

KAROTENOİDLER VE İNSAN SAĞLIĞI

CAROTENOIDS AND HUMAN HEALTH

Taner BAYSAL, Seda ERSUS

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

ÖZET: Bu derlemede, karotenoid grubu maddelerin genel özellikleri, A vitamini etkinliği, antioksidant özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri konusunda yapılan araştırmalar özetlenmiş ve ekstraksiyon yöntemleri hakkında genel bilgi verilmeye çalışılmıştır.

ABSTRACT: This study discusses all aspects of carotenoids, pro-vitamin A activity, antioxidant properties and effects of carotenoids on the human health. Also extraction methods of carotenoids are outlined.

GİRİŞ

Biyolojik sistemlerde, aerobik solunum sırasında kullanılan moleküler oksijenin %2'si reaktif oksijen türlerinden süper oksit ve hidrojen peroksit'e dönüşür. Oksidatif metabolizmanın bu yan ürünlerinin, canlı hücrelerindeki DNA, protein ve yağ yapısı üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (MARCHAND ve ark, 1993) Buna bağlı olarak, kanser, katarakt, immun sistem hastalıkları, arterosklerotik kalp hastalığı gibi yaşlanmayla ortaya çıkan hastalıklarda hızlandırıcı etkisi olduğu düşünülmektedir (AMES ve ark, 1993; PACKER ve ark, 1995).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda diyetik antioksidantların ve bu maddelerce zengin gıda maddelerinin kanser, katarakt ve kardiovaskular hastalıkların oluşma riskini önlediği bildirilmektedir (BLOCK ve ark, 1994). Bu koruyucu etkileri nedeniyle özellikle meyve ve sebzelerin yapılarında bulunan antioksidant maddelerden karotenler, vitamin C ve E gibi mikrobese maddelerine karşı gösterilen ilgi de artmıştır. In vivo ve in vitro çalışmalar betakarotenin etkili bir antioksidant olduğunu ortaya çıkarmıştır (KORNHAUSER ve ark, 1994).

Bu derlemede, karotenoid grubu maddelerin genel özellikleri, A vitamini etkinliği, antioksidant özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri konusunda yapılan araştırmalar özetlenmiş ve ekstraksiyon yöntemleri hakkında genel bilgi verilmeye çalışılmıştır.

Karotenoidlerin Genel Yapısı

Karotenoid grubu maddeler meyve, sebze ve çiçeklerde, ayrıca kuş, böcek, deniz canlılarında ve yosunlarda yaygın olarak bulunan, sarı, turuncu ve kırmızı renkte doğal pigmentlerdir.

Karotenoidler, klorofille birlikte fotosentez yapabilen organizmalarda yaygın olarak bulunur ve hayvanlarda depolanan tüm karotenoidler için kaynak oluşturur. Hayvan vücudunda karotenoidlerin bir bölümünün retinole dönüştüğü, diğer bölümünün ise yumurta sarısı, süt ve organellerde yağ içinde yer aldığı bilinmektedir (GROSS, 1987; GERSTER, 1993; BAYSAL, 1994). Karotenoidler, bitki ve hayvan orijinli gıda maddelerinde, özellikle meyve sebzelerden; havuç, biber, lahana, ıspanak, kabak veya domateste yüksek oranda (100 mg/kg - 1 g/kg taze ürün) bulunmaktadır. Yüksek basınç sıvı kromatografisi teknikleri, gıdalarda, kan serumunda ve sütlerde bulunan karotenoidlerin detaylı analizinde yeterli olmamaktadır. Günümüze kadar serum örneklerinde 20'den fazla karotenoid tanımlanmıştır. En fazla alfa-karoten, beta-karoten, beta-kriptoksantin, lutein ve likopen bulunmuştur (ASTORG, 1997).

Karotenoidlerin karakteristik fiziksel ve kimyasal yapılarındaki farklılık yapılarındaki uzun, konjuge polien zincirinden kaynaklanmaktadır. Konjuge polien zinciri, karotenoidlerin ışık absorplama, fotokimyasal özelliğini ve rengini belirlemektedir (ASTORG, 1997).

Sekiz adet C5 isoprene ünitesinin bir araya gelmesiyle oluşan isoprenoid polien olan (GROSS, 1987, BRITTON, 1992) karotenoidler beta-, alfa-, ve gama karoten ve likopen gibi hidrokarbonlar (C₄₀H₅₆) ve bunların oksidatif türevleri (hidroksi, keto, metoksi veya karboksilik asit grupları) olan beta-kriptoksantin, lutein ve

zeaksantin gibi ksantofiller olmak üzere iki grupta incelenmektedir (BAUERNFEIND, 1972). Normal C₄₀ yapısının son gruplarından bir tanesinin uzaklaştırılması ile oluşan yapı apokarotenoidler olarak anılmakta ve bunlar gıda renklendirilmesinde önemli bir yer tutmaktadır (BRITTON, 1992).

Karotenoid grubu maddelerin iyi bir kaynağı olan meyvelerde tanımlanan karotenoidler ise,

- Kloroplast karotenoidleri,
- Likopen ve hidroksi türevleri,
- Beta-karoten ve hidroksi türevleri,
- 5,6 veya 5,8-epoksi karotenoidler,
- Apokarotenoidler,

Bazı özel ve az bulunan karotenoidler (kırmızı biberde bulunan kapsantin, Capsicum annuum gibi) olarak sıralanabilir (BRITTON, 1992).

Beta karoten bir çok meyve ve sebze de değişik konsantrasyonda bulunan karotenoiddir. Alfa-karoten havuçta palmye yağı ekstraktında, likopen ise koyu portakal veya kırmızı renkli meyve ve sebzelerde; domates, papaya, karpuz ve greyfurtta bulunmaktadır. Lutein ve zeaksantin ise yeşil yapraklı sebzelerde yer almaktadır. Beta-kriptoksantin besin kaynakları ise mango, şeftali ve portakal gibi meyvelerdir (PACKER, 1992).

A Vitamini Etkisi

Günümüze kadar 600 adet karotenoid tanımlanmış, bunların 60 tanesinin pro A vitamini aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Hidrokarbon karotenoidler, ksantofillere göre daha fazla provitamin aktivitesi göstermektedir. En fazla pro A vitamini aktivitesi gösteren karotenoid, betakaroten iken alfa-karoten beta-karotenin yarısı kadar aktivite gösterir. Buna karşın likopen ve diğer önemli hidrokarbon grubuna dahil karotenoidlerin pro A vitamini aktivitesinin olmadığı belirlenmiştir (GERSTER, 1992). Karotenoid grubu maddelerin A vitamini aktivite-leri ve buldukları doğal kaynaklar Çizelge.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 1. Karotenoidlerin A vitamini aktivitesi ve kaynakları

Karotenoid	Aktivite (%)	Kaynaklar
beta-karoten	100	yeşil bitkiler, sebzeler, havuç, patates, kabak, ıspanak, domates, yeşil biber, ananas, portakal, incir, üzüm, kayısı, şeftali, karpuz, armut, çilek, mısır, makarna, balık, yumurta, kafadan bacaklı deniz hayvanları
alfa-karoten	50-54	yeşil bitkiler, havuç, kabak, mısır, yeşil biber, karpuz, patates, elma, şeftali, portakal, kiraz, incir, üzüm, muz, ananas, makarna, haşlanmış biber, palmye yağı, kestane
likopen	aktif değil	domates, havuç, yeşil biber, turuncgiller, kayısı, karpuz, mikroorganizmalar
zeaksantin	aktif değil	ıspanak, kırmızı toz biber, mısır, yeşil biber, meyveler, makarna, tavuk yumurtası, algler.
lutein	aktif değil	yeşil bitki yaprakları, mısır, patates, ıspanak, yeşil biber, havuç, domates, meyveler, elma, armut, kayısı, şeftali, erik, portakal, çilek, incir, üzüm, böğürtlen, ananas, yumurta, makarna
astaksantin	aktif değil	portakal, kafadan bacaklı deniz hayvanları, balık, algler
kantaksantin	aktif değil	mantar, balık, mikroorganizmalar, algler, kafadan bacaklı deniz hayvanları
kapsantin	aktif değil	kırmızı biber ve kırmızı toz biber
kapsorubin	aktif değil	kırmızı biber ve kırmızı toz biber
biksin	aktif değil	anatto tohumu

(Kaynak: BAUERNFEIND, 1972)

Pro A vitamini aktivitesi gösteren karotenoidlerin bir bölümü başta betakaroten olmak üzere ince bağırsaklarda karoten oksijenaz enzimiyle retinol, retinal ve retinoik aside dönüşerek immun sistem, görme olayı ve epitel dokunun sentezlenmesi ve yenilenmesinde etkinlik göstermektedir (BAYSAL, 1994). E vitamini karotenoidlerin oksidasyonunu önleyerek biyoyararlılığını yükseltmekte, çinko retinol bağlayan proteinin sentezindeki rolü nedeniyle karotenoidlerin pro A vitamini etkinliğini de arttırmaktadır (BAYSAL, 1994).

Antioksidant Etkisi

Karotenoidler, moleküler yapılarında bulunan konjuge çift bağ sayesinde antioksidant özellik göstererek, serbest radikal reaksiyonlarının oluşmasını önler (PACKER, 1995., ZIEGLER, 1991). Serbest radikal reaksiyonları başlangıçta, hücre membranında bulunan doymamış yağlarda ortaya çıkar ve zincirleme reaksiyonlar sonucunda lipit peroksidasyonu ve sonrasında hücre membranı, enzim ve nükleik asit yapılarında bozulmalar olur. *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla karotenoid grubu maddeler içerisinde özellikle betakarotenin lipit membranların peroksidasyonunu, düşük dansiteli lipoproteinlerin ve karaciğer yağlarının oksidasyonunu önlediği saptanmıştır (BENDICH ve OLSON, 1989).

Betakaroten singlet oksijen giderici özellik gösterirken aynı zamanda serbest radikalleri de bağlamaktadır. Karotenoidlerin, bu özelliğinde kimyasal yapı etkili olmakla birlikte, asıl önemli olan konjuge çift bağ sayısının artmasıdır (GERSTER, 1993). Çizelge.2'de bazı karotenoid maddelerin singlet oksijen giderici özelliği verilmiştir.

Çizelge 2. Kimi karotenoidlerin singlet oksijen etkisizleştirme yeteneği

Karotenoid	Etkisizleştirme yeteneği oran sabiti (kq)
likopen	31
astaksantin	24
kantaksantin	21
alfakaroten	19
betakaroten	14
zeaksantin	10
lutein	8
kriptoksantin	6

(Dr. Mascio ve ark, 1989'dan adapte edilmiştir.)

(Kaynak: GERSTER, 1993)

A vitamini aktivitesi göstermeyen likopenin oksijen etkisizleştirme yeteneğinin betakarotenden yüksek olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni likopen molekülünde beta ionin halkasının açık olması nedeniyle oksijen çeken daha çok sayıda çift bağ bulunmasıdır (BAYSAL, 1994). NIKI ve ark. 1995'te yaptığı çalışma sonuçlarına göre ortamdaki oksijen konsantrasyonu azaldıkça alfa-tokoferol, betakaroten ve diğer karotenoidlerin antioksidant etkinliği artmaktadır. Oksijen konsantrasyonunun düşük olduğu ortamlarda, karotenoidlerin antioksidant etkinliği alfa-tokoferole göre daha yüksektir. Beta-karoten, düşük oksijen basıncında etkili şekilde lipit peroksidasyonunu önlemektedir. Ortamda tokoferol gibi diğer antioksidantların bulunması durumunda betakaroten yüksek oksijen basıncında pro-oksidant özellik göstermektedir. Buna karşın, kantaksantin, astaksantin ve zeaksantin gibi ksantofiller, beta-karotenden daha etkili antioksidantlardır. Ancak, yüksek oksijen konsantrasyonlarında, karotenoidler çok hızlı yıkıma uğramaları yanısıra, (SIEMENSMA, 1996) kimyasal veya enzimatik oksidasyona oldukça duyarlıdır (ASTORG, 1997).

Karotenoidlerin biyoyararlılığı, diyetdeki yağ, protein, vitamin E ve çinko tarafından etkilenmektedir. Yağ içinde çözünmüş olarak ince bağırsaktan emilimi gerçekleşen karotenoidlerin, normal koşullardaki emilimi %47 ile %81 arasında değişmektedir (BAYSAL, 1994) ve kana lipoproteinlerle geçmektedir. Buna bağlı olarak kandaki karotenoid seviyesi, direkt olarak kandaki kolesterol ve yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol seviyesiyle ilişkilidir (CONETT ve ark., 1989).

Karotenoidlerin kana geçmesini sağlayan düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonu karotenler tarafından engellendiğinden, bu bileşiklerin arterosklerotik kalp hastalıklarını önleyici etkisi de bulunmaktadır. Ayrıca karotenoidlerin aktif oksijeni kullanarak lens lipidlerinin oksidasyonunu önlediği, yaşla ilgili görme bozukluğu olan katarakt gelişimini de buna bağlı olarak engellediği bildirilmektedir (BAYSAL, 1994). Δ -plazma ile günlük tüketim miktarı arasındaki oranın büyük olması, farklı gıdalarda bulunan farklı karotenoidlerin absorpsiyonunun yüksek olduğunu göstermektedir. Bu oran, absorbe edilen karotenoidlerin miktarı hakkında hiç bir bilgi içermemekte, sadece farklı gıdalardan absorblanan karotenoidleri kendi arasında kıyaslamaktadır. Çizelge.3'de ise farklı sebzelerden alınan farklı karotenoidlerin vücut tarafından absorpsiyonları gösterilmiştir.

Çizelge 3. Kimi gıdalarla vücuda karotenoid alımı ve plazmadaki karotenoid seviyesi.

Karotenoid kaynağı	Diyet Süresi (insan sayısı)	Karotenoid	Karotenoid diyet miktarı (mg/gün)	Δ -plazma konsantrasyonu (μ mol/L)	Δ -plazma/günlük diyet miktarı (μ mol/L)/(mg/gün)
Havuç ve Ispanak	9 gün (23)	alfakaroten	10.5	0.39	0.037
		betakaroten	42.2	0.58	0.014
		lutein	31.2	0.32	0.010
Brokoli + Karnabahar	9 gün (23)	betakaroten	5.1	0.11	0.022
		lutein	7.1	0.27	0.024
Palmiye meyvesinin 15g'daki karoten	4 hafta (16)	alfakaroten	3.0	0.66	0.220
		betakaroten	6.0	0.52	0.087
4 ml zeytin yağı içindeki marigold ekstraktı	9/18 gün (3)	lutein	905	0.80/0.83	0.084/0.087

(Kaynak: SIEMENSMA, 1996)

Karoteneidlerin Sağlık Üzerine Yararları

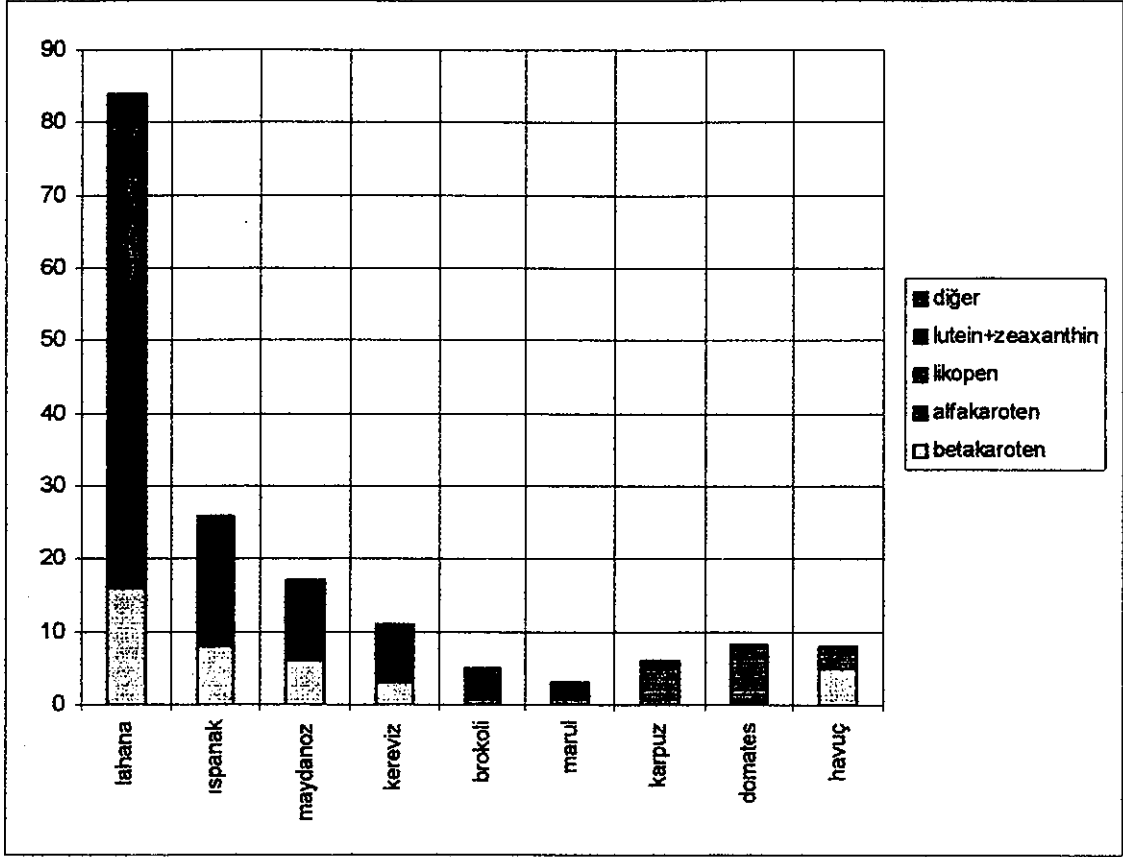
Son yıllarda karotenoidler üzerine yapılan birçok araştırma bu grup maddelerin insan sağlığı üzerine olumlu etkileri konusunda yoğunlaşmıştır.

Yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada, akciğer vakasının A, E ve C vitamininden çok, ağırlıklı olarak beta-karoten ile ilişkili olduğu görülmüştür. "Western Electric Company" işletmelerinde yapılan bir diyetik çalışmada, 40-55 yaşlarındaki 1954 çalışandan 1 yıl süre ile diyetleri konusunda bilgi alınmış, betakaroten alımlarına göre 4 gruba ayrılmıştır. 19 sene sonra 33 kişinin akciğer kanserinden öldüğü ve bunların içerisinde, en az beta-karoten (günde 0.1-2.2 mg) alan gruptan 14 kişinin ve en çok beta-karoten (günde 4.0-19.2 mg) alan kişilerden ise 2 kişinin bulunduğu saptanmıştır. Buna göre, akciğer kanserinden ölüm riskinin, düşük beta-karoten alanlarda, diğer gruba oranla 7 kat fazla olduğu belirlenmiştir (CHARLEUX, 1994).

CONET ve ark. 1989'da yaptıkları çalışmalarda, kanser ve kardiovaskular hastalıklarla ilgili maddelerden beta-karoten, toplam karotenoid, retinol ve retinol bağlayan protein, alfa-tokoferol ve selenyumun serumdaki seviyelerini belirlemeye çalışmıştır. Kandaki karotenoid, retinol, retinol bağlayan protein ve alfa-tokoferol seviyesinde kanserli hastalarda ve eşleştirilmiş kontrollerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemesine rağmen, bu maddelerin kanserli hastalarda kontrollere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Kandaki toplam karotenoid ve beta-karoten seviyesinin yüksek olmasının akciğer kanserinden ölüm riskini azalttığı ama farklılığın istatistiksel açıdan önemli bulunmadığını belirtmişlerdir. Toplam karotenoid miktarındaki 40g/dl'lik artışın, akciğer kanser ölümlerini % 35 oranında, beta-karoten miktarındaki 10g/dl'lik artışın ise akciğer kanseri ölümlerini % 25 oranında azalttığını bildirmişlerdir.

Diyet ve akciğer kanseri arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla LE MARCHAND ve ark. 1993'te Hawaii'de 230 erkek, 102 kadın kanserli hasta, ve kontrol olarak 597 erkek, 268 kadın üzerinde çalışmışlardır. Bu iki grup yaş ve cinsiyetlerine göre eşleştirilmiş, tükettikleri gıdalar belirlenmiştir. Bu çalışma sonunda diye-

tik karotenoid maddeler grubundan likopen ve beta-kriptoksantin ile akciğer kanseri riskinin ilişkisi olmadığı fakat doza bağlı olarak diyetik beta-karoten, alfa-karoten ve luteinin kanser riskini azaltıcı etkileri olabileceği ortaya çıkarılmıştır.



Kaynak: HEINONEN, M.I. ve ark; J.Agr. Food Chem. (1989), 37: 655-659

Şekil 1. Sebze ve meyvelerin karotenoid içerikleri ve kompozisyonları (HEINONEN ve ark. 1989).

Aynı zamanda, beta-karotenin ön kanserojen lezyonların gerilemesine neden olabilmesi veya normal hücrelerin kanserojen hücrelere dönüşmesini engellemesi, bu maddenin kanserojenliğin erken dönemlerinde koruyucu bir etki yapabildiğini göstermektedir (CHARLEUX, 1994).

Bu çalışmalar ışığında FOTOUHI ve ark. 1996'da, beta-karoten içeriği bakımından zengin meyve ve sebzelerin kanser oluşumu riskini azalttığını göz önüne alarak, sentetik trans beta-karotenin aynı etkiyi göstermediğini belirlemek üzere, 12 yıl süresince % 11'i sigara içen, 22071 erkek doktor üzerinde yaptıkları çalışmalarda, doktorlara 50 mg beta-karoten vermişlerdir. Bu kişilerin plazmalarındaki beta-karoten konsantrasyonu 1.73 0.16 $\mu\text{mol/L}$ iken, karşılaştırma için kullanılan tesirsiz madde verilen kontrol grubunda bu rakamın 0.54 0.06 ($\mu\text{mol/L}$ olduğu ortaya çıkarılmıştır. Konsantrasyonda artış olmasına rağmen, sentetik trans beta-karotenin, kanser ve kalp hastalıkları riski üzerinde herhangi bir koruyucu, aynı zamanda zararlı etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Karotenoid grubu maddelerin akciğer kanseri dışında diğer kanser çeşitleri üzerinde de etkili olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir.

STICH VE ANDERS 1989'da ağız kanseri ve beta-karotenin etkileşimini incelemek amacıyla, ağız kanseri bakımından büyük risk taşıyan, Kızılderili tütün çiğneyicileri üzerinde çalışmışlardır. Haftalık 180 mg'lık

beta-karoten uygulamasıyla, 9 hafta süren çalışmada katılımcıların % 98'indeki mikro çekirdekli hücre sayısı azalması sağlanmış ve bu kişilerin % 15'inde leukoplakia'nın tamamen eksildiği görülmüştür.

Bununla beraber, Çin'de yapılan bir çalışmada dengesiz beslenmiş 29584 yetişkine, 5-6 sene boyunca her gün 15 mg beta-karoten, 50 µg selenyum ve 30 mg E vitamini içeren vitamin ve mineral kombinasyonu verilmiş ve bu kişilerde farklı vitamin ve mineral kombinasyonu alan kişilere göre sindirim sistemi kanseri görülme riskini azaltabileceği ve istatistik olarak toplam ölümden %9, kanserden ölümden %13, gastrik kanser ölümlerinde %21 gibi önemli bir düşüş görüldüğü ifade edilmiştir (BLOT ve ark., 1993).

MATHEWS-ROTH 1982'de, betakaroten ve kantaksantin ultra viyole ışına maruz kalan kişilerde tümör oluşmasını engellediğini ileri sürmüştür (MARCHAND ve ark., 1993)

Plazmada yüksek likopen seviyesinin, pankreas ve prostat kanser riskini önemli ölçüde azaltabileceği belirtilmiştir. GIOVANNUCI'nin 1995 yılındaki epidemiolojik çalışmaları sonucunda da likopen bakımından zengin domates bazlı gıdaların tüketimiyle orta yaş üstündeki erkeklerde prostat kanseri riskini azaltma olasılığının daha fazla olduğu belirlenmiştir (SIEMENSMA, 1996).

Akciğer kanseri üzerine 10000'den fazla kişi üzerinde, iki farklı çalışma yapılmıştır. İlk çalışmada Finlandiya'da sigara kullanan 29133 erkek hastaya 5-8 yıl boyunca beta-karoten (20 mg/gün), veya alfa-tokoferol (E vitamini; 50 mg/gün) veya her iki madde birlikte verilmiştir. Umulmadık bir şekilde, sadece beta-karoten veya alfa-tokoferolle birlikte beta-karoten alımı, akciğer kanseri oluşumunu % 18 arttırmış ve toplam ölümden % 8 artışa neden olmuştur. Bu çalışma sonucunda karotenin sigara içenler üzerinde negatif etkisinin olabileceği belirlenmiştir (ASTORG, 1997). Diğer bir çalışmada ise sigara kullanan, daha önceki dönemlerde sigara kullanmış kişiler ve asbestosa maruz kalmış işçilerden oluşturulmuş 18314 kişilik gruba 50 mg/gün beta-karoten ve 25000 IU/gün retinol kombinasyonu verilmiştir. Deneme 1996 yılı başlarında yani çalışmanın başlamasından 4 yıl sonra kanser oluşumunda % 28 artış ve akciğer kanserinden ölümlerde % 46 artış görülmeye başlanmıştır. Bu çalışmada yüksek alkol alımıyla kanser riskinin artış eğiliminde olduğu belirlenmiştir (SIEMENSMA, 1997). Diğer bir çalışmada ise, 22071 sigara içmeyen veya sigarayı bırakmış kişilere 12 yıl boyunca 50 mg/gün beta-karoten verilmiş ve akciğer kanseri üzerinde ve kanserden dolayı ölümlerde hiçbir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (ASTORG, 1997).

Sonuç olarak belirtilen son üç çalışmada, beta karotenin kanser üzerine koruyucu bir etkisinin olmadığı, hatta çok sigara içen ve asbestosa maruz kalmış kişilerde kanser riskini artırıcı etkisinin olabileceği ortaya konmuştur.

Gıda İşlenmesinde Karotenoid Kullanımı

Karotenoidlerin gıdalarda renk verici olarak kullanılmasıyla, ticari sentetik beta-karoten üretimine verilen önem artmıştır. Peynir, yağ, sosis ürünleri, popcorn ve içecekler gibi gıdaların rengini geliştirmek amacıyla, karoteneid içerikleri yüksek olan havuç, palmye yağı, annatto ve kırmızı biber ekstraktları kullanılmaktadır. Gıda maddelerine işleme sırasında katılan karotenoid grubu maddeler gıdanın hem rengini hem de besinsel değerini geliştirmektedir. Hayvan yemlerine (balık ve tavuk yemi v.b.) karotenoid katılarak bu yemlerin besleyici değerinin artması sağlanmaktadır (BORENSTEIN ve BUNNELL, 1966; BRITTON, 1996; BRITIGH ve ark, 1995; VEGA ve ark, 1996).

Karotenoidlerin Ekstraksiyonu

Biyolojik materyalden karotenoid grubu maddelerin ekstraksiyonuna ait standart bir yöntem bulunmamaktadır. Hammadde olarak; kırmızı biber, annatto, safran, domates, palmye yağı ve ksantofil içeriği yüksek olan ısırgan otu ve brokoli gibi bitkiler kullanılmaktadır. Ekstraksiyon öncesi, karotenoid verimini arttırmak için materyal öğütülmeli veya küçük parçalara ayrılması önerilmektedir. Karotenoidler yağda çözünen maddeler olduklarından organik çözücülerle ekstrakte edilebilmektedirler. Kullanılan çözücüler saf; yani asit, halojen veya okside edici maddelerden arındırılmış olmalıdır. Peroksit içerebilen dietileter, kullanım öncesi peroksitten arındırılmış ve yeni hazırlanmış olmalıdır. Ekstraksiyon sırasında antioksidant ve nötralizasyon ajanları kullanılmalıdır. Antioksidant olarak %1'lik BHT (bütilenmiş hidroksi toluen), nötralizasyon için (üçhidroksi metil)-amino metan, kalsiyum karbonat veya magnezyum karbonat kullanımı yaygındır.

Yüksek oranda su içeren gıda maddelerinden karotenoid ekstraksiyonunda aseton, metanol, etanol ve genellikle aseton ve metanol karışımı, kuru gıdaların ekstraksiyonunda ise su ile karışmayan çözeltilerden di- etiler ve benzen kullanılmaktadır. KHACHIK ve ark., 1992; TAN, 1988; HEINONEN ve ark., 1989; CHAND- LER ve SCHWARTZ, 1987; MÖNNUCCI ve ark., 1995; HAKALA ve HEINONEN, 1994; SADLER ve ark., 1990 gibi araştırmacılar çeşitli gıda maddelerinden karotenoid ekstraksiyonu üzerinde çalışmış ve organik çözücü olarak hegzan, etanol, aseton, metanol, tetrahidrofuran ve petrol eteri kullanmışlardır.

Genellikle ekstraksiyon parçalayıcı içinde gerçekleştirilmektedir. Homojen haline getirilmiş ürün Buhner hunisinden süzülürken, ortama doymuş NaCl çözeltisi eklenerek, renk maddesinin organik çözücü içine çekil- mesi sağlanmaktadır. Sabunlaştırma öncesi ortamın asetonun tamamen arındırılması gerekmektedir. Bunun nedeni alkali ortamda, karoten ve asetonun aldol oluşturmalarını engellemektir.

Sabunlaştırma, ortamdaki istenmeyen lipitleri ve klorofili uzaklaştırmak amacıyla yapılan bir saflaştırma işlemidir. Örnek metanollü veya etanollü KOH ile muamele edilmekte ve sabunlaşmamış kısım uygun bir çö- zücü içine alınarak toplam karoten tayini yapılmaktadır. Ortamda astaksantin ve fukoksantin gibi alkaliye da- yanık sız pigmentler olduğunda sabunlaştırma işlemi uygulanmamaktadır.

Son yıllarda bu değerli renk maddelerinin ekstraksiyonunda süper kritik sıvı ekstraksiyonu (SCE) kulla- nımı da denenmiştir. FAVATI ve ark. (1988)'te dondurarak kurutulmuş leaf protein konsantresinden, VEGA ve ark.(1996)'da ve BARTH ve ark.(1995)'te havuçtan, SPANOS ve ark., (1993)'te dondurarak kurutulmuş tatlı patatesten, CHAO ve ark., ve DEGNAN ve ark. (1991)'de annatto ekstraktından, BIRTIGH ve ark. (1995)'te palmye yağından karotenoid ekstraksiyonunda süperkritik CO₂ yöntemini kullanmışlardır.

Klasik yöntemle karotenoid ekstraksiyonu, birkaç basamaktan oluşmakta, zaman ve yüksek miktarda organik çözücü kullanımı gerekmektedir (BARTH ve ark., 1995). Ayrıca ekstraksiyon sonrasında, toksik etkisi olan çözücülerin ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir. Klasik yöntemin bu gibi dezavantajlarına karşın, süperkritik CO₂ ekstraksiyonunun, ısı, ışık ve oksijene duyarlı maddelerin ekstraksiyonunda önemli avantajla- ra sahip olduğu belirtilmektedir.

Ekstrakte edilmiş karotenoidlerin birbirinden ayrılması ve saflaştırılması için kolon, ince tabaka, yüksek basınç sıvı kromatografisi gibi yöntemlerden yararlanılmaktadır. Ayrılmış karotenoidler, spektroskopik, kromo- tografik ve kimyasal testlerle tanımlanmaktadır.

Karotenoidlerin Ekstraksiyonunda Dikkat Edilmesi Gerekli Hususlar

Karotenoid grubu maddelerin ekstraksiyonu ve saflaştırılması sırasında, geometrik izomer yapıları hız- lı bir şekilde bozunmaktadır. Bu gibi değişimleri en aza indirmek için karotenoidlerin ısı, oksijen ve ışık özelli- le direk gün ışığından korunması gerekmektedir. Karotenoid ekstraktları oksijensiz ortamda; vakum altında veya inert atmosferde (Argon veya Azot gazı altında) -20°C sıcaklıkta depolanmalıdır.

Kromatografik analizler sırasında ışıktan korunmalı, aşırı ısıya maruz kalmalarını önlemek amacıyla ekstraksiyonları sırasında düşük kaynama noktası olan çözücüler kullanılmalıdır. Bu çözücülerin ekstraksiyon işlemi sonrasında uzaklaştırılması işlemi de düşük sıcaklıkta gerçekleşeceğinden karotenoidler daha az yıka- ma uğrayacaktır.

Karotenoidlerin biyolojik dokulardan ekstraksiyonu, oksidatif ve enzimatik değişimleri önlemek için çok hızlı bir şekilde gerçekleştirilmelidir

SONUÇ

Karotenoid grubu maddeler ve karotenoid içeren ekstraktlar gıdaların renklendirilmesinde geniş kulla- nım alanı bulmakta ve aynı zamanda tavuk ve balık gibi hayvan yemlerinde katkı maddesi olarak kullanılmak- tadır.

Beta-karoten gibi A vitamini ön maddesi özelliği gösteren karotenoid grubu maddelerin insan beslen- mesinde önemli bir rolü bulunmaktadır. Karotenoidlerin yağ ve su bazlı; bitkisel yağlar, margarin, peynir, don- durma, makarna, dondurulmuş, dondurulmuş ve kurutulmuş yumurta akı, yumurta sarısı, fırın ürünleri, şeker, diyetetik gıdalar, puding, çorba, jelatin bazlı tatlılar, meyve suları ve alkolsüz içecekler gibi gıdaların renklen-

dirilmesinde kullanımı teknik ve ekonomik olarak uygulanabilir olması nedeniyle yaygın olarak renklendirme amaçlı kullanılmaktadır.

Yapılan epidemiolojik çalışma sonuçlarına göre karotenoid içeriği yüksek meyve ve sebzelerin tüketiminin artması ile kansere yakalanma riski ve yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan hastalıkların riski azalmaktadır. Diğer taraftan beklenmeyen sonuçların alındığı araştırmalar da bulunmakta, sigara ve alkol içen, asbestosa maruz kalmış kişilerde karotenoid alımıyla kanserden ölümlerde artış olduğu gözlenmiştir. Umulmadık bu sonuçlar, birçok soru ve yoruma neden olmuştur. Buna bağlı olarak çeşitli hipotezler ileri sürülmesine karşın kesin veriler için daha fazla çalışma yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

KAYNAKLAR

- A.STORG, P. 1997. Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. Trends in Food Science and Tech. December, Vol.8, 406-413 s.
- BARTH, M.M.; ZHOU, C.; KUTE, K.M. ve ROSENTHAL, G.A. 1995. Determination of optimum conditions for supercritical fluid extraction of carotenoids from carrot (*Daucus carota* L.) tissue. J. Agric. Food Chem. 43: 2876-2878 p.
- BAUERNFEIND, J.C. 1972. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. J. Agr. Food. Chem. 20 (3): 456-472 s.
- BAYSAL, A. 1994. Karotenoidler: beslenme ve sağlık açısından önemi. Beslenme ve Diyet Dergisi, 153-159 s.
- BENDICH, A. ve OLSON, J.A. 1989. Biological actions of carotenoids. The FASEB Journal. June, Vol:3, 1927-1933 s.
- BIRTIGH, A.; JOHANNSEN, M. ve BRUNNER, G. 1995. Supercritical-fluid extraction of oil-palm componenets. The Journal of Supercritical Fluids. 8: 46-50 s.
- BLOCK, G. ve LANGSETH, L. 1994. Antioxidant vitamins and disease prevention. Food Technology, July, 80-84 s.
- BLOT, WJ.; LI, JY.; TAYLOR, PR. 1993. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. J. Natl. Cancer Inst. 85: 1483-1492 s.
- BORENSTEIN, B. ve BUNNELL, R.H. 1966. Carotenoids: Properties occurrence and utilization in foods. Advances in Food Research. Academic Press Inc.,New York/and London. Vol.15, 195-276 s.
- BRITTON, G. 1992. Carotenoids. Natural Food Colorants, Edited by G.A.F. Hendry and J.D. Houghton, Published in USA.by avi. An imprint of Van Nostrand Reinhold New York.
- CHANDLER, L.A. ve SCHWARTZ, S.J. 1987. HPLC separation of cis-trans carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables. J. of Food Sci. 52(3): 669-672 s.
- CHAO, R.R.; MULVANEY, S.J.; SANSON, D.R.; HSIEH, F. ve TEMPESTA, M.S. 1991. Supercritical CO2 extraction of Annatto (*Bixa orellana*) pigments and some characteristics of the color extracts. J. of Food Sci. 56(1): 80-83 s.
- CHARLEUX, JL. 1994. Renklendirici, koruyucu bir besleyici ve provitamin A olarak beta karoten. Gıda Sanayii 7 (3): 13-16 s.
- CONETT, J.E.; KULLER, L.H.; KJELSBURG, M.O.; POLK, B.F.; COLLINS, G.; RIDER, A. ve HULLEY, S.B. 1989. Relationship between carotenoids and cancer. Cancer 64: 126-134 s.
- DEGNAN, A.J.; VON ELBE, J.H. ve HARTEL, R.W. 1991. Extraction of Annatto seed pigment by supercritical carbondioxide. J. of Food Sci. 56(6): 1655-1659 s.
- FAVATI, F.; KING, J.W.; FRIEDRICH, J.P. ve ESKINS, K. 1988. Supercritical CO2 extraction of carotene and lutein from leaf protein concentrates. J.of Food Sci. 53(3): 1532-1536 s.
- GERSTER, H. 1992. Anticancerogenic effect of common carotenoids. Internat. J. Vit. Nutr. Res. 63: 93-121 s.
- GROSS, J. 1987. Pigments in fruits. Academic Press Inc. (London) Ltd. 24-28 Oval Road. London NW1 7DX. 87-186 s.
- HAKALA, S.H. ve HEINONEN I.M. 1994. Chromatographic purification of natural lycopene. J. Agric. Food Chem. 42: 1314-1316 s.
- HEINONEN, M.I.; OLLILAINEN, V.; LINKOLA, E.K.; VARO, P.T. ve KOIVISTOINEN, P.E. 1989. Carotenoids in finnish foods: Vegetables, fruits and berries. J. Agric. Food Chem. 37: 655-659 s.
- KHACHIK, F.; GOLI, M.B.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.; LUSBY, W.R.; TENORIO, M.D. ve BARRERA, M.R. 1992. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. J. Agric. Food Chem. 40: 390-398 s.
- KORNHAUSER, A.; WAMER, W.G.; LAMBERT, L.A. ve WEI, R.R. 1994. Betacarotene inhibition of chemically induced toxicity in vivo and in vitro. Food and Chem. Toxicology, 32 (2):149-154s.

- MARCHAND, L.L.; HANKIN, J.H.; KOLONEL, L.N.; BEECHER, G.R.; WILKENS, L.R. ve ZHAO, L.P. 1993. Intake of specific carotenoids and lung cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. May/June, Vol:2, 183-187 s.
- PACKER, L. 1992. Carotenoids Part A. Chemistry, separation, quantification and antioxidation. *Methods in Enzymology*. Vol.213, Academic Press, Inc.
- SADLER, G.; DAVIS, J. ve DEZMAN, D. 1990. Rapid extraction of lycopene and beta-carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *J. of Food Sci.* 55(5): 1460-1461 s.
- SIEMENSMA, A.D. 1996. Natural mixed carotenoids and supplementation of foods. *Quest International Nederland BV, P.O. Box 2, 1400 CA Bussum, The Netherlands*.
- SIEMENSMA, A.D. 1997. Functional carotenoids, Part 2. *The Journal on Food and Drink Ingredients*, No:2, 15-20 s.
- SIEMENSMA, A.D. 1997. Functional carotenoids. *The Journal on Food and Drink Ingredients*, No:1, 39-43 s.
- SPANOS, G.A.; CHEN, H. ve SCHWARTZ, S.J. 1993. Supercritical CO₂ extraction of beta-carotene from sweet potatoes. *J. of Food Sci.* 58(4): 817-820 s.
- STICH, H.F. ve ANDERS, F. 1989. The involvement of reactive oxygen species in oral cancers of betel quid/tobacco chewers. *Mutat Res.* 214:47-61 s.
- TAN, B. 1988. Analytical and preparative chromatography of tomato paste carotenoids. *J. of Food Sci.* 53(3): 954-959 s.
- TONUCCI, L.H.; HOLDEN, J.M.; BEECHER, G.R.; KHACHIK, F.; DAVIS, C.S. ve MULOZOZI, G. 1995. Carotenoid content of thermally processed tomato-based food products. *J. Agric. Food Chem.* 43: 579-586 s.
- VEGA, P.J.; BALABAN, M.O.; O'KEEFE, S.F. ve CORNELL, J.A. 1996. Supercritical carbon dioxide extraction efficiency for carotenes from carrots by RSM. *J. of Food Sci.* 61(4): 757-765 s.
- WEISBURGER, J.H. 1991. Nutritional approach to cancer prevention with emphasis on vitamins, antioxidants and carotenoids. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 226-237 s.
- ZIEGLER, R.G. 1991. Vegetables, fruits and carotenoids and the risk of cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 251-259 s.
- ZIEGLER, R.G.; SUBAR, A.F.; CRAFT, N.E.; URSIN, G.; PATTERSON, B.H ve GRAUBARD, B.I. 1992. Does beta-carotene explain why reduced cancer risk is associated with vegetable and fruit intake?. *Cancer Research (suppl.)* 52, 2060-2066 s.
- YURDAGEL, İ. 1971. Bezelye ve havuçların konserveye işlenmeleri sırasında çeşitli faktörlerin ve konservelerin farklı ısı derecelerinde muhafazalarının askorbik asit ile beta-karoten miktarlarına etkisi üzerine araştırmalar. *Doktora tezi, Bornova, İzmir*.