



Nar Kabuğunun Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonu İle Değerli Bileşiklerin Özütleme

Hacer İÇEN¹, Havva MUMCU ŞİMŞEK^{2*}

¹ Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Osmaniye

² Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Bahçe Meslek Yüksekokulu, Kimyasal Teknolojiler Bölümü, Osmaniye

*Sorumlu Yazar (Corresponding author): havvamumcu@osmaniye.edu.tr

Özet

Bu çalışmanın amacı; ülkemizde, Hicaz narı (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) kullanılarak yapılan nar suyu üretimi sırasında ortaya çıkan nar kabuğu atıklarından, değerli kimyasallardan biri olan ellajik asit (EA) elde edilmesi için ekstraksiyon parametrelerinin verimliliği üzerindeki etkilerini incelemektir. Çalışmada en yüksek ellajik asit verimine, çözücü numune oranı: 20/1, mikrodalga gücü: 140 W, süre: 35 dakika, metanol oranı: %80 ve parçacık boyutu: 0.100 mm-0.250 mm şartlarında çalışıldığında ulaşılmıştır. Bu şartlarda ellajik asit 2.148 mg g⁻¹ kabuk, toplam fenolik bileşen 197.02 mg gallik asit eşd (GAE) g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0.113 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Aynı şartlarda %80 etanol kullanıldığında 1.843 mg EA g⁻¹ kabuk, toplam fenolik bileşen 203.79 mg GAE g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0.135 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Soxhlet ile yapılan ekstraksiyon işlemi %80 etanol: %20 su çözücü olarak kullanılarak, 20/1 çözücü:numune oranı, 7.5 saat ekstraksiyon süresi ve 70 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Bu şartlarda elde edilen ekstraktta 2.154 mg g⁻¹ EA varlığı tespit edilmiş ve bu şartlarda toplam fenolik madde 219.37 mg GAE g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0.131 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında ellajik asit verimi yüksek olmakla birlikte çok yakın iken, toplam fenolik bileşen ve antioksidan aktivite değerleri soxhlet ekstraksiyonunda daha düşüktür.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi :12.11.2024
Kabul Tarihi :28.12.2024

Anahtar Kelimeler

Ellajik asit
fenolik bileşen
nar kabuğu
soxhlet ekstraksiyonu

Extraction of Valuable Compounds by Microwave Assisted Extraction of Pomegranate Peel

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of extraction parameters on the yield of ellagic acid (EA), one of the valuable chemicals, from pomegranate peel wastes obtained during pomegranate juice production from Hicaz pomegranate (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) in Turkey. In the study, the highest yield of ellagic acid was obtained with solvent/sample ratio: 20/1, microwave power: 140 W, time: 35 min, methanol content: 80% and particle size: 0.100 mm-0.250 mm. Under these conditions, ellagic acid was determined as 2.148 mg g⁻¹ peel, total phenolic component as 197.02 mg gallic acid equivalent GAE g⁻¹ and antioxidant activity as 0.113 mM Trolox equivalent. When 80% ethanol was used under the same conditions, 1.843 mg EA g⁻¹ peel, 203.79 mg GAE g⁻¹ total phenolic content and 0.135 mM Trolox equivalent antioxidant activity were determined. Soxhlet extraction was carried out using 80% ethanol: 20% water as solvent, 20/1 solvent/sample ratio, 7.5 h extraction time and 70 °C temperature. The presence of 2.154 mg g⁻¹ EA was detected in the extract obtained under these conditions and the total phenolic content was 219.37 mg GAE g⁻¹ and antioxidant activity was 0.131 mM Trolox equivalent. Compared to microwave assisted extraction, the yield of ellagic acid was high but very close, while the total phenolic component and antioxidant activity values were lower in soxhlet extraction.

Research Article

Article History

Received :12.11.2024
Accepted :28.12.2024

Keywords

Ellagic acid
pomegranate peel
phenolic component
soxhlet extraction

1. Giriş

Nar (*Punica granatum*), çoğunlukla Orta Doğu ülkelerinde üretilen bir meyvedir (Çam ve İçyer, 2015). Sağlık üzerinde ağız, cilt ve kalp sağlığını geliştirici, antidiyabetik, antitümöral, antienflematuvar, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri olduğu bilinen bu meyvenin nutrasötik etkileri yalnızca yenilebilen kısımlarıyla sınırlı olmayıp, kabuk, çekirdek, çiçek, ağaç kabuğu, filiz ve yaprak gibi kısımlarının da besin değeri ya da biyoaktivitesi yüksek olan bileşenler içerdiği bilinmektedir (Akhtar ve ark., 2015, Xiang ve ark., 2022). Son yıllarda insanların daha sağlıklı beslenme eğiliminin artması ile birlikte nar suyu tüketiminde artış söz konusu olmuştur. TÜİK verilerine göre 2016 yılında Türkiye’de 465 bin ton nar üretilmiştir. Bu üretimin yaklaşık %60’ı Akdeniz bölgesindedir. Örneğin 2010 yılı verilerine göre Türkiye’de yılda yaklaşık 78700 ton nar, meyve suyu üretiminde kullanılmıştır (Akdağ, 2011). Nar meyvesinin yaklaşık %50’si kabuktur (Akhtar ve ark., 2015). Nar suyu üretim prosesinde kullanılan narlar işlem öncesi kabuklarından ayrılabilirdiği gibi kabuklarıyla birlikte de işlenebilmektedir. Nar suyunun tadında acılık oluşturmaları nedeniyle kabuğun ayrıldığı prosesler daha çok kullanılmaktadır. Ayrıca nar ekşisi üretiminde yine kabuk atığı açığa çıkmaktadır.

Nar kabuğu tıbbi olarak değerli kimyasal bileşenler olan ellajitaninler (ellajik asit, gallik asit, punikalın ve punikalajin (A ve B)) açısından zengindir. Örneğin Çin’de yetişen 10 nar çeşidi üzerine yapılan çalışmada nar kabuklarının (1 g kuru madde bazında) ortalama 2.83 mg ellajik asit, 2.59 mg gallik asit, 64.98 mg punikalajin, 12.65 mg kateşin, 0.35 mg klorojenik asit, 0.02 mg kafeik asit ve 0.94 mg epikateşin içerdiği belirlenmiştir (Li ve ark., 2015). Kabuğun bileşimi; narın cinsine, yetiştirildiği bölgeye ve hasat zamanına göre değişiklik gösterir. Bu nedenle yapılan çalışmada yerel nar çeşitlerinin önerilen kimyasallar açısından incelenmesinin literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ellajik asit özellikle meme kanseri olmak üzere prostat, kolon, yemek borusu, pankreas

gibi birçok kanser türünde koruyucu ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Ayrıca antioksidan, anti-aterosklerotik ve antimutajenik etkileri olup, ticari değeri yüksektir (Sigma Aldrich: 1 g; 92.20 €) ve çoğu atıklardan değil besin değeri olan bitkilerden ya da ağaç kabuklarından üretilmektedir.

Nar kabuğu ile yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde, araştırmacıların ağırlıklı olarak nar kabuğundan elde ettikleri ekstraktların toplam polifenolik madde eldesi, antiradikal aktivite, antioksidan aktivite, antimutajenik aktivite, antimikrobiyel etki, toplam flavonoid miktarı ve toplam antosiyanin miktarı gibi özelliklerini inceledikleri görülmektedir (Ranjha ve ark., 2020; Mushtaq ve ark., 2015a; Çam ve İçyer, 2015; Amyrgialaki ve ark., 2014; Wu ve ark., 2016; Singh ve ark., 2023; Kumar ve ark., 2022; Elfalleh ve ark., 2012; Sun ve ark., 2021). Diğer bir grup çalışmada ise nar kabuğundan çeşitli yöntemlerle elde edilmiş olan ekstraktların ihtiva ettiği hidroliz edilebilen tanninler gibi maddelerin profilinin bazı kromatografik metodlar ile belirlendiği tespit edilmiştir (Jain ve ark., 2011; Li ve ark., 2015; Qu ve ark., 2012; Saad ve ark., 2012; Gullon ve ark., 2016).

Amyrgialaki ve ark. (2014) nar kabuğundaki polifenolik bileşenlerin klasik yöntem ile ekstraksiyonu üzerinde çalışmış ve ortamın pH’ı, etanol konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresi gibi faktörlerin toplam fenolik madde eldesi (mg gallik asit eşd g⁻¹ kuru madde) ve antiradikal aktiviteyi (mM tiradikal değer g⁻¹ kuru madde) en yüksek seviyeye taşıyan seviyelerini deney tasarımı ve istatistiksel analiz kullanarak belirlemiştir. Etanol: su: sitrik asit karışımının çözücü olarak kullanıldığı bu çalışmada LC-MS analizi sonucunda nar kabuğu ekstraktında yer alan ana polifenolik fito kimyasalların punikalın A, B ve ellajik asit olduğu ortaya çıkmıştır (Amyrgialaki ve ark., 2014). (Sood ve Gupta, 2015) nar kabuğundan polifenol ekstraksiyonunu katı/sıvı oranı, inkübasyon süresi ve sıcaklığı koşullarını optimize ederek gerçekleştirmiştir. Etanol:su karışımının çözücü olarak kullanıldığı bu çalışmada ise

yukarıda belirtilen faktörlerin toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, renk, % indirgen şeker ve radikal temizleyici aktivite üzerine olan etkisi yine deney tasarımı ve istatistiksel analiz kullanarak belirlenmiştir (Sood ve Gupta, 2015). Klasik çözücü, ultrases yardımıyla ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SAE) metotları ile yapılan diğer bir ekstraksiyon denemesinde ise çözücü çeşidi, SAE çalışma basıncı ve sıcaklığı, ekstraksiyon süresi gibi faktörlerin toplam fenolik madde içeriği üzerine olan etkisi araştırılmıştır (Yasoubi ve ark., 2007).

Çam ve İçyer (2015) kurutarak çeşitli parçacık boyutu fraksiyonlarına ayırdıkları nar kabuklarından klasik yöntemle elde ettikleri ekstraktlarda toplam fenolik madde içeriğini optimize eden koşulları merkezi kompozit tasarımı ile ortaya çıkarmıştır. Bu şekilde çözücü olarak yüksek sıcaklıkta (100 °C) su kullanıldığı durumda 1 dakika gibi kısa bir sürede 192.0 mg (gallik asit eşdeğeri) g⁻¹ (kuru nar kabuğu) toplam fenolik madde seviyesine ulaşılmıştır. Fakat, yine kurutulmuş olan nar kabuğuna enzim uygulamasının ardından klasik yöntemle ekstraksiyona tabi tuttukları nar kabuklarının toplam fenolik madde oranları arasında kayda değer bir fark olmadığını tespit etmişlerdir. Bu sonuç uygun koşullarda gerçekleştirilen kurutma işleminin nar kabuğunun fenolik madde içeriğini olumsuz yönde etkilemediğini göstermiştir.

Tabaraki ve ark. (2012) çözücü çeşidi, çözücü/katı oranı, parçacık boyutu, etanol konsantrasyonu, sıcaklık ve süre gibi ekstraksiyon prosesleri için önemli olan birçok bağımsız değişkenin toplam fenolik madde, demir indirgeyici antioksidan güç (FRAP), DPPH radikali giderme aktivitesi ve ekstrakt eldesi gibi bağımlı değişkenler üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri bulgular, nar kabuğundan ultrases yöntemi ile optimum

ekstrakt eldesine (yield) %70'lik etanol:su karışımı kullanılarak ılımlı sıcaklık (60 °C) ve süre (30 dakika) seviyelerinde ulaşıldığını göstermiştir. Bu şekilde çözücü olarak su kullanan diğer bir çalışmadan (Qu ve ark., 2010) yaklaşık 4 kat fazla nar kabuğu ekstraktı elde edildiği bildirilmiştir (Tabaraki ve ark., 2012). Endüstriyel ekstraksiyon proseslerinde yüksek ekstrakt eldesi tercih sebebi olup, (Tabaraki ve ark., 2012) doğru çözücü çeşidi ve optimum çözücü konsantrasyonu ile ekstrakt eldesinin yükseltilebildiğini göstermişlerdir. Bu çalışma aynı zamanda optimum sıcaklığın tespit edildiği noktada toplam fenolik maddede yaklaşık %12'lik artış ile birlikte bitkisel kaynaklardan ekstraksiyon işlemi için sıcaklık değişkeninin optimize edilmesinin önemini ortaya koymuştur. Sıcaklık faktörü; özellikle fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda ılımlı bir ısıtma işlemi uygulanması ile birlikte bitki hücresi yapısının yumuşaması, hücre duvarı bütünlüğünün zayıflaması, hücre duvarına bağlı olan fenolik bileşenlerin bağını hidroliz edilmesi, fenolik maddelerin çözünürlüğünün artması ve böylece fenolik maddelerin çözücüye geçmesi nedeniyle göz önünde bulundurulması gereken bir faktördür.

Bu çalışmada en yüksek ellajik asit değerini veren ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Deneyler modifiye edilmiş ev tipi bir mikrodalga fırında gerçekleştirilmiş, çözücü/numune oranı, çözücü:su oranı ve parçacık boyutu parametre olarak incelenmiştir. Belirlenen en uygun şartlardaki toplam fenolik bileşen ve antioksidan aktivite değerleri belirlenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Numune hazırlama

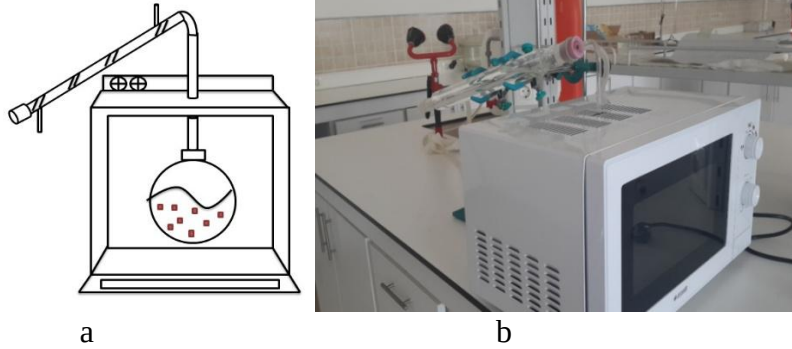
Deneyisel çalışmada Akdeniz bölgesinde yetişen 07 N 08 Hicaz Narı kullanılmıştır. Narlar ilk olarak yıkanarak kirliliklerinden arındırılmıştır. Kabuklar tanelerinden ayrılarak elle 2-3 cm çapında parçacıklara ayrılmış ve 60 °C sıcaklıkta konvansiyonel etüvde (GEMO DT104) 6 saat süreyle kurutulmuştur. Daha sonra numuneler laboratuvar tipi öğütücü ile öğütülüp (IKA A11) (2 mm, 1 mm 500 µm,

0.700 μm 250 μm , 100 μm , ve 45 μm) ϕ aplı elekler ve elek sarsma cihazı (Retsch AS 200) kullanılarak boyutlandırılmıştır. Parçacık boyutuna göre sınıflandırılan numuneler 60 $^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tartıma kadar kurutularak ekstraksiyon işlemine kadar kilitli polietilen poşetlerde 4 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

2.2. Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Ekstraksiyon işlemi geri soğutucu ilave edilerek modifiye edilen mutfak tipi bir mikrodalga fırında (Arçelik MD 674 model) gerçekleştirilmiştir. (Şekil 1) Çözücü olarak farklı oranlarda etanol (Sigma Aldrich

%99.8):su (deiyonize su) karışımı kullanılmıştır. 500 mL cam balona belirlenen çözücü: katı oranında nar kabuğu ve çözücü konarak mikrodalga fırın içerisine yerleştirilmiş ve geri soğutucu ile bağlantısı sağlanmıştır. Yüksek mikrodalga güçlerinde çözücü ile birlikte numune geri soğutucuya sürüklendiği için 140 W' tan daha yüksek güçlerde çalışılamamıştır. Çözücünün tamamının buharlaşıp, tekrar yoğunlaşıp toplanana kadar (35 dakika) ekstraksiyon işlemine devam edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar analiz için amber şişede 4 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.



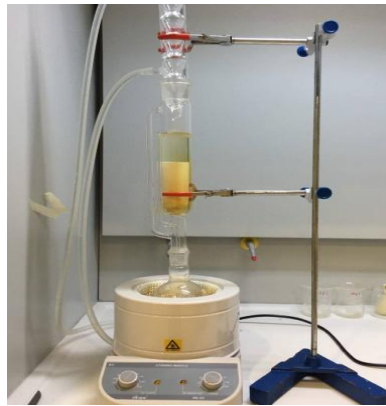
Şekil 1. a) Geri soğutucu ilave edilerek modifiye edilmiş mikrodalga fırının şematik gösterimi, b) Mikrodalga fırın ile kurulan düzenek

Figure 1. a) Schematic representation of the modified microwave oven with the addition of a recycler, b) Set-up with microwave oven

2.3. Soxhlet ekstraksiyonu

Soxhlet numune bölmesine, içerisinde numune konulan selülozik kartuş yerleştirmiştir. Numune bölmesinin üstüne geri döngülü soğutucu eklenmiştir, altına ise içerisinde 250 g çözücü (su+etanol) bulunan balon eklenmiştir. Bu düzenek ısıtıcı mantoya

yerleştirilmiştir. Isıtıcı manto yaklaşık 70 $^{\circ}\text{C}$ civarına ayarlanarak balon içerisindeki çözücü ısıtılmaya bırakılmıştır. Ekstraksiyon, yaklaşık 7.5 saat süren 3 geri akış yaptırılarak tamamlanmıştır (Şekil 2). Elde edilen ekstrakt vakum pompası (Rocker 410) yardımıyla süzölmüştür.



Şekil 2. Soxhlet ekstraksiyon düzenneği
Figure 2. Soxhlet extraction setup

2.4. Antioksidan aktivite tayini (DPPH yöntemi)

Santrifüj edilmiş örnekten alınan 1/10 oranında seyreltilmiş 0.1 mL özüte 2 mL 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH; %100 metanolde 0.025 g l^{-1}) ilave edilmiştir. %80'lik etanol çözeltisi şahit çözelti olarak (hacim/hacim (v/v)) kullanılmıştır. Karanlıkta 30 dakika bekledikten sonra örneklerin absorbansı spektrofotometrede (Shimadzu, UV 1800, Japonya) 519 nm'de ölçülmüştür. Antioksidan aktivite, ($\pm$)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) cinsinden ifade edilmiştir. Trolox standart eğrisinin R^2 değeri 0.9986'dır. Analiz 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

2.5. Toplam fenolik bileşen (TFB) tayini

Li ve ark. (2015) yılında yaptığı çalışmasından uyarlanan prosedürde Folin-Ciocalteu yöntemi referans alınmıştır. Gallik asit standart, %80'lik etanol çözeltisi (v/v) ise şahit olarak kullanılmıştır. 0.5 mL ekstrakt alınarak, 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile tepkimeye bırakılmış, daha sonra üzerine 3 mL %10'luk Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilmiştir. Karışımın hacmi saf suyla 50 mL'ye tamamlanmıştır. Karanlıkta 30 dakika bekletilen karışım 760 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Shimadzu, UV 1800, Japonya) absorbansları ölçülmüştür. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kabuk olarak verilmiştir.

2.6. HPLC ile analiz

Bu çalışma için Thermo Scientific HPLC cihazı ve C18 (5 mikron, 4,6 mm, 250 mm) kolon kullanılmıştır. HPLC cihazının yüksek çözünürlük kapasitesi, analitlerin ayrılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Kolon özellikleri, özellikle analitlerin yüksek hassasiyetle ayrılmasını sağlamak amacıyla seçilmiştir. Bu kolon tipi, genellikle polar olmayan bileşenlerin etkili bir şekilde ayrılmasında kullanılır (Zhang ve ark., 2023; Wang ve ark., 2024).

Ellajik asit, çalışmanın analiz edilen bileşiğidir. Analizlerde kullanılan ellajik çözeltileri, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin her biri, standart

çözeltiler olarak kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında kullanılmıştır. Ellajik asit için kullanılan bu çözeltiler, sırasıyla 15 ppm, 25 ppm, 50 ppm ve 100 ppm konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin doğruluğunu artırmak amacıyla, belirlenen bu konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanarak, doğrusal bir kalibrasyon ilişkisi elde edilmiştir. Kalibrasyon doğrusu, ellajik asit miktarının analitlere göre hesaplanmasında kritik bir adım olarak kullanılmıştır (Barny ve ark., 2022).

Mobil faz hazırlığı, yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (HPLC) analizin başarısını etkileyen önemli faktörlerden biridir. Bu çalışmada, mobil faz olarak iki bileşen kullanılmıştır: deiyonize su ve asetik asit karışımı (A; 99: 1, v/v) ve metanol (B). Asetik asit, pH düzenleyici olarak mobil fazda kullanılarak analitlerin ayrılmasında optimum koşullar sağlanmıştır. Bu mobil faz karışımı, analizin doğruluğunu ve tekrarlanabilirliğini artırarak daha net ayırım elde edilmesine yardımcı olmuştur. Analizlerin yapılacağı gradyan programı ise şöyle belirlenmiştir:

0-4 dakika arası: Mobil fazın %0-40 B arasında lineer bir şekilde arttığı bir program izlenmiştir. Bu süre zarfında, analitlerin kolon üzerinde yeterli şekilde ayrılması sağlanır. 4-10 dakika arası: Mobil fazın %40-80 B seviyesine çıkması, daha az polar bileşiklerin analizin başlangıcında daha iyi ayrılmasını ve kolon üzerinde optimum etkileşim sağlanmasını sağlar. 10-19 dakika arası: Mobil fazın %80-10 B arasında bir değişim gösterdiği bu aşama, analitlerin daha iyi elüsyonu ve çözünürlüğünü sağlar. 19-20 dakika arası: Mobil faz %10'dan %0'a düşürülerek, kolon temizliği sağlanır ve bir sonraki örnek için hazır hale getirilir.

Bu gradyan programı, ellajik asit gibi belirli bileşiklerin etkili bir şekilde ayrılmasını sağlar. Ayrıca, akış hızı da 0.5 mL dk^{-1} olarak ayarlanmıştır. Bu akış hızı, analitin kolon üzerinde yeterince zaman geçirmesini sağlayarak doğru bir ayırım yapılmasına yardımcı olur. Tüm analizler, 280 nm dalga boyunda yapılmıştır. Bu dalga boyu, ellajik asidin en iyi emilim gösterdiği dalga boyudur, dolayısıyla bu dalga boyunda yapılan ölçümler

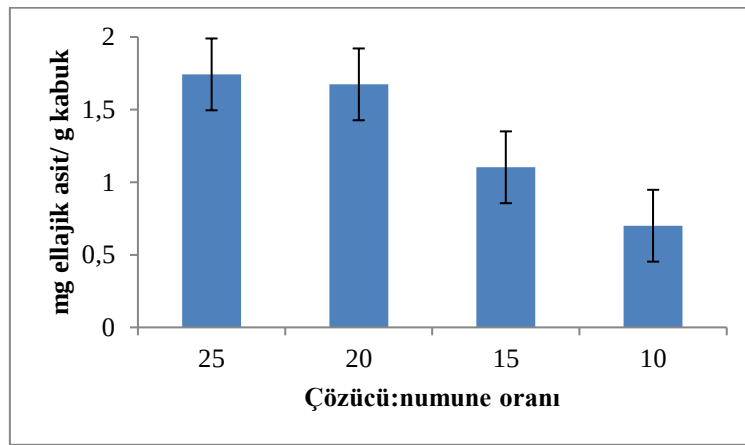
doğruluğu artırır. Sonuçların değerlendirilmesinde, kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak elde edilen verilerle, ekstraldaki ellajik asit miktarı belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisi, standart çözeltilerden elde edilen verilerle oluşturulmuş ve analitlerin bilinmeyen örneklerdeki miktarları bu eğriye dayalı olarak hesaplanmıştır.

3. Bulgular

Çözücü: numune oranı, çözücü: su oranı, çözücü cinsi ve parçacık boyutu parametre olarak seçilmiştir.

3.1. Çözücü: numune oranı

Parçacık boyutu 0.100 mm, etanol oranı %50, mikrodalga gücü 140 W ve süre yaklaşık 35 dakika olarak sabit tutulmuş ve 10, 15, 20 ve 25 çözücü numune oranlarında deneyler tekrarlanarak ellajik asit miktarına karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Çözücü:numune oranına göre ellajik asit miktarının değişimi

Figure 3. Variation of the amount of ellagic acid according to the solvent:sample ratio

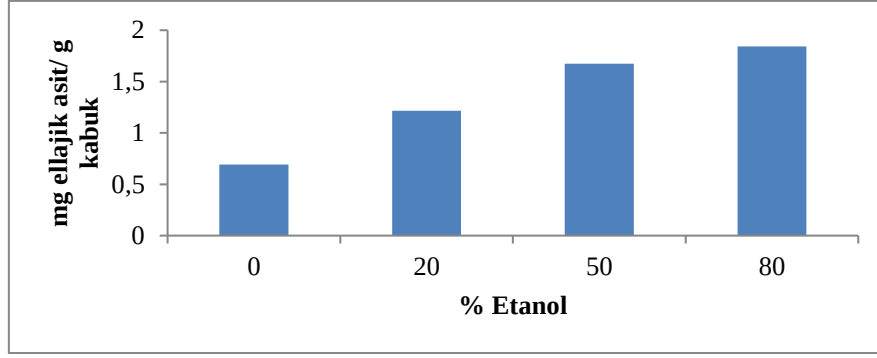
Şekilde görüldüğü üzere çözücü: numune oranı arttıkça ekstraksiyon veriminin arttığı görülmüştür, çözücü oranı arttırdıkça aradaki konsantrasyon farkı artacağından verimin arttığı düşünülmektedir. Çözücü oranı 25 olduğunda 1.743 mg EA g⁻¹ kabuk, 20 olduğunda ise 1.674 mg EA g⁻¹ kabuk edildiği görülmüş, bu değerler birbirine çok yakın olduğu için 20/1 çözücü-numune oranı daha fazla çözücü sarfiyatını engellemek için optimum olarak kabul edilmiş ve bir sonraki sette sabit alınmıştır. Optimum çözücü/numune oranında toplam fenolik

madde 235.27 mg GAE g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0.142 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur.

3.2. Çözücü cinsi ve çözücü su oranı

3.2.1. Etanol: su oranı

Parçacık boyutu 0.100 mm, çözücü numune oranı 20/1, mikrodalga gücü 140 W ve süre yaklaşık 35 dakika olarak sabit tutulmuş ve % 0, %20, %50 ve %80 etanol oranlarında deneyler tekrarlanarak ellajik asit miktarına karşı grafiğe geçirilmiştir. (Şekil 4)



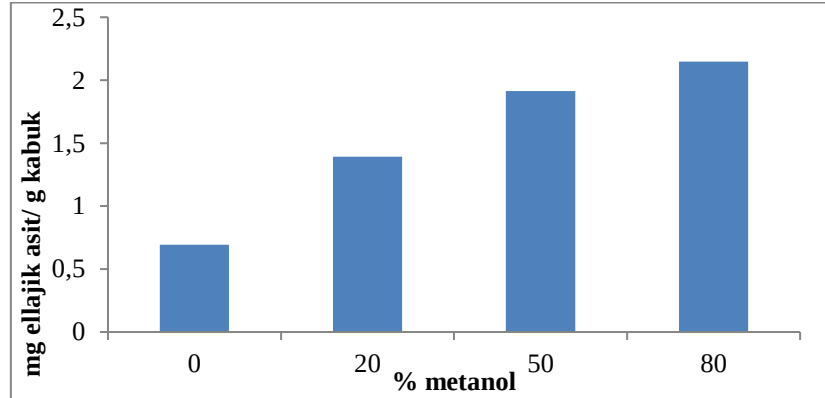
Şekil 4. Etanol:su oranına göre ellajik asit miktarının değişimi

Figure 4. Changes in the amount of ellagic acid according to ethanol:water ratio

En yüksek ellajik asit ekstrakte edilebilen etanol oranında (% 80) toplam fenolik madde 203.79 mg GAE g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0.135 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur.

3.2.2. Metanol: su oranı

Parçacık boyutu 0,100 mm, çözücü numune oranı 20/1, mikrodalga gücü 140 W ve süre yaklaşık 35 dakika olarak sabit tutulmuş ve % 0, %20, %50, %80 metanol oranlarında deneyler tekrarlanarak ellajik asit miktarına karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5).



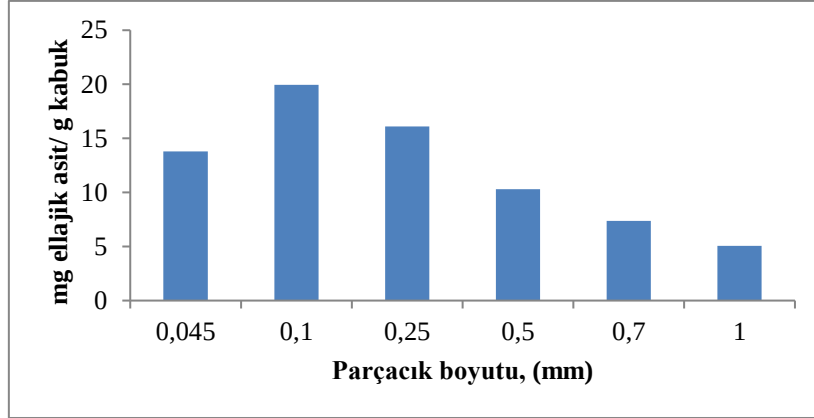
Şekil 5. Metanol:su oranına göre ellajik asit miktarının değişimi

Figure 5. Changes in the amount of ellagic acid according to methanol:water ratio

En yüksek ellajik asit ekstrakte edilebilen metanol oranında (%80) toplam fenolik madde 197 mg GAE g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0,113 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Şekil 4 ve 5' den görüldüğü üzere çözücü/su oranı arttıkça ekstrakte edilebilen ellajik asit miktarı artmaktadır. %80 etanol kullanıldığında 1.843 mg EA g⁻¹ kabuk, %80 metanol kullanıldığında 2.148 mg EA g⁻¹ kabuk olarak bulunmuştur.

3.3. Parçacık boyutu

Çözücü numune oranı 20/1, mikrodalga gücü 140 W ve süre yaklaşık 35 dakika, etanol oranı %80 olarak sabit tutulmuş ve 0.045 mm, 0.100 mm, 0.250 mm, 0.500 mm, 0.700 mm, 1.000 mm parçacık boyutlarında deneyler tekrarlanarak ellajik asit miktarına karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Parçacık boyutuna göre ellajik asit miktarının değişimi

Figure 6. Variation of the amount of ellagic acid according to particle size

Parçacık boyutu 0.100 mm olan numunede en yüksek verim elde edilmiştir.

3.4. Soxhlet ekstraksiyonu

Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile sonuçlarını karşılaştırmak üzere gerçekleştirilmiştir. %80 etanol : %20 su çözücü olarak kullanılmış olup, 20/1 çözücü/numune oranı, yaklaşık 7.5 saat ekstraksiyon süresi ve 70 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Bu şartlarda elde edilen ekstraktta 2.154 mg/g EA varlığı tespit edilmiş ve bu şartlarda toplam fenolik madde 219.37 mg GAE.g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0.131 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile nar kabuğunun ekstraksiyonunda özütlenen ellajik asit miktarını maksimize edecek şartların optimizasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla ilk olarak çözücü numune oranı incelenmiştir. Çözücü numune oranı arttıkça konsantrasyon farkından dolayı itici gücün artmasıyla verimin arttığı gözlenmiştir. Çözücü cinsi ve çözücü konsantrasyonu incelendiğinde etanol ya da metanol oranı arttıkça polarite arttığı için ekstrakte edilebilen ellajik asit miktarının arttığı gözlenmiştir. %80 metanol %20 su karışımının çözücü olarak kullanıldığı durumda ekstrakte edilebilen ellajik asit miktarı aynı oranda etanol kullanıldığı duruma

göre daha yüksektir. Ancak ekstrakte edilen bileşenler daha çok gıda ya da ilaç sanayide kullanıldığı için toksik olmaması nedeniyle endüstriyel boyuttaki uygulamalarda etanol tercih edilebilir. Parçacık boyutu küçüldükçe ekstraksiyon veriminin arttığı görülmüştür. Boyut küçüldükçe hem bitki hücresinin parçalanması ile ekstrakte edilebilir bileşenlerin çözücüye geçişi kolaylaşmakta, hem de toplam yüzey alanı arttığı için kütle transfer alanı da artmakta ve verim yükselmektedir. Ancak 0.045-0.100 mm aralığındaki en küçük parçacık boyutunda, 0.100-0.250 mm aralığındaki parçacık boyutuna oranla daha küçük bir verim elde edilmiştir. Bu durumda çok küçük tane boyutlarında parçacıklar birleşerek büyük bir kütle şeklinde davranıp çözücü ile temasının homojen olmasına engel olmuştur. En yüksek ellajik asit verimine, çözücü numune oranı 20/1, mikrodalga gücü 140 W, süre 35 dakika, metanol oranı %80, parçacık boyutu 0.100 mm-0.250 mm şartlarında çalışıldığında ulaşılmıştır. Bu şartlarda ellajik asit 2.148 mg g⁻¹ kabuk, toplam fenolik bileşen 197.02 mg GAE.g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0.113 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Aynı şartlarda %80 etanol kullanıldığında 1.843 mg EA g⁻¹ kabuk, toplam fenolik bileşen 203.79 mg GAE/g ve antioksidan aktivite 0.135 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Görüldüğü üzere aynı şartlarda ve aynı oranda metanol kullanıldığında ellajik asit verimi

etanol ekstraksiyonundan daha yüksek iken, toplam fenolik bileşen ve antioksidan aktivite değeri daha düşüktür. Soxhlet ile yapılan ekstraksiyon işlemi %80 etanol: %20 su çözücü olarak kullanılarak, 20/1 çözücü: numune oranı, yaklaşık 7.5 saat ekstraksiyon süresi ve 70 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Bu şartlarda elde edilen ekstraktta 2.154 mg g⁻¹ EA varlığı tespit edilmiş ve bu şartlarda toplam fenolik madde 219,37 mg GAE g⁻¹ ve antioksidan aktivite 0.131 mM Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında ellajik asit verimi biraz yüksek olmakla birlikte çok yakın iken, toplam fenolik bileşen ve antioksidan aktivite değerleri soxhlet ekstraksiyonunda daha düşüktür. Bu durumun uzun ekstraksiyon süresinde fenolik bileşenlerin ısı ile bozunmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Daha düşük çözücü miktarlarında ve daha kısa ekstraksiyon süresinde çalışılmasına imkân vermesi açısından mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi klasik ekstraksiyon yöntemlerine göre son yıllarda daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Demir ve arkadaşları (YIL) tarafından yapılan çalışmada toplam fenolik madde miktarında en yüksek değer 283.28 mg GAE g⁻¹ nar kabuğu olarak %25 etanol, 80 °C, 70 dk şartlarında ulaşıldığı, çözücü konsantrasyonundan çok sıcaklığın toplam fenolik madde üzerine etkili olduğu belirlenmiştir (Demir ve ark., 2019). Lu ve ark., %60 etanol kullanarak, 80 °C ve 2 saat ekstraksiyon süresinde 100 g nar kabuğundan 3.5 g ellajik asit elde etmişlerdir (Lu, 2007). Bir başka çalışmada ise en yüksek antioksidan aktiviteye nar çekirdeğinde metanol ekstraksiyonu ile ulaşırken, nar kabuğunda ise etanol kullanılarak ulaşılmıştır (Türkyılmaz ve ark., 2017) %60 etanol kullanılarak, oda sıcaklığında 26 dakikalık ultrasonik ekstraksiyon sonucu 1 g kuru nar kabuğundan ortalama 2,38 mg ellajik asit ekstrakte edilmiştir (Li ve ark., 2015). Çalışma sonuçları literatürle paralellik göstermektedir. Farklı çözücüler (aseton, asetonitril gibi) ve farklı ekstraksiyon yöntemleri (ultrases destekli ekstraksiyon, süperkritik çözücü ekstraksiyonu

vb.) kullanılarak sonuçlar iyileştirilebilir. Çalışmada hedeflenen mikrodalga gücü ve süre parametre olarak incelenememiştir. 140 W üzerindeki mikrodalga güçlerinde partiküller sürüklenerek geri soğutucuya taşınmış ve işlem tamamlanamamıştır. Dolayısıyla sadece en düşük mikrodalga gücü olan 140 W ta çalışılmıştır. Mikrodalga ekstraksiyonu, daha az çözücü kullanarak maliyetleri düşürür ve çevresel etkileri azaltırken, spesifik bileşiklerin ayrılmasında yüksek verim ve hassasiyet sağlar. Ayrıca, kimyasal atıkları minimize eder ve çevre dostu bir yaklaşım sunarak, daha saf ekstraktların elde edilmesine olanak tanır.

Yazarların Katkı Beyanı

Yazarlar makaleye eşit katkıda bulunduklarını, makalenin yayına hazır son halini gördüklerini/okuduklarını ve onayladıklarını beyan ederler.

Çıkar Çatışması Beyanı

Tüm yazarlar, bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Finansman

Bu çalışma, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından OKÜBAP-2017-PT2-002 nolu proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Akdağ, E., 2011. Türkiye Meyve Suyu vb. Ürünler Raporu, Meyve Suyu Endüstrisi Derneği, İstanbul, 9.
- Akhtar, S., Ismail, T., Fraternal, D., Sestili, P., 2015. Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features, *Food Chemistry*, 174: 417-425.
- Amyrgialaki, E., Makris, D.P., Mauromoustakos, A., Kefalas, P., 2014. Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and responsesurface methodology. *Industrial Crops and Products*, 59: 216-222.

- Barney, L.A., Tasca, J.A., Sanchez, H.A., Smith, C.R., Koptur, S., Livshultz, T., Minbiole, K.P., 2022. Corrigendum to Chemotaxonomic investigation of Apocynaceae for retronecine-type pyrrolizidine alkaloids using HPLC-MS/MS. *Phytochemistry*, 185: 112662.
- Çam, M., İçyer, N.C., 2015. Phenolics of pomegranate peels: extraction optimization by central composite design and alpha glucosidase inhibition potentials, *Journal Food Science Technology*, 52(3): 1489–1497.
- Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., Güngör, H., 2019. Nar kabuğundan antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu. *Gıda*, 44(2): 369-382.
- Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., Ferchichi, A., 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower, *Journal of Medicinal Plants Research*, 6: 4724-4730.
- Gullon, B., Pintado, M.E., Pérez-Álvarez, J.A., Viuda-Martos, M., 2016. Assessment of polyphenolic profile and antibacterial activity of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-product of juice extraction, *Food Control*, 59: 94-98.
- Ismail, T., Sestili, P., Akhtar, S., 2012. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects, *Journal of Ethnopharmacology*, 143: 397-405.
- Jain, V., Shastry, V., Divanji, M., Mundkinajeddu, D., 2011. Isolation and Standardization of Various Phytochemical Constituents from Methanolic Extracts of Fruit Rinds of *Punica granatum*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 9(6): 414-420.
- Lansky, E.P., Newman, R.A., 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer, *Journal of Ethnopharmacology*, 109: 177-206.
- Li, J., He, X., Li, M., Zhao, W., Liu, L., Kong, X., 2015. Chemical fingerprint and quantitative analysis for quality control of polyphenols extracted from pomegranate peel by HPLC. *Food Chemistry*, 176: 7-11.
- Lu, J., Ding, K., Yuan, Q., 2008. Determination of punicalagin isomers in pomegranate husk, *Chromatographia*, 68: 303-306.
- Lu, J., Wei, Y., Yuan, Q., 2007. Preparative separation of punicalagin from pomegranate husk by high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Chromatography*, B(857): 175-179.
- Middha, S.K., Usha, T., Pande, P., 2013. A review on antihyperglycemic and antihepatoprotective activity of eco-friendly *Punica Granatum* peel waste. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 656172: 1-10.
- Mushtaq, M., Sultana, B., Anwar, F., Adnan, A., Rizvi, S.S.H., 2015a. Enzyme-assisted supercritical fluid extraction of phenolic antioxidants from pomegranate peel, *The Journal of Supercritical Fluids*, 104: 122-131.
- Mushtaq, M., Sultana, B., Bhatti, H.N., Asghar, M., 2015b. RSM based optimized enzyme-assisted extraction of antioxidant phenolics from underutilized watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) rind, *Journal Food Science Technology*, 52(8): 5048–5056.
- Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K., Jena, B.S. 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts, *Food Chemistry*, 80: 393-397.
- Pereira de Melo, I.L., Teixeira de Carvalho, E.B., Mancini-Filho, J., 2014. Pomegranate seed oil (*Punica Granatum* L.): a source of punicic acid (Conjugated α -Linolenic Acid), *Journal of Human Nutrition & Food Science*, 2(1): 1024.

- Qu, W., Breksa, III, A. P., Pan, Z., Ma, H., 2012. Quantitative determination of major polyphenol constituents in pomegranate products, *Food Chemistry*, 132: 1585-1591.
- Qu, W., Pan, Z., Ma, H., 2010. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc, *Journal of Food Engineering*, 99: 16-23.
- Saad, H., Bouhtoury, F.C., Pizzi, A., Rode, K., Charrier, B., Ayed N., 2012. Characterization of pomegranate peels tannin extractives, *Industrial Crops and Products*, 40: 239-246.
- Sood, A., Gupta, M., 2015. Extraction process optimization for bioactive compounds in pomegranate peel, *Food Bioscience*, 12: 100-106.
- Tabaraki, R., Heidarizadi, E., Benvidi, A., 2012. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 98: 16-23.
- Tian, Y., Xu, Z., Zheng, B., Lo, Y.M., 2013. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20: 202-208.
- Türkyılmaz, M., Tağı, Ş., Özkan M., 2017. Effects of extraction solvents on polyphenol contents, antioxidant and antibacterial activities of pomegranate parts, *Akademik Gıda*, 15(2): 109-118.
- Wang, Z., Pan, Z., Ma, H., Atungulu, G.G., 2011. Extract of phenolics from pomegranate peels, *The Open Food Science Journal*, 5: 17-25.
- Wu, D., Ma, X., Tian, W., 2013. Pomegranate husk extract, punicalagin and ellagic acid inhibit fatty acid synthase and adipogenesis of 3T3-L1 adipocyte, *Journal of Functional Foods*, 5: 633-641.
- Wu, J., Jahncke, M.L., Eifert, J.D., O'Keefe, S.F., Welbaum, G.E., 2016. Pomegranate peel (*Punica granatum* L.) extract and Chinese gall (*Galla chinensis*) extract inhibit *Vibrio parahaemolyticus* and *Listeria monocytogenes* on cooked shrimp and raw tuna, *Food Control*, 59: 695-699.
- Wang, Y., Chu, L., Qu, J., Ding, B., Kang, X., 2024. A novel sample pretreatment of nanofiber-packed solid-phase extraction of aflatoxin B1, B2, G1 and G2 in foods and simultaneous determination with HPLC. *Food Chemistry*, 436: 137699.
- Yasoubi, P., Barzegar, M., Sahari, M.A., Azizi, M.H., 2007. Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts, *Journal. Agriculture Science. Technology*, 9: 35-42.
- Zahin, M., Ahmad, I., Gupta, R.C., Aqil, F., 2014. Punicalagin and ellagic acid demonstrate antimutagenic activity and Inhibition of Benzo [a] pyrene Induced DNA Adducts. *BioMed Research International*, 467465: 1-10.
- Zhang, X.H., Qing, X.D., Zheng, J.J., Yu, Y., Huang, J., Kang, C., Liu, Z., 2023. Aqueous two-phase systems coupled with chemometrics-enhanced HPLC-DAD for simultaneous extraction and determination of flavonoids in honey. *Food Chemistry: X*(19): 100766.

Atf Şekli	İçen, H., Mumcu Şimşek, H., 2025. Nar Kabuğunun Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonu İle Değerli Bileşiklerin Özütleme. <i>ISPEC Tarım Bilimleri Dergisi</i> , 9(2): 340-350. DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.14970199 .
To Cite	İçen, H., Mumcu Şimşek, H., 2025. Extraction of Valuable Compounds by Microwave Assisted Extraction of Pomegranate Peel. <i>ISPEC Journal of Agricultural Sciences</i> , 9(2): 340-350. DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.14970199 .