, M.E., Tuğa, H., Baytin Alacı, R., Kaymaz, Ö., Hassan, D.A., Yaşar, Ö., 2024b. The effect of different doses of manganese on plant development on tomato plants with and without drought stress. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 8(3):105-115.
- Yüksel, A. K., Dikici, E., Yüksel, M., Işık, M., Tozoğlu, F., Köksal, E., 2021. Phytochemicals analysis and some bioactive properties of *Erica manipuliflora* Salisb.(EMS); antibacterial, antiradical and anti-lipid peroxidation. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 20(4):422-434.
- Zhang, N., Baran, A., Valioglu, F., Teng, L., Atalar, M.N., Keskin, C., Beilerli, A., 2023. Antioxidant, AChE inhibitory, and anticancer effects of *Verbascum thapsus* extract. *Cellular and Molecular Biology*. 69(14): 211-217.

<b>Atıf Şekli</b>	Keskin, C., Aras, İ.O., Baran, A., Baran, M.F., Çetik Yıldız, S., Tarhan, R., 2024. <i>Amygdalus communis</i> (Badem) Meyvesinden Elde Edilen Özütlelerin Bazı <i>in vitro</i> Biyolojik Aktivitelerinin, Kimyasal ve Pestisit Kompozisyonlarının Araştırılması. <i>ISPEC Tarım Bilimleri Dergisi</i> , 8(3): 722-736. DOI: <a href="https://doi.org/10.5281/zenodo.12774905">https://doi.org/10.5281/zenodo.12774905</a> .
<b>To Cite</b>	Keskin, C., Aras, İ.O., Baran, A., Baran, M.F., Çetik Yıldız, S., Tarhan, R., 2024. Investigation of Some <i>in vitro</i> Biological Activities, Chemical and Pesticide Compositions of Extracts Obtained from <i>Amygdalus communis</i> (Almond) Fruit. <i>ISPEC Journal of Agricultural Sciences</i> , 8(3): 722-736. DOI: <a href="https://doi.org/10.5281/zenodo.12774905">https://doi.org/10.5281/zenodo.12774905</a> .