

Nar kabuklarının su ve metanol ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi

Filiz UÇAN TÜRKMEN^{ID 1*}, Fatma Esen SARIGÜLLÜ ÖNALAN^{ID 2}, Hatice Aysun MERCİMEK TAKCI^{ID 1}

¹Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kilis/Türkiye

²Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yusuf Şerefoğlu Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Kilis/Türkiye

Alınış tarihi: 27 Mayıs 2021, Kabul tarihi: 12 Ekim 2022

Sorumlu yazar: Filiz UÇAN TÜRKMEN, e-posta: ucanfiliz@gmail.com

Öz

Amaç: Bu çalışmada, nar kabuğunun içerdiği fitokimyasal bileşiklerin farklı solventler kullanılarak ekstraksiyonu, antioksidan kapasitesinin araştırılması ve nar kabuklarının sanayiye kazandırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem: Su ve metanol kullanılarak 1:10 (w v⁻¹) konsantrasyonda nar kabukları ekstrakte edilmiştir. Hem fitokimyasal hem de antibakteriyel parametrelerin tespit edilebilmesi için özütler (10-100 mg mL⁻¹ konsantrasyonlarda) analizlere tabi tutulmuştur.

Araştırma Bulguları: Nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri 4.85-12.91 mg GAE g⁻¹ arasında değişiklik göstermiştir. Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı değerleri 0.131-0.65 mg RE g⁻¹ arasında değişiklik göstermiştir. Ekstraktların askorbik asit değerleri 29.42-46.35 mg L⁻¹ arasında değişiklik göstermiştir. Nar kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (% DPPH' radikal giderme aktivitesi) % 77.63-84.47 arasında değişiklik göstermiştir. En yüksek antioksidan kapasite toplam fenolik, flavonoid ve askorbik asit içeriklerinde olduğu gibi metanol ekstraktlarından elde edilmiştir. Konsantrasyon arttıkça şelatlama aktivitesi artmıştır. Ayrıca tüm ekstraktların Fe⁺² iyonlarını şelatlama aktivitelerinin standartdan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Nar kabuklarının metanolik ekstraktlarının Fe⁺² şelatlama aktivitelerinin % 49.11-72.95 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu nedenle şelatlama açısından diğer ekstraktlar ile karşılaştırıldığında en iyi ekstrakt metanoldür. Metanol ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan aktivite değerleri 20.30-20.43 µM troloks eşdeğeri 10g⁻¹, su ekstraktlarının ise 16.67-20.44 µM troloks eşdeğeri 10g⁻¹ arasında değişiklik

göstermiştir. Özütlerin herhangi bir inhibitör etkisine rastlanmamış, sadece çözücüye bağlı inhibitör etki saptanmıştır.

Sonuç: Bu sonuçlara göre, ucuz ve bol miktarda bulunan nar kabuklarının çevreye tekrar kazandırılması hem ekonomik açıdan hem de içerisinde bulunan bileşenlerden dolayı sağlık açısından büyük katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal, antioksidan, fenolik içerik, nar kabuğu, şelatlama

Investigation of antioxidant and antimicrobial properties of water and methanol extracts of pomegranate peels

Abstract

Objective: In this study, it was aimed to extract the phytochemical compounds contained in pomegranate peel using different solvents, to investigate the antioxidant capacity and to bring the pomegranate peels to the industry.

Materials and Methods: The pomegranate peels were extracted at 1:10 (w v⁻¹) concentration by using distilled water and methanol. Extracts (at concentrations of 10-100 mg mL⁻¹) were analyzed to determine both phytochemical and antibacterial parameters.

Results Total phenolics of pomegranate peel extracts ranged from 4.85 to 12.91 mg GAE g⁻¹. Total flavonoids ranged from 0.13 to 0.65 mg RE g⁻¹. Ascorbic acid values of the extracts ranged from 29.42 to 46.35 mg L⁻¹. The antioxidant activity values of the pomegranate peel extracts (DPPH' % radical scavenging activity) ranged from 77.63 to 84.47%.

The highest antioxidant capacity was obtained from methanol extracts as well as total phenolic, flavonoid and ascorbic acid contents. It was determined that the extracts used in the study showed increased chelating activity as the concentration increased. In addition, it was determined that the activity of chelating the Fe⁺² ions of all extracts was lower than the standard, Fe⁺² chelating activities of the methanolic pomegranate extracts ranged from 49.11 to 72.95%. Consequently, it is feasible to say that the best concentrate is methanol contrasted with different concentrates as far as chelation. Trolox equivalent antioxidant activity values of the methanol extracts ranged from 20.30 to 20.43 µM trolox equivalent 10g⁻¹ and the water extracts ranged from 16.67-20.44 µM trolox equivalent 10g⁻¹. There was no inhibitory effect of the extracts.

Conclusion: As a result of these results, the reintegration of cheap and abundant pomegranate peels to the environment will provide a significant contribution to the health as well as the economic components.

Keywords: Antimicrobial, antioxidant, chelating, pomegranate peel, phenolic contents

Giriş

Ticari değeri kadar kültürel önemi de bulunan nar meyvesi Lythraceae familyasının (Kinagiller) *Punica* (*Punica granatum*) cinsinden çok yıllık bir bitkidir (Gölükcü ve ark., 2005). Kültür tarihinin oldukça eskilere uzandığı ve yetiştiricilik geçmişinin 5000 yıl öncesine dayandığı bilinmektedir. İnsanlık tarihinde önemli bir yere sahip olan nar meyvesi, kültüre alınan en eski tarım ürünlerindedir (Kurt ve Şahin, 2013). Narın anavatanının Akdeniz, Batı Asya, İran olduğu ve günümüzde ise A.B.D.'nin Kaliforniya, Arizona eyaletleri, Arjantin, Çin, Afganistan, Hindistan, Arabistan, Şili, ve Kuzey Meksika'da yetiştigi bilinmektedir (Kurt ve Şahin, 2013; Gündoğdu ve ark., 2015).

Genellikle sıcak ve kurak iklimlerde yetişmekle birlikte, ülkemizde çok soğuk yöreler dışında Güney Doğu Anadolu'dan Doğu Karadeniz'e kadar, yaygın olarak hemen her bölgede yetişebilmektedir (Özkal ve Dinç, 1993). Ülkemiz nar üretim ve dikilen alan rakamları göz önüne alındığında önemli bir bölge haline gelmiştir. Ülkemizde nar yetiştiriciliği için en uygun koşulların sağlandığı bölgeler Akdeniz, Ege ve Güney Doğu Anadolu bölgeleridir (Turgut ve Seydim, 2013).

Nar, taze biçimde meyve olarak, gıda endüstrisinde ise işlenerek nar ekşisi, reçel, nar suyu, şarap, konserve gibi farklı ürünler şeklinde tüketilmektedir. Endüstride proses işlemi tamamlanan narın %50'si kabuk, çekirdek ve posa bölümleri gıda atığı şeklinde kalmaktadır. Meyvenin cinsine göre kabuk bölümü değişmekle birlikte meyvenin %33-40'ını oluşturmaktadır (Sarıca, 2011; Topkaya, 2017). Narın yenilebilir kısmı yaklaşık olarak bütün meyvenin ağırlıkça %52'sini oluşturmaktadır. Yenilebilir kısmının %78'i nar suyu geri kalan kısmı ise dane içindeki çekirdek kısmıdır (Özkal ve Dinç, 1993). Nar kabuğu ise narın yenilmeyen %48'lik kısmında bulunmaktadır. Kabuk oranının narın %40'lık bölümünü oluşturduğu söylenebilir (Seeram ve Heber, 2006).

Nar kabukları geleneksel tıpta kurt dökücü ayrıca ülser, ishal ve dizanteriyi tedavi etme amaçlı olarak kullanılmıştır (Ajaikumar ve ark., 2005). Türüne göre değişmekle birlikte narın kabuk rengi sarıdan pembeye pembeden parlak kırmızıya kadar değişebilir (Necati, 2012). Nar kabuğu bu renkleri ile antik çağlardan bu yana boya maddesi olarak kullanılmaktadır. Deri işleme endüstrisinde, çinko zehirlenmelerinin önlenmesinde ve meyve sularının durultulmasında sıklıkla kullanılan tanenin nar kabuğunda zenginliği dikkat çekmektedir. Hem nar kabuğu hem de nar çiçeklerinden mürekkep ve boya imalinde yararlanıldığı bilinmektedir (Yılmaz, 2005). Meyve sanayisi atıklarının önemli bir bölümünü oluşturan kabuk ve çekirdeklerin fenolik bileşenler bakımından zengin bir kaynak oluşturduğu bilinmektedir. Narın kabuk kısmında bulunan fenoliklerin yenilebilir bölümündekilerin 10 katı kadarını oluşturduğu belirlenmiştir. Açığa çıkan bu sonuçlar var olan gıda kaynaklarımızın daha randımanlı değerlendirilmesinde ve çevre kirliliği dikkate alındığında nar kabuğu gibi katma değeri yüksek atık ürünlerinin nasıl değerlendirilebileceği bir çok araştırmaya yol göstermiştir (Elaltunkara, 2018).

Bu çalışmada, nar kabuğunun içerdiği fitokimyasal bileşiklerin farklı solventler kullanılarak ekstraksiyonu, antioksidan kapasitesinin araştırılması ve nar kabuklarının sanayiye kazandırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada, Mersin'in Çavak köyündeki ağaçlardan toplanan Nar (*Punica granatum* L., Punicaceae) (Deve

dişi. Ekim;2019) meyvelerine ait kurutulmuş kabuklar kullanılmıştır.

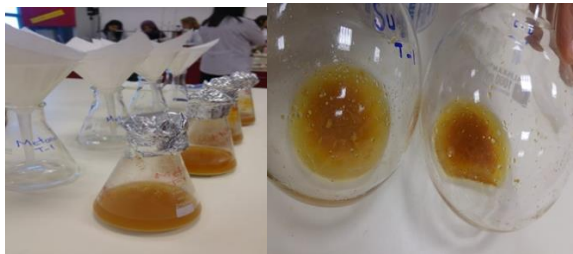
Metot

Nar meyvesine ait kabuklar oda koşullarında gölgede kurutulmuş ve analizlerde kullanılmak üzere kahverengi kavanozlarda +4°C'de muhafaza edilmiştir. Nar kabukları kahve ve baharat öğütücüsünde (Arçelik K 3104) öğütüldükten sonra toz haline getirilmiştir (Şekil 1). Toz halindeki nar kabuklarından 10 g alınarak 100 ml-1 çözücü eklenmiş ve 72 saat oda sıcaklığında çalkalamalı koşullarda, su ve metanol çözücülerini (1:10 (w/v)) ile ayrı ayrı ekstrakte edilmiştir.



Şekil 1. Ekstraksiyon öncesi toz haline getirilen nar kabukları

Filtre kağıdından (Whatman filter paper No.1) ekstraksiyon işlemi tamamlanan örnekler süzülükten sonra; her bir çözücünün kaynama sıcaklığına göre (metanol için 65°C; su için 100°C) çözücüler evaporatör kullanılarak uçurulmuştur. Evaporasyon sonrası son konsantrasyonunun 100 mg mL-1 olması hedeflenerek örnekler metanolde süspansiyon edilmiştir (Şekil 2). Örnekler analizlere kadar +4°C'de depolanmış hem antibakteriyel hem de fitokimyasal parametrelerin tespit edilebilmesi için özütler (10-100 mg mL-1 konsantrasyonlarda) aşağıda belirtilen analizlere tabi tutulmuştur:



(A):Metanol ekstresi (B):Su ekstresi

Şekil 2. Farklı çözücülerle nar kabuklarının ekstraksiyonu

Analizler

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Nar kabuğu özütlerinin 0.5 mL'sine 2.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (%10) ve 2.5 mL NaHCO₃ (%7.5) çözeltisi eklendikten sonra 45°C'de 45 dakika inkübasyon için su banyosunda bekletilmiş; absorbans ölçümleri 765 nm'de spektrofotometrede yapılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı gram başına mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE g-1) olarak ifade edilmiştir (Ucan Türkmen ve Mercimek Takcı, 2018).

Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Özütler 1:5 metanol ile seyreltilmiş ve 0.3 mL NaNO₂ (%5) eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda bu karışım içerisine 0.6 mL %10'luk AlCl₃.6H₂O eklenerek yine aynı koşullarda inkübasyondan sonra 2 mL 1M NaOH eklenmiş distile su ile son hacim 10 mL'ye tamamlanmış; absorbans ölçümleri 510 nm'de spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir. Toplam flavonoid madde miktarı gram başına mg rutin eşdeğeri (mg RE g-1) olarak ifade edilmiştir (Ucan Türkmen ve Mercimek Takcı, 2018).

Askorbik Asit Tayini

2.6-diklorofenolindofenol kullanılarak, L-askorbik asit içeriği spektrofotometre (Biochrom, LibraS60, B, England) ile belirlenmiş (518 nm dalga boyu) ve askorbik asit içeriği mg L-1 olarak ifade edilmiştir (Ucan Türkmen ve Mercimek Takcı, 2018).

% DPPH' Radikal Giderme Aktivitesi

Özütlerden 1 mL örnek alındıktan sonra 4 mL 0.1 mM DPPH' (2.2-diphenyl 1-picrylhydrazyl) (metanolde) eklenmiş; karışım 30 dakika karanlıkta (oda koşullarında) inkübe edilmiş ve spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır (517 nm). Aynı şartlarda kontrolde (standart madde veya ekstrakt değil 1 mL metanol) çalışılmış ve aşağıdaki formül dikkate alınarak hesaplamalar yapılmıştır (Blois, 1958).

$$\% \text{ DPPH' Radikal Giderme Aktivitesi} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) \times 100}{A_{\text{kontrol}}} \quad (1)$$

A_{kontrol}: Kontrolün absorbansı

A_{örnek}: Örneğin absorbansı

Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi Tayini

Fe²⁺ iyonlarını bağlamak amacıyla güçlü bir demir şelatlayıcı olarak bilinen ferrozin reaktifi ile ortamdaki metal bağlayan maddelerin rekabetine dayanan bu yöntem Dinis ve ark. (1994)'na göre yapılmıştır. Kırmızı renkli Fe²⁺/ferrozin kompleksinin oluşumu şelatlama gücü yüksekse engellenmektedir. 1 mL örnek alınarak üzerine 3.7

mL deiyonize su eklenmiş ve 100 µL 2 mM FeCl₂ çözeltisi de ilave edilmiştir. 30 dakika oda koşullarında inkübasyondan sonra 200 µL 5 mM ferrozin çözeltisi ilave edilerek vorteksleme yapılmış ve karışımların absorbens değerleri 10 dakika sonra 562 nm'de ölçülmüştür. Ayrıca, kontrol örneği de ekstrakt yerine 1 mL saf su eklenerek tespit edilmiştir. Standart olarak EDTA çözeltileri (50-250 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarında) kullanılmıştır. Aşağıdaki formüle göre, Ferrozin-Fe⁺² kompleksinin inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır:

% Şelatlama Aktivitesi = $1 - \left(\frac{562 \text{ nmde Örnek Absorbansı}}{562 \text{ nmde Kontrol Absorbansı}} \right) \times 100$ (2)

Demir İndirgeme Kapasitesi Tayini

Oyaizu (1986) metoduna bağlı kalınarak nar kabuğu ekstraktlarının indirgeme kapasitesi belirlenmiştir. Bu metodun prensibini; ortamdaki indirgen madde ile Fe⁺³ iyonlarının Fe⁺² iyonlarına indirgenmesi ve FeCl₃ ilavesi ile meydana gelen Prusya mavisi rengindeki kompleksin absorbensinin ölçülmesi oluşturmaktadır. Yüksek indirgeme kapasitesinin göstergesini okunan yüksek absorbens değeri belirlemektedir. 10-100 mg mL⁻¹ konsantrasyonlarında hazırlanan ekstraktlarından ve standart maddelerden (20-1000 µg mL⁻¹) 1 mL alınarak üzerine 2.5 mL 0.2 M fosfat tamponu (pH=6.6) ve % 1'lik 2.5 mL K₃Fe(CN)₆ ilave edildikten sonra elde edilen karışımlara 50°C'de 20 dakika inkübasyon işlemi takiben % 10'luk 2.5 mL TCA eklenmiş; 10 dakika 2500 rpm'de santrifüj yapılmış ve daha sonra süpernatantlardan 2.5 mL alınmasıyla 2.5 mL saf su ile % 0.1'lik 0.5 mL FeCl₃ ile karıştırılmış ve absorbens ölçümleri 700 nm'de yapılmıştır.

Antioksidan Aktivite Tayini (Abts Troloks-1)

Bu yöntem, ABTS•+ (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)) aracılığıyla tutulan antioksidatif madde miktarlarının, Troloks'un standart miktarları ile kıyaslayarak bağlı ölçümünü sağlar. Mavi/yeşil renkli stabil bir bileşik olan ABTS•+ radikalinin kayboluşunun spektrofotometre kullanılarak belirlenmesi ile ölçümler yapılmıştır (Apaydın, 2008).

Antimikrobiyal Aktivite

100-1000 mg mL⁻¹ 0.5 Macfarland bulanıklığına ayarlanarak inokülasyon yapılmıştır. *S. aureus* için Metisilin; *Klebsiella* spp. ve *E.coli* için Tetrasiklin (Himedia SD031-1CT 10 mcg disk-1) standart antibiyotiği pozitif kontrol. metanol ise negatif

kontrol olarak kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite, standart antibiyotikler ve ekstraktlar emdirilmiş disklerin etrafında mikroorganizmaların üremediği şeffaf zon çapları mm cinsinden ölçülerek belirlenmiştir.

İstatistiksel Analiz

SPSS 23.0 paket programının kullanılmasıyla analiz sonuçlarına varyans analizleri uygulanmış ve Tukey çoklu karşılaştırma testine göre önemli bulunan farklılıklar tespit edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Toplam Fenolik, Flavonoid, Askorbik asit ve % DPPH' Radikal Giderme Aktivitesi

Bu bölümde nar kabuklarının metanol ve su ekstraktlarından elde edilen toplam fenolik, flavonoid, askorbik asit ve % DPPH' radikal giderme aktivitesi analiz sonuçlarına ait bulgulara yer verilmiştir. Tukey çoklu karşılaştırma testine göre, tüm ekstreler için yapılan fitokimyasal analizlerde konsantrasyonlar arasındaki fark (metanol ekstraktının % DPPH' radikal giderme aktivitesi hariç) önemli bulunmuştur (p<0.05). Ekstraksiyon veriminin çözücülerin polaritelerine bağlı olarak değiştiği bilinmekle birlikte, % ekstraksiyon verimine göre çalışmada en etkili çözücünün metanol (%45.5) olduğu ve metanolü de su solventinin (%44.5) izlediği belirlenmiştir.

Araştırmacılar farklı polariteye sahip çözücülerle yapmış oldukları çalışmalar neticesinde, polar çözücülerin apolar çözücülerden % ekstrakt miktarları üzerine daha etkili olduğunu aynı zamanda polar ekstraktlardaki radikal giderme aktivitelerinin daha yüksek değerlerde olduğunu belirlemişlerdir (Hayouni ve ark., 2007; Özcan ve ark., 2007). Polar bir çözücü olan metanolün etkisinin nedenini açıklayacak olursak; bir çözücünün elüsyon etkisi polaritesi ile artmakta ve polarite de bir bileşiğin dielektrik sabiti ile orantılı olmaktadır. Yani, dielektrik sabiti büyük bir maddenin polaritesi fazla olmakla birlikte elüsyon etkisi yüksektir.

Farklı çözücülerin etkilerinin incelenmiş olduğu bir çalışmada araştırmacılar etanol, Metanol, aseton ve su ile nar kabuğu ekstraktlarını hazırlamış oldukları numunelerin radikal yok etme güçlerini ve toplam fenolik madde miktarlarını belirlemişlerdir. Metanol ile ekstrakte edilmiş örneklerde her iki analiz için de en yüksek verimi saptamışlardır (Negi ve Jayaprakasha, 2003; Kulkarni ve ark., 2004).

Çalışmamızda, nar kabuğu ekstrelerinin toplam fenolik madde içerikleri 4.85±0.32-12.91±0.07 mg

GAE g⁻¹ arasında değişmekle birlikte, en yüksek toplam fenolik içeriğe metanol ekstraktlarında rastlanmıştır. En yüksek fenolik içerik 100 mg mL⁻¹ konsantrasyondaki metanol ekstraktlarında kaydedilmiştir. Çizelge 1’de de görüldüğü gibi en düşük fenolik içerik su ekstraktlarının 10mg mL⁻¹ konsantrasyonunda 4.85±0.32 mg GAE g⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Kök gelişim bulguları

Çizelge 1. Ekstraktların Toplam Fenolik Madde Miktarı Değerleri (mg GAE g⁻¹).

Ekstraktlar	100mg mL ⁻¹	75mg mL ⁻¹	50mg mL ⁻¹	25mg mL ⁻¹	10mg mL ⁻¹
Metanol	12.91±0.07 ^A	12.70±0.06 ^A	12.09±0.12 ^B	11.38±0.10 ^C	6.54±0.22 ^D
Su	11.03±0.29 ^A	10.57±0.40 ^A	10.76±0.52 ^A	9.41±0.37 ^B	4.85±0.32 ^C

*(Çizelgede farklı harfler (A-C ve A-D) ile aynı satırlarda gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05)).

Nar kabuğundan alınan ekstraktlarda verimin metanol için en yüksek (% 9.38) olduğu bunu sulu (7.53) ve etil asetatlı (1.04) ekstraktın izlediği belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktları ile ilgili yapılan bir çalışmada toplam fenolik madde miktarlarının metanol solventinde en fazla olduğu (% 44) ve bu solventi de etil asetat (% 18) ve su takip etmiştir (% 3) (Singh ve ark., 2002).

Topkaya (2017) nar kabuğu tozundaki (sulu metanolla (%70. v v⁻¹) toplam fenolik miktarını 16364.63 mg GAE 100g⁻¹ bulmuştur. Ayrıca toplam fenolik madde içeriğinin nar kabuğu tozunda buğday ununda bulunanın 140.7 katı iken antioksidan aktivite değerinin ise 1944.2 katı olduğunu bulmuştur. Çam (2009) nar kabuklarının toplam fenolik madde değerlerinin çekirdeklerden yaklaşık 88 kat daha yüksek olduğunu bulmuştur Kanatt (2010) ve Negi ve ark. (2003) çalışmalarda. nar kabuğu sulu ekstraktında fenolik madde miktarını kateşin eşdeğeri olarak sırasıyla 140 mg g⁻¹ ve 161.25 mg g⁻¹ olarak bulmuştur. Özdemir ve ark., (2014) nar

Çizelge 2. Ekstraktların Toplam Flavonoid Madde Miktarı Değerleri (mg RE g⁻¹)

Ekstraktlar	100mg mL ⁻¹	75mg mL ⁻¹	50mg mL ⁻¹	25mg mL ⁻¹	10mg mL ⁻¹
Metanol	0.65±0.01 ^A	0.55±0.03 ^B	0.41±0.03 ^C	0.28±0.00 ^D	0.14±0.00 ^E
Su	0.57±0.02 ^A	0.49±0.03 ^B	0.37±0.03 ^C	0.23±0.01 ^D	0.13±0.01 ^E

*(Çizelgede farklı harfler (A-C ve A-D) ile aynı satırlarda gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05)).

Çam (2009)’ın 9 farklı nar türünde basınçlı solvent ekstraksiyon sistemi kullanarak yaptığı çalışmada genel ortalama bazında bir karşılaştırma yapıldığında kabukların sulu ekstraktında toplam flavonoid

Farklı dozda PEG uygulaması ile kuraklık stresi ile muamele edilen Balıkçı Siyahı tipi çeliklerinin kök gelişim parametrelerine ait bulguları Çizelge 2’ de gösterilmiştir. Farklı dozdaki polietilen glikol ile sağlanan yapay kuraklığın köklenme oranı dışındaki diğer kök parametreleri üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Köklenme oranı bakımından ise en yüksek köklenme oranı kontrol uygulamasında (%80) saptanırken %6 PEG uygulaması gören çelikler kök oluşturmamıştır.

kabuğunun sulu ekstraktında toplam fenolik madde miktarını 15850.00 mgGAE 100g⁻¹ olarak bulmuştur.

Nar kabuğundan çeşitli çözücülerle alınan ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin etil asetat için % 16.5. aseton için % 52. metanol için % 46.2 ve su için % 4.8 olduğu belirlenmiştir. Etil asetat ve metanolik ekstraktların en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Sulu ekstraktlar düşük antioksidan aktivite gösterirken çok yüksek antimutajen aktivite göstermişlerdir. Ayrıca metanolik ekstraktlar yüksek antioksidan aktivite gösterirken düşük antimutajen aktivite göstermişlerdir (Negi ve Jayaprakasha, 2003).

Çalışmamızda ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı değerleri 0.13±0.01-0.65±0.01 mg RE g⁻¹ arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 2). En yüksek toplam flavonoid değerleri 100 mg mL⁻¹ metanol ekstraktlarından elde edilmiştir. En düşük toplam flavonoid değerleri su çözücülerinden elde edilen ekstraktlarda gözlenmiştir.

miktarının değerlerinin çekirdeklerden yaklaşık 88 kat daha yüksek olduğunu belirlemiştir.

En yüksek askorbik asit değerleri metanol ekstraktlarından elde edilmiştir (Çizelge 3). Ekstraktların askorbik asit değerleri 29.42±1.35-

46.35±0.19 mg L⁻¹ arasında değişiklik göstermiştir. En düşük askorbik asit değerleri ise su ekstrelerinden elde edilen örneklerde tespit edilmiştir.

Nar kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (% DPPH' radikal giderme aktivitesi) %77.63±0.18-84.47±0.18 arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 4).

Çizelge 3. Ekstraktların Askorbik Asit Değerleri (mg L⁻¹).

Ekstraktlar	100mg mL ⁻¹	75mg mL ⁻¹	50mg mL ⁻¹	25mg mL ⁻¹	10mg mL ⁻¹
Metanol	29.42±1.35 ^E	33.17±2.02 ^C	36.06±0.67 ^C	42.40±0.48 ^B	46.35±0.19 ^A
Su	34.04±1.73 ^B	37.21±2.60 ^B	42.12±0.77 ^A	34.62±0.19 ^B	37.69±0.58 ^B

*(Çizelgede farklı harfler (A-C ve A-D) ile aynı satırlarda gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05)).

En yüksek antioksidan kapasite toplam fenolik, flavonoid ve askorbik asit içeriklerinde olduğu gibi metanol ekstrelerinden elde edilmiştir. En düşük

antioksidan aktivite değerleri ise diğer fitokimyasal analizlerde de olduğu gibi su ekstrelerinden elde edilmiştir.

Çizelge 4. Ekstraktların % DPPH' radikal giderme aktivitesi.

Ekstraktlar	100mg mL ⁻¹	75mg mL ⁻¹	50mg mL ⁻¹	25mg mL ⁻¹	10mg mL ⁻¹
Metanol	83.18±0.18 ^A	83.55±1.29 ^A	83.36±0.18 ^A	84.47±0.18 ^A	84.29±0.18 ^A
Su	82.81±0.18 ^B	83.73±0.00 ^A	82.53±0.09 ^B	82.07±0.00 ^C	77.63±0.18 ^D

*(Çizelgede farklı harfler (A-C ve A-D) ile aynı satırlarda gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05)).

Literatürdeki meyve ve sebzelerin antioksidan kapasitesi üzerine yapılan çalışmalar nar kabuğunun yüksek antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler içerdiğini göstermektedir. Yapılan bir araştırmada nar kabuğunun nar çekirdeğine göre 114 kat. elma kabuğuna göre 5. kırmızı şarap ve yeşil çaya göre 3 kat yüksek oranda antioksidan bileşikler bulunduğu rapor edilmiştir (Wolfe ve Liu, 2003; Matthaus, 2002).

Demir İndirgeme Kapasitesi Tayini. Demir İyonlarını Şelatlama Aktivitesi ve Antioksidan Aktivite Tayini (abts trolks⁻¹)

Bu bölümde nar kabuklarından elde edilen metanol ve su ekstrelerinin demir indirgeme kapasitesi, demir iyonlarını şelatlama aktivitesi ve trolks üzerinden antioksidan aktivite analiz sonuçlarına ait bulgulara yer verilmiştir. Tukey çoklu karşılaştırma testine göre, tüm ekstreler için yapılan fitokimyasal analizlerden su ekstraktlarının indirgeme kapasitesi

ve trolks üzerinden antioksidan aktivite tayininde konsantrasyonlar arasındaki fark önemsiz bulunurken (p>0.05); metanol ekstraktlarının ise demir şelatlama ve trolks üzerinden antioksidan aktivite tayininde önemsiz bulunmuştur (p>0.05).

Herhangi bir bileşikte antioksidan aktivite varlığının vuku bulması için elzem bir mekanizma olan elektron verebilme kabiliyetinin belirteci olarak kabul edilen indirgemelerden biri de Fe⁺³ iyonları için gerçekleşen indirgemedir. Ayrıca, yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesinin de göstergesidir. Nar kabuklarının su ekstraktında, örnek konsantrasyonlarının artması ile askorbik asidin indirgeme gücü artmıştır (Çizelge 5).

Özden ve ark., (2014)'nın çalışmalarında meyve örnekleri Fe⁺³ indirgeme kuvveti sonuçlarına göre *Punica granatum* türüne ait wonderful çeşidinde 180.09 µg BHT ml⁻¹. keben çeşidinde ise 69.83 µg BHT ml⁻¹ belirlemişlerdir.

Çizelge 5. Ekstraktların Demir İndirgeme Kapasitesi Tayini (abs.).

Ekstraktlar	100mg mL ⁻¹	75mg mL ⁻¹	50mg mL ⁻¹	25mg mL ⁻¹	10mg mL ⁻¹
Metanol	0.119±0.00 ^A	0.101±0.00 ^{AB}	0.108±0.01 ^{AB}	0.091±0.00 ^C	0.087±0.00 ^{BC}
Su	0.132±0.07 ^A	0.371±0.49 ^A	0.611±0.89 ^A	0.709±1.08 ^A	0.790±1.23 ^A
Standartlar	20 µg mL ⁻¹	50 µg mL ⁻¹	100 µg mL ⁻¹	200 µg mL ⁻¹	400 µg mL ⁻¹
BHT	0.07±0.00 ^D	0.09±0.00 ^D	0.14±0.00 ^C	0.33±0.02 ^B	0.45±0.01 ^A
BHA	0.22±0.01 ^C	0.24±0.01 ^C	0.25±0.02 ^C	0.32±0.03 ^B	0.51±0.01 ^A
α-tokoferol	0.13±0.00 ^D	0.15±0.00 ^D	0.16±0.01 ^C	0.20±0.01 ^B	0.29±0.01 ^A
Askorbik Asit	0.12±0.00 ^E	0.13±0.00 ^D	0.17±0.00 ^C	0.25±0.00 ^B	0.37±0.00 ^A

*(Çizelgede farklı harfler (A-C ve A-D) ile aynı satırlarda gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05)).

Nar kabuğu özütlerinin çözeltideki Fe²⁺ iyonlarını bağlayabilmek için ferrozin ile rekabetine göre metal iyonu şelatlama aktivitesi değerlendirilmiştir. Azalan

absorbans değeri metal şelatlama aktivitesinde ferrozin bağlanmadan önce metal iyonlarının şelatlandığını göstermektedir. Kıyaslama maddesi olarak iyi bir metal şelatlayıcı olan EDTA seçilmiştir.

Çizelge 6. Ekstraktların Demir İyonlarını Şelatlama Aktivitesi Tayini (%).

Ekstraktlar	100mg mL ⁻¹	75mg mL ⁻¹	50mg mL ⁻¹	25mg mL ⁻¹	10mg mL ⁻¹
Metanol	72.95±8.75 ^A	63.86±11.59 ^A	60.64±1.19 ^A	57.33±10.00 ^A	49.11±11.09 ^A
Su	49.48±1.09 ^A	43.58±2.06 ^{AB}	41.46±2.50 ^B	39.27±5.31 ^B	30.58±0.44 ^C
Standart	50 µg mL ⁻¹	100 µg mL ⁻¹	150 µg mL ⁻¹	200 µg mL ⁻¹	250 µg mL ⁻¹
EDTA	80.16±1.34 ^B	93.59±0.83 ^A	94.42±0.00 ^A	94.83±0.00 ^A	94.73±0.10 ^A

*(Çizelgede farklı harfler (A-C ve A-D) ile aynı satırlarda gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05)).

Çizelge 6.'dan görüldüğü gibi; ekstraktlarda şelatlama aktivitesinin konsantrasyon arttıkça arttığı belirlenmiştir. Ayrıca tüm ekstraktlarının Fe²⁺ iyonlarını şelatlama aktivitelerinin, standartdan daha düşük olduğu görülmektedir. Nar kabuklarının özellikle 10-100 mg mL⁻¹ konsantrasyondaki metanol ekstraktlarının Fe²⁺ şelatlama aktivitelerinin % 49.11-72.95 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu nedenle şelatlama açısından diğer ekstraktlar ile karşılaştırıldığında en iyi ekstraktın metanol olduğunu söylemek mümkündür. Şelatlama aktivitesi en düşük olan ekstraktın ise su olduğu belirlenmiştir.

Metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonlarını geciktirmek veya engellemek için genellikle başvurulan bir yöntem olan metal iyonlarını şelatlama aktivitesi analizinde spektrofotometrik ölçüm FeCl₂'nin ferrozin ile koyu mor renkli bir kompleks oluşturmasına göre yürütülmüştür. Antioksidan maddeler ile şelatlanan demir iyonları ferrozinle bağlanamayacağından meydana gelen mor rengin şiddeti daha düşük olacak ve absorbans daha düşük okunacaktır. Yüksek şelatlama aktivitesini

düşük absorbans değeri göstermektedir (Gülen, 2013).

Metal şelatlama aktivitesi, fenolik bileşiklerin kompozisyonunda yer alan fonksiyonel gruplara ve bunların bulunma miktarı ve pozisyonuna göre etkilenmektedir. Yapısında, -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, C=O, -NR₂, -S ve -O- fonksiyonel gruplarından en az iki tane bulunduran ve bunların uygun yapı ve fonksiyonel konfigürasyonundaki fenolik bileşiklerin, şelatlama özelliklerinin daha iyi olduğu görülmüştür. Bu nedenle fenolik madde değerinin farklı olmasıyla birlikte, farklı yapı ve pozisyonlardaki fenolik madde grupları bulundurmalarıyla örneklerin şelatlama aktivitesindeki farklılık açığa çıkmaktadır (Gülen, 2013).

Nar kabuğundan elde edilen metanol ve su ekstraktlarına ait antioksidan aktivite sonuçları Çizelge 7'de gösterildiği gibidir. Metanol ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri 20.30-20.43 µM troloks eşdeğeri 10 g⁻¹, su ekstraktlarının ise 16.67-20.44 µM troloks eşdeğeri 10 g⁻¹ arasında değişiklik göstermiştir (p>0.05).

Çizelge 7. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Ölçümü ile Ekstraktların Antioksidan Aktivite Tayini (µM troloks eşdeğeri 10 g⁻¹).

Ekstraktlar	100mg mL ⁻¹	75mg mL ⁻¹	50mg mL ⁻¹	25mg mL ⁻¹	10mg mL ⁻¹
Metanol	20.30±0.06 ^A	20.40±0.06 ^A	20.31±0.04 ^A	20.37±0.02 ^A	20.43±0.08 ^A
Su	20.44±0.04 ^A	20.44±0.02 ^A	16.67±6.28 ^A	20.32±0.09 ^A	20.43±0.07 ^A

*(Çizelgede farklı harfler (A-C ve A-D) ile aynı satırlarda gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05)).

Bir çalışmada, nar kabuğunun antioksidan kapasitesi test edilen diğer 27 meyve türlerine (guava, kivi, mandalina, limon, portakal gibi) göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Guo ve ark., 2003). Yine başka bir çalışmada da, nar kabuğunun, narın çekirdek ve pulp bölümlerine göre 114 kat daha fazla antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir (Li ve ark., 2006).

Antimikrobiyal Aktivite

Metanol ve su ekstraktlarının (10-100 mg mL⁻¹) laboratuvarımız kültür koleksiyonunda bulunan klinik izolatlarla (*Klebsiella* spp., *E.coli*, *S. aureus*, *Aspergillus niger* ve *Candida albicans*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri Muller Hinton Agar ve Potato Dekstroz Agar kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir.

Kültür yoğunlukları standart 0.5 Macfarland bulanıklığına ayarlanarak inokülasyon yapılmıştır. *S. aureus* için Metisilin; *Klebsiella* spp. ve *E.coli* için Tetrasiklin (Himedia SD031-1CT 10 mcg disk⁻¹) standart antibiyotiği pozitif kontrol. metanol ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır

Antimikrobiyal aktivite. standart antibiyotikler ve ekstraktlar emdirilmiş disklerin etrafında mikroorganizmaların üremediği şeffaf zon çapları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 3 ve 4).

En yüksek bitki ekstrakt konsantrasyonu (100 mg mL⁻¹) kullanılarak antimikrobiyal aktivite çalışmaları sürdürülmüştür. Özütlere herhangi bir inhibitör etkisine rastlanmamıştır (Çizelge 8). Sadece çözücüye bağlı inhibitör etki saptanmıştır.

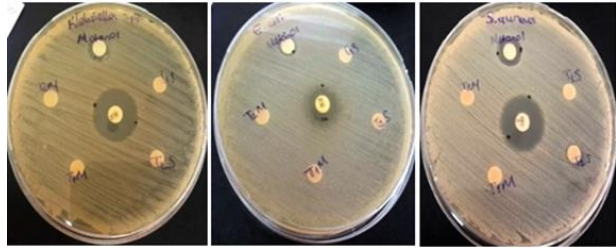
İnhibisyon etki arasındaki farklılık bakterilerin duvar yapılarının çeşitliliği ile ilişkilendirilmektedir. 3. dereceden bakteri yemi etkeni *S. aureus* gram pozitif bir bakteri olup. duvar yapısı *E. coli* ve *Klebsiella* spp gibi gram negatif bakteri hücrelerine göre daha kalındır. Hücre duvarının %90'ı peptidoglikan tabakadan oluşmaktadır. Duvarın kalınlığı antimikrobiyal ajanlara karşı penetrasyonu engelleyerek dayanıklılık sağlamaktadır. Gram negatif bakterilerde ise %10'luk peptidoglikan tabakasının varlığına karşın dış membrandaki periplazmik boşlukta hidrolitik enzimlerin varlığı ajanın hücre membranına geçişini engellemektedir. Bitki ekstraktlarının izolatlar göre inhibitör etki göstermemesi ekstraktların karışım halinde olması ve hedef mekanizmaların anlaşılabilmesi ile açıklanmaktadır. Çizelge 8' de gözlendiği gibi hedef mekanizması belli ve saf halde kullanılan antibiyotik standartların etkisinin daha yüksek olması olası sonuçtur. Çizelge 8. Nar kabuğu Özütlere Antimikrobiyal Aktivitesi (mm cinsinden)

	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp.
Saf su özütü	.*	.*	.*
Metanol özütü	.*	.*	.*
Tetrasiklin	20	12	20
Metisilin	20	12	20
Metanol	10	8	9

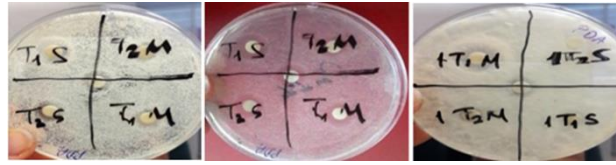
*Agar plaklarında inhibisyonunu zonu gözlenmemiştir

Bitkilerde antioksidan aktivite gösteren hidrofobik karakterlerinden dolayı fenolik bileşikler metanol gibi polaritesi yüksek çözücülerde daha verimli ekstrakt elde edilebilmektedir. Ancak esktrakte edilen fenolik bileşikler söz konusu izolatlar üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterememiştir. Bitki

ekstraktlarının izolatlar üzerindeki inhibitör etkisi ekstraksiyon yöntemlerine ve kullanılan çözücülere karşı farklılık göstermektedir. İnhibitör etki, ekstraksiyon veriminin artırılması, sıcaklık uygulaması ve/veya etken maddenin izole edilmesi gibi yöntemlere bağlı olarak artırılabilir. Standart antibiyotikler ile sinerjik ve antagonistik etki çalışmaları yapılarak söz konusu bitki ekstraktı tedavi amaçlı hazırlanacak preparatlarda yer alabilecektir.



Şekil 3. *S. aureus*, *E. coli* ve *Klebsiella* spp.'ye karşı nar kabuğu özütlere inhibitör etkisi



Şekil 4. *Aspergillus niger* ve *Candida albicans*'a karşı nar kabuğu özütlere inhibitör etkisi

Aspergillus niger ve *Candida albicans* gibi mantarların hücre membran yapısı ergosterolden oluşmaktadır. Antifungal ilaçların ve bitki ekstraktlarında mantarlar üzerindeki etkisi söz konusu membran bileşeni ile ilişkilendirilmektedir. Ancak mantarlar özellikle de *C. albicans* gibi fırsatçı klinik izolatlar ergostreol miktarında azalma ve kompozisyon değişikliği ile direnç mekanizmaları geliştirmektedir.

Nar ekstraktından hazırlanan 3 ardışık konsantrasyondan sadece % 0.2 ve % 0.3'lük konsantrasyonlarının Gram-pozitif bakteri *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisi olduğu, test edilen diğer bakterilere karşı ise herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Özdemir ve ark., 2014).

Zoral ve Turgay (2014)'ın çeşitli gıda atıklarında toplam fenolik madde içeriğine antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini inceledikleri çalışmada, nar kabuğunda antimikrobiyal aktiviteyi aseton ekstraktında *Bacillus brevis* (8 mm) *Escherichia coli* (9 mm) metanol ekstraktında *Candida albicans* (9 mm) *Salmonella* (8 mm) *Bacillus subtilis* (9 mm) göstermiştir.

Nar kabuğu, kiraz sapı ve körmek ekstraktlarının farklı düzeylerde meme ve kemik kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik aktiviteleri gözlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktları kiraz sapı ve körmene göre hem meme kanseri hem de kemik kanseri hücrelerini daha fazla inhibe etmiştir. Körmek ekstraktlarının da önemli oranda kemik kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi tespit edilmiştir. Söz konusu bitkilerin yüksek oranda antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik, antienflamatuar ve sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Demir, 2018).

Sonuç

Nar kabuğu, gıda yan ürünleri arasında muhteva ettiği biyoaktif bileşimler ki özellikle fenolik maddeler ve bu maddelerin miktarı ve çeşitliliği bakımından yüksek potansiyele sahip bir ürün olarak yer almaktadır. Ayrıca son yıllarda karsinojenik etkilerinden dolayı kullanımlarına yasaklama ve/veya sınırlama getirilen sentetik antioksidanlar, hem gıda hem de yem sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle günümüzde gıda tüketiciler doğal ve katkısız gıda ürünlerini tercih etmektedir. Bu temenniden yola çıkarak, üretici firmalar da bu taleplere paralel doğrultuda ürünler üretmeye veya ürün çeşitlendirmeye yönelik çalışmalara yoğunlaşmaktadır. Bu sebeple özellikle ülkemizde birçok alanda zenginliği ile bilinen ve ucuz olan nar kabuğunun özellikle gıda sanayinde sentetik antioksidanlara tercihen doğal antioksidan olarak değerlendirilmesi sağlık, ekonomi ve çevre açısından büyük öneme sahip olacaktır.

Çıkar çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Yazarların katkı beyanı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkıda bulunmuşlardır.

Kaynaklar

- Apaydın, E. (2008). Nar Suyu Konsantresi Üretim ve Depolama Sürecinde Antioksidan Aktivitedeki Değişimler. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
- Ajaikumar, K.B., Asheef, M., Babu, B.H., & Padikkala, J. (2005). The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum L.* (pomegranate) methanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 96, pp.171-176.

- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, pp.1199-1200.
- Çam, M. (2009). "Basınçlı Solvent Ekstraktörü Kullanılarak Nar Kabuğu ve Çekirdeğinin Antioksidan Bileşimlerinin Su ile Ekstraksiyonu." Doktora Tezi. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü. Ege Üniversitesi. İzmir. Türkiye.
- Demir, T. (2018). Körmek, kiraz sapı ve nar kabuğunun antioksidan antimikrobiyal, sitotoksik, antidiyabetik ve antienflamatuar özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.I.M.C. & Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) assay inhibitors of membrane lipid peroxidation and assay peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol.315, no.1, pp.161-169.
- Elaltunkara, Z. (2018). Nar çekirdeği ve nar kabuğunun tozunun probiyotik yoğurt üretiminde prebiyotik olarak kullanım olanaklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, Türkiye.
- Gölkücü, M., Tokgöz, H. & Çelikyurt, M.A. (2005). Nar çekirdeğinin bazı özellikleri ve nar çekirdeği yağının yağ asidi bileşimi. *Derim*, c.22, ss.33-40.
- Gündoğdu, M., Yılmaz, H., & Canan, İ. (2015). Nar (*Punica granatum L.*) Çeşit ve Genotiplerin Fizikokimyasal Karakterizasyonu. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, c.1, ss.57-65.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Yiang, J. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, vol.23, pp.1719-1726.
- Gülen, S. (2013). Asma ve Yonca Yapraklarının In Vitro Antioksidan Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trakya Üniversitesi, Edirne, Türkiye.
- Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* and *Juniperus phoenicea L.* fruit extracts. *Food Chemistry*, vol.105, no.3, pp.1126-1134.
- Kanatt, S.R., Chander, R. & Sharma, A. (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International Journal of Food Science and Technology*, vol.45, pp.216-222.

- Kulkarni, A.P., Aradhya, S.M. & Divakar, S. (2004). Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant- punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. *Journal of Food Chemistry*, vol.87. pp.551-557.
- Kurt, H. ve Şahin, G. (2013). Bir ziraat coğrafyası çalışması: Türkiye de nar tarımı. *Marmara coğrafya dergisi*, ss.551-574.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, vol.96. pp.254-260.
- Matthaus, B. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.50. pp.3444-3452.
- Necati, C.İ. (2012). Nar kabuğunun fenolik bileşiminin su ile ekstraksiyonu ve ekstratların mikroenkapsülasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye.
- Negi, P.S. and Jayaprakasha, G.K. (2003). Antioxidant and antibacterial activities of Punica granatum peel extracts. *Journal of Food Science*, vol.68. no.4. pp.1473-1477.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*, vol.44. pp.307-315.
- Özcan, M.M., Baydar, H., Sagdıç, O., & Ozkan, G. (2007). Türkiye'de ticari açıdan önemli Lamiaceae familyasına ait baharat veya çeşni olarak kullanılan bitkilerin fenolik bileşenleri ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. TÜBİTAK Projesi. No:TOGTAG-3319. Konya. Türkiye.
- Özden, M. ve Özden, A.N. (2014). Farklı renkteki meyvelerin toplam antosiyanin, toplam fenolik kapsamlarıyla toplam antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bilimleri Bölümü, *Şanlıurfa Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, c.9. s.2. ss.1-12.
- Özdemir, H., Soyer, A., Tağı, Ş. & Turan, M. (2014). Nar Kabuğu Ekstraktının Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Köfte Kalitesine Etkisi. Ankara Üniversitesi. Mühendislik Bölümü. Gıda Mühendisliği. Et ve Süt Kurumu. Ankara c.39. s.6. ss.355-362.
- Özkal, N. ve Dinç, S. (1993). Nar (*Punica granatum L.*) Meyva Kabuklarının Eczacılık Yönünden Değerlendirilmesi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, c.22. ss.1-2.
- Sarıca, Ş. (2011). Nar Suyu Yan Ürünlerinin Hayvan Beslemede Kullanım Olanakları. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, c.28. s.2. ss.97-101.
- Seeram, N., Schulman R.N. & Heber, D. (2006). Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine. Taylor & Francis Group. *Boca Raton*. 244 p.
- Singh, R.P., Murthy, K.N.C. & Jayaprakasha, G.K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.50. pp.81-86.
- Topkaya, C. (2017). Nar Kabuğu Tozu İlavesinin Keklerin Besinsel, Duyusal ve Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.
- Turgut, D.Y. ve Seydim, A.C. (2013). Akdeniz Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Nar (*Punica Granatum L.*) Çeşit ve Genotiplerinin Fenolik Bileşenleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Akademik Gıda*, c.11. s.2. ss.51-59.
- Ucan Türkmen, F. and Mercimek Takcı, H. A. (2018). Ultraviolet-C and Ultraviolet-B Lights Effect on Black Carrot (*Daucus carota ssp. sativus*) Juice. *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol.12. no.2. pp.1038-1046.
- Wolfe, K.L. and Liu, R.H. (2003). Apple peels as a value-added food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.51. pp.1676-1683.
- Yılmaz, C. (2005). Narda Derim Öncesi Meyve Çatlamasının Anatomisi ve Fizyolojisi." Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Zoral, F.B. ve Turgay, Ö. (2014). Çeşitli Gıda Atıklarının Toplam Fenolik Madde İçeriğinin. Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Mühendisliği, Gıda Mühendisliği Bölümü, *Doğa Bilimleri Dergisi*, c.17. s.2