

ULTRASON DESTEKLİ ELMA ATIK ÖZÜTLERİNİN BAZI BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ

Hülya Şen Arslan*

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Karaman, Türkiye

Geliş/Received: 13.06.2023; Kabul /Accepted: 29.08.2023; Online baskı /Published online: 05.09.2023

Şen Arslan, H. (2023). Ultrason destekli elma atık özütlerinin bazı biyoaktif özellikleri. GIDA (2023) 48 (5) 972-980 doi: 10.15237/gida.GD23070

Şen Arslan, H. (2023) Some bioactive properties of ultrasound supported apple waste extracts. GIDA (2023) 48 (5) 972-980 doi: 10.15237/gida.GD23070

ÖZ

Araştırmada elma atıklarının (yaprak, kabuk, posa) ultrason destekli su banyosunda 40 °C, %50 (333W) güç ve 2 saat sürede metanol ile alınan özütlerinin toplam fenolik madde miktarı (TFMM), antioksidan aktivitesi, *E. faecalis* ve *S. mutans* inhibisyonu ve kolon kanser hücresi üzerine etkisi araştırılmıştır. Özütler içinde TFMM bakımından en yüksek değer yaprağa (104.72 mg/g) aittir. Atıkların antioksidan aktivitesi hem DPPH hem de ABTS yöntemiyle değerlendirilmiş ve her iki yöntemde de özütlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Özütlerin patojenler üzerine antimikrobiyal aktivitesi olduğu bulunmuştur. Ayrıca; yaprak ve kabuk özütlerinin *E. faecalis*'e karşı posaya göre daha fazla inhibisyon potansiyeli olduğu görülmüştür. *S. mutans* üzerine en yüksek etkiyi ise yaprak özütleri göstermiştir. Çalışmada kullanılan kolon kanser (HT-29) hücresini özütlerin baskıladığı sonucuna varılmıştır. Sonuçlar, elma atıklarından ultrason ile alınan özütlerin patojen mikroorganizmalar ve kolon kanser hücresi üzerine inhibisyon aktivitesini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Antikanserojen, fenolik, kabuk, posa, yaprak

SOME BIOACTIVE PROPERTIES OF ULTRASOUND SUPPORTED APPLE WASTE EXTRACTS

ABSTRACT

In the study, extracts of apple waste were taken in an ultrasound assisted water bath at 40 °C, 50% (333W) power and 2 hours with methanol. The total phenolic content (TFMM) and antioxidant activity of these extracts; *E. faecalis* and *S. mutans* inhibition and its effect on colon cancer were investigated. Among the extracts, the highest value in terms of TFMM belongs to the leaf (104.72 mg/g). The antioxidant activity of the wastes was evaluated by both DPPH and ABTS methods, and it was found that the extracts had high antioxidant activity in both methods. The extracts were found to have antimicrobial activity on pathogens. Moreover; It was observed that leaf and peel extracts had more inhibition potential against *E. faecalis* than pulp. Leaf extracts showed the highest effect on *S. mutans*. It was concluded that the extracts used in the study suppressed colon cancer (HT-29) cells.

Key words: Anticancer, phenolic, peel, pulp, leaf

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: hsenarlan@kmu.edu.tr

☎: (+90) 0332 226 2000-5453

Hülya Şen Arslan; ORCID no: 0000-0003-0116-9062

GİRİŞ

Elma, güçlü anti-enflamatuar etkileri ve kronik hastalıkları önleme yeteneği yüksek olan insan sağlığına faydalı çeşitli besinler içerir (Samanta vd., 2023). Bunlar arasında C vitamini, çözünür lif ve farklı polifenoller (flavanoller, flavonoller, floridzin, prosiyanidin, klorojenik asit, antosiyanin) bulunur (Weichselbaum vd., 2010). Günümüzde elma posasından (kabuklar, tohumlar, çekirdek, sap ve kaliks) fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu büyük ilgi görmektedir (Kruczek vd., 2023). Atıkların değerlendirilmesi ve sürdürülebilir gıda üretimi, gıda endüstrisinde dikkat edilmesi gereken önemli noktalardır. Gıda endüstrisi, başka amaçlar için kullanılmak üzere muazzam bir potansiyele sahip olan büyük miktarda doğal yan ürün oluşturmaktadır (Putra vd., 2023). Ayrıca tüketicilerin doğal ürünler konusunda bilinçlenmesi, bu değerli yan ürünlerin kullanımına yönelik büyük ilgiye yol açmıştır. Elma posası, elma suyunun veya elma şarabı üretiminin endüstriyel olarak işlenmesinden kaynaklanan katı atık ürünüdür ve potansiyel bir gıda antioksidan kaynağı olarak kabul edilebilir (Wu vd., 2023). Elmanın meyve suyu veya elma şarabına işlenmesinden sonra elmadan yaklaşık olarak %30 oranında atık çıkmaktadır. Küresel olarak elma posası olarak bilinen meyvenin posası, kabuğu, tohumları ve sapından oluşan 3,5 milyon ton kadarını temsil etmektedir (Teshome vd., 2023). Bu yan ürüne değer katmak için ekonomik fayda sağlamanın yanı sıra hayvan yemi, pektin geri kazanımı, enzim, etanol ve sitrik asit üretimi gibi verimli atık yönetimi stratejileri sağlayan farklı işlemler yapılmaktadır (Wani vd., 2023).

Bitki ürünlerinden polifenol ekstraksiyonunun farklı yöntemleri arasında geleneksel çözgen ekstraksiyonu enzimatik, ultrason, mikrodalga, atımlı elektrik alanları ve diğer işlemlerle desteklenen ekstraksiyonlar yer alır. (Acosta-Estrada vd., 2014; Barba vd., 2015; Caballero-Valdés vd., 2016; Ameer, 2017). Fenolik bileşiklerin etkinliğini artırmak için, ultrason birçok araştırmacı tarafından başarıyla uygulanmış ve minimum sürede daha iyi ekstraksiyon verimi elde edilmiştir (Avhad vd., 2014; Zhang vd., 2017). Ultrason, prob sonikatör veya banyo sonikatör cihazı kullanılarak doğrudan veya

dolaylı yöntemde çalıştırılır (Panadare ve Rathod, 2017). Ultrason daha önce elmalardan polifenol ekstraksiyonu için kullanılmıştır (Buvaneshwaran vd., 2023; Assefi vd., 2023; Gao vd., 2023). Tüm bu yaklaşımların ve sonuçların ışığı altında mevcut çalışmada; elma atıklarından %80'lik metanol ile ultrason destekli alınan özütlerin toplam fenolik madde miktarını (TFMM) belirlemek ve özütlerin antioksidan, antikanserojen ve antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL YÖNTEM

Materyal

Araştırmada *Galaxy Gala* elma ve yaprakları Karaman ilinde bulunan ağaçlardan Ekim ayının ilk haftası toplanıp Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvara getirilen elmalar kaba kirlerinden uzaklaştırmak için yıkanmıştır. Elmaların yaprağı ayrılıp ve kabuğu soyulduktan sonra katı meyve sıkacağı (Bosch, Germany) kullanılarak meyve suyu ve posa çıkarılmıştır. Posa, yaprak ve kabuklar (-18°C)'de 2 saat süreyle dondurulmuştur. Dondurulmuş numuneler liyofilizatörde (ScanvacCoolSafe 4-15 L Freeze Dreyer 95/55-80, Lyngø, Danimarka) (-101°C)'de %8 nem içeriğine kadar düşmesi için 3 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnekler toz haline getirilinceye kadar öğütülmüştür ve bekleme olmadan ekstraksiyon işlemine alınmıştır.

Yöntem

Ekstraksiyon Koşulları

20 g toz haline getirilmiş elma atıklarına 100 ml %80'lik metanol ilave edilmiştir. Ekstraksiyon koşulları İlbaý vd. (2013) tarafından yapılan çalışmanın elma atıklarına göre modifiye edilmesiyle sıcaklık 40 °C, güç %50 (333W) ve süre 2 saat olarak belirlenmiştir. Ultrasonik su banyosunun (Wiseclean, WUC-D10H, Kore) özütleme işlemi boyunca 40 °C'de sabit kalması sağlanmıştır. Özütler Whatman 1 filtre kâğıdından geçirilerek süzüntü elde edilmiştir. Elde edilen süzüntüler analiz süresine kadar -18 °C'de depolanmıştır.

Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Özütlerin toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi (Singleton ve Rossi, 1965). Baştan, 0.4 ml seyreltilmiş örneklere 2 ml folin reaktifi (0.2 N) eklenmiştir. Bundan sonra, 1.6 ml sodyum karbonat çözeltisi (%7.5) eklenmiştir. Kararıklıkta oda sıcaklığında 1 saat reaksiyondan sonra UV-spektrofotometre kullanılarak 765 nm'de örneklerin absorbanları ölçülmüştür. TFMM belirlenirken kullanılan standart bileşimin Folin&Ciocalteu reaktifi ile tepkimesi ifade edilen standart fenolik bileşiğe göre farklı düzeylerde olmaktadır. Bu amaçla TFMM, elma atıklarının gramı başına miligram gallik asit eşdeğeri (mg GAE) olarak ifade edilmiştir.

DPPH radikal süpürücü aktivitesi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi (Blois, 1958)'e göre ölçülmüştür. 0.1 ml seyreltilmiş numune, 3.9 ml DPPH metanol çözeltisine (0.1 mM) ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika kararıklıkta inkübe edilmiştir. Absorbans, UV-spektrofotometre kullanılarak 517 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar, elma atıklarının gramı başına mg TROLOX eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

ABTS⁺ radikal katyon süpürücü aktivite

ABTS⁺ (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfürük asit) metodu minör modifikasyonu ile (Miller vd., 1993) göre yapılmıştır. ABTS+ çözeltisi oda sıcaklığında (12-16 saat) inkübe edildi, ayrıca, her analiz için taze ABTS⁺ çözeltisi hazırlanmıştır. Analizden önce, ABTS⁺, başlangıçta ABTS⁺'nin absorbanı olarak kabul edilen PBS (fosfat tamponlu salin) ile 0.700 ± 0.02 arasında absorbanı ayarlanmıştır. 2 ml ABTS⁺'ye 20, 40, 60, 80 µl seyreltilmiş örnek eklenmesi üzerine, sonra karışım oda sıcaklığında 6 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Absorbans UV-spektrofotometre kullanılarak 734 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar, elma atıkları g¹ başına (mg) TROLOX eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

Antibakteriyel aktivite

3 farklı özütün MİK'ini (minimum inhibitör konsantrasyonu) belirlemek için mikrodilüsyon su yöntemi kullanılmıştır. *S. mutans* ve *E. faecalis* 12

saat inkübasyona bırakılarak 10⁶ koloni oluşturan birime (CFU/mL) ayarlanmıştır. MUELLER-HINTON besiyerinde bu 3 farklı özüt hazırlanmıştır. 96 gözlü steril plakalarda, 100 uL bakteri süspansiyonu içeren kuyuya özütlerin her birinden 5 farklı miktarda (2-10 µL) eklenmiştir. Her test için üçlü tekrar yapılmıştır. Negatif kontrol olarak kültür ortamı ve bakteri içeren hazneler kullanılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra tüm kuyucuklarda bulanıklık ölçümleri yapılmıştır. Bakterilerin gelişmesi, bir mikropilaka okuyucu kullanılarak 600 nm'de ölçülmüştür (Bayat vd., 2023).

Antikanserojen aktivite

3 farklı özütün epitelyal ve kanser hücre dizilerindeki (L929 ve HT-29) sitotoksitesi, Alamar blue testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücreler DMEM ortamında 37°C'de %5 CO₂ atmosferinde büyütülmüştür. Her hücre hattında, 10000 hücre büyütüldükten sonra toplanmış ve 96 oyuklu bir hücre kültürü plakasına yerleştirilmiştir. Hücreler daha sonra 24 saat boyunca 5 farklı miktarlarda (1-5 µL) numuneler (ekstraktlar) ile inkübe edilmiştir. Numuneler üç tekrar halinde hazırlanmış ve negatif kontrol oyukları olarak sadece hücreler kullanılmıştır. 24 saatlik 37 °C'de steril kabinde inkübasyonun ardından boşluklara Alamar blue reaktifi (1:10, v/v) eklenmiş ve 4 saat daha inkübe edilmiştir. Daha sonra 570 nm ve 600 nm'de spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Her numunenin hücre yaşayabilirliği hesaplanarak ve kontrol oyuklarının %100 olduğu kabul edilmiştir (Yılmaz vd., 2020; Yılmaz 2022).

İstatistik analiz

Metot kısmında bahsedilen analizlerden elde edilen sonuçlar One-Way Anova varyans analizleri SPSS 22 (IBM Corp., Armonk, New York, USA) istatistik programında yürütülmüştür. Aynı programda ortalamalar arasındaki farklılıklar ise Tukey çoklu karşılaştırma testi ile $P < 0.05$ önem düzeyinde test edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA **Toplam Fenolik Madde Miktarı**

Fenolik bileşikler, ikincil metabolitlerin önemli bir bölümünü oluşturur ve bununla birlikte insan

sağlığını destekleyen antioksidanlara önemli katkı sağlar. Elma fenolik bileşiklerce zengin meyve türleri arasında yer almaktadır. Elma içerdiği fenolik bileşikler sayesinde kolesterol, kalp hastalıkları, kanser ve astım gibi birçok hastalığın

önlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Vallée Marcotte vd., 2022; Maheshwari vd., 2022). Elma atıklarından ultrason destekli metanol ile alınan özütlerin toplam fenolik madde miktarı (TFMM) gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden Çizelge 1’ de verilmiştir.

Çizelge 1. Ultrason destekli elma atık özütlerinin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri

Örnekler	TFMM (mg GAE/g)	DPPH (mg TEAC/g)	ABTS (mg TEAC/g)
Posa	5.58 ^c ±0.12	1.25 ^c ±0.12	2.32 ^c ±0.15
Kabuk	34.23 ^b ±1.58	5.58 ^b ±0.75	65.00 ^b ±2.25
Yaprak	104.72 ^a ±1.75	11.76 ^a ±0.96	154.69 ^a ±4.74

(TFMM: Toplam fenolik madde miktarı, TEAC: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite, GAE: Gallik asit eşdeğeri, 3 tekrarlı verilerin ortalamalarının Tukey HSD testi ile karşılaştırılması sonucu oluşan gruplar ortalamalar üzerinde harfle belirtilmiştir. Farklı harfler ortalamalar arasında önemli fark olduğunu göstermektedir $P < 0.05$.)

(TFMM: Total phenolic substance amount, TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity, GAE: Gallic acid equivalent, the groups formed as a result of the comparison of the averages of the 3-replication data with the Tukey HSD test are indicated with letters on the averages. Different letters indicate that there is a significant difference between the averages $P < 0.05$.)

Çizelge 1’e göre özütlerin TFMM bakımından özütlerin aralarında istatistiki olarak önemli fark ($P < 0.05$) olduğu bulunmuştur. Özütler içinde yaprağın en yüksek TFMM değerine (104.72 mg GAE/g) sahip olduğu bulunmuştur. Kabuğun fenolik madde miktarı 34.23 mg GAE/g olarak; posanınki 5.58 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Farklı bitki kısımlarında polifenol biyosentezinin genetik kontrol altında olması beklenmektedir. Bununla birlikte, biyotik ve abiyotik stresler, fenolik içeriklerdeki mevsimsel ve yıllık değişimlere dahil olabilir (Bujor vd. 2018). Bujor vd. (2016) yaban mevsiminin yaprağı ve gövdesini incelediği çalışmada yaprağın 4 kat daha fazla fenolik bileşiğe sahip olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada da elma yaprağı özütünün kabuk ve posa özütlerine göre daha yüksek miktarda TFMM’ye sahip olduğu bulunmuştur.

Carpes vd. (2022) doğrudan elma posasında yapılan analizlerde TFMM’yi 11.42 mg GAE/g olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada bulunan sonuçlarla kıyaslandığında kullanılan elma çeşitlerinin ve ekstraksiyon koşullarının farklılığının TFMM’yi etkilediği söylenebilir. Örneğin başka bir çalışmada Zhang vd. (2016),

Golden Delicious cinsi elma kabuk ekstraktlarının 2.87 mg GAE/g değerleri ile bu çalışmada bildirilenlerden daha düşük TFMM’ye sahip olduğunu bildirmiştir. Lyu vd.’ye göre (2020) elma özleri, esas olarak fenolik ailesine ait klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit sinapik asit, p-kumaroil-kinik asit gibi biyoaktif bileşiklere sahiptir.

Antioksidan Aktivite

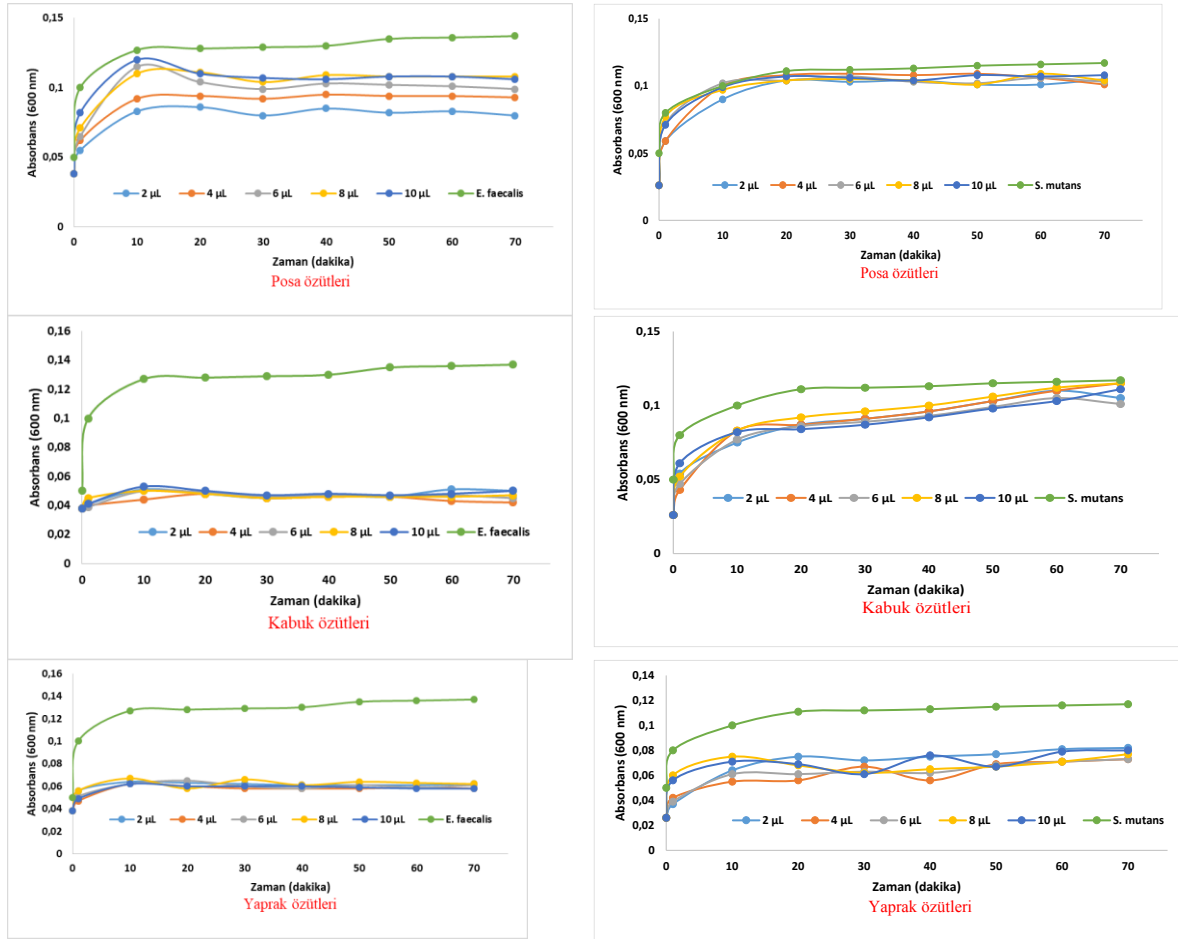
Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hastalık riskini azaltmada önemli bir rol oynamaktadır (Valko vd, 2007). Meyvede bulunan bazı antioksidanların kalp hastalıkları, kanser ve alzheimer hastalığını önlemede etkili olduğu bildirilmiştir (Kaur ve Kapoor, 2001; Boyer ve Liu, 2004; Özdemir vd, 2022). Antioksidan aktivite açısından incelenen özütler arasındaki fark ($P < 0.05$) önemli bulunmuştur. Atıkların antioksidan aktivitesi hem DPPH hem de ABTS yöntemiyle değerlendirilmiş ve hem DPPH (11.76 mg TEAC/g) hem de ABTS (154.69 mg TEAC/g) yönteminde en yüksek antioksidan aktivite yaprak özütlerinde görülmüştür. Antioksidan aktivite bakımından yaprağı sırasıyla kabuk ve posa özütleri izlemiştir (Çizelge 1).

Ultrasonun kavitasyon etkisiyle fenolikler ve askorbik asit gibi antioksidan özellik gösteren bileşiklerin ekstraksiyonunun artışı neden olduğu bilinmektedir. Sonikasyonun polifenol oksidazlar gibi oksidasyonla ilgili bazı enzimlerin inaktivasyonu sağlayarak meyve ve sebzelerde toplam antioksidan kapasite değerinde artış

meydana geldiği bildirilmiştir (Uğurlu ve Bakkalbaşı, 2023).

Antibakteriyel Aktivite

Ultrason destekli elma atık özütlerinin *S. mutans* ve *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri mikrodilüsyon su yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Antibakteriyel test sonucunda elde edilen bakteri artış sonuçları Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1: Elma özütlerinin zamana bağlı olarak patojenlerin gelişmesi üzerine etkisi

Figure 1: Effect of apple extracts on the development of pathogens over time

Yaprak ve kabuk özütlerinin *E. faecalis*'e karşı posa özütüne göre daha fazla inhibisyon potansiyeli olduğu görülmüştür. *S. mutans* üzerine en yüksek etkiyi ise yaprak özütleri göstermiştir (Şekil 1). Bakteriyel gelişme ortamına değişen miktarlarda (2-10 µL) eklenmesi, bakteriyel gelişmede bir azalmaya neden olmuştur. Miktar artışına bağlı olarak *S. mutans* ve *E. faecalis* bakterilerinin

gelişmesi azalmıştır. İki patojen bakteri de Gram pozitif olmasına rağmen elma atıklarının ultrason destekli ekstraktlarının *E. faecalis*'in inhibisyonuna karşı daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.

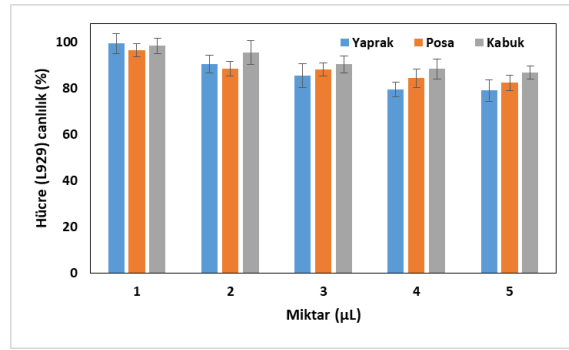
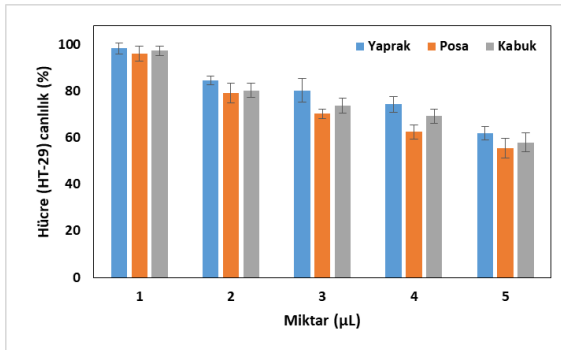
Riaz vd. (2018), elma kabuğundan elde edilen polifenollerin konsantrasyonuna bağlı olarak antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu

bildirmiştir. Zhang vd. (2016), elma posasının etil asetat ekstraktlarında sırasıyla 1.25 mg/ml ve 2.50 mg/ml MIC ile *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir. Antibakteriyel aktivite, esas olarak, aralarında floridzin, floretin, prosiyanidin ve kuersetin türevleri bulunan birkaç flavonoidin varlığına bağlanmaktadır. Ayrıca Shahbazi (2017), İran elma çeşitleri *Malus pumila*'nın seskiterpenlerinin, özellikle *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus*'a karşı antimikrobiyal ajan olarak önemli bir role sahip olduğunu belirtmiştir.

Antikanserojen Aktivite

Çalışmada kullanılan farklı miktarlardaki (1, 2, 3, 4, 5 µl) elma yaprağı, kabuğu ve posa özütleri üzerinde 24 saat süre ile L929 ve HT-29 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi için sitotoksosite testi yapılmıştır. Özütlerin L929 ve HT-29 hücrelerinde 1-5 µl miktar aralığında 24 saatlik inkübasyon sonrası Alamar mavisi yöntemi ile ölçülen hücre canlılığı üzerine etkileri Şekil 2'de gösterilmiştir. Özütlerin her biri artan konsantrasyonla birlikte sitotoksitesisi de

artmıştır. Bu yöntem, Alamar mavisi (resazurin) ismi verilen bileşiğin, canlı hücreler ile beraber resorufin bileşiğine dönüşmesiyle gerçekleşmiştir. Oksidatif şekilde bulunan mavi renkteki resazurin bir redoks boyası olarak bilinir, hücre zarından serbest bir şekilde geçerek hücreye giriş sağlar ve burada indirgenip floresans özelliği olan pembe renkteki resorufin bileşiğine dönüştüğü görülmüştür (Yılmaz vd., 2020). Ölü hücreler, metabolik aktivitelerini kaybettiği için resazurini indirgeyememiş ve floresans sinyali oluşturamamıştır. Canlı hücreler tarafından resazurinin resorufine dönüşmesiyle meydana gelen sinyaller, florometre kullanımı ile tespit edilmiş ve kaydedilmiştir. Posa ve kabuk özütlerinin kolon kanser (HT-29) hücresinde sırasıyla %44 ve %42 ölüme neden olduğu yaprak özütünün ise %38 ölüme neden olduğu görülmüştür. Aynı zamanda L929 sağlıklı hücre hattında bu ölüm oranının daha az olması (yaklaşık %15) elma atığı özütlerinin doğal antikanser ajan olarak kullanılabilirliğini göstermiştir.



Şekil 2: HT-29 ve L929 hücrelerinin sitotoksosite testi ile belirlenen yüzde canlılıkları

Figure 2: Percent viability of HT-29 and L929 cells as determined by cytotoxicity testing

Elma kabuklarından klasik yöntemle aseton ile alınan ekstraktların meme kanser hücrelerinin gelişimini azalttığı ile ilgili çalışmalar yapılmış ve meyve-sebze tüketimi meme kanserinin gelişme riskini azalttığı savunulmuştur (Sair vd., 2023). Daha önce yapılan çalışmalar, kronik hastalıklar üzerindeki potansiyel mekanizmaları için çeşitli bitki kaynaklarından izole edilen spesifik bileşikler araştırılmaya odaklanmıştır. Bununla birlikte, birkaç klinik çalışma, spesifik fitokimyasallarında antikanser özellik gösterdiğini

ortaya koymuştur (Valicente vd., 2023; Didier vd., 2023; Liao vd., 2023). Elmalar, batı diyetinde meyve fenolik tüketiminin %33'üne katkıda bulunur (Wolfe vd., 2008). Birkaç çalışma, elma özlerinin insan karaciğer kanseri HepG2 hücrelerinde, insan meme kanseri MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde ve insan kolon kanseri hücrelerinde hücresel proliferasyonu baskıladığını göstermiştir (He ve Liu, 2007; Wolfe vd., 2008; Sun vd., 2008). Çalışmamızda, elma yaprak, kabuğu ve posa özlerinin, insan kolon

kanseri hücrelerinin (HT-29) çoğalmasını başarıyla bastırdığı gözlemlenmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada, elma yaprağı, posası ve kabuklarından ultrasonik su banyosunda %80' lik metanol ile elde edilen özütlerin fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Ayrıca özütlerin kolon kanseri hücrelerini baskıladığı, *E. faecalis* ve *S. mutans*' ı inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Elma atıklarından yaprağın toplam fenolik ve antioksidan içeriklerinin posa ve kabuğa göre daha yüksek miktarda olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, elma meyvesinin posası, kabuğu ve yaprağı gıda endüstrisi tarafından doğal fonksiyonel bir bileşik olarak kullanılabilirliği tavsiye edilmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar bu makalede, diğer kişiler ve kurumlar arasında herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

TEŞEKKÜR

Antikanserojen aktivite testi için gerekli olan hücre kültür ortamını sağlayan ve bu analiz için gerekli cihazların kullanılmasında ve desteklerinden dolayı Bahar Yılmaz Altınok'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46–55.

Ameer, K., Shahbaz, H. M., Kwon, J.-H. (2017). Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 295–315.

Assefi, M., Lewandowski, K. U., Nankali, S., Sharafshah, A. (2023). *Antioxidants Sources*.

Avhad, D. N., Niphadkar, S. S., Rathod, V. K. (2014). Ultrasound assisted three phase partitioning of a fibrinolytic enzyme. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 628-633.

Barba, F. J., Parniakov, O., Pereira, S. A., Wiktor, A., Grimi, N., Boussetta, N., et al. (2015). Current

applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Research International*, 77, 773–798.

Bayat, R., Akin, M., Yilmaz, B., Bekmezci, M., Bayrakci, M., Sen, F. (2023). Biogenic platinum based nanoparticles: Synthesis, characterization and their applications for cell cytotoxic, antibacterial effect, and direct alcohol fuel cells. *Chemical Engineering Journal Advances*, 14, 100471.

Bolis M.S., (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical.

Boyer, J., Liu, R.H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3(1), 1-15.

Buvaneshwaran, M., Radhakrishnan, M., Natarajan, V. (2023). Influence of ultrasound-assisted extraction techniques on the valorization of agro-based industrial organic waste—A review. *Journal of Food Process Engineering*, 46(6), e14012.

Bujor, O. C., Ginies, C., Popa, V. I., & Dufour, C. (2018). Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. *Food Chemistry*, 252, 356-365.

Bujor, O. C., Le Bourvellec, C., Volf, I., Popa, V. I., & Dufour, C. (2016). Seasonal variations of the phenolic constituents in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves, stems and fruits, and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 213, 58-68.

Caballero-Valdés, E., Olivares-Miralles, A., Soto-Maldonado, C., & Zúñiga-Hansen, M. E. (2016). Advances in technologies for producing food-relevant polyphenols. In J. R.V.-S. J. R. Cuevas Valenzuela Jose, & Pérez-Correa (Eds.). *Advances in Technologies for producing food-relevant polyphenols* (pp. 63–78).

Carpes, S. T., Bertotto, C., Bilck, A. P., Yamashita, F., Anjos, O., Siddique, M. A. B., ... Brunton, N. P. (2021). Bio-based films prepared with apple pomace: Volatiles compound composition and mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *LWT*, 144, 111241.

Didier, A. J., Stiene, J., Fang, L., Watkins, D., Dworkin, L. D., Creedon, J. F. (2023).

- Antioxidant and Anti-Tumor Effects of Dietary Vitamins A, C, and E. *Antioxidants*, 12(3), 632.
- Gao, Y., Guo, S., Zhao, Y., Ji, Q., Yun, C., Wang, S., ... Wang, H. (2023). Extraction and Preconcentration of the Main Target Polyphenols from *Empetrum nigrum* by Freeze-Ultrasonic Thawing Method Based on Synthetic Gemini Surfactant Aqueous Systems. *Food and Bioprocess Technology*, 16(4), 844-856.
- He, X., Liu, R.H. (2007). Triterpenoids isolated from apple peels have potent antiproliferative activity and may be partially responsible for apple's anticancer activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (11):4366-4370.
- İlbbay, Z., Şahin, S. ve Kırbaslar, Ş. İ. (2013). Optimisation of Ultrasound-Assisted Extraction of Rosehip (*Rosa canina* L.) with Response Surface Methodology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(11), 2804-2809.
- Kaur, C., Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. *International Journal of Food Science Technology*, 36(7), 703-725.
- Kruczek, M., Gumul, D., Korus, A., Buksa, K., Ziobro, R. (2023). Phenolic Compounds and Antioxidant Status of Cookies Supplemented with Apple Pomace. *Antioxidants*, 12(2), 324.
- Liao, Y. H., Chou, W. Y., Chang, C. W., Lin, M. C., Wang, C. P., Lou, P. J., Chen, T. C. (2023). Chemoprevention of oral cancer: A review and future perspectives. *Head & Neck*, 45(4), 1045-1059.
- Lyu, F., Luiz, S. F., Azeredo, D. R. P., Cruz, A. G., Ajlouni, S., Ranadheera, C. S. (2020). Apple pomace as a functional and healthy ingredient in food products: A review. *Processes*, 8, 319-333.
- Maheshwari, S., Kumar, V., Bhadauria, G., Mishra, A. (2022). Immunomodulatory potential of phytochemicals and other bioactive compounds of fruits: A review. *Food Frontiers*, 3(2), 221-238.
- Miller NJ., Rice-Evans C., Davies MJ., Gopinathan V., VE Milner A., (1993). A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and Its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. Division of Biochemistry, UMDS-Guy's Campus, London, U.K.
- Ozdemir, I.O., Tuncer, C., Solmaz, F.G., Ozturk, B. (2022). The impact of green shield bug (*Palomena prasina* [Hemiptera: Pentatomidae]) infestation on antioxidant enzyme activities in hazelnut (*Corylus avellana* L. cvs. 'Tombul,' 'Palaz' and 'Çakıldak'). *Erwerbs-Obstbau*, 65(1), 1-7.
- Panadare, D. C., Rathod, V. K. (2017). Three phase partitioning for extraction of oil: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 145-151.
- Putra, N. R., Rizkiyah, D. N., Abdul Aziz, A. H., Che Yunus, M. A., Veza, I., Harny, I., Tirta, A. (2023). Waste to Wealth of Apple Pomace Valorization by Past and Current Extraction Processes: A Review. *Sustainability*, 15(1), 830.
- Riaz, A., Lei, S., Akhtar, H. M. S., Wan, P., Chen, D., Jabbar, S., et al. (2018). Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 547-555.
- Sair, A. T., Li, Y., Zhao, W., Li, T., Liu, R. H. (2023). Anticancer activity of apple peel extracts against human breast cancer cells through insulin-like growth factor-1 signal transduction pathway. *Journal of Agriculture and Food Research*, 100507.
- Samanta, S., Chakraborty, S., Bagchi, D. (2023). Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases and the Protective Role of Natural Bioactive Components. *Journal of the American Nutrition Association*, 1-13.
- Shahbazi, Y. (2017). Antibacterial and antioxidant properties of methanolic extracts of apple (*Malus pumila*), grape (*Vitis vinifera*), pomegranate (*Punica granatum* L.) and common fig (*Ficus carica* L.) fruits. *Pharmaceutical Sciences*, 23, 308-315.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3).
- Sun, J., Liu, R.H. (2008). Apple phytochemical extracts inhibit proliferation of estrogen-dependent and estrogen-independent

- human breast cancer cells through cell cycle modulation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (24) (2008) 11661–11667.
- Teshome, E., Teka, T. A., Nandasiri, R., Rout, J. R., Harouna, D. V., Astatkie, T., Urugo, M. M. (2023). Fruit By-Products and Their Industrial Applications for Nutritional Benefits and Health Promotion: A Comprehensive Review. *Sustainability*, 15(10), 7840.
- Uğurlu, S., Bakkalbaşı, E. (2023). Yeşil Cevizlerden Ultrason Destekli Ekstraksiyon Yöntemiyle Fenolik Bileşiklerin Eldesi. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(1), 185-191.
- Valicente, V. M., Peng, C. H., Pacheco, K. N., Lin, L., Kielb, E. I., Dawoodani, E., ... Mattes, R. D. (2023). Ultra-Processed Foods and Obesity Risk: A Critical Review of Reported Mechanisms. *Advances in Nutrition*.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Vallée Marcotte, B., Verheyde, M., Pomerleau, S., Doyen, A., Couillard, C. (2022). Health benefits of apple juice consumption: A review of interventional trials on humans. *Nutrients*, 14(4), 821.
- Wani, S. M., Masoodi, F. A., Mir, S. A., Khanday, F. A. (2023). Pullulan production by *Aureobasidium pullulans* MTCC 1991 from apple pomace and its characterization. *Food Bioscience*, 51, 102254.
- Weichselbaum, E., Wyness, L., Stanner, S. (2010). Apple polyphenols and cardiovascular disease—a review of the evidence. *Nutrition Bulletin*, 35, 92–101.
- Wolfe, K.L., Kang, X. He, X., Dong, M., Zhang, Q., Liu, R.H. (2008). Cellular antioxidant activity of common fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (18): 8418–8426.
- Wu, B., Gao, K., Guo, Y., Ma, Y., Qiu, C., Song, C., Ma, H. (2023). Research progress on extraction of active components from apple processing waste. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-15.
- Yılmaz B., Bayraç A. T., Bayrakci M. (2020). Evaluation of anticancer activities of novel facile synthesized calix [n] arene sulfonamide analogs. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 190 (4): 1484-1497.
- Yılmaz, B. (2022). Release of nifedipine, furosemide, and niclosamide drugs from the biocompatible poly (HEMA) hydrogel structures. *Turkish Journal of Chemistry*, 46(5), 1710-1722.
- Yılmaz, B., Bayrac, A. T., Bayrakci, M. (2020). Evaluation of anticancer activities of novel facile synthesized calix [n] arene sulfonamide analogs. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 190, 1484-1497.
- Zhang, T., Wei, X., Miao, Z., Hassan, H., Song, Y., Fan, M. (2016). Screening for antioxidant and antibacterial activities of phenolics from Golden Delicious apple pomace. *Chemistry Central Journal*, 10, 47–55.
- Zhang, X. F., Wang, X., Luo, G. H. (2017). Ultrasound-assisted three phase partitioning of phycocyanin from *Spirulina platensis*. *European Journal of Pure and Applied Chemistry* Vol, 4(1).