

***Punica granatum* L. Çekirdek ve Kabuk Ekstrelerinin Antioksidan Aktiviteleri**

Hülya DEMİR*

Gazi Üniversitesi, Atatürk Meslek Yüksekokulu, Kimya Bölümü, ANKARA

Özet: Bu çalışmada, *Punica granatum* L.(Punicaceae) "Nar", meyve çekirdeği ile kabuk ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri araştırıldı. *Punica granatum* L. çekirdek ve kabuğunun metanol ve hekzan ekstralarında serbest radikal giderme aktivite, indirgenme gücü analizleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar standart antioksidan olarak bilinen askorbik asit ile karşılaştırıldı. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre antioksidan aktivite Askorbik asit> *Punica granatum* L. kabuğu> *Punica granatum* L. çekirdeği olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *Punica granatum*, Antioksidan, DPPH, Askorbik asit

Antioxidant Activity of *Punica granatum* L. Seed and Peel Extracts

Abstract: In this study, antioxidant activities of both fruit seed and fruit peels extracts from *Punica granatum* L.(Punicaceae) were investigated. Free radical scavenging activity, reducing power were analyzed in the metanol and hexan extracts of *Punica Granatum* L. seed and peel. The results compared with ascorbic acid as known antioxidant standard. According to obtained results antioxidant activities were determined ; Ascorbic acid >*Punica granatum* L. peel > *Punica granatum* L seed.

Key words: *Punica granatum*, Antioxidant, DPPH, Ascorbic acid

* E-mail: hdemir40@gmail.com

Giriş

Serbest radikaller, atom veya molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron içeren reaktif kimyasal ürünlerdir. Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir [1]. Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Hayatımızın vazgeçilmez bileşeni olan oksijen gazının da bir diradikal olması aerobik canlılar için dezavantajdır. Bu nedenle aerobik canlılarda biyolojik sistem oksidasyona doğru giderken, oksidasyon önleyici veya geciktirici sistemler oksidasyonu durdurma veya yavaşlatma yönünde hareket ederek daimi bir denge oluşturmuşlardır. Besinler ambalajlama ile oksijenden uzak tutulmakta ya da antioksidantlar ile oksidasyondan korunmaya çalışılmaktadırlar. Özellikle de yağ içeren ürünler karşısındakine göre indirgenme potansiyeli düşük bir başka deyişle yükseltgenme potansiyeli yüksek atom ve moleküller için oksidasyon, önleyici sistemlerin yokluğunda, kaçınılmaz bir sonudur [2].

Serbest radikallerin DNA da neden olduğu oksidatif hasarlar aerobik hücrelerde en çok rastlanan hasar türüdür. Oksidatif DNA hasarı DNA'da baz ve şeker lezyonları ve ipliklerinin de kırılmasını kapsayan bir çok modifikasyon yapar [3].

Doğal kaynaklı antioksidanlar tahıl ve baklagillerde, meyvelerde, şifalı bitkilerde ve bitki kaynaklı içeceklerde bulunurlar [4,5]. Bunlarda bulunan antioksidantlar, fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler), azotlu bileşikler (alkaloidler, klorofil türevleri, proteinler, aminler), polifonksiyonlu organik asitler ve karotenlerdir [2,5-7]. Son yıllarda yapılan çalışmalar, antioksidan aktivite gösteren maddelerin oksidatif stresten dolayı meydana gelen katarakt, kanser, kalp-damar rahatsızlıkları, nörolojik rahatsızlıklar gibi hastalıkların önlenmesinde önemli rolü olduğu ortaya çıkarmıştır [4,8-11].

Günümüzde bitkiler ve bitkisel ilaç hammaddeleri tedavide kullanılan ilaçların büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Son yıllarda artan hastalıklara karşı sentetik yapıllı ilaçların ve terapotik maddelerin yetersiz kalması ve yan etkilerinin saptanması doğal ürünlerin kullanılma zorunluluğunu artırmıştır. Bu amaçla bitki kimyasalı, mikrobiyolojik ve farmakolojik yönlerden hatta biyolojik savaşın gündemde olduğu son yıllarda bitki savunma mekanizması bakımından da çok yönlü araştırılmaktadır [12,13].

Nar tarihte tarımı yapılan en eski meyve türlerinden birisidir. Birçok medeniyette doğurganlık, sağlık, bereket ve zenginliğin sembolü olmuştur. Narın anavatanı İran'dır, İran'dan Hindistan'ın kuzeyine (Himalayalar) kadar bir merkezden dünyaya yayılmıştır. Taze veya kurutulmuş nar meyvası kabuğu ile kullanılan mordana bağlı olarak, yün iplikler sarı, esmer sarı veya siyaha boyanmaktadır. Çiçeklerinden de boyar madde olarak yararlanılmaktadır [14]. Nar kabuğu (*Cortex Granati fructuum*) *Punica Granatum L.* türünün meyve kabuğudur.

Taze veya kurutulmuş olarak kullanılır. Nar meyvası kabuğu tanen ve triterpenler bakımından zengindir [15]. Çok düşük oranda alkaloid (pelletierin ve diğerleri) de taşımaktadır. Vitamin C, A ve E' ye ilaveten antioksidan aktivite gösteren en önemli doğal bileşikler, değişik miktar ve oranlarda tahıl, meyve ve sebzelerde bulunan karotenoidler, flavonoidler ve diğer basit fenolik bileşiklerdir [9,16,17]. Bu nedenle, besin maddelerinde özellikle taze meyve ve sebzelerde antioksidan aktivite belirlenmesi önem kazanmaktadır.

Yapılan araştırmada, *Punica granatum*'un çekirdek ve kabuğunun antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için; meyvelerin metanol ve hekzan ekstraktları kullanılarak serbest radikal giderme aktivite ve indirgenme gücü tayini yapıldı. Elde edilen sonuçlar, standart antioksidan olarak bilinen askorbik asit ile karşılaştırıldı.

Materyal ve Metot

Ekstraksiyon

Punica granatum meyva örneklerinin çekirdek ve kabukları ayıklanıp, parçalandıktan sonra 30 g tartıldı. Meyve kabukları metanol ile meyve çekirdekleri hekzen ile ayrı ayrı sokslet apareyinde

6–8 saat süre ile ekstraksiyon yapıldı. Ekstreler Whatman 1 filtre kâğıdından süzöldükten sonra, 40°C 'de döner buharlaştırıcıda çözücöden uzaklaştırıldı. Ekstreler +4°C'de buzdolabında saklandı.

Antioksidan aktivite ölçömlerinde, çözücöcünün 20 ml'sinde kuru ekstratın 20 mg mı çözülererek hazırlandı. Etanol çözücü olarak kullanıldı. Her bir ölçüm üç kere tekrarlandı.

İndirgeme gücü tayini

İndirgeme aktivitesi Oyaizu metoduna göre yapıldı [18]. Çözücöcünün 1 ml sindeki kuru ekstrat (50-500µg), fosfat tamponunun (0,2M, pH 6,6) 2.5 ml si ve potasyum ferrisiyanidin ($K_3Fe(CN)_6$; 10 gl^{-1}) 2.5 ml si ile karıştırıldı. Karışım 50°C de 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra karışıma 2.5ml trikloroasetikasit (100gl^{-1}) ilave edildi.1650xg de 10 dakika santrifüj edildi. Sonuçta, 2.5 ml supernatant 2.5ml distile su ve 0.5 ml $FeCl_3$ (1 gl^{-1}) ile karıştırıldı. Absorbans 700 nm de ölçöldü. Reaksiyon karışımının artan absorbansı indirgenme gücünün artışını gösterir.

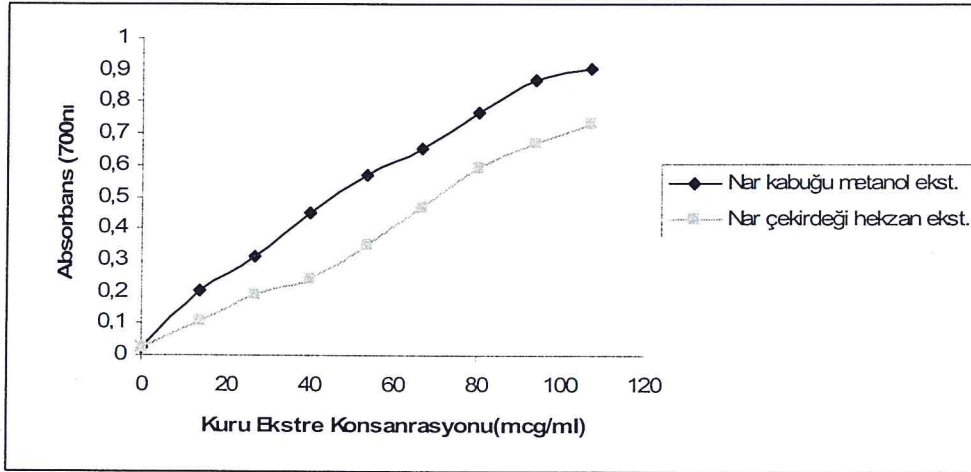
DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini

Ekstrelerin DPPH üzerindeki serbest radikal süpürücü etkileri Blois metoduna göre yapıldı [19] . Etanoldeki DPPH radikalinin 0.781 mM nın 1 ml si etanoldeki ekstrat solüsyonunun (50-400 µg) 3 ml si ile karıştırıldı.30 dakika sonra 517 nm de absorbans ölçöldü. Bu aktivite % DPPH radikal-giderici aktivite olarak aşğıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\% \text{ DPPH radikal giderici} = \frac{\text{Kontrol absorbansı} - \text{Ekstrat absorbansı}}{\text{Kontrol absorbansı}} \times 100$$

Sonuç ve Tartışma

Punica granatum L. (Punicaceae), meyve çekirdeğı ile kabuk ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini araştırmak için indirgeme gücü tayini ve serbest radikal süpürücü etki analizleri yapıldı. Çalışmada elde edilen analiz sonuçlarına göre ekstrat miktarı arttığında metanol ve hekzan ekstraktlarının indirgeme gücü artmaktadır (Şekil 1). Bu ekstraktların indirgeme gücü bilinen indirgeme standartı ile karşılaştırmak için 500 µg ekstraktların ve askorbik asitin indirgenme gücü (37.31µg/ml konsantrasyonda) ölçöldü.



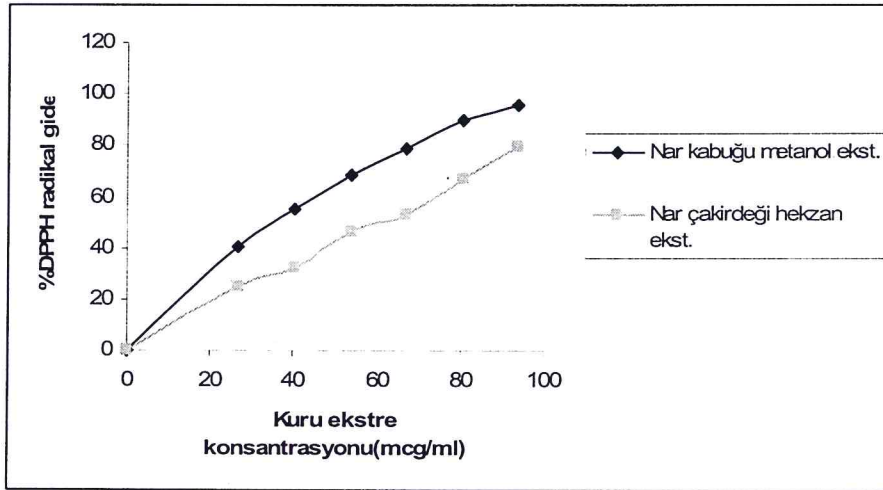
Şekil 1. *Punica granatum* L. 'nin Çekirdek ve Kabuğı Ekstraktlarının İndirgeme Gücü Karşılaştırması

Tablo 1 de göröldüğü gibi bütün ekstraktların indirgeme gücü askorbik asitin indirgeme gücünden daha düşüktür. Buna rağmen ekstraktların indirgeme gücü kontrolden daha yüksektir. Bileşenlerin indirgeme gücü onların elektron transfer yeteneğı ile ilgilidir ve bu yüzden potansiyel antioksidan aktivitenin önemli bir indikatörü olarak görev yapabilmektedir.

Tablo 1. Askorbik Asit ve *Punica granatum* L 'nin Çekirdek ve Kabuğu Ekstrelerinin İndirgeme Gücü Karşılaştırması

Örnek	Absorbans (700nm)
Kontrol	0,025±0,002
Ascorbic acid	3,625±0,003
Kabuk metanol ekstraktı	0,415±0,002
Çekirdek metanol ekstraktı	0,229±0,008

Metanol ve hekzan ekstralarının DPPH radikal-giderici aktiviteleri konsantrasyona bağlıdır. Metanol ve hekzan ekstresinin 26.81 µg/ml konsantrasyonunda radikal giderici aktivite nar çekirdeği için %25.32, nar kabuğu için %40.53; 93.84 µg/ml konsantrasyonunda nar çekirdeği için %79.25, nar kabuğu için %95.89 dir (Şekil 2).



Şekil 2. *Punica granatum* L 'nin Çekirdek ve Kabuğu Ekstrelerinin DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Karşılaştırması.

Çalışılan ekstre miktarı aralığında, her bir ekstrenin artan miktarıyla indirgeme gücünde artma gözlenmiştir. Bu ekstre miktarı arttıkça etken madde miktarının da aynı oranda artmasından kaynaklanmaktadır. İndirgeme gücünün mukayesesinde askorbik asit standart madde olarak kullanılmış ve aynı miktardaki ekstralardan çok daha yüksek bir indirgeme gücüne sahip olduğu görülmüştür. Ancak bu, ekstralardaki maddelerin de indirgeme gücünün askorbik asitten düşük olduğunu göstermez. Ekstrelerdeki her bir bileşiğin saf haliyle askorbik asitle mukayese edilmesi suretiyle onların indirgeme güçleri hakkında bilgi ortaya konabilir. DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlara baktığımızda ortamdaki serbest radikalleri süpürme yeteneğine sahip olduğunu görüyoruz. %DPPH radikal giderici etki ne kadar yüksek ise antioksidan aktivite o kadar etkilidir. Ekstrenin yüksek aktivitesi, ondaki birden fazla maddenin sinergist etkisinden dolayı olabilir. Nar, ellagitannin, ellagic acid, gallotannin delphinidin, cyanidin, pelargonidin glycoside, quercetin, kaempferd, luteolin, glycoside, punicalagin gibi içerdiği bileşenler ile güçlü bir antioksidan aktivite göstermektedir. Bu antioksidatif özellik nedeniyle antlaterojenik etkiye sahip olduğu belirtilmektedir [20].

Bu araştırmada bulunan sonuçlar, meyve kabuğu ve çekirdeği ekstralarının antioksidan özellik taşıdığını göstermektedir. Bu meyvenin kabuğu ve çekirdeğinin koruyucu hekimlik yönünden de tüketilmesinin yararlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca gelecekte yapılacak olan çalışmalarla bu meyvede bulunan ve antioksidan özellik gösteren maddeler de belirlenerek tıp, farmakoloji ve eczacılık alanlarında kullanılma yönlerinin araştırılmasının tıp ve ekonomik açıdan da yararlı olacağı kanaatindeyim.

Kaynaklar

1. Halliwell, B. 1991. **Drug Antioxidant Effects**. Drugs, 42 (4), 569–605.
2. Aruoma, O.I., Cuppett, S. L., 1997. **Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept**. AOCS Press, Champaign, Illinois, p 241.
3. Cook, N.C., Saman, S. 1996. **Flavonoids- Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, And Dietary Sources**. Nutr. Biochem.7, 66–76.
4. Frei, B. 1994. **Natural Antioxidants in Human Health and Disease**. Academic Press, San Diego.
5. Larson, R. A. 1988. **The Antioxidants of Higher Plants**. Pytochemistry, 27 (4), 969–978.
6. Endo, Y., Usuki, R. and Kareda, T., 1985. **Antioxidant Effects On Chlorophyll And Pheophytin On The Autoxidation Of Oils In The Dark II**. J. Am. Oil. Chem. Soc., 62 (9), 1387-90.
7. Hudson, B.J.F. 1990. **Food Antioxidants**. Elsevier Applied Science, London and New York, p 1–316.
8. Halliwell, B. 1996. **Antioxidants in human health and disease**. Ann. Rev. Nutr. 16, 33–50.
9. Mackerras, D. 1995. Antioxidants and health. Fruits and vegetables or supplements? Food Australia 47S, 3–23.
10. Riemersma, R.A. 1994. **Epidemiology and the role of antioxidants preventing coronary heart disease: a brief overview**. Proc. Nutr. Soc. 53, 59-65.
11. Schwartz, J.L. 1996. **The dual roles of nutrients as antioxidants and prooxidants: their effects on tumor cell growth**. J. Nutr. 126S, 1221–1227.
12. Di Mascio, P., Kaiser, S. and Sies, H. 1989. **Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher**. Arch. Biochem. Biophys. 274, 532–538.
13. Kalaycıoğlu, A., Öner, C. 1994. **Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimutajenik Etkilerinin Amest-Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması**. Tr. J. Of Botany,18, 117–122.
14. Baytop, T., 1999. **Türkiye de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün**. İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 550s,
15. Brieskorn, C.H., Keskin, M. 1954. **Über Das Vorkommen Von Trietpenen İnder Stammrinde Der Fruchtschale Und Blatt von *Punica granatum* L.** Pharm. Acta Helv. 29: 338s.
16. Dağcı, E.K., İzmirli M., Dığrak, M. 2002. **Kahramanmaraş İlinde Yetişen Bazı Ağaç Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması**. KSÜ Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 5, 1, 38-46.
17. Duell, P.B. 1996. **Prevention of atherosclerosis with dietary antioxidants: fact or fiction?** J. Nutr. 126S, 1067–1071.
18. Oyaizu, M. 1986. **Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine**. Japanese Journal of Nutrition, 44, 307–315.
19. Blois, M.S. 1958. **Antioxidant Determinations by The Use of A Stable Free Radical**. Nature, 26, 1199–1200.
20. Yakın, Y.S. 2007. **Neden Meyve Suyu? Meyve Suyu Endüstri Derneđi Bülteni**. 5, 3–4

