

Nar Kabuğundan Ultrason Destekli Ekstraksiyon Uygulamasıyla Fenolik Bileşen Ekstraksiyonu ve Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri

Buse Özdere , Özge Ata , Şeyda Mihriban Kul , Bilge Baştürk Berk , Şebnem Tavman  ✉, Seher Kumcuoğlu 

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35040 İzmir

Geliş Tarihi (Received): 25.12.2023, Kabul Tarihi (Accepted): 21.07.2024

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sebnem.tavman@ege.edu.tr (Ş. Tavman)

☎ 0 232 311 30 16 📠 0 232 342 75 92

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, sıfır atık yaklaşımıyla nar kabuklarından (*Punica granatum* L.) biyoaktif bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemi kullanılarak elde edilmesi ve farklı ekstraksiyon koşullarının fenolik madde içeriği ile antioksidan kapasite üzerindeki etkilerinin belirlenmesidir. Taze nar kabuklarının iç ve dış kısımları ayrı ayrı değerlendirilmiş, %80'lik metanol çözgeni ile farklı ultrasonik güç (%50 ve %100) ve süre (5, 10 ve 20 dakika) kombinasyonlarında ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, dış kabuğun toplam fenolik madde içeriği %100 güç ve 10 dakika ekstraksiyon süresinde maksimum 58.73 ± 0.79 mg GAE/g KM değerine ulaşmıştır. En yüksek antioksidan kapasite ise dış kabuk örneklerinde %100 güç ve 20 dakikada 3177.75 ± 6.06 ppm TEAC/g KM olarak ölçülmüştür. İç zar örneklerinde ise en yüksek fenolik madde miktarı 7.31 ± 0.03 mg GAE/g KM değerinde bulunmuştur. FTIR ve SEM analizleri, nar kabuğunun yapısal bütünlüğünü koruyarak aktif bileşenlerin salımını kolaylaştırdığını göstermiştir. Bu bulgular, nar kabuklarının çevre dostu yaklaşımlarla değerlendirilerek gıda ve ilaç sanayilerinde katma değerli ürünler elde edilmesi için önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Nar kabuğu, Antioksidan kapasite, Fenolik bileşenler, Ultrasonik ekstraksiyon

Extraction of Phenolic Compounds from Pomegranate Peels by Ultrasound Assisted Extraction and Determination of Antioxidant Activities

ABSTRACT

The aim of this study was to extract bioactive compounds from pomegranate peels (*Punica granatum* L.) using the ultrasound-assisted extraction (UDE) method within a zero-waste approach and to investigate the effects of different extraction conditions on total phenolic content and antioxidant capacity. Fresh pomegranate peels were separated into inner and outer layers, and extractions were performed using 80% methanol as a solvent under different ultrasound power levels (50% and 100%) and durations (5, 10, and 20 minutes). The results showed that the outer peel exhibited the highest total phenolic content, reaching 58.73 ± 0.79 mg GAE/g DM under 100% power and 10 minutes of extraction. The maximum antioxidant capacity was observed in outer peel extracts at 3177.75 ± 6.06 ppm TEAC/g DM with 100% power and 20 minutes. In the inner peel, the highest total phenolic content was found as 7.31 ± 0.03 mg GAE/g DM. FTIR and SEM analyses demonstrated that the structural integrity of the pomegranate peel was preserved while facilitating the release of active compounds. These findings suggest that pomegranate peels possess significant potential for valorization through environmentally friendly processes, offering opportunities for the development of value-added products in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: Pomegranate peel, Antioxidant capacity, Phenolic compounds, Ultrasonic extraction

GİRİŞ

Nar (*Punica granatum L.*) kabuğu, meyve işleme endüstrisinin en önemli yan ürünlerinden biri olup, meyvenin ağırlığının %26-30'unu oluşturmaktadır [1]. Geleneksel olarak hayvan yemi olarak kullanılan ya da atık olarak çevreye bırakılan nar kabukları, içerdiği biyoaktif bileşenler sayesinde son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Punicalagin, ellajik asit, gallik asit ve kuersetin gibi fenolik bileşikler ile antosiyaninler ve ellajitanenler açısından zengin olan nar kabukları, güçlü antioksidan, antimikrobiyal ve sağlıklı destekleyici özellikler sergilemektedir [2, 3]. Bu özellikler, nar kabuklarının doğal koruyucu ve fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanımına yönelik önemli bir potansiyel sunduğunu göstermektedir [4, 5]. Nar kabuğu, meyvenin yenilebilir kısmına kıyasla çok daha yüksek miktarda fenolik bileşik içermekte ve güçlü antioksidan özellikler sergilemektedir [9].

Biyoaktif bileşiklerin bitkisel materyallerden eldesinde kullanılan geleneksel yöntemlerden Soxhlet ekstraksiyonu, maserasyon ve hidrodistilasyon, uzun süredir yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir [6]. Ancak bu yöntemler, uzun ekstraksiyon süreleri, pahalı oluşları, saf çözücü ihtiyacı ve ısıya hassas bileşenlerin zarar görmesi gibi dezavantajlara sahiptir [1, 7, 8]. Bitkisel materyallerden biyoaktif bileşenlerin eldesi için yaygın olarak kullanılan geleneksel ekstraksiyon yöntemleri, uzun işlem süreleri, yüksek çözücü tüketimi ve ısıya duyarlı bileşiklerin bozulması gibi sınırlamalara sahiptir [6]. Bu durum, daha verimli ekstraksiyon yöntemlerine olan ihtiyacı artırmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyon (UDE), bu alandaki en etkili yöntemlerden biri olarak öne çıkmaktadır. UDE, yüksek frekanslı ses dalgalarının bir sıvı ortamda yayılmasıyla oluşan kavitasyon etkisini kullanarak bitki materyalinden biyoaktif bileşiklerin çözen içine salımını kolaylaştıran bir yöntemdir. UDE, kavitasyon etkisiyle bitki hücre duvarlarını parçalayarak biyoaktif bileşenlerin çözen içine daha hızlı ve etkin bir şekilde geçmesini sağlamaktadır [9]. Literatürde UDE'nin geleneksel yöntemlere kıyasla ekstraksiyon verimini %20-30 oranında artırdığı ve işlem süresini %80-90 oranında azalttığı görülmüştür [10, 11]. Ayrıca, düşük sıcaklıkta çalışması sayesinde ısıya hassas bileşiklerin korunmasını ve enerji tasarrufu sağlamaktadır [12].

Bu çalışmanın amacı, nar kabuğundan ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemi kullanılarak fenolik maddeler

gibi biyoaktif bileşenlerin eldesi için uygun ekstraksiyon koşullarının belirlenmesidir. Çalışmada, fenolik bileşiklerin çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle ekstraksiyon çözenisi olarak %80'lik metanol tercih edilmiştir. Farklı süreler ve ultrasonik güç seviyeleri kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemleriyle, fenolik madde ve antioksidan kazanımını etkileyen koşullar araştırılmıştır. Bu kapsamda, UDE yönteminin geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla solvent kullanımını azaltma, ekstraksiyon süresini kısaltma ve işlem verimini artırma potansiyeli değerlendirilmiştir. Çalışmanın özgün yönü, nar kabuklarının sıfır atık yaklaşımıyla katma değerli ürünlere dönüştürülmesi ve yenilikçi ekstraksiyon tekniklerinin gıda ve ilaç endüstrilerinde sürdürülebilir kullanımına yönelik literatüre katkı sağlamasıdır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada kullanılan taze nar (*Punica granatum L.*) örnekleri, 2024 yılı Eylül ayında bir yerel marketten (Bornova, İzmir, Türkiye) sağlanmış ve ekstraksiyon işlemlerine kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Narlar yıkandıktan sonra kurulandı ve nar dış kabukları (perikarp), narların tutunduğu bölüm (mezokarp) ve iç zarlar, nar tanelerinden el yardımıyla ayıklanarak elde edilmiştir. Örnekler polietilen torbalarla paketlenmiştir ve 4°C sıcaklıkta, buzdolabında, kurutma işlemi yapılarak kadar bekletilmiştir. Çalışmada kullanılan narların genel özelliklerini temsil etmek amacıyla seçilmiş örneklerin görselleri Şekil 1'de verilmiştir.

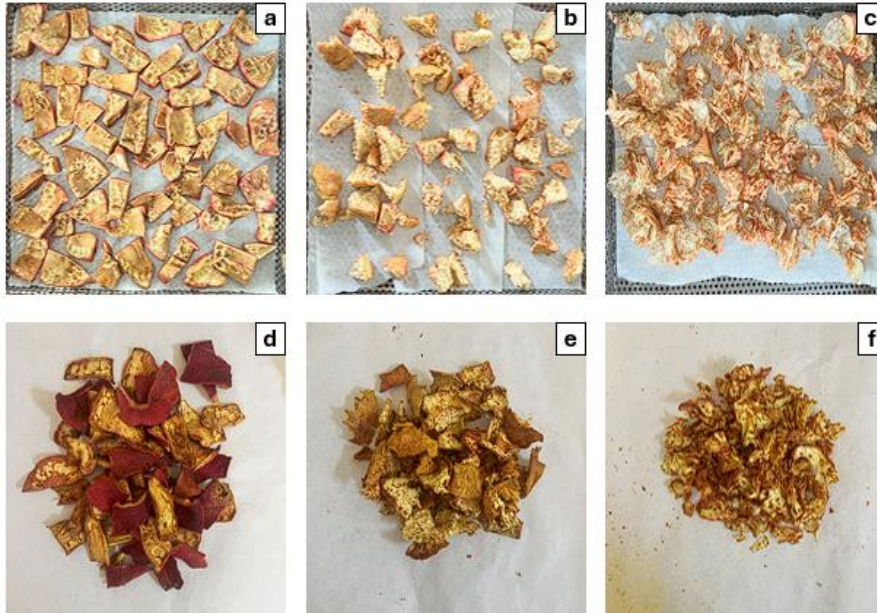
Kurutma Yöntemi

Kurutma işleminde Mphahlele vd. [13] tarafından yapılan çalışmada belirtilen yöntem kullanılmıştır. Kurutma işleminden önce 4°C sıcaklıktaki örnekler oda sıcaklığına ulaştırılmaya kadar bekletilmiştir. Çalışma kapsamında kurutma işlemi için pilot ölçekli tepsili kurutucu (Armfield Lim., Ringwood, Hampshire, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Oda sıcaklığındaki örnekler, cihazın tepsilerine yerleştirilip kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Kurutma 40°C hava sıcaklığı ve 1.0 m/s hava hızında gerçekleştirilmiştir. Örnekler sabit tartıma gelene kadar kurutma işlemine devam edilmiştir. Nar dış kabuğu, mezokarp ve iç zarının kurutma öncesi ve sonrasındaki görünümü Şekil 2'deki gibidir.



Şekil 1. Satın alınan narlar (a), yıkanmış ve temizlenmiş nar (b), nar dış kabuğu (c), narların tutunduğu bölüm (d) ve iç zarlar (e)

Figure 1. Purchased pomegranates (a), washed and cleaned pomegranates (b), pomegranate outer peel (c), the part where the pomegranates are attached (d) and inner membranes (e)



Şekil 2. Kurutmadan önce nar dış kabuğu (a), mezokarp (b) ve iç zar (c); kurutulduktan sonra nar dış kabuğu (d), mezokarp (e) ve iç zarı (f)

Figure 2. Pomegranate outer peel (a), mesocarp (b) and inner membrane (c) before drying; pomegranate outer peel (d), mesocarp (e) and inner membrane (f) after drying

Kurutmadan sonra örnekler oda sıcaklığına getirilmiş ve öğütücü (Beehive Mechanical Grinder, ABD) yardımıyla öğütülerek 250 µm elekten geçirilmiştir. Mezokarp ve iç zar karıştırılarak örnek nar kabuğu iç zarı olarak adlandırılmış ve örnekler polietilen torbalarda analizler

gerçekleşene kadar saklanmıştır. Şekil 3'de, çalışmada kullanılan nar kabuğunun dış kabuk, iç zar ve orta kısımlarına ait kurutulmuş ve öğütülmüş örneklerin görünümü verilmiştir.



Şekil 3. Öğütülmüş nar kabuğu dış kabuk (a), mezokarp (b) ve iç zar (c)

Figure 3. Ground pomegranate peel outer shell (a), mesocarp (b) and inner membrane (c)

Nem ve Su Aktivitesi Tayini

Yaş örneklerin nem içerikleri, AOAC (2005), Official Method 934.06 [14] yöntemine bazı küçük değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Örnekler 105±0.5 °C sıcaklıktaki etüvde kurutulmuş ve kütle kaybı yöntemi esas alınarak nem oranları hesaplanmıştır. Kuru örneklerin nem içerikleri ise nem tayini cihazı (Radwag MA 50.R, Polonya) kullanılarak, üretici firmanın standart protokolüne uygun şekilde ölçülmüştür. Kurutulmuş nar kabuğu ve zar kısmının su aktivitesi değerlerinin ölçümünde su aktivitesi ölçüm cihazı (Testo AG400, Lenzkirch, Almanya) kullanılmıştır. Numuneler sızdırmaz bir çelik hazneye yerleştirilmiş, sabit sıcaklıkta (25 °C) tutulmuş ve ürün-hava arasındaki nem alışverişinin durmasıyla denge sağlanıncaya kadar beklenmiştir. Dengeye ulaşıldığında hazne içindeki havanın bağıl nemi cihazın probu ile ölçülmüş ve bu değer doğrudan su aktivitesi (aw) olarak kaydedilmiştir.

Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi amacıyla ekstraktların hazırlanmasında 5 g toz haline getirilmiş örneğe 75 mL %80'lik metanol eklenmiş ve bu karışım oda sıcaklığında 250 rpm hızla çalışan manyetik karıştırıcıda 21 saat boyunca karıştırılarak ön ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Ardından, homojenize edilen karışıma oda sıcaklığında %50 ve %100 güç seviyelerinde, 5, 10 ve 20 dakika süreyle ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) uygulanmıştır. Bu yöntemle, fenolik bileşiklerin ekstraksiyon veriminin artırılması ve ekstraksiyon süresinin azaltılması amaçlanmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyon sırasında özellikle yüksek güç seviyelerinde (özellikle %100 güçte) oluşabilecek ısınmayı önlemek amacıyla, çift cidarlı örnek haznesi kullanılmıştır. Haznenin cidarları arasında dolaştırılan antifrizli su sayesinde, işlem süresince örnek ve çözücü sıcaklığı stabil tutulmuş ve sıcaklığa bağlı olası fenolik

madde bozulmaları engellenmiştir. Elde edilen ekstraktlardan toplam fenolik madde miktarı tayini Singleton vd. (1999) tarafından verilen yöntemle yapılmıştır [15]. Bunun için ekstraktlardan 200 µL alındıktan sonra sonra 1 mL saf su ve 1 mL 0.2 N Folin reaktifi ile karıştırılıp 5 dakika süreyle beklenmiştir. Reaksiyon karışımına 800 µL %20'lik Na₂CO₃ ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası karışımın 760 nm dalga boyunda Cary 60 UV-vis spektrofotometrede absorbans değerleri belirlenmiş, sonuçlar 'mg/g KM galik asit eşdeğeri (GAE)' olarak verilmiştir.

Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla, fenolik madde analizi için hazırlanmış ekstraktlar kullanılmıştır. Ekstraktlardaki antioksidan aktivitenin kapsamlı değerlendirilmesinde Re vd. (1999) tarafından yapılmış olan çalışmadaki yöntemden yararlanılmıştır [16]. Bu amaçla kullanılacak ABTS çözeltisi; 1.92 mg ABTS reaktifinin 0.5 mL saf su içerisinde çözündürülmesiyle, potasyum persülfat çözeltisi; 0.33125 mg Potasyum persülfatın 0.5 mL saf su içerisinde çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. İki çözelti birleştirilip 16 saat oda sıcaklığında karanlıkta reaksiyona bırakılmıştır. Sonuçlar Trolox® eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) açısından niceliksel olarak belirlenmiştir.

Hem Trolox® çözeltileri hem de örnekler için inhibisyon değerlerinin yüzdesi aşağıdaki Denklem 1 kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{inhibisyon}(\%) = \frac{(A_{ABTS^{++}} - A_{\text{örnek}})}{A_{ABTS^{++}}} \times 100 \quad (1)$$

A_{ABTS⁺⁺}, ABTS⁺⁺'nin 734 nm'deki absorbansı, A_{örnek} örneğin 734 nm'deki absorbansıdır.

Örneklerin antioksidan kapasiteleri, 734 nm'ye ayarlanmış bir Cary 60 UV-vis spektrofotometresi kullanılarak, reaksiyon başlangıcından 6 dakika sonra ölçülmüştür. Antioksidan kapasiteleri, Trolox® standart çözeltileri kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisi, 5 ppm ile 500 ppm arasında değişen Trolox® konsantrasyonları kullanılarak hazırlanmış ve sonuçlar mM TEAC (Trolox® Equivalent Antioxidant Capacity) cinsinden ifade edilmiştir. Tüm analizler her örnek için üç paralel ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiş ve çalışma iki bağımsız tekerrür ile yürütülmüştür.

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Dondurularak kurutulmuş ekstrakt örneklerinin spektrum analizleri, 400–4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığında çalışan bir FT-IR spektrofotometre (Thermo Scientific NICOLET iS10, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi

Kurutulmuş nar kabuğu iç zarının ve dış kabuğunun morfolojik görüntüleri, 5.0 kV ivme voltajı kullanılarak bir taramalı elektron mikroskobu (SEM, Thermo Fisher Scientific QUANTA FEG 250, Waltham, MA, USA) ile elde edilmiştir. Örnekler Au-Pd alaşım ile kaplanarak 250-5000 kat büyütülerek örneklerin görüntülerinin alınması sağlanmıştır. Mikro gözenekli yapılar (Şekil 8 ve Şekil 9) 250x ve 5000x çözünürlükte gözlenirken, görüntüler sırasıyla 400 µm ve 20µm parçacık boyutuyla görüntüleme yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Tüm veriler ortalama değerler (±standart sapma) olarak sunulmuştur. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) SPSS (SPSS Inc., Chicago, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık (p<0.005), ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak verilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Nem ve Su Aktivitesi Tayini

Kurutulmuş örneklerin nem (%) içerikleri ve su aktiviteleri belirlenmiştir. Kurutulmuş nar kabuğu iç zarının nem oranı %77.83'ten %9.05'e, dış kabuğunun nem oranı ise %73.65'ten %8.38'e düşmüştür. Literatürde nar kabuklarının farklı kurutma teknikleri (konveksiyonel kurutma ve dondurarak kurutma) kullanılarak kurutulmasına yönelik gerçekleştirilen bir çalışmada [17] da benzer sonuçlar rapor edilmiştir. Söz konusu çalışmada dondurarak kurutulan nar kabuklarının başlangıç ve son nem içeriklerinin sırasıyla %73.6 ve %7.7 olduğu belirtilmiş olup, bu sonuçların mevcut çalışma bulgularıyla paralellik gösterdiği görülmektedir. Kurutma işleminden sonra ürünlerin su aktivitesi değerleri ise 0.300 ve 0.381 olarak ölçülmüştür. Düşük su aktivitesi ürünlerdeki gıda bozulmasına ve mikroorganizma

büyümesine yol açan enzimatik ve oksidatif reaksiyonların gerçekleşmesini azaltmakta ya da önleyebilmektedir [18, 19]. Kurutma işlemi sonrasında elde edilen nar kabuğu örneklerinde su aktivitesinin düşmesi, mikrobiyal gelişim riskini azaltarak depolama stabilitesine katkı sağlayabilecek potansiyel göstermiştir.

Toplam Fenolik Madde İçeriği Tayini

Nar kabuğu iç zarı örneklerindeki toplam fenolik madde miktarları Tablo 1'de görüldüğü gibidir. Çalışmada nar kabuğu iç zarı için fenolik madde miktarı, 7.30±0.02 mg GAE/g KM olarak ölçülmüştür. Dış kabuk için fenolik madde miktarı ise en çok 58.73±0.79 mg GAE/g KM olarak ölçülmüştür. Bu bulgu, literatürde bildirilen bazı değerlerden düşük, bazılarıyla ise benzerlik göstermektedir. Örneğin, Derakhshan vd. [20] çalışmasında 100 gram toz nar kabuğu örneğinin 48 saat boyunca oda sıcaklığında etanol (%80) kullanılarak yapılan ekstraksiyonunda fenolik madde miktarı 276-413 mg GAE/g KM olarak belirlenmiştir. El-Hamamsy ve El-Khamissi [21] tarafından yapılan çalışmada ise, etanol çözgeni ile elde edilen fenolik madde miktarı 161.5±0.5 mg GAE/g KM olarak rapor edilmiştir [22]. Bu farklar, kullanılan çözgen, ekstraksiyon yöntemi, sıcaklık ve süre gibi parametrelerin yanında nar türü, yetiştirilme koşulu gibi parametrelerin de etkisinden kaynaklanabilir. etkisinden kaynaklanabilir.

Ek olarak, Campos vd. (2022) nar kabuğu üzerine yaptığı çalışmasında etanol/su karışımı (%0, %25, %50 ve %75 EtOH, v/v) kullanılarak yapılan ekstraksiyonlarda fenolik içerik, çözgen konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik göstermiş ve en yüksek fenolik miktar 0.86 mg GAE/mg (75% EtOH) olarak bildirilmiştir [23]. Elde edilen sonuçlar, kullanılan ekstraksiyon koşulları altında metanolün toplam fenolik madde ekstraksiyonunda etkili bir çözücü olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, Suleria vd. [24] nar kabuğu için etanol kullanılarak yapılan ekstraksiyonda toplam fenolik içerik miktarını 3.34 mg GAE/g KM olarak bildirmiştir, bu da çalışmamızdaki verilerin daha yüksek fenolik içeriği işaret ettiğini göstermektedir.

Yapılan bu çalışmada nar kabuğu iç zarı için toplam fenolik madde miktarına bakıldığında, hem ekstraksiyon süresinin hem de ultrasonik gücün etkili olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubuna (0 güç) kıyasla %50 ve %100 güç seviyelerinde toplam fenolik madde miktarı artış göstermiştir. Özellikle 10 dakika ve %100 güç kombinasyonu (7.3082±0.02698 mg GAE/g KM), en yüksek fenolik madde miktarını sağlamıştır. Süre açısından, 20 dakikalık ekstraksiyon (hem %50 hem de %100 güçte) benzer fenolik madde miktarları üretmiştir. Bu durum, iç zar için belirli bir güç ve süreden sonra fenolik madde ekstraksiyonunun doyuma ulaştığını düşündürmektedir.

Fenolik içerik değerleri için kolonlardaki küçük harf farklılıkları Duncan testine göre süre için istatistiksel grup farklılıklarını ifade ederken, büyük harfler Duncan testine göre ultrasonik güç için istatistiksel grup farklılıklarını ifade etmektedir.

Tablo 1. Nar kabuğu iç zarı örneklerindeki toplam fenolik madde miktarları

Table 1. Total phenolic content in pomegranate peel inner membrane samples

Örnek	Güç (Watt)	Süre (dakika)	mg GAE/g KM
Nar kabuğu iç zarı	0	0	6.44±0.01 ^{aA}
	%50	5	6.51±0.21 ^{bB}
		10	7.26±0.02 ^{dB}
		20	7.01±0.20 ^{cB}
	%100	5	6.78±0.39 ^{bC}
		10	7.31±0.03 ^{dC}
		20	7.19±0.05 ^{cC}

Nar kabuğu dış kabuğunda ise toplam fenolik madde miktarı, güç ve süre değişimlerine karşın daha sınırlı bir değişim göstermiştir. Kontrol grubunda (0 güç) elde edilen fenolik madde miktarı (58.5426±0.41682 mg GAE/g KM), diğer gruplarla istatistiksel olarak benzer ya da daha yüksektir. %50 ve %100 güç seviyelerinde 10 dakika ekstraksiyon süresi ile fenolik madde miktarı bir miktar artış gösterebilir, bu artış istatistiksel olarak

anlamli değildir. 20 dakikalık ekstraksiyonlarda (hem %50 hem de %100 güç) fenolik madde miktarında hafif bir azalma görülmüştür. Bu durum, dış kabuk için daha kısa süreli ve kontrollü bir ekstraksiyonun fenolik bileşenlerin korunması açısından daha uygun olduğunu göstermektedir.

Tablo 2. Nar kabuğu dış kabuk örneklerindeki toplam fenolik madde miktarları

Table 2. Total phenolic content in pomegranate peel samples

Örnek	Güç (Watt)	Süre (dakika)	mg GAE/g KM
Nar kabuğu dış kabuk	0	0	58.54±0.42 ^{bB}
	%50	5	56.24±0.98 ^{aA}
		10	57.72±0.53 ^{bA}
		20	57.01±0.31 ^{aA}
	%100	5	57.14±0.33 ^{aA}
		10	58.73±0.79 ^{bA}
		20	55.89±0.76 ^{aA}

Fenolik içerik değerleri için kolonlardaki küçük harf farklılıkları Duncan testine göre süre için istatistiksel grup farklılıklarını ifade ederken, büyük harfler Duncan testine göre ultrasonik güç için istatistiksel grup farklılıklarını ifade etmektedir.

Nar kabuğu dış kabuk örneklerindeki toplam fenolik madde miktarları Tablo 2'de görülmektedir. Genel olarak, nar kabuğunun dış kısmı iç zarına kıyasla daha yüksek fenolik madde içeriğine sahiptir. Bu durum, dış kabuğun fenolik bileşiklerin birincil depolama alanı olması ve antioksidan kapasitesinin daha yoğun olmasından kaynaklanabilir. Literatürde de sıkça vurgulandığı üzere, dış kabuktaki fenolik bileşiklerin yüksekliği, bu kısmın doğal bir antioksidan kaynağı olarak daha fazla potansiyele sahip olduğunu göstermektedir [22, 25]. Sonuç olarak, çalışmada bulunan değerler literatürdeki diğer çalışmalarla kıyaslandığında, kullanılan yöntemlerin fenolik içerik miktarını etkilediğini doğrulamaktadır. Elde edilen bulgular, UDE yönteminde uygulanan ekstraksiyon süresi ve ultrasonik güç seviyelerinin, nar kabuğu fenolik bileşenlerinin verimli bir şekilde elde edilmesinde etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Antioksidan Aktivite Analizi

Nar kabuğu iç zarı için yapılan analizlerde, ultrasonik güç seviyesinin (%50 ve %100) TEAC değerlerinde anlamlı

bir artış sağlamadığı, bu nedenle ultrasonik gücün iç zar üzerindeki etkisinin sınırlı olduğu görülmektedir. Tablo 3, nar kabuğu iç zarı örneklerindeki antioksidan aktivite miktarlarını göstermektedir. Ekstraksiyon süresi açısından, 10 dakika süre ile elde edilen sonuçlar benzer olsa da, %50 güçte 20 dakikalık süre ile TEAC değerinde hafif bir artış gözlenmiştir. Bu durum, iç zarın antioksidan kapasitesini artırmada ekstraksiyon süresinin daha belirleyici olduğunu göstermektedir.

Antioksidan aktivite değerleri için kolonlardaki küçük harf farklılıkları Duncan testine göre süre için istatistiksel grup farklılıklarını ifade ederken, büyük harfler Duncan testine göre ultrasonik güç için istatistiksel grup farklılıklarını ifade etmektedir.

Nar kabuğu dış kabuğunda ise hem ultrasonik güç hem de ekstraksiyon süresinin antioksidan aktivite üzerinde belirgin bir etkisi olduğu görülmektedir. Özellikle %100 güç ve 20 dakika ekstraksiyon süresiyle en yüksek TEAC değerine (3177.75±6.06) ulaşılmış, bu da hem uzun sürelerin hem de yüksek ultrasonik güç seviyelerinin dış kabuğun antioksidan çıkışını artırmada etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, dış kabuk genel olarak iç zardan daha yüksek TEAC değerlerine sahiptir ve bu durum dış kabuğun daha zengin fenolik bileşen içeriğine sahip olduğunu düşündürmektedir.

Tablo 3. Nar kabuğu iç zarı örneklerindeki antioksidan aktivite değerleri

Table 3. Amounts of antioxidant activity in pomegranate peel inner membrane samples

Örnek	Güç (Watt)	Süre (dakika)	TEAC ppm/g KM
Nar kabuğu iç zarı	0	0	319.50±1.38 ^{aA}
	%50	5	320.47±0.12 ^{bB}
		10	321.33±0.57 ^{bB}
		20	319.54±0.04 ^{aB}
	%100	5	320.56±0.04 ^{bB}
		10	320.46±0.02 ^{bB}
		20	319.02±0.31 ^{aB}

Tablo 4. Nar kabuğu dış kabuk örneklerindeki antioksidan aktivite miktarları

Table 4. Amounts of antioxidant activity in pomegranate peel outer shell samples

Örnek	Güç (Watt)	Süre (dakika)	TEAC ppm/g KM
Nar kabuğu dış kabuk	0	0	3167.11±5.46 ^{cB}
	%50	5	3167.96±2.40 ^{abA}
		10	3167.47±1.84 ^{bcA}
		20	3111.78±21.26 ^{aA}
	%100	5	3136.92±23.05 ^{abAB}
		10	3155.40±3.39 ^{bcAB}
		20	3177.75±6.06 ^{aAB}

Antioksidan aktivite değerleri için kolonlardaki küçük harf farklılıkları Duncan testine göre süre için istatistiksel grup farklılıklarını ifade ederken, büyük harfler Duncan testine göre ultrasonik güç için istatistiksel grup farklılıklarını ifade etmektedir.

Tablo 4, nar kabuğu dış kabuk örneklerindeki antioksidan aktivite değerlerini vermektedir. Çalışmada nar kabuğu iç zarı için antioksidan aktivite miktarı en çok 321.33±0.57 TEAC ppm/g KM olarak, dış kabuk için ise antioksidan aktivite miktarı en çok 3177.75±6.06 TEAC ppm/g KM olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar literatürde bildirilen değerler ile karşılaştırıldığında bazı çalışmalardan düşük, bazılarıyla ise benzerlik göstermektedir. Ancak, literatürdeki çalışmaların ekstraksiyon yöntemi, çözgen tipi, analiz koşulları ve kullanılan standart birimleri farklılık gösterebilmektedir. Örneğin Suleria vd.[24] 2.0±0.5 g nar kabuğu örneklerini 20 mL %70 etanol ile ekstrakte ederek ABTS testi uygulamış ve antioksidan aktiviteyi 3.34±0.09 mg AAE/g olarak bulunmuştur.

Yan vd. (2017) yapmış olduğu çalışmada ise altı farklı nar çeşidi (Bolicui (SD-BLC), 00Damaya (SD-DMY), Qingpi (SD-QP, Kashgar Suan (XJ-KS), Hotan CeLe1# (XJ-HT), and Piyaman (XJ-PYM)) %80 metanol-su çözeltisi ile ekstrakte edilerek ABTS analizi için antioksidan değerlerine bakılmıştır [26]. Belirtilen farklı nar örneklerinde sırasıyla 422.8±0.7 mg TEAC g⁻¹, 805.9±32.5 mg TEAC g⁻¹, 1105.1±27.6 mg TEAC g⁻¹, 760.8±10.7 mg TEAC g⁻¹, 720.8±30.2 mg TEAC g⁻¹, 579.1±37.6 mg TEAC g⁻¹ antioksidan aktivite değerleri bulunmuştur.

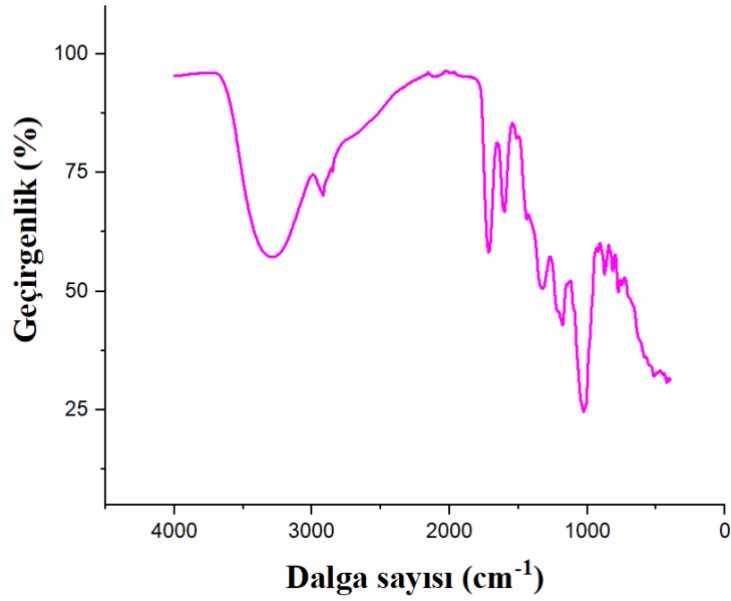
Elfalleh vd. (2012) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, hasat edilen nar örneklerinin kabukları ayrılmış, bu kabuklar güneşte kurutulduktan sonra toz haline getirilmiştir [27]. Daha sonra 10 g kabuk örneği,

30°C'de bir gece boyunca 100 mL metanol içinde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt, partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla Whatman No.1 filtre kağıdından süzölmüş ve ABTS radikal süpürme aktivitesi analiz edilmiştir. Metanol ekstraktında kabukların ABTS aktivitesi 7.50±0.83 TEAC mmol/100 g kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir.

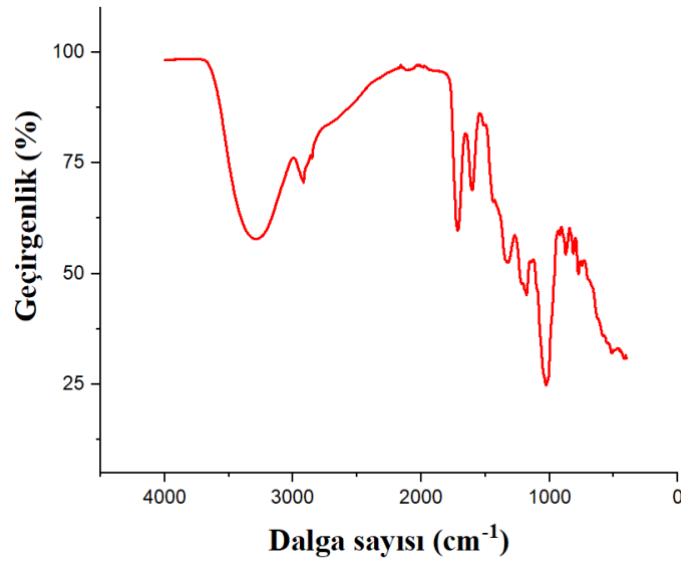
Tüm bu sonuçlara göre nar kabuğundaki antioksidan miktarının farklılığı çözgen madde, ekstraksiyon yöntemi ve nar çeşidi gibi parametrelere göre değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca nar kabuğunun antioksidan içeriğinin, çiçek, yaprak ve çekirdek gibi diğer nar bileşenlerine kıyasla daha yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Nar kabuğunun kontrol FTIR spektrumu (kırmızı kabuk) ile %100 gücünde ve 10 dakika UDE işlemiyle elde edilen ekstraktın FTIR spektrumu karşılaştırıldığında, her iki spektrumda da karakteristik bantların yer aldığı gözlemlenmiştir. FTIR spektrumuna ait şekiller, Şekil 4, Şekil 5, Şekil 6 ve Şekil 7'de görüldüğü gibidir. Kontrollere kıyasla ekstrakt spektrumunda belirli piklerin (örneğin 3293 cm⁻¹ ve 2917 cm⁻¹ gibi) yoğunluklarının arttığı veya kaymalar gösterdiği görülmektedir. Bu değişimler, UDE'nin yapısal değişimlere neden olduğunu ve bazı bileşiklerin (fenolikler veya diğer aktif bileşenler gibi) ekstrakte edildiğini gösterebilir. Özellikle hidroksil grupları ve karbonil grupları ile ilişkili bantlardaki (örneğin 1700-3300 cm⁻¹ aralığında) değişiklikler, ekstraktın biyolojik veya kimyasal özelliklerinde farklılıklar olduğuna işaret etmektedir. Bu sonuçlar, ekstraksiyon yönteminin nar kabuğu biyokimyasal yapısına etkisini vurgulamaktadır.



Şekil 4. Nar kabuğu dış kabuk kurutulmuş tozunda FTIR
Figure 4. FTIR on dried powder of pomegranate peel outer shell

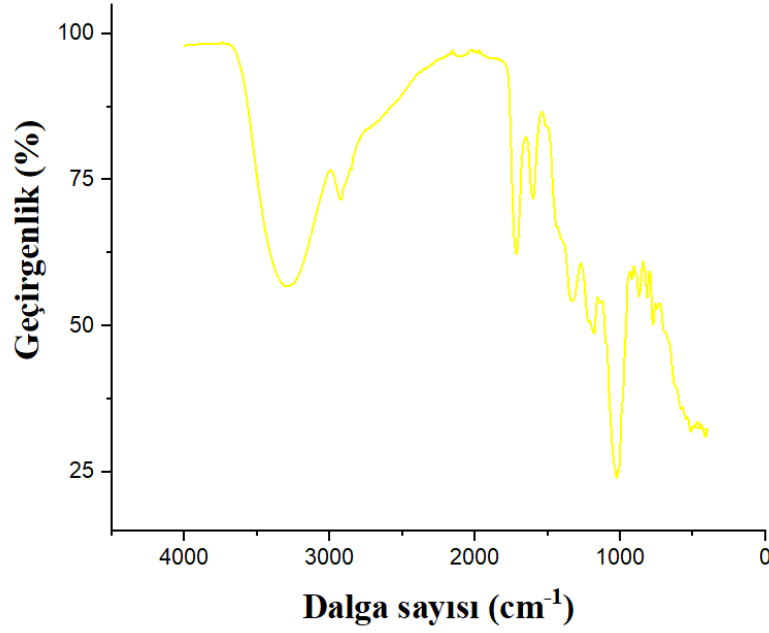


Şekil 5. Nar kabuğu dış kabuğunun kurutulmuş tozu, %100 güçte 10 dakika UDE sonucu elde edilen ekstraktta FTIR

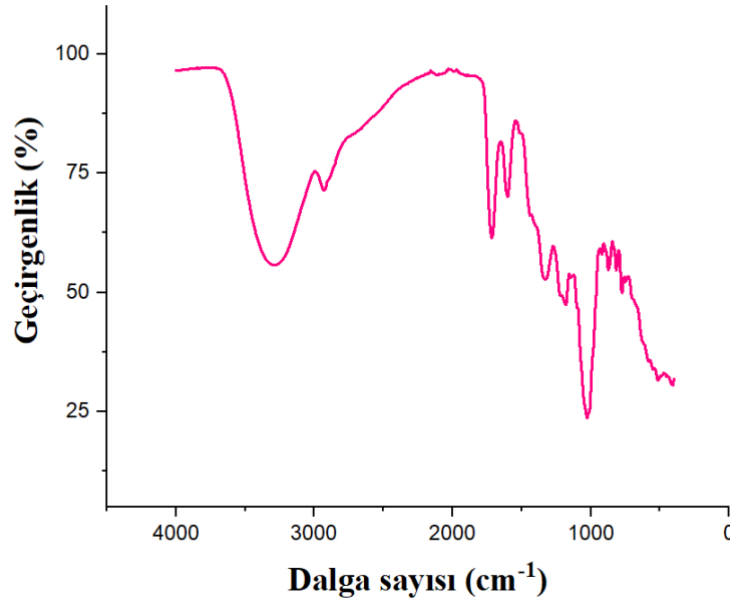
Figure 5. FTIR of dried powder of pomegranate peel outer peel, extract obtained by UDE at 100% power for 10 minutes

UDE ve kontrol örneklerinin FTIR spektrumları karşılaştırıldığında, her iki örnekte de 3293 cm^{-1} (kontrol) ve 3291 cm^{-1} (%100) civarında hidroksil gruplarına (O–H) ait geniş bir pik gözlemlenmiştir. Bu pikler, genellikle fenolik yapıların varlığını göstermektedir [28]. $2920\text{--}2932\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlemlenen bantlar, alifatik C–H gruplarının asimetrik gerilme titreşimlerine; 1715 cm^{-1} civarındaki bant ise karbonil (C=O) grubu titreşimlerine karşılık gelmekte ve ester, aldehit veya keton gruplarının varlığına işaret etmektedir [29]. UDE sonrası hidroksil

grupları ve 1328 cm^{-1} bölgesindeki polisakkaritlere işaret eden bantların yoğunluğunda azalma gözlemlenmiş, ancak pik konumlarında büyük kaymalar olmamıştır. Bu durum, fenolik bileşikler ve bazı polisakkaritlerin ekstrakte edildiğini, ultrasonik işlemin ise yapısal bütünlükte önemli bir değişiklik yaratmadan aktif bileşenlerin ayrışmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir [30, 31]. Bu bulgular, UDE'nin fenolik ve polisakkarit yapıların çözünmesinde etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 6. Nar kabuğu iç zarı kurutulmuş tozunda FTIR görüntüleri
Figure 6. FTIR images of dried powder of pomegranate peel inner membrane



Şekil 7. Nar kabuğu iç zarı kurutulmuş tozu, %100 güçte 10 dakika ultrasonik ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktta FTIR
Figure 7. FTIR of the dried powder of pomegranate peel inner membrane, extract obtained by ultrasonic extraction at 100% power for 10 minutes

Nar kabuğunun iç zarı ve dış kabuğunun FTIR spektrumları karşılaştırıldığında, her iki örnekte de benzer fonksiyonel gruplar tespit edilmiştir, ancak pik yoğunluklarında ve bazı bölgelerdeki belirginlikte farklılıklar gözlemlenmiştir. Nar kabuğunun iç zarı ve dış kabuğunun FTIR spektrumları karşılaştırıldığında, her iki örnekte de benzer fonksiyonel gruplar tespit edilmiştir. Ancak, 3293 cm^{-1} (iç zar) ve 3292 cm^{-1} (dış kabuk) bölgelerinde hidroksil gruplarını temsil eden geniş pikler

gözlemlenmiş, dış kabuğun bu pikinin daha yoğun ve belirgin olması, fenolik içerik veya nem açısından dış kabuğun daha zengin bir yapıya sahip olabileceğini göstermektedir [32]. Bununla birlikte, 11328 cm^{-1} ve 1026 cm^{-1} bölgelerinde gözlemlenen polisakkarit piklerinin iç zarda daha baskın olması, iç zarın selüloz veya diğer polisakkarit yapıların daha yoğun olduğu bir bölge olduğunu düşündürmektedir [33]. Genel olarak, dış kabuk fenolik içerik açısından daha zengin bir yapı sergilerken,

iç zarın daha yüksek polisakkarit içeriğine sahip olduğu söylenebilir. Bu farklılıklar, her iki bölgenin kimyasal ve biyolojik özelliklerinin farklı kullanım alanlarına uygun olabileceğini göstermektedir.

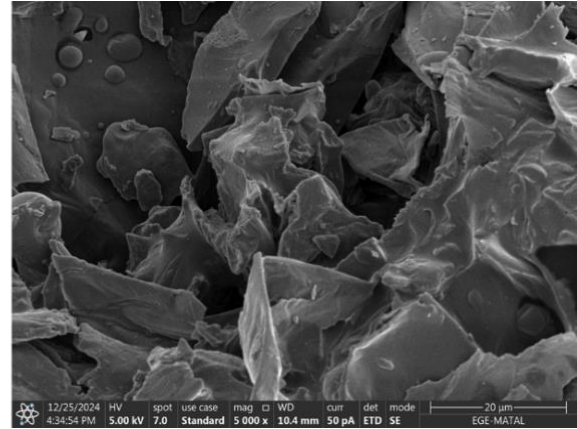
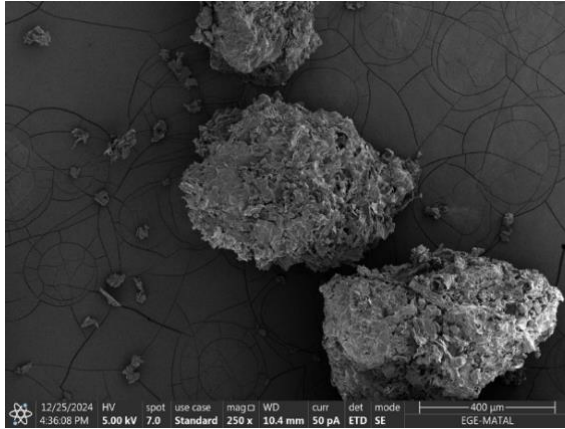
Safdar vd. [34] nar kabuğu FTIR spektrumlarında hidroksil (O-H), karbonil (C=O) ve alifatik C-H gruplarına ait piklerin 3300, 1700 ve 2900 cm^{-1} bölgelerinde yer aldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada da bu piklerin benzer şekilde tespit edilmesi, literatürdeki bulgularla uyum göstermektedir. Ayrıca, ekstrakt spektrumunda gözlenen pik yoğunluğu artışları ve kaymalar, literatürde bildirilen UDE'nin fenolik bileşen salınımını artırdığına dair sonuçları desteklemektedir. Dias [35] tarafından yapılan FTIR analizleri, nar kabuğunda farklı piklerde H-bağlı alkolik ve H-X grupları, eter, alkan, fenolik ve eter bileşiklerinin varlığını da kanıtlamıştır. Böylece nar kabuğunun kimyasal yapısının zengin bir fitokimyasal içerik barındırdığı ve çeşitli fonksiyonel grupların belirli dalga boylarında FTIR spektrumunda tespit edilebildiği görülmektedir. Ayrıca, bu bulgular, nar kabuğu ekstraktlarının fenolik bileşikler gibi aktif içerikleri izole etmek ve karakterize etmek için kullanılabilecek uygun bir kaynak olduğunu işaret etmektedir.

Kontrol ve ekstrakt örneklerinin FTIR spektrum sonuçları, Ben-Ali vd. [36] tarafından nar kabuğu ekstraktları üzerine raporlanan hidroksil, karbonil ve alifatik C-H gruplarına ait bantlarla uyumludur. Literatürde nar kabuğu ekstraktında tanen ve gallik asit türevlerine ait yeni bantların ortaya çıktığı belirtilmiştir. Benzer şekilde,

UDE ekstraktımızda bu bölgelerdeki yeni pikler, fenolik bileşiklerin ekstraksiyon sırasında salındığını göstermektedir. Bu sonuçlar, ekstraksiyon yöntemimizin biyoaktif bileşiklerin zenginleştirilmesindeki etkinliğini doğrulamaktadır.

Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi

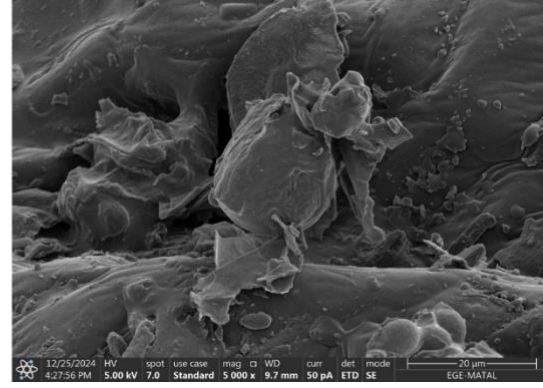
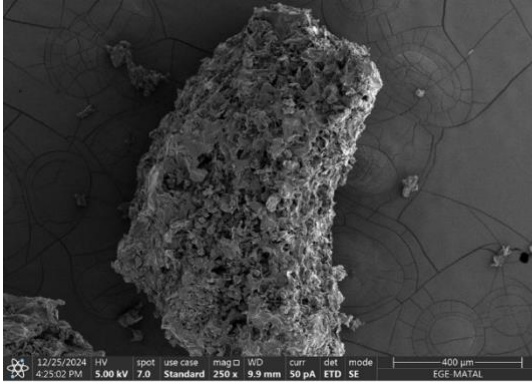
Kurutulmuş ve öğütülmüş nar kabuklarının yüzey morfolojisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Narın dış kabuğuna ait SEM görüntüleri Şekil 8'de sunulmuştur. Örneklerin sert ve dayanıklı yapısı belirgin şekilde gözlemlenmiş; yüzeylerinin oldukça pürüzlü, heterojen ve çok katmanlı bir morfolojiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu morfolojik özellikler, dış kabuğun lignoselülozik bileşenlerce zengin olabileceğini ve mekanik işlem sırasında daha büyük, düzensiz parçacıklara ayrılma eğilimi gösterdiğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Siddiqui ve ark. [37] çalışmalarında da nar kabuğunun selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi lignoselülozik bileşenler içerdiğini bildirmişlerdir. Nar kabuğunun dış yüzeyindeki pürüzlü ve heterojen yapısı, lignoselülozik bileşenlerin yoğunluğu ve mekanik işlem sırasında oluşan düzensiz parçalanma ile uyumlu olarak gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, yapılan bir çalışmada nar kabuğu ekstraktı eklenen filmlerde de pürüzlü bir yüzey ve süngerimsi bir yapı olduğu rapor edilmiştir [38]. Başka bir çalışmada da SEM altında nar kabuğu partiküllerinin düzensiz ve lifli bir görünüme sahip olduğu görülmüştür [39].



Şekil 8. Nar kabuğu dış kabuk kurutulmuş tozunda SEM görüntüleri
Figure 8. SEM images of dried powder of pomegranate peel outer Shell

Nar kabuğunun iç zarının SEM görüntüleri Şekil 9'da verilmiştir. Örneğin daha ince, katmanlı ve fibröz bir yapıya sahip olduğunu görülmektedir. Örneğin asimetrik formda ve çok sayıda gözeneğe sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum öğütme ile örnekte mekanik hasarın ve moleküller arası bağların kırılmasıyla düzenli bir yapıdan düzensiz bir yapıya dönüşmesinden kaynaklanabilir [40]. Nar kabuğunun vakum altında mikrodalga kullanılarak kurutulmuş bir çalışmada farklı mikrodalga güçleri ve vakum basınçlarının örneklerin

morfolojik özelliklerine etkileri incelenmiş ve elde edilen görüntülerde kurutulmuş nar kabuklarının çok sayıda asimetrik gözeneklere sahip olduğu bulunmuştur [41]. Yüzeyi nispeten homojen olup, düşük pürüzlülük sergilemektedir. Nar kabuğu iç zarının lifli ve pürüzlü yüzey morfolojisi, taşıyıcı ve emici bir materyal olarak kullanım potansiyelini desteklemektedir [42]. Jerome ve Dwivedi [43], nar kabuğunun düşük nemde kurutulmuş toz haline getirilebilmesinin, yüksek işlenebilirlik potansiyelini ortaya koyduğunu belirtmiştir.



Şekil 9. Nar kabuğu iç zarı kurutulmuş tozunda SEM görüntüleri
 Figure 9. SEM images of dried powder of pomegranate peel inner membrane

SONUÇ

Bu çalışma, nar kabuğundan biyoaktif bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemiyle başarılı bir şekilde elde edilmesini ve karakterizasyonunu sağlamıştır. Elde edilen sonuçlar, dış kabuğun fenolik bileşikler açısından daha zengin olduğunu (en yüksek 58.73 ± 0.79 mg GAE/g KM, %100 güç, 10 dakika) ve iç zarın ise polisakkarit içeriğinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. UDE uygulamasında, nar kabuğu dış kabuğunda en yüksek antioksidan kapasite 3177.75 ± 6.06 ppm TEAC/g KM değerine %100 güç ve 20 dakika kombinasyonunda ulaşılmıştır. İç zar örneklerinde ise en yüksek fenolik madde içeriği 7.31 ± 0.03 mg GAE/g KM ile %100 güç ve 10 dakika sürede elde edilmiştir. FTIR ve SEM analizleri, ultrasonik işlemin nar kabuğunun yapısal bütünlüğünü korurken aktif bileşenlerin salınımını kolaylaştırdığını göstermiştir. Bu bulgular, nar kabuklarının sıfır atık yaklaşımıyla değerlendirilmesi ve gıda ile ilaç endüstrilerinde katma değerli ürünlerin geliştirilmesi açısından önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (No FM-YLT-2022-24030).

KAYNAKLAR

- [1] Qu, W., Pan, Z., Ma, H. (2010). Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering*, 99(1), 16-23.
- [2] Caruso, A., Barbarossa, A., Tassone, A., Ceramella, J., Carocci, A., Catalano, A., Basile, G., Fazio, A., Iacopetta, D., Franchini, C., Sinicropi, M.S. (2020). Pomegranate: Nutraceutical with promising benefits on human health. *Applied Sciences*, 10(19), 6915.
- [3] Akhtar, S., Ismail, T., Fraternali, D., Sestili, P. (2015). Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food Chemistry*, 174, 417-425.
- [4] Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., Ramaswamy, H.S. (2019). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from

- pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *LWT-Food Science and Technology*, 101, 342-350.
- [5] Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., Güngör, H. (2019). Nar kabuğundan antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu. *Gıda*, 44(2), 369-382.
- [6] Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- [7] Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254-260.
- [8] Ghafoor, K., Park, J., Choi, Y.H. (2010). Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(3), 485-490.
- [9] Mason, T.J., Chemat, F., Vinatoru, M. (2011). The extraction of natural products using ultrasound or microwaves. *Current Organic Chemistry*, 15(2), 237-247.
- [10] Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G.G., McHugh, T.H. (2012). Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(2), 365-372.
- [11] Kaderides, K., Goula, A.M., Adamopoulos, K.G. (2015). A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 31, 204-215.
- [12] Vilku, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 161-169.
- [13] Mphahlele, R.R., Fawole, O.A., Makunga, N.P., Opara, U. L. (2016). Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and

- antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC complementary and alternative medicine*, 16, 1-12.
- [14] Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemist. *Gaithersburg*: 2005.
- [15] Singleton, V.L. (1999). Lamuela-Raventos: Analysis of total phenoles and other oxidation substartes and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152.
- [16] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [17] Al-Rawahi, A.S., Rahman, M.S., Guizani, N., Essa, M.M. (2013). Chemical composition, water sorption isotherm, and phenolic contents in fresh and dried pomegranate peels. *Drying Technology*, 31(3), 257-263.
- [18] Chen, X.D., Mujumdar, A.S. (Eds.) (2009). Drying technologies in food processing. *John Wiley & Sons*.
- [19] Galaz, P., Valdenegro, M., Ramírez, C., Nuñez, H., Almonacid, S., Simpson, R. (2017). Effect of drum drying temperature on drying kinetic and polyphenol contents in pomegranate peel. *Journal of Food Engineering*, 208, 19-27.
- [20] Derakhshan, Z., Ferrante, M., Tadi, M., Ansari, F., Heydari, A., Hosseini, M. S., Sadrabad, E. K. (2018). Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food and Chemical Toxicology*, 114, 108-111.
- [21] El-Hamamsy, S.M.A., El-Khamissi, H.A.Z. (2020). Phytochemicals, antioxidant activity and identification of phenolic compounds by HPLC of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 11(4), 79-84.
- [22] Campos, L., Seixas, L., Henriques, M.H., Peres, A. M., Veloso, A.C. (2022). Pomegranate Peels and Seeds as a Source of Phenolic Compounds: Effect of Cultivar, By-Product, and Extraction Solvent. *International Journal of Food Science*, 2022(1), 9189575.
- [23] Suleria, H.A., Barrow, C.J., Dunshea, F.R. (2020). Screening and characterization of phenolic compounds and their antioxidant capacity in different fruit peels. *Foods*, 9(9), 1206.
- [24] Derakhshan, Z., Ferrante, M., Tadi, M., Ansari, F., Heydari, A., Hosseini, M.S., Conti, G.O., Sadrabad, E. K. (2018). Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food and Chemical Toxicology*, 114, 108-111.
- [25] Yan, L., Zhou, X., Shi, L., Shalimu, D., Ma, C., Liu, Y. (2017). Phenolic profiles and antioxidant activities of six Chinese pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *International journal of food properties*, 20(sup1), S94-S107.
- [26] Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., Ferchichi, A. (2012). Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(32), 4724-4730.
- [27] Safdar, M., Naqvi, S.A., Anjum, F., Pasha, I., Shahid, M., Waliullah, Jaskani, M.J., Khan, I.A., Aadil, R.M. (2021). Microbial biofilm inhibition, antioxidants, and chemical fingerprints of Afghani pomegranate peel extract documented by gas chromatography-mass spectrometry and Fourier transformation infrared. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(7), e15657.
- [28] Heredia-Guerrero, J.A., Benítez, J.J., Domínguez, E., Bayer, I.S., Cingolani, R., Athanassiou, A., Heredia, A. (2014). Infrared and Raman spectroscopic features of plant cuticles: a review. *Frontiers in Plant Science*, 5, 305.
- [29] Hu, Y., Qian, W., Fan, S., Yang, Y., Liao, H., Zhuang, G., Gao, S. (2024). Ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Lonicera similis* flowers at three harvest periods: Comparison of composition, characterization, and antioxidant activity. *Molecules*, 29(14), 3280.
- [30] Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., Dasari, M.R., Lightfoot, D.A. (2016). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *Plos One*, 11(2), e0148758.
- [31] Soltanzadeh, M., Peighambaroust, S.H., Ghanbarzadeh, B., Mohammadi, M., Lorenzo, J.M. (2021). Chitosan nanoparticles as a promising nanomaterial for encapsulation of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extract as a natural source of antioxidants. *Nanomaterials*, 11(6), 1439.
- [32] Jabrail, F.H., Hameed, A. R., Majdoub, H. (2023). Effects of Surface Morphology and Type of Cross-linking of Chitosan-Pectin Microspheres on their Degree of Swelling and Favipiravir Release Behavior.
- [33] Safdar, M., Naqvi, S.A., Anjum, F., Pasha, I., Shahid, M., Waliullah, Jaskani, M.J., Khan, I.A., Aadil, R.M. (2021). Microbial biofilm inhibition, antioxidants, and chemical fingerprints of Afghani pomegranate peel extract documented by gas chromatography-mass spectrometry and Fourier transformation infrared. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(7), e15657.
- [34] Dias, R.F. (2005). Spectroscopy: How do we know what organic molecules look like. *Organic Chemistry (CHEM311)* fall, 48-58.
- [35] Ben-Ali, S., Akermi, A., Mabrouk, M., Ouederni, A. (2018). Optimization of extraction process and chemical characterization of pomegranate peel extract. *Chemical Papers*, 72(8), 2087-2100.
- [36] Siddiqui, V.U., Almhajani, T.M., Sapuan, S.M., Jamal, T., Ilyas, R. A., Eldin, S.M., Khan, A., Jameel, Y. (2024). Isolation and characterization of cellulose from pomegranate (*Punica granatum*) peel. *Journal of Natural Fibers*, 21(1), 2299943.
- [37] Emam-Djomeh, Z., Moghaddam, A., Yasini Ardakani, S.A. (2015). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extract, physical, mechanical, barrier and antimicrobial properties of pomegranate peel extract-incorporated sodium caseinate film and application in packaging for ground beef. *Packaging Technology and Science*, 28(10), 869-881.
- [38] Ali, A., Chen, Y., Liu, H., Yu, L., Baloch, Z., Khalid, S., Zhu, J., Chen, L. (2019). Starch-based

- antimicrobial films functionalized by pomegranate peel. *International journal of biological macromolecules*, 129, 1120-1126. Zhong, C., Zu, Y., Zhao, X., Li, Y., Ge, Y., Wu, W., Zhang, Y., Li, Y., Guo, D. (2016). Effect of superfine grinding on physicochemical and antioxidant properties of pomegranate peel. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(1), 212-221.
- [39] Elnjikkal Jerome, R., Dwivedi, M. (2022). Microwave vacuum drying of pomegranate peel: Evaluation of specific energy consumption and quality attributes by response surface methodology and artificial neural network. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), e16325.
- [40] Ali, A., Chen, Y., Liu, H., Yu, L., Baloch, Z., Khalid, S., Zhu, J., Chen, L. (2019). Starch-based antimicrobial films functionalized by pomegranate peel. *International journal of biological macromolecules*, 129, 1120-1126.
- [41] Elnjikkal Jerome, R., Dwivedi, M. (2022). Microwave vacuum drying of pomegranate peel: Evaluation of specific energy consumption and quality attributes by response surface methodology and artificial neural network. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), e16325.
-