

VİŞNE SUYUNDA TOPLAM FENOLİK BİLEŞİKLERİN TAYİNİ

İLKE

Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler eğer bazik ortamda Folin & Ciocalteu reaktifi ile tepkimeye girerlerse fenolik bileşikler okside olur. Orijinali sarı renkli olan Folin & Ciocalteu reaktifi ise mavi renkli bir forma dönüşür. Bu rengin şiddetinden yola çıkarak 700-760 nm de fenolik bileşiklerin analizi yapılabilir.

Meyve ve sebzeler pek çok fenolik bileşiği bir arada içerir ancak bunların toplam miktarı gallik asit, kateşin gibi bir fenolik bileşik cinsinden verilebilir.

CİHAZ ve KİMYASALLAR

- Folin & Ciocalteu reaktifi (Fosfomolibdik ve fosfotungstik asit içeren bir çözeltilidir)
- Na_2CO_3
- Gallik asit standartı
- Vial (şişe)
- 25, 250 mL hacimli balon joje, pipetler, beher
- Spektrofotometre ve küvetler (Plastik küvetler yeterlidir)

GALLİK ASİT STOK ve ÇALIŞMA ÇÖZELTİLERİNİN HAZIRLANMASI

50 mg gallik asiti beherde tartarak ve üzerine 10 mL metanol ekleyerek çözünüz ve 250 mL lik balon jöjeye aktarınız. Toplam hacmi su ile 250 mL ye tamamlayarak 200 mg/L stok gallik asit çözeltisini hazırlayınız.

20, 40, 60, 80, 100 mg/L konsantrasyonlu gallik asit çözeltileri hazırlamak için 25 mL lik balon jöjeleri kullanıp uygun seyreltmeleri yapınız. ($C_1.V_1+C_2.V_2=Ct.Vt$)

ANALİZ EDİLECEK ÖRNEĞİN HAZIRLANMASI

. Meyve suyunu 25 mL lik balon jöjeleri kullanarak 2, 5, 10, 50, 100 kat seyreltiniz.

REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI

Folin reaktifini toplam hacmi 50 mL olacak şekilde 10 kat suyla seyreltiniz.

100 mL hacimli %7 (w/v) lik Na_2CO_3 çözeltisi hazırlayınız.

KALİBRASYON GRAFİĞİNİN OLUŞTURULMASI

- 6 ayrı vial adlandırılarak içerisine hazırlanan gallik asit standartlarından 0.5 mL eklenir. Bir vial şahit (kör) çözelti içindir.
- Vialler üzerine 2 mL seyreltik Folin&Ciocalteu reaktifi eklenir ve karıştırılır.
- Her bir vial üzerine 1 mL Na_2CO_3 çözeltisi eklenir ve karıştırılır.
- Vialler karanlıkta 30 dakika bekletilir.
- 30 dakika sonunda spektrofotometre 750 nm dalga boyuna ayarlanır. Kör çözelti ile sıfırlanarak standartların absorbansı belirlenir.

ÖRNEK ÇÖZELTİSİNİN ABSORBANSININ BELİRLENMESİ

Örnek çözeltisinin fenolik bileşik miktarı önceden bilinmediği için çeşitli oranlarda seyreltilmiştir. Bu çözeltilere de aynen gallik asit standartları gibi işlem yapılır.

- 5 ayrı vial adlandırılarak içerisine hazırlanan örnek çözeltilerinden 0.5 mL eklenir.
- Vialler üzerine 2 mL seyreltik Folin&Ciocalteu reaktifi eklenir ve karıştırılır.
- Her bir vial üzerine 1 mL %7 lik Na_2CO_3 çözeltisi eklenir ve karıştırılır.
- Vialler karanlıkta 30 dakika bekletilir.
- 30 dakika sonunda spektrofotometre 750 nm dalga boyuna ayarlanır. Kör çözelti ile örneklerin absorbansı belirlenir.

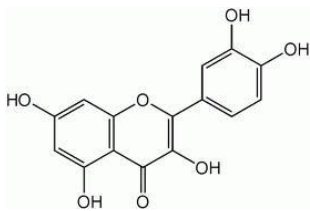
UYARI: Gerek standart gerek örnek çözeltilerinden absorbansı 0-0,8 arasında olanlar alınarak hesaplama yapılır.

HESAPLAMA

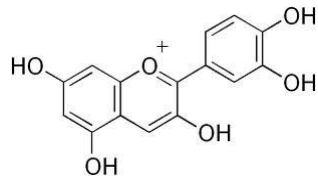
- Gallik asit için alınan absorbanslara karşılık konsantrasyon değerlerinin regresyon eşitliği Excel ile belirlenir. Regresyon denkleminin katsayısının $>0,9$ olması gerekir.
- Absorbansı belirlenen örneğin (0-0,8 arasında olmak kaydıyla) konsantrasyonu belirlenir.
- Örneğin seyreltme oranı dikkate alınarak orijinal vişne suyundaki fenolik bileşik miktarı “mg gallik asit eşdeğeri/100 ml vişne suyu” olarak ifade edilir.

NOTLAR

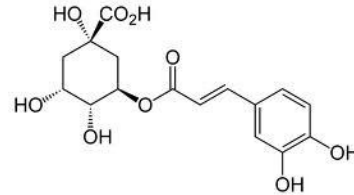
Fenolik bileşiklerin 8000 den fazla türü belirlenmiştir. Her meyve ve sebzenin kendine has bir fenolik bileşik profili vardır. Vişne suyunda, cyanidin ve peonidin gibi antosiyaninler (renk verirler), kuersetin, kaemferol ve isoramnetin gibi flavonoidler ve klorogenik asit ve p-kumarik asit gibi fenolik asitler bulunmaktadır. Bunların ayrı ayrı analizi zaman alan ve zahmetli bir analizdir. Bu amaçla toplam fenolik madde miktarı bir fenolik madde eşdeğeri olarak verilir. Aşağıdaki şekil 4 değişik grup fenolik maddenin kimyasal yapısını ifade etmektedir.



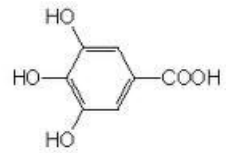
Kuersetin



Cyanidin



Klorogenik asit



Gallik asit

KAYNAKLAR:

- 1- Cemeroğlu, B.S., Meyve Sebze İşleme Teknolojisi, 1. Cilt, Seçkin Yayıncılık, 5. Baskı, 2013.