

Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvesindeki A, E Vitamini, Beta-Karoten, Likopen, Redükte ve Okside Glutasyon Miktarlarının Araştırılması

Hayriye BOYACI¹, Ebru ÇÖTELİ¹, Fikret KARATAŞ^{1*}

¹*Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 23119, Elazığ, Türkiye

(Geliş Tarihi/Received: 04.06.2016, Kabul Tarihi/Accepted: 27.07.2016)

ÖZET

Bu çalışmada, Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) meyvelerinin A, E vitamini, beta-karoten, likopen, redükte ve okside glutasyon miktarları Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile belirlendi. Kayserinin Bünyan, Develi ve Melikgazi ilçelerinde yetişen aynı cins gilaburu meyvelerinin A, E vitamini, beta-karoten, likopen, redükte ve okside glutasyon miktarları sırasıyla 0.10 ± 0.01 - 0.24 ± 0.03 µg/g; 0.96 ± 0.12 - 14.38 ± 1.58 µg/g; 3.27 ± 0.23 - 6.52 ± 0.70 µg/g; 2.89 ± 0.30 - 10.95 ± 1.10 µg/g; 206.78 ± 13.24 - 334.75 ± 16.81 µg/g ve 19.16 ± 1.57 - 23.40 ± 3.38 µg/g arasında değiştiği gözlemlendi. Sağlıklı bir diyet için beta-karoten, likopen ve GSH olmasına rağmen GSSG seviyesinin yüksek olması istenmeyen bir durumdur. Bu durumda, bulgularına göre, beslenme bakımından *Viburnum opulus* L.'nin en yararlı meyveleri Melikgazi, Develi ve Bünyan bölgeleri şeklinde sıralanabilir.

Anahtar kelimeler: Gilaburu (*Viburnum opulus* L.), A vitamini, E vitamini, Beta-karoten, Likopen ve Glutasyon

Investigation of Amounts of Vitamin A, vitamin E, Beta-carotene, Lycopene, Reduced and Oxidized Glutathione in Fruits of *Viburnum opulus* L.

ABSTRACT

In this study, the amounts of vitamin A, vitamin E, beta-carotene, lycopene as well as reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) in the fruits of *Viburnum opulus* L. were determined by using High Performance Liquid Chromatography. The amounts of vitamin A, vitamin E, β-carotene, lycopene, GSH and GSSG in the fruits of *Viburnum opulus* L. of same kind which are grown in Bünyan, Develi and Melikgazi towns of Kayseri were observed to change between 0.10 ± 0.01 - 0.24 ± 0.03 µg/g; 0.96 ± 0.12 - 14.38 ± 1.58 µg/g; 3.27 ± 0.23 - 6.52 ± 0.70 µg/g; 2.89 ± 0.30 - 10.95 ± 1.10 µg/g; 206.78 ± 13.24 - 334.75 ± 16.81 µg/g and 19.16 ± 1.57 - 23.40 ± 3.38 µg/g, respectively. Although, β-carotene, lycopene and GSH are significantly important for a healthy diet, high levels of GSSG is undesirable. In this case, according to our findings, nutritionally the most useful fruits of *Viburnum opulus* L. are of the areas of Melikgazi, Develi and Bünyan, respectively.

Keywords: *Viburnum opulus* L., Vitamin A, Vitamin E, Beta-carotene, Lycopene and Glutathione

1. Giriş

Dispaceales (Rubilas) takımının Caprifoliaceae (hanımeli) familyasından olan *Viburnum opulus* L. (gilaburu) bitkisinin gövde, kabuk

ve meyveleri farmakolojide geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Gilaburu ülkemizde başta Kayseri olmak üzere Bursa, Sakarya, Tokat, Sivas illerinde doğal olarak

yetişmektedir (Davis, 1972; Baytop, 1999; Soylak vd., 2002). Gilaburu bitkisinin gövdesinde, kabuğunda ve meyvelerinde birçok bileşik saptanmıştır. Gilaburunun diğer aktif bileşenleri ise hidrokinonlar, arbutin, metilarbutin, skopoletin ve skopolin gibi inler ile tanenlerdir (Baytop, 1999; Bolat ve Özcan, 2002). Gilaburu içeriğindeki asitler nedeniyle antikanserojen, antimikrobiyal ve antioksidan özelliğe sahiptir. Antioksidanlar vücutta serbest radikalleri bağlayarak sağlığa zararlı birçok olumsuz etkiyi durdurmaktadır (Rop vd., 2010; Kraujalyte vd., 2013). Gilaburu çekirdeklerinin aspartik asit, treonin, serin, glutamik asit, prolin, glisin, alanin, valin, lösin, izolösin, tirozin, fenilalanin, histidin, lisin ve arjinin olmak üzere toplam 15 farklı aminoasit içerdiği bilinmektedir. Ayrıca bu çekirdeklerin yağ asidi ve serbest yağ bakımından da zengin olduğu rapor edilmektedir (Yunusova vd., 2004). Gilaburu suyunun böbrekte oluşan kum ve taşları eritici özelliğinin de olduğu bilinmektedir. Gilaburunun gövde ve kabuklarından elde edilen sıvının dâhili ve harici kullanım alanları vardır. Hafif astım, yüksek tansiyon, sindirim problemleri (Ulger vd., 2013), epilepsi nöbetleri, bazı kalp rahatsızlıkları, kramplar, menüel sancılar, kabakulak, doğum sonrası sancıları, uyku bozuklukları, romatizma ve bazı sinir rahatsızlıklarında dâhili olarak, egzamam gibi bazı cilt problemlerinde ise harici olarak kullanılmaktadır (C˘esoniene vd., 2010; Crisan vd., 2013). Gilaburu suyunun böbrekte oluşan kum ve taşları eritici özelliğinin de olduğu bilinmektedir. Anadolu'da safra ve

karaciğer hastalıklarının tedavisinde bu bitkiden yararlanılmaktadır. Gilaburu meyvesi, meyve suyu ve nektar olarak ta kullanıldığı gibi (Çam ve Hisil, 2007), boya ve mürekkep endüstrisinde de kullanım alanı bulunmaktadır (URL-1, 2016). Yapılan literatür taramalarında gilaburu meyvesinin C vitamini açısından zengin olduğu belirtilmektedir. Ancak A, E vitamini, β -karoten, likopen ile redükte (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) miktarları ile ilgili araştırma sayısına oldukça az rastlanmıştır. Bu nedenle gilaburu meyvelerindeki ortalama A, E vitamini, β -karoten, likopen ile okside ve redükte glutasyon miktarlarını belirlemek ve farklı yerlerde yetişmiş olan gilaburu meyvelerindeki bu parametrelerin birbirleri ile karşılaşmak, halk arasında içecek olarak bolca tüketilen bu bitki hakkında literatür bilgisine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2. Materyal and Metot

Bu çalışmada Kayseri ilinin Melikgazi, Develi ve Bünyan ilçelerinde yetişen Gilaburu bitkisinin meyveleri kullanıldı. Gilaburu meyve örnekleri, Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim dalında teyit ettirildi.

2.1. Meyve örneklerindeki A, E vitamini, Beta-Karoten ve Likopen miktarlarının belirlenmesi

Homojenizatörde iyice parçalanmış olan meyvelerden yaklaşık 1.0 gram tartılarak polietilen tüplere alındı. Her bir tüp üzerine 5 mL etil alkol ilave edilerek vortekslendi ve bu karışım 3000 devirde 4 dakika santrifüj edildi. Ardından örnekler üzerine 1.0 mL n-

hekzan ilave edilerek çalkalandı. Böylece A, E vitamini, β -karoten ve likopen n-hekzan fazına ekstrakte edilmiş oldu. Bu ekstraksiyon işleminin iki kez tekrarı ile elde edilen n-hekzan ekstraktları birleştirilip azot gazı altında kuruyuncaya kadar buharlaştırılarak uzaklaştırıldı. Tüpteki kalıntı 200 μ L metanolle çözülerek HPLC'de analize hazır hale getirildi. A, E vitamini ve β -karotenin ile likopen tayinlerinde Supelcosil LC-18 kolonu (5,0 μ m, 4,6 mm x 25 cm) ve metanol: su (98:2 v/v) karışımından oluşmuş mobil faz kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlandı. E vitamini 296 nm, A vitamini 326 nm, β -karoten ve likopen ise 465 nm'de tayin edildi (Miller vd., 1984; Supelco-2005-2006).

2.2. GSH ve GSSG miktarlarının belirlenmesi

Homojenize edilmiş gilaburu örneklerinden yaklaşık 0.5 gram tartılarak polietilen tüplere alındı. Her bir tüp üzerine 1.0 mL 0.5 M HClO₄ ilave edilerek karıştırıldı. Örnekler parçalandıktan sonra 5 dk vortekslendi. Daha sonra bu örnekler 4.5 mL saf su ilave edilerek tekrar karıştırıldı ve 4500 rpm de 10 dakika santrifüjlenip asıltı partiküller çöktürüldü. GSH ve GSSG miktarlarını belirlemek için santrifüjlenen süzütünün üst kısmından 20 μ L alınarak HPLC'ye enjekte edildi. HPLC'de SUPELCO Analytical EXSIL 100-5 ODS (5 μ m, 25 cm x 4.6 mm) kolonu ve hareketli faz olarak da çözücüsü % 0.1 H₃PO₄ olan 50 mM'lık NaClO₄ çözeltisi kullanıldı. Hareketli fazın akış hızı: 1 mL/dk ayarlanarak 215 nm'de GSH ve GSSG tayin edildi (Dawes ve Dawes, 2000).

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Merck firmasından temin edilmiş ve tüm çalışmalarda bidistile su, vitaminlerin analizlerinde ise Cecil 1100 serisi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Cecil 68174 UV dedektörü ve HP 3395 integratörü) kullanıldı.

2.2. İstatistiksel Analiz

Gilaburu örneklerine uygulanan analizler, üç paralel halinde yürütülerek, verilerin aritmetik ortalamaları ile standart hataları hesaplandı. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı (SPSS v15). *p* değeri %5'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

3. Bulgular ve Tartışma

A vitamini büyüme, cilt gelişimi, görme fonksiyonları, üreme, kemik büyümesi, hücre bölünmesi ve farklılaşması ile enfeksiyonlara karşı vücut direncinin artırılmasında görev alır (Aksoy, 20000). Tablo 1'de görüleceği üzere A vitamini bakımından Develi bölgesindeki Gilaburu meyvesinin (0.24 $\pm$ 0.03 μ g/g) kısmen zengin olduğu, Bünyan bölgesinin ise A vitamini açısından oldukça fakir (0.10 $\pm$ 0.01 μ g/g) olduğu görülmektedir. Bünyan ve Melikgazi bölgelerinin A vitaminleri istatistiksel olarak farksız (*p*>0.05) iken, Develi bölgesi A vitamini (*p*<0.05) farklıdır.

Tablo 1. Kayserinin üç ilçesindeki Gilaburu örneklerindeki A, E vitamini, β -karoten, likopen ile GSH ve GSSG miktarları

Parametre	Bünyan	Develi	Melikgazi
A Vitamini ($\mu\text{g/g}$)	0.10 ± 0.01	0.24 ± 0.03	0.13 ± 0.014
E Vitamini ($\mu\text{g/g}$)	2.93 ± 0.28	14.38 ± 1.58	0.96 ± 0.12
β -Karoten ($\mu\text{g/g}$)	5.04 ± 0.57	3.27 ± 0.23	6.52 ± 0.70
Likopen ($\mu\text{g/g}$)	2.89 ± 0.30	3.77 ± 0.33	10.95 ± 1.10
GSH ($\mu\text{g/g}$)	206.78 ± 13.24	334.75 $\pm$ 16.81	299.32 ± 12.19
GSSG ($\mu\text{g/g}$)	20.72 ± 1.57	23.40 $\pm$ 3.38	19.16 ± 1.57
GSH / GSSG	9.98	14.31	15.62

Vitamin E, serbest radikallerin oksidasyonuna karşı hücre membranındaki poliansature yağ asitlerini korumada ilk savunma hattını oluşturur. Hidrojen iyonları ile peroksit ve hidroperoksitleri doyurup, peroksit radikallerinin aktivitesini azaltarak otooksidasyonun başlatıcısı olan bu reaksiyonu inhibe eder (Underwood, 1977; Ognjanovic vd., 2003). Yine Tablo 1’de görüleceği gibi Develi bölgesindeki Gilaburunun E vitamini açısından oldukça zengin ($14.38 \pm 1.58 \mu\text{g/g}$) olduğu, Melikgazi bölgesinin ise fakir ($0.96 \pm 0.12 \mu\text{g/g}$) olduğu belirlendi. Melikgazi bölgesinin E vitamini diğer iki bölgeden daha düşüktür ($p < 0.005$).

β -karoten önemli bir antioksidan madde olup doymamış yağların oksidasyonunu önleyerek serbest radikallerin oluşumunu baskılar. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar oksidatif stresle ilişkili dejeneratif hastalıklar ile karotenoid tüketimi ve/veya kan düzeyleri arasında ters bir ilişkinin olduğunu göstermektedir (Paiva ve Russell, 1999). Tablo’dan Melikgazi bölgesinin β -karoten bakımından kısmen zengin ($6.52 \pm 0.70 \mu\text{g/g}$), Develi bölgesinin ise fakir ($3.27 \pm 0.23 \mu\text{g/g}$) olduğu söylenebilir. Bünyan ve Melikgazi bölgeleri β -karoten miktarları farksız ($p > 0.05$) iken, Develi bölgesi β -karoten miktarı daha düşüktür ($p < 0.05$).

Karotenoidlerin önemli bir türevi de kırmızı rengi veren likopendir (Yaping vd., 2002). Likopen provitamin A aktivitesi göstermez. *In vitro* koşullarda likopen karotenoidler arasında en güçlü antioksidan olup daha büyük radikal toplama aktivitesine sahiptir (Stahl ve Sies, 1992; Lindshield vd., 2007). Likopen açısından Melikgazi bölgesinin zengin ($10.95 \pm 1.10 \mu\text{g/g}$), Bünyan bölgesinin ise fakir ($2.89 \pm 0.30 \mu\text{g/g}$) olduğu belirlenmiştir. Bünyan bölgesi likopen miktarı Develi bölgesinden ($p < 0.05$) iken, Melikgazi bölgesinden ise daha düşüktür ($p < 0.005$).

Glutasyonun indirgenmiş formu olan GSH ise hücre içi ortamın en önemli antioksidan molekülü olup, ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesi, aminoasitlerin transportu, proteinlerdeki sülfidril gruplarının indirgenmiş halde tutulması gibi pek çok fonksiyonu da vardır (Esterbauer vd., 1992; Konukoğlu ve Akçay, 1995). Tablo 1’de

görülebileceği üzere GSH bakımından en zengin bölgenin Develi ($334.75 \pm 16.81 \mu\text{g/g}$), en düşük bölgenin ise Bünyan ($206.78 \pm 13.24 \mu\text{g/g}$) olduğu belirlenmiştir. Develi bölgesinin GSSG bakımından en zengin ($23.40 \pm 3.38 \mu\text{g/g}$), fakir bölgenin ise Melikgazi ($19.16 \pm 1.57 \mu\text{g/g}$) olduğu gözlenmiştir. Bünyan bölgesi GSH miktarı hem Melikgazi hem de Develi bölgelerinin GSH miktarından daha düşüktür ($p < 0.005$). Her üç bölgenin GSSG miktarları arasında ise anlamlı bir fark yoktur ($p > 0.05$).

Glutasyonun redoks düzeyi, indirgenmiş ve oksitlenmiş düzeylerinin oranına (GSH/GSSG) bağlıdır (Morel ve Barouki, 1999). Bazal düzeyde GSH/GSSG oranı yüksek iken, ancak birçok oksidatif stres modelinde bu oran strese bağlı olarak düşme göstermektedir (Chai vd., 1994). Tablo 1'deki değerler incelendiğinde GSH/GSSG oranının düşük olduğu Bünyan bölgesi gilaburu (9.98) iken, Melikgazi bölgesi gilaburu (15.62) daha yüksek bulundu. Bilindiği üzere çevresel ve fiziksel faktörlerde bu GSH/GSSG oranı etkilemektedir (Kocsy vd., 2001; Karatas vd., 2009). Bulgularımızdan Melikgazi bölgesi gilaburu bitkisinde stresin az olduğu, Bünyan bölgesinde ise stresin daha fazla olduğu söylenebilir. Ayrıca bitkilerin stres durumlarında kendilerini korumak için antioksidanların sentezlerini artırdıkları rapor edilmektedir (Munzuroğlu vd., 2000).

Vitaminler, β -karoten, likopen ve GSH sağlıklı beslenme açısından oldukça önemlidir. Fakat GSSG miktarının yüksek olması ise bunların aksine istenmeyen bir durumdur. Tüm bu sebeplerden dolayı,

bulgularımızdan en yararlı gilaburu meyvesinin sırasıyla Melikgazi, Develi ve Bünyan bölgesinde oldukları rahatlıkla söylenebilir. Bölgeler arasındaki parametrelerdeki bu farklılıklar ise yetiştirme ortamı, meyvenin olgunluk derecesi, iklim koşulları ve rakım farklılıkları gibi çevresel faktörler ile açıklanabilir.

Açıklama

Bu çalışma TÜBİTAK (BİDEB- 2209 Proje Numarası 1919B011403216) tarafından desteklenmiştir. Bu destekten dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

3. Kaynaklar

- Aksoy, M. 2000. Beslenme Biyokimyası, Hatipoğlu Basım ve Yayımları San. Tic. Ltd. Şti., Ankara, 321-342s.
- Baytop, T. 1999. Therapy with medicinal plants in Turkey (2nd ed. Istanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, pp. 210.
- Bolat, S., Özcan, M.(2002. The morphological, phenological and chemical composition of cranberry tree (*Viburnum opulus* L.) fruits. Obst-,Gemüse-und Kartoffelverarbeitung, 87.Jahrgang, Nr.5/2002.
- Cesoniene, L., Daubaras, R., Vencloviene, J. and Viškelis, P. 2010. Biochemical and agro-biological diversity of *Viburnum opulus* genotypes. Central European Journal of Biology, 6, 864–871.
- Chai, Y.C., Ashraf, S.S., Rokutan, K., Johnston, R.B., Jr, Thomas, J.A. 1994. Sthiolation of individual human neutrophil proteins including actin by

- stimulation of the respiratory burst: evidence against a role for glutathione disulfide. *Arch Biochem Biophys*, 310, 273-281.
- Crisan, M., David, L., Moldovan, B., Vulcu, A., Dreve, S., Perde-Schrepler, M., Tatomir, C., Filip, AG., Bolfa, P. and Achim, M. 2013. New nanomaterials for the improvement of psoriatic lesions. *Journal of Materials Chemistry B*. 1(25), 3152-3158
- Çam, M., Hisil, Y. 2007. Comparison of chemical characteristics of fresh and pasteurised juice of gilaburu (*Viburnum opulus* L.). *Acta Alimentaria*, 36, 381-85.
- Davis, P.H. 1972. *Flora of Turkey and the east agean Island*. Edinburg at the University Pres., Edinburg, Vol.4, p. 544.
- Dawes, P. and Dawes, E., 2000. *SGE Chromatography Products Catalog*. pg: 182.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jürgens, G. 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology & Medicine*, 13, 341-390.
- Karatas, F., Öbek, E., Kamışlı F. 2009. Antioxidant capacity of *Lemna gibba* L. exposed to wastewater treatment. *Journal of Ecological Engineering*, 35, 1225- 1230.
- Kocsy, G., Galiba, G., Brunold, C. 2001. Role of glutathione in adaptation and signalling during chilling and cold acclimation in plants. *Physiol Plantarum*, 113, 158-164.
- Konukoğlu, D., Akçay, T. 1995. Glutasyon metabolizması ve klinik önemi. *Türkiye Klinikleri Journal Med Science*, 15(4), 214-218.
- Kraujalyte, 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.
- Lindshield, B.L., Canene-Adams, K., Erdman, Jr J.W. 2007. Lycopene: Are lycopene metabolites bioactive? *Archives of Biochem and Biophysics*, 458, 136-140.
- Miller, K.W., Lorr, N.A. and Yang, C.S. 1984. Simultaneous determination of plasma retinol α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high performance liquid chromatography, *Analytical Biochemistry*, 138, 340-345.
- Morel, Y., Barouki, R. 1999. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*, 342, 481-496.
- Munzuroğlu, Ö., Karataş, F. ve Gür, N. 2000. Işgın (*Rheum-ribes* L.) Bitkisindeki A, E ve C Vitaminleri ile Selenyum Düzeylerinin Araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 24(3), 397-404.
- Ognjanovic, B.J., Pavlovic, S.Z., Maletic, S.D., Zikic, R.V., Stajin, A.S., Radojicic, R.M., Saicic, Z.S. and Petrovic, V.M. 2003. Protective influence of vitamin E on

- antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium. *Physiological Research*, 52, 563– 70.
- Paiva, S.A., Russell, R.M. 1999. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *The Journal of the American College of Nutrition*, 18, 426-33.
- Rop, O., Reznicek, V., Valsikova, M., Jurikova, T., Mlcek, J. and Kramarova, D. 2010. Antioxidant Properties of European Cranberrybush Fruit (*Viburnum opulus* var. *edule*). *Molecules*, 15, 4467-4477.
- Soylak, M., Elci, L., Saracoglu, S., Divrikli, U. 2002. Chemical analysis of fruit juice of European cranberrybush (*Viburnum opulus*) from Kayseri – Turkey. *Asian J. Chem.*, 14, 135-138.
- Supelco Chromatography Products for Analysis & Purification (2005-2006) Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Export Department Eschenstraße Taufkirchen, Germany, 169s.
- Stahl, W., Sies, H. 1992. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heatprocessed than from unprocessed tomato juice in humans. *Journal of Nutrition*, 122(11), 2161-2166.
- Ulger, H., Ertekin, T., Karaca, O., Canoz, O., Nisari, M., Unur, E. and Elmalı, F. 2013. Influence of gilaburu (*Viburnum opulus*) juice on 1, 2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon cancer. *Toxicology and Industrial Health*, 29(9), 824–29.
- Underwood, E.J. 1977. Trace Elements in Human and Animal Nutrition New York, Academic Press. 302-346.
- URL-1, Gilaburu ve Sağlık 05.06.2016 http://www.cinetarim.com.tr/dergi/arsi_v46/arastirma02.htm
- Yaping, Z., Suping, Q., Wenli, Y., Zheng, X., Hong, S., Side, Y., Dapu, W. 2002. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl₃O₂. *Food Chemistry*, 77, 209-212.
- Yunusova, S.G., Karimova, A.R., Tsyrlina, E.M., Yunusov, M.S. and Denisenko, O.N. 2004. Change on storage of biological activity of *Viburnum opulus* seed components. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(5), 423-426.