

Doğal Antioksidanların İpek Üzerine Adsorpsiyonu ile Fonksiyonel Gıda Olarak Kullanımı

Evren Altıok*, Deniz Bayçın, Özge Malay, Oğuz Bayraktar

İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Kimya Mühendisliği Bölümü, Urla, İzmir

* evrenaltiook@iyte.edu.tr

Özet

İpek proteini fibroin; yenilebilir, kolesterolü düşüren, bağışıklık sistemini güçlendiren, kan basıncını ayarlayan ve kas, beyin ve sinir sistemleri için önemli bir biyopolimerdir. Antioksidanlar ise serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonu geciktirebilen ya da engelleyebilen maddelerdir. Üzüm çekirdeğinde bulunan proanthocyanidin ve zeytin yaprağında bulunan oleuropein ve rutin antioksidan kapasiteleri yüksek maddelerdir.

Bu çalışmada fonksiyonel gıda üretimi için doğal antioksidanların ipek proteini üzerine adsorpsiyonu amaçlanmaktadır. Gram ipek proteini üzerine zeytin yaprağı özütünden toplam oleuropein ve rutin adsorpsiyonu 101.7 mg bulunmuştur. Üzüm çekirdeği özütünden ise toplam fenol olarak %85.2 proanthocyanidin tutunmuştur. Sağlık açısından faydalı aminoasitler içeren ipek proteini yüksek kapasiteli antioksidanlarla birleşimi ile fonksiyonel gıda ve gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: İpek proteini, adsorpsiyon, antioksidan, bitki ekstraları, ekstraksiyon

Giriş

Doğal bir polimer olan ipek proteini ipekböceğinde bulunan epitel hücreler tarafından biyosentezlenmektedir. Bu bezlerin lümenlerine salgılanan ipek proteinleri burada ipek protein liflerine dönüştürülmektedir (1). Eldesi en kolay ve en iyi karakterize edilmiş ipek evcil bir ipek böceği olan *Bombyx mori* tarafından üretilmektedir. *B. mori* tarafından sentezlenmiş olan ipek iki tip proteinden oluşmaktadır: serisin ve fibroin. Fibroin ipeğin yapısını oluşturan fibril yapıdaki proteindir ve saf ipeğin %70'ini oluşturmaktadır. Serisin ise suda çözünür yapışkanimsi bir protein olup fibroin liflerini çevreler ve birbirine bağlar (2). İpekten elde edilen biyo-uyumlu ve biyo-çözünür fibroin proteinin farklı formlarda malzemeler (toz, film, köpük, fiber, vb.) olarak hazırlanması ve bu malzemelerin biyoteknoloji ve biyomedikal alanlardaki kullanımı üzerine odaklanılmaktadır. Bir yandan da fibroin, kozmetik sektöründe yaygın olarak kullanılmakta ve farmakolojik ajan ve gıda katkı maddesi olarak kullanımı öngörülmektedir.

İpek proteini fibroin; yenilebilir, kolestrolü düşüren, bağışıklık sistemini güçlendiren, kan basıncını ayarlayan ve kas, beyin ve sinir sistemleri için önemli olan bir biyopolimerdir (3). İpek fibroinin yaklaşık olarak %6'sı elzem amino asitlerden oluşmaktadır ve alanin içeriği sayesinde kandaki glukoz seviyesini düşürdüğü ve glisin içeriği sayesinde de karaciğerdeki alkol mekanizması üzerinde iyileştirici etkileri olduğu gözlenmiştir (3).

Son yıllarda doğal kaynaklı antioksidanların kullanımı sentetiklere tercih edilmektedir. Proanthocyanidin, oleuropein ve rutin gibi üzüm çekirdeği ve zeytin yaprağında bulunan polifenoller yüksek antioksidan kapasiteleri ile dikkat çekmektedir. Bu maddeler; kalp hastalıkları, kanser, kolesterol, şeker hastalığı, yaşlanma ve katarakt gibi birçok hastalığa neden olan serbest radikalleri etkisizleştirmekte ya da serbest radikallerin etkilerini geciktirebilmektedirler (4).

İpek proteini (fibroin) ve oleuropein, rutin ve proanthocyanidin gibi polifenolik maddelerin hidrofobik yapıdadırlar (5). Bu çalışmada, antioksidatif, antimikrobiyel, antikarsinojenik ve antivirütik özelliklere sahip olan proanthocyanidin, oleuropein ve rutin gibi zeytin yaprağı ve üzüm çekirdeği polifenollerinin yenilebilir ipek proteini üzerine adsorplanması amaçlanmaktadır. Dolayısıyla sağlık açısından faydalı aminoasitler içeren ipek proteini yüksek kapasiteli antioksidanlarla birleşimi ile fonksiyonel gıda ve gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir.

Materyal ve Yöntem

Ekstraksiyon: Proanthocyanidin, oleuropein ve rutin katı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilmiştir. Üzüm çekirdekleri bütün olarak %30 aseton-su karışımı ile, zeytin yaprakları ise öğütülerek %70 etanol-su karışımı ile 250 rpm de ekstrakte edilmişlerdir. Optimum koşullarda uygulanan bu işlemler sonrasında solvent dönerli buharlaştırıcıda uzaklaştırılmış ve örnekler liyofilize edilerek toz ekstraktlar elde edilmiştir. Bu ekstraktlar adsorpsiyon için +4 °C de ışıktan uzak tutularak saklanmıştır.

Adsorpsiyon: Adsorpsiyon için iki farklı çalışma yapılmıştır.

Proanthocyanidin, pH' sı 2.5 ve 5.5' a ayarlanmış sitrik asit-fosfat tampon çözeltisinde başlangıç konsantrasyonları 10 ve 30 g/l olacak şekilde çözülerek adsorpsiyona tabii tutulmuştur. Adsorpsiyon işlemi kesikli sistemde 250 rpm de 30 °C de 2 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Adsorpsiyon işleminde katı sıvı oranı 0.025 g/ml ve 0.1 g/ml olarak belirlenmiştir. 2 saat sonunda alınan örneklerin toplam fenol tayinleri UV-görünür spektrofotometrede Folin-Ciocalteau metodu ile yapılmıştır. Sonuçlar deneysel tasarım ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Değerlendirmede iki seviyeli 2^3 faktöryel dizayn kullanılmış ve pH, başlangıç konsantrasyonu ve katı sıvı oranının adsorpsiyona etkileri tespit edilmiştir.

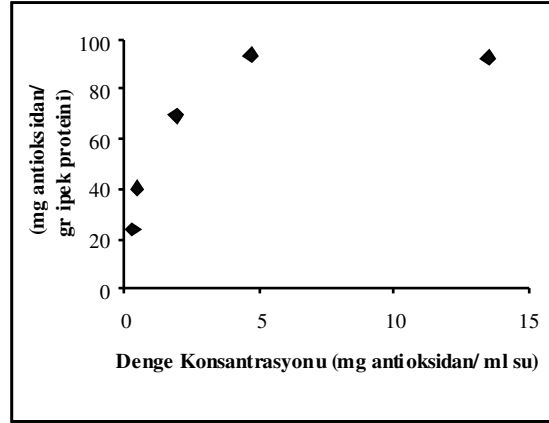
Zeytin yaprağı ekstresi, oleuropein ve rutin içermektedir. Zeytin yaprağı ekstresi başlangıç konsantrasyonu 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 g/ml olacak şekilde suda çözülmüştür. Daha sonra ise 250 rpm, 30°C'de katı sıvı oranı bire yirmi olarak 30 saat boyunca adsorpsiyon işlemine tabi tutulmuştur. Adsorpsiyon öncesi ve sonrası zeytin yaprağı ekstresinin HPLC analizleri yapılarak değişik fenol konsantrasyonlarındaki maksimum adsorplanan miktar gözlemlenmiş ve adsorpsiyon izotermi çıkarılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Proanthocyanidin ve zeytin yaprağı ekstresinin ipek üzerine adsorpsiyonu deneylerinden elde edilen sonuçlar toplam fenol analizi ve HPLC analizi ile değerlendirilmiştir.

Zeytin yaprağı ekstresi:

İpek üzerine tutunan toplam *oleuropein* ve *rutin* miktarını gösteren adsorpsiyon izotermi Şekil 1'de verilmektedir. İzoterm modeli Langmuir İzotermine uymaktadır. İpeğin oleuropein ve rutin adsorplama kapasitesi 101.7 mg oleuropein-rutin/g ipek proteini olarak hesaplanmıştır.

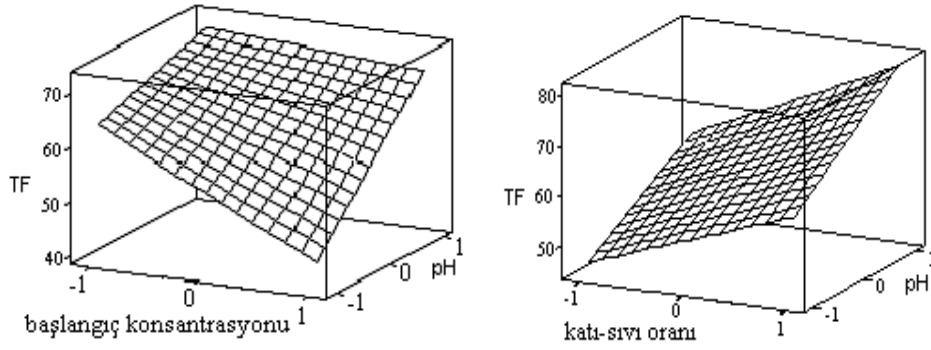


Şekil 1. İpek üzerine oleuropein ve rutin adsorpsiyonu

Proanthocyanidin ipek üzerine adsorpsiyonunda faktöryel dizaynda güven aralığı %99.5 olarak alınmıştır. İki tekrarlı yapılan denemelerde toplam fenol

miktarındaki azalma % adsorplanan değer olarak hesaplanarak parametrelerin önemi ortaya çıkarılmıştır.

İstatistiksel değerlendirmede varyans analizi sonucunda pH, başlangıç konsantrasyonu ve katı-sıvı oranının model denklemde önemli parametreler olduğu ($P<0.005$) tespit edilmiştir. Toplam fenolün (TF) istatistiksel yüzey analizi sonucunda Şekil 2' de görüldüğü üzere maksimum adsorpsiyon %85.2 olmak üzere pH 5.5, başlangıç konsantrasyonu 10 g/l ve katı sıvı oranı 0.1 g/ml iken sağlanmıştır.



Şekil 2. Toplam fenol sonuçlarının istatistiksel yüzey analizi

Sonuç

Antioksidan özellikli fenolik maddelerin ipek proteini üzerine tutunumu ile fonksiyonel gıda üretimi sağlanmıştır. Bu tür maddeler, gıdalarda katkı maddesi olarak gerek aminoasit içeriği gerekse de antioksidan ve antimikrobiyel özelliği açısından kullanılabilir.

Kaynaklar

1. Altman, G.H., Diaz, F., Jacuba, C., Calabro, T., Horan, R.L., Chen, J., Richmond, J., Kaplan D.L. 2003. "Silk-Based Biomaterials", *Biomaterials*, 24, pp.401-416.
2. Magoshi, J., Magoshi, Y., Becker, Nakamura, S. 1996. *Polymeric Materials Encyclopedia*, edited by J.C. Salamone, CRC Press, New York, p. 667.
3. Jidan L., Kaili C., Oing X., Kiyoshi H. 2003. Study on Foodization of Fibroin and Its Functionality, SilPRO Inc.
4. Garcia O. B., Castillo J., Lorente J., Del Rio J. A., 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves, *Food Chemistry*, 68: 457-462.
5. Tang H.R., Covington A. D., Hancock R. A. 2003. Structure- Activity Relationships in the Hydrophobic Interactions of Polyphenols with Cellulose and Collagen, *Biopolymers*, 70: 403-413.