GÜFBED/*GUSTIJ* (2018) 8 (1): 18-25
DOI: 10.17714/gumusfenbil.294719 Araştırma Makalesi / *Research Article*

Ardahan ve Çevresinde Yabani Olarak Yetişen Gilaburu Meyve Ekstraktının Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktivitelerinin Araştırılması

Investigation of Antimicrobial, Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Wild Guelder RoseFruit Extract Grown in Ardahan and Its Surrounding Area

Mehmet ARSLAN[1,a], Nurcan ERBİL[1,b], Zehra Tuğba MURATHAN[*2,c]
[1]*Ardahan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü, Ardahan*
[2]*Ardahan Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ardahan*

• Geliş tarihi / *Received*: 23.02.2017 • Düzeltilerek geliş tarihi / *Received in revised form*: 18.09.2017 • Kabul tarihi / *Accepted*: 19.09.2017

Öz
Bu çalışmada Ardahan ve çevresinde doğal olarak yetişmekte olan Gilaburu meyvelerinin antioksidan özellikleri, farklı mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisi ve Ames testi ile antimutajenik etkisi araştırıldı. Antimikrobiyal aktivite testleri esnasında farklı Gr (+) ve Gr (-) bakteriler ile mayalar kullanıldı. Antimutajenik etki çalışmalarında ise AMES/Salmonella Mikrozom testi ile Salmonella typhimurium TA 98 ve TA 100 suşları kullanıldı. Elde edilen verilere göre gilaburu meyvelerinin ağırlığı ortalama olarak 0.80 g, suda çözünür kuru madde (SÇKM) içeriği % 11.3, pH'sı 3.20, toplam antosiyanin miktarı 0.80 mg/g,1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)radikal süpürücü etkisi % 52.5, 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) değeri 72.8 µmol TE/g FW, Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) değeri ise 122.6 µmol Fe II/g FW olarak belirlendi. Ayrıca gilaburu ekstraktının test mikroorganizmaları üzerinde değişen oranlarda antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları; ancak antifungal aktivite sergilemedikleri belirlendi. Test bakterileri içerisinde ise en duyarlı olanının Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 olduğu belirlendi. Antimutajenite deneylerinde,TA98 suşlarında gilaburunun sadece 40 µl dozunda pozitif kontrole göre önemli bir azalma meydana getirdi. TA100 suşlarında ise hiçbir dozda pozitif kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma meydana gelmediği belirlendi.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal, Antimutajen, Antioksidan, Gilaburu, *Viburnum opulus*

Abstract
In this study, antioxidant activity, antibacterial effect against some test bacteria, and antimutagenic effect with AMES test of Guelder rose fruit naturally growing in Ardahan and its surrounding area were examined. Different Gr (+), and Gr (-) bacteria and yeasts were used as test microorganisms during the antibacterial activity tests. AMES / Salmonella/Microsome test was preferred for antimutagenic effect study and Salmonella typhimurium TA 98 and TA 100 strains were used. According to the obtained data, 0.80 g fruitweight on average, 11.3% of Soluble Dry Matter content, 3.20 of pH, 0.80 mg/g of total anthocyanin, and 52.5% of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, 72.8 µmol TE/g FW 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) value, 122.6 µmol Fe II/g FW Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) value were determined. It was determined that Guelder rose fruit extract has antibacterial activity at different rates on test bacteria, but not antifungal activity. The most sensitive bacterium was Pseudomonas aeroginosa ATCC 9027 among the test microorganisms. In antimutagenic activity, only 40 µl dose of Guelder rose in TA98 strains caused a significant reduction compared to the positive control. In TA100 strains, no statistically significant decrease compared to positive control at any dose occurred.

***Keywords**: Antimicrobial, Antimutagenic, Antioxidant, Guelder rose, Viburnum opulus*

*[c] Zehra Tuğba MURATHAN; zehratugbaabaci@ardahan.edu.tr; Tel: (0478) 211 50 00 (dahili: 2314); orcid.org/0000-0002-1468-7240
[a] orcid.org/0000-0002-9015-1798 [b] orcid.org/0000-0001-9553-2306

1. Giriş

Türkiye birçok meyve türünün gen merkezi ve doğal yayılma alanıdır. Bugün dünyada yetiştirilmekte olan 138 kadar meyve türünün 75'i Türkiye'de yetiştirilmektedir. Türkiye'de görülen bu tür zenginliği yanında çeşit bolluğu da mevcuttur (Özbek, 1977; Orakçı, 2010). Ardahan ve çevresinde yabani olarak yetişen gilaburu (*Viburnum opulus L.*), Hanımeligiller (Caprifoliaceae) familyasından olup; kışın yaprağını döken, 2-4 metre boylanabilen bir bitkidir. Meyvesi nohut büyüklüğünde ve kırmızı renkte olup, Ağustos-Eylül aylarında olgunlaşır. Meyvelerin yaklaşık 30-40 tanesi bir salkım oluşturur ve acımsı bir tadı vardır (Bolat ve Özcan 1995; Orakçı, 2010).

Daha önce yapılan birçok çalışma meyve tüketiminin kanserden diyabete, kardiyovasküler hastalıklardan sinir hastalıklarına kadar birçok hastalığa yakalanma riskini azalttığını göstermiştir. Bu durum meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan etkisinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca; fenolik bileşikler büyük yapısal farklılıklara sahiptir ve sekonder metabolitlerin en fazla çeşitlilik gösteren gruplarından bir tanesidir. Bu gruplar, bakteri hücre membranın yapısını bozarak hücresel bileşenlerin membrandan dışarıya doğru sızmasına neden olurlar ve membranda meydana gelen bu bozulmaya fenolik bileşiklerdeki hidroksil (-OH) gruplarının gösterdiği inhibitör etkinin sebep olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında fenolik bileşikler antioksidan etkiye sahip olduklarından bitkisel ağırlıklı beslenme ile fenolik bileşiklerin yoğun alınmasından dolayı radikal oluşumunu azaltarak kanser ve damar hastalıkları riskini düşürürler (Sağıroğlu, 2003; Özcan, 2010). Bu bakımdan bitkilerdeki fenolik bileşiklerin güvenilir ve pratik yöntemlerle tayin edilmesi çok önemlidir.

Günümüzde insanlar tarafından besin amaçlı olarak tüketilen veya geleneksel tıpta kullanılan bitkisel kökenli ürünlerin birçoğunda toksik etki gösteren maddelerin bulunduğunun da malesef yeterince farkına varılamamıştır. Örneğin bitkisel kökenli ürünlerde bulunan uçucu yağların bazıları ciddi yan etkilere sahiptir (Franzios vd., 1997; Stammati vd., 1999; Ipek ve ark., 2003; Azirak ve Rencüzogullari, 2008; Buyukleyla ve Rencuzogullari, 2008). Bu maddelerin en büyük tehlikeleri de mutasyon ve/veya kansere sebep olabilme riskleridir. Bundan dolayıdır ki bu ürünlerin insan genomunda mutasyonlara sebep olup olmadıklarının veya mutasyonları azaltıp azaltmadıklarının ortaya koyulması oldukça önemlidir. Türkiye'de yetiştiriciliği pek yaygın olmayan bir yenilebilir meyve bitkisi olan gilaburunun birçok özelliğinin incelenmesi gerekmektedir. Bu çalışma, Gilaburu meyve ekstraktının antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktivitelerini ortaya çıkarmak amacıyla yapılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Örneklerin Temini

Gilaburu meyve örnekleri 2015 yılı Eylül ayında Ardahan Üniversitesi Meslek Yüksekokulu bahçesinden toplandı ve uygun koşullarda laboratuvar ortamına getirilerek taze olarak çalışıldı.

2.2. Ekstraksiyon

40 gram taze gilaburu meyvesi tartılarak 200 ml saf su ile homojenizatörde (IKA T 18, Çin) homojenize edildikten sonra 72 saat süre ile 190 rpm'de ekstrakte edildi. 72 saat sonrasında 5000 g'de 10 dk satrifüj edildi ve süpernatant kısmı alındı. Elde edilen bu ekstrakt rotary evaporatörde konsantre edildikten sonra kullanılana kadar -20°C'de muhafaza edildi. Elde edilen bu ekstrakt antimikrobiyal ve antimutajenik aktiviteler için kullanıldı.

2.3. Meyve Ağırlığı, Suda Çözünür Kuru Madde (SÇKM), pH ve Titre Edilebilir Asitlik Analizleri

10 tane meyve örneği 0.2 g'a duyarlı dijital hassas terazide (Desis T 28, İstanbul, Türkiye) tartıldı. Meyvelerin suda çözünür kuru madde içerikleri 22 ˚C'de Mettler-Toledo 30 P dijital refraktometre (Mettler-Toledo International Inc., İsviçre) ile, % asitlik değerleri ise titrimetrik metod kullanılarak Cemeroğlu (1992)'na göre belirlendi.

2.4. Toplam Antosiyanin Tayini

Toplam antosiyanin tayini Giusti ve Wrolstad (2001)'a göre belirlendi. Örnek 5 g meyve 10 ml % 1 HCl içeren metanol çözeltisinde 2 dk homojenize edildi ve bir gece bekletildikten sonra filtre kâğıdından (Whatman No: 2) süzüldü. Süzüntü pH 1.0 (0.2 N KCl, 0.2 N HCl) ve pH 4.5 ($CH_3CO_2Na.3H_2O$, 0.1 N HCl) tamponları içinde 15 dk inkübasyona bırakıldı ve absorbansları çözücüye karşı 530 ve 700 nm'lerde spektrofotometrik (Unico S1205, USA) olarak ölçüldü.

2.5. Antioksidan Kapasite Tayini

2.5.1. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Yöntemi

Antioksidan kapasite (serbest radikallerin indirgenme kapasitesi) DPPH metodu ile süpürücü etkiye göre belirlendi. Örnek 2 g meyve örneği,2 ml ekstraksiyon çözeltisi (% 85 metanol, % 15 asetik asit) ile karıştırılarak homojenize edildi ve 24 saat 4 ºC'de bekletildi. Daha sonra 10 dk 10000 g'de santrifüj edildi. DPPH çözeltisi (950 µl 0.1 N) seyreltilmiş 50 µl meyve ekstraktı ile birleştirildi. Çözelti 30 dk karanlık bir ortamda, oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra örnekler ve standart 515 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu. Antioksidan kapasite $\%DPPH=(A_{kontrol}-A_{örnek})/A_{kontrol}x$ 100 formülüyle hesaplandı (Bakhshi ve Arakawa, 2006; Rezaeirad vd., 2013).

2.5.2. ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) Yöntemi

ABTS yöntemi Re vd. (1999)'a göre yapıldı. 25 ml 7 mM ABTSve 25 ml 2.45 mM potasyum per sülfat ile 1:1 oranında stok çözelti hazırlandı ve 16 saat oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübe edildi. Analizler için stok çözelti absorbansı 734 nm'de 0.7±0.05 olana kadar etanolle dilüe edildi. 1000 µl dilüe örnek 3.8 ml ABTS çözeltisiyle karıştırıldı ve 6 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 734 nm'de absorbansı ölçüldü. Standart olarak troloks kullanıldı ve sonuçlar ug Troloks/g cinsinden hesaplandı.

2.5.3. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Yöntemi

FRAP yöntemi Benzie ve Strain (1996) ile Ahmad ve Mukhtar (1999)'a göre yapıldı. FRAP ajanı 25 ml sodyum asetat tampon (300 mM, pH 3.6), 2.5 ml TPTZ (Tripyridil-s-triazine) çözeltisi (10 mM, 40 mM HCl'de çözdürülmüş) ve 2.5 ml $FeCl_3 6H_2O$ (20 mM) karışımıyla hazırlandı. 37°C'de su banyosunda ısıtıldı ve 900 µl'si bir küvete alınarak başlangıç absorbans değeri okundu. Dilüe (1:4 v/v su) örneğin 100 µl'si küvete alındı ve üzerine 3 ml FRAP ajanı eklendi. 4 dk sonra absorbans 593 nm'de ölçüldü. Standart eğri $FeSO_4$çözeltisi kullanılarak hazırlandı (100-1000 µl). Sonuçlar µmol Fe (II)/g cinsinden hesaplandı.

2.6. Antibakteriyel Aktivite Testi

Antibakteriyel aktivite testi oyuk agar metodu ile çalışılmış olup (Özçelik, 1992); test mikroorganizması olarak *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Pseudomonas aeroginosa* ATCC 9027, *Bacillus licheniformis ve Klebsiella pneumoniae* bakterileri ile *Yarrovi lipolytica* ve *Sacharomyces cerevisiae* mayaları kullanıldı. Steril edilmiş olan Müller Hinton Agar içerisine 18 saatlik ($1x10^8$ cfu ml^{-1}) bakteri kültürlerinin her birinden 100 µl aşılandıve tam olarak katılaştığından emin olunan plaklara aseptik koşullarda korkbor yardımı ile 11 mm çapında açılan her bir kuyucuğun içerisine 150 µl gilaburu meyve ekstraktı eklendi. Pozifif kontrol olarak standart bir antibiyotik olan Penisilin G (P 10), negatif kontrol olarak ise distile su kullanıldı. Her bir petri plağı 37 ºC'de 48 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. Çalışmalar üç tekrarlı yapılarak zon çapları dijital kumpas ile mm olarak ölçülmüştür.

2.7. Ames/Salmonella/Mikrozom Testi

2.7.1. Test Suşları

Antimutajenik aktivitenin ölçülebilmesi için Ames testi tercih edilmiş olup, uygulamalarda S9 mix yokluğunda *S. typhimurium*'un TA 98 ve TA 100 suşları kullanıldı. Bu suşlardan *S. typhimurium* TA 98 çerçeve kayması, *S. typhimurium* TA 100 ise baz çifti değişimi mutasyonlarına neden olan kimyasallara karşı duyarlılık göstermektedir. Bu suşlar düzenli olarak Rfa mutasyonu, R faktör varlığı, kristal viyole duyarlılığı, histidin ihtiyacı, UVr B mutasyonu, ampisiline dirençlilik ve spontan geri dönüş oranları için Maron ve Ames (1983) tarafından önerilen metoda göre kontrol edildi.

2.7.2. Sitotoksik Etkinin Belirlenmesi

Gilaburu meyve ekstraktının *S. typhimurium*'un TA 98 ve TA 100 suşları üzerinde öldürücü olmayan dozlarının belirlenmesi amacıyla, 16 saat inkübe edilmiş olan bakteri kültürlerinin her birinden (yaklaşık 1 x 10^9 bakteri ml^{-1}) 100 µl ve ekstraktın değişik derişimlerdeki çözeltisinden (5-80 µl $plak^{-1}$) alınarak, 2 ml top agar içerisine eklendi. Bu karışım homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra minimal glukoz agar (MGA) besiyeri içeren plaklara ince bir tabaka halinde dökülerek 37ºC'de 48-72 saat süre ile inkübe edildi. İnkübasyondan sonra ekstraktın değişik derişimlerini içeren plaklarda gelişen koloni sayıları ile kontrol plaklarında gelişen koloni sayıları karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar neticesinde ekstraktın 80 µl$plak^{-1}$ dozunun toksik

özellik gösterdiği belirlendi ve toksik özellik göstermediği gözlenen dört doz (40 µl plak^{-1}, 20 µl plak^{-1},10 µl plak^{-1} ve 5 µl plak^{-1}) mutajenite testlerinde kullanıldı. Sitotoksik dozun LD_{50} (ortalama öldürücü doz)'nin altında olması gerekmektedir. Bu nedenle deneme plaklarındaki koloni sayısı kontrol plağındaki koloni sayısının yarısının altında olmaması durumunda, doz toksik olarak kabul edilmemektedir.

2.7.3. Antimutajenite Testi

Antimutajenite testi plak inkorporasyon tekniği modifiye edilerek yapıldı (Maron ve Ames, 1983). Analizler esnasında, histidin ve biyotin eklenmiş olan 2 ml top agar içerisine 16 saatlik bakteri kültürlerinin (yaklaşık 1 x 10^9 bakteri ml^{-1}) her birinden 100 µl, pozitif kontrol olarak TA98 suşu için 100 µg/petri 4-nitro-o-fenilendiamin (4-NPD), TA100 suşu için ise 10 µg/petri sodyum azid (SA) ve ekstraktın toksik olmadığı belirlenen dozları eklendikten sonra homojen bir şekilde karıştırıldı ve MGA besiyeri içeren plaklara ince bir tabaka halinde döküldü. Pozitif kontrol olarak TA 98 suşu için 4-NPD (100 µg petri), TA 100 suşu için SA (10 µg petri) kullanıldı. Petriler 37ºC'de 48-72 saat inkübe edildi. Analizler sonucunda kontrol ve test plaklarında gelişen revertant koloni sayıları belirlendi ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

2.8. İstatistiksel Analizler

Her çalışma üç tekrarlı olarak yapıldı. Çalışmalardan elde edilen bulguların istatistiksel yönden değerlendirilmesinde SPSS 16 programı kullanıldı. Tespit edilen antimutajenite analizlerinde belirlenen ortalamalar ile kontrol ve deney grupları arasında değişiklik gösterip göstermediği varyans analizi kullanılarak belirlendi. Varyans analizi için one way Anova testlerinden Dunnett testi kullanıldı. Elde edilen veriler 0.05 anlam seviyesi göz önünde bulundurularak yorumlandı.

3. Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada kullanılan aktivite tayin yöntemleri, kısa zamanda sonuç veren, düşük maliyetli, güvenilir ve bilim dünyasında herkesçe kabul edilen yöntemler oldukları için tercih edilmişlerdir. Çalışmalar sonucunda biyokimyasal aktivite sonuçlarına göre, gilaburu meyvelerinin ağırlığı ortalama olarak 0.80 g, SÇKM miktarı % 11.3, pH'sı 3.20, toplam antosiyanin miktarı ise 0.80 mg/g olarak tespit edildi (Tablo 1). Konuyla alakalı yapılan bir çalışmada Kayseri ili Bünyan, Melikgazi, Develi ve Akkışla ilçelerinde yetişen gilaburu meyvelerinin ortalama meyve ağırlığı 0.70-0.73 g, SÇKM miktarı % 10.0-10.5, pH'sı ise2.83-3.14 olarak tespit edilmiştir (Gündoğar, 2012). Tarafımızca yapılan bu çalışmada elde edilen değerlerin Gündoğar (2012) tarafından elde edilen verilere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bitkilerden elde edilen ekstraktların içeriği bitkinin habitatı ile yakından ilgili olduğu ve içerik miktarının da değişebileceği bildirilmiştir (Papageorgiou vd., 2008; Koliopoulos vd., 2010).

Tablo 1. Meyve ağırlığı, suda çözünür kuru madde (SÇKM), pH ve toplam antosiyanin miktarı.

	Ortalama Meyve Ağırlığı (g)	SÇKM (%)	pH	Toplam Antosiyanin Miktarı (mg/g)
Gilaburu	0.80±0.02	11.3±0.1	3.20±0.9	0.80±0.8

Orakçı (2010), Kayseri'den toplanan yaş gilaburu metanol ekstresinde toplam antosiyanin miktarını 0.47 mg/g,yaş gilaburu sulu ekstresinde 0.27 mg/g, kuru gilaburu metanol ekstresinde ise 0.12 mg/g olarak bulmuştur. Çalışmamızdan elde edilen değer (0.80 mg/g) bu çalışmadan elde edilen değerlere göre dedaha yüksektir. Bu durumun meyvenin toplandığı coğrafik bölgelerin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde ABST değerinin 72.8 µmol TE /g FW, FRAP değerinin 122.6 µmol Fe II/g FW ve DPPH değerinin ise % 52.5 olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Daha önce yapılan çalışmalarda bazı *Viburnum* türlerinin oksidanlara karşı insan sağlığını korumakla görevli olan polifenolikleri yoğun olarak içerdikleri bildirilmiştir (Česonienėet vd., 2010; Kraujalytė vd., 2013). Altun vd. (2008), gilaburunun antioksidan aktivitesini DPPH radikalini süpürücü etkileri bakımından incelemişler, dal ve meyve ekstrelerinin 0.014 mg/mL ve 0.057 mg/mL IC_{50} değerlerine sahip olduğu tespit etmişlerdir. Burnaz (2007) ise DPPH radikalini süpürmede meyve çekirdekleri metanol ekstresinin 0.0047 mg/mL, meyve suyunun 0.0096 mg/mL IC_{50} değerine sahip olduğunu tespit etmiştir. Başka bir çalışmada ise Şeker vd. (2016) gilaburu meyve posası eklenmiş keklerin toplam fenolik içeriği ve radikal temizleme aktivitesi değerlerinin, meyve posası katılma seviyesine göre orantılı olarak arttığını bulmuşlardır.

Tablo 2. Gilaburu örneklerine ait antioksidan aktivite sonuçları.

	ABTS (µmol TE / g FW)	FRAP (µmol Fe II/ g FW)	DPPH (%)
Gilaburu	72.8±0.6	122.6±4.8	52.5±3.3

Antibakteriyel aktivite sonuçlarına bakıldığında gilaburu ekstraktının test mikroorganizmaları üzerinde değişen oranlarda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu; ancak antifungal aktivite sergilemediği görülmektedir (Tablo 3). Test bakterileri içerisinde ise en duyarlı olanının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 olduğu belirlenmiştir (21±0.577 mm). Gilaburudan elde edilen farklı ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi farklı çalışmalarda denenmiştir. Bu çalışmalardan biri Yürüker vd. (1993) tarafından yapılmış olup, gilaburu meyvelerinin sulu ekstrelerinin influenza virüsünün infeksiyon etkisini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Benzer bir çalışma da Burnaz vd. (2007) tarafından yapılmış ve *Viburnum opulus*'tan elde edilen kloroform ve metanol ekstrelerinin antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir.

Hızlısoy (2009) Kayseri'den toplanan Gilaburu meyve ekstresinin *S.aureus*, *E.coli* ve *P. aeruginosa* bakterileri üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini tespit etmiştir. Bizim çalışmamızdan elde edilen veriler de bu sonucu desteklemektedir. Yine benzer bir çalışmada *V. opulus* ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis* üzerindeki inhibitör etkisi tespit edilmiştir (Bubulica vd., 2012). Sagdıç vd. (2006) de *V. opulus* kuru meyvelerin metanol özütlerinin (% 10-15) patojenik ve bozulma bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu bildirilmiştir. Antibakteriyel etki, *V. opulus* meyve tohumu yağı üzerinde yapılan bir çalışmada da tarif edilmiştir (Yilmaz vd., 2008).

Česoniene vd. (2014) *V. opulus* genotiplerinin meyve suları ile etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini karşılaştırmışlardır. En etkili antibakteriyel aktivite değerlerinin *S. typhimurium, S. agona* ve *L. monocytogenes'e* karşı, sırasıyla 23.6, 20.7 ve 19.1 mm inhibisyon zonlarına sahip olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada *Staphylococcus epidermidis* ve *Micrococcus luteus*'un sırasıyla 14.2 ve 15.0 mm minimum inhibisyon zonları ile en yüksek dirence sahip olduğu bildirilmiştir. Meyve sularının etanol özlerine kıyasla daha fazla antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Bunun aksine, maya kültürlerinin büyümesinin, meyve suları ve etanol özütlerine az veya hiç duyarlılık göstermediği bildirilmiştir. Česoniene vd. (2012) ise *V. opulus* meyve ekstrelerinin hem Gram (+) hem de Gram (-) bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini, mayalara karşı herhangi bir etkinin olmadığını bulmuşlardır.

Eryılmaz vd. (2013) de test ettikleri *Viburnum* türlerinin etanol ekstraktlarının sulu özütlere kıyasla daha iyi antimikrobiyal aktivite sergilediğini tespit etmişlerdir. İskender vd. (2007) ise yapılan diğer çalışmaların aksine *Vibernum opulus*'tan elde edilen uçucu yağların ise test mikroorganizmalarına etki etmediğini tespit etmişlerdir. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında elde edilen sonuçlar bakteri türü ve suşuna, bitkinin yetişme ve saklanma koşullarına, ekstraksiyon şekline ve test esnasında kullanılan madde miktarına göre değişiklik gösterebilmektedir.

Tablo 3. Gilaburu ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Mikroorganizma	**Gilaburu ekstraktı (mm)**	**Penisilin G (mm)**
Klebsiella pneumoniae	18.66 ± 0.33	9 ± 0.00
Pseudomonas aeroginosa ATCC 9027	21.00 ± 0.57	12.33 ± 0.33
Bacillus subtilis	18.66 ± 0.33	9 ± 0.00
Escherichia coli	18.00 ± 0.57	8.33 ± 0.66
Staphylococcus aureus ATCC 6538	18.33 ± 0.33	8.33 ± 0.33
Bacillus megaterium DSM 32	19.00 ± 0.57	8.67 ± 0. 33
Bacillus licheniformis	18.00 ± 0.00	16.67 ± 1.20
Enterobacter aerogenes	18.66 ± 0.33	10.33 ± 0.33
Yarrovia lipolytica	-	-
Saccharomyces cerevisiae	-	-

Antimutajenite deneyleri sonucunda gilaburunun sadece 40 µl dozunda TA98 ırklarında pozitif kontrolle göre önemli bir azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir (p=0,019). TA100 ırklarında ise hiçbir dozda pozitif kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma meydana gelmemiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde revertant koloni sayısının TA98 suşlarında tüm dozlarda pozitif kontrolle göre azalmalar meydana gelmiş ancak sadece en yüksek doz istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. TA 100 suşlarında ise 5µl, 20µl,40 µl dozlarda pozitif kontrole göre azalmalar meydana gelmiş ancak bu azalmalar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Muameleli gruplardaki revertant koloni sayısı ise kontrol ile muamele edilen gruplara nazaran önemli derecede yüksek çıkmıştır. Bu da antimutajenite deneylerinde beklediğimiz bir sonuçtur (Tablo 4).

Tablo 4. Gilaburu ekstraktlarına ait farklı dozların *S.typhimurium* TA 98 ve TA100 suşları üzerinde antimutajenik etkileri

Test Maddesi	Konsantrasyon (µg/petri)	TA 98	TA 100
Kontrol		17.3±0.3	82.33±2.33
4-NPD(1)	100	1908±142 a3	-
SA(2)	10	-	2570±65.2a3
Gilaburu	5 µl	1712.7±91.7a3	2489±236 a3
Gilaburu	10 µl	1623±164 a3	2859±185 a3
Gilaburu	20 µl	1567.3±98.6a3	2222±285 a3
Gilaburu	40 µl	1280±127 a3b1	2229±101 a3

*Revertant kolonilerin tespiti için toplam üç petri kutusu değerlendirilmiştir, (1): 4-nitrophenylene diamine, (2): Sodyumazid, a: kontrol ile aradaki fark anlamlı, b: Pozitif kontrol ile aradaki fark anlamlı, a1b1c1:p<0.05, a2b2c2: p<0.01, a3b3c3: p<0.001

Bitkilerin çoğunluğunun toksik ve genotoksik bileşikleri vardır. Bunlar antioksidan, antimutajenik ve antikanser özelliklere sahip polifenolik bileşikler olabileceği gibi, konsantrasyonlarının yüksek miktarda bulunması sonucu prooksidan ve mutajenik özelliklere de sahip olabilirler (Mennen vd., 2005; Wan-Ibrahim vd., 2010). Bu nedenle, zengin antioksidan polifenol kaynağı olan bitkilerin aşırı kullanımının toksisiteye neden olabileceği konusu endişe yaratabilmektedir (Paulauskas vd., 2015). Bu nedenle bu bitkilerin biyolojik özelliklerinin iyi araştırılması gerekmektedir.

Paulauskas vd. (2015) *V. opulus ve V. sargentii* Koehne meyve sularının comet testi ve mikronukleus testlerinde genotoksik olmadığını ve Ames testinde S9 mix (metabolik aktivatör) yokluğunda ve varlığında *S. Typhimurium*TA98 ve TA100 suşlarında geri dönüş kolonilerinin sayısında belirgin bir artış göstermediğini tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise farklı olarak TA98 suşlarında gilaburunun 40 µl dozu antimutajen özellik göstermiştir.

4. Sonuç

Sonuç olarak, gilaburu meyve ekstraktının önemli antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra TA98 suşlarında en yüksek dozda antimutajen özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. Bu nedenle gilaburu meyvesi tıbbi bir ilaç olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir ancak bunun için daha ileri araştırmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

5. Kaynaklar

Ahmad, N. and Mukhtar, H., 1999. Green tea polyphenols and cancer: Biologic mechanisms and practical implications, Nutrition Reviews, 57, 3, 78-83.

Altun, M.L., Çıtoğlu, G.S., Yılmaz, B.S. and Çoban, T., 2008. Antioxidant properties of *Viburnum opulus* and *Viburnum lantana*growing in Turkey, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 59, 3, 175-180.

Azirak, S., and Rencuzogullari, E., 2008. The in vivo genotoxic effects of carvacrol and thymol in rat bone marrow cells, Environmental Toxicology, 23, 6, 728-735.

Bakhshi, D. and Arakawa, O., 2006. Effects of UV-b irradiation on phenolic compound accumulation and antioxidant activity in 'Jonathan' apple influenced by bagging, temperature and maturation, Journal of

Food, Agriculture & Environment, 4, 1, 75-79.

Benzie, I.F.F. and Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power; The FRAP assay, Analytical Biochemistry, 239, 70-76.

Bolat, S.ve Özcan, M.,1995. Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvesinin Morfolojik, Fenolojik ve Pomolojik Özellikleri ile Kimyasal Bileşimi. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ç.Ü. Ziraat Fak. Yay, Cilt I., Adana. 72s.

Bubulica, M.V., Anghel, I., Grumezescu, A.M., Saviuc, C., Anghel, G.A., Chifiriuc, M.C., Gheorghe, I., Lazar, V., and Popescu, A., 2012. In vitro evaluation of bactericidal and antibio film activity of Loniceratatarica and *Viburnum opulus* plant extractson *Staphylococcus* Strains, Farmacia, 60, 1, 80-91.

Burnaz, N., 2007. *Viburnum opulus* ve *V. orientale*bitki ekstraktlarının kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon. 66s.

Buyukleyla, M, and Rencuzogullari, E., 2008. The effects of thymol on sister chromatid Exchange, chromosome aberration and micronucleus in human lymphocytes, Ecotoxicology Environmental Safety, Doi:10.1016/j.ecoenv.2008.10.005.

Cemeroğlu, B., 1992. Meyve ve sebze işleme endüstrisinde temel analiz metotları. Ankara: Biltav Yayınları.

Česonienė, L., Daubaras, R., Venclovienė, J. and Viškelis, P., 2010. Biochemical and agro-biological diversity of *Viburnum opulus* genotypes, Central European Journal of Biology, 5, 6, 864–871.

Česoniene, L., Daubaras, R., Viškelis, P. and Šarkinas, A., 2012. Determination of the total phenolic and anthocyanin contents and antimicrobial activity of *Viburnum Opulus* fruit juice, Plant Foods for Human Nutrition, 67, 3, 256-261.

Česoniene, L., Daubaras, R., Kraujalyte, V., Venskutonis, P.R. and Šarkinas, A., 2014. Antimicrobial activity of *Viburnum opulus* fruit juices and extracts, Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 9, 2, 129-132.

Eryilmaz, M., Ozbilgin, S., Ergene, B., Sever Yilmaz, B., Altun, M.L. and Saltan, G., 2013. Antimicrobial activity of Turkish *Viburnum* species, Bangladesh Journal of Botany, 42, 2, 355-360

Franzios, G., Mirotsou, M., Hatziapostolou, E., Kral, J., Scouras, Z.G., and Mavragani, P.T., 1997. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 2690-2694.

Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E., 2001. Anthocyanins characterization and measurement with UV visible spectroscopy, Current protocols in food analytical chemistry. Editor: Wrolstad, R. E. New York: Willey.

Hızlısoy, H., 2009. Çeşitli mikroorganizmalar üzerine gilaburunun antimikrobiyal etkisinin incelenmesi. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

Ipek, E., Tuylu, B.A., and Zeytinoğlu, H., 2003. Effects of carvacrol on sister chromatid exchances in human lymphocyte cultures, Cytotechnology, 43, 145-148.

İskender, N.Y., 2007. Türkiye Doğal *Viburnum* L. (Caprıfolıaceae) türlerinin uçucu yağ bileşimleri ve antimikrobiyal aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Koliopoulos, G., Pitarokili, D., Kioulos, E., Michaelakis, A. and Tzakou, O., 2010. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha, Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito Culex pipiens, Parasitol Research, 107, 2, 327-35.

Kraujalytė, V., Venskutonis, P.R., Pukalskas, A., Česonienė, L. and Daubaras, R., 2013. Antioxidant properties and polyphenolic compositions of fruits from different European cranberrybush (*Viburnum opulus*L.) genotypes, Food Chemistry, 141, 3695–3702.

Maron, D.M. and Ames, B.N., 1983. Revised methods fort he *Salmonella* mutagenicity test, Mutation Research, 113, 173-215.

Mennen, L.I., Walker, R., Bennetau-Pelissero, C. and Scalbert, A., 2005. Risks and safety of polyphenol consumption, The American Journal of Clinical Nutrition, 81, 326–329.

Orakçı, E.E., 2010. Gilaburunun antioksidan aktivitesi. Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Bitirme tezi.

Özbek, S., 1977. Genel Meyvecilik. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Yayınları 111, Ders Kitabı 6.

Özcan, H.M., 2010. Fenolik bileşiklerin tayinine yönelik amperometrik esaslı biyosensör hazırlanması. Trakya Üniversitesi FenEdebiyat Fakültesi Kimya bölümü. Doktora tezi.

Özçelik, S., 1992. Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuar Kılavuzu. F.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1, Elazığ, 135.

Papageorgiou, V., Gardeli, C., Mallouchos, A., Papaioannou, M. and Komaitis, M., 2008. Variation of the chemical profile and antioxidant behavior of *Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Miller grown in Greece, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, 7254-7264.

Paulauskas, A., Žukauskienė, J., Žiaukienė, D. Česonienė, L., Daubaras, R., Kupčinskienė, E.,Lazutka, J.R., Slapšytė, G., Dedonytė, V., Mierauskienė, J., Stapulionytė, A., Paškevičius, A., Levinskaitė, L., Švedienė J. and Viškelis, P., 2015. Differentiation of *Viburnum* accessions according to their molecular, biochemical, genotoxic and microbiological features of importance to selection, Academia Journal of Agricultural Research, 3, 6, 081-093.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radical Biology and Medicine, 26, 1231-1237.

Rezaeirad, D., Bakhshi, D., Ghasemnezhad, M. and Lahiji, H.S., 2013. Evaluation of some quantitative and qualitative characteristics of local pears (*Pyrus* sp.) in the North of Iran, International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5, 8, 882-887.

Sagdic, O., Aksoy, A. and Ozkan, G., 2006. Evaluation of the antibacterial and antioxidant potentials of cranberry (gilaburu, *Viburnum opulus L.*) fruit extract, Acta Alimentaria, 35, 4, 487-492.

Sağıroğlu, A., 2003. Bitkisel doğal bileşikler kimyası, Trakya Üniversitesi FenEdebiyat Fakültesi Kimya bölümü biyokimya anabilim dalı, 12-13.

Stammati, A., Bonsi, P., Zucco, F., Moezelaar, R., Alakomi, H.L., and Von Wright, A., 1999. Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays, Food Chemistry Toxicology, 37, 813-823.

Şeker, I.T. Ertop, M.H. and Hayta, M., 2016. Physicochemical and bioactive properties of cakes incorporated with gilaburu fruit (*Viburnum opulus*) pomace, Quality Assurance and Safety of Crops and Foods, 8, 2, 261-266.

Yilmaz, N., Yali, N., Misir, G., Coskuncelebi, K., Karaoglu, S. and Yayli, N., 2008. Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils of *Viburnum opulus*, *Viburnum lantana* and *Viburnum orientala*, Asian Journal of Chemistry, 20, 3324–3330.

Yürüker, A., 1993. *Viburnum orientale Pallas* üzerinde fitokimyasal çalışmalar, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 5-15.

Wan-Ibrahim, W.I., Sidik, K. and Kuppusamy, U.R., 2010. A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties, Food Chemistry, 122, 4, 1139-1144.