

Dut Suyu Antosiyaninlerinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Belirlenmesi

Gökhan Özen*, Mehmet Akbulut

Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü 42049, Konya
*gokhanozen52@hotmail.com

Özet

Bu çalışmada karadut meyvesinin preslenmesi ile elde edilen, işlenmemiş haldeki ham karadut suyunda bulunan antosiyanin miktarına ve dağılımına bakılarak karadut suyunun doğal bir renk maddesi olarak kullanım potansiyelinin olup olmadığı hakkında bir sonuca ulaşmaya çalışılmıştır. Bu amaçla kullanılan ham karadut suyu örneği, Gaziantep bölgesinden elde edilen karadut meyvelerinin laboratuarda preslenip filtre edilmesiyle elde edilmiştir. Elde edilen karadut suyu örnekleri hiçbir ısıtma işlemine tabi tutulmamıştır. Analiz sonunda dut suyunda belirlenebilen 3 çeşit antosiyanin bulunmuştur. Bunlar siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozit ve pelargonidin-3-glukozit'tir. Araştırma sonucunda toplam antosiyanin miktarı $231,26 \pm 21.75$ mg/L bulunmuştur. Tanımlanabilen pikler bazında ise siyanidin-3-glikozit miktarı $139,72 \pm 11.35$ mg/L, siyanidin-3-rutinozit miktarı 79.18 ± 11.37 mg/L ve pelargonidin-3-glikozit miktarı ise 12.37 ± 0.25 mg/L bulunmuştur. Karadut suyundaki baskın antosiyaninin siyanidin-3-glikozit olduğu görülmüştür. Ayrıca renk ölçütleri olan L, a ve b değerleri de belirlenmiştir. Analiz sonuçlarının değerlendirilmesi ile dut suyu antosiyanin içeriğinin oldukça zengin olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Karadut suyu, Antosiyanin, HPLC

Giriş

Bir gıdanın tüketici üzerinde olumlu bir etki bırakıp bırakmadığının ilk parametresi ürünün rengidir. Renk ürünün yanı sıra hammadde hakkında da tüketicilere fikir verebilir. Doğal renklendiriciler içinde yer alan antosiyaninler, birçok meyve ve sebzenin pembeden mora kadar değişen renklerini veren doğal pigmentlerdir. Antosiyaninler, gıdaların parlak kırmızı rengini sağlayan, bilinen en iyi doğal gıda boyalarıdır ve birçok gıdanın boyanmasında sentetik boyalara karşı önemli bir alternatif olarak kabul edilmektedirler(1). Bu pigmentlerin stabiliteyi çevresel faktörler ile pH, sıcaklık, oksijen, enzimler ve kondenzasyon reaksiyonları gibi proses faktörleri tarafından etkilenir. Stabiliteyi zayıf olması nedeniyle gıda renklendiricileri olarak yaygın şekilde kullanılamamaktadırlar. Ancak poliaçillenmiş olanlar ve kopigment türleri gibi antosiyaninlerin yapısal çeşitlerinin stabilitesinin iyi olduğu ve stabil doğal boyalar olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Açılasyon, moleküller arası ko-pigmentasyon yoluyla, antosiyanin

üzerinde stabilize edici bir etkiye sahiptir(2). Antosiyanin preparatları gıdaların ve farmasötiklerin renklendirilmesinde yüksek boyama güçleri ve yüksek kalitede ürün oluşumunu sağlamaları nedenleriyle boyar maddeler olarak kullanılmaktadırlar. Kullanımları için yeni kaynaklar ve stabil yapısal çeşitler ile prosesler ve gıdaların modifikasyonları daha saf ve stabil preparasyonların oluşumuna gidilmiştir(3). Antosiyaninlerinin suda çözünebilme özellikleri, sulu gıda sistemlerine katılmalarını kolaylaştırmaktadır. Antosiyanin ekstraktlarının gıdalara yalnızca çekici renk özellikleri kazandırmadığı, aynı zamanda yüksek antiradikal kapasiteleri nedeniyle, eklendikleri gıdaların oksidatif stabiliteelerini de artırdığı belirlenmiştir(4). Antosiyaninler bilinen en iyi doğal gıda boyaları olmalarına rağmen saflaştırılmalarında yaşanan güçlükler ve kimyasal açıdan yapılarının kararlı olmaması kullanımını zorlaştırmakta ve yaygınlaşmasını engellemektedir.

Materyal ve Yöntem

Bu araştırmada kullanılan karadut suyu örneği Gaziantep yöresinden elde edilen karadut meyvelerinin laboratuarda preslenip filtre edilmesiyle elde edilmiştir.

Antosiyaninlerin HPLC ile Analizi: Dut suyundaki antosiyanin analizinde Agilent 1200 marka HPLC aygıtı kullanılmıştır. Antosiyaninlerin belirlenmesi 520 nm'de UV-VIS dedektörde gerçekleştirilmiştir. Bu analizde Phenomenex marka C-18 kolon kullanılmıştır. Antosiyanin teşhisinde gradient çözelti kullanılmıştır. Bu amaçla solvent A (su: asetik asit: o-fosforik asit: asetonitril) (84:5:1:10 v/v/v/v) karışımı solvent B olarak %100 Asetonitril kullanılmıştır.

Antosiyaninlerin Ekstraksiyonu: Örneğin ekstraksiyon aşaması Cemeroğlu (2007)'ye göre yapılmış ve saflaştırma aşaması için gerekli olan ekstrakt elde edilmiştir. Örnek homojenize edildikten sonra solvent ile yıkanarak alınmış ve faz ayrılmasının sağlanması için buzdolabında bir gece bekletilmiştir. Heidolph 2 marka rotary evaporatör de 30 dakika süreyle vakum altında uçurulmuş ve ekstrakt elde edilmiştir.

Antosiyaninlerin Saflaştırılması: Saflaştırma aşaması Anonymous (5) yararlanılarak yapılmış, 0.45 µM millipore filtreden filtre edilerek ekstrakt analize hazır hale getirilmiş ve HPLC'ye verilmiştir. Örnek Waters marka Sep-pak kartuşa yüklenmiş ve vakum altında diğer fenolik maddeler kartuşa tutundurulduktan sonra saf antosiyanin ekstraktı elde edilerek analize hazır hale getirilmiştir.

Araştırma Bulguları

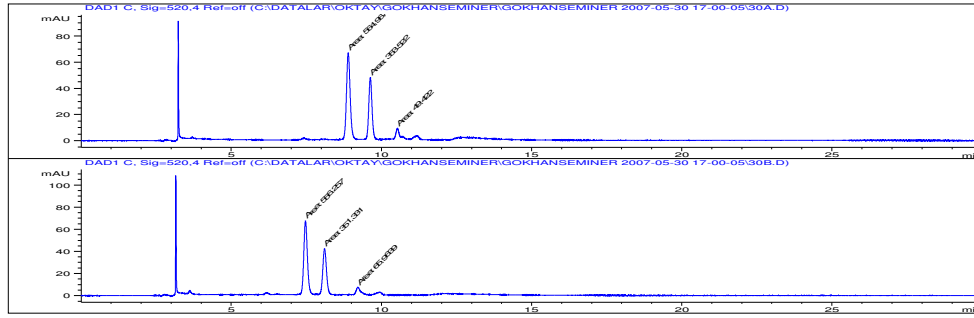
Bu analiz sonucunda diğer üzümü meyveler ailesine ve diğer türlere göre dut suyu antosiyanin miktarının tanımlanabilen türler bakımından oldukça zengin

olduğu diğer yapılan araştırmalarla kıyaslandığında açıkça gözükmektedir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Dut suyu antosiyaninlerinin kompozisyonu (mg/L)

Antosiyanin	Cy -3-glu.	Cy -3-rut.	Pg -3-glu.	Toplam mg/L
Örnek 1	151.07	90.54	12.39	253.99
Örnek 2	128.37	67.81	12.34	208.52
Ortalama	139.72	79.18	12.37	231.26
S. Sapma	11.35	11.37	0.25	21.75

Sonuç olarak, HPLC ile dut suyu antosiyaninlerin belirlenmesi ile dut suyunda siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-rutinozid ve pelargonidin-3-glikozit belirlenmiş ve dut suyundaki baskın antosiyaninin ise Siyanidin-3-glukozit olduğu görülmüştür (Şekil 1)



Şekil 1. Dut suyu antosiyaninleri ve pik alanları

Dut Suyu Renk Değerleri: Dut suyu örneği Minolta (Japonya) model renk cihazında renk ölçümleri yapılmış ve tablodaki veriler elde edilmiştir. Kolorimetre ile L (100: beyaz, 0: siyah), a (+: kırmızı, -: yeşil) ve b (+: sarı, -: mavi) değerleri ölçülerek belirlenmiştir.

Çizelge 2. Dut suyunda belirlenen reflektans renk ölçütleri

Karadut Suyu	Renk Ölçütleri				
	L*	a*	b*	C*	H
Örnek 1	3.56	22.58	5.95	23.35	14.95
Örnek 2	3.44	21.85	5.83	22.61	14.75
Ortalama	3.50	22.22	5.89	22.98	14.85
S. Sapma	0.086	0.5204	0.0816	0.5239	0.1357

Genel Sonuç ve Öneriler

Karadut meyvesinde fazla miktarda antosiyanin bulunduğunu ve bu antosiyaninlerin de Siyanidin-3-glukozit ve Siyanidin-3-rutinozit olduğunu belirlemişlerdir(6). Bu çalışmada da karadut suyunun antosiyanin içeriğine baktığımızda baskın olanın siyanidin-3-glikozit olduğu diğerinin siyanidin-3-rutinozit olduğu görülmüştür. Karadut meyvesinden pürifikasyon öncesinde belirlenen toplam antosiyanin içeriğinin 384 mg/L olduğu bulunmuştur(7). Bu değer bizim sonuçlarımızı ve çalışmamızı desteklemektedir.

Ülkemizde de bol miktarda yetiştirilen karadut ve bundan elde edilen karadut suyu antosiyanince zengin ve değerlendirebilir bir doğal renk kaynağı olabilir. Bu ürünün zengin antosiyanin içeriğinden faydalanılarak yapay renklendirici kullanımı azaltılabilir. Özellikle karadut suyunun dayanım koşullarına uygun olan ürünlerde renk maddesi olarak kullanım uygulamaları geliştirilerek bu ürünlerin doğala yakınlığı artırılabilir. Karadut meyvesi renk maddesi olarak kullanılabilceği gibi hali hazırda Türk mutfak kültürünün önemli bir ürünüdür. Bu ürün içerdiği besin öğelerince oldukça zengin bir üründür. Ayrıca yapınla araştırmalar siyanidin-3-glikozit içeren ürünlerin türevlerine ve E vitaminine oranla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir(8).

Kaynaklar

- 1.Giusti MM, Wrolstad RE. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochem. Eng. J.* 14; 217–225
- 2.Broillard R, 1982. *Anthocyanins as Food Colors*, Academic Press, New York.
3. Jackman RL, Smith J.L. 1996. *Natural Food Colorants* (2nd ed.) Blackie Academic & Professional, Imprint of Chapman & Hall Wester Cleddens Road Glasgow pp.(244–310)
- 4.Espin JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ, Garcia-Viguera C. 2000. Anthocyanin-based natural colorants: a New source of antiradical activity for foodstuff. *J. Agric. Food. Chem.* 48; 1588–1592,
- 5.Anonymous. 1998. *Guide to solid phase extraction Supelco Bulletin 910*, pp 1–12, Bellefonte, U.S.A
- 6.Chen PN, Chu HL, Kuo WH, Chiong CL, Hsief YS, 2005. Mulberry Anthocyanins, Cyanidin-3-rutinoside and Cyanidin-3- glucoside, Exhibited and Inhibitory effect on The Migration and of a Human Long Cancer Cell Line. *Cancer Letters* 1–12.
- 7.Liu X, Xiao G ,Chen W, Xu Y, Wu J. 2004. Quantification and Purification of Mulberry Anthocyanins with Macroposus Resins. *J. Of Biomed. And Biotech.* 5; 326–331
8. Wang H, Cao G, Prior RL. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45; 304-309.