KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Oryza sativa Linn. ATIK KABUKLARININ EKSTRAKSİYONUNUN BİYOAKTİVİTE REHBERLİ OPTİMİZASYONU VE ÇEŞİTLİ TÜMÖR HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖROJENİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

VELİ BARULAY

KOCAELİ 2018

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Oryza sativa Linn. ATIK KABUKLARININ EKSTRAKSİYONUNUN BİYOAKTİVİTE REHBERLİ OPTİMİZASYONU VE ÇEŞİTLİ TÜMÖR HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖROJENİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

VELİ BARULAY

Doç. Dr. Canan SEVİMLİ GÜR
Danışman, Kocaeli Üniv. .....
Doç. Dr. Özlem AKSOY
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv. .....
Dr. Öğr. Üyesi Nermin SARIGÜL
Jüri Üyesi, Mehmet Akif Ersoy Üniv. .....

Tezin Savunulduğu Tarih: 12.06.2018

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, *Oryza sativa'* nın yan ürünü olan pirinç kabuğunun protein özütlerinin sitotoksik aktivitelerinin tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.
Tez çalışmamda her türlü desteğini esirgemeyen, çalışmalarıma ışık tutan sevgili danışman hocam Doç. Dr. Canan SEVİMLİ GÜR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.
Bu çalışmada Ege Üniversitesi Bölümü, Biyomühendislik Bölümü, Hücre kültürü Laboratuvarları alt yapı imkanları kullanılmıştır. Çalışmamızda bizden her türlü desteğini esirgemeyen labratuar çalışanlarına ve Gözde BUDAK'a teşekkürlerimi sunarım.
Bu çalışmada kullanılan atık *Oryza sativa* kabuğuna ait ham protein ekstreleri Ege Üniversitesi Güneş Enerjisi Enstitüsü Doç. Dr. Melih Soner ÇELİKTAŞ ve Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü Doç. Dr. Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ tarafından elde edilmiştir. Sayın Doç. Dr. Melih Soner Çeliktaş ve Doç. Dr. Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ'a destekleri için minnet duyar teşekkür ederim.
Bu tez çalışması, Kocaeli üniversitesi, BAP Birimi tarafından lisansüstü tez projelerini destekleme programı kapsamında KOU/BAP/2018/039 nolu proje ile desteklenmiştir. Kocaeli üniversitesi, BAP Birimine finansal desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.
Hayatım boyunca her türlü desteği veren sevgili annem, sevgili babam, sevgili abim Hasan BARULAY, sevgili ablalarım Berrin ÖZTÜRK ve Halise BARULAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.
Son olarak yol arkadaşım, canım eşim Gülistan BARULAY'a anlayışı ve desteği için sonsuz teşekkür ederim.

Haziran - 2018 Veli BARULAY

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
TABLOLAR DİZİNİ vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ viii
ÖZET ii
ABSTRACT x
GİRİŞ 1
1. GENEL BİLGİLER VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 4
1.1. Pirinç Hakkında Genel Bilgi ve Önceki Çalışmalar 4
1.1.1. Bilimsel sınıflandırma 4
1.1.2. Pirinç kökeni ve yayılışı 4
1.1.3. Pirincin bitkisel özellikleri 5
1.1.3.1. Pirinç tane yapısı 5
1.1.4. Pirincin besin özellikleri 6
1.1.5. Pirincin tıbbi özellikleri 7
1.1.6. Dünyada ve Türkiye'de pirinç üretimi 9
1.1.7. Pirincin yan ürünleri 10
1.2. Pirinç Kabuğunun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri 11
1.2.1. Pirinç kabuğunun fiziksel özellikleri 11
1.1.2. Pirinç kabuğunun kimyasal özellikleri 12
1.2.2.1. Pirinç kabuğu proteinleri 14
1.2.2.2. Pirinç kabuğunun allelokimyasal özellikleri 16
1.3. Pirinç Kabuğunun Biyolojik Aktiviteleri 16
1.3.1. Pirinç kabuğunun anti bakteriyel etkileri 16
1.3.2. Pirinç kabuğunun anti enflamatuar ve anti alerjik etkileri 17
1.3.3. Pirinç kabuğunun antikanser etkisi 18
1.3.4. Pirinç kabuğunun antioksidan etkisi 20
1.4. Pirinç Kabuğunun Biyoteknolojik Önemi 22
1.4.1. Pirinç kabuğunun ilaç endüstrisinde kullanımı 23
1.4.2. Pirinç kabuğunun biyoenenerjide kullanımı 25
1.4.3. Pirinç kabuğunun inşaat endüstrisinde kullanımı 26
1.4.4. Pirinç kabuğunun gıda endüstrisinde kullanımı 26
1.5. Basınçlı Sıcak Su Ekstraksiyonu(BSSE) 27
1.5.1. Ekstraksiyon parametreleri 28
1.5.1.1 Su 28
1.5.1.2 Sıcaklık ve basınç 29
1.5.1.3 Örnek miktarı ve cinsi 29
1.5.1.4 Ekstraksiyon süresi 29
1.5.2. Ekstraksiyon mekanizması 30
2. MATERYAL VE METOT 32
2.1. Bitki Materyali 32
2.2. *Oryza sativa* Atık Kabuğundan Protein Ekstrelerinin Hazırlanması 32

2.3. Ekstrelerin Protein Miktarının Belirlenmesi 33
2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları 33
2.4.1. Tümör hücrelerinin çoğaltılması ve dondurularak saklanması 33
2.4.2. Hücre canlılık oranlarının belirlenmesi..... 35
3. BULGULAR VE TARTIŞMA 38
3.1 Atık *Oryza sativa* Atık Kabuğunundan Elde edilen Ekstrelerin Protein Miktarları..……...38
3.2 Atık *Oryza sativa* Kabuğundan Elde Edilen Protein Ekstrelerinin Çeşitli Tümör Hücreleri Üzerine Antitümörojenik Aktiviteleri…….39
3.3 Atık *Oryza sativa* Kabuğundan Elde Edilen Protein Ekstrelerinin Çeşitli Tümör Hücreleri Üzerinde Elde edilen IC_{50} Değerleri……80
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 82
KAYNAKLAR 88
KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER 93
ÖZGEÇMİŞ…..……..94

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Pirinç bitkisi 5
Şekil 1.2. Pirinç tanesi ve kısımları. 6
Şekil 1.3. Dünya pirinç üretimi. 10
Şekil 1.4. Pirinç yan ürünleri 11
Şekil 1.5. *Oryza sativa* kabuğu 12
Şekil 1.6. Basınçlı su ekstraksiyonu sistemi 30
Şekil 2.1. Basınçlı sıcak su ekstraksiyon cihazı 33
Şekil 2.2. Kullanılan A549 hücre hattının mikroskoptaki görüntüsü 34
Şekil 2.3. Kullanılan MCF7 hücre hattının mikroskoptaki görüntüsü 34
Şekil 2.4. Kullanılan MDA-MB-231 hücre hattının mikroskoptaki görüntüsü..... 35
Şekil 2.5. Kullanılan VERO hücre hattının mikroskoptaki görüntüsü 35
Şekil 2.6. Hücrelerin pasajlanması 36
Şekil 2.7. MTT testi 36
Şekil 2.8 Versamax,Tunable Microplate Reader 37
Şekil 2.9. Hücre canlılığının belirlenmesi 37
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE1 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 40
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE2 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 43
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE3 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 45
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE4 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 47
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE5 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 49
Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE6 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 51
Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE7 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 54

Şekil 3.8. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE8 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 56
Şekil 3.9. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE9 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 58
Şekil 3.10. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE10 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 61
Şekil 3.11. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE11 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 63
Şekil 3.12. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE12 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 65
Şekil 3.13. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE13 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 67
Şekil 3.14. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE14 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 70
Şekil 3.15. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE15 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 72
Şekil 3.16. A549 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi..... 75
Şekil 3.17. MCF7 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi..... 76
Şekil 3.18. MDA-MB-231 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi..... 78
Şekil 3.19. VERO normal hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda hücre canlılıklarına olan etkisi..... 79

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Pirinç yan ürünlerinin yaklaşık bileşimi ve mineral içeriği 11
Tablo 1.2. Pirinç kabuğu yaklaşık ve element analizi..... 13
Tablo 1.3. Pirinç kabuğu eser miktardaki element analizleri..... 13
Tablo 1.4. Pirinç kısımlarının protein içerikleri..... 15
Tablo 1.5. Protein ekstraksiyon değerinin optimizasyonu için bağımsız değişkenler 30
Tablo 2.1. Protein ekstraksiyon değerinin optimizasyonu için bağımsız değişkenler 32
Tablo 3.1. Atık *Oryza sativa* kabuğundan elde edilen ekstrelerin protein miktarları 38
Tablo 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE1 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 40
Tablo 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE2 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 42
Tablo 3.4. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE3 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 44
Tablo 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE4 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 46
Tablo 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE5 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 49
Tablo 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE6 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 51
Tablo 3.8. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE7 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 53
Tablo 3.9. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE8 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 55

Tablo 3.10. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE9 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 58
Tablo 3.11. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE10 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 60
Tablo 3.12. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE11 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 62
Tablo 3.13. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE12 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 65
Tablo 3.14. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE13 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 67
Tablo 3.15. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE14 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 69
Tablo 3.16. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE15 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. 71
Tablo 3.17. A549 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi..... 74
Tablo 3.18. MCF7 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi..... 75
Tablo 3.19. MDA-MB-231 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi..... 77
Tablo 3.20. VERO hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi..... 78
Tablo 3.21. Atık pirinç kabuğu protein ektrelerinin A549, MCF7, MDA-MB-231, Vero hücre hatlarındaki IC_{50} değerleri 80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

kg	: Kilogram
mL	: Mikro litre
mm	: Milimetre
µM	: Mikro molar
µG	: Mikro gram
v/w	: Çözeltinin hacmi mL/ çözünen maddenin ağırlığı (g)
SiO_2	: Silikon dioksit

Kısaltmalar

BSSE	: Basınçlı Sıcak Su Ekstraksiyonu
DMSO	: Dimetilsülfoksit
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic Acid (Etilendiamin tetra asetik asit)
hs-CRP	: C-reaktif Protein
HT-29	: Kolon Adenokarsinom
IC_{50}	: Yarı Maksimal İnhibisyon Konsantrasyonu
LPS	: Lipopolisakkarid
NCI-H460	: Akciğer Adenokarsinom
NK	: Negatif Kontrol
MTT	: 3-4,5-dimetil-tiyazolil-. 2,5- difeniltetrazolyum Bromid
PK	: Pozitif Kontrol
SW620	: Kolon Adenokarsinom Epiteli

***Oryza sativa Linn.* ATIK KABUKLARININ EKSTRASKSİYONUNUN BİYOAKTİVİTE REHBERLİ OPTİMİZASYONU VE ÇEŞİTLİ TÜMÖR HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖROJENİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışmanın amacı biyoaktivite rehberli olarak, *Oryza sativa'*nın atık biyokütlesinin ekstraksiyonunun optimizasyonu ve çeşitli tümör hücreleri üzerine antitümörojenik aktivitesinin araştırılmasıdır.
"Atık" dahil olmak üzere herhangi bir malzemenin katma değeri, yapısının ve özelliklerinin net bir şekilde anlaşılması ile bilinmektedir. Literatürde, pirinç yan ürünlerinin kimyası, antioksidatif, anti alerjenik, antikanserojenik, antikolesterol, antidiyabetik ve antimikrobiyal faaliyetleri hakkındaki bilgimizi oldukça azdır. Bu çalışmada biyoaktivite rehberli olarak, *Oryza sativa* biyokütlesinin yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyon yöntemiyle optimizasyonu ve farklı proses ve/veya parametreler ile elde edilen ekstrelerin antikarsinojenik aktiviteleri A549 (insan akciğer karsinomu), MCF7 (insan meme adenokarsinoma), MDA-MB-231 (insan meme adenokarsinoma) kanser hücre hatları ve Vero (Afrikalı yeşil maymun böbreği epiteli) normal hücre hattı üzerinde MTT testi ile analiz edildi.
15 farklı koşulda elde edilen ekstrelerden, IC_{50} değerlerine bakıldığında en yüksek sitotoksik aktivitenin pH:10,0, sıcaklık:60^0C, akış hızı dakikada 2,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 2,4 g/l (HPHWE8) koşulunda A549 kanser hücre hattına karşı 1,27µG/mL değeriyle elde edildiği görüldü. Aynı koşulda 3,125µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en yüksek sitotoksik aktivite A549 hücre hattında %22,93 hücre canlılığı olarak bulundu. Bunun yanında pirinç kabuğu ekstresinin Vero hücre hattına (% hücre canlılığı, %381,28) karşı sitotoksik olmadığısaptanmıştır. Bu tez sonunda elde edilen veriler ışığında, *Oryza sativa'*nin atık biyokütlesinin pH:10,0, sıcaklık:60^0C, akış hızı dakikada 2,00 ml/dakika koşulları ile ekstraksiyonu sonucunda elde edilen protein ekstresinin, akciğer ve meme kanserinin tedavisi için iyi bir aday olduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyokütle, *Oryza sativa*, Sitotoksite, Tümör Hücresi, Yüksek Basınçlı Sıcak Su Ekstraksiyonu.

***Oryza sativa Linn.* INVESTIGATION OF ANTITUMORIGENIC ACTIVITIES ON THE BIOACTIVE GUIDANCE OPTIMIZATION AND VARIOUS TUMOR CELLS IN EXTRACTION OF WASTE HUSK**

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the optimization of the extraction of waste biomass of *Oryza sativa* and its antitumorıgenic activity on various tumor cells, bioassay guided.

It is known that the added value, structure and properties of any material including "waste" are clearly understood. In the literature, research on the chemical, antioxidative, anti-allergic, anticancerogenic, anti-cholesterol, anti-diabetic and anti-microbial activities of rice by-products is very limited on animal and human cells.

In this study, optimization of *Oryza sativa* biomass by high pressure hot water extraction and anticarcinogenic activities of extracts obtained by different processes were investigated in this study as A549 (human, lung, carcinoma), MCF7 (human, breast, adenocarcinoma), MDA-MB-231 (human, breast, adenocarcinoma) cancer cell lines and Vero (African green monkey, kidney, fibroblast) were analyzed by MTT assay on a normal cell line. From the extracts obtained under 15 different conditions, the lowest value was found to be 1: 1 against the A549 cancer cell line at pH 10.0, temperature 60°C, flow rate 2.00 ml/min, protein yield 2.4g/l (HPHWE8) 1.27µG/mL was obtained. At the same condition, the highest cytotoxic activity obtained after 48 hours of administration for a concentration of 3.125µG/mL was found to be 22.93% cell viability in the A549 cell line. In addition, it showed that the rice husk extract was not cytotoxic in the Vero cell line (%cell viability, %381.28) and that the results were an ideal candidate for lung carcinoma. At the end of this dissertation, it was understood that protein extract obtained as a result of extraction by *Oryza sativa* waste biomass with pH of 10.0, temperature: 60 ^{0}C, flow rate of 2.00 ml / min is a good candidate for the treatment of lung and breast cancer.

Keywords: Biomass, *Oryza sativa*, Tumor Cell, High Pressure Hot Water Extraction.

GİRİŞ

Kanser dünya genelinde kadın ve erkekleri etkileyen en önemli küresel sağlık sorunlardan biridir (Tan ve diğ., 2017). Kanser, hücrenin normal yaşam döngüsünü kontrol altında tutan gen dengesinin bozulması sonucu düzensiz ve ölümsüz hücre bölünmesi ile vücut dengesinin bozulması olarak tanımlanmaktadır (Topal ve diğ., 2009). Kanser vücudun belli bölümünde veya tümünde normal hücrelerin kontrol dışı çoğalmasıyla başlamaktadır. Her türlü kanser hücresi ölmek yerine bölünüp büyümeye devam eder (Sudhakar, 2009). Kanser vakalarında, hastalığın seyrini düzeltmek veya yaşam süresini biraz olsun uzatabilmek bile çok önemlidir (Topal ve diğ., 2009). Piyasadaki sentetik kanser ilaçları kanserli hücrelerin büyümesini ve bölünmesini durdursalar bile birçok yan etkileri vardır (Tan ve diğ., 2017). Kanser hücrelerinin bölünmesini veya ölmesini sağlamak amacıyla bitkilere yönelim artmaktadır. Bitkiler gıda ve baharat olarak kullanılmasının dışında 5000 bin yıldan beri ilaç olarak da kullanılmaktadır (Fridlender ve diğ., 2015).

Pirinç buğdaygiller familyasından gelen ve mısır ile buğdaydan sonra ekimi en çok yapılan otsu bitki türüdür (Açar, 2010). Dünya pirinç üretimi 680 milyon ton civarında olup buğday üretime eş değerdir (Friedman, 2013). Asya ülkeleri Çin, Malezya, Endonezya, Hindistan, Tayland ve Myanmar' ın eski literatürlerinde pirinci sadece yiyecek olarak tüketilmediği, bazı tıbbi özelliklerinde de faydalanıldığına yer verilmiştir (Umadevi ve diğ., 2012). Dünyada bu derece yüksek miktarda yetiştirilen pirincin birçok yan ürünü vardır. Bu yan ürünlerinden katma değeri yüksek ürünler elde edilebilmektedir. Öğütme işlemi ile atılan işlenemez parçalar veya yenilebilir kısım, birçok ürüne dönüşebilmektedir (Umadevi ve diğ., 2012). Pirinç kepeği, yağları ve kabukları çok sayıda biyoaktif bileşik içermektedir. Bu biyoaktif bileşiklerin insan ve hayvan hücrelerinde yararlı etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Friedman, 2013). Pirinç ve yan ürünleri üzerine yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar kanserin önlenmesinde umut verici sonuçlar görülmüştür (Tan ve diğ., 2017).

Üretilen her bir ton pirinçten, ortalama 0,23 ton kabuğun açığa çıktığı tespit edilmiştir. Pirinç kabuğu katma değer yoluyla karlı bir şekilde kullanılacak olursa, hem üreticiye hem de ulusal ekonomiye katkıda sağlayacaktır. Kimyasal bileşim, herhangi bir malzemenin hangi alanlarda kullanılabileceğini belirleyen önemli bir özelliktir (Chandrasekhar ve diğ., 2003).

Pirinç kabuğu ortalama olarak, % 22 lignin, % 38 selüloz, % 18 hemiselüloz, % 2 ekstrakt ve % 20 külden oluşmaktadır (Salantı ve diğ., 2010). Ayrıca pirinç kabuğu içeriğinde % 52 lif, % 0,29 yağ ve % 2,23 protein olduğu tespit edilmiştir (Edrisi ve diğ., 2018).

Biyoaktif bileşenlerin insan sağlığı ve kronik hastalıkları önlemede yararlı etkileri olduğu yapılan araştırmalarda kanıtlanmıştır (Parades-Lopez ve diğ., 2010).

Pirinç kabuğu üzerine yayınlanmış araştırmalar genellikle belirli yönlere odaklandığından, gıda ve endüstriyel kullanımları, kompozisyonun biyoaktivitesi ile olan ilişkisini açıklayan kapsamlı bir araştırmaya ihtiyaç olduğunu görülmektedir. Bu nedenle pirinç yan ürünlerinin antioksidatif, anti alerjenik, antikanserojenik, anti kolesterol, anti diyabetik ve anti mikrobiyal faaliyetleri hakkındaki bilgimizin eksikliği, hayvan ve insan hücreleri üzerinde fazla araştırılma yapılmamasından kaynaklandığı görülmüştür (Friedman, 2013).

Pirinç kabuğu ekstraksiyon çalışmalarında solvent olarak genellikle organik çözücülerin kullanıldığı belirlenmiştir. Ancak organik çözücülerin kullanımı birçok çevresel probleme neden olmaktadır. Bu nedenle organik çözücülerin kullanılmadığı çevre dostu çözücü olan su ile ekstraksiyon çalışmaları ağırlık kazanmaktadır. Suyun birçok avantajının olmasının yanında yüksek polariteye sahip olması bitki analitleri için uygun çözücü olarak görülmemesine neden olmuştur. Ancak suyun yüksek sıcaklık ve basınç altında organik çözücülere benzer özelliklere sahip olduğu görülmüştür (Ong ve diğ., 2006).

Yaptığımız literatür taraması sonucunda, dünyada ve ülkemizde tıp, eczacılık, gıda, inşaat, kimya ve enerji sanayisinde oldukça fazla kullanım alanına sahip olan, insan sağlığı ve beslenmesi yönünden de büyük öneme sahip olan atık pirinç kabuğu biyokütlesinin yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen protein

ekstrelerinin antikanser aktivitesi üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile bir atık olan pirinç kabuğundan bazı kanser türlerinin sağaltımında kullanılabilecek ucuz ve bol kemoterapötiklerin hazırlanması hedeflenmektedir. Böylece katma değeri oldukça yüksek olan sektör ilaç sanayinde bitkisel atıkların değerlendirilme fırsatı ortaya çıkarılmaktadır (Yaman, 2012).

Bu çalışmanın amacı biyoaktivite rehberli olarak, *Oryza sativa Linn.* atık biyokütlesinin ekstraksiyonunun optimizasyonu ve çeşitli tümör hücreleri üzerine antitümörojenik aktivitesinin araştırılmasıdır.

1. GENEL BİLGİLER VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

1.1. Pirinç Hakkında Genel Bilgi

1.1.1. Bilimsel sınıflandırma

Alem: Plantae (Bitkiler)

Sınıf: Liliopsida (Bir çenekliler)

Takım: Poales (Buğdaylar)

Familya: Poaceae (Buğdaygiller)

Cins: Oryza

Tür: *Oryza sativa*

1.1.2. Pirincin kökeni ve yayılışı

Pirincin evcilleştirmesinin hangi coğrafi bölgede olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Genel kanaate göre, Çin, Hindistan ve Endonezya'da birbirinden bağımsız olarak üç pirinç çeltiği ortaya çıkmıştır. Bunlar sinica (japonica olarak da bilinir), indica ve javanica (Endonezya'da bulu olarak da bilinir)'dır (Juliano, 1993).

Hindistan'da M.Ö 1500 ile 2000 yıllarında, Endonezya'da M.Ö 1648 yıllarında pirinç yetiştirildiğine dair bulgular vardır. Çin'in Chekiang Eyaleti, Ho-mu-tu'da yapılan arkeolojik çalışmalarda yaklaşık 7000 yıl önce tropikal veya india pirincinin yetiştirildiği tespit edilmiştir (Juliano, 1993).

Pirinç, tropikal (Güney ve Güneydoğu Asya) ve subtropikal (Güneybatı ve Güney Çin) habitatlardan Asya'da çok daha yükseklerde ve enlemlerde hızla yayılmış ve 2300 yıl önce Japonya'ya ulaşmıştır. Son altı yüzyılda ise Batı Afrika, Kuzey Amerika ve Avustralya'ya kadar yayılmıştır (Juliano, 1993).

Amerika Birleşik Devletleri'nde Güney Carolina'da 1690 yıllarında pirinç tarımına başlanılmıştır. Sekizinci yüzyıldan itibaren Portekiz ve İspanya'da, dokuzuncu

yüzyılda Güney İtalya'da ve onuncu yüzyılda Avrupa'da yetiştirilmeye başlanmıştır (Juliano, 1993).

1.1.3. Pirincin bitkisel özellikleri

Pirinç, Hindistan, Tayland ve Güney Çin kökenli olan Poacesae'de (Buğdaygiller ailesi) çok yıllık çimlerin cinsidir. Üretim alanları; tropikal, yarı tropikal ve dünyanın dört bir yanındaki sıcak ılıman bölgelerdir. Dünya tarım alanlarının yaklaşık %3'ünde yetiştirilmektedir. Pirinç, genomunun tamamen eşleştirildiği ilk bitki türü olması nedeniyle bitki biyolojisinde model bir sistem olarak da önem taşır. Farklı tahıl rengi, ebadı, şekli ile çevresel etkenler ve mevsimsellik bakımından yüzlerce çeşidi vardır. Bazı çeşitleri uzun ömürlü olmasına rağmen, genellikle bir yıllık otsu bitkilerdendir. Genellikle 2 metreye kadar uzamaktadır. Çiçekler geniş açık terminal panikularda (dallı kümeler) yetişmektedir. Her biri tek bir çiçek içeren (hububatın tek bir çekirdeğini oluşturan) dikdörtgen spikeletler gövde boyunca seyrektir (URL-1).

Pirinç tanesini koruyan sert bir kabuğa sahiptir. Kabuk çıkarıldıktan sonra geriye kalan ürünlere; kahverengi pirinç, kepek, germ ve endosperm denir (Butsat ve diğ.,2010). Şekil 1.1'de pirinç bitkisi gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Pirinç bitkisi (URL-2)

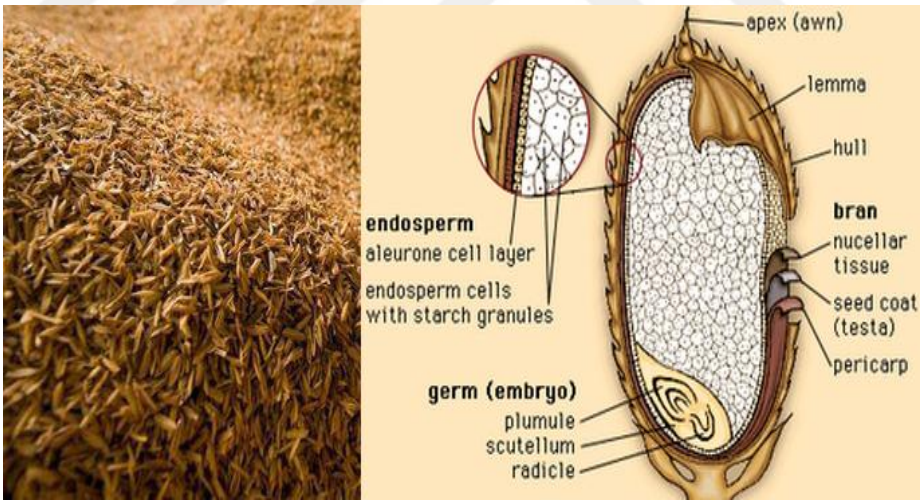
1.1.3.1. Pirinç tane yapısı

Pirinç tanesi (kaba pirinç veya çeltik), bir dış koruyucu örtü, pirinç gövdesi ve pirinç karyopsis veya meyveden oluşmaktadır. Kahverengi pirinç, perikarp, tohum kabuğu ve nucellusun dış katmanlarından oluşmuştur. Endosperm, alegorus tabakası, sub-

endosperm tabakasından ve endospermden oluşur. Aleurone tabakası embriyoyu çevreler. Pigment perikarpla sınırlıdır (Juliano, 1993).

Çeltik ağırlığının yaklaşık % 20'sini kabuk oluşturmaktadır. Ancak bu oran %16 ile 28 arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Kahverengi pirinç ağırlığının yüzde dağılımı; %1 ile 2 aleurone artı nucellus, tohum katı %4 ile 6, tohum %1, scutellum %2 ve endosperm %90 ile 91'dir (Juliano, 1993).

Aleurone tabakası, bir ile beş hücre tabakasından oluşmaktadır. Dorsal taraf ventral tarafa göre daha kalındır. Aleurone tabakası kısa taneciklerde uzun taneciklere göre daha kalındır. Endosperm hücreleri ince duvarlı ve bileşik nişasta granülleri içeren amiloplastlar ile doludur. En dıştaki iki hücre tabakası (subaleurone tabakası) protein ve lipit açısından zengindir. İç endosperm daha küçük amiloplast ve bileşik nişasta granüllerine sahiptir. Proteinler genellikle endosperm boyunca boyut olarak 0,5 ile 4µm arasında küresel protein gövdeleri şeklindedir (Juliano, 1993). Şekil 1.2' de pirinç tanesi ve kısımları gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Pirinç tanesi ve kısımları (URL-3)

1.1.4. Pirincin besin özellikleri

Pirinç, genetik çeşitlilik bakımından oldukça zengin olup dünya genelinde binlerce çeşidi yetiştirilmektedir. Gramineae ve Oryzoides ailesine ait olan pirinç, dünya nüfusunun yarısından fazlası için buğdaydan sonra en önemli ikinci hububat ve temel gıda maddesidir. Pirinç, gıda alanında geniş bir potansiyele sahiptir (Umadevi ve diğ., 2012).

Dünya nüfusunun yarısından fazlası için birincil kalori kaynağı olarak tüketilmektedir (URL-1). Özellikle Asya kıtasında 2 milyardan fazla kişi, enerji ihtiyaçlarının %80' ini; %80 karbonhidrat, %7-8 protein, %3 yağ ve %3 lif içeren pirinçten karşılamaktadırlar. Pirinçte protein miktarı az da olsa yüksek besin değerine sahiptir. Pirinç; az yağlı, düşük tuzlu, glutensiz, kolesterol içermemesi, az şeker içeriğiyle sağlıklı bir besin kaynağıdır. Katkı maddesi ve koruyucu içermez. Bundan dolayı pirinç diyetler için mükemmel bir besindir. Tiamin, niasin, demir, riboflavin, vitamin D, kalsiyum ve elyaf içeriğinden dolayı iyi bir vitamin ve mineral kaynağıdır. Pirinçte bulunan nişasta sindirilmeden bağırsağa ulaştığında bağırsaktaki yararlı bakterilerin büyümesini teşvik eder, böyle bağırsakları sağlıklı tutmaktadır. Pirinç alerjik değildir (Umadevi ve diğ., 2012).

1.1.5. Pirincin tıbbi özellikleri

Asya ülkeleri Çin, Malezya, Endonezya, Hindistan, Tayland ve Myanmar'ın eski literatürlerinde belirtildiğine göre pirinç sadece yiyecek olarak tüketilmemiş, bazı tıbbi özelliklerinde de faydalanılmıştır. Erken oryantal yazılarda, kahverengi pirinçten kusursuz bir yiyecek olarak bahsedilmiştir (Umadevi ve diğ., 2012).

Çin'de Kraliyet Ailesinin Çinli hekimleri tarafından pirincin iyileştirme amacıyla M.Ö. 2.800 yıllarından beri kullanıldığı bilinmektedir. Kurumuş veya filizlenmiş pirinç taneleri sindirim, kas tonerleşmesi, mide ve bağırsaklardan gaz çıkarmak için kullanılmıştır. Çinliler pirincin, dalağı ve mideyi güçlendirdiğine, iştahı arttırdığına hazımsızlığı tedavi ettiğine inanmışlardır (Umadevi ve diğ., 2012).

Malezya'da haşlanmış pirinç göz losyonu olarak ve iç vücut dokularının akut iltihabının tedavisi için reçete edilmiştir. Kurutulmuş toz pirincini cilt hastalıklarının tedavisinde kullanmışlardır (Umadevi ve diğ., 2012).

Kamboçya'da olgun pirinç gövdeleri, dizanteriyi tedavi etmek için faydalı kabul edilmektedir. Ayrıca üç aylık pirinç bitkilerinin kabukları diüretiktir (Umadevi ve diğ., 2012).

Filipinler' de pirinç kepeği, beri-beri hastalığını tedavi etmek ve B vitamini kaynağı olarak kullanılmıştır (Umadevi ve diğ., 2012). Kahverengi pirinç özleri meme, mide kanseri, ayrıca siğiller tedavisinde kullanılmaktadır (Umadevi ve diğ., 2012).

Pirinç, düşük oranlarda yağ, kolesterol veya sodyum içeriğinden dolayı obeziteyi önlemeye yardımcı olmaktadır. Düşük sodyum içeriğinden dolayı hipertansiyon hastaları için iyi bir yiyecektir. Çünkü sodyum damar ve arterlerin sıkışmasına ve kan basıncının artmasına neden olmaktadır (URL-4).

Birçok bilim adamı kepekli pirinçte bol miktarda elyaf bulunmasından dolayı kanserli hücrelerin gelişimine ve metastazına karşı vücudu koruduğunu düşünmektedir (URL-4). Pirinçte elyafın yanı sıra, C vitamini, A vitamini gibi doğal antioksidanlar, ayrıca çeşitli fenolik ve flavonoid bileşikler bulunmaktadır. Bunlar vücuttaki serbest radikalleri (organ sistemlerine zarar veren ve sağlıklı hücrelerin kanserli hale dönüşmesine neden olan hücresel metabolizmanın yan ürünleri) temizlemek için antioksidan olarak hareket etmektedirler (URL-4).

Hint kıtasında, pirinç suyu, iltihaplı cilt yüzeylerini soğutmak için etkin bir merhem olarak Ayurveda uygulayıcıları tarafından reçete edilmektedir (URL-4).

Özellikle pirinç içeriğinde bulunan fenolik bileşikler, anti inflamatuar özelliklere sahiptir, bu nedenle de tahriş ve kızarıklıkların giderilmesine yardımcı olurlar (URL-5).

Antioksidan kapasitesi aynı zamanda cildi etkileyebilen kırışıklıkların ve diğer yaşlanma belirtilerinin geciktirilmesine yardımcı olmaktadır (URL-4).

Pirinç, nörotransmitterlerin büyümesini ve aktivitesini uyaran besin maddeleri içerdiğinden dolayı Alzheimer hastalığının önlenmesine karşı yardımcı olduğu söylenmektedir. Çeşitli beyin, demans ve Alzheimer hastalığına neden olabilecek serbest radikallerin ve diğer tehlikeli toksinlerin etkilerini inhibe eden nöroprotektif enzimleri uyardığı gösterilmiştir (URL-4).

Pirinç kabuğu, idrar söktürücü olarak vücuttan ürik asit gibi toksinleri atmanıza ve kilo vermenize yardımcı olabilmektedir (URL-4).

Pirinçteki yüksek lif içeriği bağırsak hareketinin düzenliliğini arttırır, çeşitli kanser türlerine karşı korur ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruma sağlamaktadır (URL-4).

Pirinç, niasin, D vitamini, kalsiyum, elyaf, demir, tiamin ve riboflavin gibi vitamin ve minerallerin önemli bir kaynağıdır. Bu vitaminler, vücut metabolizması, bağışıklık sistemi sağlığı ve organ sisteminin genel işleyişi için çok önemlidir (URL-4).

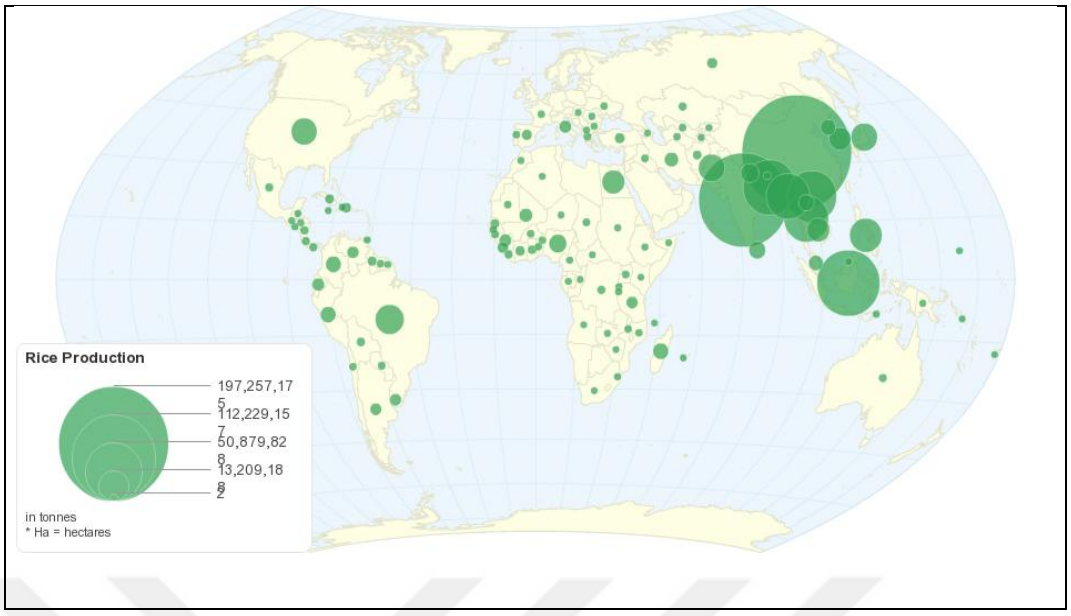
Pirinç kepeği yağı vücuttaki kolesterol seviyelerini düşürerek kardiyovasküler hastalıklara karşı güçlü antioksidanlar içermektedir (URL-4).

Pirinç, trombosit agregasyonunu inhibe eden hastalık riskini azaltan fenolik antioksidanlar dâhil birçok biyoaktif bileşiğin kaynağıdır. Bu biyoaktif bileşikler koroner kalp sağlığı ve kansere karşı koruyucudur. İçeriğinde bulunan lipid ve düşük yoğunluklu lipoproteinler oksidatif hasarın önlenmesinde etkilidir. Meyve ve sebzelerde az miktarda bulunan özel fenolik asitler (ferulik asit, p-kumarik ve diferulate) içermektedir. Bu bileşiklerin çoğu pirincin farklı kısımlarında bulunmaktadır (Butsat ve diğ., 2010).

1.1.6. Dünyada ve Türkiye'de pirinç üretimi

Dünya pirinç üretimi 2014/15 pirinç döneminde 479 milyon tondur. 2014/2015'te pirinç üretimi yaklaşık 161 milyon hektar alanda gerçekleşmiştir. Pirinç üretiminde 2014/15 döneminde Çin'de 144,6 milyon ton, Hindistan'da 105,5 milyon ton, Endonezya'da 35,6 milyon ton, Bangladeş'de 34,5 milyon ton, Vietnam'da 28,2 milyon ton üretim yapılmıştır (Yazıcı ve Çiçekgil., 2016). Şekil 1.3'de Dünyadaki pirinç üretim bölgeleri gösterilmiştir.

Türkiye'de pirinç üretimi 2014/15 döneminde 498 bin ton olmuştur. 2014/2015 döneminde Türkiye pirincinin %70 Marmara bölgesinde üretilmiştir. Marmara Bölgesini Karadeniz ve İç Anadolu Bölgesi izler. Edirne Türkiye'de pirinç üretiminin %40'ını karşılamıştır (Yazıcı ve Çiçekgil., 2016).



Şekil 1.3. Dünya pirinç üretimi (URL-5)

1.1.7 Pirinç yan ürünleri

Pirinç, özellikle Asya kıtasında önemli besin kaynakları arasındadır (Friedman, 2013). Dünya pirinç üretimi 2014/15 pirinç döneminde 479 milyon tondur (Yazıcı ve Çiçekgil., 2016). Buğday üretime eş değerdir (Friedman, 2013). Dünyada bu derece yüksek miktarda yetiştirilen pirincin birçok yan ürünü vardır. Bu yan ürünlerinden katma değeri yüksek ürünler elde edilebilmektedir. Öğütme işlemi ile atılan işlenemez parçalar veya yenilebilir kısım, birçok ürüne dönüşebilmektedir. (Umadevi ve diğ., 2012). Pirinç kepeği, yağları ve kabukları çok sayıda biyoaktif bileşik içermektedir. Bu biyoaktif bileşiklerin insan ve hayvan hücrelerinde yararlı etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Friedman, 2013). Pirinç yan ürünleri Şekil 1.4'de gösterilmiştir.

Pirinç kepeği, yağları ve kabukları ile ilgili veri tabanlarında belirtildiği gibi çok yönlü ve kapsamlı literatür vardır. Ancak yayınlanmış araştırmalar genellikle belirli yönlere odaklandığından, gıda ve endüstriyel kullanımları, kompozisyonun biyoaktivitesi ile olan ilişkisini açıklayan kapsamlı bir araştırmaya ihtiyaç olduğunu görülmektedir (Friedman, 2013).

Açıklanan bulgular doğrultusunda, pirincin yan ürünü olan kepekler, yağlar ve kabukların üretim ve biyolojik işlevlerini anlamamıza yardımcı olacak temel bilgi

öğrenilecektir. Ayrıca bu bilgiler doğrultusunda insan sağlığı için doğal bileşikler elde edilecek, daha iyi gıdalar üretilecek, endüstri için ucuz hammadde ihtiyacı karşılanacak ve tarım için yeni pratikler geliştirilecektir (Friedman, 2013).

Tablo 1.1. Pirinç yan ürünlerinin yaklaşık bileşimi ve mineral içeriği (kuru madde % 'si) (Tan, 2017)

Besinler	Kırık Pirinç	Pirinç Kabuğu	Kepek	Cilalanmış Pirinç	Pirinç Samanı
Kuru madde	87-89	87-92,5	89-94	90	90,9
Protein	6,7-9,8	2,1-4,3	10,6-16,9	11,2-13,4	1,2-7,5
Doymuş yağ	0,5-1,9	0,30-0,93	5,1-19,7	10,1-13,9	0,8-2,1
Ham lif	0,6	30,0-53,4	7,0-18,9	2,3-3,6	33,5-68,9
Kül	5,0	13,2-24,4	8,8-28,8	5,2-8,3	12,2-21,4
Karbohidrat	-	22,4-35,3	90,0	51,1-55,0	39,1-47,3
Kalsiyum	0,09-0,19	0,04-0,21	0,08-1,4	0,05	0,30-0,71
Fosfor	0,03-0,04	0,07-0,08	1,3-2,9	1,48	0,06-0,16



Şekil 1.4. Pirinç yan ürünleri (URL-6)

1.2. Pirinç Kabuğunun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

1.2.1. Pirinç kabuğunun fiziksel özellikleri

Pirinç kabuğu, altın sarısı, sarımsı kahverengi veya kahverengimsi kırmızı renk tonu ile, 25-30µm kalınlığında, 2,5-5mm veya 5-10mm uzunluğunda, iç ve dış oluktan oluşmaktadır. Pirinç kabuğu yoğunluğu 96-160kg/m³'dür. Dünya genelinde her yıl pirincin öğütülmesi sonucunda 100 milyon tondan fazla pirinç kabuğu açığa çıkmaktadır (URL-3).



Şekil 1.5. *Oryza sativa* kabuğu (URL-7)

Çeltik mahsulünün dış örtüsü olan pirinç kabuğu, pirinç değirmencilik endüstrisinin yan ürünleri arasında yer almakta ve çeltiğin yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır (Salantı ve diğ., 2010). Atık *Oryza sativa* kabuğu Şekil 1.5'de gösterilmiştir.

1.2.2. Pirinç kabuğunun kimyasal özellikleri

Pirinç taneleri büyüdükçe kabuklarla sarılarak korunmaktadır. Kabuklar sert malzemelerdir ve mikroskobik salgıyı engelleyen selüloz, hemiselüloz, lignin, silika ve balmumundan meydana gelmektedir. Ancak çoğu zaman bu kabuklar, dünyanın herhangi bir yanında toplanan bol hacminden ötürü tahıl üreticileri tarafından herhangi bir değerlendirme yapılamadan yakılmaktadır (Phuong ve diğ., 2014) Üretilen her bir ton pirinçten, ortalama 0,23 ton kabuğun açığa çıktığı tespit edilmiştir. Pirinç kabuğu katma değer yoluyla karlı bir şekilde kullanılabilirse, hem üreticiye hem de ulusal ekonomiye katkıda bulunabilecektir. (Chandrasekhar ve diğ., 2003).

Pirinç kabuğu diğer lignoselülozlarda olduğu gibi yüksek oranda organik madde içeriğine sahiptir. Çoğunlukla kabuk selüloz, hemiselüloz, farklı miktarlarda protein, nişasta ve inorganik madde içeren lignin içermektedir (Phaiboonsilpa ve diğ., 2013).

Kimyasal bileşimi; numuneden numuneye, çeltik türüne, bitki yılı, coğrafi farklılıklara, örnek hazırlama, analiz yöntemleri ve varyasyonlara göre değiştiği gözlenmiştir (Chandrasekhar ve diğ., 2003).

Pirinç kabuğunda bulunan indirgeyici şeker miktarı literatürde 0,426 g/1 g kuru pirinç kabuğu olarak belirtilmiştir (Gültekin ve diğ., 2016).

Pirinç kabuğu selüloz %36,79, hemiselüloz %20,56, lignin %14,88 olmak üzere ortalama %72 lignoselülozik madde içermektedir. Nem %8, uçucu madde %62,44, sabit karbon %14,58, kül %13,61 oranında, ayrıca %40,93 karbon, %53,81 oksijen ve %4,84 hidrojen içeriğinden meydana gelmektedir (Tablo 1.2), (Chen ve diğ., 2011).

Tablo 1.2. Pirinç kabuğu yaklaşık ve element analizi (Chen ve diğ., 2011)

Yaklaşık analizi	**Ağırlıkça yüzde oranları**
Nem	%8-10
Uçucular	%62,44
Kül	%13,61
Sabit karbon	%14,58
Selüloz	%36,79
Hemiselüloz	%20,56
Lignin	%14,88
Element analizi	
Karbon	%40,93
Oksijen	%53,81
Hidrojen	%4,84

Pirinç kabuğunun yüksek miktarda karbon ve oksijenin içeriğinin dışında eser miktarda element içeriğine sahiptir (Tablo1.3).

Tablo 1.3. Pirinç kabuğu eser miktardaki element analizleri (Qiang ve diğ., 2008)

Element	**Ağırlıkça yüzde oranları**
Azot	%0,67
Kükürt	%0,21
Silikon	%6,82
Potasyum	%0,36
Kalsiyum	%0,16
Magnezyum	%00,51

Tablo 1.3. (Devam) Pirinç kabuğu eser miktardaki element analizleri (Qiang ve diğ., 2008)

Sodyum	%0,009
Manganez	%0,033
Demir	%0,0055
Alüminyum	%0,0070
Fosfor	%0,0310

Pirinç kabuğu, selüloz, lignin vb. %75-90 organik maddeler ve silika, alkaliler, eser elementler gibi diğer mineral bileşenler içermektedir. Ayrıca pirinç kabuğu külü %87-97 arası yüksek oranda silika içermektedir (Edrisi ve diğ., 2018).

Pirinç kabuğunda pirincin diğer kısımlarından farklı olarak daha büyük fenolik asit konsantrasyonu (daha yüksek miktarda veya konsantrasyonda fenolik asit içerdiği tespit edilmiştir) gösterdiği tespit edilmiştir. Pirinç kepeğinde ise ferulik asitlerin daha çok olduğu ancak vanil ve p-kumarik asitlerin çoğunlukla pirincin kabuk kısmında olduğu tespit edilmiştir (Butsat ve diğ., 2010).

Pirinç kabuğunda, antioksidan etkileri olan oryzanol (steril ferulik esterler), tokoferol, tokotrienol ve fenolik asit kaynağıdır. Oryzanol, anti inflamatuar özelliklere sahip pirinç kabuğunun yağ bileşenleri arasında bulunmaktadır. Pirinç kabuğu içeriğinde %52 lif, %0,29 yağ ve %2,23 protein bulunmuştur (Edrisi ve diğ., 2018).

1.2.2.1. Pirinç kabuğu proteinleri

Pirinçte en çok bulunan iki bileşen nişasta ve proteindir. Bundan dolayı pirincin katma değer potansiyeli araştırılırken pirinç proteininin üzerinde özellikle durulmaktadır. Bu özellik pirinç yan ürünlerinin mevcut düşük ticari değeri düşünüldüğünde katma değerini oldukça attıracağı bir gerçektir (Agboola ve diğ., 2005).

Pirinç kabuğu proteinlerinin içeriği ve miktarı ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak çeltiğin farklı fraksiyonlarında protein oranları fark etse de aynı içeriğe sahip olduğu görülmüştür. Literatürde daha çok öğütülmüş pirinç ve pirinç kepeği proteinleri araştırıldığı görülmektedir.

Pirinç proteinlerinin besin değerinin yüksek olması ve hipoalerjik olmasından dolayı insanların sağlıklı gelişiminde etkili görülmektedir. Son yıllarda pirinç proteinine ait ürünlere talep artmaktadır. Ana protein kaynağı, pirinç kepeği ve öğütülmüş pirinç tanecikleridir. Bu pirinç proteinleri daha önce pek değerlendirilmemiş ve düşük maliyetlidir (Shih, 2003). Pirincin farklı kısımları farklı oranlarda protein içermektedir. Kaba pirinçte %5,6-7,7, kahverengi pirinçte %7,1-8,3, öğütülmüş pirinçte %6,3-7,1, pirinç kepeğinde %11,3-14,9, pirinç kabuğunda %2-2,8 oranında protein vardır (Tablo 1.4).

Tablo 1.4. Pirinç kısımlarının protein içerikleri (Shih, 2003)

Pirinç fraksiyonu	**Ham protein yüzde oranları**
Kaba pirinç	% 5,6–7,7
Kahverengi pirinç	% 7,1–8,3
Öğütülmüş pirinç	% 6,3-7,1
Pirinç kepeği	% 11,3–14,9
Pirinç kabuğu	% 2,0–2,8

Proteinler, nişasta granülleri arasında protein gövdelerinde bulunan, endosperm (depolama proteinleri) hücreleri içinde bulunan, endosperm, beyaz pirinç ve kepek dâhil olmak üzere pirinç tanesinin farklı kısımlarında bulunmaktadır. Çeşitli ekstraksiyon yöntemleriyle pirinçten 4 farklı protein albümin, globulin, glutelin ve prolamin elde edilmiştir (Agboola ve diğ., 2005).

Pirinçteki protein oranları diğer hububatlardan önemli derecede farklıdır. Oryzenin (pirinç glutelin) en zengin protein iken ve prolamin en fakir proteindir (Chrastil ve Zarins, 1994).

Pirincin en dış düzeyinde protein miktarı en fazla iken, çekirdeğin merkezine doğru bu miktar azalmaktadır. Pirinç tohum ve kepeği yüksek düzeyde oranlarda protein içermektedir (Roy ve diğ., 2011).

Öğütülmüş pirinç %6-7 oranında proteinden oluşur. Pirinç kepeği %11-15 oranlarında protein içermektedir (Amagliani ve diğ., 2017).

Pirinç protein bileşeninin besin kalitesinin diğer hububatlardan daha yüksek olduğu tahmin edilmekle beraber hayvandan elde edilen proteinlere göre daha düşük değerlidir (Amagliani ve diğ., 2017).

Pirincin dört protein fraksiyonu; albümin suda, globulin tuzda, glutelin alkali/asitte ve prolamin alkolde çözünmektedir (Amagliani ve diğ., 2017).

Pirinci endosperm depolama proteinini temsil eden prolamin, tüm pirinç tanesi öğütme fraksiyonlarında küçük bir protein iken, glutelin kahverengi ve öğütülmüş pirinçte dominant proteindir (Amagliani ve diğ., 2017)

Pirinç proteininin lizin içeriği tahıl proteinleri arasında en yüksek oranlardan biri olan %3,5 ila 4,0' dür (Juliano, 1993).

Tanaka ve diğ. (1973) göre, aleurone protein gövdelerinde %66 albümin, %7 globulin ve %27 prolamin artı glutelin bulunduğunu bildirmiştir (Juliano, 1993).

1.2.2.2. Pirinç kabuğunun allelokimyasal bileşenleri

Allelokimyasallar, bitkileri fitopatojenlere karşı koruyan bileşiklerdir. Pirinç kabuklarından izole edilen dört yeni bileşikten (1-fenil-2-hidroksi-3,7-dimetil-11 aldehydictetradecane-2-β-D-glukopiranozit) birinin, ördek otunun (*Lemna paucicostata* Hegelm 381) büyümesini güçlü bir şekilde önlediği belirlenmiştir. Chung ve diğ. tarafından yapılan bir çalışmada bir metanolik ekstrakttan ek bileşik (cholest-11-en-3β, 6β, 7α, 22β-tetraol-24-en-3β-palmitoleat) izole edilmiştir. Bu bileşiğin su ile kaplı pirinç kökleri için zararlı olan alg ve yabani otların büyümesini kontrol etmede etkili olduğu görülmüştür. Souza ve diğ. tarafından yapılan bir çalışmada, toprağa eklenen pirinç kabuklarının organik kirleticilerinin parçalanma hızını arttırdığı görülmüştür (Friedman, 2013).

Pirinç kabuklarından elde edilen momilaktonlar A ve B, çeltik tarlalarında yabancı otlara karşı potansiyel doğal herbisitler olarak kullanılabilmektedir(Friedman, 2013). Friedman ve ark. (2013) göre eğer bunların kullanımını tarımda yaygılaştırabilirsek sentetik herbisitlere olan bağımlılığımızın azalacağı düşünülmektedir.

1.3. Pirinç Kabuğunun Biyolojik Aktiviteleri

1.3.1. Pirinç kabuğunun anti bakteriyel etkisi

Friedman (2013) yaptığı bir çalışmada, pirinç kabuğu dumanını gıda kaynaklı patojen *Salmonella typhimurium*'a karşı anti bakteriyel aktivite açısından test

etmiştir. Pirinç kabuğu duman ekstraktının, bakteriyel büyümeyi, %59,4, 51,4, 39,6 ve 28,3 oranında, %78,7, 64,6, 59,2 ve 43,2 oranında inhibe ettiği görmüştür. 12 saat arayla yapılan ardışık uygulamalarda, pirinç kabuğu sıvı dumanının ve vankomisinle birlikte kullanımı bakterilerin üzerinde %75,0 ve %85,5 oranında etkili olduğu tespit edilmiştir. Pirinç kabuğu dumanı ekstraktı ve vankomisin kombinasyonu, patojene karşı sinerjistik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Farenin normal diyetine iki hafta boyunca pirinç kabuğu sıvı dumanı (%1,0v/w) ilave edildiğinde *Salmonella*'nın ölümcül dozlarıyla enfekte olan 10 farenin ölüm oranı azalmış ve karaciğer dokularını *Salmonella* kaynaklı patolojik nekroz lezyonlarına karşı koruduğu görülmüştür (Friedman, 2013).

1.3.2. Anti enflamatuar ve anti alerjik etkileri

Friedman (2013) yaptığı bir çalışmada, pirinç kabuklarının pirolizi ile hazırlanan yeni bir sıvı pirinç kabuğu dumanı ekstresinin anti alerjik, anti enflamatuar aktiviteleri, *in vitro* ve *in vivo* olarak değerlendirilmiştir.

Farede iltihaplanma (ödem) oluşturmak için CD-1 farelerinin kulaklarına TPA uygulanmıştır. Sıvı pirinç kabuğu ekstraktının %1'inin topikal uygulaması, TPA ile indüklenen enflamasyon ile ilişkili TNF-a, IL-1p, IL-6, lökotrien B4 (LTB4), prostaglandin E2 (PGE2) ve miyeloperoksidaz (MPO) biyobelirteçlerin ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Friedman, 2013). Bu *in vivo* bulgular, pirinç kabuğu türevini olan pirinç kabuğu duman ekstraktının inflamasyon ile ilişkili bozuklukların tedavisi ve önlenmesinde etkili olduğunu göstermektedir. Genel olarak bu sonuçlar, pirinç kabuğu dumanından elde edilen ekstrenin, kimyasal/hücresel/moleküler *in vitro* ve *in vivo* testlerde anti alerjik ve anti enflamatuar etkilere karşı önleyici aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Friedman, 2013).

Pirinç kabuğunda antioksidan etkileri olan oryzanol (steril ferulik esterler), tokoferol, tokotrienol ve fenolik asitler bulunmaktadır. Antienflamatuar özelliklere sahip olan oryzanol, pirinç kabuğunun yağ bileşenleri arasındadır. Pirinç kabuğu içeriğinde %52 lif, % 0,29 yağ ve % 2,23 protein bulunmuştur (Edrisi ve diğ., 2018).

Edrisi ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, kilolu veya obez yetişkinlerde diyetle birlikte pirinç kabuğu tozu takviyesi enflamatuar belirteçler üzerinde olumlu etki yapmıştır.

1.3.3. Pirinç kabuğunun antikanser etkisi

Kanser kemoterapisinde yeni anti tümör ilaçların üretilmesi ile daha başarılı tedaviler yapılmaktadır. Tümörlerin ilaç direnci ve ilaçların normal dokulara yan etkileri kemoterapinin en önemli sorunlarındandır (Kim ve diğ., 2007). Bu ciddi sorunu çözmek için, normal doku ve hücrelerde az miktarlarda veya hiç yan etkisi olmayan, düşük sitotoksiteye sahip yeni anti kanser ajanlar geliştirmek için sürekli araştırmalar yapılmaktadır(Kim ve diğ., 2007).

Birçok bitki ürününün farmakolojik uygulamaları vardır (Kim ve diğ., 2007). Bu ürünlerin düşük toksisiteleri ve yan etkilerinin az olması nedeniyle kanser kemoterapisinde kullanım potansiyeli oldukça yüksektir. Kanser hücrelerinde sitotoksik etkileri indüklemek için farklı bitki ekstreleri üzerine çok fazla araştırma yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir (Kim ve diğ., 2007).

Pirinç kabuğundan izole edilen momilakton B, komşu bitkilerin büyümesini inhibe eden bir allelopat olarak etki etmektedir (Kim ve diğ., 2007).

Kim ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada pirinç kabuğu metanolik ekstrelerinin 0,5, 5, 50, 500µG/mL konsantrasyonlarında HT-29 (İnsan kolon kanseri) hücre hattındaki sitotoksik etkileri MTT analizi ile değerlendirmişlerdir. 24 saat sonunda hücre canlılığının %50-70 oranında azaldığını görmüşlerdir. Konsantrasyonun 500µG/mL olduğunda hücre canlılıkları %30'a düştüğü görmüşlerdir. Pirinç kabuğunun metanolik ekstresinin 0-500µG/mL konsantrasyonunda HT-29 hücre hatlarına karşı duyarlı olduğu ve IC50 değerinin ise 0,5µG/mL olduğunu tespit etmişlerdir (Kim ve diğ., 2007).

Kim ve ark. (2007) yaptıkları aynı çalışmada momilakton B'nin HT-29 ve SW620 kolon kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkisi test edilmiştir. Momilakton B'nin HT-29 ve SW620 hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki etkisinin doza bağımlı olduğu görülmüştür. HT-29 ve SW620 hücreleri, 72 saat boyunca momilakton B'ye

(0, 0,5, 1 ve 5 μm) maruz bırakılmıştır. Momilakton B, kültür ortamında HT-29 ve SW620 hücrelerine son derece toksiktir. Koloni formasyonu (IC_{50}) %50 inhibisyonu için gerekli olan momilakton B seviyesi 1 mM'den daha azdır.

Pirinç kabuğundan izole edilen momilakton B'nin HT-29 ve SW620 insan kolon kanseri üzerinde sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu açıkça gösterilmiştir(Kim ve diğ., 2007). Bu çalışmadaki sonuçlar, Kim ve ark. (2007)' na momilakton B'nin insan kolon kanseri hücrelerinin ölümünü indüklemek için yeni terapötik ajanlar için potansiyel olduğunu göstermektedir.

Lee ve ark. (2008) yaptıkları bir başka çalışmada allelokimyasal olan momilakton B'nin kan kanseri hücreleri üzerinde antikanser aktivitesi olup olmadığı incelemiştirler. Burada, mikromolar dozlarda momilakton B'nin, insan lösemi T hücreleri dâhil olmak üzere çeşitli kan kanseri hücrelerinde apoptozu indükleyerek antitümör etkinliğine sahip olduğu gösterilmiştir.

Lee ve ark. (2008)' e göre Momilakton üzerine yapılan bilimsel çalışmalardan elde edilen sonuçlar yeni bir terapötik ajan olabileceği önermiştirler.

Kim ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada 9 farklı pirinç kabuğunun %70 etanol ekstrelerini aynı zamanda insan akciğer kanseri hücre hatları MCF7 ve küçük hücreli olmayan akciğer kanser hücreleri NCI-H460 kullanılarak antiproliferatif etkinliği test edilmiştir. Seol gaeng pirinç kabuğu özü MCF7(%65,82) ve NCI-H460 (%42,77) hücrelerine karşı 100μg/ml konsantrasyonda en yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Hiami pirinç kabuğu özü(% 64,93) ve Nokmi pirinç kabuğu özü (%64,20), MCF7 hücrelerine karşı % 50'den fazla sitotoksite göstermiştir.

Friedman yaptığı bir çalışmada güçlü antitümör aktivitesi sergileyen bileşik momilakton B pirinç kabuğundan izole etmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar, momilakton B'nin insan lenfoma ve meme kanseri hücrelerine karşı da antikanser etkisi doğrulanmıştır. Bu da pirinç kabuğu ekstresi ve momilakton B'nin insan kolon ve diğer kanserlerin tedavisi için aday olabileceğini düşündürmektedir (Friedman, 2013).

FIR ışınlanlarla ışınlanmış pirinç kabuklarının metanol ekstrelerinin, ROS'ta serbest elektronları temizleme aktivitesine, metal-şelatlama aktivitesine ve insan lenfositlerindeki oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Friedman, 2013).

Pirinç kabuklarının metanol ekstresi insan kanser hücrelerine karşı *in vitro* (IC_{50}=0,5μG/mL) ortamlarda sitotoksik aktivite sergilediği bulunmuştur (Friedman, 2013).

Jesudoss ve ark. (2018) tarafından pirinç kabuğu külünden elde edilen ZSM-5 zeolitlerin (alüminyum silikat) A549 hücrelerinin membranı üzerine etkilerini anlamak için *in vitro* ortam kullanılarak araştırma yapılmıştır. Bu amaçla ZSM-5 zeolitleri çeşitli konsantrasyonlarda (1000, 500, 250, 175, 89,5, 51,3, 23,2 μm/ml) A549 hücre hattı ile birlikte inkübe edilmiştir, sitotoksik aktivite MTT testi ile analiz edilmiştir. Pirinç kabuğu külünden elde edilen ZSM-5 zeolitlerin en yüksek sitotoksik etkiyi 1000μm/mL de %77,8 hücre ölümleri gerçekleşmiştir. Pirinç kabuğu külünden elde edilen ZSM-5 pirinç kabuğu külü zeolitini, A549 insan akciğer karsinoma hücre hatlarına karşı ROS(reaktif oksijen türleri) ve oksidatif stres oluşumu yoluyla ortaya çıkan gelişmiş bir sitotoksite etkisine sahip potansiyel bir biyomateryal olarak tanımlanmıştır.

Sonuçlar, pirinç kabuğu külü gibi atık maddelerden elde edilen ZSM-5 zeolitlerin,insan akciğer karsinoma (A549) hücre hattına karşı üstün bir antikanser aktivite gösterdiği dolayısıyla kanser tedavisi için potansiyel uygulamalara sahip olduğunu göstermiştir (Jesudoss ve diğ., 2018).

1.3.4. Pirinç kabuğunun antioksidan etkisi

Pirincin farklı kısımlarında değişen oranlarda antioksidan özelliklere sahip biyoaktif bileşikler bulunmaktadır. Pirinç kabuğunda diğer kısımlardan farklı olarak daha yüksek konsantrasyonda fenolik asitlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Pirinç kepeğinde ise en çok ferulik asit olduğu, buna karşın vanil ve p-kumarik asitlerin çoğunlukla kabuk kısmında olduğu tespit edilmiştir. Her fraksiyonun antioksidan kapasitelerindeki önemli farklılıklar ($p<0,05$), büyüme bölgelerine ve antioksidan

bileşenlerine bağlıdır.Yüksek antioksidan içeriğine sahip pirinç kabuğunun önemli biyoaktif bileşenlere sahip olduğu belirlenmiştir (Butsat ve diğ., 2010).

Pirinç kabuğundan izole edilen izoviteksin, güçlü bir antioksidandır. Fenton reaksiyonu ile lipit peroksidasyonunun engellenmesinde gösterdiği antioksidan aktivitesi, iyi bir antioksidan olan alfa-tokoferol ile kıyaslanabilecek seviyededir.

Huang ve ark. yaptıkları çalışmada fare makrofajı RAW264.7 hücrelerinde lipopolisakkarid (LPS) tarafından indüklenen hidrojen peroksit üretim miktarı izoviteksin ile azaltılabildiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada, LPS ile aktive edilmiş RAW 264.7 makrofajlarında tümör nekrozis faktör alfa (TNF-alfa), prostaglandin E2 (PGE2) ve siklooksijenaz-2'nin (COX-2) ekspresyonu üzerine etkilerini değerlendirilmiştir. İzoviteksin 78,6 mikroM' lık %50' lik bir inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) ile LPS aktivasyonu üzerine bir proinflamatuar sitokin olan TNF-alfa'nın salımını inhibe etmiştir. İzoviteksin, LPS ile uyarılan PGE2 üretimi konsantrasyona bağımlı bir şekilde, 80,0 mikroM'lik bir IC_{50} ile belirgin bir şekilde azaltmıştır. COX-2'de izoviteksin tedavisi ile engellenmiştir (Huang et al., 2005).

Pirinç kabuğundan izole edilen güçlü antioksidan olan izoviteksin ile ROS (reaktif oksijen türleri) aracılı COX-2 ekspresyonunun baskılanması enflamasyonu ve karsinojenezi azaltmada yararlı olduğu gösterilmiştir (Huang et al., 2005).

Genel olarak kabuk gibi bitkilerin dış katmanları tohumların oksidatif hasardan korunmasında önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle flavonoidler bol miktarda ve güçlü antioksidanlardan izovitexin, fitik asit, anisol, vanilin, siringik asiti içermektedir. Özellikle pirinç tohumunu korumak için kabuk kısmında polifenolik bileşik içeren bir antioksidan savunma sistemi görülmüştür. Çeşitli pirinç kabuğu ekstrelerinin antioksidan aktivitesi üzerine çok az çalışma bulunmaktadır (Kim ve diğ., 2011).

Kim ve ark. tarafından yapılan çalışmada pirinç kabuğu ekstrelerinin ABTS süpürme aktivitesi, DPPH radikal inhibisyon aktivitesi için güçlü antioksidan özellikler göstermiştir. Farklı pirinç çeşitlerinden seçilen dokuz adet pirinç kabuğu özü arasında en yüksek antioksidan aktivite Nokmi pirinç kabuğu özünden elde edilmiştir. En yüksek mitojenik ve anti proliferatif aktiviteler Hongjinju ve

Seolgaeng pirinç kabuğu ekstrelerinde bulunmuştur. Nokmi pirinç kabuğu özlerinin diğer pirinç kabuğu özleri ile kıyaslandığında en etkili antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Pirinç kabuğu özütünün antioksidan aktivitesi üzerinde isoviteksin, momilakton B gibi antioksidanların miktarlarının etkili olduğu düşünülmektedir. Pirinç kabuklarındaki özel fitokimyasalların, antioksidan ve antiproliferatif aktiviteleri için daha fazla araştırılması gerektiği bildirilmiştir (Kim ve diğ., 2011).

Pirinç kabuğu, isoviteksin, fitik asit, vanilik asit, siringik asit ve ferulik asit gibi fenolik bileşikler içermektedir (Jeon ve diğ., 2006). Farmasötik ve gıda endüstrileri için doğal bir antioksidan kaynağı olarak potansiyeli değerlendirmek amacıyla, insan lenfositlerinde H_2O_2 tarafından indüklenen ROS (reaktif oksijen türleri) süpürücü ve oksidatif DNA hasarı üzerindeki FIR(Uzak kızılötesi ışını) ışınlı pirinç kabuğu ekstrelerinin antioksidan aktivitesini belirlenmeye çalışılmıştır (Jeon ve diğ., 2006). Pirinç kabuğu metanol ekstrelerinden elde edilen fenolik bileşiklerin singler oksijenin çökelmesine karşı yüksek antioksidan aktivite sergilediği ve insan lenfositlerindeki yüksek hidrojen peroksit kaynaklı DNA hasarını inhibe ettiğini gösterilmiştir (Jeon ve diğ., 2006).

1.4. Pirinç Kabuğunun Biyoteknolojik Önemi

Gelişmekte olan ülkeler bol miktarlarda tarımsal kaynaklara ve bunların yan sanayilerine sahiptir. Tarımsal atıkların çoğu düşük değerli ürünlerle birlikte kullanılmaktadır. Öte yandan, gelişmiş ülkeler "atık yok" sloganıyla çalışmalar yaparak yenilenebilir tarımsal atıklardan yeni malzemeler geliştirmektedir (Chandrasekhar ve diğ., 2003).

Kimya ve enerji endüstrisi için uygun bir yenilenebilir hammadde, toplumun sürdürülebilir gelişimi için son derece önemlidir. Günümüzde ham petrol, kömür ve doğalgaz gibi yenilenemeyen fosil kaynaklardan elde edilen kimyasal maddeler hem pahalı hem de yenilenebilir kaynaklar değildir. Ham maddenin ucuz ve yenilenebilir olması ekonomik açıdan çok önemlidir (Pe'rez ve diğ., 2002).

Lignoselülozik malzemeler dünyada biyokütle kaynağı olan en bol yenilenebilir maddelerdir. Bu maddeler fosil kaynaklarına en önemli alternatif olarak

öngörülmektedir. Küresel biyokütlenin yaklaşık %50'sini oluşturan lignoselülozik biyokütle, yıllık üretimi 10-50 milyar ton olan, düşük maliyetli tarımsal ve ön atıklardan elde edilmektedir (Pe'rez ve diğ., 2002).

Lignoselülozik malzemelerin ana kimyasal bileşenleri, küller, proteinler, nişasta, terpenler, mumlar, reçineler, yağ asitleri ile selüloz, hemiselüloz, lignin, fenolik ekstreler ve diğer bileşiklerdir (Pe'rez ve diğ., 2002).

Biyokütlenin ana bileşeni olan lignoselüloz, fotosentez ile üretilen maddenin yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. Kovalent ve kovalent olmayan kuvvetler tarafından bir biri içinde kimyasal olarak bağlanmış olan üç tip polimerden (selüloz, hemiselüloz ve lignin) oluşmaktadır. Lignoselülozlar odun, çimen, tarımsal artıklar, orman atıkları ve belediye katı atıklarından elde edilmektedir. Lignoselülozların geri dönüşümü için selüloz, hemiselüloz ve lignin ayrışmasının enzimolojisine dayalı çeşitli biyolojik yöntemler önerilmiştir. Bunların arasında, kompozit ve etanol üretimi için hammadde olarak kullanımları, alternatif yakıt olarak ekonomik görünmektedir (Pe'rez ve diğ., 2002).

Pirinç kabuğu, pirinç fabrikalarında bir yan ürün olarak açığa çıkan en yaygın tarımsal atıklardandır. Çünkü pirinç milyarlarca insanının besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Pirinç kabuğu küçük kütle yoğunluğuna ve tahıllar arasında en yüksek amorf silis içeriğine sahiptir. Pirinç kabuğunun depolaması esnasında karasal ve sucul alanlarda ötrifikasyona neden olmaktadır. Ayrıca kontrolsüz olarak yakılması sonucu havada asılı kalan kristal silikalı parçacıklarından dolayı çevresel ve sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Alvarez ve diğ., 2014).

Bu nedenle pirinç kabuğunun ortadan kaldırılması için uygun tekniklerin kullanılması ve katma değerli ürünler olarak değerlendirmesi gerekmektedir (Behainne ve Martinez, 2014).

1.4.1. Pirinç kabuğunun ilaç endüstrisinde kullanımı

Pirinç kabuğu ana bileşeni silikondioksit(SiO_2); fotovoltaik hücrelerin üretimi, çimento endüstrisinde kum-kireç tuğlalarının üretiminde kullanılan kalsiyum silikatların sentezi, boya ve polimerler endüstrisinde dolgu malzemesi olarak ve

dielektrik porselen üretilmesi gibi farklı amaçlarla kullanılmaktadır (Fernândez Ledesma ve diğ., 2015).

Kolloidal silikon dioksit, genel olarak %0,5 ile %20 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılan, yarı katı maddenin hazırlanmasında, tiksotropik madde üretiminde, koyulaştırıcı olarak ve süspanse edici jeller olarak emülsiyonları stabilize etmek için farmasötik endüstrisinde kullanılmaktadır (Fernândez Ledesma ve diğ., 2015).

Arteriyel hipertansiyon tedavisinde kullanılan Valsartan 160 mg tablet içeriğinde bulunan Aerosil 200V'nin yerine pirinç kabuğundan elde edilen SiO_2' nin denenmesi üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Analitik kalitesi, BP2011 ve USP34 farmakopenin gerekliliklerine uygun bulunmuştur. Pirinç kabuğu külünden elde edilen silisyum dioksidin özellikleri, tablet formülasyonunda bir yağlama maddesi ve eksipiyan olarak kullanılmasına olanak tanımaktadır. Çünkü akış özellikleri Aerosil 200V'den daha iyi sonuçlar göstermektedir (Fernândez Ledesma ve diğ., 2015).

İlaç endüstrisinde, insan vücudunda bir ilacın kontrollü bir şekilde salınmasına izin veren taşıyıcılara veya eksipiyanlara ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır. Bir eksipiyanın ana rolü, ilacın terapötik indeks altında taşınmasıdır. Yeni nesil eksipiyanlar arasında, sipariş edilen mezoföz silika (MS)'nın mükemmel biyouyumluluk, iyi adsorpsiyon kapasitesi ve ilaç uygulamasında kesin kontrol gibi çeşitli avantajları vardır. Bununla birlikte, mezo gözenekli silikanın sentezinin yüksek maliyeti endüstriyel uygulamalarla kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle, yaygın kullanım için düşük maliyetli bir prosedür gerekmektedir (Carmen ve diğ., 2017).

Pirinç kabuğunda elde edilen SiO_2 ilaç dağıtım sisteminde yeni bir seçenek olabileceği düşünülmektedir. Mezoföz silikanınkilere benzer özelliklere gösteren iyi adsorpsiyona sahip silika pirinç kabuğundan elde edilmiştir. Sonuç olarak, pirinç kabuğunundan elde edilen SiO_2 in eksipiyan davranışı, model ilaç olarak folik asit kullanılarak değerlendirilmiştir. Carmen ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada pirinç kabuğu-SiO_2 gözeneklerinde %18,5 'lik bir emilim sergilediğini, MS %19 civarında emilim gösterdiği saptamışlardır. İlaç salım profilleri, MS silikalar

için benzer özellikler göstermiştir. Pirinç kabuğu-SiO_2 folik aside benzer ilaçlar için düşük maliyetli, mezoföz silikanınkine benzer verim gösteren yardımcı maddelerdir.

Pirinç kabukları selüloz nanokristallerin (CNC'ler) ekstraksiyonu için uygundur. CNC'ler, yüksek kristallilik derecesine sahip uzunlukları 100 nm' den az olan, iğne benzeri bir formdadır. Polimerlerde bir takviye malzemesi olarak CNC' leri cazip kılan temel özellikler; geniş yüzey alanı, yüksek mekanik mukavemet, yüksek görünüş oranı, hidrofilisitesi, toksik olmamaları, düşük kütle yoğunluğu, biyouyumluluk ve biyo bozunabilirlik özellikleridir. Selüloz esaslı hidrojeller üzerinde yapılan çok sayıda araştırma olmasına rağmen, ilaç dağıtım sistemi için jelatinden hidrojellerde güçlendirilmiş malzemeler olarak CNC'nin kullanımı yeni çalışılmıştır (Yinooi ve diğ. 2016).

1.4.2. Pirinç kabuğunun biyoenerjide kullanımı

Kimya ve enerji endüstrisi için uygun yenilebilir hammadde toplumun sürdürülebilir kalkınması için son derece önemlidir. Günümüzde, hammadde ihtiyacı özellikle petrol, kömür ve doğalgaz gibi yenilenemeyen fosil kaynaklardan karşılanmaktadır. Dünyadaki en bol biyokütle kaynağı olan lignoselülozik maddeler yenilenebilir olmasından dolayı fosil kaynaklara alternatif olarak kullanılabileceği öngörülmektedir (Salantı ve diğ., 2010).

Pirinç kabuğu, nem içeriği %8,68-10,44, yoğunluğu 86-114 kg/m3 arasında değişmektedir. Pirinç kabuğu %15,30-24,60 oranında yüksek kül içeriğine sahip bir biyokütle malzemesidir. Pirinç kabuğu içindeki kül %90-97 silika içermektedir, Çok düşük azot (%0,38-0,51), kükürt (%0,0014-0,0034) ve klor (%0,01-0,13) konsantrasyonundan dolayı çevre açısından ideal bir yakıt özellikleri sunar (Mansaray ve Ghaly, 1997).

Genellikle, bir pirinç değirmeninde açığa çıkan kabuğun ortalama %50'si mekanik öğütme makinesini çalıştırmak için olduğu yerde yakılmaktadır. Geriye kalan kısım, özellikle silika üretimde, inşaat malzemelerinde ve gübre olarak kullanılmak diğer sektörlere satılmaktadır (Nguyen, 2014).

Pirinç kabuğu yüksek enerji kapasitesi nedeniyle (bir pirinç kabuğu tonuna göre iki varil petrol eşdeğeri) biyoyakıt olarak, kurutma ve parlatma işlemleri için kullanılmaktadır (Nguyen, 2014).

Pirinç kabuğu, ısıtma değeri 3800 kcal/kg' dır. Dünyada, özellikle Doğu Asya'da inşa edilmiş ve işletilen çok sayıda pirinç kabuğu temelli elektrik santrali bulunmaktadır (Nguyen, 2014).

Ev enerjisinde alternatif yakıt olarak kullanılmaktadır. Çeltik ve proses buharı üretimi için, pirinç kabuğu yakıt olarak kullanılmaktadır (Kumar ve diğ., 2013).

1MWH (milyon watt saat) elektrik üretmek için 1 ton pirinç kabuğu gereklidir. Pirinç kabuğu, ağır metallerin atık sudan uzaklaştırılması için adsorban görevi görür. Çoğu ülkede biyoetanol üretimi için kullanılan lignoselülozik biyokütle pirinç kabuğu, yenilenebilir ve çevre dostu bir yakıttır (Kumar ve diğ., 2013).

1.4.3. Pirinç kabuğunun inşaat endüstrisinde kullanımı

Pirinç kabuğu ana bileşeni silikon dioksittir (SiO_2), çimento endüstrisinde kum-kireç tuğlalarının üretiminde kullanılan kalsiyum silikatların sentezi, boya ve polimerler endüstrisinde dolgu malzemesi olarak ve dielektrik porselen üretilmesi gibi farklı amaçlarla kullanılmaktadır (Fernández Ledesma ve diğ., 2015).

Pirinç kabuğu, izolasyon malzemesi olarak ve atık giderimde adsorbent olarak kullanılabilmektedir (Bayrak, 2008).

Pirinç kabuklarının yakılması sonucu pirinç kabuğu külü üretilmektedir. Amorf silika, pirinç kabuğu külünün ana bileşenini (%83-90) oluşturmaktadır. Amorf silis açısından zengin pirinç kabuğu külü geniş bir uygulama alanına sahiptir. Yüksek değerli uygulamalar, silika jelleri, silikon çip, aktif karbon üretimi, silikanın sentezi, hafif yapı malzemeleri ve izolasyon üretiminde kullanılmaktadır (Pode, 2016).

1.4.4. Pirinç kabuğunun gıda endüstrisinde kullanımı

Pirinç kabuğu yaklaşık %70 lif içeriğinden dolayı gıda sektöründe kullanılabilen düşük maliyetli elyaf kaynağıdır (Edrisi, 2018).

Son zamanlarda piroliz yöntemiyle pirinç kabuğundan yüksek kaliteli biyoyağ elde edilmeye çalışılmıştır (Chen ve diğ., 2011).

Pirinç kabuklarının önemli bir bileşeni olan lignoselülozlar, yenilenebilir bir karbohidrat kaynağıdır (Chen ve diğ., 2013).

1.5 Basınçlı Sıcak Su Ekstraksiyonu (BSSE)

İlaç, gıda ve kimya endüstrileri gibi farklı ticari sektörlerde kullanılan biyoaktif bileşikleri bitki materyallerinden elde etmek için en uygun yöntemlerin kullanılması çok önem taşımaktadır. Geleneksel metotlarla birlikte çok sayıda yeni metot oluşturulmaktadır. Ancak bitkilerden biyoaktif bileşiklerin çıkarılması için şimdiye kadar tek bir yöntem standart olarak kabul edilmemiştir. Geleneksel ve geleneksel olmayan ekstraksiyon yöntemlerinin verimliliği çoğunlukla parametrelere bağlıdır. Ekstraksiyon, herhangi bir tıbbi bitki çalışmasının ilk adımı olması nedeniyle çıkacak sonuç üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Ekstraksiyon yöntemleri bazen "örnek hazırlama teknikleri" olarak da adlandırılır (Azmir ve diğ., 2013).

Geleneksel bitki materyali ekstraksiyonlarında genellikle organik çözcüler kullanılmaktadır. Bu organik çözücüler ekstraktın bileşenlerinin kimyasını bozabilir. Son yıllarda çevrenin organik çözücülerle kirlenmesi endişesi bir ekstraksiyon aracı olarak suya olan ilgiyi artırmaktadır (Ollanketo ve diğ., 2002).

Çözücülerle numune hazırlama teknikleri olarak; sıvı-sıvı ekstraksiyonu, sonikasyon, Soxhlet ekstraksiyonu ve diğer klasik yöntemler kullanılmaktadır. Bu klasik yöntemlerin dezavantajları; düşük ekstraksiyon verimliliği, zaman alıcı olmaları ve çevre dostu olmayan organik çözücülerin kullanmasıdır (Teo ve diğ., 2010).

Son yıllarda süper kritik akışkan ekstraksiyonu, mikrodalga yardımlı ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyon ve basınçlı sıcak su ekstraksiyonu gibi yeni ve basit ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir (Teo ve diğ., 2010).

Organik çözücülerin kullanımını azalmak için basınçlı sıcak su ekstraksiyonu, yüksek sıcaklıklı su ve kontrollü basınç yönteminden dolayı doğal bir ekstraksiyon yöntemidir (Teo ve diğ., 2010).

Çözgen olarak kullanılan su, kolay bulunabilen, toksin olmayan, geri dönüşümü kolay, çevresel kirliliği çok az olan bir maddedir. Basınçlı sıcak su ekstraksiyonunun, zaman tasarrufu ve düşük maliyetli olması diğer avantajlarındandır (Teo ve diğ., 2010).

BSSE, bitki ve gıda maddelerinden biyoaktif ve besleyici bileşiklerin izolasyonu için son yıllarda kullanılan yöntemdir. BSSE, bitkilerde mevcut olan bileşenler için hızlı, temiz ve yüksek verimli bir ekstraksiyon yöntemi olarak sunulmaktadır. BSSE'de, temizleme ihtiyacı olmadan madde ve bileşiklerin elde edilmesinde kullanılabilecek oldukça uygun bir yöntemdir. Ekstre edilen madde ve bileşikler daha fazla test, işleme ve insan tüketimi için güvenli olduğundan bu durum maliyetlerinde düşmesini sağlayacaktır (Teo ve diğ., 2010). Modern kromatografik ve spektrometrik tekniklerin geliştirilmesi ile biyoaktif bileşik analizlerinde eskisinden daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Ancak tam başarı ekstraksiyon yöntemlerine, girdi parametrelerine ve bitki materyallerinin tam doğasına bağlıdır. Ekstraksiyon işlemlerini etkileyen en temel faktörler; bitki parçasının, çözgenin sıcaklığın, basıncın, zamanın ve matriksin özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Azmir ve diğ., 2013).

1.5.1 Ekstraksiyon parametreleri

1.5.1.1 Su

Su, yoğun hidrojen bağlı yapısının varlığı nedeniyle oda sıcaklığında ve atmosfer basıncında yüksek dielektrik sabiti (ε) olan polaritesi yüksek bir çözgendir. Dolayısıyla geleneksel olarak su, oda sıcaklığında polar olmayan veya organik bileşikler için uygun bir ekstraksiyon sıvısı olarak kabul edilmektedir (Teo ve diğ., 2010).

Suyun sıcaklığı yükseldiğinde, geçirgenliği, viskozitesi ve yüzey geriliminde sürekli bir azalma meydana gelmektedir. Bununla birlikte, difüzivite özelliklerinde bir artış olmaktadır (Teo ve diğ., 2010).

Suyun yanıcı ve toksik olmaması, kolayca bulunabilir olması ve çevre dostu olmasından dolayı iyi bir çözücüdür. Su, bitki materyalleri için analitik bir

ekstraksiyon çözücüsü olarak henüz çok fazla ilgi görmemiştir. Çünkü bitki materyallerinin organik bileşiklerinin çoğunu tam çözmek için çok polardır. Suyun sıvı haldeki durumunu muhafaza etmek için yeterli basınç ve sıcaklığın arttırılmasının, farklı matrikslerden çok çeşitli organik bileşiklerin çıkarılmasına olanak sağladığı gözlemlenmiştir. Suyun polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve poliklorlu bifenil (PCB) gibi polar olmayan organik maddeleri ayıklayabilme yeteneği suyun dielektrik sabitini (polaritesi) yüksek sıcaklıkla önemli ölçüde azaltılabilmektedir (Ong ve diğ., 2006).

1.5.1.2 Sıcaklık ve basınç

Botanik ve tıbbi bitkilerde biyoaktif ve markör bileşikler için kullanılan ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı ekstraksiyon verimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

Suyun 250ºC'de sıvı haldeki durumu korumak için yeterli basınçla dielektirk sabiti 27'ye düşürülmüştür. Bu değer 25°C'de metanol (ε=33) ve etanolün (ε=24) dielektirk sabitine eş değerdir. Buradan da anlaşılacağı üzerine bu koşullar altında su, bazı organik çözücülere benzer özelliklere sahiptir (Ong ve diğ., 2006).

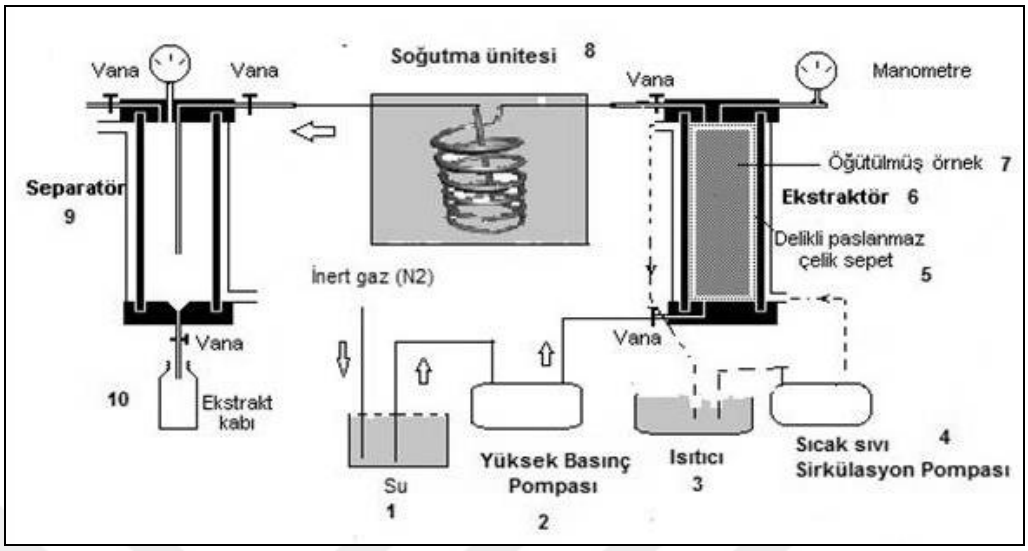
1.5.1.3 Örnek Miktarı ve cinsi

Biyoaktif bileşikler, yapraklar, gövde, çiçek ve meyveler gibi çeşitli bitki kısımlarında bulunabilir. Ekstraksiyon verimliliği alınan numunenin diğer bileşiklerle yaptığı kimyasal bağlara ve matriks yapısı içerisine absorbe olup olmamasına göre değişkenlik göstermektedir (Nakilcioğlu ve Ötles, 2014).

1.5.1.4 Ekstraksiyon süresi

Ekstraksiyon süresi matriksin yapısına ve örnek numunenin biyoaktif bileşiklerin yapısal özelliklerine göre değişmektedir (Nakilcioğlu ve Ötles, 2014) .

1.5.2 Ekstraksiyon mekanizması



Şekil 1.6**.** Basınçlı su ekstraksiyonu sistemi (Nakilcioğlu ve Ötles, 2014)

İlk adım, numunedeki çeşitli aktif bölgelerden çözünen maddelerin ayrılması işlemidir. İkinci aşama, ekstraksiyon sıvısının matrikse difüzyonunu içermektedir. Daha sonra, numune matriksine bağlı olarak, çözünenler kendilerini numune matriksinden ekstraksiyon sıvısına ayrılır. Son olarak ekstraksiyon hücresinden toplama kabına kromatografik olarak ayrılmaktadır (Teo ve diğ., 2010).

BSSE'de dinamik bir ekstraksiyon sırasında taze su sürekli olarak verilirse, kütle transferini artırır ve böylece ekstraksiyon oranını artırır (Teo ve diğ., 2010).

Tablo 1.5. Protein ekstraksiyon değerinin optimizasyonu için bağımsız değişkenler (Gültekin ve diğ., 2016)

Koşullar	FAKTÖR 1	FAKTÖR 2	FAKTÖR 3	FAKTÖR 4
1	8,0	40	2,00	0,061
2	8,0	80	8,00	0,076
3	8,0	60	5,00	0,077
4	10,0	80	5,00	0,228
5	6,0	60	8,00	0,035
6	10,0	40	5,00	0,076
7	8,0	80	2,00	0,172
8	10,0	60	2,00	0,216
9	6,0	40	5,00	0,028
10	10,0	60	8,00	0,064
11	6,0	80	5,00	0,048
12	8,0	40,00	8,00	0,038
13	8,00	60,00	5,00	0,070
14	6,00	60,00	2,00	0,052
15	8,00	60,00	5,00	0,086

Gültekin ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada pirinç kabuğu yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyon yöntemiyle ve çözgen olarak su kullanılarak 15 farklı koşulda ekstrakte edilerek protein lizatları elde edilmiştir. Söz konusu çalışmada en yüksek protein miktarı pH:10, sıcaklık 60°C ve akış hızı dakikada 2 ml olacak şekilde ekstrakte edilerek elde edilen ekstrede 0,216 g/L olarak bulunmuştur. Farklı koşullarda elde edilen protein miktarları Tablo 1.5' de gösterilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Bitki Materyali

Araştırmada, bitki materyali olarak atık *Oryza sativa Linn.* kabuğu kullanılmıştır. Pirinç kabuğu, İpsala, Edirne'de faaliyet gösteren Özserhat Gıda San. Ltd. Şti.'nden temin edilmiştir.

2.2. *Oryza sativa* Atık Kabuğundan Protein Ekstrelerinin Hazırlanması

Araştırmada, atık *Oryza sativa* kabuğuna ait ham protein ekstreleri kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan atık *Oryza sativa* kabuğuna ait ham protein ekstreleri Ege Üniversitesi Güneş Enerjisi Enstitüsü Doç. Dr. Melih Soner ÇELİKTAŞ tarafından yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyon yöntemiyle ve çözgen olarak su kullanılarak ekstre edilmiş ve temin edilmiştir. Çözücü, liyofilizatör kullanılarak uçurulmuştur. Özütler kullanılmadan önce -20^{0}C'de saklanmıştır.

Atık *Oryza sativa* kabuğuna ait protein ekstreleri yüksek basınçlı sıcak su yöntemi kullanılarak 15 farklı proses ile elde edilmiştir. 15 farklı prosese ait tüm parametreler Tablo 2.1'de verilmiştir (Gultekin ve diğer 2016). Yüksek basınçlı sıcak su yönteminin yapıldığı cihaz Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Protein ekstraksiyon değerinin optimizasyonu için bağımsız değişkenler

KOŞULLAR	FAKTÖR 1 pH	FAKTÖR 2 SICAKLIK ^{0}C	FAKTÖR 3 AKIŞ HIZI ml/dakika
HPHWE1	8,0	40	2,00
HPHWE2	8,0	80	8,00
HPHWE3	8,0	60	5,00
HPHWE4	10,0	80	5,00
HPHWE5	6,0	60	8,00
HPHWE6	10,0	40	5,00
HPHWE7	8,0	80	2,00

Tablo 2.1.(Devam) Protein ekstraksiyon değerinin optimizasyonu için bağımsız değişkenler

HPHWE8	10,0	60	2,00
HPHWE9	6,0	40	5,00
HPHWE10	10,0	60	8,00
HPHWE11	6,0	80	5,00
HPHWE12	8,0	40	8,00
HPHWE13	8,0	60	5,00
HPHWE14	6,0	60	2,00
HPHWE15	8,0	60	5,00



Şekil 2.1.Basınçlı sıcak su ekstraksiyon cihazı
(Amar Equipment, Mumbai, İndia)

2.3. Ekstrelerin Protein Miktarının Belirlenmesi

Yüksek basınçlı sıcak su yöntemiyle elde edilmiş olan özütlerdeki protein miktarı Bradford yöntemi kullanılarak, 595 nm de UV görünür spektrofotometre (Amersham Pharmacia Ultrospec 1100 Pro) yardımıyla ölçülmüştür.

2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları

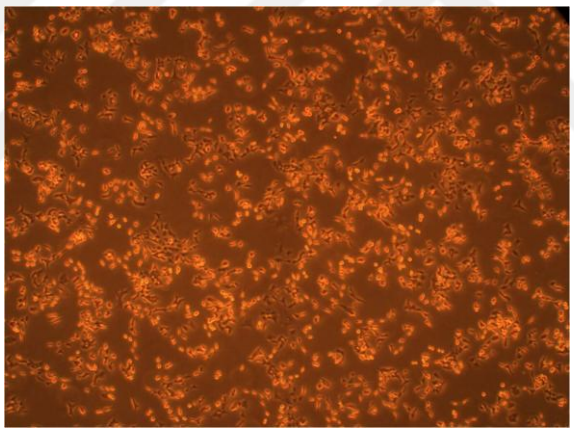
2.4.1. Tümör hücrelerinin çoğaltılması ve dondurularak saklanması

Elde edilen ekstrelerin sitotoksik etkileri, ATCC'den (Amerika Tip Kültür Koleksiyonu, ABD) satın alınan, 3 adet tümörojenik hücre hattı, MDA-MB-231 (insan meme adenokarsinoma), A549 (insan akciğer karsinoma), MCF7 (insan meme

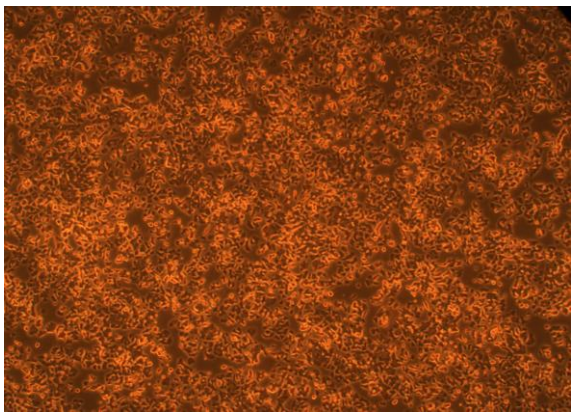
karsinomu) ve 1 adet tümörojenik olmayan normal hücre hattı Vero (Afrika yeşik maymun böbrek epiteli) kullanılarak incelenmiştir. Kullanılan hücre hatlarının resimleri Şekil 2.2, Şekil 2.3, Şekil 2.4 ve Şekil 2.5'de gösterilmiştir.

Hücreler, %5 fötal dana serumu (Sigma, ABD), 100 IU/ml penisilin ve 1 µg/ml streptomisin içeren RPMI-1640 (Invitrogen, ABD) besi ortamları ile 37^0C'de %5 CO2'li ortamlarda çoğaltılmışlardır (Sevimli-Gur C., 2009, Freshney I.R., 1994, Mather P.J.A., 1998).

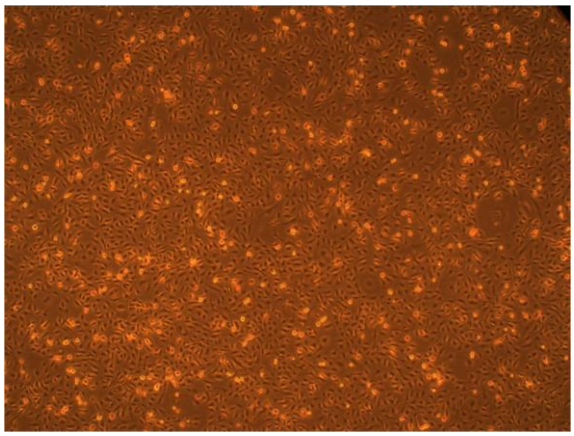
Üretilen hücre hatları testlerde kullanılıncaya kadar %5 dimetilsülfoksit (DMSO) içeren üretme ortamı veya %10 DMSO içeren fötal dana serumu (sigma,ABD) ile hazırlnan dondurma vasatlarıyla -86^0C derin dondurucuda ve/veya -196^0C'de sıvı azot içerisinde dondurularak saklanmıştır (Sevimli Gür C., 2009, Mather P.J.A., 1998, Freshney I.R., 1994).



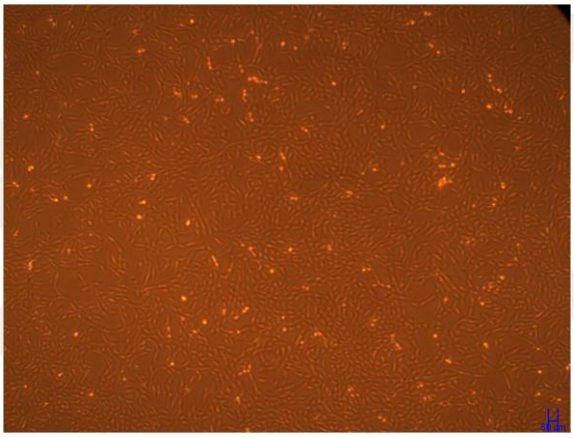
Şekil 2.2. Kullanılan A549 hücre hattının mikroskoptaki görüntüsü



Şekil 2.3. Kullanılan MCF7 hücre hattının mikroskoptaki görüntüsü



Şekil 2.4. Kullanılan MDA-MB-231 hücre hattının mikroskoptaki görüntüsü

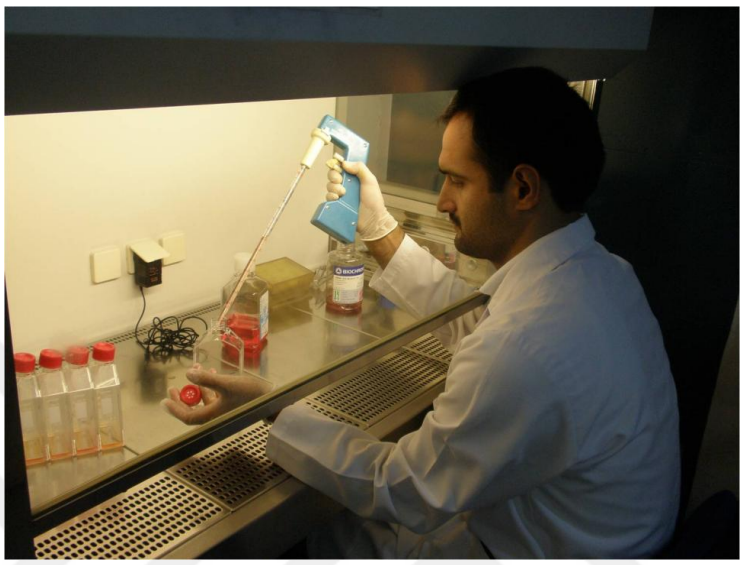


Şekil 2.5. Kullanılan VERO hücre hattının mikroskoptaki görüntüsü

2.4.2. Hücre canlılık oranlarının belirlenmesi

Bu çalışmada, kalorimetrik bir yöntem olan MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolium bromit) oluşumu ölçümü yöntemi kullanılmıştır. Bu hücre proliferasyon testi, canlı hücrelerin mitokondrial dehidrogenazları tarafından tetrazolium tuzlarının 3-(4,5-dimethylthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromit (MTT, Sigma Chemicals, ABD) bir mavi formazana hücresel indirgenmesi temeline dayandırılmaktadır. Hücre çoğalması, steril olarak Dublecco'nun fosfat tamponunda (Gibco, ABD) hazırlanan 5 mg/ml MTT stok solüsyonunun, kullanımdan önce 1:10 oranında üretme ortamı ile dilüe edilip, 0,5 mg/ml oranında eklenmesi ile saptanmıştır. MTT içeren ortam 4 saat sonra atılıp, mavi formazan kristalleri her kuyucuğa eklenen 200 µl %100 DMSO içinde çözdürüldükten sonra oluşan mavi formazan miktarına bağlı absorbans değerleri 570-690 nm referans aralıklarında

mikroplaka okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Tunable Microplate Reader, ABD) ölçülmüştür. Hücrelerin tümü için, canlı hücre sayısı ile MTT formazan kristallerinin miktarı arasında doğrusal ilişkinin bulunduğu gözlenmiştir. Hücre canlılığı, % hücre canlılığı olarak hesaplanmıştır.



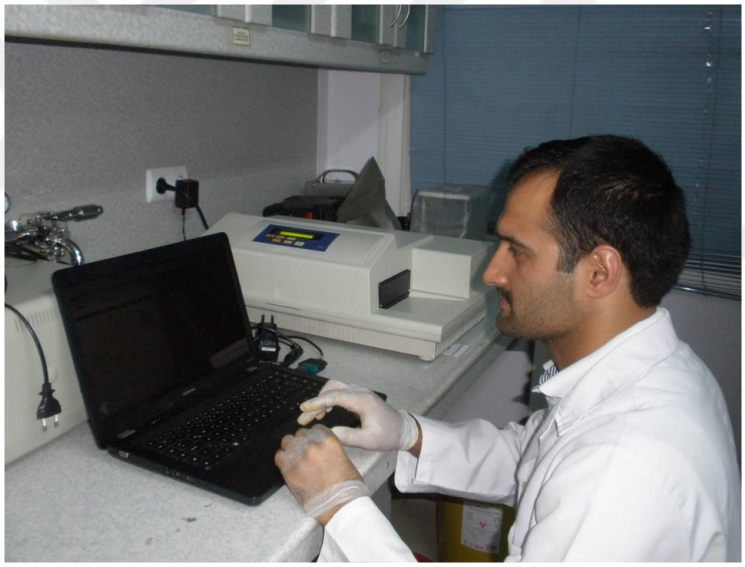
Şekil 2.6. Hücrelerin pasajlanması



Şekil 2.7. MTT testi



Şekil 2.8. Versamax, Tunable Microplate Reader



Şekil 2.9. Hücre canlılığının belirlenmesi

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Atık *Oryza sativa* Kabuğundan Elde Edilen Ekstrelerin Protein Miktarları

Çeşitli tümör hücreleri üzerinde en yüksek sitotoksik aktiviteye sahip ekstreleri belirlemek amacı ile yüksek basınçlı sıcak su ektraksiyon yöntemi ile 15 farklı koşul altında elde edilen ekstrelerin protein miktarı bradford yöntemi ile belirlenmiştir (Tablo 3.1). Protein lizatları, 1 nolu adımda (HPHWE1) pH:8,0, sıcaklık 40^0C, akış oranı dakikada 2,0ml olacak şekilde elde edilmiştir. HPHWE1 kodlu ekstrenin protein miktarı 0,678 g/l olarak bulunmuştur. pH:8,0, sıcaklık 80^0C, akış oranı dakikada 8,0ml parametreleri kullanılarak elde edilen HPHWE2 ekstresinin protein miktarı 0,211 g/l olarak saptanmıştır. HPHWE3 kodlu ekstre için, pH:8,0, sıcaklık 60^0C, akış hızı dakikada 5ml koşulları kullanılmış ve lizatın protein miktarı 0,342 g/l olarak bulunmuştur. HPHWE4 kodlu ekstre için pH:10, sıcaklık 80^0C, akış hızı dakikada 5 ml parametreleri kullanılmış ve lizatın protein miktarı 1,013 g/l olarak saptanmıştır. pH:6, sıcaklık 60^0C ve akış hızı dakikada 8 ml parametreleri kullanılarak elde edilen HPHWE5 kodlu ekstrede protein miktarı 0,097 g/l olarak belirlenmiştir. HPHWE6 kodlu ekstre, pH:10,0, sıcaklık 40^0C ve akış hızı dakikada 5ml parametreleri altında elde edilmiş ve protein miktarı 0,338 g/l olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.1. Atık *Oryza sativa* kabuğundan elde edilen ekstrelerin protein miktarları

Koşullar	pH	Sıcaklık ^{0}C	Akış hızı ml/dakika	Protein g/L
HPHWE1	8,0	40	2,00	0,678
HPHWE2	8,0	80	8,00	0,211
HPHWE3	8,0	60	5,00	0,342
HPHWE4	10,0	80	5,00	1,013
HPHWE5	6,0	60	8,00	0,097
HPHWE6	10,0	40	5,00	0,338
HPHWE7	8,0	80	2,00	1,911
HPHWE8	10,0	60	2,00	2,4

Tablo 3.1. (Devam) Atık *Oryza sativa* kabuğundan elde edilen ekstrelerin protein miktarları

HPHWE9	6,0	40	5,.00	0,124
HPHWE10	10,0	60	8,00	0,178
HPHWE11	6,0	80	5,00	0,213
HPHWE12	8,0	40	8,00	0,106
HPHWE13	8,0	60	5,00	0,311
HPHWE14	6,0	60	2,00	0,578
HPHWE15	8,0	60	5,00	0,382

HPHWE7 kodlu ekstre, pH:8,0, sıcaklık 80^0C ve akış hızı dakikada 2ml koşullarında elde edilerek, protein miktarı 1,911 g/l olarak elde edilmiştir. HPHWE8 ekstresinde, pH:10, sıcaklık 60^0C ve akış hızı dakikada 2 ml olacak şekilde ekstraksiyon yapılmış ve elde edilen ekstredeki protein miktarı 2,4 g/l olarak saptanmıştır. pH:6, sıcaklık 40^0C ve akış hızı dakikada 5ml parametreleri kullanılarak elde edilen HPHWE9 kodlu ekstrenin, protein miktarı 0,124 g/l olarak bulunmuştur. pH:10, sıcaklık 60^0C ve akış hızı dakikada 8ml koşullarında elde edilen HPHWE10 kodlu ekstrenin protein miktarı 0,178g/l olarak belirlenmiştir. HPHWE11 kodlu ekstrede, pH:6,0, sıcaklık 80^0C ve akış hızı dakikada 5ml parametreleri kullanılmış ve elde edilen ekstrenin protein miktarı 0,213g/l olarak bulunmuştur. pH:8,0, sıcaklık 40^0C ve akış hızı dakikada 8ml koşullarında elde edilen HPHWE12 kodlu ekstrede 0,106g/l protein elde edilmiştir. HPHWE13'de pH:8,0, sıcaklık 60^0C ve akış hızı dakikada 5ml koşullarında elde edilen lizatların protein miktarı 0,311g/l olarak saptanmıştır. HPHWE14'de pH:6,0, sıcaklık 60^0C ve akış hızı dakikada 2ml olarak ekstre edilen protein lizatların miktarı 0,578g/l olarak saptanmıştır. pH:8,0, sıcaklık 60^0C ve akış hızı dakikada 5ml de elde edilen HPHWE15 kodlu lizatın protein miktarı 0,382 g/l olarak belirlenmiştir.

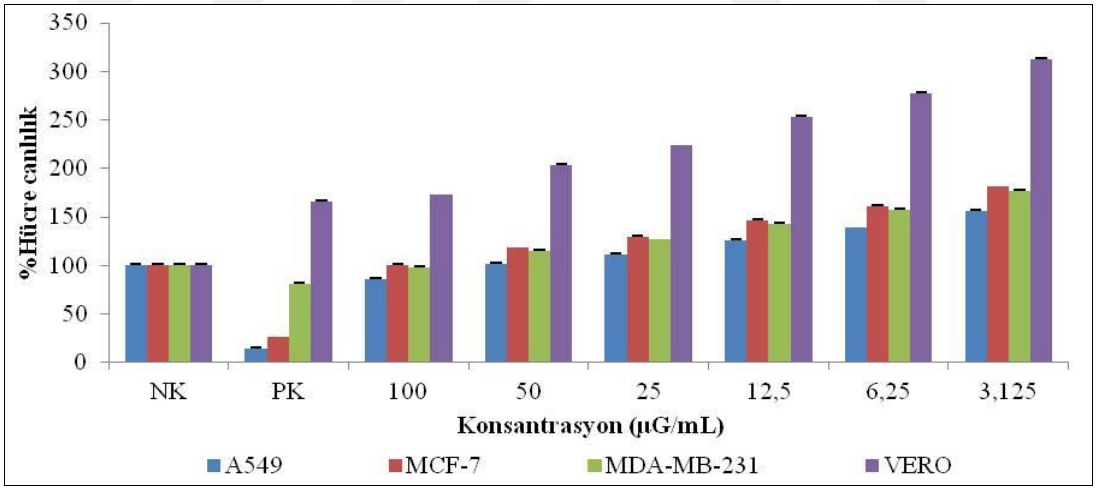
3.2. Atık *Oryza sativa* Kabuğundan Elde Edilen Protein Ekstrelerinin Çeşitli Tümör Hücreleri Üzerine Antitümörojenik Aktiviteleri

Pirinç kabuğundan 15 farklı koşulda elde edilen protein lizatlarının, üç tümör hücre hattı; A549 (insan akciğer karsinomu), MCF7 (insan meme adenokarsinomu), MDA-MB-231(insan meme adenokarsinomu) ve bir adet normal hücre hattına VERO (Afrikalı yeşil maymun böbrek epiteli) karşı sitotoksik etkileri etkileri, Tablo 3.2,

Tablo 3.3, Tablo 3.4, Tablo 3.5, Tablo 3.6, Tablo 3.7, Tablo 3.8, Tablo 3.9, Tablo 3.10, Tablo 3.11, Tablo 3.12, Tablo 3.13, Tablo 3.14, Tablo 3.15, Tablo 3.16, Tablo 3.17, Tablo 3.18, Tablo 3.19, Tablo 3.20' de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE1 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE1	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100	14,30 (±0,40)	86,14 (±2,00)	101,36 (±2,04)	111,57 (±1,95)	126,30 (±2,37)	138,68 (±1,58)	155,87 (±1,56)
MCF7	100	25,86 (±0,20)	100,01 (±2,11)	117,99 (±2,17)	129,53 (±2,06)	146,63 (±2,51)	160,99 (±1,72)	180,96 (±1,81)
MDA-MB-231	100	80,88 (±0,80)	97,69 (±6,55)	115,25 (±6,93)	126,53 (±7,08)	143,23 (±7,53)	157,26 (±6,98)	176,77 (±7,07)
VERO	100	165,76 (±1,60)	172,58 (±21,19)	203,61 (±22,06)	223,52 (±24,30)	253,03 (±26,07)	277,82 (±25,80)	312,27 (±25,92)



Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE1 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

Yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstrelerin 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL konsantrasyonlarının sitotoksik aktivitesi A549 (insan, akciğer karsinomu), MCF7 (insan meme adenokarsinoma), MDA-MB-231 (insan meme adenokarsinoma) kanser hücre hatları ve Vero (Afrika yeşil maymun böbrek

epiteli) normal hücre hattında MTT testi kullanılarak analiz edilmiştir. Pozitif kontrol olarak doksorubisin (10µG/mL) ve negatif kontrol olarak %0,1 DMSO ile muamele edilmiştir.

HPHWE1 (pH:8,0, sıcaklık: 40^0C, akış hızı dakikada 2 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,678 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulamanın sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %86,14'lük hücre canlılığı değeri ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben MDA-MB-231'de %97,69'luk hücre canlılığı gözlemlenmiştir. 100µG/mL konsantrasyonda %100,01'lik hücre canlılığı ile MCF7 hücre hattında elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100µG/mL) Vero normal hücre hattında hücre canlılığı %172,58 olarak saptanmıştır (Tablo 3.2, Şekil 3.1).

50µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en düşük hücre canlılığı %101,36 lık değer ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından MDA-MB-231 hücre hattında %115,25 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bunu takiben MCF7 hücre hattında %117,99' luk hücre canlılığı hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL) normal hücre hattı Vero 'da %203,6 hücre canlılığı saptanmıştır (Tablo 3.2, Şekil 3.1).

25µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda en düşük hücre canlılığı %111,57 lik hücre canlılığı değeri ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından MDA-MB-231 hücre hattında %126,53 hücre canlılığı gözlenmiştir Bunu takiben MCF7 hücre hattında %129,53 hücre canlılığı bulunmuştur. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25µG/mL) normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %223,52 olarak saptanmıştır (Tablo 3.2, Şekil 3.1).

12,5µG/mL konsantrasyonların 48 saatlik uygulamaları sonucunda en düşük hücre canlılığı%126,30 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında ve bunu takiben MDA-MB-231 hücre hattında %143,23 hücre canlılığı elde edilmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %146,63 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı

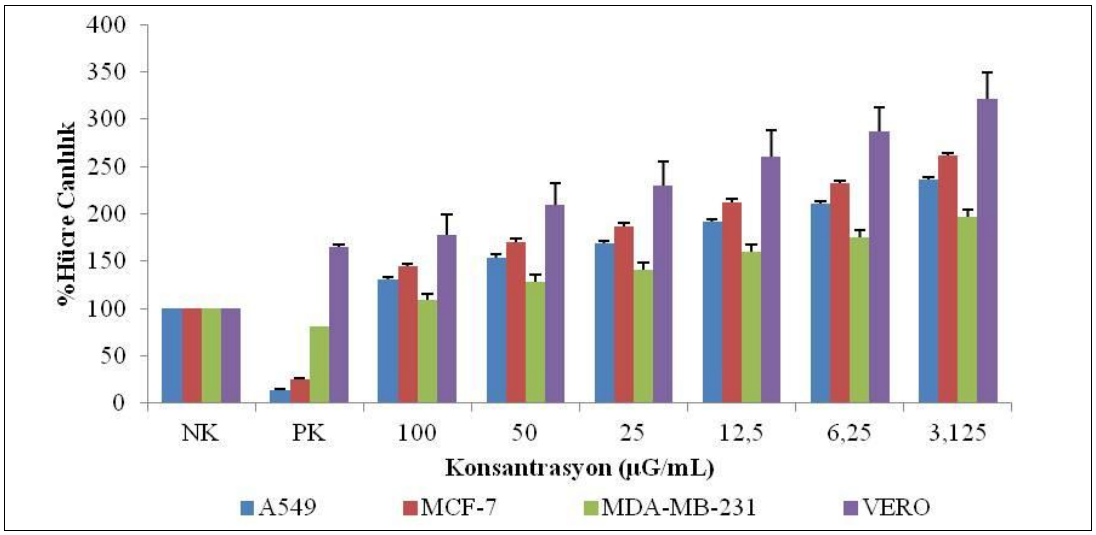
konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %253,03 olarak saptanmıştır (Tablo 3.2, Şekil 3.1).

6,25µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %138,68 lik hücre canlılığı değeri ile A549' dur. Öte yandan MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %157,26 olarak gözlenmiştir. Ardından %160,99 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %277,82 olarak saptanmıştır(Tablo 3.2, Şekil 3.1).

3,125µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı A549 hücre hattında %155,87 hücre canlılığı değeri ile bulunmuştur. Ardından MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %176,77 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %180,96 olarak gözlenmiştir. Bunun yanı sıra aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %312,27 olarak saptanmıştır (Tablo 3.2, Şekil 3.1).

Tablo 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 2 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE2	NK	PK	Konsantrasyonlar (µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,40)	130,74 (±2,81)	154,25 (±2,85)	169,34 (±2,75)	191,69 (±3,17)	210,47 (±2,38)	236,57 (±2,37)
MCF-7	100,00	25,86 (±0,20)	144,61 (±2,92)	170,61 (±2,97)	187,29 (±2,86)	212,01 (±3,32)	232,79 (±2,53)	261,66 (±2,62)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,80)	108,84 (±7,36)	128,41 (±7,73)	140,97 (±7,89)	159,58 (±8,33)	175,21 (±7,79)	196,94 (±7,88)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	177,95 (±22,00)	209,95 (±22,86)	230,48 (±25,11)	260,90 (±26,88)	286,47 (±26,61)	322,00 (±26,73)



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE2 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE2 (pH:8,0, sıcaklık: 80^0C, akış hızı dakikada 8,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,211 g/l) koşulu kullanılarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µg/ml konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %108,84 lük değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Daha sonra %130,74 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %144,61 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında, normal hücre hattı olan Vero'da 100µG/mL konsantrasyonda hücre canlılığı %177,95 olarak saptanmıştır (Tablo 3.3, Şekil 3.2).

50µG/mL konsantrasyonluk uygulamada, en düşük hücre canlılığı %128,41' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %154,25 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %170,61 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL), normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %209,95 olarak belirlenmiştir (Tablo 3.3, Şekil 3.2).

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %140,97 lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %169,34 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında hesaplanmıştır. Bununla birlikte %187,29 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 'dir. Aynı

zamanda normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda (25µG/mL) hücre canlılığı %230,48 olarak saptanmıştır (Tablo 3.3, Şekil 3.2).

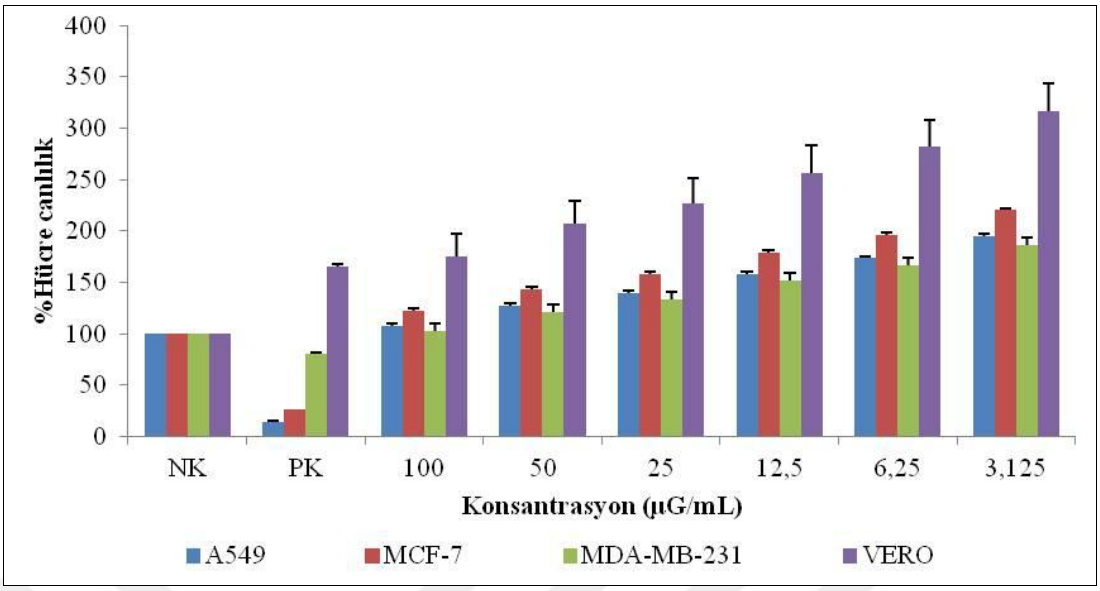
12,5µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %159,58'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %191,69 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %212,01'dir. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %260,90 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.3, Şekil 3.2).

6,25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %175,21' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %210,47 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %232,79 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda (6,25 µg/ml) %286,47 hücre canlılığı saptanmıştır (Tablo 3.3, Şekil 3.2).

3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %196,94' lük hücre canlılığı değeri ile elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %236,57 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %261,66 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (3,125µG/mL) normal hücre olan Vero 'da hücre canlılığı %322,00 olarak saptanmıştır (Tablo 3.3, Şekil 3.2).

Tablo 3.4. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE3 prosesi ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10 µG/mL).

HPHWE3	NK	PK	Konsantrasyonlar (µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,40)	107,86 (±2,40)	127,26 (±2,44)	139,70 (±2,34)	158,14 (±2,76)	173,64 (±1,97)	195,17 (±1,97)
MCF-7	100,00	25,86 (±0,20)	121,73 (±2,50)	143,61 (±2,56)	157,66 (±2,45)	178,47 (±2,91)	195,96 (±2,11)	220,26 (±2,20)
MDA-MB 231	100,00	80,8 (±0,80)	103,12 (±6,90)	121,66 (±7,32)	133,56 (±7,48)	151,19 (±7,92)	166,01 (±7,37)	186,59 (±7,46)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	175,10 (±21,50)	206,70 (±22,45)	226,91 (±24,70)	256,86 (±26,46)	282,04 (±26,20)	317,01 (±26,31)



Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE3 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL).

HPHWE3 (pH:8,0, sıcaklık: 60^0C, akış hızı dakikada 5,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,342 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saat sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 'de %103,12'lik hücre canlılığı gözlenmiştir. Ardından %107,86 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 100µG/mL konsantrasyonda %121,73'lik hücre canlılığı ile MCF7, aynı konsantrasyonda (100µG/mL) Vero normal hücre hattında ise hücre canlılığı %175,10 olarak saptanmıştır (Tablo 3.4, Şekil 3.3).

50µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %121,66 hücre canlılığı değeri ile gözlenmiştir. Ardından A549 hücre hattında %127,26 oranında hücre canlılığı elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında 50µG/mL konsantrasyonda %143,61 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL) normal hücre hattı Vero 'da %206,70 hücre canlılığı saptanmıştır (Tablo 3.4, Şekil 3.3).

25µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda en düşük hücre canlılığı%133,56 ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından %139,70

hücre canlılığı olarak A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben %157,66 hücre canlılığı ile MCF7 (insan, meme adenokarsinoma) hücre hattında bulunmuştur. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %226,91 olarak saptanmıştır (Tablo 3.4, Şekil 3.3).

12,5µG/mL konsantrasyonların 24 saatlik uygulamaları sonucunda en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %151,19 oranında hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. Ardından %158,14 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında ve bunu takiben MCF7 hücre hattında %178,47 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %256,86 olarak saptanmıştır (Tablo 3.4, Şekil 4.3).

6,25µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %166,01 olarak gözlenmiştir. Ardından A549 hücre hattında %173,64 hücre canlılığı elde edilmiştir. Öte yandan %195,96 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanısıra normal hücre hattı olan Vero (Afrikalı yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %282,04 olarak saptanmıştır (Tablo 3.4, Şekil 3.3).

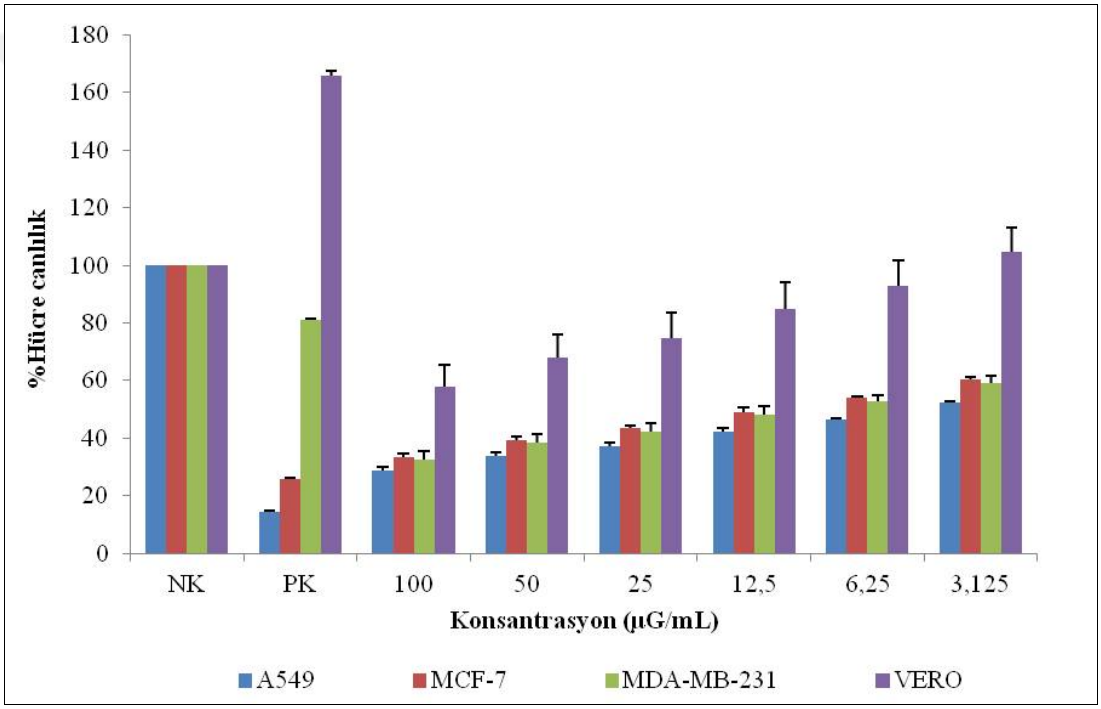
3,125µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %186,59 olarak bulunmuştur. Ardından A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu) hücre hattında %195,17 hücre canlılığı olarak bulunmuştur. Bununla birlikte MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %220,26 olarak gözlenmiştir. Dahası, aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %317,01 olarak saptanmıştır (Tablo 3.4, Şekil 3.3).

Tablo 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 4 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE4	NK	PK	Konsantrasyonlar (µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,40)	28,86 (±1,13)	34,05 (±1,17)	37,38 (±1,04)	42,31 (±1,43)	46,46 (±0,59)	52,22 (±0,52)

Tablo 3.5. (Devam) Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 4 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

MCF7	100,00	25,86 (±0,20)	33,50 (±1,17)	39,53 (±1,21)	43,39 (±1,07)	49,12 (±1,48)	53,93 (±0,63)	60,62 (±0,61)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,80)	32,73 (±2,65)	38,61 (±2,81)	42,39 ±2,76)	47,98 (±3,16)	52,68 (±2,40)	59,22 (±2,37)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	57,81 (±7,56)	68,21 (±7,87)	74,88 (±8,53)	84,76 (±9,37)	93,07 (±8,70)	104,61 (±8,68)



Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE4 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE4 (pH:10,0, sıcaklık: 80^0C, akış hızı dakikada 5,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 1,013 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saat sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %28,86 değer ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 100µG/mL konsantrasyonda %33,50'lik hücre canlılığı ile MCF7 (insan meme adenokarsinom)

ve MDA-MB-231 (insan meme adenokarsinom)'de %32,73'lük hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100µG/mL) Vero (Afrikalı yeşil maymun böbrek epiteli), normal hücre hattında hücre canlılığı %57,81 olarak saptanmıştır (Tablo 3.5, Şekil 3.4).

50µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en düşük hücre canlılığı %34,05 lik değer ile A549 (insan akciğer karsinomu) hücre hattında elde edilmiştir. MCF7 (insan, meme adenokarsinom) hücre hattında 50µG/mL konsantrasyonda %39,53, MDA-MB-231 hücre hattında %38,61 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL) normal hücre hattı Vero'da %68,21 hücre canlılığı saptanmıştır (Tablo 3.5, Şekil 3.4).

25µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda en düşük hücre canlılığı %37,38 hücre canlılığı olarak A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben %43,39 hücre canlılığı ile MCF7 hücre hattında bulunmuştur. MDA-MB-231 hücre hattında %42,39 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25 µg/ml) normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %74,88 olarak saptanmıştır (Tablo 3.5, Şekil 3.4).

12,5µG/mL konsantrasyonların 24 saatlik uygulamaları sonucunda en düşük hücre canlılığı %42,31 lik değer ile A549 hücre hattında ve bunu takiben MCF7 hücre hattında %49,12 hücre canlılığı gözlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında %47,98 hücre canlılığı elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %84,76 olarak saptanmıştır (Tablo 3.5, Şekil 3.4).

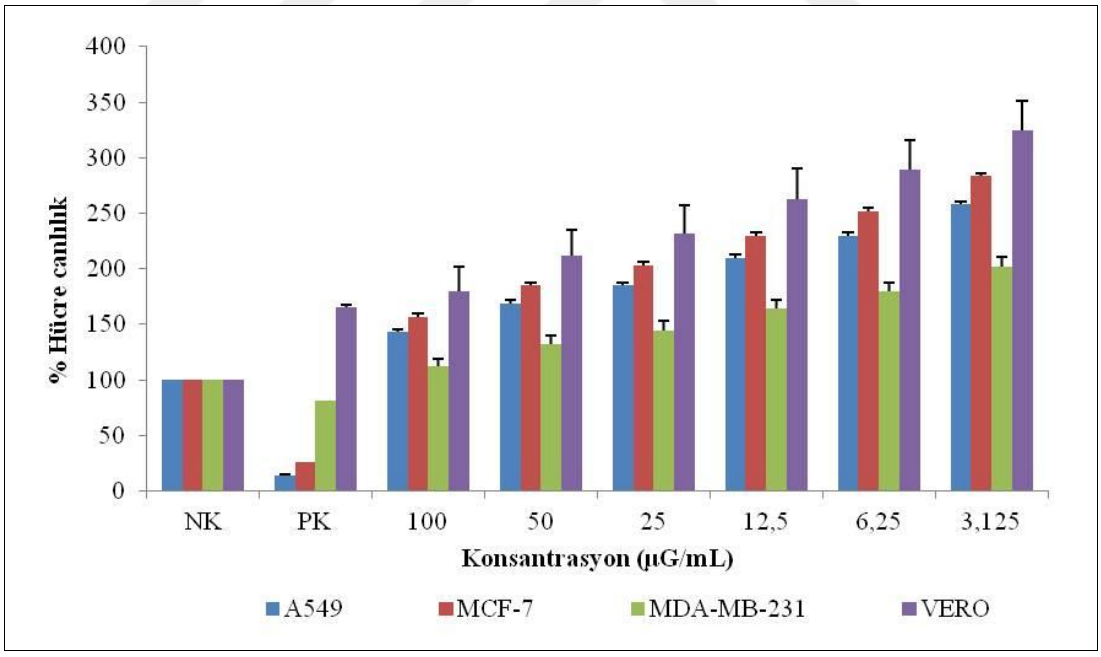
6,25µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %46,46 hücre canlılığı ile A549 (insan, akciğer karsinomu)'dur. Öte yandan %53,93 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında elde edilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %52,68 olarak gözlenmiştir. Bunun yanısıra normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %93,07 olarak saptanmıştır (Tablo 3.5, Şekil 3.4).

3,125 µg/ml konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı A549 hücre hattında %52,22 hücre canlılığı değeri olarak bulunmuştur. Bununla birlikte MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %60,62 olarak

gözlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %59,22 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %104,61 olarak saptanmıştır (Tablo 3.5, Şekil 3.4).

Tablo 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 5 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDAMB231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE5	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,40)	142,85 (±3,03)	168,53 (±3,07)	185,01 (±2,97)	209,43 (±3,39)	229,96 (±2,60)	258,47 (±2,58)
MCF7	100,00	25,86 (±0,20)	156,71 (±3,14)	184,89 (±3,19)	202,97 (±3,08)	229,76 (±3,54)	252,28 (±2,75)	283,56 (±2,84)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,80)	111,87 (±7,58)	131,98 (±7,95)	144,89 (±8,11)	164,01 (±8,55)	180,08 (±8,01)	202,42 (±8,10)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	179,41 (±22,22)	211,67 (±23,08)	232,37 (±25,33)	263,04 (±27,09)	288,82 (±26,83)	324,63 ±26,94



Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE5 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE5 (pH:6,0, sıcaklık: 60^0C, akış hızı dakikada 8,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,097 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstreler için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %111,87' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Daha sonra %142,85 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %156,71 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında, Normal hücre hattı olan Vero'da 100µG/mL konsantrasyonda hücre canlılığı %179,41 olarak elde edilmiştir (Tablo 3.6, Şekil 3.5).

50µG/mL konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı %131,9' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %168,53 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %184,89 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL), normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %211,67 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.6, Şekil 3.5).

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %144,89' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %185,01 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında hesaplanmıştır. Bununla birlikte %202,97 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 'dir. Aynı zamanda normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda (25µG/mL) hücre canlılığı %232,37 olarak görülmüştür (Tablo 3.6, Şekil 3.5).

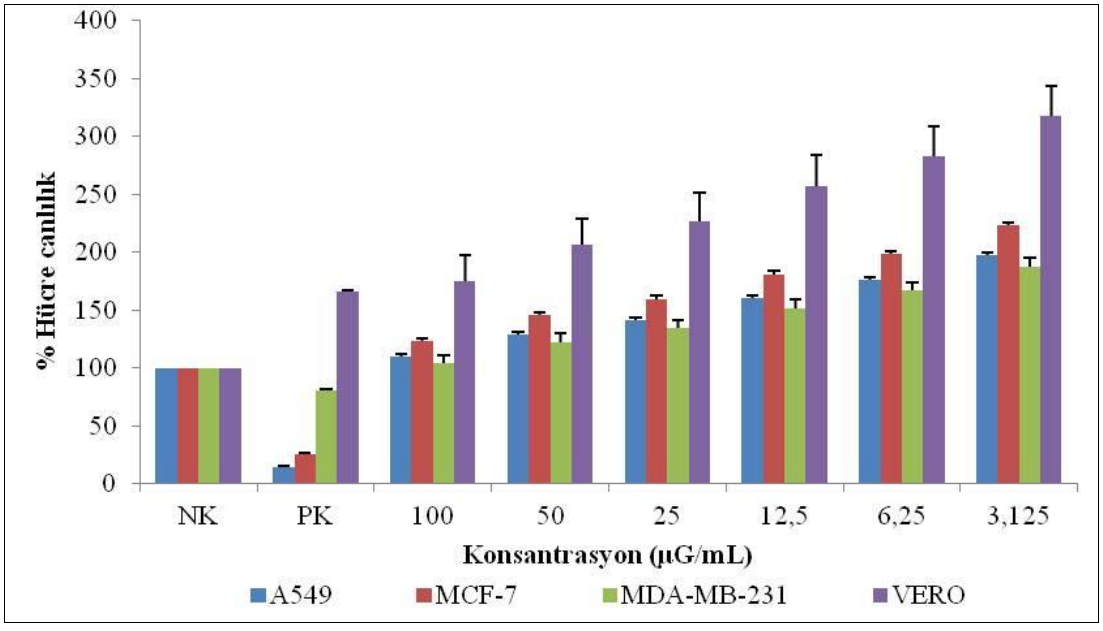
12,5 µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %164,01'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %209,43 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %229,76'dür. Bununla birlikte. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %263,04 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.6, Şekil 3.5).

6,25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %180,08'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %229,96 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %252,28 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte Normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda (6.25 µg/ml) %288,82 hücre canlılığı gözlemlenmiştir (Tablo 3.6, Şekil 3.5).

3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %202,42 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %258,47 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %283,56 olarak elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre olan Vero'da hücre canlılığı %324,63 olarak elde edilmiştir (Tablo 3.6, Şekil 3.5).

Tablo 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 6 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10 µG/mL)

HPHWE6	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/ml)					
			100	50	25	12.5	6.25	3.125
A549	100,00	14,30 (±0,40)	109,30 (±2,42)	128,95 (±2,46)	141,56 (±2,37)	160,25 (±2,78)	175,95 (±1,99)	197,78 (±1,9)
MCF-7	100,00	25,80 (±0,20)	123,16 (±2,53)	145,31 (±2,59)	159,52 (±2,48)	180,58 (±2,93)	198,2 (±2,14	222,8 (±2,23)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,80)	103,48 (±6,97)	122,08 (±7,34)	134,02 (±7,50)	151,72 (±7,94)	166,58 (±7,40)	187,24 (±7,49)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	175,37 (±21,61)	206,90 (±22,48)	227,13 (±24,72)	257,12 (±26,49)	282,31 (±26,22)	317,32 (±26,34)



Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE6 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE6 (pH:10,0, sıcaklık:40^{0}C, akış hızı dakikada 5,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,338 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %103,48'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Daha sonra %109,30 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %123,16 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında, Normal hücre hattı olan Vero'da 100µG/mL konsantrasyonda hücre canlılığı %175,37 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.7, Şekil 3.6).

50µG/mL konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı %122,00' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %128,95 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %145,31 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda, normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %206,90 olarak elde edilmiştir (Tablo 3.7, Şekil 3.6).

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %134,02'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %141,56 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında hesaplanmıştır. Bununla birlikte %159,52 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 'dir. Aynı zamanda normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda (25µG/mL) hücre canlılığı %227,13 olarak elde edilmiştir (Tablo 3.7, Şekil 3.6).

12,5µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %151,72'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %160,25 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %180,58'dir. Bununla birlikte. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %257,12 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.7, Şekil 3.6).

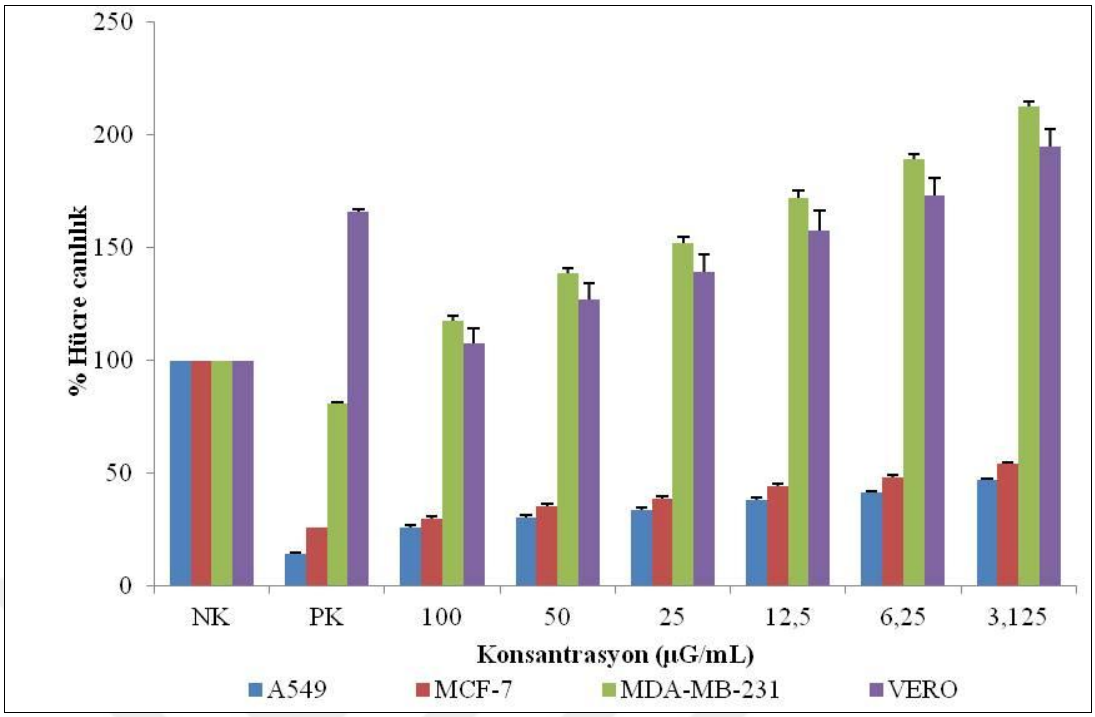
6,25 µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %166,58'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %175,95 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %198,27 olarak hesaplanmıştır.

Bununla birlikte Normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda %282,31 hücre canlılığı saptanmıştır (Tablo 3.7, Şekil 3.6).

3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %187,24'lik değer ile elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %197,77 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %222,86 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre olan Vero'da hücre canlılığı %317,32 olarak saptanmıştır (Tablo 3.7, Şekil 3.6).

Tablo 3.8. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 7 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE7	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,40)	25,91 (±1,08)	30,57 (±1,13)	33,56 (±0,99)	37,99 (±1,38)	41,72 (±0,53)	46,89 (±0,47)
MCF-7	100,00	25,86 (±0,20)	30,09 (±1,12)	35,49 (±1,116)	38,97 (±1,02)	44,11 (±1,42)	48,43 (±0,58)	54,44 (±0,54)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,80)	117,55 (±2,45)	138,69 (±2,59)	152,25 (±2,54)	172,35 (±2,93)	189,24 (±2,16)	212,71 (±2,13)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	107,73 (±6,86)	127,10 (±7,15)	139,53 (±7,72)	157,94 (±8,51)	173,42 (±7,82)	194,93 (±7,80)



Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE7 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE7 (pH:8,0, sıcaklık 80^0C, akış hızı dakikada 2,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 1,911 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulamanın sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %25,91'lik hücre canlılığı değeri ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 100µG/mL konsantrasyonda %30,09'luk hücre canlılığı ile MCF7 (insan, meme, adenokarsinom) ve MDA-MB-231 'de %117,55'lik hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100 µg/ml) Vero , normal hücre hattında hücre canlılığı %107,73 olarak saptanmıştır (Tablo 3.8, Şekil 3.7).

50µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en düşük hücre canlılığı %30,57' lik hücre canlılığı değeri ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında 50µG/mL konsantrasyonda %35,49, MDA-MB-231 hücre hattında %138,69 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı

konsnantrasyonda (50µG/mL) normal hücre hattı Vero ’da %127,10 hücre canlılığı saptanmıştır (Tablo 3.8,Şekil 3.7).

25µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda en düşük hücre canlılığı %33,56’lik hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben %38,97 hücre canlılığı ile MCF7 (insan, meme adenokarsinoma) hücre hattında bulunmuştur. MDA-MB-231 hücre hattında %152,25 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25 µg/ml) normal hücre hattı olan Vero ’da hücre canlılığı %139,53 olarak saptanmıştır (Tablo 3.8, Şekil 3.7).

12,5µG/ml konsantrasyonların 24 saatlik uygulamaları sonucunda en düşük hücre canlılığı%37,99’lik hücre canlılığı ile A549 hücre hattında ve bunu takiben MCF7 hücre hattında %44,11 hücre canlılığı gözlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında %172,35 hücre canlılığı elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero ’da hücre canlılığı %157,94 olarak saptanmıştır (Tablo 3.8, Şekil 3.7).

6,25µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen %41,72 hücre canlılığı ile A549 (insan, akciğer karsinomu)’dur. Öte yandan %48,43 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında elde edilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %189,24 olarak gözlenmiştir. Bunun yanısıra normal hücre hattı olan Vero ’da hücre canlılığı %173,42 olarak saptanmıştır (Tablo 3.8, Şekil 3.7).

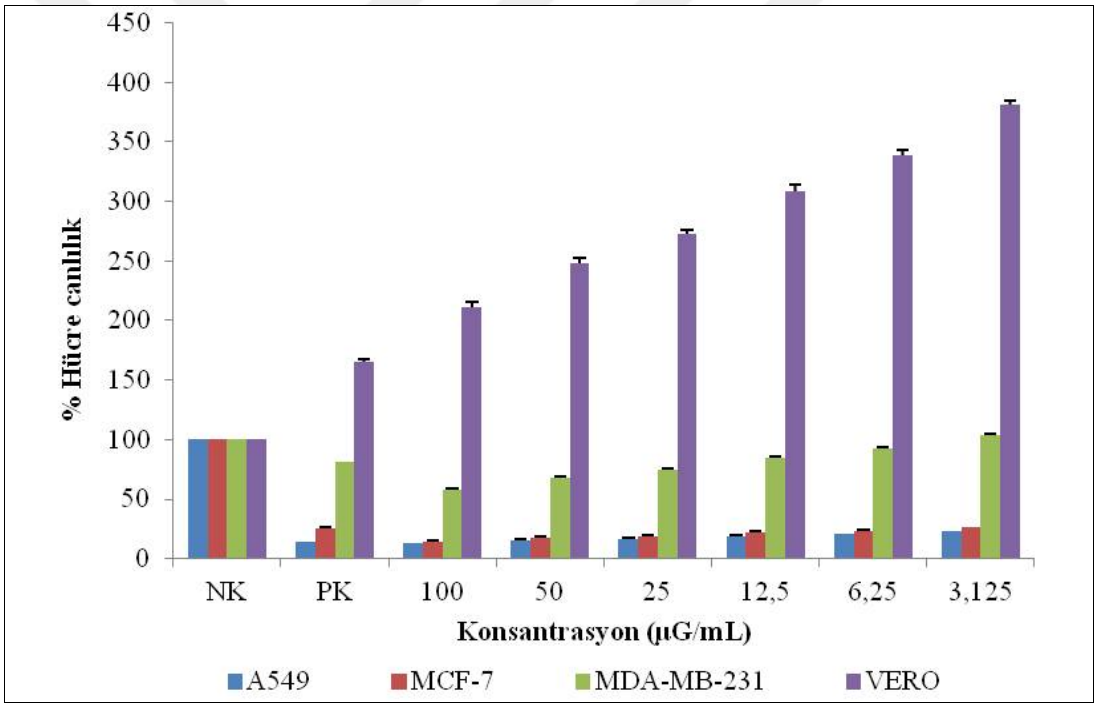
3,125µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı A549 hücre hattında %46,89 oranında hücre canlılığı olarak bulunmuştur. Bununla birlikte MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %54,44 olarak gözlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %212,71 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100 µg/ml) normal hücre hattı olan Vero ’da hücre canlılığı %194,93 olarak saptanmıştır (Tablo 3.8, Şekil 3.7).

Tablo 3.9. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 8 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE8	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)

Tablo 3.9. (Devam) Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 8 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,40)	12,67 (±0,91)	14,95 (±0,94)	16,41 (±0,81)	18,58 (±1,16)	20,40 (±0,28)	22,93 (±0,19)
MCF-7	100,00	25,86 (±0,20)	14,71 (±0,96)	17,36 (±0,97)	19,05 (±0,80)	21,57 (±1,17)	23,68 (±0,30)	26,62 (±0,23)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,80)	57,48 (±1,60)	67,82 (±1,59)	74,45 (±1,54)	84,28 (±1,92)	92,54 (±1,13)	104,01 (±1,01)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	210,71 (±4,50)	248,60 (±3,87)	272,91 (±3,60)	308,94 (±4,65)	339,22 (±3,58)	381,28 (±3,78)



Şekil 3.8. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE8 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE8 (pH:10,0, sıcaklık:60^{0}C, akış hızıdakikada 2,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 2,4 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saat sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %12,67 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben 100µG/mL konsantrasyonda %14,71'lik hücre canlılığı ile MCF7 ve MDA-MB-231'de %57,48'lük hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100 µg/ml) Vero normal hücre hattında hücre canlılığı %210,71 olarak saptanmıştır (Tablo 3.9, Şekil 3.8).

50µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en düşük hücre canlılığı %14,95 değeri ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında 50µG/mL konsantrasyonda %17,36, MDA-MB-231 hücre hattında %67,82 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsnantrasyonda (50µG/mL) normal hücre hattı Vero 'da %248,60 hücre canlılığı gözlemlenmiştir (Tablo 3.9, Şekil 3.8).

25µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda en düşük hücre canlılığı %16,41 oranında hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben %19,05 hücre canlılığı ile MCF7 (insan, meme adenokarsinoma) hücre hattında bulunmuştur. MDA-MB-231 hücre hattında %74,45 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25 µg/ml) normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %272,91 olarak saptanmıştır (Tablo 3.9, Şekil 3.8).

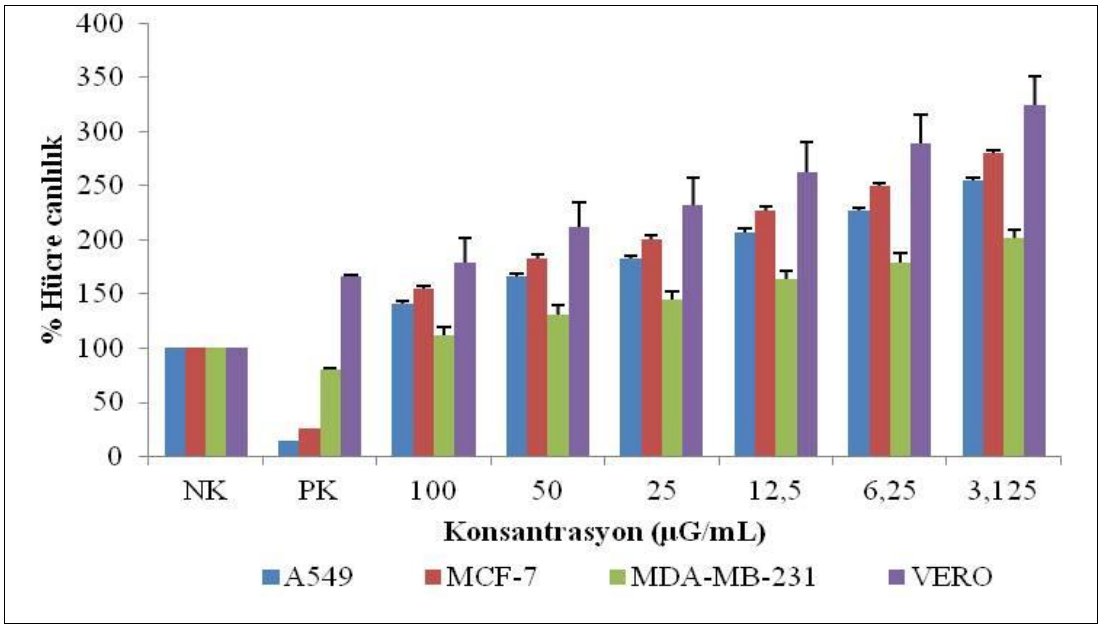
12,5µG/mL konsantrasyonların 24 saatlik uygulamaları sonucunda en düşük hücre canlılığı %18,58'lik hücre canlılığı değeri ile A549 hücre hattında ve bunu takiben MCF7 hücre hattında %21,57 hücre canlılığı gözlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında %84,28 hücre canlılığı elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25µG/mL) normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %308,94 olarak saptanmıştır (Tablo 3.9, Şekil 3.8).

6,25µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %20,40'lik hücre canlılığı değeri ile A549 (insan, akciğer karsinomu)'dur. Öte yandan %23,68 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında elde edilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %92,54 olarak gözlenmiştir. Bunun yanı sıra normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %339,22 olarak saptanmıştır (Tablo 3.9, Şekil 3.8).

3,125µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı A549 hücre hattında %22,93' lük hücre canlılığı değeri olarak bulunmuştur. Bununla birlikte MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %26,62 olarak gözlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %104,01 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %381,28 olarak saptanmıştır (Tablo 3.9, Şekil 3.8).

Tablo 3.10. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 9 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE9	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,4)	141,08 (±3,00)	166,44 (±3,04)	182,72 (±2,94)	206,84 (±3,36)	227,11 (±2,57)	255,27 (±2,55)
MCF7	100,00	25,86 (±0,2)	154,94 (±3,11)	182,80 (±3,16)	200,68 (±3),05	227,17 (±3,51)	249,43 (±2,71)	280,36 (±2,80)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,8)	111,42 (±7,54)	131,46 (±7,92)	144,31 (1±8,08)	163,36 (±8,52)	179,37 (±7,97)	201,62 (±8,06)
VERO	100,00	165,76 (±1,6)	179,20 (±22,1)	211,42 (±23,05	232,09 (±25,30)	262,73 (±27,06	288,48 (±26,80	324,25 (±26,91)



Şekil 3.9. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE9 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE9 (pH:6,0, sıcaklık:40^{0}C, akış hızı dakikada 5,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,124 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %111,42'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Daha sonra %141,08 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %154,94 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında, normal hücre hattı olan Vero 'da 100µG/mL konsantrasyonda hücre canlılığı %179,20 olarak elde edilmiştir (Tablo 3.10, Şekil 3.9).

50µG/mL konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı %131,46' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %166,44 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %182,80 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50 µg/ml), normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %211,42 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.10, Şekil 3.9).

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %144,31'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %182,72 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında hesaplanmıştır. Bununla birlikte %200,68 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 'dir. Aynı zamanda normal hücre olan Vero 'da aynı konsantrasyonda (25µG/ml) hücre canlılığı %232,09 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.10, Şekil 3.9).

12,5µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %163,36'lık değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %206,84 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 (insan meme, adenokarsinoma) hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %227,17'dir. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %262,73 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.10, Şekil 3.9).

6,25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %179,37 ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %227,11 hücre canlılığı

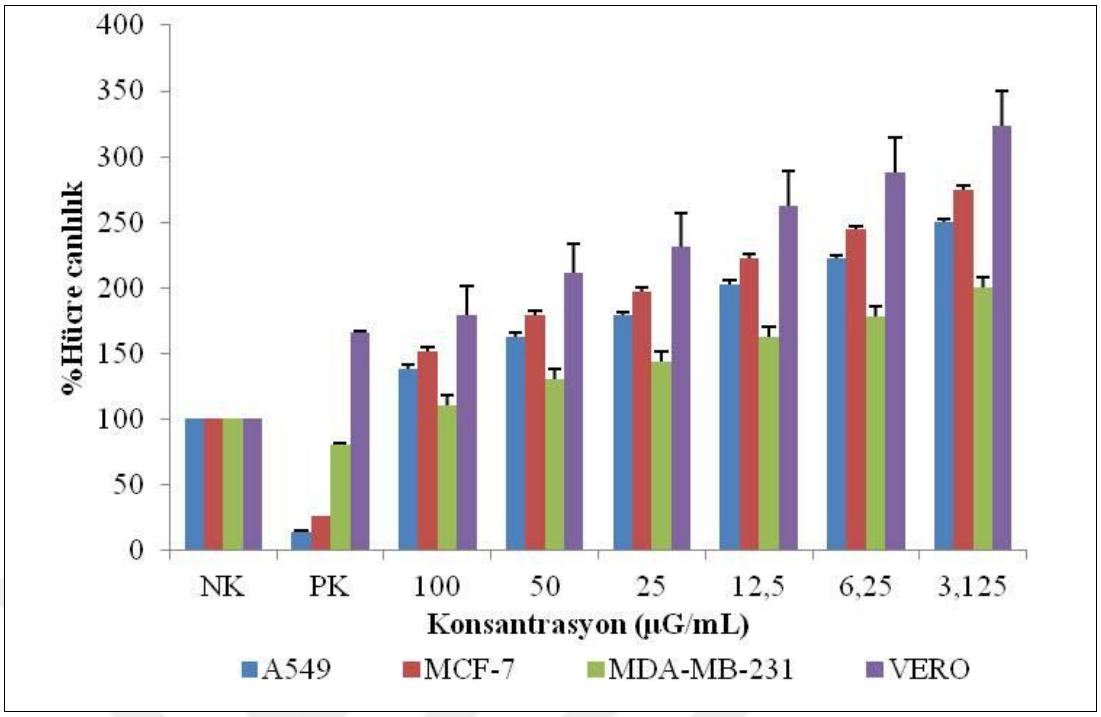
gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %249,43 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte normal hücre olan Vero 'da aynı konsantrasyonda (6,25 µg/ml) %288,48 hücre canlılığı görülmüştür (Tablo 3.10, Şekil 3.9).

3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %201,62'lik hücre canlılığı değeri elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %255,27 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %280,36 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (3,125 µg/ml) normal hücre olan Vero'da hücre canlılığı %324,25 olarak saptanmıştır (Tablo 3.10, Şekil 3.9).

Tablo 3.11. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 10 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE10	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,4)	138,09 (±2,94)	162,92 (±2,98)	178,86 (±2,89)	202,46 (6±3,3)	222,31 (±2,52)	249,87 (±2,50)
MCF7	100,00	25,86 (±0,2)	151,96 (±3,05)	179,28 (±3,11)	196,81 (±3,00)	222,79 (±3,45)	244,62 (±2,66)	274,96 (±2,75)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,8)	110,68 (±7,49)	130,58 (±7,87)	143,35 (±8,02)	162,27 (±8,47)	178,17 (±7,92)	200,27 (±8,01)
VERO	100,00	165,76 (±1,6)	178,84 (±22,13)	210,99 (±23,00)	231,63 (±25,24)	262,20 (±27,01)	287,90 (±26,74)	323,60 (±26,86)

.



Şekil 3.10. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE10 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE10 (pH:10,0, sıcaklık:60^{0}C, akış hızı dakikada 8,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,178 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen protein ekstresi için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %110,68'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Daha sonra %138,09 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %151,96 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında, Normal hücre hattı olan Vero 'da aynı konsantrasyonda hücre canlılığı %178,84 olarak görülmüştür (Tablo 3.11, Şekil 3.10).

50µG/mL konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı %130,58'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %162,92 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %179,28 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50 µg/ml), normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %210,99 olarak görülmüştür (Tablo 3.11, Şekil 3.10)

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı%143,35'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %178,86 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Bununla birlikte %196,81 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 'dir. Aynı zamanda normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda (25µG/mL) hücre canlılığı %231,63 olarak görülmüştür (Tablo 3.11, Şekil 3.10).

12,5µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %162,27'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %202,46 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %222,79'dir. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %262,20 olarak görülmüştür (Tablo 3.11, Şekil 3.10).

6,25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %178,17'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %222,31 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %244,62 olarak elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre olan Vero'da hücre canlılığı %287,90 olarak saptanmıştır (Tablo 3.11, Şekil 3.10).

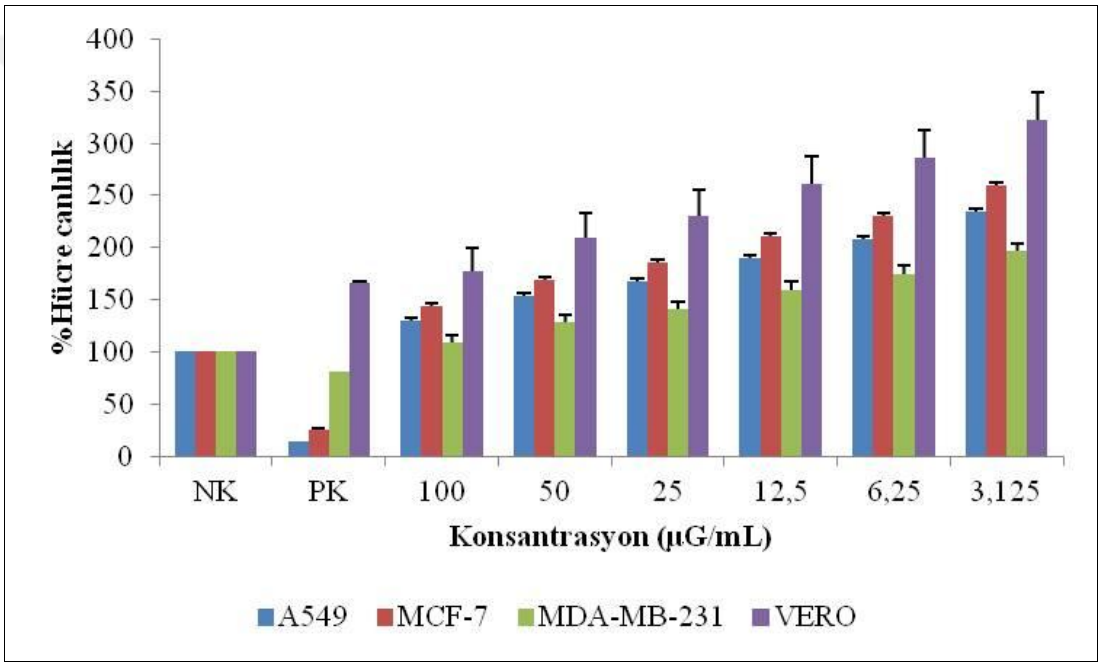
3,125 µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %200,27'lik hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %249,87 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %274,96 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (3,125 µG/mL) normal hücre olan Vero'da hücre canlılığı %323,60 olarak saptanmıştır (Tablo 3.11, Şekil 3.10).

Tablo 3.12. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 11 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE11	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,40)	129,64 (±2,79)	152,95 (±2,83)	167,90 (±2,73)	190,07 (±3,15)	208,69 (±2,36)	234,57 (±2,30)

Tablo 3.12. (Devam) Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 11 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

MCF7	100,00	25,86 (±0,20)	143,50 (±2,90)	169,30 (±2,95)	185,86 (±2,84)	210,39 (±3,30)	231,01 (±2,51)	259,66 (±2,60)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,80)	108,56 (±7,34)	128,08 (±7,71)	140,61 (±7,87)	159,17 (±8,31)	174,77 (±7,77)	196,44 (±7,86)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	177,82 (±21,98)	209,79 (±22,8)	230,31 (±25,0)	260,71 (±26,8)	286,26 (±26,5)	321,75 (±26,7)



Şekil 3.11. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE11 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE11 (pH:6,0, sıcaklık:80^{0}C, akış hızı dakikada 5,0 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,213 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %108,56'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Daha sonra %129,64 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %143,50

hücre canlılığı MCF7 hücre hattında, normal hücre hattı olan Vero 'da 100µG/mL konsantrasyonda hücre canlılığı %177,82 olarak saptanmıştır (Tablo 3.12,Şekil 3.11).

50µG/mL konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı %128,08'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %152,95 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %169,30 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL), normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %209,79 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.12, Şekil3.11).

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %140,61' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %167,90 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında hesaplanmıştır. Bununla birlikte %185,86 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 'dir. Aynı zamanda normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda (25µG/mL) hücre canlılığı %230,31 olarak saptanmıştır (Tablo 3.12, Şekil 3.11).

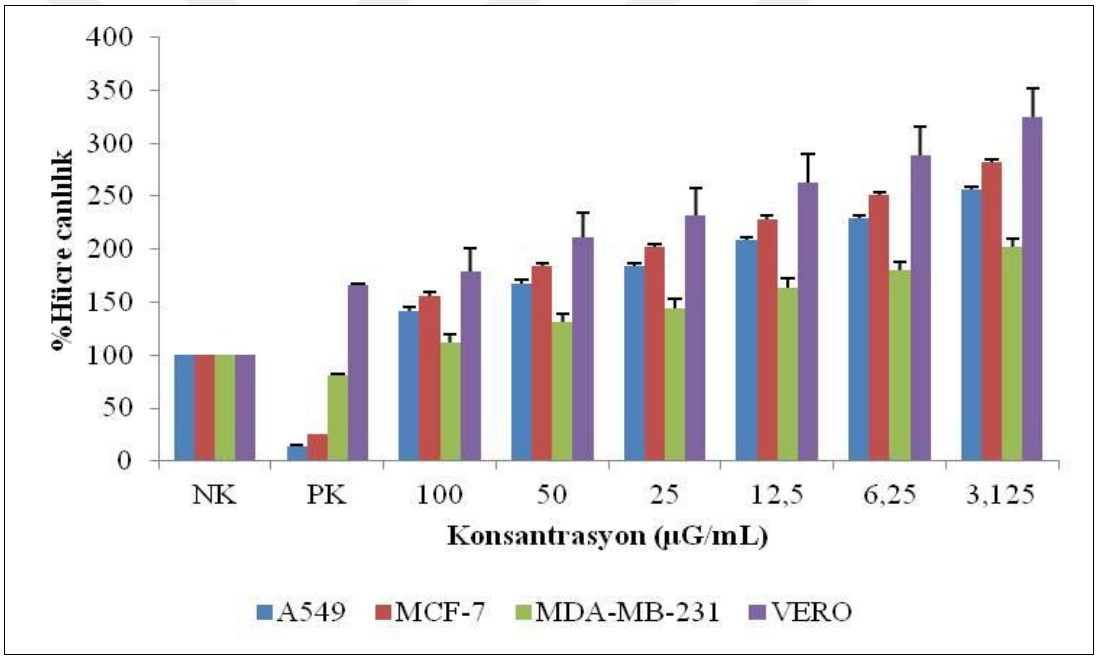
12,5µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %159,17'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %190,07 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %210,39'dur. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %260,71 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.12, Şekil 3.11).

6,25 µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen %174,77' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %208,69 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %231,01 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte Normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda %286,26 hücre canlılığı gözlemlenmiştir (Tablo 3.12, Şekil 3.11).

3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %196,44'lük hücre canlılığı değeri ile elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %234,57 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %259,66 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (3,125 µg/ml) normal hücre olan Vero'da hücre canlılığı %321,75 olarak görülmüştür (Tablo 3.12, Şekil 3.11).

Tablo 3.13. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 12 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE12	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,4)	142,07 (±3,01)	167,62 (±3,06)	184,01 (±2,96)	208,30 (±3,38)	228,71 (±2,59)	257,07 (±2,57)
MCF7	100,00	25,86 (±0,2)	155,94 (±3,12)	183,97 (±3,18)	201,97 (±3,07)	228,63 (±3,53)	251,03 (±2,73)	282,16 (±2,82)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,8)	111,67 (±7,56)	131,75 (±7,94)	144,64 (±8,10)	163,73 (±8,54)	179,77 (±7,99)	202,07 (±8,08)
VERO	100,00	165,76 (±1,6)	179,32 (±22,20)	211,56 (±23,07)	232,25 (±25,32)	262,91 (±27,08)	288,67 (±26,81)	324,47 (±26,93)



Şekil 3.12. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE12 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE12 (pH:8,0, sıcaklık:40^{0}C, akış hızı dakikada 8,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,106 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu 100µG/mL ile elde edilen ekstre için;

konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %111,67'lık değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Daha sonra %142,07 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %155,94 hücre

canlılığı MCF7 hücre hattında, Normal hücre hattı olan Vero ’da 100µG/mL konsantrasyonda hücre canlılığı %179,32 olarak saptanmıştır (Tablo 3.13, Şekil 3.12).

50µG/mL konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı %131,75’lık değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %167,62 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %183,97 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL), normal hücre hattı olan Vero ’da hücre canlılığı %211,56 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.13, Şekil 3.12).

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %144,64’lük değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %184,01 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında hesaplanmıştır. Bununla birlikte %201,97 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 ’dir. Aynı zamanda normal hücre olan Vero’da aynı konsantrasyonda (25µG/mL) hücre canlılığı %232,25 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.13, Şekil 3.12).

12,5µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %163,73’lük değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %208,30 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %228,63’dir. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero’da hücre canlılığı %262,91 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.13, Şekil 3.12).

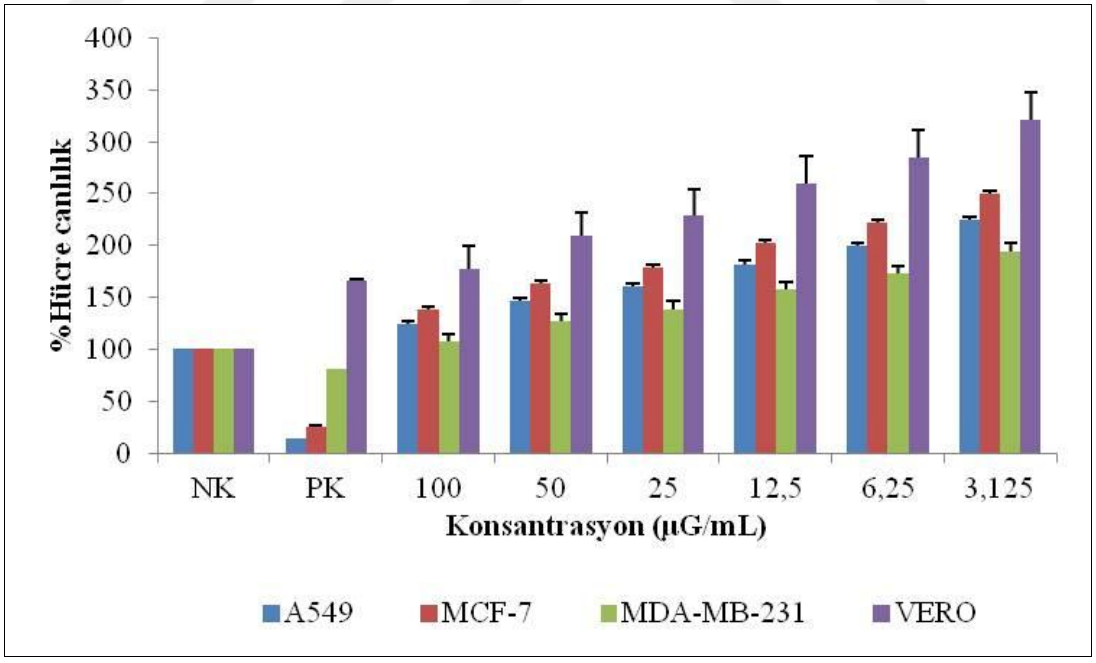
6,25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %179,77’lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %228,71 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %251,03 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte Normal hücre olan Vero’da aynı konsantrasyonda %288,67 hücre canlılığı saptanmıştır (Tablo 3.13, Şekil 3.12).

3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığıMDA-MB-231 hücre hattında %202,07 hücre canlılığı elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %257,07 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu

takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %282,16 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre olan Vero 'da hücre canlılığı %324,47 olarak saptanmıştır (Tablo 3.13, Şekil 3.12).

Tablo 3.14. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 13 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE13	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,4)	124,22 (±2,69)	146,56 (±2,73)	160,89 (±2,64)	182,13 (±3,05)	199,98 (±2,26)	224,77 (±2,25)
MCF-7	100,00	25,86 (±0,2)	138,09 (±2,80)	162,91 (±2,86)	178,85 (±2,77)	202,45 (±3,20)	222,29 (±2,41)	249,86 (±2,50)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,8)	107,21 (±7,24)	126,49 (±7,61)	138,86 (±7,77)	157,19 (±8,21)	172,59 (±7,67)	193,99 (±7,76)
VERO	100,00	165,76 (±1,6)	177,17 (±21,88)	209,02 (±22,75)	229,46 (±24,99)	259,75 (±26,76)	285,21 (±26,49)	320,57 (±26,61)



Şekil 3.13. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE13 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE13 (pH:8,0, sıcaklık:60^0C, akış hızı dakikada 5,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,311 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %107,21'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Daha sonra %124,22 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %138,09 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında, Normal hücre hattı olan Vero 'da 100µG/mL konsantrasyonda hücre canlılığı %177,17 olarak saptanmıştır (Tablo 3.14, Şekil 3.13).

50µG/mL konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı %126,49'luk değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %146,56 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %162,91 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (50µG/mL), normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %209,02 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.14, Şekil 3.13).

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %138,86'lık değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %160,89 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında hesaplanmıştır. Bununla birlikte %178,85 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 'dir. Aynı zamanda normal hücre olan Vero 'da aynı konsantrasyonda hücre canlılığı %229,46 olarak saptanmıştır (Tablo 3.14, Şekil 3.13).

12,5µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %157,19'luk değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %182,13 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %202,45'dir. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %259,75 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.14, Şekil 3.13).

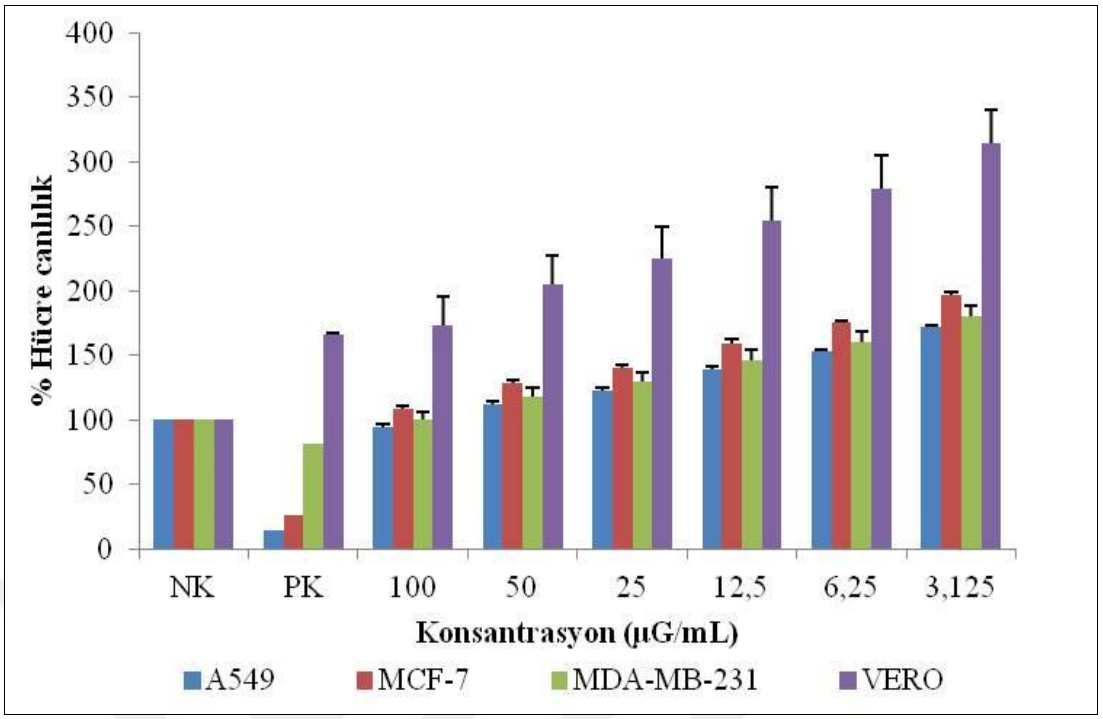
6,25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %172,59'luk değer ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %199,98 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %222,29 olarak hesaplanmıştır.

Bununla birlikte Normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda (6.25 µg/ml) %285,21 hücre canlılığı gözlemlenmiştir (Tablo 3.14, Şekil 3.13).

3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığı MDA-MB-231 hücre hattında %193,99'luk hücre canlılığı ile elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %224,77 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %249,86 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre olan Vero'da hücre canlılığı %320,57 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.14, Şekil 3.13).

Tablo 3.15. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 14 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE14	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125
A549	100,00	14,30 (±0,4)	94,82 (±2,16)	111,87 (±2,20)	122,81 (±2,10)	139,02 (±2,52)	152,64 (±1,73)	171,57 (±1,72)
MCF7	100,00	25,86 (±0,2)	108,68 (±2,27)	128,23 (±2,32)	140,77 (±2,21)	159,35 (±2,67)	174,96 (±1,88)	196,66 (±1,97)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,8)	99,86 (±6,71)	117,81 (±7,08)	129,34 (±7,24)	146,41 (±7,68)	160,76 (±7,14)	180,69 (±7,23)
VERO	100,00	165,76 (±1,6)	173,62 (±21,35)	204,84 (±22,21)	224,88 (±24,46)	254,56 (±26,23)	279,51 (±25,96)	314,16 ±26,08



Şekil 3.14. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE14 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE14 (pH:6,0, sıcaklık 60^0C, akış hızı dakikada 2,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,578 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saat sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %94,82' lık hücre canlılığı değeri ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben aynı konsantrasyonda %108,68'lik hücre canlılığı ile MCF7 ve MDA-MB-231'de %99,86'lık hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (100 µg/ml) Vero normal hücre hattında hücre canlılığı %173,62 olarak saptanmıştır (Tablo 3.15, Şekil 3.14).

50µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda, en düşük hücre canlılığı %111,87'lık değer ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında 50µG/mL konsantrasyonda %128,23, MDA-MB-231 hücre hattında %117,81 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsnantrasyonda (50µG/mL) normal hücre hattı Vero'da %204,84 hücre canlılığı gözlemlenmiştir (Tablo 3.15, Şekil 3.14).

25µG/mL konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasının sonunda en düşük hücre canlılığı %122,81 hücre canlılığı olarak A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunu takiben %140,77 hücre canlılığı ile MCF7 hücre hattında bulunmuştur. MDA-MB-231 hücre hattında %129,34 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda (25µG/mL) normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %224,88 olarak saptanmıştır (Tablo 3.15, Şekil 3.14).

12,5µG/mL konsantrasyonların 24 saatlik uygulamaları sonucunda en düşük hücre canlılığı %139,02'lik hücre canlılığı değeri ile A549 hücre hattında ve bunu takiben MCF7 hücre hattında %159,35 hücre canlılığı gözlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında %146,41 hücre canlılığı elde edilmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %254,56 olarak saptanmıştır (Tablo 3.15, Şekil 3.14).

6,25µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %152,64'lük hücre canlılığı değeri ile A549 (insan, akciğer karsinomu)'dur. Öte yandan %174,96 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında elde edilmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %160,76 olarak gözlenmiştir. Bunun yanısıra normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %279,51 olarak saptanmıştır (Tablo 3.15, Şekil 3.14).

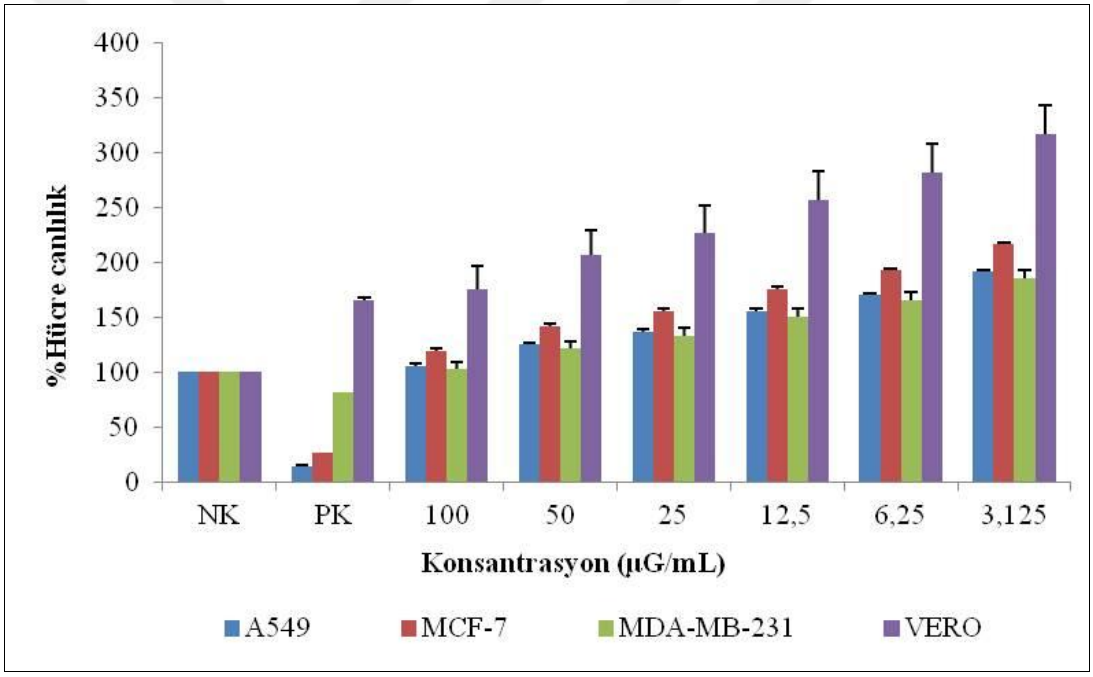
3,125µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı A549 hücre hattında %171,57' lik hücre canlılığı olarak bulunmuştur. Bununla birlikte MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %196,66 olarak gözlenmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığı %180,69 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %314,16 olarak saptanmıştır **(**Tablo 3.15, Şekil 3.14**).**

Tablo 3.16. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 15 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE15	NK	PK	Konsantrasyonlar(µG/mL)					
			100	50	25	12,5	6,25	3,125

Tablo 3.16. (Devam) Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE 15 prosesi veya koşulları ile elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, çeşitli tümör hücre hatlarının (A549, MCF7, MDA-MB-231) ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

A549	100,00	14,30 (±0,40)	105,65 (±2,36)	124,65 (±2,40)	136,84 (±2,30)	154,90 (±2,72)	170,08 (±1,93)	191,17 (±1,91)
MCF-7	100,00	25,86 (±0,20)	119,52 (±2,47)	141,00 (±2,52)	154,80 (±2,41)	175,23 (±2,87)	192,40 (±2,07)	216,26 (±2,16)
MDA-MB-231	100,00	80,88 (±0,80)	102,57 (±6,90)	121,01 (±7,28)	132,84 (±7,44)	150,38 (±7,88)	165,12 (±7,33)	185,59 (±7,42)
VERO	100,00	165,76 (±1,60)	174,93 (±21,5)	206,38 (±22,4)	226,57 (±24,66)	256,47 (±26,42)	281,61 (±26,16)	316,53 (±26,27



Şekil 3.15. Farklı konsantrasyonlardaki, HPHWE15 kodlu pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, A549, MCF7, MDA-MB-231 ve normal hücre hattının (Vero) hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE15 (pH:8,0, sıcaklık:60^{0}C, akış hızı dakikada 5,00 ml/dakika, elde edilen protein miktarı 0,382 g/l) koşulu uygulanarak yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstre için;

100µG/mL konsantrasyonunda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %102,57' lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir.

Daha sonra %105,65 ile A549 hücre hattında gözlemlenmiştir. Ardından %119,52 hücre canlılığı MCF7 hücre hattında, normal hücre hattı olan Vero'da 100µG/mL konsantrasyonda hücre canlılığı %174,93 olarak saptanmıştır (Tablo 3.16, Şekil 3.15).

50µG/mL konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı %121,01' lik hücre canlılığı oranı ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %124,65 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra MCF7 hücre hattında %141,00 hücre canlılığı gözlenmiştir. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda(50µG/mL), normal hücre hattı olan Vero'da hücre canlılığı %206,38 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.16, Şekil 3.15).

25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %132,84'lük değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından %136,84 hücre canlılığı ile A549 hücre hattında hesaplanmıştır. Bununla birlikte %154,80 hücre canlılığı olarak hesaplanan hücre hattı MCF7 'dir. Aynı zamanda normal hücre olan Vero'da aynı konsantrasyonda hücre canlılığı %226,57 olarak saptanmıştır (Tablo 3.16, Şekil 3.15).

12,5µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonunda elde edilen en düşük hücre canlılığı %150,38'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %154,90 hücre canlılığı olarak elde edilmiştir. MCF7 hücre hattında elde edilen hücre canlılığı %175,23'dir. Ayrıca normal hücre hattı olan Vero 'da hücre canlılığı %256,47 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.16, Şekil 3.15).

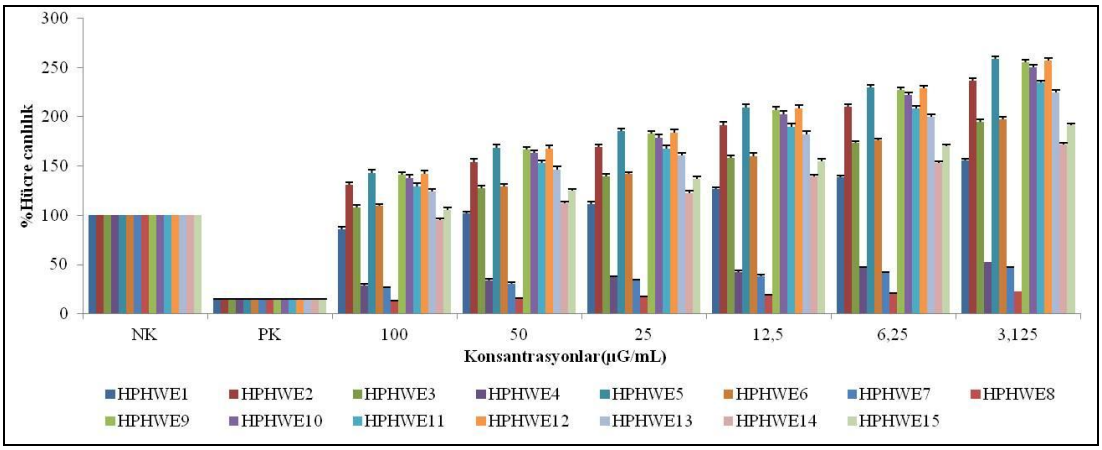
6,25µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen en düşük hücre canlılığı %165,12'lik değer ile MDA-MB-231 hücre hattında gözlenmiştir. Ardından A549 (insan, akciğer karsinoma) hücre hattında %170,08 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Ardından MCF7 hücre hattında %192,40 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte Normal hücre olan Vero 'da aynı konsantrasyonda %281,61 hücre canlılığı saptanmıştır (Tablo 3.16, Şekil 3.15).

3,125µG/mLkonsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en düşük hücre canlılığıMDA-MB-231 hücre hattında %185,59 hücre canlılığı elde edilmiştir. Ardından A549 hücre hattında %191,17 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. Bunu

takiben MCF7 hücre hattında hücre canlılığı %216,26 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte aynı konsantrasyonda normal hücre olan Vero'da hücre canlılığı %316,53 olarak gözlemlenmiştir (Tablo 3.16, Şekil 3.15).

Tablo 3.16. A549 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

Koşullar	**A549**							
	NK	PK	100	50	25	12,5	6,25	3,125
HPHWE1	100,00	14,30 (±0,40)	86,14 (±2,00)	101,63 (±2,04)	111,57 (±1,95)	126,30 (±2,37)	138,68 (±1,58)	155,87 (±1,56)
HPHWE2	100,00	14,30 (±0,40)	130,74 (±2,81)	154,25 (±2,85)	169,34 (±2,75)	191,69 (±3,17)	210,47 (±2,38)	236,57 (±2,37)
HPHWE3	100,00	14,30 (±0,40)	107,86 (±2,40)	127,26 (±2,44)	139,70 (±2,34)	158,14 (±2,76)	173,64 (±1,97)	195,17 (±1,95)
HPHWE4	100,00	14,30 (±0,40)	28,86 (±1,13)	34,05 (±1,17)	37,38 (±1,04)	42,31 (±1,43)	46,46 (±0,59)	52,22 (±0,52)
HPHWE5	100,00	14,30 (±0,40)	142,85 (±3,03)	168,53 (±3,07)	185,01 (±2,97)	209,43 (±3,39)	229,96 (±2,60)	258,47 (±2,58)
HPHWE6	100,00	14,30 (±0,40)	109,3 (±2,42)	128,95 (±2,46)	141,56 (±2,37)	160,25 (±2,78)	175,95 (±1,99)	197,77 (±1,98)
HPHWE7	100,00	14,30 (±0,40)	25,91 (±1,08)	30,57 (±1,13)	33,56 (±0,99)	37,99 (±1,38)	41,72 (±0,53)	46,89 (±0,47)
HPHWE8	100,00	14,30 (±0,40)	12,67 (±0,91)	14,95 (±0,94)	16,41 (±0,81)	18,58 (±1,16)	20,40 (±0,28)	22,93 (±0,19)
HPHWE9	100,00	14,30 (±0,40)	141,08 (±3,00)	166,44 (±3,04)	182,72 (±2,94)	206,84 (±3,36)	227,11 (±2,57)	255,27 (±2,55)
HPHWE10	100,00	14,30 (±0,40)	138,09 (±2,94)	162,92 (±2,98)	178,86 (±2,89)	202,46 (±3,31)	222,31 (±2,52)	249,87 (±2,50)
HPHWE11	100,00	14,30 (±0,40)	129,64 (±2,79)	152,95 (±2,83)	167,90 (±2,73)	190,07 (±3,15)	208,69 (±2,36)	234,57 (±2,35)
HPHWE12	100,00	14,30 (±0,40)	142,07 (±3,01)	167,62 (±3,06)	184,01 (±2,96)	208,30 (±3,38)	228,71 (±2,59)	257,07 (±2,57)
HPHWE13	100,00	14,30 (±0,40)	124,22 (±2,69)	146,56 (±2,73)	160,89 (±2,64)	182,13 (±3,05)	199,98 (±2,26)	224,77 (±2,25)
HPHWE14	100,00	14,30 (±0,40)	94,82 (±2,16)	111,87 (±2,20)	122,81 (±2,10)	139,02 (±2,52)	152,64 (±1,73)	171,57 (±1,72)
HPHWE15	100,00	14,30 (±0,40)	105,65 (±2,36)	124,65 (±2,40)	136,84 (±2,30)	154,90 (±2,72)	170,08 (±1,93)	191,17 (±2,91



Şekil 3.16. A549 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

A549 hücre hattı üzerine;

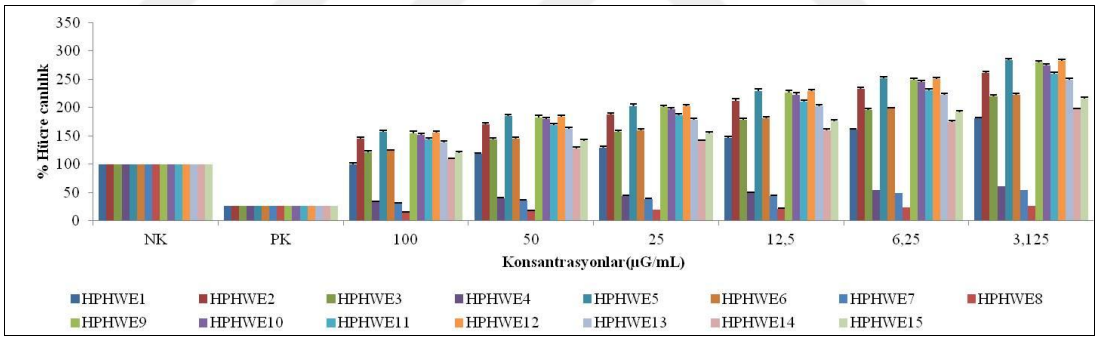
HPHWE8 kodlu ekstrenin, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonunda sırasıyla, %12,67, 14,95, 16,41, 18,58, 20,40, 22,93' lik hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.17, Şekil 3.16). HPHWE7 kodlu ekstrenin 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonrasında sırasıyla %25,91, 30,57, 33,56, 37,99, 41,72, 46,89'luk hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.17, Şekil 3.16). HPHWE4 kodlu ekstrenin, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL lik konsantrasyonlardaki uygulamaları sonrasında sırasıyla %28,86, 34,05, 37,38, 42,31, 46,46, 52,22'lik hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.17, Şekil 3.16).

Tablo 3.18. MCF7 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

Koşullar	**MCF-7**							
	NK	PK	100	50	25	12,5	6,25	3,125
HPHWE1	100,00	25,86 (±0,20)	100,01 (±2,11)	117,99 (±2,17)	129,53 (±2,06)	146,63 (±2,51)	160,99 (±1,72)	180,96 (±1,81)
HPHWE2	100,00	25,86 (±0,20)	144,61 (±2,92)	170,61 (±2,97)	187,29 (±2,86)	212,01 (±3,32)	232,79 (±2,53)	261,66 (±2,62)
HPHWE3	100,00	25,86 (±0,20)	121,73 (±2,51)	143,61 (±2,56)	157,66 (±2,45)	178,47 (±2,91)	195,96 (±2,11)	220,26 (±2,20)
HPHWE4	100,00	25,86 (±0,20)	33,50 (±1,17)	39,53 (±1,21)	43,39 (±1,07)	49,12 (±1,48)	53,93 (±0,63)	60,62 (±0,61)
HPHWE5	100,00	25,86 (±0,20)	156,71 (±3,14)	184,89 (±3,19)	202,97 (±3,08)	229,76 (±3,54)	252,28 (±2,75)	283,56 (±2,84)

Tablo 3.18. (Devam) MCF7 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

HPHWE6	100,00	25,86 (±0,20)	123,16 (±2,53)	145,31 (±2,59)	159,52 (±2,48)	180,58 (±2,93)	198,27 (±2,14)	222,86 (±2,23)
HPHWE7	100,00	25,86 (±0,20)	30,09 (±1,12)	35,49 (±1,16)	38,97 (±1,02)	44,11 (±1,42)	48,43 (±0,58)	54,44 (±0,54)
HPHWE8	100,00	25,86 (±0,20)	14,71 (±0,96)	17,36 (±0,97)	19,05 (±0,80)	21,57 (±1,17)	23,68 (±0,30)	26,62 (±0,23)
HPHWE9	100,00	25,86 (±0,20)	154,94 (±3,11)	182,80 (±3,16)	200,68 (±3,05)	227,17 (±3,51)	249,43 (±2,71)	280,36 (±2,80)
HPHWE10	100,00	25,86 (±0,20)	151,96 (±3,05)	179,28 (±3,11)	196,81 (±3,00)	222,79 (±3,45)	244,62 (±2,66)	274,96 (±2,75)
HPHWE11	100,00	25,86 (±0,20)	143,50 (±2,90)	169,30 (±2,95)	185,86 (±2,84)	210,39 (±3,30)	231,01 (±2,51)	259,66 (±2,60)
HPHWE12	100,00	25,86 (±0,20)	155,94 (±3,12)	183,97 (±3,18)	201,97 (±3,07)	228,63 (±3,53)	251,03 (±2,73)	282,16 (±2,82)
HPHWE13	100,00	25,86 (±0,20)	138,09 (±2,80)	162,91 (±2,86)	178,85 (±2,75)	202,45 (±3,20)	222,29 (±2,41)	249,86 (±2,50)
HPHWE14	100,00	25,86 (±0,20)	108,68 (±2,27)	128,23 (±2,32)	140,77 (±2,21)	159,35 (±2,67)	174,96 (±1,88)	196,66 (±1,97)
HPHWE15	100,00	25,86 (±0,20)	119,52 (±2,47)	141,00 (±2,52)	154,80 (±2,41)	175,23 (±2,87)	192,40 (±2,07)	216,26 (±2,16)



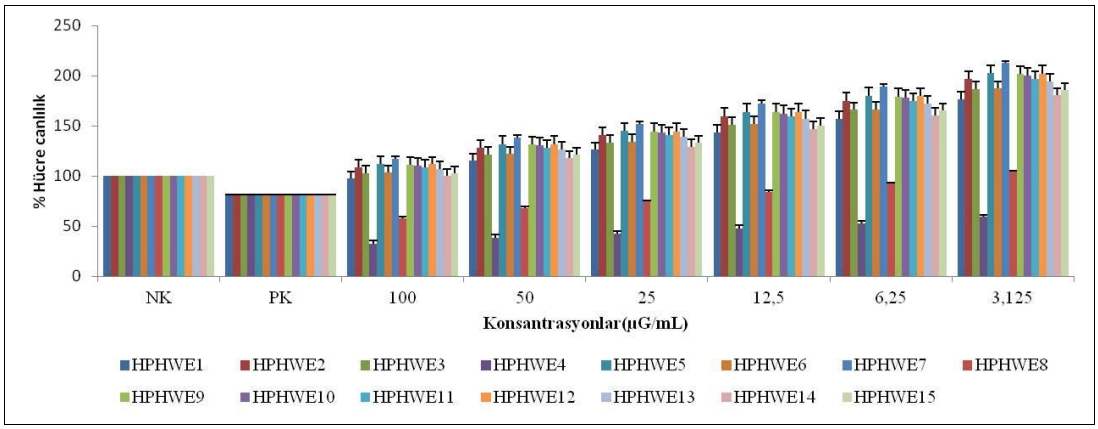
Şekil 3.17. MCF7 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

MCF7 (insan meme adenokarsinoma) hücreleri üzerinde en iyi sonuçlar; HPHWE8 kodlu ekstrenin, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonrasında sırasıyla %14,71, 17,36, 19,05, 21,57, 23,68, 26,6 hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.18, Şekil 3.17). HPHWE7 kodlu ekstrenin 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonunda sırasıyla %30,09, 35,49, 38,97, 44,11, 48,43, 454,44' lük hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.18, Şekil 3.17). HPHWE4 kodlu ekstrenin 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonundaA sırasıyla %33,50, 39,53,

43,39, 49,12, 53,93, 60,92'lik hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.18, Şekil 3.17).

Tablo 3.19. MDA-MB-231 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

Koşul	MDA-MB-231							
	NK	PK	100	50	25	12,5	6,25	3,125
HPHWE1	100,00	80,88 (±0,80)	97,69 (±6,55)	115,25 (±6,93)	126,53 (±7,08)	143,23 (±7,53)	157,26 (±6,98)	176,77 (±7,07)
HPHWE2	100,00	80,88 (±0,80)	108,84 (±7,36)	128,41 (±7,73)	140,97 (±7,89)	159,58 (±8,33)	175,21 (±7,79)	196,94 (±7,88)
HPHWE3	100,00	80,88 (±0,80)	103,12 (±6,94)	121,66 (±7,32)	133,56 (±7,48)	151,19 (±7,92)	166,01 (±7,37)	186,59 (±7,46)
HPHWE4	100,00	80,88 (±0,80)	32,73 (±2,65)	38,61 (±2,81)	42,39 (±2,76)	47,98 (±3,16)	52,68 (±2,40)	59,22 (±2,37)
HPHWE5	100,00	80,88 (±0,80)	111,87 (±7,58)	131,98 (±7,95)	144,89 (±8,11)	164,01 (±8,55)	180,08 (±8,01)	202,42 (±8,10)
HPHWE6	100,00	80,88 (±0,80)	103,48 (±6,97)	122,08 (±7,34)	134,02 (±7,50)	151,72 (±7,94)	166,58 (±7,40)	187,24 (±7,49)
HPHWE7	100,00	80,88 (±0,80)	117,55 (±2,45)	138,69 (±2,59)	152,25 (±2,54)	172,35 (±2,93)	189,24 (±2,16)	212,71 (±2,13)
HPHWE8	100,00	80,88 (±0,80)	57,48 (±1,60)	67,82 (±1,59)	74,45 (±1,54)	84,28 (±1,92)	92,54 (±1,13)	104,01 (±1,01)
HPHWE9	100,00	80,88 (±0,80)	111,42 (±7,54)	131,46 (±7,92)	144,31 (±8,08)	163,36 (±8,52)	179,37 (±7,97)	201,62 (±8,06)
HPHWE10	100,00	80,88 (±0,80)	110,68 (±7,49)	130,58 (±7,87)	143,35 (±8,02)	162,27 (±8,47)	178,17 (±7,92)	200,27 (±8,01)
HPHWE11	100,00	80,88 (±0,80)	108,56 (±7,34)	128,0 (±7,71)	140,61 (±7,87)	159,17 (±8,31)	174,77 (±7,77)	196,44 (±7,86)
HPHWE12	100,00	80,88 (±0,80)	111,67 (±7,56)	131,75 (±7,94)	144,64 (±8,10)	163,73 (±8,54)	179,77 (±7,99)	202,07 (±8,08)
HPHWE13	100,00	80,88 (±0,80)	107,21 (±7,24)	126,49 (±7,61)	138,86 (±7,77)	157,19 (±8,21)	172,59 (±7,67)	193,99 (±7,76)
HPHWE14	100,00	80,88 (±0,80)	99,86 (±6,71)	117,81 (±7,08)	129,34 (±7,24)	146,41 (±7,68)	160,76 (±7,14)	180,69 (±7,23)
HPHWE15	100,00	80,88 (±0,80)	102,57 (±6,90)	121,01 (±7,28)	132,84 (±7,44)	150,38 (±7,88)	165,12 (±7,33)	185,59 (±7,42)



Şekil 3.18. MDA-MB-231 hücre hattında, farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10µG/mL)

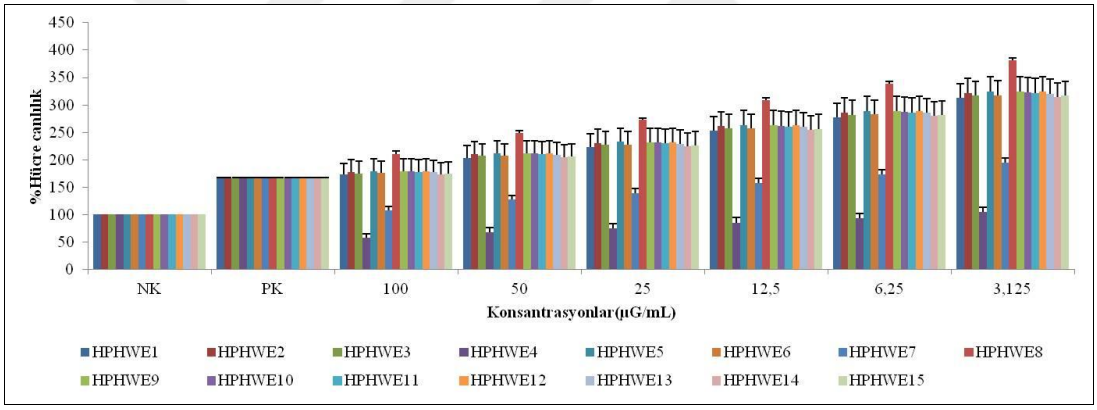
MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücreleri üzerinde en iyi sonuçlar sırasıyla; HPHWE4 kodlu ekstrenin 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonrasında sırasıyla %32,73, 38,61, 42,39, 47,98, 52,68, 59,22'lik hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.19, Şekil 3.18). HPHWE8 kodlu ekstrenin, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonrasında sırasıyla %57,48, 67,82, 74,45, 84,28, 92,54, 104,01' lik hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.19, Şekil 3.18).

Tablo 3.20. Vero hücre hattında farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10 µG/mL)

Koşul	**VERO**							
	NK	PK	100	50	25	12,5	6,25	3,125
HPHWE1	100,00	165,76 (±1,60)	172,58 (±21,19)	203,61 (±22,06)	223,52 (±24,30)	253,03 (±26,07)	277,82 (±25,80)	312,27 (±25,92)
HPHWE2	100,00	165,76 (±1,60)	177,95 (±22,00)	209,95 (±22,86)	230,48 (±25,11)	260,90 (±26,88)	286,47 (±26,61)	322,00 (±26,73)
HPHWE3	100,00	165,76 (±1,60)	175,20 (±21,58)	206,70 (±22,45)	226,91 (±24,70)	256,86 (±26,46)	282,04 (±26,20)	317,01 (±26,31)
HPHWE4	100,00	165,76 (±1,60)	57,81 (±7,56)	68,21 (±7,87)	74,88 (±8,53)	84,76 (±9,37)	93,07 (±8,70)	104,61 (±8,68)
HPHWE5	100,00	165,76 (±1,60)	179,41 (±22,22)	211,67 (±23,08)	232,37 (±25,33)	263,04 (±27,09)	288,82 (±26,83)	324,63 (±26,94)
HPHWE6	100,00	165,76 (±1,60)	175,37 (±21,61)	206,90 (±22,48)	227,13 (±24,72)	257,12 (±26,49)	282,31 (±26,22)	317,32 (±26,34)
HPHWE7	100,00	165,76 (±1,60)	107,73 (±6,86)	127,10 (±7,15)	139,53 (±7,72)	157,94 (±8,51)	173,42 (±7,82)	194,93 (±7,80)
HPHWE8	100,00	165,76 (±1,60)	210,71 (±4,50)	248,60 (±3,87)	272,91 (±3,60)	308,94 (±4,65)	339,22 (±3,58)	381,28 (±3,78)

Tablo 3.20. (Devam) Vero hücre hattında farklı konsantrasyonlarda, 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10 µG/mL)

HPHWE9	100,00	165,76 (±1,60)	179,20 (±22,19)	211,42 (±23,05)	232,09 (±25,30)	262,73 (±27,06)	288,48 (±26,80)	324,25 (±26,91)
HPHWE10	100,00	165,76 (±1,60)	178,84 (±22,13)	210,99 (±23,00)	231,63 (±25,24)	262,20 (±27,01)	287,90 (±26,74)	323,60 (±26,86)
HPHWE11	100,00	165,76 (±1,60)	177,82 (±21,98)	209,79 (±22,84)	230,31 (±25,09)	260,71 (±26,86)	286,26 (±26,59)	321,75 (±26,71)
HPHWE12	100,00	165,76 (±1,60)	179,32 (±22,20)	211,56 (±23,07)	232,25 (±25,32)	262,91 (±27,08)	288,67 (±26,81)	324,47 (±26,93)
HPHWE13	100,00	165,76 (±1,60)	177,17 (±21,88)	209,02 (±22,75)	229,46 (±24,99)	259,75 (±26,76)	285,21 (±26,49)	320,57 (±26,61)
HPHWE14	100,00	165,76 (±1,60)	173,62 (±21,35)	204,84 (±22,21)	224,88 (±24,46)	254,56 (±26,23)	279,51 (±25,96)	314,16 (±26,08)
HPHWE15	100,00	165,76 (±1,60)	174,93 (±21,54)	206,38 (±22,41)	226,57 (±24,66)	256,47 (±26,42)	281,61 (±26,16)	316,53 (±26,27)



Şekil 3.19. VERO normal hücre hattında farklı konsantrasyonlardaki 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstrelerinin 48 saatin sonunda, hücre canlılıklarına olan etkisi. NK, negatif kontrol, (hücre+medium+%0,1 DMSO); PK, pozitif kontrol, (doksorubisin, 10 µG/mL)

VERO (Afrika yeşil maymun böbrek epiteli) hücreleri üzerinde en iyi sonuçlar; HPHWE8 kodlu ekstrenin, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonunda sırasıyla %210,71, 248,60, 272,91, 308,94, 339,22, 381,28 hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.20, Şekil 3.19).

HPHWE5 kodlu ekstrenin, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125µG/mL konsantrasyonlardaki uygulamaları sonunda sırasıyla %179,41, 211,67, 232,37, 263,04, 288,82, 324,63 hücre canlılıkları elde edilmiştir (Tablo 3.20, Şekil 3.19).

3.3. Atık *Oryza sativa* Kabuğundan Elde Edilen Protein Ekstrelerinin Çeşitli Tümör Hücreleri Üzerinde Elde Edilen IC_{50} Değerleri

Her hücre hattı 37ºC'de, 48 saat boyunca atık pirinç kabuğu protein ekstrelerinin 3,125, 6,25, 12,5, 25, 50 ve 100µG/mL konsantrasyonları ile inkübe edilmiştir. Daha sonra IC_{50} değerlerini saptamak için MTT analizleri yapılmıştır. Her analiz ve her bir hücre hattı için üç bağımlı analiz ve üç bağımsız analizden elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

Tablo (4.20)'deki IC_{50} değerlerine bakıldığında en düşük değerin başka bir değişle en yüksek sitotoksik aktivitenin HPHWE8 kodlu protein lizatının A549 kanser hücre hattına karşı 1,27µG/mL lik IC_{50} değeriyle elde edildiği görülmüştür. Bunu, aynı koşulda 2,31µG/mL değeriyle MCF7 hücre hattı takip etmiştir. HPHWE7 koşulunda en düşük IC_{50} değerleri yine A549 kanser hücre hattına karşı 2,87µG/mL lik IC_{50} değeri ile ve bunu takiben MCF7 kanser hücre hattına karşı 5,47µG/mL lik IC_{50} değeri ile elde edilmiştir. HPHWE4 koşulunda en düşük IC_{50} değerleri A549 kanser hücre hattına karşı 4,13µG/mL ve MDA-MB-231 kanser hücre hattına karşı 8,764µG/mL ve MCF7 kanser hücre hattı üzerinde 11,92µG/mL'lik IC_{50} değeriyle sitotoksisite elde edilmiştir. Diğer koşullarda IC_{50} değerleri 100µG/mL üzerinde saptanmıştır.

Pozitif kontrol olan doksorubisinin A549 hücre hattı üzerindeki IC_{50} değeri 1,97µG/mL, MCF7 hücre hattı üzerindeki IC_{50} değeri 2,31µG/mL, MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki IC_{50} değeri 2,00µG/mL, VERO normal hücre hattı üzerinde IC_{50} değeri 3,84µG/mL'dir.

Tablo 3.21. Atık pirinç kabuğu protein ektrelerinin A549, MCF7, MDA-MB-231, Vero hücre hatlarındaki IC_{50} değerleri. Pozitif kontrol, doksorubisin

	IC_{50} (µG/mL)			
	A549	**MCF7**	**MDA-MB-231**	**Vero**
HPHWE1	,	>100	>100	>100
HPHWE2	>100	>100	>100	>100
HPHWE3	>100	>100	>100	>100
HPHWE4	4,13 (±0,262)	11,92 (±1,42)	8,76 (±1,24)	>100
HPHWE5	>100	>100	>100	>100
HPHWE6	>100	>100	>100	>100
HPHWE7	2,87 (±0,17)	5,47 (±0,23)	>100	>100

Tablo 3.21.(Devam) Atık pirinç kabuğu protein ektrelerinin A549, MCF7, MDA-MB-231, Vero hücre hatlarındaki IC_{50} değerleri. Pozitif kontrol, doksorubisin

HPHWE8	1,27 (±0,12)	2,31 (±0,13)	>100	>100
HPHWE9	>100	>100	>100	>100
HPHWE10	>100	>100	>100	>100
HPHWE11	>100	>100	>100	>100
HPHWE12	>100	>100	>100	>100
HPHWE13	>100	>100	>100	>100
HPHWE14	>100	>100	>100	>100
HPHWE15	>100	>100	>100	>100
P.K (Doksorubisin)	1,97 ± 0,78	2,31 ± 0,93	2,00 ± 0,66	3,84 ± 1,34

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kim ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada, *Samkwang, Seolgaeng, Hwaseonchal, Keunnun, Hongjinju, Heugkwang, Ilpum, Haiami ve Nokmi* dahil olmak üzere dokuz pirinç çeşidinden (*Oryza sativa L.*) elde edilen pirinç kabuklarını %70 etanol ile ekstre etmişlerdir. Elde ettikleri pirinç kabuğu özütünün 100μG/mL'lik konsantrasyonda MCF7 ve NCI-H460 tümör hücre hatları üzerinde sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. En yüksek sitotoksik aktivite *Seolgaen*g pirinç kabuğunun 100μG/mL konsatrasyonunda MCF7 hücre hattı üzerinde %65,82, NCI-H460 hücre hattında %42,77 hücre canlılığı elde etmişlerdir. Bu çalışmada, basınçlı sıcak su ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen pirinç kabuğunun protein ekstrelerinin 100μG/mL'lik konsantrasyonda en yüksek sitotoksik aktivitenin elde edildiği HPHWE8 kodlu ekstrede MCF7 (insan, meme, adenokarsinom) hücre hattında %14,7 ve 3,125 μG/mL'lik konstrasyonda %26,6 hücre canlılığı elde edilmiştir. Ek olarak, A549 ve MDA-MB-231 hücreleri üzerine etkileri de çalışılarak, aynı konsantrasyonda, A549 hücre hattında %14,71'lik hücre canlılığı ve MDA-MB-231 (insan meme adenokarsinoma)'de %57,48'lük hücre canlılığı elde edilmiştir.

Kim ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada pirinç kabuğu metanolik ekstrelerinin 0,5, 5, 50, 500 μG/mL konsantrasyonlarında HT-29 (İnsan kolon kanseri) hücre hattındaki sitotoksik etkileri MTT analizi ile değerlendirmişlerdir. 24 saat sonunda hücre canlılığının %50-70 oranında azaldığını görmüşlerdir. Konsantrasyonun 500μG/mL olduğunda hücre canlılıkları %30'a düştüğü görmüşlerdir. Pirinç kabuğunun metanolik ekstresinin 0-500μG/mL konsantrasyonunda HT-29 hücre hatlarına karşı duyarlı olduğu ve IC_{50} değerinin ise 0,5μG/mL olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada her ne kadar farklı kanser hücre hatları üzerinde çalışmış olsak da düşük konsantrasyonda en iyi sitotoksik aktiviteyi elde etmeye çalıştık. En iyi sonucumuzu elde ettiğimizi HPHWE8 kodlu ekstrede 100μG/mL'lik konsantrasyonda A549 hücre hattında %14,71'lik hücre canlılığı elde ederken, 3,125μG/mL'lik konsantrasyonda aynı hücre hattında %22,93 hücre canlılığı elde edilmiştir.

Jesudoss ve ark. (2018) tarafından pirinç kabuğu külünden elde edilen ZSM-5 zeolitlerin (alüminyum silikat) A549 hücrelerinin membranı üzerine etkilerini anlamak için *in vitro* ortam kullanılarak araştırma yapılmıştır. Bu amaçla ZSM-5 zeolitleri çeşitli konsantrasyonlarda (1000, 500, 250, 175, 89,5, 51,3, 23,2 µG/ml) A549 hücre hattı ile birlikte inkübe edilmiştir, sitotoksik aktivite MTT testi ile analiz edilmiştir. Pirinç kabuğu külünden elde edilen ZSM-5 zeolitlerin en yüksek sitotoksik etkiyi 1000µG/mL de %77,8 hücre ölümleri gerçekleşmiştir. Pirinç kabuğu külünden elde edilen ZSM-5 pirinç kabuğu külü zeolitini, A549 insan akciğer karsinoma hücre hatlarına karşı ROS(reaktif oksijen türleri) ve oksidatif stres oluşumu yoluyla ortaya çıkan gelişmiş bir sitotoksite etkisine sahip potansiyel bir biyomateryal olarak tanımlanmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada ise yüksek basınçlı sıcak su yöntemi kullanılarak 15 farklı koşulda elde edilen Atık *Oryza sativa* kabuğuna ait protein ekstrelere MTT testi ile analizi yapılmıştır. En iyi sonucu HPHWE8 koşulunda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstresinde, A549 hücre hattına karşı 100µG/mL'lik konsantrasyonunda %87,33 hücre ölümü gerçekleşmiştir. Her iki sonuç birlikte değerlendirildiğinde aynı atık maddeden elde edilen ekstrelerin insan akciğer karsinoma (A549) hücre hattına karşı üstün bir anti kanser aktivite gösterdiği dolayısıyla kanser tedavisi için potansiyel uygulamalara sahip olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada, yüksek basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ile 15 farklı koşulda elde edilen pirinç kabuğu protein ekstrelerinin 3 kanser hücre hattı A549 (insan küçük hücreli akciğer karsinomu), MCF7 (insan meme adenokarsinom), MDA-MB-231 (insan meme adenokarsinom) üzerinde IC_{50} değerleri belirlenmek üzere, 100-3,125µG/mL arası farklı konsantrasyonlarda, MTT analizi ile sitotoksik etkileri belirlenmiştir.

Sitotoksisite testleri sonucunda yüksek basınçlı sıcak su yöntemi kullanılarak 15 farklı koşulda elde edilen atık *Oryza sativa* kabuğuna ait protein ekstrelerinden en iyi sonucu elde ettiğimiz HPHWE8 koşulunda (pH:10, sıcaklık 60^0C ve akış hızı 2 ml/dk, protein miktarı 2,4 g/l) 100µG/mL konsantrasyonundaki uygulamalarında, A549, MCF7, MDA-MB-231 tümör hücreleri üzerindeki büyüme inhibisyonu sırasıyla %12,67, %14,71 ve %57,48 hücre canlılığı olarak bulunmuştur. Pozitif kontrol olan doksorubisinin bu hücre hatları üzerindeki inhibisyonu sırasıyla %14,30 , %25,86 ve %80,88 olduğu göz önüne alınırsa; özellikle 100µg/ml konsantrasyonda

MCF7 hücre hattnda %14,71'lik bir hücre canlılığı ile doksorubisinden daha iyi bir sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca doksorubisinin VERO normal hücre hattındaki hücre canlılığı %165,72 iken, HPHWE8 kodlu ekstrenin 100µg/ml konsantrasyondaki hücre canlılığına olan etkisi %210,71 olarak bulunmuştur.

Aynı koşulda(HPHWE8 kodlu ekstre), 3,125µG/mL'lik konsantrasyon uygulamasında, A549, MCF7, MDA-MB-231 tümör hücreleri üzerindeki büyüme inhibisyonu sırasıyla %22,93, %26,62 ve %104,01 olarak bulunmuştur. Pozitif kontrol olan doksorubisinin bu hücre hatları üzerindeki inhibisyonu sırasıyla %14,30 , %25,86, %80,88 olduğu göz önüne alınırsa; 3,125µg/ml konsantrasyonda MCF7 hücre hattnda %26,62'lik bir hücre canlılığı ile doksorubisine yakın bir sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca doksorubisinin VERO normal hücre hattındaki hücre canlılığı %165,72 iken, ekstrenin 3,125µg/ml konsantrasyon uygulamasında hücre canlılığı %381,28 olarak bulunmuştur.Böylece pirinç kabuğu protein ekstresinin (HPHWE8) normal hücre hattına karşı sitotoksik olmadığı tespit edilmiştir. Konsantrasyon azaldıkça normal hücre hatlarında çok fazla hücre canlılıklarının arttığı tespit edilmiştir. Başka bir deyişle, doz ile hücre canlılığı arasında ters orantı olduğu anlaşılmaktadır.

HPHWE2 ve HPHWE7 koşullarında pH(8,00) ve sıcaklık(80^0C) eşit olup, akış hızları (8ml/dakika ve 2ml/dakika), protein değerleri(0,211 g/l, 1,911 g/l) farklıdır. Akış hızının artması elde edilecek protein miktarında doğrudan etkili olduğu anlaşılmaktadır. Akış hızının düşük olduğu HPHWE7 koşulunda protein miktarının yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Başka bir deyişle akış hızı ile protein miktarı arasında ters orantı olduğu anlaşılmaktadır. Protein miktarı ile sitotoksik aktivite arasında ise doğru bir orantı olduğu sonuçlardan anlaşılmaktadır. Dolayısıyla, buradan genel olarak akış hızı ile sitotoksik aktivite arasında ters bir orantı olduğu yorumu yapılabilir. 3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında sitotoksik aktiviteler; HPHWE2 koşulunda (protein miktarı 0,211g/l), A549 hücre hattında %236,57 hücre canlılığı, MCF7 (insan meme adenokarsinoma) hücre hattında %261,66 hücre canlılığı, MDA-MB-231 (insan meme adenokarsinoma) hücre hattında %196,94 hücre canlılığı elde edilmişken, Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %322,00 olarak saptanmıştır. Aynı konsantrasyonda HPHWE7 koşulunda (protein miktarı 1,911g/l) A549 hücre hattında

%46,89 hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %54,44 hücre canlılığı, MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %212,71 olarak, normal hücre hattı olan Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %194,93 olarak saptanmıştır. A549 ve MCF7 hücre hatlarında protein miktarı arttıkça hücre canlılığının anlamlı derecede azaldığı, MDA-MB-231 tumör hücre hattı ve VERO normal hücre hatlarında ise protein miktarı arttıkça hücre canlılığının arttığı tespit edilmiştir.

HPHWE1 ve HPHWE12 koşullarında pH(8,0) ve sıcaklık(40^0C) eşit olup, akış hızları (2ml/dk ve 8ml/dk) ve protein değerleri(0,678g/l ve 0,106g/l) farklıdır. Akış hızının artması elde edilecek protein miktarında doğrudan etkili olduğu ve ters orantılı olduğu anlaşılmaktadır. 3,125µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen sitotoksik aktivite; HPHWE1 koşulunda (protein miktarı 0,678g/l), A549 hücre hattında %155,87 hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %180,96 hücre canlılığı MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %176,77 hücre canlılığı olarak, normal hücre hattı olan Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %312,27 olarak saptanmıştır. HPHWE12 koşulunda (protein miktarı 0,106g/l'); A549 hücre hattında %257,07 hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %282,16 olarak, MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %202,07 hücre canlılığı, Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %324,47 olarak saptanmıştır. Tüm hücre hatlarında hücre canlılığı ile protein miktarı arasında bağlantı olduğu ve ters orantı göze çarpmaktadır.

HPHWE8 ve HPHWE10 koşullarında pH ve sıcaklık eşit olup, akış hızları (2ml/dk-8ml/dk) ve protein değerleri (2,4g/l-0,178g/l)farklıdır. Akış hızının arttrılması ile beraber protein miktarınının anlamlı derece düştüğü gözlenmiştir. Yine, tüm tümör hücre hatlarında hücre canlılığı ile protein miktarı arasında önemli bir bağlantı olduğu ve ters bir orantının olduğu göze çarpmaktadır. 3,125 µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında en yüksek sitotoksik aktivite HPHWE10 koşulunda (protein miktarı 0,178g/l) A549 hücre hattında %249,87 hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %274,96, MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %200,27

hücre canlılığı, Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %323,60 olarak elde edilmiştir. HPHWE 8 koşulunda (protein miktarı 2,4g/l) A549 hücre hattında %22,93 hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %26,62 olarak, MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %104,01 olarak, normal hücre hattı olan Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %381,28 olarak saptanmıştır. Protein miktarının en yüksek olduğu bu koşulda tümör hücre hatlarının hücre canlılıklarının en düşük seviyede olduğu, normal hücre hattında ise protein miktarının artması ile hücre canlılığının arttığı görülmüştür. Bu sonuç tümörlü hücrelerinin hücre canlılıkları ile atık *Oryza sativa*'nın protein lizatlarındaki protein miktarının ters orantılı olduğu görülmüştür. Başka bir deyişle sitotoksik aktivite ile ekstrelerdeki protein miktarı doğru orantılı olarak değişmektedir.

HPHWE4 VE HPHWE6 koşullarında pH ve akış hızları eşit, sıcaklıkları (80^0C-40^0C) farklı, protein miktarları (1,13g/l-0,338g/l) farklıdır. Sıcaklığın düşürülmesi ile protein miktarının düştüğü buna bağlı olarak hücre canlılığının önemli derece arttığı anlaşılmaktadır. 3,125 µG/mL konsantrasyon için 48 saatlik uygulama sonrasında elde edilen sitotoksik aktiviteler: HPHWE4 koşulunda(protein miktarı 1,13g/l), A549 hücre hattında %52,22 hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %60,62 hücre canlılığı, MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %59,22 olarak, normal hücre hattı olan Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %104,61 olarak saptanmıştır. HPHWE6 koşulunda protein miktarı (0,338g/l); A549 hücre hattında %197,77 hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %222,86 olarak, MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %187,24 hücre canlılığı, normal hücre olan Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %317,32 olarak saptanmıştır. Her iki prosesten elde edilen ektrelerin hücrelere uygulaması sonrasında, tüm hücre hatlarında protein miktarının azalması ile hücre canlılığının arttığı görülmüştür.

HPHWE13 ve HPHWE15 koşullarında pH, sıcaklık ve akış hızının eşit olduğu koşullarda, protein değerleri (0,311g/l-0,382g/l) çok az miktarda farklıdır. 3,125µG/mL konsantrasyonda 48 saatlik uygulama sonrasında sitotoksik aktiviteler; HPHWE13 koşulunda (protein miktarı 0,311g/l), A549 hücre hattında %224,77

hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %249,86 olarak, MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %193,99 hücre canlılığı, normal hücre olan Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %320,57 olarak gözlenmiştir. Aynı konsantrasyonda HPHWE15 koşulunda (protein miktarı 0,382g/l) A549 hücre hattında %191,17 hücre canlılığı, MCF7 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında hücre canlılığı %216,26, MDA-MB-231 (insan, meme, adenokarsinoma) hücre hattında %185,59 hücre canlılığı normal hücre olan Vero (Afrika yeşil maymun, böbrek epiteli)'da hücre canlılığı %316,53 olarak saptanmıştır. Protein miktarının çok az miktarda fazla olması dahi tümör hücre canlılığının azalmasını sağladığı tespit edilmiştir. Normal hücre hattında ise protein miktarının artması ile hücre canlılığı çok az miktarda düşmüştür.

Hücre modelleri üzerine literatür veri tabanında, pirinç kabuğu ekstreleri ile ilgili çok az çalışmanın olduğu görülmüş, bu çalışma sonunda, aktif ektrelerden yola çıkarak biyoaktivite rehberli izolasyon yöntemi ile akvitiden sorumlu potansiyel antikanser aktivitesi yüksek biyoaktif bileşiklerin bulunup yapılarının aydınlatılabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak akış miktarının pirinç kabuğundan elde edilecek protein miktarında önemli bir parametre olduğu, pH ve sıcaklığın değişmesi protein miktarını değiştirse de önemli bir derece değiştirmediği anlaşılmaktadır. Genellikle elde edilen protein miktarının artması ile hücre canlılığının azaldığı gözlemlenmiştir. Başka bir deyiş ile sitotoksik aktivitenin arttığı sonucuna varılmıştır. IC_{50} değerlerine bakıldığında en düşük değerin HPHWE8 koşulunda A549 kanser hücre hattına karşı 1,27µG/mL değeriyle elde edildiği görülmüştür. Pozitif kontrol olan doksorubisinin A549 üzerindeki IC_{50} değeri 1,97µG/mL göz önüne alınırsa, doksorubisinden daha iyi bir sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bunu aynı koşulda 2,31µG/mL değeriyle MCF7 hücre hattı takip etmiştir. MDA-MB-231 hücre hattında ise IC_{50} değerleri 100µG/mL üzerinde çıkmıştır. Bu sonuçlar özellikle HPHWE8 koşulunda elde edilen atık pirinç kabuğu protein ekstresinin A549 ve MCF7 hücre hatları hücre hatları üzerinde gösterdiği bu sitotoksik etkinin, akciğer ve meme kanseri tedavisinde kullanımı için umut vaat ettiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

Açar İ., Pirinç Kabuğunun Zn+2 İyonu ile Yer Değişiminin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010, 274805.

Aderolu A.Z., Iyayı E. A., National Centre for Agrarian Sciences Changes in Nutritional Value of Rice Husk During Trichoderma Viride Degradation Onılude Bulgarian, *Journal of Agricultural Science*, 2007, **13,** 583-589.

Agboola S., Darren Ng., Mills D., Characterisation and Functional Properties of Australian Rice Protein İsolates, *Journal of Cereal Science*, 2005, **41**, 283–290.

Alvarez J., Lopez G., Amutio M., Bilbao J., Olazar M., Bio-oil production from Rice Husk Fast Pyrolysis in a Conical Spouted Bed Reactor, *Fuel*, 2014, **128**, 162-169.

Amagliani L., O'Regan J., Kelly A.L., O'Mahony J.A., Composition and Protein Profile Analysis of Rice Protein İngredients, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2017, **59,**18-26.

An D., Guo Y., Zou B., Zhu Y., Wang Z., A Study on the Consecutive Preparation of Silica Powders and Active Carbon from Rice Husk Ash, *Biomass and Bioenergy*, 2011, **35**, 1227 – 1234.

Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N., Omar A.K.M, Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials, *Journal of Food Engineering*, 2013, **117**, 426–436.

Bayrak E., Pirinç Kabuğu ve Pirinç Kabuğu Külü Kullanılarak Sulu Ortamdan Katyonik Boyar Madde Adsorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2008, 232806.

Behainne J. J. R., Martinez J. D.,. Performance Analysis of an Air-blown Pilot Fluidized Bed Gasifier for Rice Husk, *Energy for Sustainable Dev*., 2014, **18**, 78-82.

Butsat S., Siriamornpun S., Antioxidant Capacities and Phenolic Compounds of the Husk, Bran and Endosperm of Thai Rice, *Food Chemistry*, 2010, **119**, 606–613.

Carmen S.H., Mercedes S.H., Rocío L.R., Enrique E.R., Agustín Hilario R.R., Silica from Rice as New Drug Delivery Systems, Rice-Technology and Production, (Ed.), InTech, 2017, DOI: 10.5772/66723.

Chandrasekhar S., Satyanarayana K.G, Pramada P.N., Raghavan P., Gupta, T. N., Processing, Properties and Applications of Reactive Silica from Rice Husk-an Overview, *J. Mater. Sci*., 2003, **38**, 3159–3168.

Chen H., Wang W., Martin J.C.,. Oliphant A.J, Doerr P.A., Xu J.F., DeBorn K.M, Chen C., Sun L., Extraction of Lignocellulose and Synthesis of Porous Silica Nanoparticles from Rice Husks: A Comprehensive Utilization of Rice Husk Biomass, *ACS Sustainable Chem. Eng*., 2013, **1**, 254−259.

Chen T.J., Wu C., Liu R.H., Fei W.T., Liu S.Y.,. Effect of hot vapor filtration on the characterization of bio-oil from rice husks with fast pyrolysis in a fluidized-bed reactor, *Bioresource Technology*, 2011, **102**, 6178–6185.

Chrastil J., Zarins Z., Changes in Peptide Subunit Composition of Albumins, Globulins, Prolamins, and Oryzenin in Maturing Rice Grains, *J. Agric. Food Chem.,* 1994, **42**, 2152-2155.

Edrisi F., Salehi M., Ahmadi A., Rusta F., Mahmoodianfard S., Effects of Supplementation with Rice Husk Powder and Rice Bran on İnflammatory Factors in Overweight and Obese Adults Follawing an Energy-restricted Diet: a Randomized Controlled Trial, *Europen Journal of Nutrition*, 2018, **57**(2), 833-843.

Fernández Ledesma E., Rodríguez Acosta C., Liva Garrido M., Díaz Polanco I., Cazanave Guarnaluce D., Evaluation of Rice Husk as an Excipient for the Pharmaceutical İndustry, *J. Mater. Environ. Sci.*, 2015, **6**(1), 114-118.

Friedman M., Rice Brans, Rice Bran Oils, and Rice Hulls: Composition, Food and Industrial Uses, and Bioactivities in Humans, Animals and Cells, *J. Agric. Food Chem*. 2013, **61**, 10626−10641.

Gültekin S., Kaya E., Yavuz C., Celiktas M.S, Optimization of rice husk Pretreatment Using Pressurized Liquid Hot Water Under Subcritical Conditions, *World Sustainable Energy Days*, At Wels, Austria, 25-27 Şubat 2015.

Huang S.T., Chen C.T., Chieng K.T., Hunag S.H., Chiang B.H., Inhibitory Effects of a Rice Hull Constituent on Tumor Necrosis Factor α, Prostaglandin E2, and Cyclooxygenase-2 Production in Lipopolysaccharide-activated Mouse Macrophages, *Ann NY Acad Sci.*, 2005, **1042**, 387–395.

Jeon K.I., Park E.J., Park H.R., Jeon Y.J., Cha S.H., Lee S.C., Antioxidant Activity of Far-infrared Radiated Rice Hull Extracts on Reactive Oxygen Species Scavenging and Oxidative DNA Damage in Human Lymphocytes, *J Med Food*, 2006, **9**, 42-48.

Jesudoss S.K, Vijaya J.J., Kaviyarasu K., Jothi Ramalingam R., Al-Lohedan H.A., Anticancer Activity of Hierarchical ZSM-5 Zeolites Synhesized from Rice-based Waste Materials, *RSC advances*, 2018, **8**(1), 481-490.

Juliano, B. O., Rice in Human Nutrition, FAO and IRRI, Rome, 1993.

Kim D.J., Oh S.K., Chun A., Yu K.W., Kim Y.K., Evaluation of Biological Activies ef Rice Husk Extract, *Journal of Food Science and Nutrition*, 2011,**16**(2), 179-183.
Kim S.J., Park H.R., Park E., Lee S.C., Cytotoxic and Antitumor Activity of Momilactone B from Rice Hulls, *J Agric Food Chem*, 2007, **55**, 1702-1706.

Kronholm J., Hartonen K., Riekkola M.L., Analytical Extractions with Water at Elevated Temperatures and Pressures, *Trends in Analytical Chemistry*, 2007, **26**(5), 396-412.

Kumar S., Sangwan P., Dhankhar R., Mor V., Bidra S., Utilization of Rice Husk and Their Ash: A Review, Res. *J. Chem. Env. Sci.*, 2013, **1**(5), 126-129.

Lee S.C., Chung I.M., Jin Y.J., Momilactone B, an Allelochemical of Rice Hulls, İnduces Apoptosis on Human Lymphoma Cells (Jurkat) in a Micromolar Concentration, *Nutrition and Cancer*, 2008, **60**(4), 542–551.

Mansaray K.G., Ghaly A. E., Physical and Thermochemical Properties of Rice Husk, *Energy Sources*, 1997, **19**(9), 989-1004.

Nakilcioğlu E., Ötles S., Basınçlı Çözgen Ekstraksiyonu ve Gıda Sanayiindeki Uygulamaları, *Akademik Gıda*, 2014, **12**(2), 88-94.

Nguyen T.T., Investigation of the Potential of Rice Husk-based Power Plants and a Pre-feasibility Assessment of Possible Plants in the An Giang Province, Vietnam, Department of Energy and Environment, Chalmers Unıversıty of Technology, Göteborg, Sweden, 2014.

Ollanketo M., Peltoketo A., Hartonen K., Hiltunen R., Riekkola M.L, Extraction of Sage (Salvia officinalis L.) by Pressurized Hot Waterand Conventional Methods: Antioxidant Activity of the Extracts, *Eur Food Res Technol*, 2002, **215**,158–163.

Ong E.S, Cheong J.S, Goh D., Pressurized Hot Water Extraction of Bioactive or Marker Compounds in Botanicals and Medicinal Plant Materials, *Journal of Chromatography A*, 2006, **1112**, 92–102.

Paredes–Lopez O., Cervantes–Ceja ML., Vigna–Perez M., Berries: İmproving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life a Review, *Plant Foods Hum Nutr*., 2010, **65**, 299-308.

Pe´rez J., Mun˜oz-Dorado J., de la Rubia T., Martı´nez J., Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: an Overview, *Int Microbiol*., 2002, **5**(2):53-63.

Phaiboonsilpa, N., Ogura, M., Yamauchi, K., Rabemanolontsoa, H., Saka S., Two-step Hydrolysis of Rice (Oryza sativa) Husk as Treated by Semi-flow Hot-Compressed Water, *Industrial Crops and Products*, 2013. **49**, 484-491.

Phuong T., Tran T., Bénézet J.C., Bergeret A., Rice and Einkorn Wheat Husks Reinforced Poly(lactic acid) (PLA) Biocomposites: Effects of Alkaline and Silane Surfacetreatments of Husks, *Industrial Crops and Products*, 2014, **58**,111–124.

Pode R., Potential Applications of Rice Husk Ash Waste from Rice Husk Biomass Power Plant, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2016, **53,** 1468–1485.

Qiang L., Xu-lai Y., Xi-feng Z., Analysis on Chemical and Physical Properties of Bio-oil Pyrolyzed from Rice Husk, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 2008, **82**, 191–198.

Roy P., Orikasa T., Okadome H., Nakamura N., Shiina T., Processing Conditions, Rice Properties, Health and Environment, *Int. J. Environ. Res. Public Health,* 2011, **8**, 1957-1976.

Salantı A., Zoıa L., Orlandı M., Zanını F., Elegır G., Structural Characterization and Antioxidant Activity Evaluation of Lignins from Rice Husk, *J. Agric. Food Chem*, 2010, **58**, 10049–10055.

Shih, F.F.,An Update on the Processing of High-protein Rice Products, *Nahrung/ Food*, 2003, **47**, 420–424.

Tan B.L., Norhaizan M.E., Scientific Evidence of Rice By-Products for Cancer Prevention: Chemopreventive Properties of Waste Products from Rice Milling on Carcinogenesis In Vitro and In Vivo, *BioMed Research International*, DOI:10.1155/2017/9017902.

Teo C.C., Tan S.N., Hong Yong J.W., Choy Sin Hew C.S., Ong E.S., Pressurized hot Water Extraction (PHWE), *J. Chromatogr. A.*, 2010, **1217**, 2484–2494.

Topal T., Ş. Öter., A. Korkmaz.; Gülhane Askeri Tıp Akademisi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Melatonin ve Kanserle İlişkisi, *Genel Tıp Dergisi*, 2009, **19(**3), 137-143.

URL-1: http://eol.org/pages/1115098/overview (Ziyaret tarihi: 26 Şubat 2018)

URL-2:https://www.videvo.net/stock-video-footage/paddy%20field/ (Ziyaret tarihi: 19 Mayıs 2018)

URL-3:http://www.pelletmillshop.com/Rice-Husk-Pellet-Mill-Ash-Content.html (Ziyaret tarihi: 07 Nisan 2018)

URL-4:https://www.organicfacts.net/health-benefits/cereal/health-benefitsofrice.html (Ziyaret tarihi: 09 Mart 2018)

URL-5:http://chartsbin.com/view/1009 (Ziyaret tarihi: 22 Nisan 2018)

URL-6:http://sciencemeetsfood.org/rice-science-101-introduction-making-great-rice-home/ (Ziyaret tarihi: 19Mayıs2018)

URL-7: http://botanyphoto.botanicalgarden.ubc.ca/2005/11/oryza-sativa/ (Ziyaret tarihi: 19 Mayıs 2018)

Umadevi M., Pushpa R., Sampathkumar K.P., Bhowmik D., Rice-Traditional Medicinal Plant in India, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2012, **1**(1), 6-12 .

Yaman K., Bitkisel Atıkların Değerlendirilmesi ve Ekonomik Önemi, Kastamonu Üni., *Orman Fakültesi Dergisi*, 2012, **12** (2): 339-348.

Yazıcı E., Çiçekgil Z., Durum ve Tahmin Pirinç 2016/2017, *Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü*, Tepge Yayın NO: 281, 2016.

YinOoi S., Ahmad I., Mohdamin M.C.I, Cellulose Nanocrystals Extracted from Rice Husks as a Reinforcing Material in Gelatin Hydrogels for use in Controlled Drug Delivery Systems, *Industrial Crops and Products*,2016, **93**(25), 227-234.

Varol D., Pirin Kabuğu Külünden Magnezyum Silikat Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2006, 222746.

Zaid A.A., Taiwo O.G.,Comparative Utilization of Biodegraded Rice Husk in the Diets of Clarias Gariepinus, *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 2008, **3**, 312-319.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Barulay V., Budak G., Yesil-Celiktas O., Sevimli-Gür C., Research on Cytotoxic Effects of Waste Rice Husk Biomass on Various Tumor Cell Lines by Using Bioassay Guided Extraction Optimization, *EurasianBioChem*, Ankara, Türkiye, 26-27 Nisan 2018.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Bingöl'de doğmuş olup aynı yıl içerisinde ailesiyle Kocaeli' ye göç etti. İlköğrenimini Gebze Pelitli İlköğretim Okulunda tamamladı. Liseyi Gebze Sarkuysan Lisesinde 2004 yılında tamamladı. 2007 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı. 2011 yılında mezun oldu. 2011-2012 yılında Pedagolojik Formasyon eğitimi aldı. 2012 yılı bahar döneminde Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji bölümü Tezli yüksek lisans programını kazandı. Halen Gebze Sosyal Yardımlaşma ve Dayanışma Vakfı'ında Sosyal Yardım ve İnceleme Görevlisi olarak çalışmaktadır. Evli ve Fatma Zehra adında bir kızı vardır.