

Folin - Ciocalteu Çözeltisi İle Biberlerdeki Acılığın (Capsaisin) Kolorimetrik Tayini

Çeviren : Doç. Dr. Unal YURDAGEL

Gıda ve Fermentasyon Teknolojisi kürsüsü
E. Ü. Ziraat Fakültesi

Yazarlar :

K. L. BAJAJ and Gurdeep KAUR
Mikrochimica Acta (Wien) 1979, 81-86

ÖZET

Biberlerdeki acılık bileşiğinin kolorimetrik yöntemle tayininde aseton veya etilasetat ile özütlenmesi ve bu özütüm bazik alumina kolonundan metanol-aseton-su (25:75:1) çözgeni ile saflaştırıldıktan sonra Folin-Ciocalteu çözeltisinde oluşan rengin 760 nm de verdiği soğurma değeri ile saptanmıştır.

1 — Giriş

Yeşil ve kırmızı olum biberin taze, kurutulmuşu, salça ve ketçaplardaki acı tadını veren bileşiğinin birçok kolorimetrik yöntemlerle tayinin de esas, çeşitli özütleyici ve kromotografik çözgenlerin içindeki capsaisinin fenolik grubunun eldesi ile oluşabilir (1-12).

Bir çok kolorimetrik yöntemler oluşan rengin değişmesi ve bulanıklık oluşması nedeni ile yeterli sayılmamışlardır (13). Biber meyvelerindeki pigmentler ve diğer bileşikler kolorimetrik yöntem de ortamdan uzaklaştırılmalıdır (11). Bunun kısmen oluşturulduğu yöntemlerde bile (14,8 ve 12) rutin analiz için uygun olmadığı saptanılmıştır (2,3). Diazonium tuzları çok stabil değildir (5, 7). ve bu yüzden yarı-niceliksel olarak değerlendirilebilirler (7, 10 ve 11). Son yöntemde ise VOCl_3 ile oluşan rengin sadece 1-15 dakika stabil kaldığı saptanılmıştır (12).

Bu yöntemde çözgünde eritilmiş tüm bileşikler bazik alumina kolonunda tutulmuş yıkanan capsaisin niceliği Folin-Ciocalteu ile verdiği oldukça stabil kalan mavi rengin soğurma değeri üzerinden saptanılmıştır.

2 — Deneme

2.1. — Çözeltiler

2.1.1 — Folin Ciocalteu çözeltisi. 700 ml ye 100 gram sodyum tungstate ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 25 gram Sodyum molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 50 ml % 85 fosforik asit ve 100 ml konsantre hidrok-

lorik asit geri soğutucuda 10 saat kaynatılır. 150 gram Lityum sülfat ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 50 ml su ve 3 damla brom damlatılır. Brom fazlası kaynatılarak uzaklaştırılır. Soğutulur ve 1 Litreye su ile tamamlanır. Süzülür ve Kahverengi şişede saklanır.

2.2 — Doymuş Sodyum karbonat çözeltisi - 100 ml suda 35 gram susuz sodyum karbonat 70-80°C ye kadar ısıtılarak eritilir. Bir gece bırakılır. Soğumuş çözeltideki doymuş çözelti ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) cam pamuğundan süzülerek uzaklaştırılır.

2.3 — Standart Capsaisin çözeltisi - 10 mg Capsaisin 100 ml metanol de eritilir.

2.4 — Çözgenler - Kuru olmalı ve kullanılmadan önce damıtılmalıdır.

2.5 — Kalibrasyon Kurvesi - Küçük beherglaslara standart Capsaisin çözeltisinden 0-1,5 ml alınır (eşit dağılımlı). 65°C nin altında 0,5 ml ye kadar buharlaştırılır. Üzerine 0,5 ml Folin-Ciocalteu Çözeltisi ve 6,5 ml destik su ilave edilir. Üç dakika beklenir ve 1,0 ml doymuş sodyum karbonat Çözeltisi katılıp iyice karıştırılır. 10 ml balon jöjeye aktırılır hacmine su ile tamamlanır. Bir saat sonra 760 nm de okunur.

3 — Yöntem

0,5 gram kurutulmuş ve (30-40 mesh öğütülmüş biber örneği) 25 ml aseton veya etilasetat ile özütlenir. Şayet aseton kullanılıyorsa 10 dakika çalkalanır ve 2 saat bırakılır. ve cam pamuğundan süzülür.

Etil asetat ile özütlemeye örnek 24 saat oda sıcaklığında bırakılır. Sonra asetonunda olduğu gibi süzülür. Bu özütlenen örnek 25 ml ye tamamlanır. Ancak % 0.1 den az capsaisin içeren örnekler 2,0 gram alınır. Bazik Alumine (Brockmanın grade 1,80-200 mesh)'dan 1,5 gram alınır ve 10,0x0,9 cm lik kolona doldu-

rulur. Kolon 5 ml aseton ile yıkanır. Üzerine 2 ml özüt konur. Tekrar 3x5 ml aseton ile kolon yıkanır. Tüm capsaisin metanol-aseton-su (75:25:1) karışımı (Toplam 50 ml) ile yıkanır. Bu 50 ml ye erişen kolon süzüğü 65°C \leq sıcaklıkta 10 ml ye kadar veya tamamen kurutulur. Kalibrasyon kurvesinde olduğu gibi renklendirilerek 760 nm dalga boyunda okuma yapılır.

4 — Sonuç ve Tartışma

Çizelge 1'de görüldüğü gibi capsaisinin özütlenmesinde kaynak verilerine göre oldukça farklı çözgenler kullanılmaktadır.

ÇİZELGE 1 — Capsaisin özütlenmesi

Özütleme işlemi	Kaynakça	Etki edenler + Capsaisin %
Metanol % 50	10	1.76
Aseton (1 saat geri soğutucu)	13	2.00
" " " " " ")*	9	1.02
Aseton (10 dak. çalkalama)**	14.8	0.68
Etanol % 70	5.7	1.23
Etil asetat	12	0.70

* Kömürle temizleme ** Tavsiye edilmiş

Capsaisin niceliği üzerine etki eden bileşiklerin arıtılması için yöntemde kromatografi önerilmiştir. Saf capsaisin niceliği tayini bu arındırmadan sonra yapılmalıdır. Analize etki eden bileşiklerin en yüksek değeri aseton ile geri soğutucu altında 1 saat kaynatma işlemi verilmiştir. Bu renge etki eden bileşikler nedeni ile kolorimetrik yöntemlerde güvenilir sonuçlar alınması zordur. Ayrıca $VOCl_3$ yöntemi (13) rengin stabil olmayışı nedeni ile sonucun

hata oranını yükseltir.

Yöntemde aseton veya etilasetat özütünün alumina kolonunda arıtılması ile elde edilen sonuç en güvenilirdir. Capsaisin üzerine etki eden bileşikler bunun niceliğinin fazla çıkmasına neden olurlar. Bazı araştırmacılar bu renk olgusuna etki eden bileşiklerin aktif kömür ile uzaklaştırılmasının olanak içinde olduğunu ifade etmişlerdir. (9) Ancak aktif kömürün çözümden temizlenmesi bir problemdir. Alumina kolonundan temizlenmiş capsaisin 100 ± 0.6 bir değer vermiştir. Kimi araştırmacılar gaz kromatografisi (GLC) tekniği ile capsaisinin arındırıldığını belirtmişlerdir (13). Özütlemeye Şayet % 50 metanol veya % 70 etanol kullanıldığında capsaisin bu yöntemle arındırılmaz zira alumine inaktifleşir. Bu nedenle süsüz aseton veya etil asetat özütleyici olarak kullanılır (9, 13).

Fosfor molibdik asit veya Folin-Denis çözeltileri ile tayinde en önemli problem örneğin bulanıklığıdır ve güvenilir sonuç alınmasını önler. Ancak Folin-Ciocalteu çözeltisi oluşan mavi renk bulanıklılık oluşturmadan 48 saat değişimsiz kalabilmektedir. Bu yöntem oldukça hassas olup 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de içerik saptanabilmektedir. Diğer yöntemlerle yapılan karşılaştırmalı sonuçlarda farklılık istatistikî olarak önemli bulunmamıştır.

Bu yöntem ile oda sıcaklığında biber örneklerinin aseton ile 10 dakika çalkalanması veya etil asetatlı eritkende 24 saat bırakılması bazık alumino kolonunda arındırıldıktan sonra Folin-Ciocalteu çözeltisi ile renklendirerek saptanması en güvenilir sonucu vermektedir.

REFERANSLAR

- 1 — K. Csedo, M. P. Horwath and Nayg, Orvose Szemle 6, 235 (1960); Chem Abit. 54, 231850 (1960).
- 2 — H. North, Anolyt. Chemistry 21, 934 (1949)
- 3 — A.S.L. Tirimanna, Anolyt 97, 372 (1972)
- 4 — L. Quogliotti, Hort. Res. 11 (2), 93 (1971)
- 5 — R. Adamski and A. Socho, Farm. Pol. 23, 603 (1967); Chem Abst. 68, 98677 c (1968)
- 6 — W. Debska and B. Okulicz-Kozarynowo, Chem. Anolit, (Warsaw) 18, 291 (1973); Chem Abit. 79, 83497 (1973)
- 7 — M. S. Karawya, S. I. Bolbaa, A. N. Girgis and N. 2. Younssef, Analyst 92, 581 (1967)
- 8 — J. Jonczyk, Herba Pol. 13 (3), 120 (1967); Chem. Abst. 69, 12908 g (1967)
- 9 — J. I. Suzuki, F. Tausig and R. E. Morse, Fosol Technol 11, 100 (1957)
- 10 — A. Laszlo and M. Laszlo, Acta Aliment, 4 (2) 113 (1975); Anolyt. Abstr. 30, SF 38 (1976).
- 11 — P. Spanyer and M. Blazovich, Analyst 94, 1084 (1969).
- 12 — J. J. R. Palacio, J. Assoc. Offic. Anolyt. Chem. 69; 970 (1977).
- 13 — J. J. Di Cecco, J. Assoc. Offic. Anolyt. Chem. 59, 1 (1976).