

Şakok Armudunun (*Pyrus elaeagnifila* Pallas) Antioksidan, Antimikrobiyal ve Mutajenik Özelliklerinin İncelenmesi

Zehra Tuğba MURATHAN^{1*} , Nurcan ERBİL², Vesile DÜZGÜNER², Mehmet ARSLAN²

¹Ardahan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ardahan

²Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü, Ardahan

Geliş / Received: 29/11/2018, Kabul / Accepted: 08/03/2019

Öz

Şakok armudu (*Pyrus elaeagnifila* Pallas) doğal olarak yetişen yabani bir armut türüdür. Hasattan sonra olgunlaşır ve yenilebilir. Bu çalışma Elazığ'da yetişen şakok armudunun toplam fenolik madde, toplam flavanoid madde, toplam askorbik asit, glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) içeriklerinin; antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite ve mutajenik aktivitesinin belirlenmesini kapsamaktadır. Elde edilen verilere göre örneklerin toplam fenolik madde içeriği 174.2 mg GAE (gallik asit eşdeğeri)/100g ekstrakt, toplam flavanoid madde içeriği 44.9 mg RE (rutin eşdeğeri)/100g ekstrakt, toplam askorbik asit içeriği 14.5 mg AE (askorbik asit eşdeğeri)/100g ekstrakt, Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP) değeri 515.6 µmol Fe (II)/g ekstrakt, 2,2'-Azino-bis 3-etil benzotiazolin-6-sulfonik asit (ABTS) süpürme aktivitesi % 53.5, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) süpürme aktivitesi % 48.2, GSH içeriği 3.98 µM ve SOD içeriği 6.88 U/ml olarak tespit edilmiştir. Meyve ekstraktının test bakterilerine karşı farklı oranlarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Meyve ekstraktının ön denemeler sonucunda belirlenen altı farklı konsantrasyonunun (10, 20, 40, 60, 80 and 100 µL/plak) *Salmonella typhimurium* TA 98 ve TA 100 şuşlarına karşı mutajenik aktivite gösterip göstermediği test edilmiştir. Denenen dozların hiçbirinde TA 98 ve TA 100 şuşları üzerinde istatistiksel olarak önemli bir mutajenik etki görülmemiştir. Bu çalışma şakok armudunun önemli biyoaktif bileşenlere, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Anahtar Kelimeler: Radikal süpürücü, Mutajen, Armut, Şakok, *Pyrus elaeagnifila* Pallas

Investigation of Antioxidant, Antimicrobial and the Mutagenic Properties of Şakok Pear (*Pyrus elaeagnifila* Pallas)

Abstract

Şakok pear (*Pyrus elaeagnifila* Pallas) is wild pear species growing naturally in Elazığ city. After harvesting, the fruit becomes soft and edible. This work covers investigations of total phenolic, total flavanoid, total ascorbic acid, glutathione (GSH), and superoxide dismutase (SOD) contents, antioxidant, antimicrobial, and mutagenic activities of şakok pear. According to the obtained data, 174.2 mg GAE/100g extract of total phenolic content, 44.9 mg RE/100g extract of total flavanoid content, 14.5 mg AE/100g extract of total ascorbic acid content, 515.6 µmol Fe (II)/g extract of Ferric Reducing Antioxidant Power, 53.5% of 2,2'-Azino-bis (3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid) radical scavenging activity, 48.2% of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity, 3.98 µM of total GSH and 6.88 U/ml of SOD value were determined. It was identified that şakok pear extract has antibacterial activity at different rates on test bacteria. Six different concentrations determined by pretesting (10, 20, 40, 60, 80 and 100 µL/plate) of pear extracts were performed in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100 strains. TA 98 and TA100 strains, no statistically significant decrease compared to positive control at any dose occurred. The results of this study revealed that the şakok pear has valuable bioactive content, antioxidant and antimicrobial activities.

Keywords: Radical scavenging, Mutagen, Pear, Şakok, *Pyrus elaeagnifila* Pallas

1. Giriş

Ülkemiz ekolojik özelliklerinin üzerinde bulunması ve ilk çağlardan beri yetiştiriciliğe uygun olması, göç yolları birçok medeniyete ev sahipliği

yapmasından dolayı çok sayıda meyve tür ve çeşidini barındırmaktadır (Özbek, 1985). Bu meyve tür ve çeşitlerinin bir kısmı kültüre alınarak yetiştirilmiştir. Bir kısmı ise doğal olarak yetişmektedir. Doğada kendiliğinden yetişen, daha çok yabani hayvanlar tarafından tüketilen ve onlara barınma ortamı sağlayan, besleyici özelliği olan meyvelere yabani meyve denmektedir. Yabani meyveler verimsiz topraklarda ve ekstrem koşullarda yetişebilmektedir, bu nedenle doğa şartlarına karşı daha dayanıklı adaptasyonlar geliştirmek zorundadırlar. Kültür meyvelerine oranla daha verimli, kuraklığa dayanıklı, daha çok tohum içeren, daha küçük, ekşi, lifli, buruk, yüksek sekonder metabolit içeren meyvelerdir (Smatana vd., 1988). Bu meyveler gıda amaçlı tüketimlerinin yanı sıra ıslah çalışmalarında, ilaç yapımında ve erozyona karşı mücadelede de kullanılmaktadır.

Gıda amaçlı olarak kullanılan meyvelerin sağlığa yararlı etkileri temel olarak içlerinde bulunan biyoaktif bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Biyoaktif bileşenler bitkiye tat, renk, koku, aroma veren bileşiklerdir. Fenolik ve flavanoid bileşikler bu gruba girmektedirler. Aynı zamanda bu bileşikler antioksidan potansiyele de sahiptirler ve düzenli olarak tüketildiklerinde birçok hastalığa karşı koruyucu etkilerinin bulunduğu bilinmektedir (Tripathi and Mishra, 2007).

Anadolu'da yaygın olarak yetişen yabani meyve türlerinden bir tanesi de armuttur. Latince adı *Pyrus elaeagnifolia* olan yabani armut farklı bölgelerde ahlat, çördük, çöğür, argun, alfat, çövr, dığdığı, dızdığı, haliç, kerte, kohoz, gelinboğan, çakal armudu, şekok, dağ armudu gibi değişik isimler alabilmektedir (Anonim, 2017; Gülgün ve Yazıcı, 2017). Ağacın boyu 10 metreye kadar uzayabilmektedir. İlkbahar ayının ortalarında çiçek açmakta ve sonbahar aylarında meyve hasadı yapılmaktadır. Ağacın iyi gelişmiş kök sistemleri onun

erozyon kontrolünde kullanımına olanak sağlamaktadır (Keçeci, 2017).

Elazığ bölgesinde bu armut şakok armudu olarak bilinmektedir. Kültüre alınan armut çeşitleri için iyi bir anaçtır. Ekim ayının ortalarında ham olarak toplanan armutlar sert ve kekremsi, acı bir tada sahiptir. Uygun yerlerde uzun süre saklanabilir. Meyveler oda sıcaklığında bekletildiğinde bir iki hafta kadar sonra yumuşamaya başlamaktadır. Olgun halde bile meyveler kumludur. Bölgede bu meyvenin pekmezi, kurusu, marmelatı, reçeli, sirkesi ve turşusu da yapılarak kış boyunca tüketilmektedir. *Pyrus elaeagnifolia* meyvelerinin çayı Elazığ bölgesinde idrar söktürücü olarak ta kullanılmaktadır (Çakılcıoğlu vd., 2010).

Meyvelerinin içeriğinde B vitamini, C vitamini, karoten, pektin, organik asitler, şekerler ve tanen bulunduğu bildirilmiştir (Anonim, 2013). Halk arasında ishale, diş eti hastalıklarına, astıma, rahim iltihabına, böcek sokmalarına, böbrek hastalıklarına, kalp hastalıklarına ve göz hastalıklarına iyi geldiği bilinmektedir (Güdücü, 2014; Keçeci, 2017).

Literatür tarandığında bu armut türüyle ilgili sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmektedir. (Güdücü, 2014; Keçeci, 2017; Yılmaz vd., 2015; Şengül vd., 2018). Elazığ bölgesinde yetişen armut çeşit ve türleri ise daha önce çalışılmamıştır. Meyvelerin biyokimyasal içeriği yetiştikleri iklim ve toprak koşullarından büyük oranda etkilenmektedir. Bu çalışmanın amacı Elazığ ilinde yetişen şakok armutunun toplam fenolik madde, toplam flavanoid madde, toplam askorbik asit, glutatyon (GSH) ve süperoksid dismutaz (SOD) içeriklerinin, antioksidan, antimikrobiyal ve mutajenik aktivitesinin belirlenmesidir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Meyve Materyali

Çalışmada Elazığ ilinde doğal olarak yetişen ve bölgede şakok armudu olarak bilinen *Pyrus elaeagnifila* türüne ait meyve

örnekleri kullanılmıştır. Örnekler 2018 yılı Ekim ayı sonunda hasat edildikten sonra laboratuara getirilmiş, oda sıcaklığında bir hafta bekletilip olgunlaştırıldıktan sonra analizlerde kullanılmıştır.

2.2. Ekstraksiyon

Şakok örneklerinin çekirdekleri ayrıldıktan sonra 2 g meyve eti 20 ml metanol ile homojenize edilmiş ve 24 saat çalkalamalı etüvde, 4 °C’de bekletilmiştir. Daha sonra 10 dk 5000 rpm’de santrifüj edilmiştir. 0.136 mg/ml derişimindeki süpernatant toplam fenolik madde, toplam flavanoid madde, glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve antioksidan kapasite analizlerinde kullanılmıştır. Askorbik asit tayini için aynı ekstraksiyon metodu uygulanmış ancak çözücü olarak okzalik asit kullanılmıştır.

Antimikrobiyal ve mutajenik aktivite analizleri için 40 gram meyve eti 200 ml saf su ile homojenize edildikten Antimikrobiyal ve mutajenik aktivite analizleri için 40 gram meyve eti 200 ml saf su ile homojenize edildikten sonra 72 saat, oda sıcaklığında ve 190 rpm’de ekstrakte edilmiştir. Daha sonra 5000 rpm’de, 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant ayrılarak rotary evaporatörde konsantre edilmiştir (madde derişimi 2.178 mg/ml’dir). Daha sonra 0.22 µm por genişliğine sahip mikrofiltre yardımı ile steril edilmiş ve kullanılana kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir. sonra 72 saat, oda sıcaklığında ve 190 rpm’de ekstrakte edilmiştir. Daha sonra 5000 rpm’de, 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant ayrılarak rotary evaporatörde konsantre edilmiştir (madde derişimi 2.178 mg/ml’dir). Daha sonra 0.22 µm por genişliğine sahip mikrofiltre yardımı

ile steril edilmiş ve kullanılana kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir.

2.3. Top Fenolik Madde, Toplam Flavonoid Madde ve Toplam Askorbik Asit Tayini

Toplam fenolik madde tayini Spanos ve Wrolstad (1992)’a göre Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Meyve örneğinin toplam fenolik madde içeriği galik asit standardı ile mg GAE/100 g ekstrakt olarak hesaplanmıştır.

Toplam flavanoid madde tayini Quettier vd. (2000)’nın yöntemine göre belirlenmiştir. Örneklerin absorbansı 415 nm’de spektrofotometre ile belirlenmiş ve rutin kullanılarak hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak mg RE/100 g ekstrakt cinsinden hesaplanmıştır.

Toplam askorbik asit tayini AOAC (1990)’a göre spektrofotometrik yöntemle 520 nm’de belirlenmiştir. Örneklerdeki askorbik asit miktarı kalibrasyon grafiği ile mg AE/100 g ekstrakt olarak hesaplanmıştır.

2.4. Antioksidan Kapasite Tayini

Örneklerin antioksidan kapasiteleri DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil-hidrat), ABTS (2,2-Azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik Asit) ve FRAP (Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç) yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerin DPPH süpürme aktivitesini belirlemek amacıyla Bakhshi ve Arakawa (2006)’nın metodu kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnek çözeltilerinin absorbanslarının spektrofotometrede 515 nm’de belirlenmiştir. Kontrol çözeltisi için örnek hacmi kadar metanol eklenerek absorbans tespit edilmiştir. Standart olarak askorbik asit çözeltisi

kullanılmıştır. $\%inhibisyon = \frac{(A_{kontrol} - A_{örnek})}{A_{kontrol}} \times 100$ formülüyle hesaplanmıştır. Örneğin % 50 inhibisyon konsantrasyonu (IC50) hazırlanan grafik ile hesaplanmıştır.

ABTS yöntemi Re vd. (1999)'na göre yapılmıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 734 nm'de ölçülmüştür. Kör olarak metanol çözeltisi kullanılmıştır. Kontrol çözeltisi için örnek hacmi kadar metanol eklenerek absorbans belirlenmiştir. Antioksidan kapasite $\%ABTS$ inhibisyonu $= \frac{(A_{kontrol} - A_{örnek})}{A_{kontrol}} \times 100$ formülüyle hesaplanmıştır.

FRAP yöntemi Benzie ve Strain (1996)'in metoduna göre yapılmıştır. Örneklerin absorbansı 593 nm'de ölçülmüştür. Kör olarak metanol çözeltisi kullanılmıştır. Standart eğri $FeSO_4$ solüsyonu kullanılarak hazırlanmıştır (100-1000 μ l). Sonuçlar μ mol Fe (II)/g ekstrakt cinsinden hesaplanmıştır.

2.5. *Gl Glutasyon ve Süperoksit dismutaz Analizleri*

Glutasyon (GSH) düzeyleri Sedlak ve Lindsay (1968) metoduna göre ölçüldü. 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic asit ile örneklerdeki GSH'nin reaksiyonu ile oluşan son ürün 410 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar μ M olarak ifade edildi. Süperoksit dismutaz aktivitesi ticari kit (Cayman Chemical 706002) kullanılarak tespit edildi.

2.6. *Antimikrobiyal ve Mutajenik Aktivite Analizleri*

Şakok armudundan elde edilen sulu ekstraktın antimikrobiyal aktivitesi *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Klebsiella pneumoniae* test bakterilerine karşı agar kuyu difüzyon metodu ile test edilmiştir (Collins vd., 1989). Pozitif kontrol olarak ise gentamisin kullanılmıştır. Analiz üç tekrarlı olarak

yapılmış ve zon çapları dijital kumpas yardımı ile ölçülmüştür.

Mutajenik aktivite Ames testine göre *S. typhimurium*'un TA 98 ve TA 100 suşları kullanılarak belirlenmiştir (Maron ve Ames, 1983). Şakok armudu ekstraktının *S. typhimurium*'un TA 98 ve TA100 suşları üzerinde letal olmayan dozlarının belirlenmesi için; 16 saat inkübe edilmiş olan bakteri kültürlerinden (100 μ l) ve Şakok armudu meyve ekstraktının değişik derişimlerinden alınarak 2 ml top agar içerisine eklenmiştir. Homojen bir karışım elde edildikten sonra minimal glukoz agar besiyeri (MGA) bulunan plaklara dökülerek 37 °C'de 48-72 saat süre ile inkübe edilmiştir. Daha sonra Şakok armudu meyve ekstraktının değişik derişimlerini içeren plaklarda ve kontrol plaklarında gelişen koloni sayıları karşılaştırılmıştır. Şakok armudu ekstraktının toksik özellik göstermediği gözlenen 6 farklı konsantrasyonu (10, 20, 40, 60, 80 and 100 μ L/plate) mutajenite testlerinde kullanılmıştır.

Mutajenite testi için plak inkorporasyon tekniği kullanılmıştır (Maron ve Ames, 1983). İçerisine histidin ve biyotin ekli 2 ml top agar üzerine 16 saatlik bakteri kültürlerinin her birinden 100 μ l ve Şakok armudunun toksik olmadığı belirlenmiş dozlarından 100 μ l eklenip homojen bir karışım oluşturulmuş ve MGA besiyeri bulunan plaklara dökülmüştür. TA 98 suşu için 4-nitro-ofenilen daimin (4-NPD) (100 μ g petri-1), TA 100 suşu için sodyum azid (SA) (10 μ g petri-1) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Çalışmalar üç tekrarlı yapılmış, petriler 37°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol ve test plaklarında gelişen revertant koloni sayıları belirlenerek istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

2.7. *İstatistiksel Analizler*

Her analiz üç tekrarlı olarak yapılmıştır. İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS 16

programı kullanılmıştır. Mutajenite analizlerinde Dunnett testi kullanılmıştır. Elde edilen veriler 0.05 anlam seviyesinde yorumlanmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Günümüzde gıda takviyesi olarak kullanılan yapay antioksidanların toksik ve kanserojenik etkilere sahip oldukları belirlendiğinden, doğal antioksidan kaynakları daha popüler hale gelmiştir. Antioksidan özellikleri bilinen fenolik bileşikler meyvelerin kendilerine özgü renk, tat ve aroma kazanmalarında rol alan ve meyvenin kalitesini oluşturan bileşiklerdir. Bu bileşikler bitkinin hayati fonksiyonlarının sürdürülmesinde görev almadıkları için sekonder metabolitler olarak ta adlandırılmaktadırlar. Bu bileşikler bitkide enfeksiyon, yaralanma, UV radyasyon gibi stres koşullarına tepki olarak bol miktarda sentezlenmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan potansiyelleri sayesinde kanser, diyabet, kalp hastalıkları, katarakt gibi birçok hastalıktan korunmada etkin oldukları bilinmektedir (Justesen ve ark., 1998; Naczk ve Shahidi, 2006). Flavanoidler ise fenolik bileşiklerin bir grubudur. Antiradikal, antibiyotik, antialerjen, antiinflamatuvar özelliklere sahiptirler (Coşkun, 2005).

Çalışmamızda şakok meyvelerinin metanolik ekstraktlarında toplam fenolik madde içeriğinin 174.2 mg GAE/100g ekstrakt, toplam flavanoid madde içeriğinin 44.9 mg RE/100g ekstrakt olduğu tespit edilmiştir. Daha önce bu meyveyle ilgili yapılmış birkaç

çalışma mevcuttur. Baltas (2017) Antalya'dan topladığı *P. elaeagnifila* meyvelerinin toplam fenolik madde içeriğini 4.98 mg GAE/g ekstrakt olarak tespit etmiştir. Şengül vd. (2018) ise bu meyvenin marmelatında toplam fenolik madde içeriğinin 205.75 µg GAE/g ekstrakt olduğunu belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar marmelat örneklerinde yaptıkları fenolik bileşen analizlerinde 2.28 mg/kg gallik asit, 1.07 mg/kg (+) kateşin, 0.37 mg/kg (-) epikateşin, 0.32 mg/kg klorojenik asit, 0.21 mg/kg kafeik asit, 15.63 mg/kg p-kumarik asit, 2.78 mg/kg hesperidin, 3.85 mg/kg elajik asit ve 0.79 mg/kg kuersetin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Güdücü (2014) *P. elaeagnifila* meyvelerinin aseton ve metanol ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarının sırasıyla 49.81 ve 28.91 µg GAE/mg ekstrakt olduğunu, aseton ekstraktlarının metanolik ekstraktlara oranla daha yüksek fenolik madde içerdiğini bildirmiştir. Yılmaz vd. (2015) İç Anadolu Bölgesi'nden topladıkları *P. elaeagnifila* meyvelerinin toplam fenolik madde içeriğinin 42.79-119.14 mg GAE/100 g ekstrakt arasında olduğunu bildirmişlerdir. Bitkilerin içerdiği fenolik bileşiklerin miktarı yetiştirme ortamının toprak yapısına, iklimsel koşullarına, hasat zamanına, bitkinin güneş ışığından yararlanma süresine, depomla şartlarına ve kültürel uygulamalara bağlı olarak değişebilmektedir. Aynı zamanda in vitro koşullarda kullanılan çözücüye ve metoda göre değişiklik göstermektedir (Heimler vd., 2006).

Tablo 1. *P. elaeagnifila* Meyve Örneklerinin Bazı Biyoaktif Bileşen ve Antioksidan Aktivite Sonuçları

Toplam Fenolik Madde (mg /100g)	Toplam Flavanoid Madde (mg/100g)	Toplam Askorbik Asit (mg/100g)	FRAP (µmol/g)	DPPH süpürücü aktivite IC ₅₀ (µg/ml)	radikal ABTS (%)	Total GSH (µM)	SOD (U/mL)
174.2±7.5	44.9±0.5	14.58±1.1	515.6±2.9	33.2±2.2	48.2±1.1	3.98 ± 0.15	6.89 ±0.014

Askorbik asit bitkisel hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan bir bileşiktir (Smirnoff,

1996). Tablo 1'de görüldüğü gibi şakok meyvelerinin toplam askorbik asit içeriği 14.58 mg AE/100g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Abacı vd. (2016) Ardahan

yöresinde banda adıyla bilinen yabancı armut meyvelerinin toplam askorbik asit içeriğinin 10.2 mg AE/100g ekstrakt olduğunu bildirmişlerdir. Sanchez-Moreno vd. (2003) *P. communis* meyvelerinde toplam askorbik asit miktarının 2.6 ile 5.3 mg AE/100g ekstrakt arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Şakok örneklerinin antioksidan aktivite analiz sonuçları Tablo 1’de görülmektedir. Örneklerin antioksidan kapasiteleri üç farklı metoda göre belirlenmiştir. DPPH metodunun temeli DPPH radikali ile etkileşime giren bitki ekstraktındaki antioksidanların yüzdesine dayanmaktadır. FRAP metodunun temeli antioksidanlar içeren bir örneğin oksidan özellikte olan ferik formdaki demiri ferro formuna indirgeme gücüne dayanır. ABTS metodunun temeli ise ABTS radikali ile etkileşime giren bitki ekstraktındaki antioksidanların yüzdesi temeline dayanmaktadır (Parejo vd., 2000; Mbaebie vd., 2012). Çalışmamızda örneklerin FRAP değeri 515.6 µmol/g ekstrakt, ABTS radikali süpürme aktivitesinin % 48.2, DPPH radikali süpürme aktivitesinin IC50 değerinin 33.2 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. Güdücü (2014) *P. elaeagnifila* meyvelerinin beş farklı konsantrasyonda (50, 100, 250, 500, 1000 µg/mL) hazırlanan metanol ve aseton ekstraktlarında DPPH radikali giderme aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak değiştiğini belirlemiştir. En yüksek aktivitenin (% 89.23) asetonla hazırlanan 1000 µg/mL konsantrasyondaki ekstraktlarda olduğu, en düşük aktivitenin (% 13.89) ise metanolla hazırlanan 100 µg/mL konsantrasyondaki ekstraktlarda olduğu bildirilmiştir. Şengül vd. (2018) ise *P. elaeagnifila* meyvelerinden elde edilen marmelatta DPPH radikali süpürme aktivitesini, çalışmamızda tespit ettiğimiz değerden çok daha düşük (% 3.56) bulmuşlardır. Bu durumun marmelat hazırlarken meyvenin ısı işlem görmesi sonucu antioksidan aktiviteye sahip

bileşenlerin miktarında azalma meydana gelmesiyle açıklayabiliriz.

Bitkilerin yapısında bulunan ve antioksidan aktiviteye sahip bileşenlerden birisi de glutatyonur. Glutatyon (GSH) bir tripeptit olup, hücreyi oksidatif ve diğer çevresel streslerin oluşturduğu zarara karşı korumakta görev yapmaktadır (Smirnova ve Oktyabrsky, 2005). Yine bitki yapısında bulunan enzimatik antioksidanlardan olan süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikalini (O₂⁻) hidrojen peroksit (H₂O₂) ve moleküler oksijene (O₂) katalizleyen enzimatik bir antioksidandır (Young, 2001). Çalışmamızda şakok meyve örneklerinin total GSH miktarının 3.98 µmol, SOD aktivitesinin ise 6.89 U/mL olduğu belirlenmiştir.

Şakok örneklerinin antimikrobiyal ve antimutajenik aktivite sonuçları Tablo 2 ve Tablo 3’te görülmektedir. Şakok armudu sulu ekstraktının *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Klebsiella pneumoniae*’ye karşı farklı oranlarda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlardan farklı olarak Güdücü (2014) *P. elaeagnifila* meyvelerinin metanol ve aseton ekstraktlarının 4 farklı konsantrasyonunun (50, 100, 200, 500 mg/mL) 7 bakteri (*Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Klebsiella pneumonia* ATCC33495, *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Enterobacter cloacae* ATCC13047, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* ATCC25923) üzerinde inhibisyon zon çapı oluşturmadığını ve antimikrobiyal aktivitesinin olmadığını belirlemiştir. Erbil vd. (2018) farklı armut çeşitleriyle yaptıkları bir çalışmada en yüksek antimikrobiyal aktiviteye *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027’ye karşı 20.14 mm inhibisyon çapı ile Banda armudunun, en düşük aktiviteye ise *Escherichia coli*’ye karşı 12.34 mm inhibisyon çapıyla Güğüm armudunun sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında farklı sonuçlar bildirilebilmektedir. Gözlenen bu farklılıklar numunenin yetiştiği iklim koşulları ve coğrafik koşullara bağlı olarak bitki içeriğinin değişmesi, kullanılan mikroorganizma tür ve/veya suşlarının farklı olması, farklı ekstraksiyon yöntemleri ve/veya çözücü seçimi gibi faktörlerden kaynaklanabilmektedir

Tablo 2. *P. elaeagnifila* Meyve Örneklerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Bakteri	Şakok armudu (mm)	Gentamisin (mm)
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 13813	30.68 ± 0.43	32.58 ± 0.35
<i>Bacillus megaterium</i> DSM 32	23.59 ± 0.47	29.69 ± 1.43
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	24.97 ± 2.13	34.33 ± 1.61
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24.58 ± 0.96	29.77 ± 1.31

Daha önce de belirtildiği gibi günümüzde doğal antioksidan kaynakları olan bitkisel ürünlere olan ilgi artmıştır. Bitki hücreleri kompleks birçok fitokimyasal içermektedir. Bu fitokimyasalların belli bir dozun üzerinde alınması toksik veya mutajenik etki oluşturabilmektedir (Wan-Ibrahim vd., 2010).

Bu nedenle bitkisel ürünlerin mutajenik aktivitelerinin bilinmesi de büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda meyve ekstraktlarının denenen altı konsantrasyonunun *S. typhimurium* TA 98 ve TA100 suşları üzerinde istatistiksel olarak kontrol ve pozitif kontrole göre mutajenik aktivite oluşturmadığı belirlenmiştir.

Tablo 3. *P. elaeagnifila* Meyve Örneklerinin Mutajenite Sonuçları

	TA98	TA100
Kontrol	15.67 ± 1.20	95.3 ± 19.8
PK⁺	2123 ± 151	2179 ± 208
100 µL/plate	31.67 ± 2.60	63.33 ± 7.54
80 µL/plate	22.33 ± 2.40	57.000± 0.577
60 µL/plate	30.00 ± 5.51	65.000± 0.577
40 µL/plate	38.67 ± 8.97	67.3 ± 10.7
20 µL/plate	16.33 ± 2.19	66.667± 0.882
10 µL/plate	31.00 ± 8.08	64.67 ± 4.18

*: kontrol ile aradaki fark önemlidir.

PK:Pozitif kontrol

+: TA 98 suşu için 4-nitro-ofenilen daimin (4-NPD) (100 µg petri-1), TA 100 suşu için sodyum azid (SA) (10 µg petri-1) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Sonuç olarak şakok armudunun askorbik asit, fenolik maddeler gibi sağlık için önemli fitokimyasallar içerdiği belirlenmiştir. Bu fitokimyasallar aynı zamanda meyvenin antioksidan ve antimikrobiyal özellik kazanmasını da sağlamaktadır. Çalışmada meyve ekstraktının orta düzeyde antioksidan aktivite sergilediği görülmektedir. Aynı zamanda insan patojeni olan bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olması da büyük önem taşımaktadır. Bütün bu özelliklerinin yanı sıra ekstraktların hiçbir dozunda mutajenik etki görülmemesi şakok armudu meyvelerinin insanlar için alternatif bir gıda kaynağı olarak rahatlıkla kullanılabileceğini göstermektedir.

4. Kaynaklar

- Abacı, Z.T., Sevindik, E., Ayvaz, M. 2016. Comparative study of bioactive components in pear genotypes from Ardahan/Turkey. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30, 1, 36-43.
- Anonim 2013. Ahlat bitkisi nedir, nasıl kullanılır? (<http://www.hastaliktedavi.net>), Son erişim tarihi: 19.11.2018
- Anonim 2017. <https://www.1organik.com/ahlat-agaci-ahlat-armudu.html>, Son erişim tarihi: 19.11.2018
- AOAC, 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed., Arlington VA, 1058-1059.
- Aslan, G., Yazıcı, K. 2017. Doğanın Bize Sunduğu Görsel Şölen Yabani Meyveler I. *Türktob*, 21, 60-64.
- Bakhshi, D., 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.
- Baltas, N. 2017. Investigation of a wild pear species (*Pyrus elaeagnifolia* subsp. *Elaeagnifolia* Pallas) from Antalya, Turkey: polyphenol oxidase properties and anti-xanthine oxidase, anti-urease, and antioxidant activity. *International Journal of Food Properties*, 20, 3, 585-595.
- Benzie, I.F.F, Strain, J.J. 1996. The ferric reducing Ability of plasma (FRAB) as a measure of Antioxidant power: The FRAB assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Collins, C.M., Lyne, P.M., Grange, J.M., 1989. Antimicrobial sensitivity and assay tests. Collins and Lyne's Microbiological Methods. Butterworths, London
- Coşkun, T., 2005. Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48, 69-84.
- Çakılcıoğlu, U., Şengün, M.T., Türkoğlu, D. 2010. An ethnobotanical survey of medicinal plants of Yazıkonak and Yurtbaşı districts of Elazığ province, Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 7, 567-572.
- Heimler, D. Vignolini, P. Dini, M.G. Vincieri, F.F. Pomani, A. 2006. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99, 464-469.

- Erbil, N., Murathan, Z. T., Arslan, M., Ilcim, A., Sayin, B. 2018. Antimicrobial, Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Five Turkish Pear Cultivars. *Erwerbs-Obstbau*, 60, 3, 203-209.
- Güdücü, F. 2014. *Pyrus elaeagrifolia* bitkisi ekstrelerinin fenolik madde içerikleri, DPPH radikali giderme aktiviteleri ve in vitro antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. Master's thesis, Trakya Üniversitesi.
- Justesen, U., Knuthsen, P., Leth, T. 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavonones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photodiode array and massspectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 799, 101-110.
- Keçeci, L. D. 2017. Hakkari yöresi üstün nitelikli ahlat (*Pyrus elaeagrifolia* L.) genotiplerinin bazı özelliklerinin belirlenmesi. Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Maron, D., Ames, B. 1983. Revised Methods for the *Salmonella* Mutagenicity Test. *Mutation Research*, 113, 173-215.
- Mbaebie, B.O., Edeoga, H.O., Ajelayan, A.J. 2012. Phytochemical analysis and antioxidant activities of aqueous bark extract of Schoba lahtolic JACQ. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2, 118-124.
- Naczka, M., Shahidi, F. 2006 Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, 1523-1542.
- Nizamoglu, N.M., Nas, S. 2010. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5, 1, 20-35.
- Özbek, S. 1985. Genel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları Ders Kitabı, 386.
- Parejo, L., Codina, C., Petrakis, C., Kefalas, P. 2000. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH center dot (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44, 507-512.
- Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, J., Luyck, M., Cazin, M., Cazin, J.C., Bailleul, F., and Trotin, F. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 35-40.
- 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, 9/10, 1231-1237.
- Sanchez-Moreno C, Plaza L, De Ancos B, et al. 2003. Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *J Sci Food Agr*. 83, 430-439.
- Sedlak, J., Lindsay, R.H. 1968. Estimation of Total Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. *Analytical Biochemistry*, 25, 1, 192-205.
- Smatana, L., Kytka, J., Kadarova, S. 1988. Results of Breeding and Groving Minor Fruit Species in Czechoslovakia. *Acta Horticulture*, 224, 83-87.

- Smirnoff N. 1996 The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann Bot.* 78, 661-669.
- Smirnova, G.V., Oktyabrsky, O.N. 2005. Glutathione in Bacteria. *Biochemistry (Moscow)*, 70 11, 1199-1211.
- Spanos, G.A., Wrolstad, R.E. 1992. Phenolic of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40, 9, 1478-1487.
- Şengül, M., Topdaş, E.F., Doğan, H., Serencam, H. 2018. Artvin İlinde Geleneksel Olarak Üretilen Bazı Marmelat Çeşitlerinin Çeşitli Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri ile Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik Profillerinin Araştırılması. *Akademik Gıda*, 16, 1, 51-59.
- Tripathi K, Mishra AS. 2007. Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Anim Feed Sci and Technol*, 132, 1-27.
- 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.
- Yılmaz, K.U., Ercisli, S., Cam, M., Uzun, A., Yilmaztekin, M., Kafkas, E., Pinar, H. 2015. Fruit Weight, Total Phenolics, Acidity and Sugar Content of Edible Wild Pear (*Pyrus elaeagnifolia* Pall.) *Fruits. Erwerbs-Obstbau*, 57, 4, 179-184.
- Young IS, Woodside JV. 2001. Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.* 54, 3, 176-186.