

BEZMİÂLEM
VAKIF ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ

**BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

**NAR (*PUNİCA GRANATUM L.*) MEYVE KABUKLARININ GIDA, KOZMETİK
VE BİTKİSEL İLAÇ SANAYİSİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Melike Nur AKBAŞ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

AĞUSTOS 2021

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NAR (*PUNICA GRANATUM L.*) MEYVE KABUKLARININ GIDA, KOZMETİK
VE BİTKİSEL İLAÇ SANAYİSİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Ecz. Melike Nur AKBAŞ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

Bu tez Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından 9.2019/3 proje numarası ile desteklenmiştir

AĞUSTOS 2021

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Fitofarmasi Uzmanlık Programında Eczacılıkta Uzmanlık Öğrencisi olan Ecz. Melike Nur AKBAŞ ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “NAR (*PUNICA GRANATUM* L.) MEYVE KABUKLARININ GIDA, KOZMETİK VE BİTKİSEL İLAÇ SANAYİSİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı tezini 03/08/2021 tarihinde aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Murat KARTAL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Emine AKALIN URUŞAK
İstanbul Üniversitesi



Biricik aileme,

ÖNSÖZ

Fitofarmasi uzmanlık eğitimimin her aşamasında, sahip olduğu bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Prof. Dr. Murat KARTAL'a değerli fikirleri, rehberliği ve akademik gelişimime olan katkıları için,

Çalışmalarımız ve kişisel gelişimimize verdiği destekler için bilgi ve becerilerimin artmasına önemli katkıları bulunan Sayın Dekanımız Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya ve Bezmialem Eczacılık Fakültesinde görev alan tüm değerli hocalarıma,

Fitoterapiye olan bilimsel yaklaşımı ile bilgi birikimi ve tecrübelerini sınırsız bir şekilde aktararak kendimi geliştirmeme destek olan Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Adem AKÇAKAYA'ya,

Uzmanlık eğitimim süresince eğitim gördüğüm, beni her aşamada destekleyen ve yardımcı olan başta Derya EGELİ, Kadriye COŞKUN, Şule YALÇIN olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Lisans eğitimimden bu yana desteğini her zaman yanımda hissettiğim bilgi ve tecrübelerini benimle her zaman paylaşan Z. Şevval AKSOYALP'e,

Laboratuar çalışmalarım boyunca benimle hem bilgi birikimlerini paylaşan hem de zamanını ayıran Nihal ZORLU ve Kevser SALİHLER başta olmak üzere Bezmialem Vakıf Üniversitesi Fitoterapi Merkezi'deki çalışma arkadaşlarıma,

Tezimin ve çalışmalarımın tüm süreçlerinde bana destek olan başta Bilgihan BAŞTUĞ olmak üzere Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi çalışanlarına,

Hayatımın her aşamasında her türlü desteğiyle yanımda olan sevgili annem, babam, ablam ve biricik yeğenime,

tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunuyorum..

Bugünlere gelip böylesi imkânlarla sahip olmamızı sağlayan; başta Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK ve silah arkadaşları olmak üzere, aziz şehitlerimize ve Türk milletine teşekkürü borç bilir, şükranlarımı sunarım.

AĞUSTOS 2021

Melike Nur AKBAŞ
(Eczacı)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Ecz. Melike Nur AKBAŞ

İmza

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	ii
BEYAN.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vi
SEMBOLLER	vii
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Tarihçe.....	3
2.2 Botanik bilgiler	3
2.2.1 Punicaceae Familyası	3
2.2.2 Punica L. cinsi	4
2.2.3 <i>Punica granatum</i> bitki türünün Özellikleri	4
2.3 <i>Punica granatum</i> Meyvesinin Kimyasal İçeriği	5
2.3.1 <i>Punica granatum</i> meyve suyunun kimyasal içeriği	5
2.3.2 Nar çekirdeğinin kimyasal içeriği	7
2.3.3 <i>Punica granatum</i> meyve kabuklarının kimyasal bileşimi.....	9
2.4 <i>Punica granatum</i> meyvesinin Farmakolojik özellikleri	11
2.4.1 Antioksidan aktivite	11
2.4.2 Antiinflamatuvar aktivite	11
2.4.3 Antidiyabetik aktivite.....	12
2.4.4 Nöroprotektif etki.....	12
2.4.5 Antitümoral aktivite	13
2.4.6 Kalp ve damar sağlığı üzerindeki aktivitesi	14
2.5 Gıda ve Gıda Takviyesi Endüstri Açısından Narın Önemi.....	16
2.5.1 <i>Punica granatum</i> meyve kabuklarının Prebiyotik Özellikleri	17
2.5.2 <i>Punica granatum</i> meyve kabuklarının Gıda koruyucu özelliği	19
2.6. <i>Punica granatum</i> Meyvesinin Kozmetik Endüstrisi açısından Önemi	20
2.7 Bitkisel Ekstraksiyon Yöntemleri	23
2.8 Sıvı Ekstrelerin Kurutulması.....	25
2.9 Kurutmaya Yardımcı Maddeler	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	28
3.1 Gereç	28
3.1.1 Bitkisel Materyel	28
3.1.2 Kullanılan kimyasallar	28
3.1.3 Kullanılan cihazlar	28

3.2 Yöntem.....	29
3.2.1 Ekstre ve çözeltilerin hazırlanması	29
3.2.1.1 Endüstriyel üretim öncesinde ideal ekstraksiyon çözücüsünün belirlenmesi için laboratuvar ölçekli hazırlanan ekstre ve çözeltiler	29
3.2.1.2 Endüstriyel üretim için ideal ekstraksiyon cihazının belirlenmesi	30
3.2.1.3 Endüstriyel üretim için ideal ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi .	32
3.2.2 HPLC (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) analizleri	34
3.2.2.1 Ekstrelerden HPLC analizleri için örnekler Hazırlanması.....	35
3.2.3 Total Fenolik Madde Miktar Tayini.....	36
3.2.4 Total Flavonoid Madde Miktar Tayini.....	37
3.2.5 Ekstreleri toz haline getirmek için kullanılacak yardımcı maddelerin oranının belirlenmesi.....	37
3.2.6 Kapsülleme işlemi	38
4. BULGULAR	39
4.1 İdeal Ekstraksiyon Çözücüsü	39
4.1.1 Laboratuvar Ölçekli numunelerde toplam fenolik madde miktar tayini ...	39
4.1.2 Laboratuvar Ölçekli numunelerde toplam flavonoid madde miktar tayini	40
4.1.3 Laboratuvar Ölçekli numunelerde elajik asit ve punikalagin miktar tayini	41
4.2 İdeal Ekstraksiyon Cihazı	44
4.2.1 İdeal ekstraksiyon cihazı seçimi için yapılan total fenol, total flavonoid ve HPLC analizleri.....	44
4.3 İdeal ekstraksiyon yöntemi	45
4.3.1 Endüstriyel üretime ait total fenolik madde miktar tayinleri	46
4.3.2 Endüstriyel üretime ait total flavonoid madde miktar tayinleri	46
4.3.3 Endüstriyel üretime ait % punikalagin madde miktar tayinleri	47
4.3.4 Endüstriyel üretime ait % elajik asit madde miktar tayinleri.....	48
4.4. Endüstriyel Üretimlerden elde edilen verimin Değerlendirilmesi	49
4.5 Endüstriyel Üretim ile elde edilen ekstrelerin toz haline getirilmesi.....	50
4.6 Her bir Kapsülün İçerik Tekdüzeliliği Analizi.....	53
5. SONUÇ ve TARTIŞMA	54
5.1 Dünyada ve Ülkemizde <i>Punica granatum</i> İçeren Müstahzar Örnekleri.....	61
5.1.1 Ülkemizde <i>Punica granatum</i> çekirdeği yağı, <i>Punica granatum</i> kabuk ekstresi müstahzar örnekleri.....	61
5.1.2. Dünyada <i>Punica granatum</i> çekirdeği yağı, <i>Punica granatum</i> kabuk ekstresi içeren müstahzar örnekleri.....	63
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ.....	76

KISALTMALAR

ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
AIJN	: Avrupa Meyve Suyu Birliği
COX-2	: Siklooksijenaz-2
GSH	: Glutasyon
HPLC	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
IFN-γ	: İnterferon-gama
LBP	: Lipopolisakkarit Bağlayıcı protein
LPS	: Lipopolisakkarit
MDA	: Malondialdehit
MMP	: Matriks metalloproteinaz
NF-κB	: Nükleer Faktör kappa B
PGE2	: Prostaglandin E2
PPE	: Nar KAbuk Ekstresi
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
IR	: İnfrared Işıma, Kızılötesi Işımlar
MCC	: Mikrokristal Selüloz
SiO2	: Silikon Dioksit
DMSO	: Dimetil Sülfoksit

SEMBOLLER

°C	: Derece Santigrat
g	: Gram
kg	: Kilogram
M	: Molarite
mL	: Mililitre
L	: Litre
h/h	: hacim/hacim
g/g	: gram/gram
%	: Yüzde
µl	: Mikrolitre
ppm	: Milyonda bir kısım

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 : <i>Punica granatum</i> L. bitki sistematığı	4
Tablo 2.2 : Nar suyunun bileşim özellikleri	6
Tablo 2.3 : Nar suyu tanı değerleri tablosu.	6
Tablo 2.4 : <i>Punica granatum</i> L bitkisinin farklı anatomik bölümlerine göre içerik analizi.	7
Tablo 2.5 : Nar çekirdeğinin yağ asidi kompozisyonu.	8
Tablo 2.6 : Soğuk pres nar çekirdeği yağının fenolik konsantrasyonu.	9
Tablo 4.1 : Farklı çözücüler kullanarak hazırlanan laboratuvar ölçekli ekstrelerin toplam fenolik miktarları.....	40
Tablo 4.2 : Farklı çözücüler kullanarak hazırlanan laboratuvar ölçekli ekstrelerin toplam fenolik miktarları	41
Tablo 4.3 : Laboratuvar ölçekli hazırlanan numunelerdeki % elajik asit miktarları. 43	
Tablo 4.4 : Laboratuvar ölçekli hazırlanan numunelerdeki % punikalagin miktarları	44
Tablo 4.5 : 1. Üretimdeki etil alkol ekstrelerin farklı ekstraksiyon cihazları ile analiz sonuçları.	45
Tablo 4.6 : Üretimler arası % fenolik değerler arası farklılık.	46
Tablo 4.7 : Üretimler arası % flavonoid değerler arası farklılık.	47
Tablo 4.8 : Üretimler arası % punikalagin değerleri arası farklılık.	48
Tablo 4.9 : Üretimler arası % elajik asit değerler arası farklılık.	49
Tablo 4.10 : Üretimler arası ekstre miktarları arası farklılık	49
Tablo 4.11 : Üretimler arası % Verim arası farklılık	50
Tablo 4.12 : 10 kapsüle ait % elajik değerleri.....	53

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Punica granatum L. meyvesinin anatomik kısımlarının yüzdesi.	5
Şekil 3.1 : 1. üretime ait üretim prosesi	32
Şekil 3.2 : Elajik asit standard kalibrasyon grafiği	35
Şekil 3.3 : Punikalagin (punikalagin α ve β) standard kalibrasyon grafiği	35
Şekil 4.1 : Gallik asit cinsinden fenolik madde konsantrasyon grafiği	39
Şekil 4.2 : Kersetin cinsinde flavonoid madde konsantrasyon grafiği	40
Şekil 4.3 : Total fenol ve flavonoid plate ekim örneği	41
Şekil 4.4 : Elajik asit standard kalibrasyon grafiği	42
Şekil 4.5 : Elajik asit kromatogram görüntüsü	42
Şekil 4.6 : Toplam punikalagin standard grafiği	43
Şekil 4.7 : Punikalagin α ve Punikalagin β kromatogram	43
Şekil 4.8 : Endüstriyel üretimle üretilen ekstrelere ait örnek kromatogram görüntüsü. Punikalagin α , punicalagin β , serbest elajik asit (hidroliz edilmemiş)	47
Şekil 4.9 : Endüstriyel üretimle üretilen ekstrelere ait örnek kromatogram görüntüsü. Hidroliz edilmiş elajik asit.	48
Şekil 4.10 : Tozlaşmaya yardımcı madde ilave edildikten sonra ekstrelerin görüntüsü (vakum etüv öncesi)	51
Şekil 4.11 : Kurutma sonrası ekstrelerin görüntüsü.....	51
Şekil 4.12 : Son ürün haline gelen nar ekstresi görünümü	53
Şekil 5.1 : Nar meyve kabuğunun gıda ve bitkisel ilaç sanayinde kullanılarak yüksek verim elde edilmesi	58
Şekil 5.2 : Nar meyve kabuklarının bitkisel ilaç, kozmetik ve gıda sanayisindeki kullanım olanakları	60

NAR (*PUNICA GRANATUM L.*) MEYVE KABUKLARININ GIDA, KOZMETİK VE BİTKİSEL İLAÇ SANAYİSİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Nar ağacı (*Punica granatum L.*) 2-5 metre uzunluğuna ykselebilen çalımsı, uzun ömürlü bir ağaç türüdür. Türkiye, narın anavatanı sınırları içindedir ve yetiştiriciliği için uygun özelliklere sahiptir. Ülkemizde Hicaznar (Hicaz Narı), Fellahyemez, Lefan, Katırbaşılı, Ernar, Katırbaşılı, Ekşi Göknar, Erdemli Aşınar, Ekşilik gibi nar çeşitleri bulunmaktadır.

Nar meyvesi, besin değerlerinin yanında sağlık açısından pek çok yararı bulunmaktadır. Bu sebeple fonksiyonel gıda kategorisinde değerlendirilmektedir. Meyvesinin kabuk kısımları, sağlık açısından faydalı olduğu düşünülen fenolik maddeler yönünden zengindir. Bu çalışmada ülkemizin doğal florasında bulunan *Punica granatum L.* meyve kabuklarının gıda, kozmetik ve bitkisel ilaç sanayisindeki kullanım olanaklarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Endüstri ölçekli üretim yapılmadan önce laboratuvar ölçekli ekstratler hazırlanmış ve bu ekstratlerde total fenolik, total flavonoid ve HPLC (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) analizleri yapılmıştır. Folin-Ciocalteu yöntemi üzerinden yapılan total fenolik madde miktarı en yüksek bulunan ekstraksiyon çözücüsü % 70 (g/g) etil alkoldür. Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi üzerinden yapılan total flavonoid madde miktarı açısından en yüksek bulunan ekstraksiyon çözücüsü %40 (g/g) etil alkoldür. Major etkin madde olan elajik asit açısından en yüksek bulunan ekstraksiyon çözücüsü %50 (g/g) etil alkoldür. Ön çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda endüstriyel üretim için %50 (g/g) etil alkol çözeltisi ekstraksiyon çözücüsü olarak kabul edilmiştir. Nar kabukları alkol ve suyla eşit oranda ve ayrı ayrı ekstre edilerek verim artırılması amaçlanmıştır.

Nar meyve kabuğu meyvenin yaklaşık olarak % 40-50'sine karşılık gelmektedir. Endüstride narın işlenmesi sonucu yoğun fenolik içeren bu kısımlar sıklıkla atılmakta veya hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Elde edilen sonuçlar ve literatür taramaları ile bu çalışmamız narın işlenmesi sonucu atılan kısımlarının gıda, kozmetik ve bitkisel ilaç sanayisine geri kazandırılma ve gelecekteki kullanım olanakları konusunda ışık tutmuştur. Ayrıca ülkemizde doğal olarak yetişen nar meyvesi ilaç adayı moleküllerin elde edilmesinde potansiyel kaynak olarak görülebilir.

Anahtar Kelimeler: *Punica granatum*, ekstre, fenolik bileşikler

EVALUATION OF POMEGRANATE (*PUNICA GRANATUM L.*) FRUIT PEELS IN FOOD, COSMETIC AND HERBAL PHARMACEUTICAL INDUSTRY

SUMMARY

The pomegranate tree (*Punica granatum L.*) is a bushy perennial tree species that can reach 2-5 meters in length. Turkey is within the borders of the homeland of pomegranate and has suitable features for its cultivation. In our country, there are some pomegranate varieties such as Hicaznar (Hicaz Narı), Fellahyemez, Lefan, Katırbaşılı, Ernar, Katırbaşılı, Ekşi Göknar, Erdemli Aşınar, Ekşilik.

Pomegranate fruit has many health benefits besides its nutritional values. For this reason, it is evaluated in the functional food category. The peel of the pomegranate fruit is rich in phenolic substances thought to be beneficial for health. In this study, it is aimed to illuminate the possibilities of using *Punica granatum L.* fruit peels, which are found in the natural flora of our country, in the food, cosmetics and herbal medicine industry.

Before the industrial scale production, laboratory scale extracts were prepared and total phenolic, total flavonoid and HPLC (High-performance liquid chromatography) analyzes were performed on these extracts. The extraction solvent with the highest total phenolic quantity is 70% (g/g) ethyl alcohol using the Folin-Ciocalteu method. The extraction solvent with the highest total flavonoid quantity is 40% (g/g) ethyl alcohol using the aluminum chloride colorimetric method. The extraction solvent with the highest amount of major active ingredient ellagic acid is 50% (g/g) ethyl alcohol. In line with the results obtained from the preliminary studies, 50% (g/g) ethyl alcohol solution was accepted as the extraction solvent for industrial production. It is aimed to increase the yield by extracting the pomegranate peel with alcohol and water in equal proportions and separately.

Pomegranate peel corresponds to approximately 40-50% of the fruit. As a result of the processing of pomegranate in the industry, these parts containing intense phenolics are often thrown away or used as animal feed. With the results obtained and the literature review, this study sheds light on the recycling of the discarded parts of the pomegranate to the food, cosmetics and herbal medicine industry and the possibilities for future use. Also, pomegranate fruit, which grows naturally in our country, can be seen as a potential source for obtaining drug candidate molecules.

Keywords: *Punica granatum*, extract, phenolic compounds

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Nar, Punicaceae familyasının Punica cinsine ait olup, en önemli türü *Punica granatum* L.'dur. Narın kültür tarihi insanlık tarihi kadar eski olup çeşitli kaynaklarda yetiştiricilik geçmişinin 5.000 yıl öncesine dayandığı belirtilmektedir.

Temel beslenme fonksiyonlarının yanı sıra fizyolojik faydalar sağlayan ve hastalıkların önlenmesinde veya kronik hastalıkların ilerleyişini yavaşlatmada önemli rol oynayabilen besinler fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir [1]. Nar meyveleri, tohumları ve kabukları geçmişten günümüze kadar sağlık amacıyla yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Nar meyvesi flavonoidler, ellajitanenler, ellajik asit, vitaminler ve mineraller gibi çok fazla değerli bileşen içermektedir [2]. Hastalık riskini azaltmada yararlı zengin madde grubu içermesinden dolayı tıbbi ve beslenme ürünü olarak değerlendirilen nara ilgi son yıllarda artmış durumdadır. Son zamanlarda tüketiciler de sağlıklı bir hayat sürebilmek için normal beslenmenin ötesinde ilave faydalar getiren fonksiyonel gıda türlerine yönelmektedirler. Nar meyvesi içeriğindeki zengin kimyasallar sebebiyle antiaterojen, antioksidan, antiinflamatuvar gibi tıbbi etkiler gösterdiği için fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilebilmektedir [3]. Nar suyu veya ekstresinin rutin takviyesinin diyabet ve kardiyovasküler hastalık dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara karşı koruyabileceğine dair çok fazla onaylanmış çalışma bulunmaktadır. Bunun yanında doğal yaşlanma ve ultraviyole (UV) kaynaklı cilt hasarlarında cilt sağlığını koruma ve kozmetik amaçlı kullanımı da yaygındır [3].

Narın anavatanı Güney Kafkasya, İran, Afganistan, Güney Asya, Batı Asya, Anadolu ve Akdeniz arasında kalan bölgeleri kapsamaktadır [4]. Türkiye, narın anavatanı sınırları içindedir ve yetiştiriciliği için uygun özelliklere sahiptir [5]. Nar taze meyve olarak tüketilmekle birlikte ekşisi, konsantresi, meyve suyu, reçeli, konservesi gibi ürünleri de işlenmektedir. Narın bu şekilde işlenmesi sonucu açığa çıkan kabuklar ise atılmakta veya hayvan gübresi olarak kullanılabilir. Oysaki nar meyve kabuğu yüksek fenolik bileşikler sebebiyle sağlık açısından yarar sağlayan bir biyoattıktır. Bu yüzden narın işlenmesi sonucu ortaya çıkan bu biyoattıkların endüstriye kazandırılıp ülkemiz ekonomisine katkı sağlaması gerekmektedir.

Bu alışmamızda besin amacıyla tükettiğimiz narın işlenmesi sonucu ortaya çıkan kabuklarının kullanım sahası olan ilaç, gıda ve kozmetik endüstrideki önemi vurgulanacaktır. Nar meyve kabuklarından elde edilen ekstrelerin içerik, verim analizi yapılarak ilaç ve gıda endüstrisi açısından uygun ekstraksiyon metotları ve üretim parametreleri değerlendirilecektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Narın (*Punica granatum*) kültürel tarihi insanlığın geçmişi kadar eskiye dayanmakta olup bazı kaynaklarda nar yetiştiriciliğinin 5.000 yıl öncesine dayandığı belirtilmektedir. Bronz çağı dönemlerinden kalma nar kabuklarına ait fosiller Ürdün Nehrinin batı tarafı civarında bulunmuştur [6]

Latince adı *Punica granatum* olarak adlandırılan nar bitkisi tarihte ilk olarak Romalı tarihçi Büyük Pliny'in "natural history" adlı kitabında kartaca elması olarak geçmektedir. Akdeniz havzasında ilk nar ticaretinin Kartacalılar tarafından yapılmasından dolayı "Kartaca (Fenike) Elması" (The apple of Carthage / Carthaginian apple) adı bu sebeple ortaya çıkmıştır. Narın şimdiki bilinen adı olan *Punica granatum* ismi Linneaus tarafından verilmiştir. Bu adını Orta Çağ'da çekirdekli elma anlamına gelen "Pomumi granatum" dan aldığı belirtilmektedir [7].

Bu meyvenin kullanıldığı her topluluk ve medeniyet bu meyveye farklı anlamlar yüklemiştir. Örneğin Babil toplumu, nar tohumlarını diriliş sembolü olarak görürken, Persler savaşlarda yenilmezlik sembolü olarak görmüştür. Çinliler için ise tohumların ölümsüzlüğü sembolize ettiğine inanmaktadır [8].

2.2 Botanik bilgiler

2.2.1 Punicaceae Familyası

Botanik sınıflandırma açısından nar (*P. granatum*), guava (*Psidium sp.*) ve feijoa (*Feijoa sp.*) gibi diğer birkaç meyve türüne de ev sahipliği yapan Myrtales takımına aittir. Nar (*Punica granatum*) kendi botanik ailesinden yani Punicaceae familyasından gelmektedir [9]. Daha önceki morfolojik çalışmalar ile *Punica* cinsinin familyası olarak Lythraceae belirtilmiştir. Ancak bu sınıflandırma ile ilgili çok fazla tartışma bulunmaktadır. Derimsi ekzokarpı, etli tohumları, yenilebilir sarkotestası (tohum gömleğinin etlenmesi ile meydana gelmiş bir dış besi dokuya sarkotesta denir) ve

ovüllerinin etrafında bulunan ince zar gibi yapıları sebebiyle Lythraceae familyasından ayrı olup Punicaceae familyasına ait olduğu belirtilmektedir [10].

2.2.2 Punica L. cinsi

Punicaceae ailesinde sadece bir cins olan Punica ve baskın bir tür olan Punica granatum bulunmaktadır. Punica cinsinin diğer türü Punica protopunica Balf'tır [11]. Punica'daki ikinci tür olan P. protopunica, yalnızca Arap Yarımadası'nın Sokotra adasında bulunan endemik bir türdür gelmektedir [9]. Nar bitki sistematığı Tablo 2.1'de sunulmuştur.

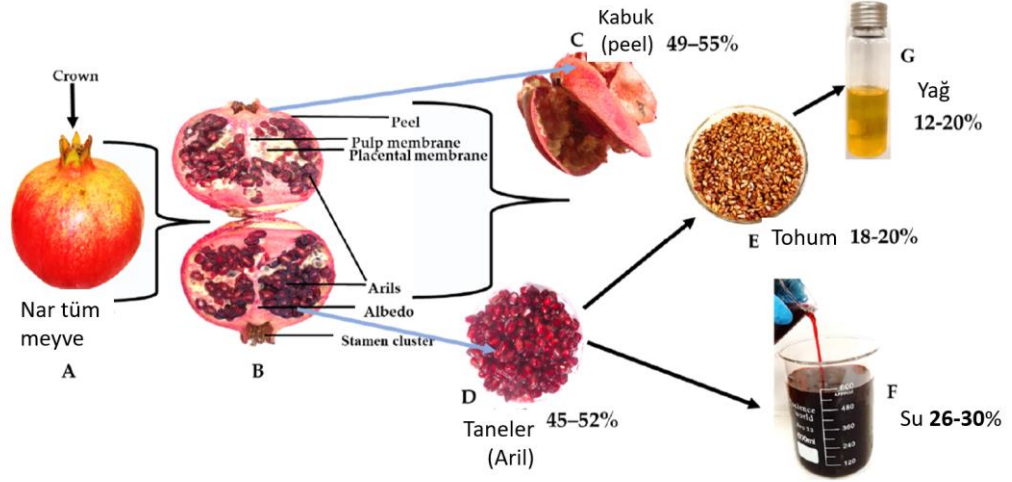
Tablo 2.1 : Punica granatum bitki sistematığı

Alem	Plantae
Bölüm	Magnoliophta
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Myrtales
Aile	Punicaceae
Cins	Punica
Tür	Punica granatum Linn. Punica protopunica Balf.

2.2.3 Punica granatum bitki türünün Özellikleri

Nar ağacı Mayıs-Haziran aylarında çiçek açan, açık renkli yapraklara sahip, 2-5 m. uzunluğuna yükselebilen çalimsı, uzun ömürlü bir ağaç türüdür. Çiçekleri portakal kırmızısı renktedir ve hemen hemen sapsızdır. Koyu yeşil renkli, derimsi, tüysüz olan yaprak 4-8 cm uzunluğunda ve şekli lanseolattır. Meyve iri (5-14 cm çapında), portakal büyüklüğünde küresel ve üstten hafif basıktır. İçi tohumla doludur ve derimsi bir kabukla kaplıdır. Kabuk 1-5 mm kalınlığında beyazımsı sarı, pembe veya kırmızı renklidir. Meyvenin yenen kısmı ise arillerden (tane) oluşur. Ariller tüm meyvenin ağırlıkça %45-52'sini oluşturmaktadır. Beyaz süngerimsi loküller ile çevrelenmiştir. Bu kısma mezokarp denir. Meyvenin epikarbu yani kabuğu, çeşidine bağlı olarak meyvenin ağırlığının yaklaşık %49 ila 55'ini oluşturmaktadır. Meyve ağırlığının yaklaşık %18-20'sini oluşturan ve yağ içeren çok sayıda tohuma sahiptir [12]. *Punica granatum* meyvesinin anatomik kısımlarının yüzdesi Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

Ülkemizdeki belli başlı nar çeşitlerimizden; Hicaznar (Hicaz Narı), Fellahyemez, Lefan, Katırbaşlı, Ernar, Katırbaşlı, Ekşi Gökmar, Erdemli Aşnar, Ekşilik'tir [13].



Şekil 2.1 : *Punica granatum* meyvesinin anatomik kısımlarının yüzdesi [12].

2.3 *Punica granatum* Meyvesinin Kimyasal İçeriği

2.3.1 *Punica granatum* meyve suyunun kimyasal içeriği

Meyvelerin kimyasal bileşimi, kültüre, yetiştirme bölgesine, iklime, olgunluğa, kültürel uygulamaya ve depolamaya bağlı olarak farklılık göstermektedir.

Aril olarak adlandırılan narın yenebilen kısmı olan taneleri, tüm meyvenin %52'sini oluşturmaktadır. Tanelerin de %78'i sulu kısım, %22'si ise çekirdekten oluşmaktadır. Yaklaşık %40'lık kısım nar kabuğu ve çekirdeğinden oluşmaktadır [14]. Nar tanelerinin 100 g'da; %79 su, %18 karbonhidrat, %1,1 protein ve %0,9 yağ olduğu ve 70 kcal/100 g enerji verdiği bilinmektedir [15].

Ülkemizde nar içeriğine yönelik yapılan kapsamlı bir araştırmada farklı yörelerden alınan 120 narın preslenmesi sonucu elde edilen nar suyuna yönelik içerik analizi yapılmıştır. Buna göre içerik öğeleri aşağıdaki Tablo 2.2'de sunulmuştur [16]

Tablo 2.2 : Nar suyunun bileşim özellikleri [16]

ÖZELLİK	ORTALAMA	MAKSİMUM	MINUMUM
pH	3.53	4.41	2.4
Titrasyon asitliği (g/L)	8.58	55.2	2.0
Sitrik asit (g/L)	5.47	32.8	0.28
Malik asit (g/L)	0.87	2.83	0
İndirgen şeker (g/L)	153.2	194.2	110.4
Glukoz (g/L)	64.8	82.7	47.1
Fruktoz (g/L)	71.5	97.8	51.7

Ticari olarak üretilen nar suları sıklıkla meyvelerin preslenmesi sonucu oluşmaktadır. Nar kabuğu antioksidan aktivitesi tanelerine oranla daha fazladır. Gil ve ark., ticari olarak satılan nar sularının daha yüksek antioksidan aktivite göstermelerinin sebebinin nar suyu üretiminde meyvenin bütün olarak preslenmesi sonucu nar suyuna geçen polifenollerden kaynaklandığını belirtmiştir [17].

Kabuk ve mezokarptan presleme miktarı ile nar suyuna geçen elajitanenler arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Sadece nar tanelerinden elde edilen nar suyu örneklerindeki punikalagin oranlarının kabuk ile birlikte preslenmesinden elde edilen punikalagin miktarına göre daha düşük çıkması bu durumu doğrulamaktadır [18].

Avrupa Meyve Suyu Birliği (AIJN) tarafından yayınlanan nar suyu tanı değerleri kılavuzunun 2015 yılı revizyonunda nar suyunun özelliklerine ve limit değerlerine ayrıntılı olarak yer verilmiştir. AIJN kılavuzundaki bazı referans değerler Tablo 2.3'te sunulmuştur [19].

Tablo 2.3 : Nar suyu tanı değerleri tablosu [19].

ÖZELLİK	LİMİTLER
Titrasyon asitliği (g/L)	2-45 (Susuz sitrik asit cinsinden)
Sodyum (Na) (mg/L)	Max 30
Potasyum (K) (mg/L)	1300-3000
Magnezyum (Mg) (mg/L)	20-110
Kalsiyum (Ca) (mg/L)	5-120
Fosfor (P) (mg/L)	50-170
Glukoz (g/L)	40-80
Fruktoz (g/L)	45-100
Sorbitol (mg/L)	Maks. 250
L-malik asit (g/L)	Maks. 1,5
Antosiyantinler	delfinidin-3,5- diglukosit, siyanidin-3,5- diglukosit, siyanidin-3-O-glukosit, delfinidin-3-O-glukosit. Pelargonidin-3-O- glukosit 3,5- diglukosit

Meyve, meyve ağırlığının yaklaşık % 0.2-1.0'ını oluşturan zengin bir flavonoid içeriğine sahiptir. Nar suyunda bulunan temel polifenol çeşitleri; antosiyaninler, elajitanenler, gallotanenler, gallagil esterler, hidroksi benzoik asitler, hidroksisinamik asitler ve dihidroflavanollerdir [18]. Antosiyanidinlerinin yaklaşık % 30'u kabuk kısmında bulunmaktadır [20]. Polifenoller içerisinde en baskın olanlar antosiyaninler ve elajitaninlerdir [21]. Major antosiyanin bileşeni ise siyanidin-3,5-diglikozittir (%56,4). Daha sonra: siyanidin-3-glukozit, delfinidin-3,5-diglukosit, delfinidin-3-glukosit, pelargonidin-3,5-diglukosit, pelargonidin-3- glukosit gelmektedir (Tablo 2.3) [19].

Nar polifenolleri, nar meyvesinin farklı kısımlarında farklı yoğunluklarda bulunmaktadır. Nar bitkisinin farklı anatomik kökenlerine göre içerdiği polifenol kısımları aşağıdaki Tablo 2.4'te özetlenmiştir [22].

Nar meyvesinin yenilebilir kısmı (%50)'nin %40 tanelerden ve %10'u çekirdekten oluşmaktadır. Taneleri %85 oranında su %10'u temel olarak fruktoz ve sakkaroz gibi şekerler ve %1.5'i de pektin, askorbik asit, sitrik asit, malik asit gibi organik asitler ve fenol, flavonoid ve antosiyaninler gibi biyolojik bileşenler içerir [23, 24].

Tablo 2.4 : Punica granatum bitkisinin farklı anatomik bölümlerine göre içerik analizi [22].

NAR MEYVESİNİN İLGİLİ KISMI	İÇİNDEKİLER
Kabuk ve Perikarp	Antosiyanidinler, fenolik punikalaginler, gallik asit, kateşin, flavon, flavonon
Suyu	Rutin, kersetin, antosiyaninler, glikoz, askorbik asit, ellagik asit, gallik asit, kateşin, mineraller, amino asitler,
Çekirdek	Steroller, ellagik asit, %95 punisik asit
Çiçek	Gallik asit, ürosolik asit, maslinik ve asyatik asit dahil triterpenoidler
Kabuk ve kök	Piperidin alkaloidler, elajitanen, Punikalın ve punikalagin
Yaprak	Apigenin, Tanenler, flavon glikozitler, luteolin,

2.3.2 Nar çekirdeğinin kimyasal içeriği

Nar meyveleri, çeşide bağlı olarak kilogram başına 40 ile 100 gr arasında değişen önemli miktarda tohum içermektedir. Kuru madde üzerinden kilogram başına 66.3–193 g oranında lipit içermektedir [25]. Lipitlerden başka, lignin, selüloz ve polisakkaritler de içermektedir [26].

Soğuk pres, herhangi ısı ve kimyasal işlem gerektirmeyen bir yöntemdir. Presleme, genellikle yağ eldesi sürecinin ilk aşaması olarak bildirilmiştir [27]. Rafine edilmiş yağlara göre, daha kaliteli ve besin değeri yüksek yağ elde edilmesinden dolayı, son yıllarda bu yöntemle olan ilgi artmıştır. Kullanımı basit ve kolay olan bu yöntemin, oldukça az miktarda enerji gerektiriyor olması, çözgen kullanılmaması, diğer yöntemlerde olduğu kadar yüksek sıcaklıklara çıkılmaması, yağın en önemli kalite unsurlarından biri olan yüksek polifenol bileşiklerini koruyarak, bu bileşiklerin doğal antioksidatif özellikleri sayesinde yağda radikallerden kaynaklanan oksidatif bozulmalara engel olması soğuk pres yönteminin önemli avantajlarından [28].

Bu yöntem bir diğer ekstraksiyon yöntemi olan sıcak presleme yöntemi ile kıyaslandığında yağ verimi düşük kalmakta fakat sıcak preslemede uygulanan ısı işleminden kaynaklanan istenmeyen renk, koku ve tat bileşikleri oluşmamaktadır [29]. Sıcak presleme ile daha iyi verim alınır da, bu sırada istenmeyen müsilaj, renk, koku ve tat veren yabancı maddeler ve serbest yağ asitleri yağa karışırlar [30].

Tohumlar, zengin lipit kaynağıdır; nar çekirdeği yağı, toplam tohum ağırlığının % 12 ile % 20'sini oluşturmaktadır [31]. Nar çekirdeği yağı, konjuge yağ asitleri bakımından (linoleik ve linolenik yağ asitleri) zengindir [32]. Nar çekirdeği yağının yaklaşık %6'sı ise linoleik asitten %80'i punisik yağ asitinden oluşmaktadır [33]. Yağ asiti bileşiminin %95'i ise triaçilgliserollerden oluşmaktadır [34]. Tablo 2.5'te nar çekirdeği yağının kimyasal bileşimi verilmiştir.

Tablo 2.5 : Nar çekirdeğinin yağ asidi kompozisyonu [33].

YAĞ ASİDİ	MİKTARI
Palmitik (C16:0)	4.62±0.48
Stearik (C18:0)	2.77±0.22
Oleik (C18:1)	6.83±0.58
Linoleik (C18:2)	5.81±0.37
Punisik (C18:3)	78.83±2.61
Araşidik (C20:0)	1.14±0.011

E vitamini açısından zengin olan nar çekirdeği yağı fenolik maddeler açısından da önemli bir kaynaktır. Aşağıda soğuk pres yöntemi ile elde edilen nar çekirdeği yağına ait fenolik ürün kompozisyonu Tablo 2.6'da listelenmiştir [35].

Tablo 2.6 : Soğuk pres nar çekirdeği yağının fenolik konsantrasyonu [35].

BİLEŞİK	mg/100 g
Gallik asit	2.90 ± 0.40
Gallokateşin	120.2 ± 1.5
Epigallokateşin	40.93 ± 2.61
Kateşin	8.95 ± 0.85
Klorojenik asit	7.54 ± 0.10
Epikateşin	402.9 ± 4.2
P-kumarik asit	349.8 ± 18.6
Kuersetin	300.2 ± 17.4
Resveratrol	4.37 ± 0.45
Kateşin gallatı	7.42 ± 0.48
Kuersetin hidrat	2.37 ± 0.18
Kaemferol	11.59 ± 0.44

2.3.3 Punica granatum meyve kabuklarının kimyasal bileşimi

Genellikle tarımsal-endüstriyel atık olarak kabul edilen nar kabuğu, sekonder metabolitleri ve besinsel değerleri açısından potansiyel bir kaynaktır [36]. Güçlü biyolojik aktivitesi içeriğinde bulunan flavonoidler ve fenolik bileşikler gibi özel kimyasal bileşimi ile ilgilidir [12].

Kabuklardaki fenolik miktarı, koyu kırmızı renkli çeşitlerde açık renkli çeşitlere göre daha yüksek konsantrasyonda bulunduğu bildirilmektedir [37].

Araştırmaların çoğunun nar kabuğundan elde edilen fenolik bileşiklere odaklanmış olmasına rağmen, son yıllarda nar kabuğunun zengin bir biyoaktif polisakkarit kaynağı olduğu da vurgulanmıştır. Pektin majör polisakkarittir ve nar kabuğunda % 20-25 oranında bulunmaktadır [38]. Gavlighi ve ark., İran da yetiştirilen bir nar çeşidinde nar kabuğundan izole edilmiş polisakkaritlerin % 19.9–30.8 aralığında üronik asitler ve % 32.1-51.1 oranında nötr şekerden oluştuğu bildirilmiştir. Nar kabuğundaki protein oranıyla ilgili çalışma sayısı az olsa da yaklaşık olarak % 3 olarak bulunduğu bildirilmiştir [39].

Nar kabuğu, gallik, elajik, vanillik, kafeik, ferulik, sinnamik ve p-kumarik asitler gibi önemli miktarda fenolik asit kaynağıdır [39]. Fenolik içerik miktarı bitkinin yetişme ortamına göre değişmektedir. Nar kabuk ekstresindeki elajik asit seviyeleri Tunus, İspanya ve İtalya'daki narlarda sırasıyla 7.3, 16.5 ve 8.4 mg/g olarak ölçülmüştür [40-42]. Mısır narında (Wonderful çeşidi) ölçülebilen ana fenolik asit çeşitleri ise elajik asit (12,56 mg / g), gallik asit (2,5 mg / g), sinnamik asit (2,5 mg / g), klorojenik asit (1.56 mg / g) ve kumarin asidi (0.91 mg / g)'dir [39].

Nar meyve kabuğu, kateşin, epikateşin, kuersetin, rutin, kaempferol, hesperidin, antosiyaninler ve prosiyanidinler gibi farklı flavonoidler için zengin bir kaynaktır [43, 44]. Fenolik asitlerde olduğu gibi, flavonoidlerin miktarları ve bileşimleri nar çeşidine, olgunluk aşamasına ve meyvenin depolanmasına bağlı olarak değişmektedir [43, 44]. Russo ve ark., tarafından yapılmış bir çalışmaya göre 6 farklı İtalyan narının metanolik ekstraktlarının kateşin miktarı 0.89 ile 11.7 mg/g arasında bulunurken meyvenin yenilebilir aril kısmında bu oranın çok düşük olduğu belirtilmiştir [42]. Kabuktaki rutin miktarı 4.5 mg/g olarak bulunurken pulp kısmında rutin tespit edilememiştir [42]. Başka bir çalışmada [45], Mısır'daki nar meyve kabuk ekstraktlarında hesperidin'in (5.047 mg / g) major flavonoid olduğu ve bunu quercetin'in (3.519 mg / g) izlediği belirtilmiştir. Bazı yazarlar, uzun süreli depolamanın nar meyvesindeki flavonoidlerin stabilitesini etkileyebileceğini öne sürmüştür. Mphahlele ve ark. [44], 3 ay soğuk depolama sonucu narlardaki rutin flavonoidi kaybının % 65 olduğunu belirtmiştir.

Flavonoidler arasında antosiyanin grupları, hidrolize edilebilir tanenlerle birlikte bu meyvede bulunan en değerli biyomoleküllerden biridir [46]. Özellikle kabuk kısmı, toplam nar meyvesindeki antosiyaninlerinin yaklaşık % 30'unu içermektedir [47]. Birçok çalışma, gelişmiş analitik teknik kullanarak dünyanın çeşitli bölgelerindeki nar çeşitlerinde bulunan farklı antosiyanin türlerini belirlemeye ve ölçmeye çalışmıştır [48]. Abid ve ark., 4 farklı Tunus narın kabuklarında pelargonidin-3-pentosid, siyanidin-3-rutinosid, siyanidin-3-glukozit ve siyanidin -3-pentosidin varlığını doğrulamıştır [49]. Başka bir çalışmada ise "Nana" olarak adlandırılan bir Tunus nar çeşidinin kabuklarında, pelargonidin-3-glikozit, pelargonidin-3,5-diglikosit, delfinidin-3-glikosit, delfinidin-3,5-diglikosit, siyanidin-3-glikosit, siyanidin-3,5-diglikozid, siyanidin-3-pentosid ve siyanidin-3-rutinosid antosiyaninleri bulunduğu gösterilmiştir [50].

Nar meyvesinin, özellikle elajitanenler ve gallotanninler olmak üzere zengin bir hidrolize edilebilir tanen kaynağı olduğu bilinmektedir [43]. Nar meyve kabuğunda hidrolize edilebilir tanenler esas olarak punicalagin şeklinde bulunur ve toplam tanenlerin yaklaşık % 85'ini oluşturmaktadır [48]. Nar meyve kabuklarında tespit edilen diğer tanenler arasında punikalın, pedunkulagin, granatin A, granatin B, corilagin, tellimagrandin, gallagyl hexoside vb. bulunmaktadır.

2.4 Punica granatum meyvesinin Farmakolojik özellikleri

2.4.1 Antioksidan aktivite

Narın antioksidan aktivitesi, narın cinsine, kullanılan meyvenin kısmına, iklim koşullarına ve olgunlaşma aşaması gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişmektedir [51]. Nar suyunun insanlarda antioksidan aktivitesini doğrulayabilmek için Matthaiou ve ark., 14 sağlıklı gönüllü üzerinde 15 gün boyunca etkisini değerlendirmiştir [52]. Malondialdehit (MDA), bir haftalık uygulamadan sonra %24.4 azalırken, protein karbonillerinin 15 günlük meyve suyu tüketiminden sonra %19.6 azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca, glutatyon (GSH) seviyelerinin önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir. Narın sergilediği antioksidan özellikler, delfinidin glukozidleri, siyanidin, pelargonidin, ellagik asit, punikalın, punikalagin, pedunkulagin gibi antosiyaninlerin ve diğer flavanollerin dahil olduğu fitokimyasallarla ilişkilidir [53]. Yapılan çalışmalarla antioksidan aktivite sıralaması kabuk > çiçek > yaprak > tohum şeklindedir [54]. Nar suyunun antioksidan aktivitesi kabuklu veya kabuksuz presleme yöntemine göre değişiklik göstermektedir. Kabuk ile birlikte bütün halde preslenerek elde edilen nar sularında tanen içeriği daha fazladır. Bu sayede preslenerek elde edilen nar suyunda antioksidan kapasite daha fazla bulunmaktadır. Narın fermentasyon sonucu elde edilen ürünlerden olan nar sirkesi ve nar şarabında antioksidan aktivitesinin nar suyuna göre daha az olduğu bildirilmektedir. Nar ekşisindeki fenolik madde miktarı nar suyuna göre fazla olduğu için antioksidan kapasitesi daha fazladır. Nar çiçeği de içeriğindeki antosiyaninler ve organik asitler sebebiyle güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir [55].

2.4.2 Antiinflamatuvar aktivite

Narın antiinflamatuvar etkilerini farklı modellerde gösteren birçok çalışma bulunmaktadır [53]. İnflamatuvar bağırsak hastalığı modeli oluşturulan sıçanların kullanıldığı bir çalışmada nar ekstresi uygulaması ile kolon mukozasında aşırı eksprese halde bulunan siklooksijenaz-2 (COX-2) ve prostaglandin-E sentaz seviyelerini downregüle ederek prostaglandin E2 (PGE2) seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir [56]. Başka bir çalışmada makrofaj benzeri hücre hattında, nar suyunun ve temel polifenollerin olan gallik asit ve ellagik asitin interferon-gama (IFN- γ) ve LPS uyarısına cevap olarak IL-6 ve TNF'yı azalttığı rapor edilmiştir [57]. Xu ve ark., punikalagininin RAW264.7 hücrelerinde LPS kaynaklı PGE2, IL-1 β , IL-6, nitrik oksit

ve TNF- α üretimini azaltma yeteneğinin olduğunu göstermiştir [58]. Farelerde yapılan bir çalışmada punikalagin uygulamasının LPS indüklü akut akciğer hasarında, ödemi azalttığı ve bronkoalveolar lavaj sıvısında ise IL-1 β , IL-6, ve TNF- α üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir [59].

2.4.3 Antidiyabetik aktivite

Nar çekirdeği yağındaki temel yağ asidi olan punisik asit antioksidan aktivitesi ve antidiyabetik etkisi bulunmaktadır. Streptozosinle oluşturulan diyabetik rat modelinde nar çekirdeği yağı ile düşmüş olan insülin seviyelerinde artma gösterilmiştir. Bunun yanında glutatyon seviyelerinde de iyileşme gözlemlenmiştir [60]. Streptozisin ile indüklü diyabet modeli oluşturulan ratlarda yapılan bir çalışmada nar çiçeğinin sulu ekstresinin diyabet üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. 21 gün boyunca oral uygulama sonucunda açlık kan şekeri, total kolesterol, trigliserit düzeyi, LDL kolesterol, VLDL kolesterol seviyelerinin düştüğü, HDL kolesterol ve glutatyon seviyelerinde anlamlı oranda yükseldiği rapor edilmiştir [61]. Nar suyunun Tip 2 diyabet üzerindeki etkinliğinin çalışıldığı ve 85 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada 12 saat açlık sonunda, 1,5 ml/kg dozunda nar suyu alımından 1 ve 3 saat sonraki kan parametreleri değerlendirilmiştir. Nar suyu alımından 3 saat sonraki açlık kan glukozunda ve insülin direncinde düşme görülürken β hücre fonksiyonunda artış gözlemlenmiştir. Nar suyuna verilen bu hipoglisemik yanıtın açlık kan düzeyi daha düşük olan hastalarda daha fazla olduğu belirtilmiştir [62]. Sohrab ve ark., nar suyunun antidiyabetik etkisini randomize, çift kör bir klinik çalışma ile değerlendirmiştir [63]. Hastaların 12 hafta boyunca günlük 250 ml olmak üzere nar suyu alınması sağlanmıştır. Çalışmanın sonunda plazma total antioksidan kapasitesinin arttığı malondialdehit seviyelerinin düştüğü bildirilmiştir [63].

2.4.4 Nöroprotektif etki

Çok sayıda çalışmada, Alzheimer hastalığı olan bireylerin beyinde kendi yaşına uygun bireylere kıyasla artmış lipid peroksidasyonunu gösterilmiştir [64]. Nar polifenolleri, serum paraoksonaz aktivitesini artırarak, oksitlenmiş lipoproteinlerde ve aterosklerotik lezyonlarda lipid peroksitlerin hidroliziyle sonuçlanmasını sağlamaktadır [63]. Nar suyu içeren diyet takviyesinin LDL'yi oksidasyona karşı koruyarak aterosklerotik lezyon gelişimini önemli ölçüde engellediği rapor edilmiştir [63]. Lipid peroksidasyonunun engellenmesi, makrofaj kolesterol birikiminin, köpük

hücresi oluşumunun ve aterosklerozun azalmasına katkıda bulunur. Nar suyu tüketiminin ayrıca makrofaj okside LDL alımını ve kolesterol esterifikasyonunu azalttığı bildirilmiştir [65]. Oksidatif stres esas olarak beyinde amiloid birikimi ile ilişkilidir. Nar polifenollerinin antioksidan özellikleri sayesinde, oksidatif stresi azaltarak faydalı bir etki oluşturacağı belirtilmektedir [66]. Nar içeren diyet takviyelerinin Alzheimer'in transgenik fare modellerindeki çalışmaları sonucunda hipokampüsteki amiloid birikimini azalttığı ve böylece hafıza ve bilişsel fonksiyonlarını arttırdı belirtilmektedir [67-69].

Narın çeşitli kısımları antikolinesteraz aktiviteye sahiptir. Nar kabuğu ve yapraklarının etanolik ekstresinin, birçok nöronal dokuda asetilkolinesterazı inhibe ettiği gösterilmiştir [70, 71]. Nar suyunun ayrıca endotelial nitrik oksit sentazı modüle ettiği, hücrel strese cevap olarak oksidasyon duyarlı genleri inhibe ettiği bildirilmiştir [72, 73]. Bu nedenle birçok çalışmada, yaşlanmaya bağlı meydana gelen nöronal hasarları önlemede narın potansiyel bir fitoterapötik takviye olabileceğini desteklemektedir.

2.4.5 Antitümoral aktivite

Narın sekonder metabolitleri, potansiyel antitümör aktiviteleri açısından çok fazla araştırılmıştır. Ellajic asit, punisik asit, luteolin ve antosiyaninler en çok çalışılan maddelerdir [53].

Nukleer Faktör kappa B (NF- κ B), enflamatuar yanıtlar, proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik yanıtlarla ilgili genlerin ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyon faktörleri ailesidir. NF- κ B'nin aktivasyonu / aşırı ekspresyonu çeşitli tümör tiplerinde gözlenmiştir [74]. İnsan akciğer kanser hücre hattında yapılan bir çalışmada nar meyve ekstresinin hücre döngüsünü G0-G1 fazında durdurduğunu göstermiştir. NF- κ B'nin DNA'ya bağlama aktivitesini inhibe ettiğini doğrulamıştır [75].

Proapoptotik protein Bax ve antiapoptotik protein Bcl ekspresyonlarındaki değişiklik karsinogenez ile ilişkilidir. Ellajik asitin insan nöroblastoma hücrelerindeki etkisi incelendiğinde hücre canlılığını azalttığı ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir [76]. Prostat kanseri hücrelerinde yapılmış başka bir çalışmada da nar ekstresinin apoptozu indüklediği görülmektedir [77].

Nar ilgili yapılan çalışmalarda, TNF α ile indüklenen COX-2 protein ekspresyonunu nar suyu ile % 79, total nar tanen ekstresi ile % 55 ve punikalagin ile % 48 oranında

inhibe edildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca nar suyu ile NF-κB'nin p65 subünitinin fosforilasyonunun azaldığı rapor edilmiştir [78].

Kohno ve ark., tarafından yapılmış bir çalışmada, azoksimetan ile kolon tümörü oluşturulan sıçanlarda öncesinde diyetine nar çekirdeği yağı uygulanması ile kolon tümörü insidansında azalma sağlandığı belirtilmiştir [79]. Lansky ve ark., nar meyve ekstresinin aşırı agresif insan prostat karsinom hücrelerinde hücre büyümesini inhibe ettiğini ve daha sonrasında apoptozu sağladığını bildirmiştir [80].

Kemoterapi, radyoterapi, hormone tedavisi gibi kanser tedavi seçenekleri başarılı olmasının yanında hem pahalı hem de istenmeyen yan etki profili çok yüksektir. Bu bağlamda bitkileri tamamlayıcı tedavi seçeneği veya yan etkilerini hafifletici amaçlarla kullanmak önemlidir. Bu bağlamda, narın meyveleri, tohumları ve kabukları organik asitler, polifenoller ve mineraller dahil olmak üzere çok sayıda bileşen içermekte ve bu bileşenler, sağlık yönetimi için zengin antioksidan kaynakları arasındadır [81]. In vivo, in vitro ve klinik çalışmalar, nar içeriklerinin, özellikle ellagitanninlerin ve gallotanninlerin apoptozu indüklediğini, çok sayıda hücre sinyal yolağını modüle ettiğini ve nihayetinde tümör gelişimini ve ilerlemesini engellediğini öne çıkarmaktadır [81].

2.4.6 Kalp ve damar sağlığı üzerindeki aktivitesi

Nar suyunun kalp sağlığı için kullanılabilir fonksiyonel gıdalar arasında olduğu belirtilmektedir [82] ve bu durumu destekleyebilecek çok fazla çalışma yapılmıştır [82]. Koroner kalp hastalığı olan 45 hastada 3 ay süreyle günlük 240 ml nar suyu tüketiminin miyokard perfüzyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 3 ay sonra, stresin neden olduğu iskeminin boyutu nar suyu kullanan grupta azalırken, kontrol grubunda arttığı rapor edilmiştir [83]. Bu yararın, her iki grupta da kalp ilaçlarında, kan şekerinde, hemoglobin A1c'de, vücut ağırlığında veya kan basıncında herhangi bir değişiklik olmaksızın gözlemlendiği belirtilmiştir. Nar suyunun karotid arter stenozu olan hastaların dahil edildiği bir çalışmada 10 hasta 1 yıla kadar nar suyu kullanmıştır 9 hasta ise kullanmayarak kontrol grubunu oluşturmuştur. Hastaların karotid intima media kalınlığı kontrol grubunda %10 iken nar suyu kullanan grupta bu oranın %35 olduğu gözlemlenmiştir. 12 ayın sonunda nar suyu kullanan grupta sağ ve sol karotid arterlerde sistolik hız değerlerinde sırasıyla %28 ve %12 azalma yaşanmıştır.

Aterosklerozun başlangıcında LDL oksidasyonu önemli bir rol oynamaktadır. Nar suyu çok güçlü antioksidanlar içerdiğinden, oksidatif stresi azaltarak ateroskleroz gelişimini zayıflatabilir. 13 sağlıklı sigara kullanmayan erkeklerden toplanan plazma örneklerinde 2 hafta boyunca alınan 50 ml nar suyu sonucunda serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonunda anlamlı oranda düşüş yaşandığı bildirilmiştir [84].

Koroner arter stenozu olan hastalarda nar suyunun etkileri de ölçülmüştür [85]. Bu çalışmada 1 yıl boyunca nar suyu kullanan hastalar nar suyu kullanmayan kontrol grubuna göre değerleri karşılaştırılmıştır. 1 yılın sonunda nar suyu kullanan grupta bazal değerlere göre intima media kalınlığında % 30 oranında azalma, paraoksonaz 1 aktivitesinde % 83 artma, okside LDL seviyesinde % 19 azalma, sistolik kan basıncında % 21 düşme ve total antioksidan seviye değerinde 2-3 kat artma sağlanmıştır [85]. Bu sonuçlar, Koroner arter stenozu olan hastalarda nar suyu kullanımı ile antioksidan etki sebebiyle lipid peroksidasyonun inhibe edilebileceği gösterilmiştir [81].

Son zamanlarda bazı antioksidanların kan basıncı üzerindeki olumlu etkisi gösterildiği için Aviram M ve ark., tarafından hipertansif hastalarda nar suyu tüketiminin (günde 50 mL, 1.5 mmol toplam polifenol, 2 hafta boyunca) kan basıncı ve serum anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışma düzenlenmiştir [86]. 10 hasta üzerinde yapılan çalışma sonucuna göre serum ACE aktivitesinde %36 azalma ve sistolik kan basıncında %5'lik bir düşüş yaşanmıştır. Sağlıklı gönüllülerde yapılan başka bir çalışmada 4 hafta boyunca günlük 330 ml nar suyu kullanımı ile başlangıç değerlere göre sistolik ve diastolik kan basınçlarında anlamlı ölçüde düşüş yaşandığı, serum ACE değerlerinde herhangi bir değişiklik yaşanmadığı belirtilmiştir [87].

Tüm bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde Nar meyvesi polifenolleri, LDL ile doğrudan etkileşimi yoluyla veya dolaylı olarak serum paraoksonaz 1 stabilitesini ve katalitik aktivitelerini artırması sebebiyle serumdaki lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağladığı bildirilmiştir. Böylece lipid peroksidasyonunun hidrolizi meydana gelmektedir [81].

2.5 Gıda ve Gıda Takviyesi Endüstri Açısından Narın Önemi

Nar, derimsi kabuk tarafından çevrelenmiş ve yüzlerce taneden oluşan bir meyvedir. Meyvenin yenilebilir olan kısmı bu taneleridir.

Dünya nar üretimi yaklaşık iki milyon ton olup, ticari olarak Yakın Doğu, Hindistan ve civarı ülkelerle, Güney Avrupa ülkelerinde üretimi yapılmaktadır. Narın dünyadaki üretim sıralaması İran, Pakistan, Türkiye, Çin, Suriye, Tunus, ABD, Fas, Mısır, Azerbaycan, Hindistan ve İspanya'dır. Narı ihraç eden ülkeler Türkiye, İran, İspanya, Hindistan ve Tunus, nar ithalatını en fazla yapan ülkeler ise Rusya, Amerika, Almanya, Hollanda ve Ukrayna'dır [88]. Nar, ülkemizde hemen hemen her bölgede yetiştirilmekle birlikte çoğunlukla Ege, Akdeniz sahil kıyısında ve Güney Doğu Anadolu'da yaygın bir şekilde yetiştirilmektedir [88]. Türkiye'de nar yetiştiriciliğinin en fazla yapıldığı il Antalya'dır. Bunu sırasıyla Gaziantep, Denizli, Muğla, Hatay, Adana, İzmir, Bilecik, Manisa, Şanlıurfa ve Siirt takip etmektedir [88]. Ülkemiz en fazla nar yetiştirilen ülkelerin arasında bulunmakta ve üretim miktarı hızla artmaktadır.

Ülkemizin nar üretimi ise son yirmi yılı incelediğimizde; 2000 yılı içinde 59.000, 2019 yılında ise % 847,8 artarak 559.171 ton değerine yükselmiştir. Tarım Ve Orman Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından düzenlenen rapora göre Türkiye'deki üretim miktarlarına bakıldığında 2019 yılında en fazla nar üretimini Antalya (%23,3), Mersin (%15,6), Muğla (%15,5), Adana (%12,7) ve Denizli (%7,8)'de yapılmaktadır. İhracat ise 2000 yılında 3.591 ton iken 2019 yılında % 4235 artarak 155.657 tona yükseldiği belirtilmiştir. Ayrıca bu raporda narın hem üretiminin hem de ihracatının yıllara göre arttığı belirtilmektedir [89].

Nar meyveleri sıklıkla taze olarak tüketilmekle beraber, nar suyu, nar surubu, nar reçeli ve sarabı gibi ürünler de yapılmaktadır [89].

Nar meyvesinin tanelerinin seker-asit oranına bağlı olarak, tatlı, mayhoş ve ekşi olarak 3 grupta toplamak mümkündür [90]. Bu pomolojik gruplandırmaya göre:

- Tatlı Narlar (meyve suyu titrasyon asitliği %1'den az); meyveleri orta iriliktir. Daneler genellikle sarı-beyaz-pembe renkli, iri, küçük çekirdekli ve suludur. Sofralık olarak tüketilmektedir.

- Mayhoş Narlar (meyve suyu titrasyon asitliği %1-2 arasında); iri meyveli olmaları dışında, genel olarak tatlı ve ekşi narların belirtilen özelliklerini orta derecede göstermektedir
- Ekşi Narlar (meyve suyu titrasyon asitliği %2'den çok); küçük meyveli, meyve kabuğu kalın ve rengi sarı zemin üzerinde büyük oranda kırmızıdır. Taneler küçük, kırmızı renkte, meyve suyu randımanı düşüktür. Taneye göre çekirdekler iri ve çok serttir. Sofralık olarak tercih edilmez, meyve suyu ve diğer ürünlere işlenmesi uygundur [4].

Günümüzde nar meyvesine artan bir ilgi vardır Sağlığın korunması ve hastalıkların önlenmesini sağlayacak zengin içeriği sayesinde fonksiyonel bir gıda olarak sınıflanmaktadır. Birçok çalışmada, gıda polifenollerinin ateroskleroz, inflamasyon ve kanser gibi hastalıkların önlenmesinde ve gıda oksidatif bozulmasının engellenmesinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir [91].

Ticari pektin, gıda endüstrisinde jelleştirici, emülsifiye edici, koyulaştırıcı, renklendirici ve stabilize edici ajan olarak kullanılmıştır. Ayrıca düşük kalorili gıdalardaki yağ veya şekerin yerini alabilir [92]. Ticari pektin kaynakları olan elma ve narenciyeden biraz daha düşük oranda nar pektin içermektedir [93]. Ayrıca proteinler, polisakkaritler ve bazı esterler gıda emülgatörleri olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Nar pektini, gıda endüstrisinde doğal bir emülgatör olarak kullanılabilen bir polisakkarittir [94].

Nar çekirdeği tozu, gıda katkı maddesi olarak kullanılabilen bir diyet lifi şeklidir. Ekmek yapımıyla ilgili bir çalışmada, ekmeğin duyusal niteliklerini büyük ölçüde değiştirmeden, buğday ununun ağırlıkça %5'ine kadar yerini almak için nar çekirdeği unu kullanıldı. Ortaya çıkan ekmek, daha düşük üretim maliyetleriyle iyi bir lif kaynağı olduğu belirtildi. Bu özellikle önemlidir, çünkü buğday öğütülürken buğday kepeği ve tohumu çıkarılır ve bu da unun diyet lifi içeriğinde belirgin bir azalmaya neden olmaktadır.

2.5.1 *Punica granatum* meyve kabuklarının Prebiyotik Özellikleri

Probiyotikler gut mikrobiyotasının gelişimine katkıda bulunan tekli veya karışık *Leuconostoc* spp., *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Weissella* spp., *Bifidobacterium* spp. and *Lactococcus* spp. gibi suşlarını içeren non-patojen

mikroorganizmalardır. Prebiyotikler, kolonda bazı probiyotik bakterilerin büyümesini uyardıkları için sindirilemeyen veya düşük sindirilebilir gıda bileşenleridir. Ana prebiyotikler galakto-oligosakkaritler, frukto-oligosakkaritler, inülin, laktuloz ve malto-oligosakkaritler'dir [95]. Son çalışmalar, polifenolik bileşiklerin prebiyotiklere aday olduğunu göstermektedir [96]. Nar meyve kabuğu fenolik bileşikler açısından zengin bir içeriği bulunmaktadır. Prebiyotik olarak nar ekstresinin patojenleri inhibe ettiği, faydalı mikroorganizmaların büyümesini artırdığı bildirilmektedir. Narın kimyasal bileşimlerinden olan punikalınler ve gallik asit, laktobasillerin büyümesine karşı inhibitör değil, aksine uyarıcı olduğu gözlemlenmiştir [20]. Elajik asitin de % 10-20 oranında laktobasil üremesini inhibe ettiği bildirilmiştir. Nar bileşenlerinin bifidobakterilerin büyümesi üzerindeki etkisi ise türe özgü olarak değişmektedir. Bazı nar bileşenlerinin (punikalaginler, punikalınler, gallik asit ve elajik asit), *Bifidobacterium animalis lactis* ve *Bifidobacterium bifidum*'un büyümesini kısmen engellediği, *Bifidobacterium breve* ve *Bifidobacterium infantis*'in büyümesini önemli ölçüde arttırdığı rapor edilmiştir [20]. Tersine, *S. aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium clostridioforme*, *Clostridium ramosum* ve *Bacteroides fragilis* gibi patojenlerin, elajitanenler ve punikalagin tarafından güçlü bir şekilde inhibe edildiği bildirilmektedir [20]. Bu nedenle, patojenlerin aksine, probiyotik büyüme, nar elajitanenleri tarafından nispeten etkilenmediği, bu da nar ürünlerinin yararlı bakteriler üzerinde olumsuz etkiler olmaksızın patojenleri düzenlemeye yardımcı olabileceğini düşündürmektedir [97].

Son çalışmalar, obezite ile ilgili risk faktörlerini değerlendirirken bağırsak mikrobiyotasının dikkate alınması gereken çevresel bir faktör olduğunu belirtmektedir. Neyrinck, AM ve arkadaşları nutrijyonel obezite modeli uygulanan farelerde nar kabuk ekstresinin (PPE) prebiyotik gücünü değerlendirmiştir. PPE uygulanan grupta çekumdaki *Bifidobacteria* konsantrasyonu artmakla birlikte, yüksek yağlı diyet ile indüklenen kolesterol değerlerinde anlamlı bir düşme sağlanmıştır [98]. Bu klinik çalışmada 49 aşırı kilolu birey dahil edilmiş 1.8 g nar ekstresi kullanımı ile kolonda *Faecalibacterium*, *Odoribacter*, ve *Parvimonas* modülasyonu yapıldığı ve metabolik endotoksemi belirteci olan serum lipopolisaakarit bağlayıcı protein (LBP) oranının düştüğü belirtilmektedir.

Nar elajitanenleri, bağırsak mikrobiyotası tarafından elajik asit gibi daha küçük fenoliklere hidrolize edilir. Elajik asit daha sonra kan dolaşımına absorbe olurken,

elajitaneneler absorbe olmaz. Absorbe olmadan kalan elajik asit ve elajitanenler ürolitinlere metabolize edilir. Ürolitinler elajik asit ve elajitanenlerden çok daha iyi emilmektedir [99]. Bu nedenle ellajitanen içeren ürünlerin sağlık etkilerinin, bağırsakta üretilen bu ürolitinlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir [100]. Ürolitinler, absorbe edilebilirliğinin daha yüksek olması ve vücutta farklı dokulara ulaşabilmesi açısından, narın tüketimi sonucu meydana gelen biyolojik aktivitelerden sorumlu moleküller olarak görülmektedir [100].

Süt ürünleri ile fermente edilmiş ürünler probiyotik suşların optimum taşıyıcıları olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, son on yılda, (i) laktoz intoleransı, (ii) süt ürünleri tüketimi sonrası alerjiler ve (iii) vegan beslenmeye yönelik genel olarak ortaya çıkan gıda eğilimi gibi çeşitli nedenler sebebiyle araştırmacılar probiyotik dağıtımı için nar gibi antioksidan kapasitesi yüksek meyve ve sebzeler ile alternatif ortamlar denemeye başlamıştır. Probiyotikler ve prebiyotiklerin kombinasyonu ilave fayda sağlaması açısından sıklıkla tercih edilmektedir ve bu kombinasyona simbiyotikler denilmektedir. Simbiyotiklerin ana avantajı probiyotiklerin kolondaki yaşam sürelerini uzatıp daha iyi kolonize olmasını sağlamaktır. Narın prebiyotik değeri sebebiyle probiyotikler ile bu şekilde kombinasyonu simbiyotik bir ilişki sağlamakta ve ürolitinler sayesinde sağlık açısından olumlu faydalar bu sebeple artabilmektedir.

2.5.2 *Punica granatum* meyve kabuklarının Gıda koruyucu özelliği

Nar, Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler, mantarlar ve küfe karşı belirgin bir inhibitör etkiye sahip olan geniş bir antimikrobiyal etki spektrumuna sahiptir [101]. Bununla birlikte, narın farklı kısımlarından elde edilen farklı ekstratlar, çeşitli antimikrobiyal aktivitelere sahiptir. Bir çok çalışmada, nar kabuk ekstratının antimikrobiyal aktivitesinin diğer parçalarından daha güçlü olduğu ve bunun da kabuktaki toplam flavonoidler ve tanen içeriğinin daha fazla oluşu ile ilişkili olduğunu belirtilmektedir [102, 103]. Narın sağlık açısından faydasının yanında antimikrobiyal etkisinden dolayı gıda maddelerinde koruyucu olarak kullanılabilmesi de mümkündür. Çok sayıda bilimsel çalışma, nar meyve kabuk ekstratlarının çeşitli gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite sergilediğini önde çıkarmaktadır [50]. PPE'nin *Escherichia coli*, *Fusarium sambucinum*, *Penicillium italicum* ve *Bacillus subtilis* dahil olmak üzere farklı gıda kaynaklı patojenler üzerinde antibakteriyel etkileri olduğu kaydedilmiştir [101]. Kapsamlı çalışmalardan birinde, narın farklı

kısımlarından (kabuk, tohum, meyve suyu ve bütün meyveler) elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi yedi bakteri türünde test edilmiştir (*Bacillus coagulans*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa*). Tüm bakterilerin maksimum inhibitörü, PPE olduğu rapor edilmiştir [102].

Gıda maddelerinin depolanma süresini artırabilmek için kitosan ile film kaplama işlemi yapılabilmektedir. PPE'nin ayrıca kitosan bazlı film malzemesinin su buharı geçirgenliğini azalttığı, antibakteriyel aktivitenin arttığı rapor edilmiştir aktivitesini azalttığı kaydedildi Aynı zamanda gıda maddelerinin depolanabilme gıda ürünlerinin hasat sonrası depolanabilirliğini geliştirdiğini ileri sürmektedir [104].

Etlerdeki lipid oksidasyonu, etlerin duyuşal özelliklerini (tat, koku, doku ve renk) olumsuz etkiler ve raf ömürlerini azaltır. Bir çalışmada, burger etlerinde doğal bir antioksidan olarak PPE ile sentetik antioksidan olan bütil hidroksi tolüen karşılaştırılmıştır. PPE ekstresi kullanılan ette, tat, koku gibi duyuşal özellikler bakımından daha yüksek puanlandığı görülmüştür. Ayrıca PPE uygulanan ette nar kabuğundaki fenolik bileşiklerin varlığı nedeniyle daha düşük aerobik bakteri üremesi olduğu belirtilmiştir [105]. Buna benzer bir çalışmada az yağlı kalari peynirine koruyucu olarak eklenen PPE'nin lipid peroksidasyonunu ve küf maya sayısı önemli ölçüde azaldığı rapor edilmişti [106].

Nar biyoatığı, biyoplastikler için sürdürülebilirlik üzerinde umut verici etkilere sahiptir. Yenilebilir özellikli film ve kaplamalar, gıdalarda raf ömrünü uzatmak için gıda ile birlikte tüketimi olan ambalajlardır. Yenilebilir bir film maddesi olan k-karragenan ile PPE'nin birlikte uygulanmasının antioksidan özelliklerini ve UV ışık bariyerini kuvvetlendirdiği bulunmuştur [107]. Benzer korelasyon zein polimer ile PPE uygulaması ile de görülmektedir [108].

2.6. *Punica granatum* Meyvesinin Kozmetik Endüstrisi açısından Önemi

Cilt yaşlanması, ortamda fazla miktarlarda bulunup ortadan kaldırılamayan reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisiyle gerçekleşmektedir. Kozmetik endüstrisinde, antioksidan maddeler kullanılarak ROS'un neden olduğu oksidasyonla birlikte gelen yaşlanmanın azaltılması amaçlanmaktadır [109]. Cildimiz rutin olarak UV radyasyon gibi oksidatif kirleticilere maruz kalmaktadır. UVB kaynaklı foto yaşlanmanın

patogenezinde ROS aracılı inflamasyon, keratinosit apoptozu ve matriks makromoleküllerinin matriks metalloproteinaz (MMP) ile yıkımı bulunmaktadır [110].

Nar meyvesinin kabukları yüksek fenolik içeriğe sahip olup antioksidan kapasitesi yüksektir. Nar kabuk ekstrelerinin HaCat keratinosit hücrelerinde UVB kaynaklı oksidatif stresi azalttığı ve bu sayede cilt bakım ürünlerinde uygun bir takviye olabileceği belirtilmiştir [111]. Ellajik asitin metastatik melanoma hücrelerinde hücre canlılığı üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada elajik asitin hücre siklusunu G1 fazında durdurduğu gösterilmiştir. Ayrıca apoptozu artırdığı ve IL-1 β ve IL-8 seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir [112].

Nar meyvesinde doğal olarak bulunan bir polifenol olan ellajik asitin depigmentasyon aktivitesi olduğu gösteren çalışmaları mevcuttur [113]. Elajik asitin tirozinaz aktivitesini baskıladığı belirtilmektedir [114]. Trozinaz, melanositlerde melanogenezde yer alan anahtar bir enzimdir [113]. In vitro çalışmalarda nar ekstrelerinin ve içeriğindeki majör bileşiklerin UVB ışını kaynaklı hasarı azalttığını gösterilmektedir [111, 115]. Nar ekstresinin topikal kullanım şeklini içeren çalışmalar da bulunmaktadır. Nar meyve kabuklarının metanolik ekstresinden elde edilen merhemin kobaylarda yara kontraksiyonunu ve epitelizasyonu artırdığını gösteren bir çalışma bulunmaktadır. 8 hafta boyunca UVB ışınına maruz bırakılan farelerde elajik asit içeren merhem topikal kullanımı ile inflamatuvar sitokinlerin azaldığı ve MMP inhibisyonu sağlayarak kollajen yıkımını engellediği bildirilmiştir [116]. Nar suyunun oral kullanımın fareler üzerindeki etkisinin incelendiği bir hayvan çalışmasında UVB kaynaklı deri kırıksıklıklarını azalttığı, derideki su miktarını, Tip I kollajen ve hyalüron miktarını artırdığı rapor edilmiştir. Bir klinik çalışmada, sağlıklı kadınlarda elajik asit bakımından zengin bir nar ekstresinin oral tüketiminin, düşük dozda bile UV ışınlarının neden olduğu hafif güneş yanığı üzerinde koruyucu etkide olduğu ve pigmentasyon azalmasına katkı sağladığı belirtilmiştir [113].

In vitro çalışmalar narın *Propionibacterium* ve *Staphylococcus* gibi ciltte yaygın olarak bulunan bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisi bulunduğunu göstermektedir [117]. Oral kullanıma ilişkin nar ekstresinin ve nar suyunun cilt mikrobiyotasını üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği bir klinik çalışma bulunmaktadır. 12 haftalık nar ekstresi tüketimi sonucunda *Campylobacteraceae* sınıfı bakteriler artarken *Methylobacteriaceae* türü bakterilerin plasebo grubunda azaldığı belirtilmiştir. Ancak

nar ekstresi alan grupta bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Methylobacteriaceae sınıfından bakteriler UV ışını absorbe etmesi yönü ile bilinmektedir. Bununla birlikte, nar tüketiminin cilt mikrobiyotasının çeşitliliği üzerinde bir etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir. Aynı araştırmacılar nar ekstresinin ve nar suyunun UVB kaynaklı foto hasara karşı etkinliğini değerlendirmiştir ve bu iki grupta plasebo alan gruba göre MED değerlerinin arttığını bildirmiştir. Araştırma sonucu olarak narın UVB kaynaklı hasara karşı potansiyel bir koruyucu olduğu ama cilt mikrobiyotası ile kesin bir ilişkinin bulunamadığı rapor edilmiştir [115].

Nar ekstresi ayrıca cilt kırışıklığına karşı antiaging bir etkiye sahip olup ve cilt elastikiyetini artırabilir. Croton lechleri reçenesi ve nar çekirdeği yağı içeren bir su içinde yağ emülsiyonunun, cilt elastikiyeti eksikliği ile ilişkili olan stria distensa cilt durumunun iyileştirdiğini gösteren bir çalışma bulunmaktadır [118]. Başka bir topikal su içinde yağ emülsiyonu (nar ekstresi, eşek sütü ve UV filtreleri ile formüle edildi) uygulamasında, hiperpigmentasyonda genel bir azalmaya ek olarak, emülsiyonun cilt üzerinde kırışıklık sayısını %32.9 azaltma, kırışıklık uzunluğunu %9.6 azaltma ve cilt sıklılığını ve elastikiyetini %9.6 artırma gibi yaşlanma karşıtı etkileri olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu etkilerin formülasyonun bileşenlerinin sinerjik gücünden kaynaklandığı ileri sürülmektedir [119]. Özellikle nar elajik asidi, cildin kırışmasına neden olan bir süreç olan UVB kaynaklı dermisin kalınlaşmasını önleme yeteneğine sahiptir [116].

Maillard reaksiyonu olarak da bilinen glikasyon, kısmen yaşlanma ile indüklenen ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşturan bir süreçtir [120]. Nar ekstresinden elde edilen bir polisakarit fraksiyonunun antiglikasyon özelliği, erken bir glikasyon ürünü olan fruktozamin içeriği değerlendirilerek incelenmiştir. Nar ekstresi, hem serbest radikal süpürme kabiliyeti hem de Maillard reaksiyonunda amino veya karbonil gruplarının modifikasyonu yoluyla fruktozamin oluşumunu inhibe etmesi nedeniyle bir glikasyon inhibitörü olarak görev yaptığı tespit edilmiştir [120]. Yakın bir zamanda yapılmış çalışmaya göre menapoz sonrası 100 mg/gün nar ekstresi alan grupta glikatif stres belirteçlerinde azalma olduğu kaydedilmiştir [121]. Özetle, nar ekstresinin, cilt yaşlanması ve UV kaynaklı hasarların neden olduğu kırışıklıkların giderilmesinde faydalı olduğu düşünülebilir.

Nar bileşiminde bulunan elajik asidin barsak bakterileri tarafından dönüştürülen formlarından biri olan ürolitin A anti-age etkileri ile iyi bilinmektedir.. *C. elegans*

adındaki yassı bir solucan üzerinde yapılmış bir çalışmada ürolitin uygulaması ile normalde 8-10 gün olan ömürlerinin %45 oranında arttığı görülmüştür [122]. Aynı araştırmacı grubu daha sonra ürolitin A'nın rodentlerde kas fonksiyonunu iyileştirdiği ve hasarlı mitokondrileri temizlediği ortaya konmuştur [122]. Yazarlar yaş ile birlikte kas işlevselliğinde bozulma görülen hastalarda mitofajiyi indüklemek için ürolitin A gibi takviyelerin kullanılmasının umut vaadeden bir yaklaşım olacağını belirtmiştir. Ürolitin A'nın antiaging etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise metabolik olarak aktif olan senescent insan fibroblastları kullanılmıştır. Ürolitin A'nın tip I kollajen ekspresyonunu anlamlı olarak arttırdığı ve MMP-1 ekspresyonunu ise anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca ürolitin A'nın intraselüler reaktif oksijen türlerini azaltarak uygun bir antiaging ajan olabileceği belirtilmiştir [123]. Ürolitin A'nın bu anti age etkisinin yanında tirozinaz inhibisyonu sebebiyle antimelanogez yeteneğinin de bulunduğu belirtilmektedir [124].

2.7 Bitkisel Ekstraksiyon Yöntemleri

Avrupa Farmakopesi'ndeki tanıma göre ekstre, genellikle kuru haldeki bitkisel yada hayvansal kökenli droglardan değişik yöntemlerle elde edilen, sıvı, katı veya yarı katı haldeki preparatlardır.

- Maserasyon

Yaprak veya gövde kabuğu veya kök kabuğu gibi iri taneli toz halindeki droğun bir kap içine yerleştirildiği bir ekstraksiyon prosedürüdür. Toz halindeki drog üzerine geçecek kadar çözücü eklenip en az üç gün kapağı kapalı halde bekletilerek hazırlanır. Bu yöntem ısı ile bozunmaya uğrayan materyaller için kullanılabilir bir yöntemdir [125].

- İnfüzyon

Bu, maserasyon gibi bir ekstraksiyon işlemidir. İlaç materyali ince toz halinde öğütülür ve ardından temiz bir kaba yerleştirilir. Sıcak veya soğuk haldeki ekstraksiyon solventi daha sonra toz haline getirilmiş drog üzerine dökülür ve kısa süre boyunca bekletilir. Bu yöntem, kolaylıkla çözünebilen biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için uygundur. Çözücü/drog oranı, amaçlanan kullanıma bağlı olarak genellikle 4:1 veya 16:1'dir [125].

- Digestion

Bu, ekstraksiyon işlemi sırasında orta derecede ısı kullanımını içeren bir yöntemdir. Ekstraksiyon çözücüsü temiz bir kaba dökülür ve ardından toz haldeki drog eklenir. Karışım, su banyosu veya ısıtıcı üzerinde yaklaşık 50 ° C'lik bir sıcaklık üzerine yerleştirilir. Ekstraksiyon çözücüsünün viskozitesini azaltmak ve sekonder metabolitlerin çözücüye geçmesini kolaylaştırmak için ekstraksiyon süresince hafif ısı uygulanır. Bu yöntem de kolaylıkla çözülebilen bitki materyalleri için uygundur [125].

- Dekoksiyon

Kurutulmuş, öğütülmüş ve toz haline getirilmiş bitki materyali temiz bir kaba konur. Çözücü olarak kullanılan su dökülür ve karıştırılır. Daha sonra, ekstraksiyonu hızlandırmak için işlem boyunca ısı uygulanır. İşlem kısa bir süre genellikle yaklaşık 15 dakika sürer. Çözücü/drog oranı genellikle 4:1 veya 16:1'dir. Suda çözünen ve ısıya dayanıklı bitki materyalinin ekstraksiyonunda kullanılır [125].

- Perkolasyon

Bu işlemde kullanılan aparata perkolatör denir. Her iki ucu da açıklığı olan dar koni biçimli cam kaptır. Drog çözücüyle ıslatılır ve perkolatöre doldurulur, belli aralıklarla (genellikle 24 saat) çözücüsü alınıp yeni çözücü eklenir. Ekstraksiyon işlemi yerçekimi kuvveti ile gerçekleştirilmektedir İşleme drogda aktif madde kalmayınca kadar devam edilir [125]. Sistemin dezavantajı çok fazla çözücü gerektiriyor olmasıdır.

- Soxhelet Ekstraksiyonu

Bu işlem sürekli sıcak ekstraksiyon olarak bilinir. Kurutulmuş, öğütülmüş ve ince toz haline getirilmiş bitki materyali, kartuşun içine yerleştirilir. Balon içerisine çözücü koyulur, kaynatılır. Oluşan çözücü buharı yan borudan geçerek soğutucuda yoğunlaşır ve bitki materyalinin üzerine damlar. Üst tarafta biriken çözücü yandaki kılcal borunun seviyesine gelince ekstrakte ettiği madde ile beraber tekrar balona akar (sifon yapar). Bu olay defalarca meydana gelip ekstaksiyon işlemi yapılır. Ekstrakte edilen bileşik balonda toplanır ve çözücü yoğunlaştırma işlemi yapılır. Daha az miktarda çözücü ile büyük miktarda bitkisel ürün ekstrakte edilebilir. Aynı zamanda ısıya dayanıklı bileşikler için uygulanabilir yöntemdir. Filtreleme gerekmez Sıcaklığa dayanıklı olmayan bileşikler için uygun değildir [125].

- Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Bu yöntemde çözücü ve bitkisel hammadde içerisinde bulunan yüklü iyonların yer değiştirmesi ve dipol rotasyonu kullanılarak enerji üretilir. Bu yöntem flavonoidlerin ekstraksiyonu için uygundur. 2450 Hz frekansında uygulanan mikrodalgalar 600 ile 700 W arasında enerji vermektedir. Oluşan ısı çözücünün bitkisel hammaddenin matriksine geçişini kolaylaştırmaktadır. Polar çözücü kullanıldığında, iyonların migrasyonu ve dipol rotasyonu meydana gelip ekstraksiyon işlemine yardımcı olur ve dönüşü ve iyon göçü meydana gelir, çözücü penetrasyonunu artırır ve ekstraksiyon işlemine yardımcı olur. Bununla birlikte, polar olmayan çözücü kullanıldığında, açığa çıkan mikrodalga radyasyonu yalnızca küçük bir ısı üretecektir; bu nedenle, bu yöntem ile polar olmayan çözücülerin kullanımı önerilmez [125].

- Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Ultrasonik ses dalgaları yüksek frekansa sahiptir ve insan tarafından işitilemez. 20 KHz'den daha büyük frekansa sahip ses dalgaları bitki hücrelerini parçalar ve bitkisel materyalin yüzey alanını artırır. Bu sayede çözücünün penetrasyonu artıp sekonder metabolitlerin salınması kolaylaşır. Uygulanan yüksek ses enerjisi, ısı gereksinimlerini azaltarak ekstraksiyon sürecini hızlandırır. Ultrason destekli ekstraksiyon küçük numuneler için geçerlidir; Ekstraksiyon süresini ve kullanılan solvent miktarını azaltır, verimi maksimuma çıkarır. Bu sistemin dezavantajı, uygulanan yüksek miktarda enerji serbest radikal oluşturması ve bu sebeple fitokimyasalların bozulmasıdır [125].

2.8 Sıvı Ekstrelerin Kurutulması

Kurutma, kuruması gereken ürünün neminin istenilen kuruluk değerlerine belli bir süre dahilinde ulaşması olarak tanımlanmaktadır. Kurutma sistemleri sanayinin pek çok alanında kullanılabilir. Aşağıda ekstrelerde kullanılabilen kurutma sistemleri sunulmaktadır.

- Sıcak Hava Akımı ile Kurutma

Yoğunlaştırılmış ekstreler 50-60 °C sıcaklıklarda vakum etüv içerisinde tepsilere yayılarak kurutma sağlanır.

- Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)

Liyofilizasyon bitkisel ekstraktın veya bitki materyalinin liyofilizasyondan önce dondurulduğu ardından ortamdaki düşmüş basınç ile donmuş nem süblimleşerek

uzaklaşması esasına dayanır [126]. Yüksek maliyete rağmen, dondurarak kurutma, diğer yüksek sıcaklıktaki kurutma yöntemlerine göre materyala daha az zarar vermekte ve raf ömrünü uzatmaktadır [126]. Liyofilizasyonla kurutma ile, ısıya duyarlı ve su varlığında çabuk bozunan maddelerin, peptit-protein yapıları maddelerin, mantar ve bitkilerdeki alkaloid glikozit ve diğer bazı bileşiklerin değişmeden elde edilmeleri sağlanır [127].

- Püskürterek Kurutma (Spray Drying)

Çözeltilerin, süspansiyonların kurutulmasında sıklıkla tercih edilmektedir. Sıvı Ekstrakt besleme atomizere gönderilir ve atomizerde çok küçük damlacıklar haline getirilir. Ürün sıcak gaz akımı ile temas ettiğinde içerisindeki nem buharlaşır. Damlacıklar kuru partiküllere dönüştürülür. Kuru hale gelen ürün son ürün olarak toplanır [128]. Isıya dayanıklı maddelerin kurutulmasında elverişli bir yöntemdir [127].

- Kızılötesi Işımlarla (İnfrared ışımaya, IR) Kurutma

Kızılötesi ışınlarla (IR) kurutma nemli materyalin kurutulmasında ısı sağlamak için kullanılan bir yöntemdir. IR yapay kurutma yöntemi olarak bilinir. Kızıl ötesi dalga boyundaki ışınlarla nemli ürünün iç yapısı ile etkileşime girip materyalin sıcaklığını artırır ve içeriğindeki nemi buharlaştırır. IR ile ısıtma kurutma süresinin azaltılması, yüksek enerji verimliliği ve çevreye zarar vermeme gibi avantajları bulunmaktadır [129].

- Karıştırıcı Kurutucular

Buharla veya sıcak su ile ısıtılan ısıtma ceketine sahip yatay sabit silindir ve bunun içinde de birbirine paralel üç veya dört sarmal şeritli karıştırıcı vardır. Kurutulacak madde karıştırılırken sisteme dolaylı olarak ısı aktarımı yapılır. Kuruma ile oluşan buhar vakum aracılığıyla dışarı alınır. Madde girişi silindirin üst kısmından yapılırken kurutulan maddenin çıkış yeri alt kısmındadır [127].

2.9 Kurutmaya Yardımcı Maddeler

Ekstrelerin kurutulmasında, arap zıncığı, maltodekstrin, mikrokristal selüloz gibi dolgu maddeleri yardımcı madde olarak kullanılmaktadır.

Maltodekstrinler, Arap zankı, jelatin, nişasta, pektin, metil selüloz gibi polimerler, zanklar ve bunların kombinasyonları, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan taşıyıcı yardımcı maddelerdir.

- Mikrokristal selüloz (MCC)

MCC doğal selülozdan (odun, pamuk, soya fasülyesi kabuğu, mısır koğanı gibi) asit hidrolizi sonucu sentezlenen saflaştırılmış, kısmen depolimerize, poröz partiküllerden oluşan beyaz renkli tatsız kokusuz, kristalize bir tozdu. İlaç gıda ve kimya sanayisinde lubrikan, dolgu maddesi ve dağıtıcı olarak sıklıkla kullanımı bulunmaktadır [130].

- Maltodekstrin

Maltodekstrin, gıda katkı maddesi olarak kullanılan bir polisakkarittir. Kısmi hidroliz yoluyla nişastadan üretilmektedir. Maltodekstrin vücutta kolayca parçalanıp glukozaya parçalanır ve absorbe olur. Maltodekstrinin yüksek glisemik indeks değerine sahiptir. Bu nedenle diyabetik bireyler tarafından dikkatli bir şekilde kullanılmalıdır [131].

Maltodekstrinler camsı geçiş sıcaklığı yüksek olduğu için püskürterek kurutma metodunda tercih edilmektedirler. Bunun yanında tek başına püskürterek kurutma metodunda kullanılmaları düşük film kaplama özelliği sebebiyle hassas bileşikler için uygun değildir[132]. Ayrıca amorf bir yapıya sahip olduğu için nispeten yüksek nem maruz kaldığında, maltodekstrin içeren püskürtülerek kurutulmuş tozlar, yapışkan ve topaklanma olasılığına sahiptir [132]. Ekstrelerde %10 ile %50 aralığında kullanımı bulunmaktadır. Püskürterek kurutma ile %50 oranında kullanılan maltodekstrinin daha düşük higroskopiyi sağladığı %10 oranında kullanımı ile de daha yüksek fenolik oranının yakalandığı belirtilmiştir [133].

- Arap zankı

Gum Arabic'in güçlü film oluşturma kabiliyetine sahip olduğu, ancak düşük bir cam geçiş sıcaklığına sahip olduğu söylenir [132]. Maltodekstrin ile arap zankı kombinasyonunun püskürterek kurutma metodunda daha uygun olduğu belirtilmektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Bitkisel Materyel

Laboratuvar ölçekli analizler için *Punica granatum* meyvesinin taneleri ayıklanıp bıçakla küçük parçalara ayrılmıştır. İdeal çözücüler ile içerik analizi yapılmıştır

Endüstriyel ölçekli *Punica granatum* meyvesinde ekstre elde edebilmek İstanbul Büyükşehir Belediyesi Hali'den ~75 kg nar satın alınmıştır. Meyveler yıkanıp katı meyve sıkacağı ile suyu sıkılıp meyve kabuğundan ayrılmıştır. Ekstre olarak kullanılacak bitki materyali kısmı suyunun dışında kalan çekirdekleri ve kabuklarıdır. Elde edilen kabuklar bıçak yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır. Meyve kabuklarının parçalanması ve ekstraksiyon işlemleri Bezmialem Vakıf Üniversitesi Fitoterapi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır. Parçalanmış nar kabukları 4'er 5'er kg'lık bezden yapılmış torbalar halinde ekstraksiyon süresi boyunca derin dondurucuda -18 °C'de depolanmıştır

3.1.2 Kullanılan kimyasallar

Ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilmesi aşamasında, solvent olarak deiyonize su, etanol (C₂H₅OH; %96 ERBA PHARM Reagent) kullanılmıştır. Miktar tayini çalışmalarında asetik asit (CH₃COOH, %100, MERK CAS No: 64-19-7) Folin-Ciocalteu reaktifi (MERK-HC604332201), Sodyum karbonat püre grade (Na₂CO₃, %99 CAS no: 497-19-8) Alüminyum klorür (AlCl₃, %98, MERC, CAS No: 013-003-00-7), amonyum asetat püre grade (CH₃COONH₄, %95, CAS No: 631-61-8), Mikrokristal selüloz (CAS No: 9004-34-6) elajik asit (CAS No: 476-66-4) ve PUNICALAGIN (A + B MIXTURE) (Cas No: 65995-63-3), Hidroklorik asit (CAS No: HCl, 7647-01-0)

3.1.3 Kullanılan cihazlar

Mikroplak okuyucu (BioTek Epoch), döner buharlaştırıcı (Heidolph Rotary Evaporatör), manyetik karıştırıcılı ısıtıcı (Hotplate and Magnetic Stirrer HS12-O6P),

hassas terazi (Shimadzu AUW220D), HPLC cihazı (Perkin Elmer PDA Tof), endüstriyel ekstre üretimi için Sirkülasyonlu ekstraksiyon cihazı (Frumak) ve karıştırıcı vakum kazanı ekstraksiyon cihazı (Frumak), Sonkaya SMKD100M Kapsül dolum makinesi ve 00 numara kapsül kullanılmıştır. Ayrıca çeşitli teknik cam ve plastik ekipmandan yararlanılmıştır.

3.2 Yöntem

Punica granatum bitkisinin meyve kabuklarından elde edilen ekstraktlar için uygulanan analizler şunlardır: toplam fenolik madde içeriği, toplam flavonoid madde, elajik asit ve punikalagin kantitatif tayinleri yapılmıştır. Toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam flavonoid içeriği alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile yapılmıştır. Miktar tayinleri için HPLC kullanılmıştır.

3.2.1 Ekstre ve çözeltilerin hazırlanması

Bu çalışmada *Punica granatum* meyve kabuğuna ait hazırlanan ekstraktlardan toplam fenol, toplam flavonoid ve ekstraktların elajik ve punikalagin oranları kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanacak ekstraktlar için ideal koşulların ne olacağına gerekli literatür çalışmaları yapılarak karar verilmiştir.

3.2.1.1 Endüstriyel üretim öncesinde ideal ekstraksiyon çözücüsünün belirlenmesi için laboratuvar ölçekli hazırlanan ekstre ve çözeltiler

Farklı çözücüler kullanılarak ekstraksiyon yöntemi değerlendirilmiştir. Ekstraksiyon çözücüsünün ekstraktlardaki punikalagin, elajik asit, fenolik ve flavonoid miktarları yönünden kıyaslanması amaçlanmıştır.

Laboratuvar ölçekli ekstre örneklerinin hazırlanışı: 20 g taze nar kabuğuna 1:10 oranında olacak şekilde 200 g çözücü (çözücüler Tablo 3.1’de verilmiştir) ilave edildi. Üzeri kapatılarak magnetik karıştırıcı ile 8 saat boyunca 40 °C’de ekstraksiyona bırakıldı. 1 gece bekletilip filtre kağıdından geçirilerek süzüldü.

200 g çözücü için 20 g nar kabuğu kullanılarak hazırlanan ekstraktların çözücü sistemleri aşağıdaki Tablo 3.1’de sunulmuştur.

Tablo 3.1 : Endüstriyel üretim öncesi farklı çözücülerle hazırlanan nar ekstresi numuneleri

NUMUNE NO:	200 g ÇÖZÜCÜ İÇERİĞİ	ÇÖZÜCÜNÜN HAZIRLANIŞI
1. numune	%50 alkol içeren distile su	100 g distile su 100 g etil alkol ile karıştırılmıştır. Hazırlanan 200 g çözücü 20 g taze nar kabuğu ile ekstreye bırakılmıştır.
2. numune	%40 etil alkol içeren distile su	120 g distile su 80 g etil alkol ile karıştırılmıştır. Hazırlanan 200 g çözücü 20 g taze nar kabuğu ile ekstreye bırakılmıştır.
3. numune	%1lik HCl ile asitlendirilmiş %50'lik etil alkollü su	100 g etil alkol, %1 HCl ile oranında asitlendirilmiş 100 g distile su ile karıştırılmıştır. Hazırlanan 200 g çözücü 20 g taze nar kabuğu ile ekstreye bırakılmıştır.
4. numune	%1lik H ₂ SO ₄ ile asitlendirilmiş %50'lik etil alkollü distile su	100 g etil alkol, %1 H ₂ SO ₄ ile oranında asitlendirilmiş 100 g distile su ile karıştırılmıştır. Hazırlanan 200 g çözücü 20 g taze nar kabuğu ile ekstreye bırakılmıştır.
5. numune	%1lik HCl ile asitlendirilmiş %40'lık etil alkollü distile su.	80 g etil alkol, HCl ile %1 oranında asitlendirilmiş 120 g distile su ile karıştırılmıştır. Hazırlanan 200 g çözücü 20 g taze nar kabuğu ile ekstreye bırakılmıştır.
6. numune	%1lik H ₂ SO ₄ ile asitlendirilmiş %40'lık etil alkollü distile su.	80 g etil alkol, H ₂ SO ₄ ile %1 oranında asitlendirilmiş 120 g distile su ile karıştırılmıştır. Hazırlanan 200 g çözücü 20 g taze nar kabuğu ile ekstreye bırakılmıştır.
7. numune	% 70 etil alkol içeren distile su	60 g distile su 140 g etil alkol ile karıştırılmıştır. Hazırlanan 200 g çözücü 20 g taze nar kabuğu ile ekstreye bırakılmıştır.
8. numune	% 80 etil alkol içeren distile su	40 g distile su 160 g etil alkol ile karıştırılmıştır. Hazırlanan 200 g çözücü 20 g taze nar kabuğu ile ekstreye bırakılmıştır

3.2.1.2 Endüstriyel üretim için ideal ekstraksiyon cihazının belirlenmesi

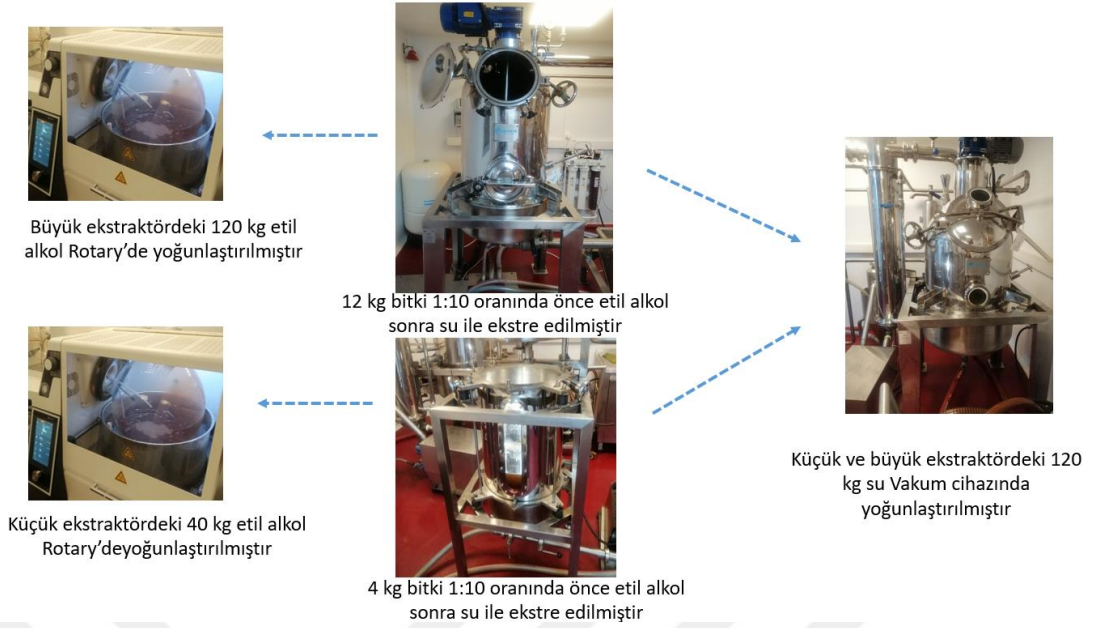
Endüstriyel Üretim için Karıştırıcı ekstraksiyon üretim hattı ve sirkülasyonlu ekstraksiyon üretim hattından yararlanılmıştır. Karıştırıcı ekstraksiyon üretim hattı sadece alttan karıştırılmalıdır ve 200 L hacmine sahiptir. Sirkülasyonlu ekstraksiyon

cihazı ise 50 L hacme sahiptir ve ekstre çözücüsünü devir daim ederek homojen karışabilmesi amaçlanmıştır.

Nar ekstraksiyonu üretebilmek için endüstriyel olarak 5 adet üretim denemesi yapılmıştır. Bunların içinden ilk üretimde (1. Üretim) ideal ekstraksiyon cihazının belirlenmesi amaçlanmıştır. Büyük olan alttan karıştırıcılı ekstraktöre 12 kg kabuk tülbentten yapılmış torbalar ile paketlenerek yerleştirildi. Üzerine 1:10 olacak şekilde 120 kg etil alkol eklendi. 40 °C'de 1 gün ekstraktörde karıştırılarak bekletilip ortamdan alkol uzaklaştırıldı. Heidolp rotary'de yoğunlaştırılıp alkol ekstresi elde edildi. Aynı 12 kg bitki üzerine 120 kg su ilave edildi. 1 gün 80 °C'de alttan karıştırıcılı ekstraktörde karıştırılarak bekletildi. Ortamdaki su vakuma alındı.

Küçük olan sirkülasyonlu ekstraktöre 4 kg kabuk tülbentten yapılmış torbalar ile paketlenerek yerleştirildi. Üzerine 1:10 olacak şekilde 120 kg etil alkol eklendi. 40 °C'de 1 gün sirkülasyonla karıştırılarak bekletilip ortamdan alkol uzaklaştırıldı. Heidolp rotary'de yoğunlaştırılıp alkol ekstresi elde edildi. Aynı 4 kg bitki üzerine 40 kg su ilave edildi. 1 gün 80 °C'de sirkülasyonlu karıştırıcıda karıştırılarak bekletildi. Ortamdaki su vakuma alındı.

Büyük ve küçük ekstraktördeki ekstreler eş zamanlı yapılmıştır. Ekstraktördeki su çözücüleri birleştirilip uçuruldu, etil alkol çözücüleri ise ayrı ayrı uçurulup yoğunlaştırıldı ve analiz sonuçları değerlendirildi. Şekil 3.1'de 1. Üretim şematize edilmiştir. İdeal ekstraksiyon cihazının belirlenebilmesi için büyük ve küçük ekstraktörlerdeki etil alkol ekstrelerine total fenol, total flavonoid ve HPLC analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.1 : 1. üretime ait üretim prosesi

3.2.1.3 Endüstriyel üretim için ideal ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi

Alkolü geri kazanabilmek için nar kabukları için hazırlanan ekstreler etil alkol ve su ile ayrı ayrı ekstre edilmiştir. Bu sebeple Tablo 3.1'deki laboratuvar ölçekli analizlerden %50 (g/g) etil alkol çözücüsü uygun bulunmuştur. Bu sebeple nar kabukları önce alkol sonra su veya önce su sonra alkol ile ekstre edilmiştir. Çözücü oranları 1:10 veya 1:9 olarak belirlenip bu değişiklikler ile elde edilen ekstrelerde % verimleri, içerik miktarları, total fenol ve flavonoid miktarları, toz haline getirilme şekilleri değerlendirildi. Buna yönelik 5 farklı endüstriyel üretim gerçekleştirildi. Bu üretimler aşağıda belirtilmektedir.

1. Üretim: İdeal Ekstraksiyon cihazı belirlenmesi amaçlanmıştır. Nar kabukları önce 1:10 oranında alkol, sonra 1:10 oranında su ile ekstre edildi.

12 kg'lık nar kabuğu önce 120 kg etil alkolle 40 °C'de 1 gün ekstre edildi. Etil alkol uzaklaştırılıp aynı bitki 80 °C'de su ile ekstakte edildi. Ekstraksiyonlar alttan karıştırıcılı büyük ekstraktörde yapılmıştır.

4 kg'lık nar kabuğu sirkülasyonlu karıştırıcıda (küçük ekstraktör) 40 kg etil alkolle 40 °C'de 1 gün boyunca ekstre edildi. Alkol uzaklaştırılıp aynı nar kabuğu sirkülasyonlu karıştırıcıda 80 °C'de su ile 1 gün boyunca ekstakte edildi. Küçük ve büyük ekstraktördeki su ekstreleri birleştirilip Vakumda yoğunlaştırıldı. Alkol ekstrelerinden

küçük ve büyük ekstraktördekiler ayrı ayrı yoğunlaştırılıp analizleri değerlendirildi ve uygun cihaza karar verildi. Toz haline getirildi.

2. Üretim: Nar kabukları su veya alkol ile ayrı ayrı ekstre edildi. Ekstraksiyon çözücüsü olarak su veya alkolün öncelik sırasının analizlerdeki etkisi değerlendirildi. Nar kabukları önce 1:10 oranında su, sonra 1:10 oranında etil alkol ile ekstre edildi.

1. üretimden sonraki endüstriyel üretimlerde sirkülasyonlu karıştırıcı (küçük ekstraktör) tercih edildi. 4 kg nar kabuğu önce 40 kg su ile 80 °C'de su ile 1 gün boyunca küçük ekstraktörde ekstakte edildi. Ortamdan su uzaklaştırılıp aynı bitki sirkülasyonlu karıştırıcıda 40 kg etil alkolle 40 °C'de ekstrakte edildi. Ortamdan uzaklaştırılan su ve alkol ayrı ayrı yoğunlaştırılıp analizleri yapıldı. Yoğunlaştırılan ekstre çeker ocak altında bekletildi analizleri yapıldı ve toz haline getirildi.

3. Üretim: Nar kabukları su veya alkol ile ayrı ayrı ekstre edildi. Ekstraksiyon çözücüsü olarak su veya alkolün öncelik sırasının analizlerdeki etkisi değerlendirildi. Ayrıca bu üretimde su ve alkol ekstreleri ayrı ayrı tozlaştırılmayıp tek bir kapta tozlaştırılmıştır. Yardımcı madde miktarı açısından etkisi değerlendirildi.

5 kg nar kabuğu önce 50 kg su (1:10 oranında) ile 80 °C'de 1 gün boyunca sirkülasyonlu karıştırıcıda ekstakte edildi. Ortamdan su uzaklaştırılıp aynı bitki 40 °C'de 50 kg (1:10 oranında) etil alkol ile sirkülasyonlu karıştırıcıda 1 gün boyunca ekstakte edildi. Ortamdan uzaklaştırılan su ve alkol ayrı ayrı yoğunlaştırıldıktan sonra tek kapta birleştirildi. Birleştirilen ekstre çeker ocak altında bekletildi analizleri yapıldı ve toz haline getirildi.

4. Üretim: Nar kabukları su veya alkol ile ayrı ayrı ekstre edildi. Ekstraksiyon çözücüsü olarak su veya alkolün öncelik sırasının analizlerdeki etkisi değerlendirildi. Nar kabukları önce 1:8 oranında alkol, sonra 1:8 oranında su ile ekstre edildi.

5 kg nar kabuğu önce 40 kg (1:8 oranında) alkol ile 40 °C'de 1 gün boyunca küçük ekstraktörde ekstakte edildi. Ortamdan su uzaklaştırılıp aynı nar kabukları 80 °C'de 40 kg (1:8 oranında) su ile 1 gün boyunca sirkülasyonlu karıştırıcıda ekstakte edildi. Ortamdan uzaklaştırılan su ve alkol ayrı ayrı yoğunlaştırıldı. Yoğunlaştırılan ekstreler çeker ocak altında bekletildi analizleri yapıldı ve toz haline getirildi

5. Üretim: Nar kabukları su veya alkol ile ayrı ayrı ekstre edildi. Ekstraksiyon çözücüsü olarak su veya alkolün öncelik sırasının analizlerdeki etkisi değerlendirildi.

3.5 kg nar kabuğu önce 35 kg su (1:10 oranında) ile 80 °C’de 1 gün boyunca küçük ekstraktörde ekstakte edildi. Ortamdan su uzaklaştırılıp aynı nar kabukları küçük ekstraktörde 35 kg (1:10 oranında) etil alkolle 40 °C’de ekstrakte edildi. Ortamdan uzaklaştırılan su ve alkol ayrı ayrı yoğunlaştırıldı. Yoğunlaştırılan ekstratler çeker ocak altında bekletildi analizleri yapıldı ve toz haline getirildi.

3.2.2 HPLC (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) analizleri

İlk olarak toplam punikalagin (punikalagin α ve β) ve elajik asit için standard grafik denklemi oluşturuldu. HPLC analizleri Masci ve ark.,’nın çalışması revize edilerek cihazımıza uygun şekilde gerçekleştirilmiştir [134]. Perkin Elmer cihazında, Flexar PDA Dedektör, Flexar Coloumn Oven, Flexar LC pump, Flexar LC autosampler içeren Perkin Elmer cihazında, C18 5 μ m 280 x 4,6 mm (N9303514) kolonu ile yapılmış ve Chromera manager programı ile data değerlendirmesi yapılmıştır. HPLC için analiz şartları aşağıda belirtilmiştir:

Mobil Faz A: Asetonitril

Mobil faz B: %1’lik asetik asit çözeltisi

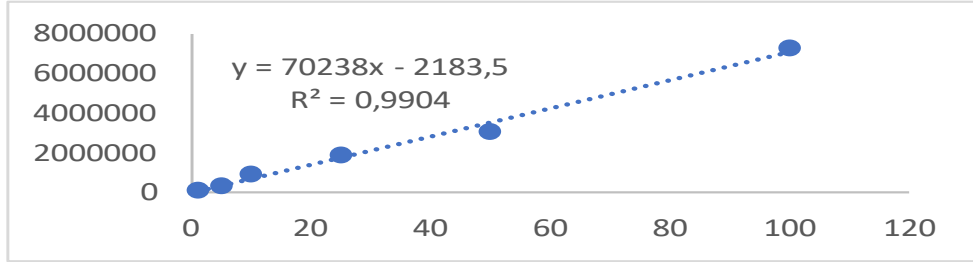
Akış hızı: 0.9 ml/dk

Dalga boyu: 360 nm.

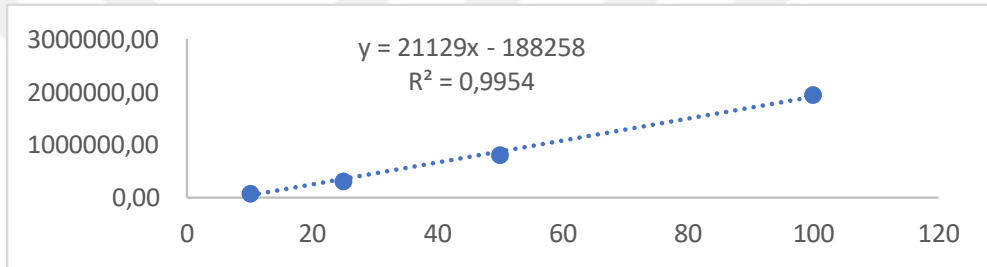
Analiz gradient:

<u>Zaman</u>	<u>Mobil Faz A %</u>	<u>Mobil Faz A %</u>
5 dk (Equil)	5	95
3 dk	5	95
3 dk	7	93
3 dk	9	91
3 dk	12	88
3 dk	15	85
2 dk	16	84
2 dk	17	83
2 dk	17.5	82.5
2 dk	18	82
2 dk	20	80
4 dk	28	72
11 dk	100	0

Elajik asit standard dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözüldü ve 1mg/L ile 100 mg/L arasında değişen dozlarda oluşturulan kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Eğri grafiği ve denklemi Şekil 3.2’de gösterildi. Punikalagin standard (punikalagin α ve β) etil alkol ile çözüldü ve 10mg/L ile 100 mg/L arasında değişen dozlarda oluşturulan kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Eğri grafiği ve denklemi Şekil 3.3’te gösterildi.



Şekil 3.2 : Elajik asit standard kalibrasyon grafiği



Şekil 3.3 : Punikalagin (punikalagin α ve β) standard kalibrasyon grafiği

3.2.2.1 Ekstrelerden HPLC analizleri için örnekler Hazırlanması

* Toplam punikalagin miktar tayini için aşağıdaki ekstrelerde HPLC analizi yapılmıştır:

1. Endüstriyel üretimden elde edilen ekstreler
2. Tablo 3.1’deki laboratuvar ölçekli hazırlanan ekstreler
3. Nar ekstrelerinden elde edilen 500 mg’lık toz kapsüller

Ekstrelerden alınan 10 mg’lık örnekler 10 ml çözücü (ekstresnin kendi çözücüsü: etil alkol veya distile su) ile 1000 ppm olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan örneklerin ultrasonikte 20 dk boyunca çözünmesi sağlanmıştır. Çözünen örnekler filtrelenip HPLC analizleri için hazırlanmıştır. Sonuçlar % punikalagin şeklinde verilmiştir.

* Elajik asit miktar tayini için aşağıdaki ekstrelerde HPLC analizi yapılmıştır:

1. Endüstriyel üretimden elde edilen ekstreler
2. Tablo 3.1’deki laboratuvar ölçekli hazırlanan ekstreler

3. Nar ekstrelerinden elde edilen 500 mg'lık toz kapsüller

Elajik asit miktar tayini için öncelikli olarak hidroliz işlemi uygulanmıştır.

10 mg örnek ultrasonikte 2 ml distile su ile 20 dk çözülmeye bırakılmıştır. Üzerine 2 ml 12 M HCl çözeltisi eklenerek 5 saat 80 °C'de hidrolize bırakılmıştır. Daha sonra çözücü (ekstresnin kendi çözücüsü: etil alkol veya distile su) ile balon jodede çeker ocak altında 10 ml'ye tamamlanarak 1000 ppm'lik örnekler hazırlanmıştır. Ultrasonikte 5 dk daha bekletilmiştir. Çözünen örnekler filtrelenip HPLC analizleri için hazırlanmıştır. Sonuçlar % elajik asit şeklinde verilmiştir.

3.2.3 Total Fenolik Madde Miktar Tayini

Folin-Ciocalteu Yöntemi

Punica granatum meyvesinde total fenolik madde miktar tayini yapabilmek için Folin-Ciocalteu yöntemi tercih edilmiştir [135].

Kalibrasyon aralığı belirlenmesi: Fenolik bileşikler için gallik asit standart alınmıştır. 1000 ppm'lik gallik asit stok çözeltisi üzerinden değişik konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Absorbanslarına göre kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Standart grafik denklemi oluşturuldu.

Uygulama öncesinde bazı modififasyonlar yapılmıştır. 8 µL örnek, 104 µL saf su ile seyreltildi. 8 µL Folin Ciocalteu Reaktifi (FCR) ilave edildi. 5 dakika sürenin beklenilmesi sonucunda 80 µL %10'luk sodyum karbonat (Na₂CO₃) ilave edildi. 90 dakika karanlık ortamda bekletildi. 725 nm'de 3'er tekrarlı ölçümler microplate okuyucu ile gerçekleştirildi. Örneklerdeki absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit miktarları oluşturulan grafik denklemleri kullanılarak tespit edilmiştir. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak yüzde cinsinden hesaplanmıştır.

Total Fenolik Madde Miktar Tayini yapılan numuneler:

1. Tablo 3.1'deki laboratuvar ölçekli hazırlanan ekstreler
2. Endüstriyel üretim için hazırlanan ekstreler
3. Nar ekstrelerinden elde edilen 500 mg'lık toz kapsüller

3.2.4 Total Flavonoid Madde Miktar Tayini

Alüminyum Klorür Kolorimetrik yöntemi

Punica granatum meyvesinde total fenolik madde miktar tayini yapabilmek için Folin-Ciocalteu yöntemi tercih edilmiştir [136, 137].

Kalibrasyon aralığı belirlenmesi: Flavonoid bileşikler için kersetin standart alınmıştır. 1000 ppm'lik kersetin stok çözeltisi üzerinden değişik konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Absorbanslarına göre kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Standart grafik denklemi oluşturuldu.

Uygulama öncesinde bazı modifiyasyonlar yapılmıştır. 20 µL örnek, 134 µL saf su ile seyreltildi. Sırasıyla 6 µL %10'luk alüminyum klorür (AlCl₃) ve 40 µL 1M amonyum asetat (CH₃COONH₄) ilave edildi. 425 nm'de 3'er tekrarlı ölçümler microplate okuyucu ile gerçekleştirildi. Örneklerdeki absorbans değerlerine karşılık gelen kersetin miktarları oluşturulan grafik denklemleri kullanılarak tespit edilmiştir. Sonuçlar kersetin eşdeğeri olarak yüzde cinsinden hesaplanmıştır.

Total Flavonoid Madde Miktar Tayini yapılan numuneler:

1. Tablo 3.1'deki laboratuvar ölçekli hazırlanan ekstreler
2. Endüstriyel üretim için hazırlanan ekstreler
3. Nar ekstrelerinden elde edilen 500 mg'lık toz kapsüller

3.2.5 Ekstreleri toz haline getirmek için kullanılacak yardımcı maddelerin oranının belirlenmesi

Yoğunlaştırılmış ekstreleri toz haline getirebilmek için MCC ve silikon dioksit (SiO₂) kullanıldı. FDA tarafından gıda katkı maddesi olarak silikon dioksitin en küçük dozlarının kullanılması ve kullanılacak miktarın toplam gıda ağırlığının en fazla %2'si olabileceği konusunda izin verildiği belirtilmiştir [138].

Endüstriyel olarak hazırlanan 5 üretime ait Rotary ile yoğunlaştırılmış ve çeker ocak altında bekleyen ekstrelerden sulu ekstrelere ağırlığının %1'i kadar distile su ilave edildi. Ekstre ağırlığının %2'si kadar silisyum dioksit ilave edildi. Sulu ekstreler için uygun olan MCC dozuna karar verildi. Vakum etüvde 5 saat 60 °C'de kurutma işlemine geçildi. Vakumdan çıkarılan ekstreler 1 gece çeker ocakta bekletildi.

öğütücüden geçirildi. Toz haline gelen ekstre paketlenerek buzdolabına kaldırıldı ve sonraki ekstrenin kurutma işlemine geçildi.

Endüstriyel olarak hazırlanan 5 üretime ait yoğunlaştırılmış ve çeker ocak altında bekleyen ekstrelerden etil alkollü ekstrelerin üzerine su ilavesi yapılmadı. Ekstre ağırlığının %2'si kadar silisyum dioksit ilave edildi. Alkollü ekstreler için uygun olan MCC dozuna karar verildi. Vakum etüvde 5 saat 60 °C'de kurutma işlemine geçildi. Vakumdan çıkarılan ekstreler 1 gece çeker ocakta bekletilip öğütücüden geçirildi. Toz haline gelen ekstre paketlenerek buzdolabına kaldırıldı ve sonraki ekstrenin kurutma işlemine geçildi.

3.2.6 Kapsülleme işlemi

Toplam 5 üretimden üretim yöntemimize göre elde edilen alkollü ve sulu ekstreler ayrı ayrı toz edilip homojen bir şekilde karıştırıldı. Sadece 3 nolu endüstriyel üretime ait alkollü ve sulu ekstreler birleştirildikten sonra toz edildi. Kapsülleme için sonkaya marka manuel kapsülleme makinası kullanıldı. 00 numaralı 500 mg ürün içerecek kapsül kullanıldı. 1 ambalaj 60 kapsül içerecek şekilde ambalajlandı. Bu işlemler için dışarıdan hizmet alındı. İçerik tekdüzeliği analizi için farmakope metodu kullanıldı. 10 adet kapsüldeki ortalama elajik miktarı belirlendi ve içerik tekdüzeliği analizi farmakope metoduna göre uygulandı.

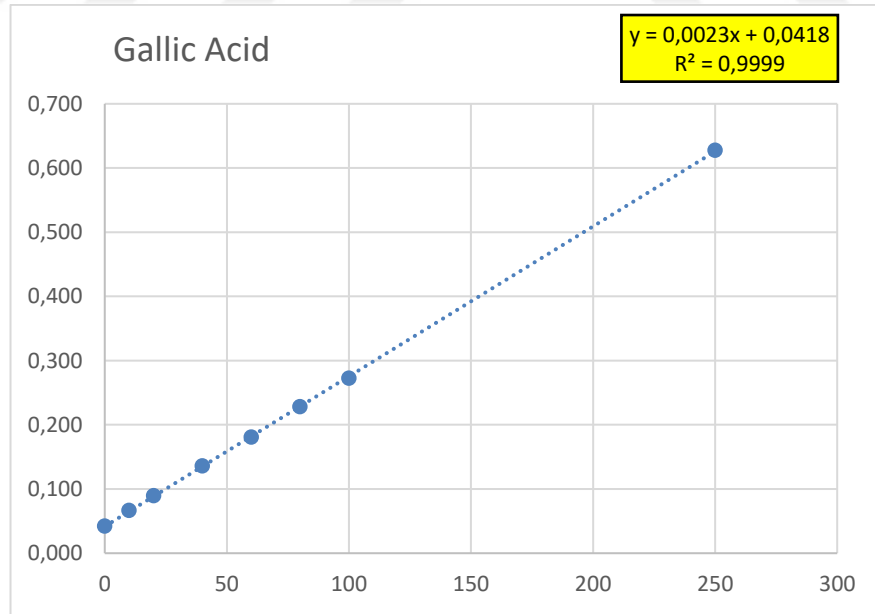
4. BULGULAR

4.1 İdeal Ekstraksiyon Çözücüsü

Endüstriyel üretim için önce laboratuvar ölçekli farklı çözücülerini içeren ekstraktlar hazırlandı (Tablo 3.1). Tablo 3.1’de yer alan örnekler için Toplam fenol, toplam flavonoid ve HPLC analizleri yapıldı. Toplam fenol, toplam flavonoid ve HPLC analizleri için 3 tekrarlı ölçümler yapıldı.

4.1.1 Laboratuvar Ölçekli numunelerde toplam fenolik madde miktar tayini

Kalibrasyon aralığını belirleyebilmek için standart olarak gallik asit referans alındı. 1000 ppm’lik gallik asit stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak 100, 80, 60, 40, 20, 10 ppm’lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti için 725 nm’de 3 tekrarlı absorbans değerleri ölçülerek ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Eğri şekil 4.1’de gösterildi. Standart grafik denklemi oluşturuldu



Şekil 4.1 : Gallik asit cinsinden fenolik madde konsantrasyon grafiği

Laboratuvar ölçekli ekstraktlar için alınan örnekler Folin-Ciocalteu Yöntemine göre hazırlanıp plate okumaları tamamlandı. Mikroplak okuyucu ile 725 nm’de absorbans 3’er tekrarlı ölçümleri yapıldı. Ölçülen absorbans değerleri kaydedildi. Standart grafik

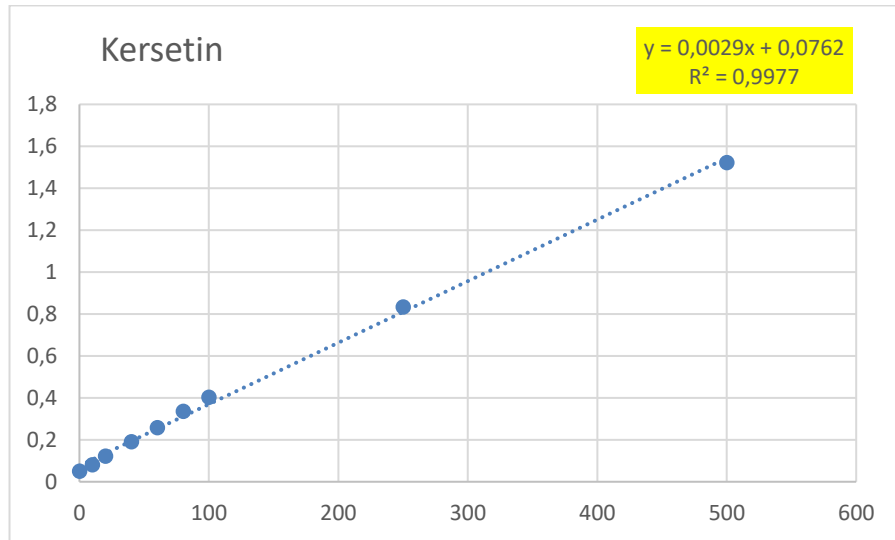
denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Örneklerdeki fenolik madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.1’de verilmiştir. Plate ekim örnekleri Şekil 4.3’te verildi.

Tablo 4.1 : Farklı çözücüler kullanarak hazırlanan laboratuvar ölçekli ekstrelerin toplam fenolik miktarları.

NUMUNE NO	ÇÖZÜCÜ	% FENOLİK ± SD
1. Numune	1:1 EtOH:H ₂ O (% 50)	19,94 ± 03
2. numune	2:3 EtOH:H ₂ O (% 40)	21,65 ± 0,4
3. numune	1:1 EtOH: %1 HCl’lik H ₂ O	19,39 ± 0,4
4. numune	2:3 EtOH:%1 HCl’lik H ₂ O	7,70 ± 0,3
5. numune	1:1 EtOH:%1 H ₂ SO ₄ ’lük H ₂ O	16,05 ± 0,3
6. numune	2:3 EtOH:%1 H ₂ SO ₄ ’lük H ₂ O	6,98 ± 0,5
7. numune	7:3 EtOH:H ₂ O (% 70)	26,90 ± 0,6
8. numune	8:2 EtOH:H ₂ O (% 80)	23,02 ± 0,2

4.1.2 Laboratuvar Ölçekli numunelerde toplam flavonoid madde miktar tayini

Kalibrasyon aralığını belirleyebilmek için standart olarak kersetin referans alındı. 1000 ppm’lik gallik asit stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak 100, 80, 60, 40, 20, 10 ppm’lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti için 425 nm’de 3 tekrarlı absorbans değerleri ölçülerek ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Eğri şekil 4.2’de gösterildi. Standart grafik denklemi oluşturuldu.

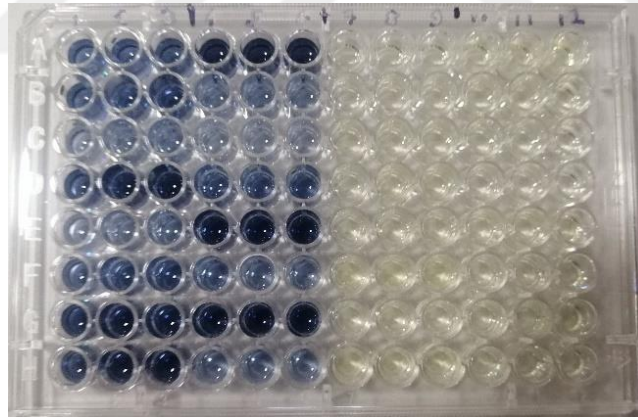


Şekil 4.2 : Kersetin cinsinde flavonoid madde konsantrasyon grafiği

Laboratuvar ölçekli ekstreler için alınan örnekler Alüminyum Klorür Kolorimetrik yöntemine göre hazırlanıp plate ekimleri tamamlandı. Mikroplak okuyucu ile 425 nm'de absorbans 3'er tekrarlı ölçümleri yapıldı. Ölçülen absorbans değerleri kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Örneklerdeki flavonoid madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.2'de verildi. Plate ekim örnekleri Şekil 4.3'te verildi.

Tablo 4.2 : Farklı çözücüler kullanarak hazırlanan laboratuvar ölçekli ekstrelerin toplam flavonoid miktarları

NUMUNE NO	ÇÖZÜCÜ	% FLAVONOID \pm SD
1. numune	1:1 EtOH:H ₂ O (% 50)	2,37 \pm 0,4
2. numune	2:3 EtOH:H ₂ O (% 40)	2,71 \pm 0,3
3. numune	1:1 EtOH: %1 HCl'lik H ₂ O	2,64 \pm 0,2
4. numune	2:3 EtOH:%1 HCl'lik H ₂ O	1,41 \pm 0,5
5. numune	1:1 EtOH:%1 H ₂ SO ₄ 'lük H ₂ O	2,24 \pm 0,6
6. numune	2:3 EtOH:%1 H ₂ SO ₄ 'lük H ₂ O	1,39 \pm 0,2
7. numune	7:3 EtOH:H ₂ O (% 70)	2,60 \pm 0,2
8. numune	8:2 EtOH:H ₂ O (% 80)	2,57 \pm 0,3



Şekil 4.3 : Total fenol ve flavonoid plate ekim örneği

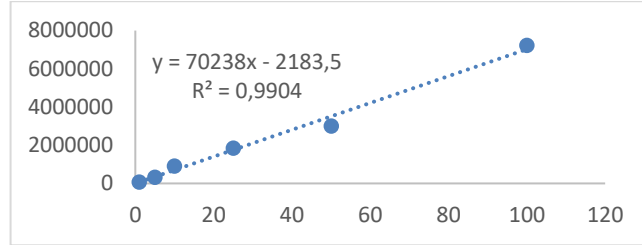
4.1.3 Laboratuvar Ölçekli numunelerde elajik asit ve punikalagin miktar tayini

Nar kabuklarında kantitatif olarak elajik asit ve punikalagin (α ve β) miktar tayinleri HPLC'de yapıldı.

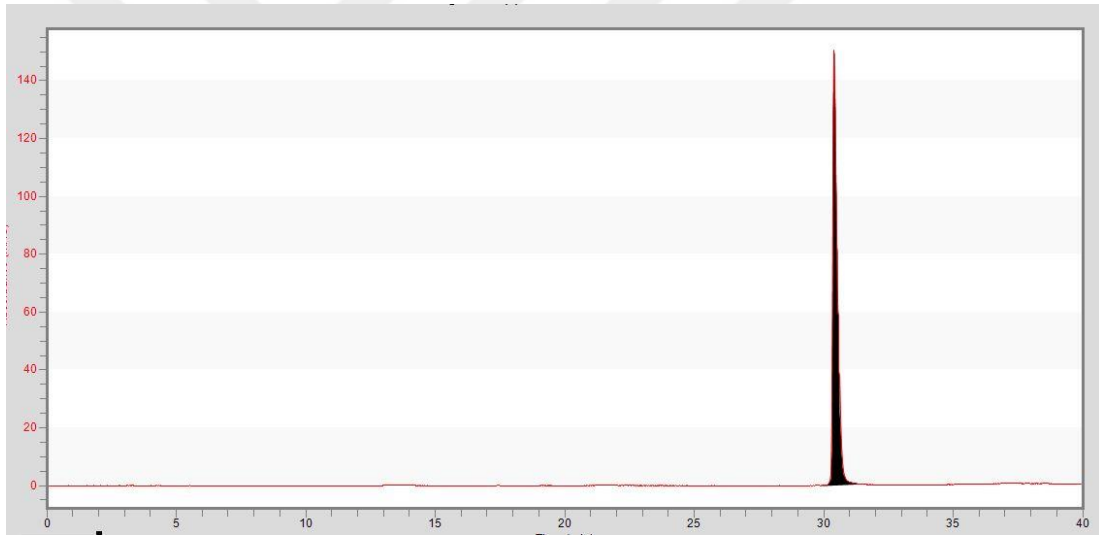
Elajik asit miktar tayini için:

5 mg standart elajik asit 500 mg DMSO içerisinde çözüldü ve 500 ppm'lik stok çözeltisi hazırlandı. Gerekli seyreltmeler yapılarak 50, 25, 10, 5, 1, 0.5, 0.1 ppm'lik çözeltiler hazırlandı. Elajik asit için HPLC analizleri Masci ve ark.,'nın çalışması

revize edilerek cihazımıza uygun şekilde gerçekleştirildi. Hazırlanan numuneler filtrelenip cihaza verildi. 3'er tekrarlı ölçümler alındı. Eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Eğri şekil 4.4'te gösterildi. Standart grafik denklemi oluşturuldu. Elajik aside ait kromatogram görüntüsü Şekil 4.5'te verildi.



Şekil 4.4 : Elajik asit standard kalibrasyon grafiği



Şekil 4.5 : Elajik asit kromatogram görüntüsü

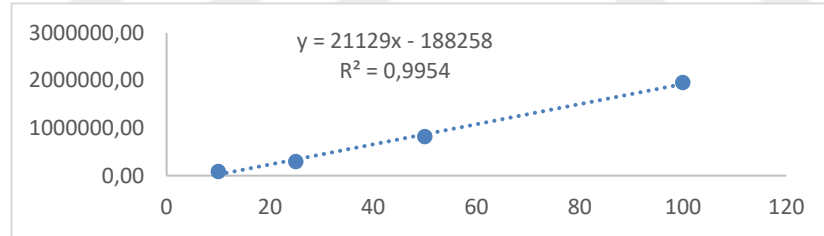
Laboratuvar ölçekli ekstrelerden (Tablo 3.1) 10 mg alınıp 2 ml distile su ve 2 ml 12 M HCl ile 80 °C'de 5 saat hidrolize bırakıldı. Daha sonra hazırlandığı ekstre çözücüsüne göre etil alkol veya distile su ile çeker ocakta balon joje ile 10ml'ye tamamlandı. 1000 ppm lik numuneler hazırlandı. Ultrasonikte 5 dk daha bekletildi. Numuneler filtrelenip cihaza verildi. HPLC analizleri için 3'er tekrarlı ölçümler alındı ve eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Ortalama değerleri üzerinden elajik asit madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Örneklerdeki ortalama elajik asit madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.3'te % elajik asit miktarları verilmiştir.

Tablo 4.3 : Laboratuvar ölçekli hazırlanan numunelerdeki % elajik asit miktarları

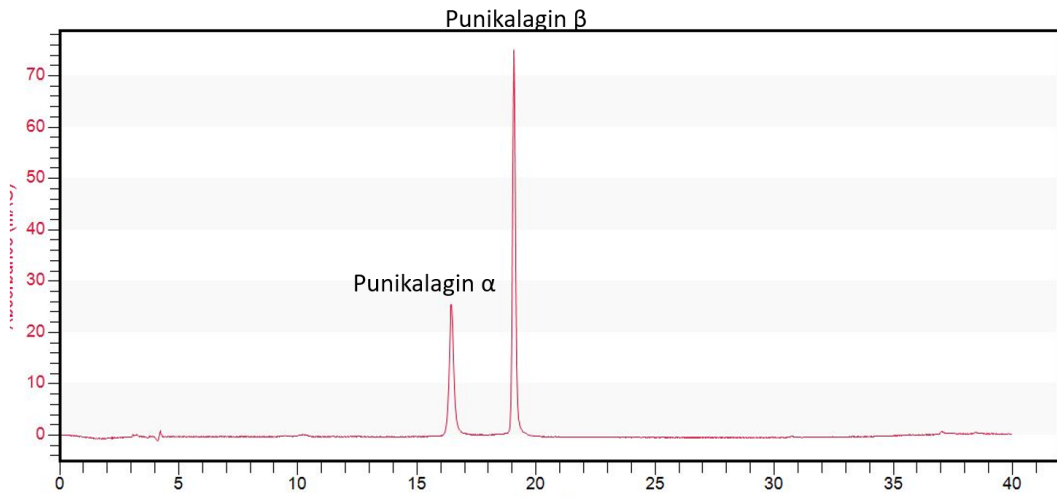
NUMUNE NO	ÇÖZÜCÜ	% ELAJİK ASİT
1. Numune	1:1 EtOH:H ₂ O (% 50)	6,90 ± 0,01
2. Numune	2:3 EtOH:H ₂ O (% 40)	5,47 ± 0,03
3. Numune	1:1 EtOH: %1 HCl'lik H ₂ O	4,21 ± 0,02
4. Numune	2:3 EtOH:%1 HCl'lik H ₂ O	0,96 ± 0,02
5. Numune	1:1 EtOH:%1 H ₂ SO ₄ 'lük H ₂ O	5,40 ± 0,02
6. Numune	2:3 EtOH:%1 H ₂ SO ₄ 'lük H ₂ O	1,36 ± 0,00
7. Numune	7:3 EtOH:H ₂ O (% 70)	3,54 ± 0,04
8. Numune	8:2 EtOH:H ₂ O (% 80)	5,23 ± 0,05

Punikalagin miktar tayini için:

3 mg Punicalagin standardı 1,5 mL etil alkol çözüldü ve 500 ppm'lik stok çözeltisi hazırlandı. Gerekli seyreltmeler yapılarak 50, 25, 10, 5, 1, 0.5, 0.1 ppm'lik çözeltiler hazırlandı. Filtrelenip cihaza verildi. 3'er tekrarlı ölçümler alındı. Eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Ortalama değerleri üzerinden toplam punikalagin miktarının (Punikalagin α ve β) kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Eğri Şekil 4.6'da gösterildi. Standart grafik denklemleri oluşturuldu. Punikalagin α ve Punikalagin β kromatogram görüntüleri şekil 4.7'de gösterildi.



Şekil 4.6 : Toplam punikalagin standard grafiği



Şekil 4.7 : Punikalagin α ve Punikalagin β kromatogram

Laboratuvar ölçekli ekstrelerden (Tablo 3.1) 10 mg alınıp hazırlandığı ekstre çözücüsüne göre etil alkol veya distile su ile balon jodede 10ml'ye tamamlandı. Filtrelenip cihaza verildi. HPLC analizleri için 3'er tekrarlı ölçümler alındı ve eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Ortalama değerleri üzerinden toplam punikalagin madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.4'te verildi.

Tablo 4.4 : Laboratuvar ölçekli hazırlanan numunelerdeki % punikalagin miktarları

NUMUNE NO	ÇÖZÜCÜ	% PUNIKALAGIN \pm SD
1. numune	1:1 EtOH:H ₂ O (% 50)	7,72 \pm 0.2
2. numune	2:3 EtOH:H ₂ O (% 40)	7,93 \pm 0.2
3. numune	1:1 EtOH: %1 HCl'lik H ₂ O	5,33 \pm 0.5
4. numune	2:3 EtOH:%1 HCl'lik H ₂ O	3,94 \pm 0.2
5. numune	1:1 EtOH:%1 H ₂ SO ₄ 'lük H ₂ O	5,31 \pm 0.4
6. numune	2:3 EtOH:%1 H ₂ SO ₄ 'lük H ₂ O	3,81 \pm 0.5
7. numune	7:3 EtOH:H ₂ O (% 70)	9,77 \pm 0.4
8. numune	8:2 EtOH:H ₂ O (% 80)	10,02 \pm 0.3

4.2 İdeal Ekstraksiyon Cihazı

Endüstriyel Üretim için Karıştırıcılı ekstraksiyon üretim hattı ve sirkülasyonlu ekstraksiyon üretim hattında yararlanılmıştır. Karıştırıcılı ekstraksiyon üretim hattı sadece alttan karıştırmalıdır ve 200 L hacmine sahiptir. Sirkülasyonlu ekstraksiyon cihazı ise 50 L hacme sahiptir ve ekstre çözücüsünü devir daim ederek homojen karışmasını sağlamaktadır.

Küçük olan sirkülasyonlu ekstraktöre 4 kg nar meyve kabuğu büyük olan alttan karıştırıcılı ekstraktöre ise 12 kg nar meyve kabuğu tülbentten yapılmış torbalar ile paketlenerek yerleştirildi. Üzerine 1:10 olacak şekilde 40 kg etil alkol eklendi. Elde edilen yoğunlaştırılmış ekstreler total fenolik-flavonoid ve etkin madde bakımından kıyaslandı

4.2.1 İdeal ekstraksiyon cihazı seçimi için yapılan total fenol, total flavonoid ve HPLC analizleri

İdeal ekstraksiyon cihazını seçebilmek için 1 nolu üretimin büyük (alttan karıştırıcılı) ve küçük (sirkülasyonlu karıştırıcı) ekstraktörlerden elde edilen alkol ekstrelerine total fenol, total flavonoid ve HPLC analizleri yapılmıştır. Alkol ekstrelerinden alınan örnekler total fenolik miktar tayini için Folin-Ciocalteu yöntemine göre (725 nm'de)

total flavonoid miktar tayini için alüminyum klorür kolorimetrik yöntemine göre (425 nm'de) hazırlanıp plate ekimleri tamamlandı. 3 tekrarlı ölçümleri mikropak okuyucu gerçekleştirildi. Ölçülen absorbans değerleri kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Örneklerdeki % fenolik ve % flavonoid madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.5'te verildi

Endüstriyel üretimlerden 1 nolu üretimdeki alkol ekstralarında elajik asit ve punikalagin miktar tayinleri yapıldı. Punikalagin miktar tayinleri için küçük ve büyük ölçekli ekstraktörlerden elde edilen alkol ekstralarından 10'ar mg alınıp hazırlandığı ekstre çözücüsüne göre etil alkol veya distile su ile 10ml'ye tamamlandı. HPLC analizleri için 3'er tekrarlı ölçümler alındı ve eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Ortalama değerleri üzerinden toplam punikalagin madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.5'te verildi.

Elajik asit miktar tayinleri için küçük ve büyük ölçekli ekstraktörlerden elde edilen alkol ekstralarından 10'ar mg alınıp 2 ml distile su ve 2 ml 12 M HCl ile 70 °C'de 5 saat hidrolize bırakıldı. Daha sonra hazırlandığı ekstre çözücüsüne göre etil alkol veya distile su ile 10ml'ye tamamlandı. HPLC analizleri için 3'er tekrarlı ölçümler alındı ve eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Ortalama değerleri üzerinden elajik asit madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Örneklerdeki ortalama elajik asit madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.5'te verildi

Tablo 4.5 : 1. Üretimdeki etil alkol ekstralarının farklı ekstraksiyon cihazları ile analiz sonuçları.

Ekstraktör cinsi	% fenolik ortalaması	% flavonoid ortalaması	% Punikalagin ortalaması	% elajik asit ortalaması
Büyük ekstraktör	6,20	0,71	4,06	2,11
Küçük ekstraktör	6,79	0,69	4,58	2,15

4.3 İdeal ekstraksiyon yöntemi

Alkolü geri kazanabilmek için nar kabukları için hazırlanan ekstralar etil alkol ve su ile ayrı ayrı ekstre edilmiştir. Bu sebeple nar kabukları önce alkol sonra distile su veya önce distile su sonra etil alkol ile ekstre edilmiştir. Çözücü oranları 1:10 olarak

belirlenip bu çözücüler ile elde edilen ekstrelerde % verimleri, içerik miktarları, toz haline getirilebilme şekli gibi parametreler değerlendirildi. 5 farklı endüstriyel üretime ait total fenolik ve total flavonoid madde miktar analizleri, HPLC analizleri yapıldı.

4.3.1 Endüstriyel üretime ait total fenolik madde miktar tayinleri

Endüstri ölçekli ekstreler için alınan örnekler Folin-Ciocalteu yöntemine göre hazırlanıp plate ekimleri tamamlandı. 3 tekrarlı ölçümleri mikropalak okuyucu ile 725 nm’de gerçekleştirildi. Ölçülen absorbans değerleri kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Örneklerdeki fenolik madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.6’da gösterildi.

Tablo 4.6 : Üretimler arası % fenolik değerler arası farklılık.

ÖNCE ALKOL SONRA SU İLE EKSTRAKSİYON			ÖNCE SU SONRA ALKOL İLE EKSTRAKSİYON		
Endüstriyel üretim No	% Fenolik ortalaması		Endüstriyel üretim No	% Fenolik ortalaması	
1. üretim	Alkol*	6,5	2. üretim	Su	15,09
	Su	18,83		Alkol	8,17
4. üretim	Alkol	8,53	3. üretim A ve S ekstreleri birleştirildi	13,21	
	Su	18,81		Su	14,88
			5. üretim	Alkol	8,15

*Büyük ve küçük ekstraktördeki alkol ekstrelerinin % fenolik değerlerinin ortalaması. A: etil alkollü ekstre; S: Distile sulu ekstre

4.3.2 Endüstriyel üretime ait total flavonoid madde miktar tayinleri

Endüstri ölçekli ekstreler için alınan örnekler alüminyum klorür kolorimetrik yöntemine göre hazırlanıp plate ekimleri tamamlandı. 3 tekrarlı ölçümleri mikropalak okuyucu ile 425 nm’de gerçekleştirildi. Ölçülen absorbans değerleri kaydedildi. Örneklerdeki flavonoid madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.7’de verildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı.

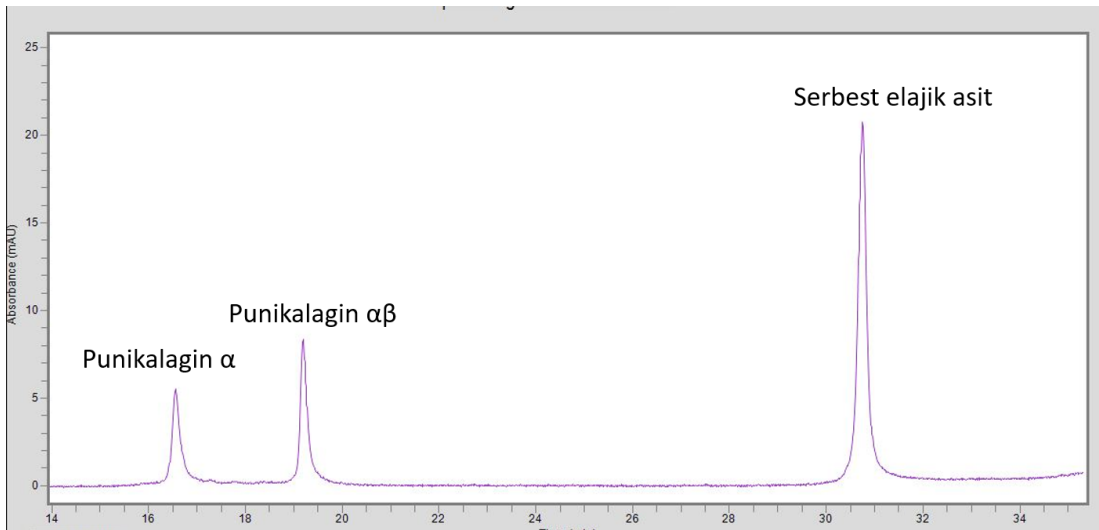
Tablo 4.7 : Üretimler arası % flavonoid değerler arası farklılık.

ÖNCE ALKOL SONRA SU İLE EKSTRAKSİYON			ÖNCE SU SONRA ALKOL İLE EKSTRAKSİYON		
Endüstriyel üretim No	% Flavonoid ortalaması		Endüstriyel üretim No	% Flavonoid ortalaması	
1. üretim	Alkol*	0,70	2. üretim	Su	1,83
	Su	2,36		Alkol	1,13
4. üretim	Alkol	0,94	3. üretim A ve S ekstreleri birleştirildi	1,57	
	Su	2,81		Su	1,75
			5. üretim	Alkol	1,23

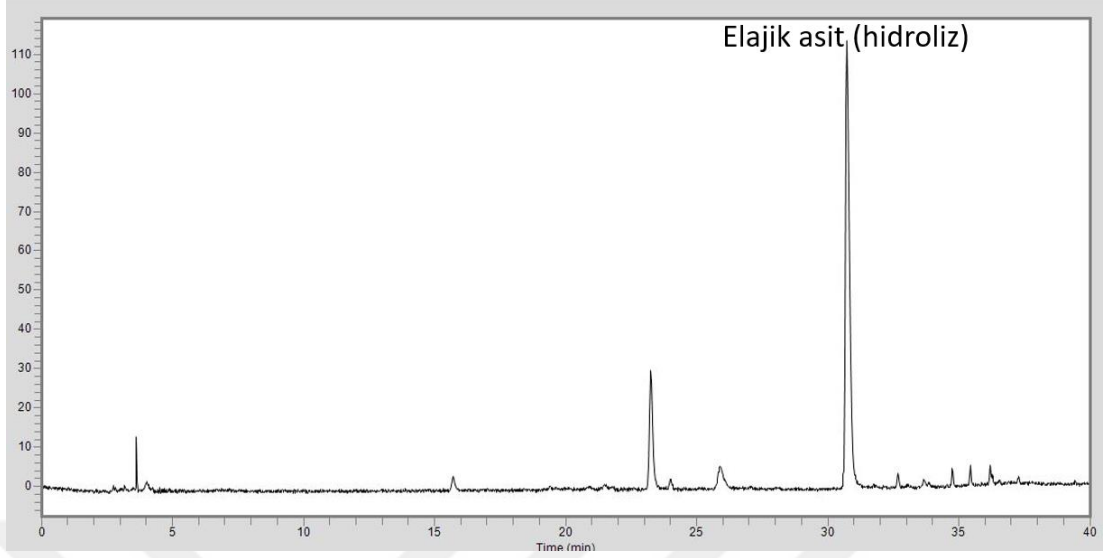
*Büyük ve küçük ekstraktördeki alkol ekstratlarının %flavonoid değerlerinin ortalaması.

4.3.3 Endüstriyel üretime ait % punikalagin madde miktar tayinleri

Endüstriyel üretimlerden elde edilen ekstratlerden alınan örneklerde % punikalagin miktar tayinleri yapıldı. Punikalagin miktar tayinleri için yoğunlaştırılmış alkollü veya sulu ekstratlerden 10'ar mg alınıp hazırlandığı ekstre çözücüsüne göre etil alkol veya distile su ile 10ml'ye tamamlandı. HPLC analizleri için 3'er tekrarlı ölçümler alındı ve eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Ortalama değerleri üzerinden toplam punikalagin madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Tablo 4.8'de gösterildi. Ekstrelele ait kromatogram görüntüleri Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da gösterildi.



Şekil 4.8 : Endüstriyel üretimle üretilen ekstratlele ait örnek kromatogram görüntüsü. Punikalagin α, punikalagin β, serbest elajik asit (hidroliz edilmemiş)



Şekil 4.9 : Endüstriyel üretimle üretilen ekstrelelere ait örnek kromatogram görüntüsü. Hidroliz edilmiş elajik asit.

Tablo 4.8 : Üretimler arası % punikalagin değerleri arası farklılık.

ÖNCE ALKOL SONRA SU İLE EKSTRAKSİYON			ÖNCE SU SONRA ALKOL İLE EKSTRAKSİYON		
Endüstriyel üretim No		% Punikalagin ortalaması	Endüstriyel üretim No		% Punikalagin ortalaması
1. üretim	Alkol*	4,32	2. üretim	Su	4,78
	Su	6,79		Alkol	6,30
4. üretim	Alkol*	8,42	3. üretim Alkol ve Su ekstreleri birleştirilmiştir.	8,71	
	Su	10,88		Su	3,33
			5. üretim	Alkol	8,91

*Büyük ve küçük ekstraktördeki alkol ekstrelerinin % punikalagin değerlerinin ortalaması.

4.3.4 Endüstriyel üretime ait % elajik asit madde miktar tayinleri

Elajik asit miktar tayinleri için endüstriyel üretimle üretilen yoğunlaştırılmış alkollü veya sulu ekstrelerden 10'ar mg alınıp 2 ml distile su ve 2 ml 12 M HCl ile 70 °C'de 5 saat hidrolize bırakıldı. Daha sonra hazırlandığı ekstre çözücüsüne göre etil alkol veya distile su ile 10ml'ye tamamlandı. HPLC analizleri için 3'er tekrarlı ölçümler alındı ve eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Standart grafik denkleminde yerine konularak örneklerdeki konsantrasyon hesaplandı. Ortalama değerleri üzerinden elajik

asit madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Örneklerdeki ortalama elajik asit madde miktarları yüzde olarak belirlendi. Değerler Tablo 4.9’da verildi

Tablo 4.9 : Üretimler arası % elajik asit değerler arası farklılık.

ÖNCE ALKOL SONRA SU İLE EKSTRAKSİYON			ÖNCE SU SONRA ALKOL İLE EKSTRAKSİYON		
Endüstriyel üretim No	% Elajik asit ortalaması		Endüstriyel üretim No	% Elajik asit ortalaması	
1. üretim	Alkol*	2,13	2. üretim	Su	4,14
	Su	2,47		Alkol	4,34
4. üretim	Alkol	4,79	3. üretim A ve S ekstraktörleri birleştirilmiştir.	4,24	
	Su	4,26		5. üretim	Su
			Alkol		4,56

*Büyük ve küçük ekstraktördeki alkol ekstraktörlerinin % elajik asit değerlerinin ortalaması

4.4. Endüstriyel Üretimlerden elde edilen verimin Değerlendirilmesi

Nar kabukları 1:10 olacak şekilde alkol veya su ile ayrı ayrı ekstre edildi. Sadece 4. Üretim 1:8 olacak şekilde alkol veya su ile ayrı ayrı ekstre edildi. Bu durumda elde edilen ekstre miktarları Tablo 4.10 te verimleri ise Tablo 4.11’de verilmiştir

Tablo 4.10 : Üretimler arası ekstre miktarları arası farklılık

ÖNCE ALKOL SONRA SU İLE EKSTRAKSİYON				ÖNCE ALKOL SONRA SU İLE EKSTRAKSİYON			
Endüstriyel üretim No	Drog miktarı		Elde edilen ekstre miktarı	Endüstriyel üretim No	Drog miktarı		Elde edilen ekstre miktarı
1. üretim	Alkol	16 kg	2746 g	2. üretim	Su	4 kg	1010 g
	Su	16 kg	1111 g		Alkol	4 kg	376 g
4. üretim	Alkol	5 kg	1100 g	3. üretim	5 kg		1358 g.
	Su	5 kg	247 g		5. üretim	Su	3,5 kg
				Alkol		3,5 kg	247 g

Tablo 4.11 : Üretimler arası % Verim arası farklılık

ÖNCE ALKOL SONRA SU İLE EKSTRAKSİYON			ÖNCE SU SONRA ALKOL İLE EKSTRAKSİYON		
Endüstriyel üretim No	Toplam ekstre miktarı	% Verim	Endüstriyel üretim No	Toplam ekstre miktarı	% Verim
1. üretim	3857 g	%24,1 (16 kg nar kabuğu)	2. üretim	1386 g	%34,6 (4 kg nar kabuğu)
4. üretim	1347 g	% 26,9 (5 kg nar kabuğu)	3. üretim	1558 g	% 31,16 (5 kg nar kabuğu)
			5. üretim	1297 g	%37,05 (3,5 kg nar kabuğu)

4.5 Endüstriyel Üretim ile elde edilen ekstrelerin toz haline getirilmesi

Endüstriyel olarak hazırlanan 5 üretime ait Rotary ile yoğunlaştırılmış ve çeker ocak altında bekletilen ekstrelerden sulu ekstrelerin kıvamı macun kıvamında yoğun olduğu için ağırlığının %1'i kadar distile su ilave edildi. Ekstre ağırlığının %2'si kadar silisyum dioksit ilave edildi ve karıştırıldı. Her ekstre için eklenmesi gereken MCC (yardımcı madde) dozuna karar verildi:

1. üretim için:

3857 g alkollü ekstre için ekstre ağırlığının %2'si kadar silisyum dioksit ilave edildi. 1428 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 2k:k'dır.

1111 g sulu ekstre macun kıvamında bir yoğunluğa sahip olduğu için ağırlığının %1'i kadar su ilave edildi ve ekstre ağırlığının %2'si kadar silisyum dioksit ilave edildi. 476 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 7k:3k'dır.

Her iki ekstre de vakum etüvde 5 saat 60 °C'de bırakıldı. Vakumdan çıkarılan kuru ekstreler 1 gece çeker ocakta bekletilip öğütücüden geçirildi. Toz haline gelen ekstreler paketlenerek buzdolabına kaldırıldı. Vakum etüvde kurutulmadan önce 1. üretime ait yardımcı maddelerin eklenmiş halleri şekil 4.10'da gösterildi. Vakum etüvdeki kurutma işleminden sonra öğütücüden geçirilen toz ekstreler Şekil 4.11'da gösterildi.



1. Üretim kurutma öncesi
alkol ekstresi



1. Üretim kurutma öncesi
su ekstresi

Şekil 4.10 : Tozlaşmaya yardımcı madde ilave edildikten sonra ekstrelerin görüntüsü
(vakum etüv öncesi)



1. Üretim kurutma sonrası
alkol ekstresi



1. Üretim kurutma sonrası
su ekstresi

Şekil 4.11 : Kurutma sonrası ekstrelerin görüntüsü

2. üretim için

376 g alkollü ekstre için ekstre ağırlığının %2'si kadar silisyum dioksit ilave edildi. 188 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 2k:k'dır.

1010 g sulu ekstre macun kıvamında bir yoğunluğa sahip olduğu için ağırlığının %1'i kadar su ilave edildi ve ekstre ağırlığının %2'si kadar silisyum dioksit ilave edildi. 432 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 7k:3k'dır.

Her iki ekstre de vakum etüvde 5 saat 60 °C’de bırakıldı. Vakumdan çıkarılan kuru ekstreler 1 gece çeker ocakta bekletilip öğütücüden geçirildi. Toz haline gelen ekstreler paketlenerek buzdolabına kaldırıldı.

3. üretim için:

Alkol ve su ile ayrı ayrı muamele edilen nar kabuklarından elde edilen ekstreler birleştirilip toz edilebilmedeki etkisi değerlendirilmiştir. Alkol ve sudan gelen toplam 1558 g ekstre 664 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 7k:3k’dır.

Ekstreler vakum etüvde 5 saat 60 °C’de bırakıldı. Vakumdan çıkarılan kuru ekstreler 1 gece çeker ocakta bekletilip öğütücüden geçirildi. Toz haline gelen ekstreler paketlenerek buzdolabına kaldırıldı.

4. üretim için:

1100 g alkollü ekstre için ekstre ağırlığının %2’si kadar silisyum dioksit ilave edildi. 550 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 2k:k’dır.

247 g sulu ekstre macun kıvamında bir yoğunluğa sahip olduğu için ağırlığının %1’i kadar su ilave edildi ve ekstre ağırlığının %2’si kadar silisyum dioksit ilave edildi. 105 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 7k:3k’dır.

Her iki ekstre de vakum etüvde 5 saat 60 °C’de bırakıldı. Vakumdan çıkarılan kuru ekstreler 1 gece çeker ocakta bekletilip öğütücüden geçirildi. Toz haline gelen ekstreler paketlenerek buzdolabına kaldırıldı.

5. üretim için:

247 g alkollü ekstre için ekstre ağırlığının %2’si kadar silisyum dioksit ilave edildi. 123 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 2k:k’dır.

1050 g sulu ekstre macun kıvamında bir yoğunluğa sahip olduğu için ağırlığının %1’i kadar su ilave edildi ve ekstre ağırlığının %2’si kadar silisyum dioksit ilave edildi. 450 g MCC ilave edildi. Ekstre:MCC oranı 7k:3k’dır.

Her iki ekstre de vakum etüvde 5 saat 60 °C’de bırakıldı. Vakumdan çıkarılan kuru ekstreler 1 gece çeker ocakta bekletilip öğütücüden geçirildi. Toz haline gelen ekstreler paketlenerek buzdolabına kaldırıldı.

4.6 Her bir Kapsülün İçerik Tekdüzeliliği Analizi

Nar kabuklarının alkolden ve sudan gelen toz ekstraları birleştirilip homojen bir şekilde karıştırıldı. Kapsül, toz ve ambalajlar şekil 4.12’de gösterildi. İçerik tekdüzeliği analizi için farmakope yöntemi kullanılarak 10 adet kapsülde 2’şer tekrarlı içerik analizi yapıldı. Ortalama olarak yüzde elajik asit değerleri hesaplandı. Tablo 4.12’de gösterildi.



Şekil 4.12 : Son ürün haline gelen nar ekstresi görünümü

Tablo 4.12 : 10 kapsüle ait % elajik değerleri

Kapsül No	% Elajik asit ortalaması	Kapsül No	% Elajik asit ortalaması
1	3,50	6	4,45
	3,53		4,44
2	3,64	7	3,97
	3,69		3,94
3	4,26	8	4,45
	4,28		4,45
4	3,86	9	3,54
	3,82		3,47
5	3,53	10	3,68
	3,55		3,42

Ortalama elajik asit % = 3,87 ± 0.61

Farmakope metoduna göre içerik tekdüzeliğine uygun bir prepaaratta, her bir numunedeki aktif içeriğin ortalama değerinin %85 ile %115’i aralığında olması gerekmektedir. Ortalama elajik asit yüzde olarak 3,87’dir. Bu değerinin %85’i %3,28; %115’i ise % 4,45 olarak hesaplandı. Tüm değerler bu aralıkta bulunmaktadır.

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Punica granatum meyve kabuklarında total fenolik madde, total flavonoid madde, elajik asit ve punikalagin miktar tayinleri için en etkili çözücü sistemini belirleyebilmek için laboratuvar ölçekli 8 adet ekstre hazırlandı.

Total fenolik madde miktar tayini için öncelikle kalibrasyon aralığı belirlendi. Kalibrasyon aralığını belirleyebilmek için standart olarak gallik asit referans alındı. 1000 ppm'lik gallik asit stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak 100, 80, 60, 40, 20, 10 ppm'lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti için 725 nm'de 3 tekrarlı absorbans değerleri ölçülerek ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Ortalama değerleri üzerinden oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 4.1'de gösterildi ve standart grafik denklemi belirlendi. Total fenolik madde miktar tayini için hazırlanan numuneler gerekli ilaveler yapıldıktan sonra 725 nm'de mikropalak okuyucu ile absorbans ölçümleri alındı. Sonuçlar standart grafik denklemi kullanılarak *Punica granatum* meyve kabuklarından elde edilen farklı çözücülerdeki ekstraktların % fenolik maddesi şeklinde ifade edildi ve 3 tekrarlı ölçümlerin ortalaması alındı. Mikropalak okuyucu ile ölçümü yapılan numunelerden total fenolik madde miktar tayini en yüksek bulunan 7 nolu numunedeki çözücü 7:3 EtOH:H₂O (% 70)'dır. % fenolik oranı %26.9'dur. Wang Z. ve ark. Nar kabuklarındaki total fenolik miktar tayini için yaptıkları araştırmaya sonucuna göre çözücü:kati oranı 15:1 ekstraksiyon zamanı 240 dk olan metanol ekstresinin % 8,26 ile en yüksek fenolik oranı olduğu belirtilmiştir. Bunu su, etanol, aseton ve etil asetat izlemiştir. Ekstraksiyon zamanı, çözücü oranı ve çeşidi fenolik miktarını etkilediği görülmektedir [139].

Total flavonoid madde miktar tayini için öncelikle kalibrasyon aralığı belirlenmiştir. Kalibrasyon aralığını belirleyebilmek için standart olarak gallik asit referans alındı. 1000 ppm'lik gallik asit stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak 100, 80, 60, 40, 20, 10 ppm'lik çözeltiler hazırlandı. Her bir çözelti için 725 nm'de 3 tekrarlı absorbans değerleri ölçülerek ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Ortalama değerleri üzerinden oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 4.2'de gösterildi ve standart grafik denklemi belirlendi. Total flavonoid madde miktar tayini

için hazırlanan numuneler gerekli ilaveler yapıldıktan sonra 425 nm'de mikroplak okuyucu ile absorban ölçümleri alındı. Sonuçlar standart grafik denklemi kullanılarak Punica granatum meyve kabuklarından elde edilen farklı çözücülerdeki ekstrelerin flavonoid değerleri yüzde şeklinde ifade edildi ve 3 tekrarlı ölçümlerin ortalaması alındı. Mikroplak okuyucu ile ölçümü yapılan numunelerden total flavonoid miktar tayini en yüksek bulunan 2 nolu numunedeki 2:3 EtOH:H₂O (% 40) çözücüsüdür. El Hadaray A ve ark tarafından yapılan bir çalışmaya göre beş farklı kurutulmuş nar kabuğu ekstresi içerisinde metanolik ekstresinin maksimum toplam fenolik içeriği %18,89, toplam flavonoid içeriği % 13,95 ve bağıl antioksidan kapasitesi ise % 93 olarak belirlenip petrol eteri, etil asetat, etanol %80 (h/h), etanol %80 (h/h) çözücülerine göre daha yüksek bulunmuştur.

Etkin madde miktar tayini açısından % punikalagin ve % elajik asit bakılmıştır. Toplam punikalagin miktar tayini için 500 ppm'lik punikalagin stok çözeltisi hazırlandı. Gerekli seyreltmeler yapılarak 50, 25, 10, 5, 1, 0.5, 0.1 ppm'lik çözeltiler hazırlandı. 3'er tekrarlı ölçümler alındı. Eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Ortalama değerleri üzerinden toplam Punikalagin miktarının (Punikalagin α ve β toplamı) kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Eğri şekil 4.6'da gösterildi. Standart grafik denklemi oluşturuldu. Punica granatum meyve kabuklarından elde edilen farklı çözücülerdeki ekstrelerin punikalagin konsantrasyonlar standart eğri grafiğinde yerine konularak belirlendi. Üçer tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak % punikalagin miktarları belirlendi. Laboratuvar ölçekli yapılan analizlerden % punikalagin değeri en fazla bulunan numune 8 nolu numune olarak belirlenip çözücü sistemi %80'lik etil alkol çözeltidir.

Elajik asit miktar tayini için 500 ppm'lik elajik asit stok çözeltisi hazırlandı. Gerekli seyreltmeler yapılarak 50, 25, 10, 5, 1, 0.5, 0.1 ppm'lik çözeltiler hazırlandı. Elajik asit için HPLC analizleri Masci ve ark.,'nın çalışması revize edilerek cihazımıza uygun şekilde gerçekleştirildi. 3'er tekrarlı ölçümler alındı. Eğri altında kalan alanlar kaydedildi. Ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Eğri Şekil 4.4'te gösterildi. Standart grafik denklemi oluşturuldu. Ekstre örnekleri için elajik asit miktar tayininden önce HCl ile hidroliz işlemi gerçekleştirildi. Hidroliz işlemi tamamlanan numunelerde Punica granatum meyve kabuklarından elde edilen farklı çözücülerdeki ekstrelerin elajik asit konsantrasyonları standart eğri grafiğinde yerine konularak belirlendi. Üçer tekrarlı ölçümlerin ortalamaları alınarak % elajik asit

miktarları belirlendi. Laboratuvar ölçekli yapılan analizlerden % elajik asit değeri en fazla bulunan numune 1 nolu nuve % punikalagin bakımından en yüksek bulunan numune 1 nolu numune olarak belirlenip çözücü sistemi %50'lık etil alkol çözeltilidir. Panichayupakarananta P ve ark yapmış olduğu bir çalışmada %10 metil alkolün çözücü olarak kullanıldığı sistemde elajik asitin en yüksek oranda bulunabildiği rapor edilmiştir [140].

Total fenolik, total flavonoid ve etkin madde tayinleri için yapılan analizlerde alkol oranının yoğunluğunun artmasının pozitif yönde katkı sağladığı görülmektedir. Endüstriyel üretimimizde çözücü olarak etanol:su 1:1 oranı tercih edilmiştir. Her ne kadar literatür taramalarında metanolik çözücülerin antioksidan kapasitesini artırdığı bilinse de toksisite, maliyet ve ekstre verimi düşünüldüğünde su ve alkol ile yapılan ekstre tercih edilmiştir. Ayrıca elajik asit miktarının en fazla %50'lik etil alkol çözeltilisinde görülmesi sebebiyle ürün verimi artırabilmek için nar meyve kabuklarının 1:10 oranında çözücü kullanılarak etil alkol ve distile su ile ayrı ayrı (toplam drog: çözücü oranı 1:20 olmaktadır) ekstre edilmesi planlandı. 1. ve 4. üretimler önce oranında etil alkol ile ekstre edilip daha sonra ortamdan etil alkol alınıp aynı nar kabukları sistemden kaldırılmadan distile su ile ekstre edilmiştir. 2. 3. ve 5. üretimler önce, distile su ile ekstre edilip daha sonra ortamdan distile su alınıp aynı nar kabukları sistemden kaldırılmadan etil alkol ile ekstre edilmiştir. Bu üretim ile drog:çözücü oranı 1:20 olmaktadır. Etil alkol ve distile su karışmadığı için etil alkol ortamdan uzaklaştırılıp tekrar tekrar kullanılması amaçlanmıştır.

Endüstriyel üretim için ekstraktör cihazı değerlendirmesi yapılmıştır. Endüstriyel üretim için alttan karıştırıcılı ekstraksiyon üretim hattından (büyük ekstraktör) ve sirkülasyonlu ekstraksiyon üretim hattından (küçük ekstraktör) yararlanılmıştır. Alttan karıştırıcılı ekstraksiyon üretim hattı sadece alttan karıştırmalıdır ve 200 L hacmine sahiptir. Sirkülasyonlu ekstraksiyon cihazı ise 50 L hacme sahiptir ve ekstre çözücüsünü devir daim ederek homojen karışabilmesi amaçlanmıştır. İdeal ekstraksiyon cihazını belirleyebilmek için alkolik ekstrelerden total fenolik, total flavonoid, punikalagin ve elajik asit miktar tayini 3 tekrarlı analizleri yapılmıştır. Alttan karıştırıcılı (büyük) ekstraktör için total fenolik ortalaması % 6.2, total flavonoid ortalaması % 0.71, toplam punikalagin ortalaması % 4.06, elajik asit ortalaması % 2.11 olarak ölçülmüştür. Sirkülasyonlu (küçük) ekstraktör için total fenolik ortalaması % 6.79, total flavonoid ortalaması % 0.69, toplam punikalagin

ortalaması % 4.58, elajik asit ortalaması % 2.15 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar varlığında diğer endüstriyel üretimler 50 L hacme sahip sirkülatörlü karıştırıcı ile gerçekleştirilmiştir.

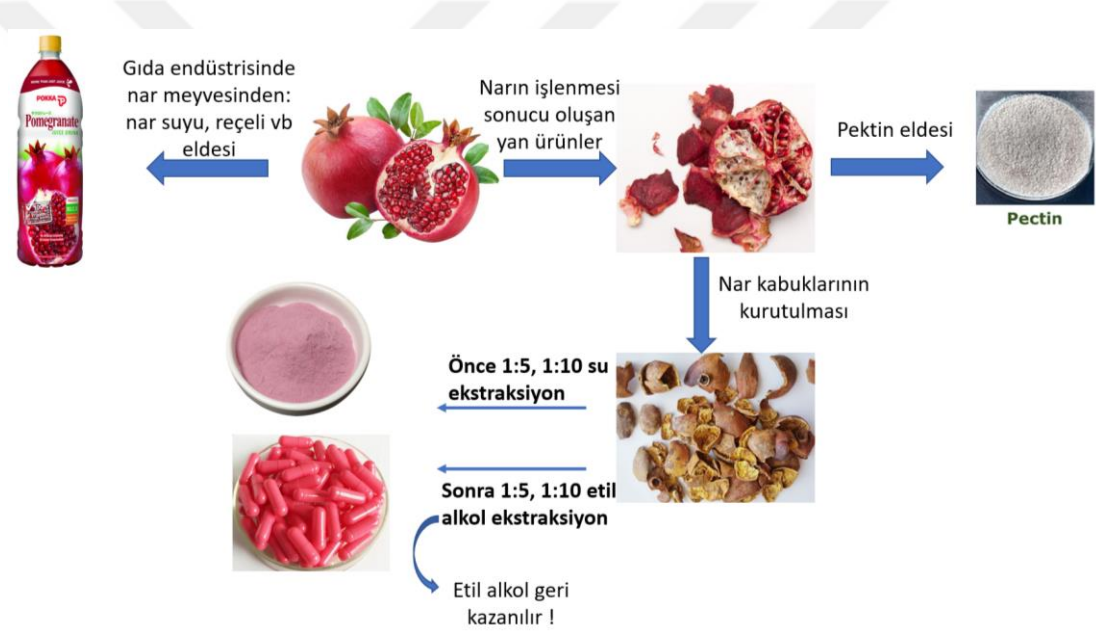
Üretimler öncelik sırasındaki farklılığa göre önce etil alkol sonra distile su veya önce distile su sonra etil alkol şeklinde gerçekleştirilmiştir. Üretilen ekstreler için total fenol, total flavonoid, elajik asit ve punikalagin miktarı, % verim ve tozlaştırılma yöntemi gibi veriler değerlendirilmiştir. 5 üretime ait ekstreler arasındaki farklılık değerlendirildiğinde % fenolik değerlerin etil alkol veya distile su arasındaki öncelik sırası fark etmeksizin sulu ekstrelerde daha fazla olduğu görülmektedir. Aynı şekilde % flavonoid değerlerinin sulu ekstrelerde daha fazla olduğu görülmektedir. Endüstriyel üretime ait % fenolik ve % flavonoid ortalama değerleri Tablo 4.6 ve Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Etkin madde içerik tayinleri için toplam punikalagin ve elajik asit değerlendirilmiştir. Toplam punikalagin oranlarına bakıldığında en yüksek oranın 4. üretimde olduğu görülmektedir. Bu üretimdeki drog:çözücü oranı diğer üretimlere göre daha fazladır. 4. üretimde 5 kg nar kabuğu (1:8) olacak şekilde 40 kg etil alkol ile sonrasında da 40 kg distile su ile ekstre edilmiştir. Bu sebeple % punikalagin oranı su ekstresinde % 10.88, alkol ekstresinde % 8.42 olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde 4. üretimdeki alkolik nar kabuğu ekstresi % elajik asit bakımından (% 4.79) ile en yüksek değerinde bulunmuştur. % elajik asit ve % punikalagin değerleri alkol ve su ile ekstraksiyonda öncelik sırası fark etmeksizin benzer bulunmuştur.

Endüstriyel olarak üretilmiş sıvı ekstrelerin toz haline getirilmesi için yardımcı madde olarak silisyum dioksit ve MCC kullanıldı ve vakum etüv altında kuruması sağlanmıştır. Sulu ekstrelerde rotary ardından çeker ocakta yoğunlaştırılma işleminden sonra macun şeklinde kıvamı olduğu için %1 oranında su ile açma işlemi gerekmektedir. Sulu ekstrelere ilave edilmesi gereken ekstre:MCC oranı 7k:3k’dır. Alkollü ekstrelerde ise rotary ardından çeker ocakta yoğunlaştırılma işlemi ile yağmsı bir ekstre elde edilmektedir. O yüzden alkollü ekstrelere ilave edilmesi gereken yardımcı madde oranı sulu ekstrelere oranla daha fazladır. Alkollü ekstrelerde ilave edilmesi gereken ekstre:MCC oranı 2k:k olarak belirlendi. 3. üretimde alkolden ve sudan gelen ekstreler ayrı ayrı rotary’de buharlaştırıldıktan sonra çeker ocak altında birleştirilip 1 gün süre ile bekletilmiştir. Sulu ekstrenin yoğun kıvamlı olması sebebiyle ilave edilen %1 oranında distile suyun bu şekilde ilavesine gerek kalmayarak

tozlaşması için gereken toplam 1558 g ekstre için 664 g MCC olmuştur. Ekstre:MCC oranı 7k:3k'dır.

Endüstriyel üretimler için önemli parametrelerden biri de % verim'dir. Alkolden ve sudan gelen ekstratler ayrı ayrı rotary'de yoğunlaştırıldı ve çekerek ocakta 1 gün bekletildi. 3. üretimde çekerek ocakta alkol ve su ekstratlerinin karıştırılması yapıldı. Yapılan 5 üretime bakıldığında % verim'in alkol ve su ile ekstraksiyonda öncelik sırası açısından fark olduğu görülmektedir. 1. ve 4. üretim önce su sonra alkol ile ekstraksiyon metodunu içerirken, 2. 3. ve 5. üretimlerde önce alkol sonra su üretim metodu kullanıldı. 2. 3. ve 5. Üretimlerdeki % verimler 1. ve 4. Üretimlerdeki % verim değerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu bilgiler ışığında nar ekstresi üretimini için ideal bir üretim hattı aşağıdaki şekilde şematize edilmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1 : Nar meyve kabuğunun gıda ve bitkisel ilaç sanayinde kullanılarak yüksek verim elde edilmesi

Nar ekstratlarının kapsülleme ve ambalaj işlemi için dışarıdan hizmet alınmıştır. Her bir kapsülün yaklaşık olarak 500 mg olması amaçlandı bunun için 00 numaralı kapsül kullanıldı. Hazırlanan kapsüller için farmakope metodu olan içerik tekdüzeliği analizleri yapıldı. Alkolden ve sudan gelen ekstratler 3. üretim hariç ayrı ayrı toz haline getirildikten sonra birleştirildi. 3. Üretim ise birleştirilen alkol ve su ekstratleri birlikte toz edildi. Toz haline getirilen tüm ekstratler karıştırılıp her bir ambalaj 60 kapsül içecek şekilde kapsüllenmiştir. Karıştırılan tozlardaki homojeniteyi test etmek için yapılan içerik tekdüzeliği analizinde ortalama elajik asit = % 3.87 ± 0.61 olarak

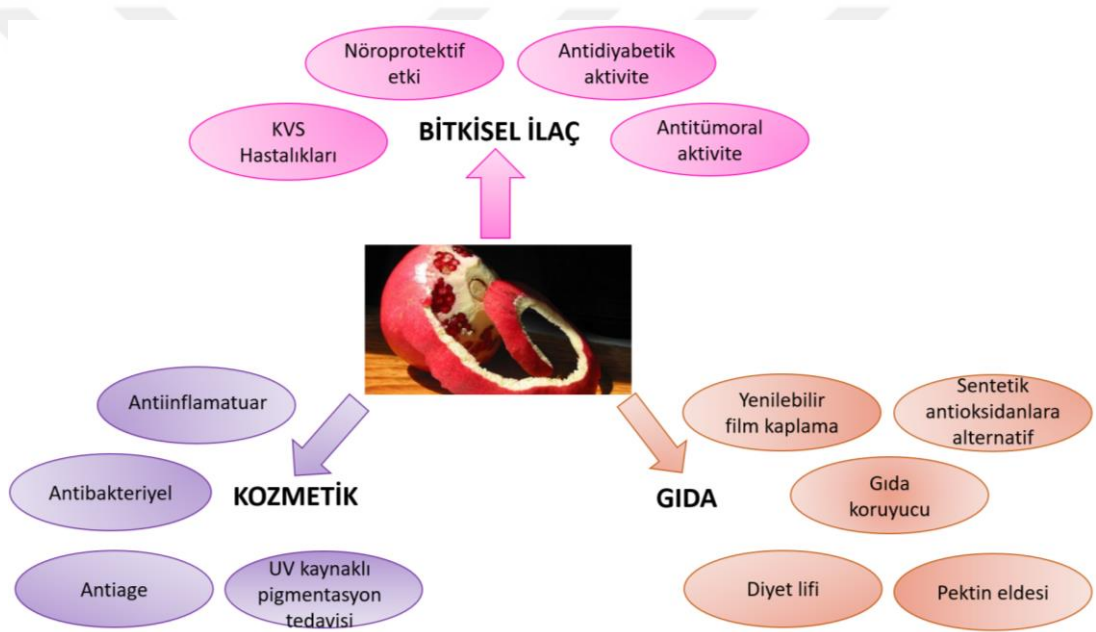
belirlenmiştir. Yapılan içerik tekdüzeliği analizi farmakope metoduna uymaktadır. Her bir kapsül yaklaşık olarak 20 mg elajik asit içermektedir.

Haghighian MK ve ark yapmış olduğu bir çalışmada 30 obezite hastalığı bulunan bireyde nar ekstresinin etkinliğini değerlendirmiştir. Kurutulmuş nar kabuklarının % 80 etil alkol ile maserasyonu ile hazırlanan 500 mg dozunda ekstrenin günde 1 kez kullanılması amaçlanmıştır. Sonuç olarak dislipidemili obez kadınlarda kardiyovasküler risk faktörlerini iyileştirmede nar ekstresinin başarılı olduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda taze nar kabukları kullanıldı ve %50 etil alkollü ekstre kullanıldı. Bu çalışmadan hareketle bizim üretimimiz ile günlük kullanım hastaya bağlı olarak günde 2 kez olacak şekilde planlanıp 1 kutu 60 kapsül içerecek şekilde ambalajlanmıştır [141].

Ticari olarak satılan nar ekstreleri çoğunlukla %40 ve üzeri elajik asit içermektedir [142]. Metanolik nar meyve kabuk ekstreleri %2'lik sulu asetik asit çözeltisi ve etil asetat ile zenginleştirilmektedir [143]. Bu ve diğer kimyasal işlemlerle elajik asit açısından zenginleştirilen nar kabuk ekstreleri, sinerjistik etki gösterecek olan kuersetin ve flavonoid miktarlarında düşmeye neden olabilmektedir. O yüzden nar ekstrelerinde sadece bir maddenin zenginleşerek üretilmesinin sağlık açısından olumlu katkı yapmayacağı da düşünülmelidir [142].

Nar elajitanenleri, bağırsak mikrobiyotası tarafından elajik asit gibi daha küçük fenoliklere hidrolize edilir. Elajik asit daha sonra kan dolaşımına emilirken, elajitanenler emilmez ve ürolitinlere metabolize edilir. Ürolitinler elajik asit ve elajitanenlerden çok daha iyi emilmektedir. Bu nedenle elajitanen içeren ürünlerin sağlık etkilerinin, bağırsakta üretilen bu ürolitinlerle ilişkili olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır [100]. Ürolitin A'nın Tip I kollojen üretimini artırdığı ve MMP ekspresyonunu düşürdüğü gösterilmiştir. Bu sayede anti age etki sağlamaktadır [123]. Kozmetik amaçlarla ürolitin A içeren preparatların topikal uygulanması ve nar ekstresi içeren preparatların da oral kullanımı ile anti age etki potansiyelize edilebilir. Çünkü vücudumuzda ürolitin A sentezi yoktur. Ancak nar gibi yüksek elajitanen içeren besinlerin ekstrelerinin alınması ile bağırsak florasında ürolitinlere dönüştürülür. Gelecekte nar ekstrelerinin antiaging etkisi sebebiyle oral kozmetiklere talebin artacağı öngörülebilir.

Nar ülkemiz coğrafyasında doğal olarak yetişmekle birlikte ucuz bir kaynaktır. Nar suyu endüstrisinin bir yan ürünü olan nar kabuğu, sağlık açısından olumlu etkilere sahip birçok biyoaktif bileşen içermektedir. Bu bileşenlerin başında elajik asit gelmektedir ve nar meyve kabuklarında bolca bulunur. Günlük nar suyu tüketiminin sağlığa faydalı olduğu bilinse de yüksek fruktoz sebebiyle nar kabuk ekstraktlarının gıda takviyeleri amacıyla kullanılması özellikle kardiyovasküler yarar için önemli bir tedavi hedefidir. Fonksiyonel gıda olarak değerlendirilen narın kabukları da gıda endüstrisinde değerlidir. Antimikrobiyal özelliğinden dolayı gıda koruyucu olarak kullanılabilmesi gibi gıdaların üzerini kaplayan yenilebilir film kaplamalara ilave edilerek gıdanın raf ömrünü uzatmaya katkıda bulunabilmektedir. Narın bitkisel ilaç, kozmetik ve gıda sanayisindeki kullanım olanakları Şekil 5.2’de gösterilmiştir.



Şekil 5.2 : Nar meyve kabuklarının bitkisel ilaç, kozmetik ve gıda sanayisindeki kullanım olanakları

Bolluk, bereket, ve sağlığın simgesi olarak asırlardır kullanımı bulunan narın ülkemiz coğrafyasında da doğal olarak yetişmesi sebebiyle ilaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde daha fazla yer alması gerekmektedir. Nar suyunun endüstriyel boyutta üretimi sırasında nar kabuğu ve çekirdekten oluşan posa açığa çıkmaktadır. Narın işlenmesi sonucu açığa çıkan bu ürünler çoğu zaman atılmakta veya hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Ancak bu yan ürünlerin hem terapötik hem de nutrasötik değerleri bulunmaktadır. Bu sebeple bitkisel ilaç, kozmetik ve gıda sanayileri birbiri ile koordineli çalışmalı ve narın işlem sonrası hiçbir kısmı atık olarak değerlendirilmemelidir. Narın işlenmesi sonucu oluşan yan ürünler ekonomik ve

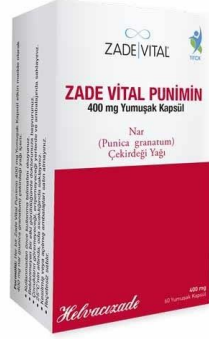
çevresel açıdan sürdürülebilir şekilde endüstriye kazandırılmalıdır. Narın zengin fenolik içeriği nedeniyle ilaç adayı moleküller için potansiyel bir kaynak olarak düşünülebilir.

5.1 Dünyada ve Ülkemizde *Punica granatum* İçeren Müstahzar Örnekleri

5.1.1 Ülkemizde *Punica granatum* çekirdeği yağı, *Punica granatum* kabuk ekstresi müstahzar örnekleri

- Sağlık Bakanlığı'dan Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürün Ruhsatı alan ürünler

ZADE VİTAL PUNİMİN 400 mg Yumuşak Kapsül



Her bir yumuşak kapsül aktif madde olarak 400 mg nar (*Punica granatum*) tohumu yağı içerir. Antioksidan özelliğinden dolayı bağışıklık sistemini güçlendirici olarak ve trigliserit olarak bilinen kan yağlarının düşürülmesine yardımcı olarak endikasyon almıştır. Günlük 1-2 kapsül şeklinde kullanımı önerilmektedir.

POMME LIFE Omega 5 Yumuşak Jelatin Kapsül

Her bir yumuşak kapsül aktif madde olarak 300 mg nar (*Punica granatum*) tohumu yağı içerir. Antioksidan özelliğinden dolayı bağışıklık sistemini güçlendirici olarak ve trigliserit olarak bilinen kan yağlarının düşürülmesine yardımcı olarak endikasyon almıştır. Günlük 2-4 kapsül şeklinde kullanımı önerilmektedir

- Tarım bakanlığı'da Takviye Edici Gıda ruhsatı alan ürünler

TABIA Nar Çekirdeği Yağı 500mg 60 Kapsül



Yetişkinler İçin Günde 2 adet yumuşak kapsül alınması önerilir.

TABIA Nar Çekirdeği Yağı



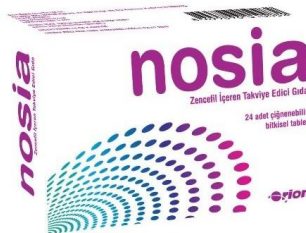
Cilt bakım yağı olarak kullanılmaktadır

PHYTORELIEF CC 12 Pastil



Nar kabuğu ve zerdeçal içeren pastil. Günde 3 kez 1 pastil alınması önerilir.

NOSIA Çiğneme Tableti



Zencefil ve nar meyve kabuğu ekstraktı içermektedir. Günde 1-2 tablet alınması önerilir

PROPOLSAVE Propolis Nar Ekstresi İçeren Sprey 20 ml



Propolis (33 mg), Punica granatum kabuk ekstresi (3,25 mg) içermektedir. 4-10 yaş arası çocuklar için hünde 2-3 puf 11 yaş üzeri yetişkinler için günde 3-4 puf olmak üzere maksimum 12 puf kullanılması tavsiye edilmektedir.

PREQUA LIFE Sambucus Nigra 20 Efervesan Tablet



Sambucus nigra ekstresi (200 mg), askorbik asit (200 mg), *Punica granatum* kabuk ekstresi (50 mg) çinko (10 mg) içermektedir. 11 yaş üzeri yetişkinlerde günde 1 tablet 200 ml suda çözülerek içilmesi önerilmektedir.

5.1.2. Dünyada *Punica granatum* çekirdeği yağı, *Punica granatum* kabuk ekstresi içeren müstahzar örnekleri

MELOGRANO Punica granatum



Her bir kapsül 100 mg elajik asit içerir. Günde 1 kez kullanılır.

Prosta Plus Kapseln



Selenyum, nar ve saw palmetto içerir.

CARDIOPOM



125 mg punikalagin içerir. Günde 2-4 kapsül alınması önerilir.

PAPILLON Organic 100% Pure Pomegranate Seed Oil



Cilt saç ve tırnak bakım yağı olarak kullanılır

WT Rawleigh Pomegranate Supplement Extract Prebiotics and Probiotics Support



Probiyotik Lactobacillus plantarum ve nar ekstresi içeren karışımdır.

FEMININE Support Probiotics

Supplement Facts
 Serving Size: 1 Vegetarian Capsule
 Servings Per Container: 30

	Amount Per Serving	% Daily Value
Cranberry Extract	100mg	**
Pomegranate Extract	100mg	**
BIOM [®] Pro-Biotics	250mg	**

Other Ingredients: Cellulose
 *Daily Value not established.

10 BILLION LIVE PROBIOTIC CULTURES
 Guaranteed potency With 10 billion live probiotic cells for enhanced bio availability for maximum benefits.

HIGH POTENCY PROBIOTICS

BROAD SPECTRUM
 10 PROBIOTIC STRAINS
 Broad spectrum probiotics produced with patented human gut-adapted Biomisly™ Technology (US Patent # 8,123,456; US Patent # 8,123,457)

400 MG PREBIOTICS
 GUT DIVERSIFYING ORGANIC PREBIOTICS
 Specific prebiotic fibers from cranberry and pomegranate that specifically produce vaginal health promoting antibacterial compounds

VEGAN CAPSULE
 ENTERIC-COATED ACID RESISTANT CAPSULES
 Special capsules helps to target release of live probiotics & prebiotics to nourish and strengthen good gut flora

FEMININE HEALTH REDEFINED

Icons: GMO FREE, GLUTEN FREE, SUGAR FREE, CORN FREE, DAIRY FREE, SOY FREE

Propionibacterium acnes, L.gasseri, L.crispatus, L.reuteri, L.maya, L.plantarum, L.rhamnosus, Bacillus coagulans, Bacillus short, Bi.lactis, Bi.bifidum, İnülin, bezelye lifi, portakal kabuğu ekstresi, Cranberry ekstresi, Nar ekstresi, Mango meyvesi lifi, Brokoli ekstresi içerir.

KAYNAKLAR

- [1] M. Viuda-Martos, M. López-Marcos, J. Fernández-López *et al.*, “Role of fiber in cardiovascular diseases: a review,” *Comprehensive reviews in food science and food safety*, vol. 9, no. 2, pp. 240-258, 2010.
- [2] M. Suman, and B. Prerak, “A review on proactive pomegranate one of the healthiest foods,” *International Journal of Chemical Studies*, vol. 7, no. 3, pp. 189-194, 2019.
- [3] M. Viuda-Martos, J. Fernández-López, and J. Pérez-Álvarez, “Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review,” *Comprehensive reviews in food science and food safety*, vol. 9, no. 6, pp. 635-654, 2010.
- [4] H. Vardin, and M. Abbasoğlu, “Nar ekşisi ve narın diğer değerlendirme olanakları,” *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, vol. 23, pp. 195-196, 2004.
- [5] S. Türker, and A. A. Polat, “Bazı nar çeşit ve tiplerinin meyve büyüme dinamiği ile renk özellikleri,” 2019.
- [6] A. Goor, “The history of the pomegranate in the Holy Land,” *Economic Botany*, vol. 21, no. 3, pp. 215-230, 1967.
- [7] K. Halil, and G. ŞAHİN, “BİR ZİRAAT COĞRAFYASI ÇALIŞMASI: TÜRKİYE’DE NAR (*Punica granatum L.*) TARIMI,” *Marmara Coğrafya Dergisi*, no. 27, pp. 551-574.
- [8] M. Aviram, L. Dornfeld, M. Rosenblat *et al.*, “Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice,” *The American journal of clinical nutrition*, vol. 71, no. 5, pp. 1062-1076, 2000.
- [9] R. A. Newman, E. P. Lansky, and M. L. Block, *Pomegranate: The most medicinal fruit*: Basic Health Publications, Inc., 2007.
- [10] D. Narzary, S. Ranade, P. Divakar *et al.*, “Molecular differentiation and phylogenetic relationship of the genus *Punica* (Punicaceae) with other taxa of the order Myrtales,” *Rheedea*, vol. 26, no. 1, pp. 37-51, 2016.
- [11] E. Stover, and E. W. Mercure, “The pomegranate: a new look at the fruit of paradise,” *HortScience*, vol. 42, no. 5, pp. 1088-1092, 2007.
- [12] T. P. Magangana, N. P. Makunga, O. A. Fawole *et al.*, “Processing Factors Affecting the Phytochemical and Nutritional Properties of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Peel Waste: A Review,” *Molecules*, vol. 25, no. 20, Oct 14, 2020.
- [13] H. Kurt, and G. Şahin, “Bir ziraat coğrafyası çalışması: Türkiye’de nar (*Punica granatum L.*) tarımı,” 2013.
- [14] S. El-Nemr, I. Ismail, and M. Ragab, “Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit,” *Food/Nahrung*, vol. 34, no. 7, pp. 601-606, 1990.
- [15] E. Apaydın, “Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antioksidan aktivitedeki değişimler,” *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, Ankara, 2008.

- [16] B. Cemeroglu, A. Yemenicioğlu, and M. Özkan, "Meyve ve sebzelerin bileşimi," *Meyve ve sebze işleme teknolojisi*, vol. 1, pp. 1-188, 2004.
- [17] M. I. Gil, F. A. Tomás-Barberán, B. Hess-Pierce *et al.*, "Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing," *Journal of Agricultural and Food chemistry*, vol. 48, no. 10, pp. 4581-4589, 2000.
- [18] U. A. Fischer, J. S. Dettmann, R. Carle *et al.*, "Impact of processing and storage on the phenolic profiles and contents of pomegranate (*Punica granatum* L.) juices," *European Food Research and Technology*, vol. 233, no. 5, pp. 797-816, 2011.
- [19] E. Ongan, "Nar Sularında Tağşiş Tespiti İçin Fenolik Madde Profilinin İncelenmesi," Fen Bilimleri Enstitüsü, 2016.
- [20] S. Akhtar, T. Ismail, D. Fraternali *et al.*, "Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features," *Food chemistry*, vol. 174, pp. 417-425, 2015.
- [21] G. Borges, W. Mullen, and A. Crozier, "Comparison of the polyphenolic composition and antioxidant activity of European commercial fruit juices," *Food & function*, vol. 1, no. 1, pp. 73-83, 2010.
- [22] S. Jauhar, M. R. Ismail-Fitry, G. H. Chong *et al.*, "Polyphenol compounds from Pomegranate (*Punica Granatum*) extracted via various methods and its application on meat and meat products: a review," *Journal of Advanced Research in Applied Sciences and Engineering Technology*, vol. 12, no. 1, pp. 1-12, 2018.
- [23] M. Aviram, L. Dornfeld, M. Rosenblat *et al.*, "Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice," *Am J Clin Nutr*, vol. 71, no. 5, pp. 1062-76, May, 2000.
- [24] F. Tezcan, M. Gültekin-Özgüven, T. Diken *et al.*, "Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices," *Food chemistry*, vol. 115, no. 3, pp. 873-877, 2009.
- [25] A. Fadavi, M. Barzegar, and M. H. Azizi, "Determination of fatty acids and total lipid content in oilseed of 25 pomegranates varieties grown in Iran," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 19, no. 6-7, pp. 676-680, 2006.
- [26] D. Dalimov, G. Dalimova, and M. Bhatt, "Chemical composition and lignins of tomato and pomegranate seeds," *Chemistry of natural compounds*, vol. 39, no. 1, pp. 37-40, 2003.
- [27] K. A. Campbell, G. Vaca-Medina, C. E. Glatz *et al.*, "Parameters affecting enzyme-assisted aqueous extraction of extruded sunflower meal," *Food chemistry*, vol. 208, pp. 245-251, 2016.
- [28] T. Maier, A. Schieber, D. R. Kammerer *et al.*, "Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants," *Food Chemistry*, vol. 112, no. 3, pp. 551-559, 2009.
- [29] O. Sevindik, and S. Selli, "Üzüm Çekirdek Yağı Eldesinde Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemleri," *Gıda*, vol. 42, no. 1, pp. 95-103, 2017.
- [30] J. Al Kurki, N. Hill, L. Ruffin *et al.*, "Oilseed processing for small-scale producers," *ATTRA–National Sustainable Agriculture Information Service: A division of National Centre for Appropriate Technology (NCAT) United States Department of Agriculture's Rural Business–Cooperative Service*, vol. 16, 2008.

- [31] A. Nikolov, "Studies on the efficiency of fungicide Safray 100 SL and the possibilities to combination with unrefined grape seed oil against some fungus," *Bulgarian Journal of Agricultural Science (Bulgaria)*, 1998.
- [32] K. N. Chidambara Murthy, G. K. Jayaprakasha, and R. P. Singh, "Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, no. 17, pp. 4791-4795, 2002.
- [33] M. GÖLÜKÇÜ, H. TOKGÖZ, and M. A. ÇELİKYURT, "NAR ÇEKİRDEĞİNİN BAZI ÖZELLİKLERİ VE NAR ÇEKİRDEĞİ YAĞININ YAĞ ASİTİ BİLEŞİMİ," *Derim*, vol. 22, no. 2, pp. 33-40, 2005.
- [34] E. P. Lansky, and R. A. Newman, "*Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer," *Journal of ethnopharmacology*, vol. 109, no. 2, pp. 177-206, 2007.
- [35] S. Karaman, S. Karasu, F. Tornuk *et al.*, "Recovery potential of cold press byproducts obtained from the edible oil industry: physicochemical, bioactive, and antimicrobial properties," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 63, no. 8, pp. 2305-2313, 2015.
- [36] L. U. Opara, M. R. Al-Ani, and Y. S. Al-Shuaibi, "Physico-chemical properties, vitamin C content, and antimicrobial properties of pomegranate fruit (*Punica granatum* L.)," *Food and Bioprocess Technology*, vol. 2, no. 3, pp. 315-321, 2009.
- [37] Ş. Gözlekçi, O. Saraçoğlu, E. Onursal *et al.*, "Total phenolic distribution of juice, peel, and seed extracts of four pomegranate cultivars," *Pharmacognosy magazine*, vol. 7, no. 26, pp. 161, 2011.
- [38] S. Talekar, A. F. Patti, R. Vijayraghavan *et al.*, "An integrated green biorefinery approach towards simultaneous recovery of pectin and polyphenols coupled with bioethanol production from waste pomegranate peels," *Bioresour Technol*, vol. 266, pp. 322-334, Oct, 2018.
- [39] P. Gullón, G. Astray, B. Gullón *et al.*, "Pomegranate peel as suitable source of high-added value bioactives: Tailored functionalized meat products," *Molecules*, vol. 25, no. 12, pp. 2859, 2020.
- [40] Y. Li, T. Ye, F. Yang *et al.*, "*Punica granatum* (pomegranate) peel extract exerts potent antitumor and anti-metastasis activity in thyroid cancer," *RSC advances*, vol. 6, no. 87, pp. 84523-84535, 2016.
- [41] E. C. Rosas-Burgos, A. Burgos-Hernández, L. Noguera-Artiaga *et al.*, "Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts as affected by cultivar," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 97, no. 3, pp. 802-810, 2017.
- [42] M. Russo, C. Fanali, G. Tripodo *et al.*, "Analysis of phenolic compounds in different parts of pomegranate (*Punica granatum*) fruit by HPLC-PDA-ESI/MS and evaluation of their antioxidant activity: application to different Italian varieties," *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 410, no. 15, pp. 3507-3520, 2018.
- [43] B. Singh, J. P. Singh, A. Kaur *et al.*, "Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A review," *Food chemistry*, vol. 261, pp. 75-86, 2018.
- [44] R. R. Mphahlele, O. A. Fawole, N. P. Makunga *et al.*, "Functional properties of pomegranate fruit parts: Influence of packaging systems and storage time," *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 11, no. 4, pp. 2233-2246, 2017.

- [45] A. E. El-Hadary, and M. F. Ramadan, "Phenolic profiles, antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract," *J Food Biochem*, vol. 43, no. 4, pp. e12803, Apr, 2019.
- [46] C. Gardeli, K. Varela, E. Krokida *et al.*, "Investigation of anthocyanins stability from pomegranate juice (*Punica Granatum* L. Cv Ermioni) under a simulated digestion process," *Medicines*, vol. 6, no. 3, pp. 90, 2019.
- [47] F. V. Romeo, G. Ballistreri, S. Fabroni *et al.*, "Chemical Characterization of Different Sumac and Pomegranate Extracts Effective against *Botrytis cinerea* Rots," *Molecules*, vol. 20, no. 7, pp. 11941-58, Jun 30, 2015.
- [48] I. Bar-Ya'akov, L. Tian, R. Amir *et al.*, "Primary Metabolites, Anthocyanins, and Hydrolyzable Tannins in the Pomegranate Fruit," *Front Plant Sci*, vol. 10, pp. 620, 2019.
- [49] M. Abid, H. Yaich, S. Cheikhrouhou *et al.*, "Antioxidant properties and phenolic profile characterization by LC-MS/MS of selected Tunisian pomegranate peels," *Journal of food science and technology*, vol. 54, no. 9, pp. 2890-2901, 2017.
- [50] B. A. Wafa, M. Makni, S. Ammar *et al.*, "Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum* L. extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract," *International journal of food microbiology*, vol. 241, pp. 123-131, 2017.
- [51] H. Borochoy-Neori, S. Judeinstein, E. Tripler *et al.*, "Seasonal and cultivar variations in antioxidant and sensory quality of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 22, no. 3, pp. 189-195, 2009.
- [52] C. M. Matthaiou, N. Goutzourelas, D. Stagos *et al.*, "Pomegranate juice consumption increases GSH levels and reduces lipid and protein oxidation in human blood," *Food and chemical toxicology*, vol. 73, pp. 1-6, 2014.
- [53] S. M. Nabavi, and A. S. Silva, *Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements*: Academic Press, 2018.
- [54] W. Elfalleh, H. Hannachi, N. Tlili *et al.*, "Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 6, no. 32, pp. 4724-4730, 2012.
- [55] S. Ö. Ergin, "Nar meyvesi (*Punica granatum* L.) ile farklı nar ürünlerinin antioksidan özellikleri," *Akademik Gıda*, vol. 17, no. 2, pp. 243-251, 2019.
- [56] M. Larrosa, A. González-Sarrías, M. J. Yáñez-Gascón *et al.*, "Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism," *The Journal of nutritional biochemistry*, vol. 21, no. 8, pp. 717-725, 2010.
- [57] S. Aharoni, Y. Lati, M. Aviram *et al.*, "Pomegranate juice polyphenols induce a phenotypic switch in macrophage polarization favoring a M2 anti-inflammatory state," *Biofactors*, vol. 41, no. 1, pp. 44-51, 2015.
- [58] X. Xu, P. Yin, C. Wan *et al.*, "Punicalagin inhibits inflammation in LPS-induced RAW264.7 macrophages via the suppression of TLR4-mediated MAPKs and NF- κ B activation," *Inflammation*, vol. 37, no. 3, pp. 956-965, 2014.
- [59] J. Peng, D. Wei, Z. Fu *et al.*, "Punicalagin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome in mice," *Inflammation*, vol. 38, no. 2, pp. 493-499, 2015.

- [60] A. A. Nekooeian, M. H. Eftekhari, S. Adibi *et al.*, “Effects of pomegranate seed oil on insulin release in rats with type 2 diabetes,” *Iranian journal of medical sciences*, vol. 39, no. 2, pp. 130, 2014.
- [61] P. Bagri, M. Ali, V. Aeri *et al.*, “Antidiabetic effect of Punica granatum flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes,” *Food and Chemical Toxicology*, vol. 47, no. 1, pp. 50-54, 2009.
- [62] S. Banihani, S. Makahleh, Z. El-Akawi *et al.*, “Fresh pomegranate juice ameliorates insulin resistance, enhances β -cell function, and decreases fasting serum glucose in type 2 diabetic patients,” *Nutrition research*, vol. 34, no. 10, pp. 862-867, 2014.
- [63] G. Sohrab, P. Angoorani, M. Tohidi *et al.*, “Pomegranate (*Punicagranatum*) juice decreases lipid peroxidation, but has no effect on plasma advanced glycated end-products in adults with type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial,” *Food & nutrition research*, vol. 59, no. 1, pp. 28551, 2015.
- [64] T. West, M. Atzeva, and D. M. Holtzman, “Pomegranate polyphenols and resveratrol protect the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury,” *Developmental neuroscience*, vol. 29, no. 4-5, pp. 363-372, 2007.
- [65] M. Aviram, L. Dornfeld, M. Kaplan *et al.*, “Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans,” *Drugs under experimental and clinical research*, vol. 28, no. 2-3, pp. 49-62, 2002.
- [66] K. Jinu, R. Archana, K. Sailesh *et al.*, “A comprehensive review on neuroprotective effects of pomegranate,” *International Journal Research Ayurveda Pharmacy*, vol. 7, no. 2, 2016.
- [67] S. Subash, M. M. Essa, A. Al-Asmi *et al.*, “Pomegranate from Oman alleviates the brain oxidative damage in transgenic mouse model of Alzheimer’s disease,” *Journal of traditional and complementary medicine*, vol. 4, no. 4, pp. 232-238, 2014.
- [68] K. Leuner, C. Kurz, G. Guidetti *et al.*, “Improved mitochondrial function in brain aging and Alzheimer disease—the new mechanism of action of the old metabolic enhancer piracetam,” *Frontiers in neuroscience*, vol. 4, pp. 44, 2010.
- [69] R. E. Hartman, A. Shah, A. M. Fagan *et al.*, “Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer’s disease,” *Neurobiology of disease*, vol. 24, no. 3, pp. 506-515, 2006.
- [70] D. Dhingra, and A. Jangra, “Antiepileptic activity of ellagic acid, a naturally occurring polyphenolic compound, in mice,” *Journal of Functional Foods*, vol. 10, pp. 364-369, 2014.
- [71] S. M. Tripathi, V. Singh, S. Singh *et al.*, “Enzyme inhibition by the molluscicidal agent Punica granatum Linn. bark and Canna indica Linn. root,” *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, vol. 18, no. 7, pp. 501-506, 2004.
- [72] H.-M. Kwak, S.-Y. Jeon, B.-H. Sohng *et al.*, “ β -Secretase (BACE1) inhibitors from pomegranate (*Punica granatum*) husk,” *Archives of pharmacal research*, vol. 28, no. 12, pp. 1328-1332, 2005.
- [73] L. Packer, H. Sies, M. Eggersdorfer *et al.*, *Micronutrients and brain health*: CRC Press, 2009.

- [74] M. Karin, Y. Cao, F. R. Greten *et al.*, “NF- κ B in cancer: from innocent bystander to major culprit,” *Nature reviews cancer*, vol. 2, no. 4, pp. 301-310, 2002.
- [75] N. Khan, N. Hadi, F. Afaq *et al.*, “Pomegranate fruit extract inhibits prosurvival pathways in human A549 lung carcinoma cells and tumor growth in athymic nude mice,” *Carcinogenesis*, vol. 28, no. 1, pp. 163-173, 2007.
- [76] C. Fjaeraa, and E. Nånberg, “Effect of ellagic acid on proliferation, cell adhesion and apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells,” *Biomedicine & pharmacotherapy*, vol. 63, no. 4, pp. 254-261, 2009.
- [77] S. Koyama, L. J. Cobb, H. H. Mehta *et al.*, “Pomegranate extract induces apoptosis in human prostate cancer cells by modulation of the IGF-IGFBP axis,” *Growth hormone & IGF research*, vol. 20, no. 1, pp. 55-62, 2010.
- [78] L. S. Adams, N. P. Seeram, B. B. Aggarwal *et al.*, “Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells,” *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 54, no. 3, pp. 980-985, 2006.
- [79] H. Kohno, R. Suzuki, Y. Yasui *et al.*, “Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats,” *Cancer science*, vol. 95, no. 6, pp. 481-486, 2004.
- [80] E. P. Lansky, W. Jiang, H. Mo *et al.*, “Possible synergistic prostate cancer suppression by anatomically discrete pomegranate fractions,” *Investigational new drugs*, vol. 23, no. 1, pp. 11-20, 2005.
- [81] A. H. Rahmani, M. A. Alsahli, and S. A. Almatroodi, “Potential antitumor effects of pomegranates and its ingredients,” *Pharmacognosy reviews*, vol. 11, no. 22, pp. 136, 2017.
- [82] Z. Dai, V. Nair, M. Khan *et al.*, “Pomegranate extract inhibits the proliferation and viability of MMTV-Wnt-1 mouse mammary cancer stem cells in vitro,” *Oncology reports*, vol. 24, no. 4, pp. 1087-1091, 2010.
- [83] M. Dikmen, N. Ozturk, and Y. Ozturk, “The antioxidant potency of Punica granatum L. Fruit peel reduces cell proliferation and induces apoptosis on breast cancer,” *Journal of Medicinal Food*, vol. 14, no. 12, pp. 1638-1646, 2011.
- [84] A. B. Shirode, P. Kovvuru, S. V. Chittur *et al.*, “Antiproliferative effects of pomegranate extract in MCF-7 breast cancer cells are associated with reduced DNA repair gene expression and induction of double strand breaks,” *Molecular carcinogenesis*, vol. 53, no. 6, pp. 458-470, 2014.
- [85] M. L. Jeune, J. Kumi-Diaka, and J. Brown, “Anticancer activities of pomegranate extracts and genistein in human breast cancer cells,” *Journal of medicinal food*, vol. 8, no. 4, pp. 469-475, 2005.
- [86] N. Banerjee, H. Kim, S. Talcott *et al.*, “Pomegranate polyphenolics suppressed azoxymethane-induced colorectal aberrant crypt foci and inflammation: possible role of miR-126/VCAM-1 and miR-126/PI3K/AKT/mTOR,” *Carcinogenesis*, vol. 34, no. 12, pp. 2814-2822, 2013.
- [87] F. Afaq, M. Saleem, C. G. Krueger *et al.*, “Anthocyanin-and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF- κ B pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice,” *International journal of cancer*, vol. 113, no. 3, pp. 423-433, 2005.
- [88] F. S. Aksoy, “SOĞUK PRES NAR VE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ YAĞI ATIKLARINDAN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN

ENKAPSÜLASYONU VE SALATA SOSLARININ RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ,” YILDIZ TECHNICAL UNIVERSITY, 2017.

- [89] A. Sahin, “Tarım Ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Ve Politikalar Genel Müdürlüğü Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü,” 2020.
- [90] J. Martinez, P. Melgarejo, F. Hernández *et al.*, “Seed characterisation of five new pomegranate (*Punica granatum L.*) varieties,” *Scientia Horticulturae*, vol. 110, no. 3, pp. 241-246, 2006.
- [91] J. Jurenka, “Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): a review,” *Alternative medicine review*, vol. 13, no. 2, 2008.
- [92] B. R. Thakur, R. K. Singh, A. K. Handa *et al.*, “Chemistry and uses of pectin—a review,” *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, vol. 37, no. 1, pp. 47-73, 1997.
- [93] M. Abid, S. Cheikhrouhou, C. M. Renard *et al.*, “Characterization of pectins extracted from pomegranate peel and their gelling properties,” *Food Chemistry*, vol. 215, pp. 318-325, 2017.
- [94] X. Yang, T. Nisar, Y. Hou *et al.*, “Pomegranate peel pectin can be used as an effective emulsifier,” *Food Hydrocolloids*, vol. 85, pp. 30-38, 2018.
- [95] S. Kazakos, I. Mantzourani, and S. Plessas, “Assessment of pomegranate juice as an alternative “substrate” for probiotic delivery. Recent advances and prospects,” *Fermentation*, vol. 6, no. 1, pp. 24, 2020.
- [96] A. M. Alves-Santos, C. S. A. Sugizaki, G. C. Lima *et al.*, “Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review,” *Journal of Functional Foods*, vol. 74, pp. 104169, 2020.
- [97] D. Bialonska, S. G. Kasimsetty, K. K. Schrader *et al.*, “The effect of pomegranate (*Punica granatum L.*) byproducts and ellagitannins on the growth of human gut bacteria,” *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 57, no. 18, pp. 8344-8349, 2009.
- [98] A. M. Neyrinck, V. F. Van Hée, L. B. Bindels *et al.*, “Polyphenol-rich extract of pomegranate peel alleviates tissue inflammation and hypercholesterolaemia in high-fat diet-induced obese mice: potential implication of the gut microbiota,” *British Journal of Nutrition*, vol. 109, no. 5, pp. 802-809, 2013.
- [99] Z. Li, P. H. Summanen, T. Komoriya *et al.*, “Pomegranate ellagitannins stimulate growth of gut bacteria in vitro: Implications for prebiotic and metabolic effects,” *Anaerobe*, vol. 34, pp. 164-168, 2015.
- [100] J. C. Espín, M. Larrosa, M. T. García-Conesa *et al.*, “Biological significance of urolithins, the gut microbial ellagic acid-derived metabolites: the evidence so far,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2013, 2013.
- [101] J. Chen, C. Liao, X. Ouyang *et al.*, “Antimicrobial activity of pomegranate peel and its applications on food preservation,” *Journal of Food Quality*, vol. 2020, 2020.
- [102] S. S. Dahham, M. N. Ali, H. Tabassum *et al.*, “Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum L.*),” *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, vol. 9, no. 3, pp. 273-281, 2010.
- [103] R. Casquete, S. M. Castro, A. Martín *et al.*, “Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels,” *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 31, pp. 37-44, 2015.

- [104] G. Yuan, H. Lv, B. Yang *et al.*, “Physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of chitosan films containing carvacrol and pomegranate peel extract,” *Molecules*, vol. 20, no. 6, pp. 11034-11045, 2015.
- [105] M. Shahmirian, M. H. Eskandari, M. Niakousari *et al.*, “Incorporation of pomegranate rind powder extract and pomegranate juice into frozen burgers: oxidative stability, sensorial and microbiological characteristics,” *Journal of food science and technology*, vol. 56, no. 3, pp. 1174-1183, 2019.
- [106] D. Mahajan, Z. Bhat, and S. Kumar, “Pomegranate (*Punica granatum*) rind extract as a novel preservative in cheese,” *Food Bioscience*, vol. 12, pp. 47-53, 2015.
- [107] Y. Liu, X. Zhang, C. Li *et al.*, “Comparison of the structural, physical and functional properties of κ -carrageenan films incorporated with pomegranate flesh and peel extracts,” *International journal of biological macromolecules*, vol. 147, pp. 1076-1088, 2020.
- [108] H. Cui, D. Surendhiran, C. Li *et al.*, “Biodegradable zein active film containing chitosan nanoparticle encapsulated with pomegranate peel extract for food packaging,” *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 24, pp. 100511, 2020.
- [109] L. Jones, and P. Atkins, "Princípios de química-questionando a vida moderna e o meio ambiente," Porto Alegre: Bookman, 2006.
- [110] S. J. Kang, B. R. Choi, S. H. Kim *et al.*, “Beneficial effects of dried pomegranate juice concentrated powder on ultraviolet B-induced skin photoaging in hairless mice,” *Experimental and therapeutic medicine*, vol. 14, no. 2, pp. 1023-1036, 2017.
- [111] M. A. Zaid, F. Afaq, D. N. Syed *et al.*, “Inhibition of UVB-mediated oxidative stress and markers of photoaging in immortalized HaCaT keratinocytes by pomegranate polyphenol extract POMx,” *Photochemistry and Photobiology*, vol. 83, no. 4, pp. 882-888, 2007.
- [112] J. D. Jensen, J. H. Dunn, Y. Luo *et al.*, “Ellagic acid inhibits melanoma growth in vitro,” *Dermatology reports*, vol. 3, no. 3, 2011.
- [113] K. Kasai, M. Yoshimura, T. Koga *et al.*, “Effects of oral administration of ellagic acid-rich pomegranate extract on ultraviolet-induced pigmentation in the human skin,” *Journal of nutritional science and vitaminology*, vol. 52, no. 5, pp. 383-388, 2006.
- [114] T. Tanaka, G.-I. Nonaka, and I. Nishioka, “Tannins and Related Compounds. XL.: Revision of the Structures of Punicalin and Punicalagin, and Isolation and Characterization of 2-O-Galloylpunicalin from the Bark of *Punica granatum* L.,” *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 34, no. 2, pp. 650-655, 1986.
- [115] S. M. Henning, J. Yang, R.-P. Lee *et al.*, “Pomegranate juice and extract consumption increases the resistance to UVB-induced erythema and changes the skin microbiome in healthy women: A randomized controlled trial,” *Scientific reports*, vol. 9, no. 1, pp. 1-11, 2019.
- [116] J. Y. Bae, J. S. Choi, S. W. Kang *et al.*, “Dietary compound ellagic acid alleviates skin wrinkle and inflammation induced by UV-B irradiation,” *Experimental dermatology*, vol. 19, no. 8, pp. e182-e190, 2010.
- [117] Z. Li, P. H. Summanen, J. Downes *et al.*, “Antimicrobial Activity of Pomegranate and Green Tea Extract on *Propionibacterium Acnes*, *Propionibacterium Granulosum*, *Staphylococcus Aureus* and *Staphylococcus Epidermidis*,” *Journal of drugs in dermatology: JDD*, vol. 14, no. 6, pp. 574-578, 2015.

- [118] C. Bogdan, S. Iurian, I. Tomuta *et al.*, “Improvement of skin condition in striae distensae: Development, characterization and clinical efficacy of a cosmetic product containing Punica granatum seed oil and Croton lechleri resin extract,” *Drug design, development and therapy*, vol. 11, pp. 521, 2017.
- [119] D. Baltazar, J. Marto, T. Berger *et al.*, “The antiageing efficacy of donkey milk in combination with pomegranate extract and UV protection: A traditional ingredient in a modern formulation,” *Monographic special issue: Cosmetic Active Ingredients-H&PC Today-Household and Personal Care Today*, vol. 12, no. 2, pp. 30-32, 2017.
- [120] Y. Kumagai, S. Nakatani, H. Onodera *et al.*, “Anti-glycation effects of Pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit extract and its components in vivo and in vitro,” *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 63, no. 35, pp. 7760-7764, 2015.
- [121] M. Yagi, L. Parengkuan, H. Sugimura *et al.*, “Anti-glycation effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) extract: An open clinical study,” *Glycative Stress Research*, vol. 1, pp. 60-67, 2014.
- [122] D. Ryu, L. Mouchiroud, P. A. Andreux *et al.*, “Urolithin A induces mitophagy and prolongs lifespan in *C. elegans* and increases muscle function in rodents,” *Nature medicine*, vol. 22, no. 8, pp. 879-888, 2016.
- [123] C.-f. Liu, X.-l. Li, Z.-l. Zhang *et al.*, “Antiaging effects of urolithin A on replicative senescent human skin fibroblasts,” *Rejuvenation research*, vol. 22, no. 3, pp. 191-200, 2019.
- [124] S.-T. Wang, W.-C. Chang, C. Hsu *et al.*, “Antimelanogenic effect of urolithin A and urolithin B, the colonic metabolites of ellagic acid, in B16 melanoma cells,” *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 65, no. 32, pp. 6870-6876, 2017.
- [125] A. R. Abubakar, and M. Haque, “Preparation of medicinal plants: basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes,” *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, vol. 12, no. 1, pp. 1, 2020.
- [126] W. Nakbanpote, M. Ruttanakorn, K. Sukadeetad *et al.*, “Effects of drying and extraction methods on phenolic compounds and in vitro assays of *Ecliptaprostrata* Linn leaf extracts,” *Science Asia*, vol. 45, no. 2, pp. 127-137, 2019.
- [127] F. Acartürk, İ. Ağabeyoğlu, N. Çelebi *et al.*, “Modern Farmasötik Teknoloji,” *Türk Eczacılar Birliği Yayını*, no. 1, pp. 257-261, 2007.
- [128] G. V. Barbosa-Cánovas, E. Ortega-Rivas, P. Juliano *et al.*, *Food powders*, 2005.
- [129] A. R. Celma, S. Rojas, and F. Lopez-Rodriguez, “Mathematical modelling of thin-layer infrared drying of wet olive husk,” *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, vol. 47, no. 9-10, pp. 1810-1818, 2008.
- [130] S. S. Z. Hindi, “Microcrystalline cellulose: the inexhaustible treasure for pharmaceutical industry,” *Nanoscie. Nanotech. Res*, vol. 4, no. 1, pp. 17-24, 2017.
- [131] B. M. Jacqueline, "Aging, nutrition and taste/Jacqueline B. Marcus," Academic Press, 2019.
- [132] H. T. Do, and H. V. Nguyen, “Effects of spray-drying temperatures and ratios of gum Arabic to microcrystalline cellulose on antioxidant and physical properties of mulberry juice powder,” *Beverages*, vol. 4, no. 4, pp. 101, 2018.

- [133] S. S. Vidović, J. Z. Vladić, Ž. G. Vaštag *et al.*, "Maltodextrin as a carrier of health benefit compounds in *Satureja montana* dry powder extract obtained by spray drying technique," *Powder technology*, vol. 258, pp. 209-215, 2014.
- [134] A. Masci, A. Coccia, E. Lendaro *et al.*, "Evaluation of different extraction methods from pomegranate whole fruit or peels and the antioxidant and antiproliferative activity of the polyphenolic fraction," *Food chemistry*, vol. 202, pp. 59-69, 2016.
- [135] V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventós, "[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent," *Methods in enzymology*, vol. 299, pp. 152-178, 1999.
- [136] C.-C. Chang, M.-H. Yang, H.-M. Wen *et al.*, "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods," *Journal of food and drug analysis*, vol. 10, no. 3, 2002.
- [137] J.-Y. Lin, and C.-Y. Tang, "Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation," *Food chemistry*, vol. 101, no. 1, pp. 140-147, 2007.
- [138] "Food Additive Status List," 2019.
- [139] Z. Wang, Z. Pan, H. Ma *et al.*, "Extract of phenolics from pomegranate peels," *The open food science journal*, vol. 5, no. 1, 2011.
- [140] P. Panichayupakarananta, A. Issuriya, A. Sirikatitham *et al.*, "Antioxidant assay-guided purification and LC determination of ellagic acid in pomegranate peel," *Journal of chromatographic science*, vol. 48, no. 6, pp. 456-459, 2010.
- [141] M. K. Haghghian, M. Rafraf, A. Moghaddam *et al.*, "Pomegranate (*Punica granatum* L.) peel hydro alcoholic extract ameliorates cardiovascular risk factors in obese women with dyslipidemia: A double blind, randomized, placebo controlled pilot study," *European Journal Of Integrative Medicine*, vol. 8, no. 5, pp. 676-682, 2016.
- [142] E. P. Lansky, "Beware of pomegranates bearing 40% ellagic acid," *Journal of medicinal food*, vol. 9, no. 1, pp. 119-122, 2006.
- [143] P. Panichayupakaranant, A. Itsuriya, and A. Sirikatitham, "Preparation method and stability of ellagic acid-rich pomegranate fruit peel extract," *Pharmaceutical biology*, vol. 48, no. 2, pp. 201-205, 2010.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Melike Nur AKBAŞ

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2014, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
- **Yükseklisans** : 2019, Akdeniz Üniversitesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı,

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2018-2021 Fitofarmasi uzmanlık öğrencisi, Bezmialem Vakıf Üniversitesi
- 2015-2018 Bilim Servisi ve Farmakovijilans Yetkilisi,

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

AKBAŞ, M. N., & AKÇAKAYA, A. (2020). COVID-19 and Phytotherapy. Bezmialem Science, 8, 428-37.

Akbaşı, M. N. (2019). RELAKSİNİN KARDİYOVASKÜLER SİSTEM ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ. ASSESSMENT, 62, 70.

Akbaşı, M. N. İzole damar fizyolojik yanıtlarını ölçebilmek için kuyucuklu ölçüm tekniğinin geliştirilmesi ve klasik organ banyosuyla karşılaştırılması / Development of Well Plate Measurement Technique To Evaluate Isolated Vascular Physiological Responses And Comparison With Classical Organ (2019)