

29 385

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KADİFE ÇİÇEĞİNDEN (TAGETES L.)
EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE
LUTEİN ÜRETİMİ

Kim. Müh. Sevinç EREN

F.B.E. Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında
hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Mehmet PALA

İSTANBUL, 1993

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ŞEKİL LİSTESİ	iii
TABLO LİSTESİ	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ	1
2. YAYIN ÖZETLERİ	4
2.1. Kadife Çiçeğinin (<i>Tagetes L.</i>) Genel Özellikleri	5
2.2. Lutein: Tanımı ve Özellikleri	7
3. GIDA BOYALARININ SINIFLANDIRILMASI	12
4. GIDA BOYALARININ KULLANILDIĞI ALANLAR	17
5. KADİFE ÇİÇEĞİNDEN LUTEİN ÜRETİMİ	20
5.1. Materyal ve Yöntemler	20
5.1.1. Materyal	20
5.1.2. Yöntemler	20
5.1.2.1. Kullanılan Cihazlar	20
5.1.2.2. Kullanılan Solventler ve Kimyasal Maddeler	20
5.1.2.3. Örneklerin Hazırlanması	24
5.1.2.3.1. Manisa'dan Alınan Kadife Çiçeği Ekstraktının Hazırlanması	24
5.1.2.3.2. Kadife Çiçeklerinin Hazırlanması	24
5.1.2.4. Ekstraksiyon	24
5.1.2.5. Sabunlaştırma	25

5.1.2.6. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon	25
5.1.2.7. Saflaştırma	26
5.1.2.7.1. Kristalizasyon	26
5.1.2.7.2. Kolon Kromatografisi	26
5.1.2.8. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)	27
5.1.2.9. Spektrofotometrik Analiz	27
6. BULGULAR	29
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	56
EK	62
ÖZGEÇMİŞ	67



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Bazı karotenoidlerin kimyasal yapıları.	9
Şekil 2.2. Lutein'in kimyasal yapısı.	10
Şekil 3.1. Bazı sentetik organik boyaların kimyasal yapıları.	14
Şekil 3.2. Bazı doğal organik boyaların kimyasal yapıları.	16
Şekil 5.1. Tagetes erecta cinsi sarı renkli kadife çiçekleri.	21
Şekil 5.2. Tagetes tenuifolia cinsi kırmızı-kahverengi renkteki kadife çiçekleri.	22
Şekil 6.1. Lutein standartının, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	33
Şekil 6.2. Zeaksantin standartının absorbans, grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	34
Şekil 6.3. E4 Sabunlaşma sonrası ürünün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	35
Şekil 6.4. E4 Kolon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	36
Şekil 6.5. E5 Kristalizasyon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	37
Şekil 6.6. E6 Sabunlaşma sonrası ürünün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	38
Şekil 6.7. E6 Kolon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	39
Şekil 6.8. T1 Kristalizasyon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	40
Şekil 6.9. T2 Kristalizasyon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	41
Şekil 6.10. T2 Kolon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	42
Şekil 6.11. T3 Kolon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	43
Şekil 6.12. K Sabunlaşma sonrası ürünün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.	44

	Sayfa
Şekil 6.13. K Kristalizasyon ürününün, absorbands grafiği ve maksimum absorbands değerleri.	45
Şekil 6.14. K Kolon ürününün, absorbands grafiği ve maksimum absorbands değerleri.	46
Şekil 6.15. Kadife çiçeği ekstraktundan lutein eldesinin genel akış şeması.	48
Şekil 6.16. Yaşkadife çiçeği petallerinden lutein eldesinin genel akış şeması.	49
Şekil 6.17. Örneklerin TLC sonuçları.	52
Şekil 6.18. Örneklerin TLC sonuçları.	53



TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. <i>Compositae</i> familyasına ait bazı önemli bitkiler	6
Tablo 2.2. En önemli karotenoid türleri ve bulundukları kaynaklar.	10
Tablo 6.1. Kadife çiçeği ekstraktı ile yapılan çalışmalar ve sonuçları.	30
Tablo 6.2. Yaş kadife çiçeği petalleri ile yapılan çalışmalar ve sonuçları.	32
Tablo 6.3. Örneklerin hesaplanan soğurma faktörleri ve saflık yüzdeleri.	50
Tablo E.1 Gıda Maddeleri Tüzük ve Yönetmeliği'ne göre Türkiye'de gıdalarda kullanılmasına izin verilen gıda boyaları.	62



TEŞEKKÜR

Başta, bu tezi bana verip, çalışmalarımı TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezin, Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirmemi sağlayan Prof. Dr. Mehmet Pala'ya, araştırmalarım bilgi ve deneyimleri ile katkıda bulunan Doç. Dr. Huriye Wetherilt'a ve yardımlarını benden esirgemeyen TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezin, Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü çalışanlarına, ayrıca tüm çalışmalarım boyunca, benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.



ÖZET

Bu çalışmada, doğal bir gıda boyası olan luteinin, kadife çiçeğinden değişik ekstraksiyon ve saflaştırma yöntemleri denenerek, yüksek saflıkta ve verimde üretimi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda sarı renkli *Tagetes erecta*, turuncu renkli *Tagetes erecta* ve Kırmızı-kahverengi renkteki *Tagetes tenuifolia* cinsi çiçekleri ve Natürel A.Ş. (Manisa) firması'ndan sağlanan hazır kadife çiçeği ekstraktı, kaynak olarak kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda, kadife çiçeklerinden lutein üretimi için en uygun ekstraksiyon, sabunlaştırma ve saflaştırma yöntemleri bulunmuştur. Ayrıca, yukarıda belirtilen dört ayrı kaynağın lutein içeriği belirlenerek, endüstriyel ölçekte lutein üretimi için en ekonomik kaynağın hangisi olduğu belirlenmiştir.

Çalışmanın devamında, lutein ekstraktını saflaştırmak için kullanılan kolon kromatografisi ve kristalizasyon yöntemleri karşılaştırılıp, avantaj ve dezavantajları belirlenmiş ve hangi saflaştırma yönteminin endüstriyel ölçekte lutein eldesi için daha ekonomik ve verimli olacağı ortaya çıkartılmıştır.

Sonuç olarak, kadife çiçeklerinden lutein üretiminde, turuncu renkli *Tagetes erecta* ve Kırmızı-kahverengi renkteki *Tagetes tenuifolia* cinsi kadife çiçeklerinden lutein üretiminin daha ekonomik olduğu saptanmıştır. Ekstraksiyon işlemi için etilasetatın, en uygun çözücü olduğu görülmüştür. Saflaştırma yöntemlerinden, kolon kromatografisi ile %100 saflıkta lutein elde edilirken, kristalizasyon ile ancak %60 saflıkta lutein elde edildiği bulunmuştur. Buna karşılık kolon kromatografisinin çok pahalı ve komplike bir sistem olması, endüstriyel ölçekte lutein üretimi için kristalizasyon işleminin daha uygun kılmaktadır. En son olara, yapılan tüm çalışmalar sırasında, ortamın nem, ışık ve sıcaklığının son ürün saflığına da etki ettiği görülmüştür. Nem oranı yüksek, fazla sıcak ve bol ışıklı bir ortamda yapılan çalışmalarda, üretilen luteinin saflığı ve ürün verimi önemli ölçüde düşmektedir.

ABSTRACT

In this study , it was aimed to produce lutein, a kind natural food colorant, in high purity and yield from *Tagetes L.* (Marigold) by testing different extraction and saponification methods. Therefore, yellow *Tagetes erecta*, orange *Tagetes erecta* , red-brown *Tagetes tenuifolia* and Tagetes extract, which was supplied from Natürel A.Ş. (Manisa) were used as source material.

Furthermore, the most convenient and economical extraction, saponification and purification methods were determined.

The advantages and disadvantages of column chromatography and crystallization methods, which are used for purifying the lutein extract, were identified and the method most suitable for lutein production at industrial scale was determined.

As a result of this study, it was established that orange *Tagetes erecta* and red-brown *Tagetes tenuifolia* are economically the best sources, in the production of lutein from *Tagetes L.* (Marigold) flowers. Ethyl acetate was found to be most suitable solvent for the extraction process.

While column chromatography method gives 100% pure lutein, with crystallization the purity is only 60%. Since column chromatography is a very expensive and complicated method, crystallization method is more suitable for industrial scale lutein production.

1. GİRİŞ

Gıdaların rengi en önemli kalite faktörleri arasında sayılmaktadır. Bir gıda maddesi, şekline, kokusuna, rengine ve tadına bakılarak tanımlanabilir. Bu dört unsurdan bir tanesi eksik olduğunda, kesin ve doğru bir tanımlama yapması güçleşir. Renkler ayrıca, satışa sunulan gıdaların taze olup olmadığı konusunda tüketiciye bilgi verir. Rengin özellikle insanlar üzerinde ne kadar etkili olduğu yapılan pek çok psikolojik testle kanıtlanmıştır. Örneğin, tüketicilerin meyve ya da sebze satın alırken önce rengine, daha sonra şekline, büyüklüğüne ve en sonunda da tat ve kokusuna baktıkları yapılan anketler sonucunda ortaya çıkarılmıştır. Gıdalarda renk unsurunun tüketiciyi ne kadar etkilediği yapılan deneylerle gözler önüne serilmiştir. Örneğin belirgin turuncu renk ile renklendirilen ananas suları deneklere portakal suyu olarak sunulmuş ve deneklerden hiçbir negatif tepki gelmemiştir. Bir başka deneyde ise vanilya aromalı kahverengi renkte ve çikolata aromalı beyaz renkte iki dondurma çeşidi deneklere tattırılmış, yapılan bu tat paneli sonucunda deneklerden yüzde doksanınin kahverengi renkteki dondurmanın çikolatalı, beyaz renktekinin ise vanilyalı olduğu sonucuna vardıkları saptanmıştır (Fox, 1976).

Ondokuzuncu yüzyılın ortalarına kadar, insanoğlu gıdalarını sadece bitkisel, hayvansal ya da mineral kaynaklı doğal renk maddeleri ile renklendirebiliyordu. Zamanla organik kimyada kaydedilen önemli gelişmeler ve gıda boyalarının sentetik olarak üretilmesi, gıda maddelerinin renklendirilmesine yepyeni bir boyut getirmiştir.

Eskiden gıdalar sadece evlenme, doğum, ölüm, dinsel törenler ya da festivaller gibi önemli günlerde renklendirilirken, günümüzde, en sık kullandığımız yiyecek maddelerinde dahi renk katkı maddelerine rastlamak mümkündür. Bunun en büyük nedeni tüketime sunulan gıdalardan pek çoğunun belirli bir proses uygulandıktan sonra satışa sunulmasıdır.

Uygulanan prosesin cinsi ne olursa olsun gıdada önemli bir renk, tat ve koku kaybı meydana gelmekte, ürün eski canlılığını ve çekiciliğini yitirmektedir. Bu nedenle ürünlerdeki renk, tat ve koku kayıplarını en aza indirmek, ya da bu kayıpları geri kazanmak için ek işlemler yapılır. Proses sırasında kaybedilen rengin ürüne yeniden kazandırılabilmesi için de renk katkı maddeleri kullanılır.

Renk maddelerinin gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmasının diğer bir önemli nedeni ise tüketicinin dikkatini çekerek ürünün albenisini yükseltebilmektir.

İngiltere'de yaşanan bir olay üreticilerin renk katkı maddeleri üzerinde neden bu kadar önemle durduklarını kısaca özetler. Bu ülkede konserve bezelye, en çok tüketilen sebzeler listesinde patatesten sonra ikinci sırada yer almaktadır. Konserve bezelye üretimi sırasında uygulanan ısıt işlemler, bezelye tanelerinin parlak yeşil rengini yitirerek, mat grimsi-yeşil bir renk almalarına neden olmaktadır. Bu nedenle üreticilerin hemen hemen hepsi son ürünü renk maddeleri ile boyayarak, pazar payını yükseltirler. Ancak yapılan klinik deneyler sonucunda, konserve bezelyelerde kullanılan bu renk katkı maddelerinin insanlar üzerinde allerjik reaksiyonlar gibi çeşitli olumsuz tepkilere neden oldukları saptanmış ve bunun üzerine devlet tarafından çıkarılan bir yasa ile konserve bezelyelerde renk katkı maddelerinin kullanımı tamamı ile yasaklanmıştır. Ancak bu kanunun yürürlüğe konmasını izleyen diğer günlerde, konserve bezelye tüketiminde gözle görülür bir düşüş saptanmıştır. Bu durum pek çok üreticiyi zor durumda bırakmış, pek çok işçinin işten çıkarılmasına neden olmuştur. Bir süre sonra gerek tüketicilerden, gerekse üreticilerden gelen yoğun baskılar sonucu hükümet söz konusu yasayı değiştirerek renk katkı maddelerinin belirli miktarlarda kullanılmasını sağlayacak yeni bir yasa çıkarmıştır (Goldenberg, 1977).

Gıda boyalarının kullanılma nedenleri kısaca aşağıda özetlenmiştir;

- 1) Uygulanan ısıt işlem ve koruma yöntemleri nedeni ile, doğal rengini yitirmiş gıdalara eski renklerini yeniden kazandırabilmek.
- 2) Olumsuz depolama koşulları nedeni ile üründe meydana gelen renk değişimlerini azaltmak.
- 3) Son ürünlerdeki renk yoğunluğunu sabitleştirmek.
- 4) Doğal renk yoğunluğunu güçlendirmek (örneğin; meyveli yoğurt üretiminde, kullanılan meyve, üründe yeterince renk yoğunluğu sağlayamamışsa).
- 5) Alkolsüz içecekler, tatlılar, pastalar ve dondurmalar gibi genelde renksiz ya da az renkli gıdaları ticari açıdan çekici hale getirebilmek.
- 6) Işık şiddetine bağlı olarak, zamanla doğal renklerini yitiren gıdalarda bu kayıpları karşılayabilmek.
- 7) Tüketicinin beğenisini kazanmak ve satınalma isteği uyandırmak.

Buradan da anlaşıldığı gibi, renk katkı maddeleri gerek ürünlerin albenisinin yükseltilmesi ve gerekse teknolojik açıdan büyük önem taşımaktadır.

Son yıllarda, tüketicilerde doğal ve doğala özdeş gıda maddelerine karşı büyük bir ilgi artışı gözlenmiştir. Bunun nedeni sentetik katkı maddelerinin, hassas kişilerde allerjik kökenli hastalıklara, zehirlenmelere, bebeklerde kalıcı zihinsel ve bedensel bozukluklara, zamanla vücutta birikim yaparak tümör oluşumuna ve hatta ölümlere yol açtığı yapılan klinik deneyler sonucunda saptanmış olmasıdır. Doğal gıda katkı maddelerinin bu gibi olumsuz sonuçlara yol açmaması tüketici tercihinin bu yöne kaymasına neden olmuştur.

Bu çalışmada ele alınan lutein, daha çok dünyada tavukçuluk ve yumurta tavukçuluğunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Modern çiftliklerde yetiştirilen et tavuklarında, deri ve etteki sarımsı renk, tavuğun albenisini yükseltmektedir. Aynı şekilde, yumurta sarısının parlak ve koyu sarı olması tüketicinin tercih nedeni olmaktadır. Bu nedenle, kadife çiçeğinden elde edilen lutein ve lutein türevleri, et ve yumurta tavuklarının beslenme rejimlerinde vaz geçilmez bir unsur olmuştur. Lutein, ayrıca karotenoid grubundan bir madde olması nedeni ile gerek kanser, gerekse kalp hastalıkları üzerinde koruyucu etki göstermesi yönüyle de bilim dünyasında oldukça büyük ilgi çekmektedir. Ancak lutein çok pahalı bir boya maddesi olup, ülkemizde ekstraksiyonu ve saflaştırması yapılmadığından, döviz karşılığında yurt dışından ithal edilmektedir. Buna karşın, ülkemizde kolaylıkla yetiştirilebilen kadife çiçeğinden lutein elde edilmesi için uygun bir ekstraksiyon ve saflaştırma yönteminin geliştirilmesi, ekonomimize önemli ölçüde katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada, kadife çiçeklerinden değişik ekstraksiyon ve saflaştırma yöntemleri denenerek, yüksek saflıkta ve verimde lutein üretimi amaçlanmıştır. Bunun için sarı renkli *Tagetes erecta*, turuncu renkli *Tagetes erecta*, kırmızı-kahverengi renkteki *Tagetes tenuifolia* cinsi çiçekler ve Natürel A.Ş. (Manisa) firmasından temin edilen hazır kadife çiçeği ekstraktı kaynak olarak kullanılmıştır.

2. YAYIN ÖZETLERİ

İnsanoğlu, ilk çağlardan beri gıdalarını çeşitli amaçlar doğrultusunda renklendirmektedir. Kullanıldığı bilinen, en eski boya indigo mavisidir. Özellikle Mısır'da, M.Ö. 2000 yılından beri indigo mavisinin kullanıldığı, firavun mezarlarında yapılan çalışmalar sonucu saptanmıştır (Linstromberg, 1989). Amerika kıtasının keşfinden sonra, Azteklerin kırmızı böceğinden elde edilen kırmızı rengi yiyeceklerinde kullandıkları belirlenmiştir (Pelham, 1963). Bunun dışında Ortaçağda, İngiltere'de şekerin yakılması ile elde edilen karamelin sadece soylular tarafından kullanılabilirdi, o dönemde bestelenmiş şarkılardan anlaşılmaktadır. Yine Eski Mısır'da firavunların şerefine verilen yemeklerin altın ve gümüş yaldızlarla süslendiği bilinmektedir (Bishop, 1971). Ayrıca Romalıların çok uzun yıllardan beri şaraplarını kıızıcık, böğürtlen gibi meyvelerin öz suları ile renklendirdikleri (Chambers Ansiklopedisi, 1972), Lübnan'da bir tür salyangozdan elde edilen Tyrian morunun sadece soylular tarafından kullanılabilirdi (Linstromberg, 1989), Orta Asya ve Uzak Doğu Asya'da safran ve zerdeçalın yaygın olarak kullanılmış olduğu elimize geçen bulgulardan anlaşılmaktadır.

William Perkin'in, 1856 yılında bir rastlantı sonucu sentetik olarak leylak rengini elde etmesi ile gıdaların renklendirilmesi yepyeni bir boyut kazandı (Walford, 1980). Daha sonra 1870 yılında bir kökboya bitkisinin köklerinden elde edilen alizarin, sentetik olarak elde edildi. İndigo mavisi ise ilk olarak 1880 yılında Baeyer tarafından sentezlendi (Linstromberg, 1989).

Son yıllarda, başta karotenoid grubu boyalar olmak üzere, pek çok doğal gıda boyası üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Örneğin; Premachandra (1984), birçok meyve ve sebzede pro-vitamin A aktivitesi gösteren karotenoidleri araştırmıştır. Jorgensen ve arkadaşları da (1990), gıda boyası olarak kullanılan karotenoidlerin, ışığa karşı olan duyarlılıklarını incelemiştir. Raymundo ve arkadaşları (1976) ise aynı incelemeyi domates için yapmışlardır. Yine Kearsley ve arkadaşları da (1981), aynı konuda araştırmalar yapmışlar ve ayrıca karotenoidlerin pH, su aktivitesi, sıcaklık ve değişik depolama koşullarındaki kararlılıklarını incelemişlerdir. Lee (1986) ise, havuçların üretim ve depolama sırasındaki karotenoid miktarı değişimlerini incelemiştir. Khachik ve arkadaşlarının (1986, 1988 ve 1989) yaptıkları çalışmalar sonucunda, kayısı, şeftali, kantalup kavunu, greyfurt, brokoli, ıspanak ve lahanadaki klorofil ve başlıca karotenoid türlerini ve bunların cis-trans isomerlerini kromatografik yöntemle saptamışlardır. Değişik bir çalışma ise Emmam ve arkadaşları (1990)

tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, karotenoidler portakal kabuğundan enzimler yardımı ile ekstrakte edilerek sınıflandırılmıştır. Bundan başka Chen ve arkadaşlarının (1992) su teresindeki klorofil ve karotenoid türlerini kromatografik yöntemle saptadıkları belirtilmiştir.

Bu çalışmanın konusu olan lutein üzerinde pek çok bilimsel araştırmanın gerçekleştirildiği, yapılan literatür taramaları sonucunda belirlenmiştir. Özellikle, kadife çiçeği ve yoncadan lutein üretimi üzerine pek çok kaynak bulunmuştur. Lauren ve arkadaşları (1986), yonca içerisindeki karotenoidleri, özellikle luteini basit kromatografik yöntemlerle incelemişlerdir. Livingston ve arkadaşları (1968) ise yine yoncadan pilot ve endüstriyel ölçekte lutein eldesindeki kayıpları incelemiştir. Philip ve arkadaşları (1975), kadife çiçeğinden elde edilen luteinin asilasyonu üzerine çalışmalar yürütmüşlerdir. Tyczkowski ve arkadaşları (1991), kadife çiçeğinden ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen lutein ve onun diesterlerinin saflaştırılması üzerine çalışmalar yapmışlardır. Gau ve arkadaşları da (1983) kadife çiçeğinden elde edilen luteinin yapısını kütle spektrofotometresi ile incelemişlerdir. Rivas (1989) ise kadife çiçeği ekstraktından lutein eldesinde sabunlaştırma süresinin ürün verimine olan etkisini belirlemiştir.

2.1. Kadife Çiçeğinin (*Tagetes L.*) Genel Özellikleri

Ülkemizde ve dünyanın pek çok bölgesinde çoğunlukla süs bitkisi olarak yetiştirilen kadife çiçeğinin ana vatanları başta Arjantin, Meksika ve Arizona'dır (Camp et al., 1957). Amerika kıtasının keşfi ile bu çiçek tüm Avrupa'ya, buradan da Afrika ve Asya ülkelerine dağılmıştır. Türkiye'de hemen hemen her yörede rahatlıkla yetiştirilebilen kadife çiçeği, özellikle Ege Bölgesinde yaygın olarak görülür. Doğal olarak yetiştiği bilinen 30 türü vardır. *Compositae* (*Asteraceae*) familyasının bir üyesi olan kadife çiçekleri bir yıllık otsu bitkilerdendir. *Compositae* familyası çiçekleri bileşik durumda olan önemli bir familyadır. Bu familya yaklaşık 1,000 cins ve 23,000 türü içerir (Porter, 1959). Önemli türler Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. *Compositae* familyasına ait bazı önemli bitkiler (Tırman, 1987 ve Jaques, 1949).

Adı	Latince adı
Peygamber çiçeği-Belemir	<i>Centounea cynus</i>
Ayçiçeği	<i>Heliantus annus</i>
Yıldız çiçeği-Dalya	<i>Dahlia variabilis</i>
Kasımpatı-Krizantem	<i>Chrysanthemum indicum</i>
Aynısafa	<i>Calendula officinalis</i>
Zinya	<i>Zinnia elegans</i>
Papatya	<i>Matricaria chemomilla</i>
Margarita	<i>Margaret chrysanthemum maximum</i>
Ölmez çiçek	<i>Helipterum roseum</i>
Kadife	<i>Tagetes L.</i>
Kosmos	<i>Kosmos bipinatus</i>
Alp yıldızı	<i>Leontopodium alpinum</i>
Enginar	<i>Cynara scolymus</i>
İskorçina	<i>Tragopogon orientalis</i>
Hindiba	<i>Cichorium intybus</i>

Kadife çiçeğinin yaprakları tek veya almalı sıralanmıştır. Çiçekleri uzun bir sap üzerinde, teker teker veya bir çoğu bir arada başcıklar halinde bulunur. Çiçekler kahverengi, kırmızı, sarı, sarı-turuncu veya alaca renklidir. Yaprak ve çiçekleri keskin kokuludur. Kış sonu ilkbahar başlangıcında seralarda özel kasalara ekilen tohumlar kısa bir süre sonra çimlenmeye başlar. Genç fide haline gelinceye kadar seralarda bakımı yapılan kadife çiçekleri daha sonra açık mekanlara taşınır. Genellikle Mayıs ayı başlarında bahçelere veya saksılara ekilen fideler, iklim koşullarına ve toprağın besin içeriğine göre 15-30 gün süre sonunda çiçek açmaya başlar. Bütün bir yaz mevsimi boyunca açan çiçekler, Eylül-Ekim aylarında ömürlerini tamamlarlar. Kadife çiçeklerinin çok çeşitli kültür formları ve melezleri vardır. Bodur melezler bordürlerde ve balkon kasalarında saf gruplar halinde, saksılarda; boylu ve iri çiçekliler kesme çiçek yetiştiriciliğinde kullanılırlar. En önemli türleri şunlardır;

***Tagetes erecta L.* - Afrika kadifesi**

40-50 cm boyunda bir yıllık otsu bir bitkidir. Çok iri 5-10 cm çapındaki çiçekler sap ucunda teker teker bulunur. Çiçekler sarı veya turuncu renktedir.

***Tagetes patula* L. - Fransız kadifesi**

30-60 cm boyunda bir yıllık otsu bir bitkidir. Dalları morumsu veya kahverengi kırmızımsı renktedir. Çiçekler küçük 4-5 cm çapında, genellikle kırmızı lekelerle sahiptirler.

***Tagetes tenuifolia* cav.**

30-60 cm boyunda bir yıllık bir bitkidir. Çiçekleri oldukça küçük 2-2.5 cm çapında, bol sayıda, sarı veya kırmızı kahve renklidir.

Kadifelerde özellikle *T. erecta* ile *T. patula*'nın pek çok melez ve kültür formları vardır. Bunlar çeşitli çiçek renklerinde, yalınkat, katmerli, yarı boylu, boylu veya bodur çeşitlerdir. En önemlileri aşağıda verilmiştir;

Bodur Fransız kadifesi: 20-30 cm boyunda bodur bitkilerdir. İdeal yastık çiçekleridir. Çok bol çiçek açarlar. Bir gramda 300 tohum bulunur. Tohumlar 21°C'de 7 günde çimlenir.

Triploid melezler (*T. petulax erecta*): 30-40 cm boyundadırlar. Çok erken ve bol çiçek açarlar. Çiçekleri yaz boyunca devam eder. Tohum vermezler. İdeal yastık bitkileridir.

Bodur katmerli Afrika kadifeleri (*T. erecta*): 20-30 cm boyunda bitkilerdir. Çiçekleri 10-12 cm çapında, limon ve portakal sarısı renktedir. Yastık ve saksı bitkisi olarak kullanılır.

Boylu Afrika kadifeleri: 75-80 cm boyunda, çiçekleri iri 10-12 cm çapındadır. Kesme çiçek olarak kullanılır.

2.2. Lutein: Tanımı ve Özellikleri

Lutein, okside olmuş karotenoidlerin (ksantofiller) bir üyesidir. Karotenoidler, doğada bitki ve hayvanların bir çoğunda çok sık rastlanılan sarı ve kırmızı pigmentlerdir. Yeşil bitkilerde klorofil, hücre içerisinde daima karotenoidlerle (karoten ve/veya lutein) birlikte bulunur. Karotenoidlerin fotosentez işlemi sırasında klorofile yardımcı oldukları sanılmaktadır. Karotenoidler ayrıca lipokrom ya da kromolipid olarak da tanımlanırlar, çünkü bunlar yağda çözünebilir pigmentlerdir. Konsantre sülfürik asit ve antimon triklorid'in kloroformlu çözeltisi ile karotenoidler koyu mavi

bir renk verirler. Bu reaksiyona Carr-Price reaksiyonu adı verilir. Bazı karotenoidler karoten olarak adlandırılan hidrokarbonlardır. Diğer karotenoidler ise karotenlerin oksidasyona uğramış türevleri olan ksantofillerdir.

Kimyasal açıdan karotenoidler polienler grubundandır ve hemen hemen bütün hidrokarbon karotenoidlerin kimyasal formülü $C_{40}H_{56}$ 'dır. Bu komponentlerin ana çatısını oluşturan karbon zinciri poliisopren yapısında olduğu için karotenoidler tetraterpenoid olarak kabul edilirler. Tetraterpenoidlerin yapısı ortada bir fitol zinciri ile bu zincirin iki ucunda ya asiklik ya da monosiklik yapıda birer monoterpenoid parçadan oluşur. Ortadaki fitol zinciri 20 karbonludur. Şekil 2.1'de bazı karotenoidlerin kimyasal yapıları verilmiştir.

Karotenoidler günümüzde sadece gıda boyası olarak kullanılmamaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda bazı karotenoidlerin kansere karşı koruyucu etkilere sahip oldukları kanıtlanmıştır. Özellikle β -karotenin, mide, göğüs, rahim ve akciğer kanserlerinin riskini azalttığı bildirilmektedir (Staheli et al., 1984; Menkes et al., 1986; Wald et al., 1988; Krinsky, 1988; Williams et al., 1990; Rohan, 1988; Palan et al., 1988).

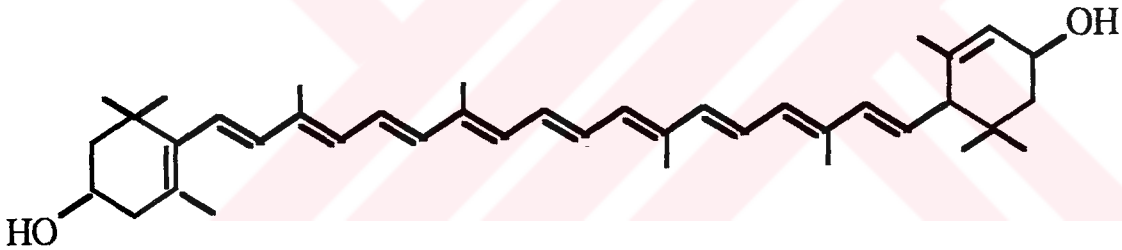
Başlıca karotenoid türleri ve bulundukları kaynaklar Tablo 2.2'de verilmiştir.

Lutein, ($C_{40}H_{56}O_2$), pek çok yeşil bitkide hücre içerisinde klorofil ile birlikte bulunur, ancak en önemli kaynakları kadife çiçeği (*Tagetes L.*) petalleri ve yoncadır (*Alfalfa*). Erime noktası $193^{\circ}C$ olmasına karşın, lutein $50^{\circ}C$ 'nin üzerindeki sıcaklıklarda bozulur. Ayrıca şiddetli ışığın, foto-oksidasyon yoluyla, renk yoğunluğunda azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (Jorgensen et al., 1990). Oksijenden de çabuk etkilenecek yapısal degradasyona uğrar. Şekil 2.2'de lutein'in kimyasal yapısı gösterilmiştir.

Şekil 2.1. Bazı karotenoidlerin kimyasal yapıları.

Tablo 2.2. En önemli karotenoid türleri ve bulundukları kaynaklar.

<u>Karotenoid türü</u>	<u>Adı</u>	<u>Kaynağı</u>
Karoten	β -Karoten	Havuç, palm yağı, mısır
	Likopen	Domates
Ksantofil	Kriptoksanten	Mısır yağı, kırmızı biber
	Viyolaksantin	Portakal kabuğu
	Astasin	Yengeç, karides ve istakoz gibi kabuklu deniz hayvanları
	Rubiksanten	Rosa rubinosa (Gül türü meyveler)
Apokarotenoid	Lutein	Kadife çiçeği (Tagetes L.), yonca
	Bixin	Annatto
	Krosetin	Safran



Şekil 2.2. Lutein'in kimyasal yapısı

Kadife çiçeğinden izole edilen lutein, yaygın olarak tavuk çiftliklerinde yumurta sarısına zengin bir renk kazandırabilmek ve kesim için beslenen tavukların derilerine açık sarı bir renk vererek ürünlerin pazar şansını yükseltmek için kullanılır (Rivas,1989). Fletcher ve arkadaşları (1982, 1983 ve 1985) kadife çiçeği ve biberden elde edilen luteinin, yumurta ve et tavuklarının diyetlerindeki etkilerini incelemişlerdir. Guenther ve arkadaşları (1973) ise aynı çalışmayı mısır, kadife çiçeği ve yoncadan elde edilen lutein ile gerçekleştirmişlerdir. Bundan başka, Japonya'da "Yellowtail" türü süs balıklarının beslenmelerinde (Takii et al., 1991) ve Amerika Birlik Devletleri'nde "Çelikbaş Alabalık" türü balıkların yetiştirilmesinde, yemlerde renk

katkı maddesi olarak (Simpson et al., 1979) kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca portakal suyu ve konsantresinde renk verici madde olarak kullanılmaktadır (Wild et al., 1981 ve Philip et al., 1989). İtalya'da şarap yapımında renk verici madde olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Grigorescu et al., 1986). Bunun dışında Bağımsız Devletler Topluluğu'nda, şekerleme, tereyağı, bisküvi, karamel, likör ve votka endüstrilerinde kullanımı için çalışmalar vardır (Kasumov, 1984 ve Kasumov, 1991). En son olarak dekoratif amaçlı, renklendirilmiş yiyecek kompozisyonlarında kullanılmak üzere çalışmalar yapıldığı bildirilmiştir (Best et al., 1985).



3. GIDA BOYALARININ SINIFLANDIRILMASI

Gıda boyalarını genel olarak Sentetik ve Doğal Gıda Boyaları olmak üzere iki ana grupta incelemek mümkündür. Her iki grupta, kendi aralarında kimyasal yapıları bakımından çeşitli alt gruplara ayrılırlar (Walford, 1980).

GIDA BOYALARI

<u>Sentetik gıda boyaları</u>	<u>Doğal gıda boyaları</u>
A) Sentetik organik boyalar	A) Organik doğal boyalar
1- Azo grubu boyalar	1- Karotenoid grubu boyalar
2- Triarilmetan grubu boyalar	2- Antosiyanin grubu boyalar
3- Ksanten grubu boyalar	3- Betalein grubu boyalar
4- Kinolin grubu boyalar	4- Propirin grubu boyalar
5- İndigoid grubu boyalar	5- Kininoid grubu boyalar
B) Polimerik boyalar	6- Melanoidin grubu boyalar
C) Lake boyalar	7- Diğer organik boyalar
	*Riboflavin
	*Turmerik
	*İndigotin
	*Bitkisel karbon
	B) İnorganik doğal boyalar

Sentetik boyalar çeşitli kimyasal reaksiyonlar kullanılarak sentezlenen yüksek saflık derecelerine sahip boyalardır. Her üretilen yeni renk, FDA "Gıda ve İlaç Yönetmeliği", EEC "Avrupa Ekonomi Komitesi" ya da Color Index "Renk İndeksi" tarafından test edilerek kimyasal özellikleri ve toksikolojik etkileri saptanır ve bir kod

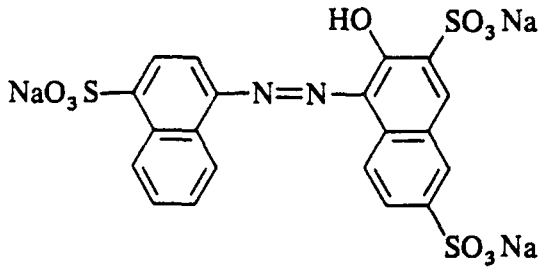
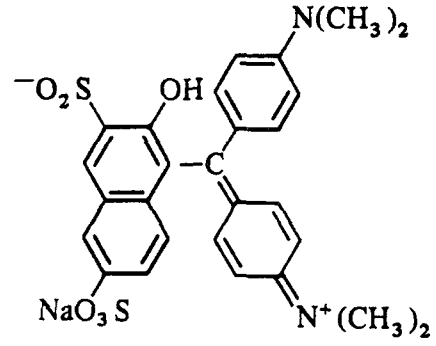
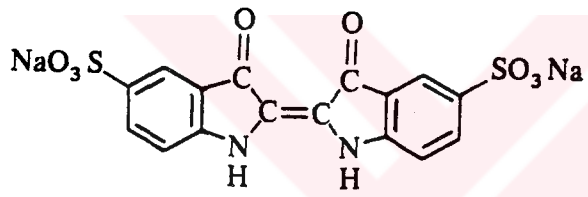
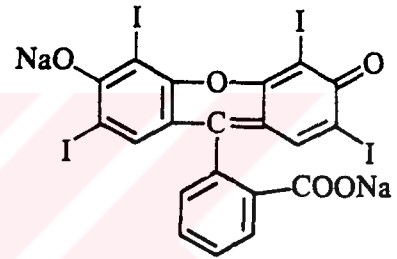
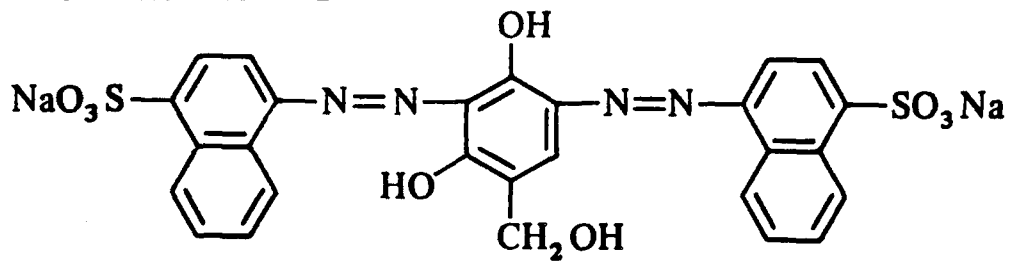
numası verilir. Örneğin; Red No 2 (FDA), Yellow No 5 (FDA), E123 (EEC), E151 (EEC), 16185 (CI), Red 9 (CI Food No) gibi.

Sentetik organik boyalar sadece gıda endüstrisinde değil, tekstil, deri, otomobil endüstrisi gibi pek çok alanda da yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde en fazla kullanılan sentetik organik boyalar azo grubu boyalardır. Azo grubu boyalar içerdikleri azo grubu ($N=N$) sayısına göre monoazo, disazo, triazo ya da poliazo olarak adlandırılırlar. Kırmızı, sarı, turuncu, mavi, menekşe, yeşil, kahverengi ve siyah renklerinin her tür tonunu içeren azo grubu boyalardan sadece yeşil renktekiler gıda endüstrisinde kullanılmazlar. Şekil 3.1.'de bazı sentetik organik boyaların kimyasal yapıları gösterilmiştir.

Polimerik boyalar son yıllarda üzerinde en çok çalışılan makro molekül yapıdaki sentetik boyalardır. Renkler polimer zincirindeki amino gruplarına (N-C) bağları ile kovalent olarak bağlanmıştır. Reaksiyon, amino grupları ile genelde kolaylıkla ve süratle reaksiyona girebilen öncü boyaların tepkimesi ile yürür. Reaksiyonların çoğu oda sıcaklığında ve su içinde meydana gelir. Burada hava oksitlenmeyi sağlamaktadır. Bu tip reaksiyonlar bir makromoleküle birden fazla rengi bağlayabilme kolaylığı sağlamakta ve böylece hemen hemen her tonda kararlı renk karışımları elde edilmesine olanak vermektedir.

Lake boyalar, sentetik organik boyaların alüminyum ya da kalsiyum tuzu gibi bir taşıyıcı madde ile kimyasal yollarla birleştirilerek, su dışındaki bütün çözücülerde çözünebilir bir forma getirilmesi ile elde edilir.

Sentetik organik boyalar ucuz olmaları, her zaman yüksek saflıkta elde edilebilmeleri, düşük pH derecelerine, yüksek ısı ve şiddetli ışığa karşı dayanıklı olmaları nedeni ile diğer boyalara göre tercih nedenidirler (Moore, 1991). Ancak, sentetik organik boyaların çeşitli allerjik reaksiyonlara, zehirlenmelere, küçük yaştaki çocuklarda zeka geriliklerine neden olmaları ve zamanla vücutta birikim yaparak kanser riskini arttırmaları gibi pek çok yan etkileri vardır.

Amaranth**Green S****Indigo Carmine****Erythrosine BS****Chocolate Brown HT**

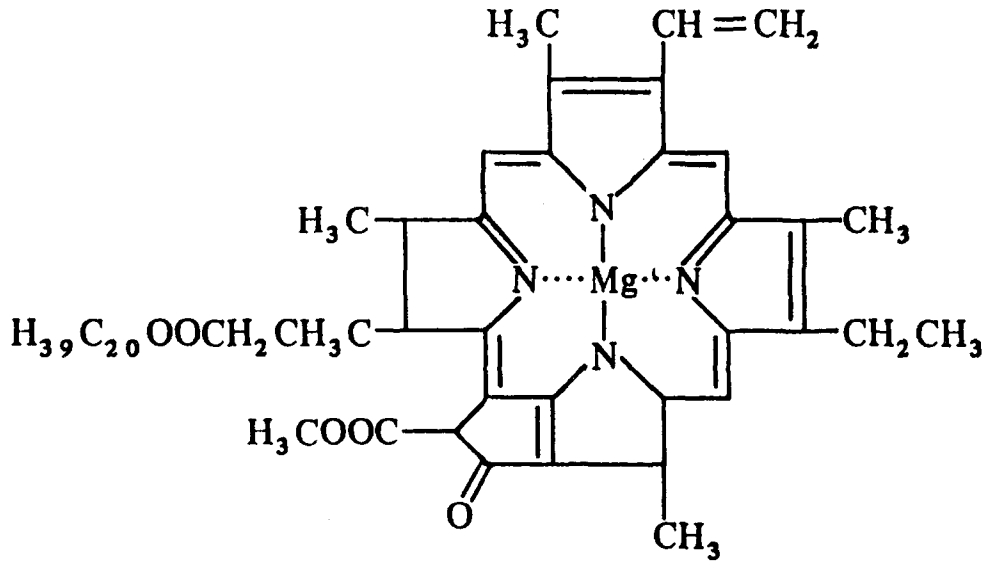
Şekil 3.1. Bazı sentetik organik boyaların kimyasal yapıları.

Lake boyalar, sentetik organik boyalara göre daha pahalıdır, ancak çok yüksek sıcaklıktaki termal proseslere daha dayanıklıdır; katıldıkları gıda içerisinde çabuk dağılırlar ve homojen bir görünüm kazanırlar. Ayrıca lake boyalar yağda çözünme özellikleri nedeni ile şekerlemelerde, hazır toz yiyecek ve içeceklerde, unlu mamüllerde çok daha iyi sonuçlar verirler.

Polimerik boyalar, büyük makro moleküler yapıda oldukları için insan vücudunda sindirilemezler. Bu nedenle teorik olarak toksik özellik göstermezler; ancak, bağırsak sistemimizdeki asidik, bazik ve enzimatik şartların polimerik boyalar üzerindeki etkilerinin araştırılması gerekmektedir. Günümüzde polimerik boyaların kullanımı henüz yaygınlaşmamıştır, ancak toksikolojik açıdan güvenilir olduklarının klinik deneylerle kanıtlanmasından sonra diğer sentetik boyaların en büyük rakibi olabileceklerdir (Moore, 1991).

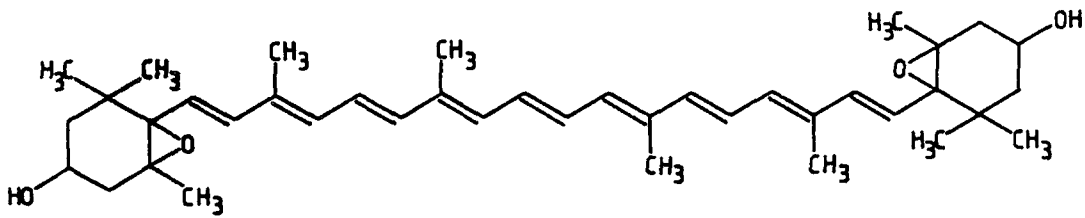
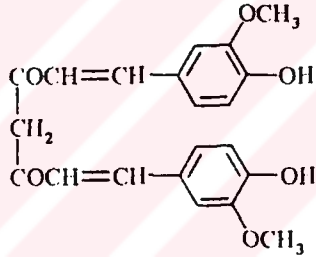
Doğal gıda boyaları çeşitli böcek türleri, kabuklu deniz hayvanları gibi hayvansal kaynaklardan, tohum , yaprak, kök, meyva öz suları, ağaç kabukları gibi bitkisel kaynaklardan ve çeşitli minerallerden elde edilirler. Organik doğal gıda boyaları arasında en önemlileri karotenoidlerdir. Karotenoidler, tüm yeşil bitkilerde, çekirdek ve tohumlarda, meyvelerde, bitki köklerinde, sararmış ağaç ve çalı yapraklarında ve bazı kabuklu deniz hayvanlarında bulunur. Karotenoidler hidrokarbon karotenoidler (turuncu ve kırmızı) ve okside karotenoidler (sarı) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Diğer bir önemli organik doğal gıda boyası ise antosiyaninlerdir ve genellikle siyah üzüm posasından elde edilirler. Şekil 3.2.'de bazı doğal organik boyaların kimyasal yapısı gösterilmiştir.

Doğal gıda boyaları, ısı, ışık ve düşük pH'ya karşı dayanıksız olmaları, elde edildikleri kaynağın karakteristik kokularını da içermeleri ve üretimlerinin yüksek maliyet gerektirmesi gibi olumsuz nedenlere rağmen, tamamı ile doğal olmaları ve bazı özel istisnalar dışında toksik özelliklerinin bulunmaması nedeni ile tercih edilirler. Ayrıca bazı doğal organik gıda boyalarının çeşitli hastalıklara karşı koruyucu, bazılarının da tedavi edici özelliklerinin bulunması diğer bir tercih nedenidir (Dziezak, 1987).



Klorofil a, Klorofil b ($-\text{CH}_2$ yerine CHO).

Curcumin



Violaxanthin.

Şekil 3.2. Bazı doğal organik boyaların kimyasal yapıları.

4. GIDA BOYALARININ KULLANILDIĞI ALANLAR

İster sentetik olsun, isterse doğal, renk maddelerinin gıdalar üzerinde pek çok uygulama alanı vardır. Bu alanları 11 grupta toplayabiliriz;

1. Meyve suları, karbonatlı içecekler.
2. Çikolata, bonbon gibi şekerlemeler.
3. Dondurma ve diğer dondurulmuş ürünler.
4. Reçel, marmelat ve jöleler.
5. Kek, pasta, bisküvi, ekmek ve kahvaltılık ürünler gibi unlu mamüller.
6. Konserve meyve, sebze ve çorbalar.
7. Salam, sosis, çiroz, ançüz gibi et ve balık ürünleri.
8. Toz halindeki hazır içecekler, çorbalar, soslar, et ve tavuk suyu tabletleri gibi ürünler.
9. Margarin, tereyağı, peynir ve diğer süt ürünleri.
10. Patates cipsi, ekstrüde ürünler gibi çerezler.
11. Turşu, mayonez, salata sosları gibi diğer ürünler.

Yukarıdaki gruplardan birine ya da birkaç tanesine katılması düşünülen gıda boyalarının, her grup için belirli bazı özellikleri içermesi istenir. Ülkemizde de gıda maddelerine katılacak gıda boyaları ve katılabilecekleri yiyecekler Gıda Maddeleri Tüzüğü'nce yayınlanan listelerde belirtilir. Bu listeler belirli aralıklarla resmi gazetelerde yayınlanır. Tablo E.1.'de 1988 yılında İstanbul Ticaret Odası tarafından yayınlanan ve kullanılmasına izin verilen gıda boyaları, liste halinde verilmiştir.

Alkolsüz içecekler: Alkolsüz içecekler (meyve suları, karbonatlı içecekler ve diğer meşrubatlar) için kullanılacak gıda boyaları ışığa, asidik ortama, koruyuculara ve aroma maddelerine karşı dayanıklı olmalıdırlar. Meyve asitlerinden özellikle sitrik asit ve malik asit, kolalı içeceklere katılan fosforik asit, gıdalara koruyucu olarak katılan күкүрт dioksit ve benzoik asite karşı dayanıklı olan Beta-karoten, klorofil,

riboflavin, Amarant, Tartrazin ve Sunset Yellow FCF en çok kullanılan gıda boyalarıdır. Konserve türü içeceklerde ise en önemli sorun konserve kaplarının korozyonudur. Bu nedenle konserve içeceklere katılacak renk maddelerinin korozyon yaratmamasına dikkat edilmelidir.

Şekerlemeler: Şekerleme türü ürünler için kullanılacak boyalar, her tür rengin tüm tonlarını içerecek kadar zengin bir spektruma sahip olmalıdır. Ayrıca yüksek proses sıcaklıklarına (150°C) karşı koruyucu olarak katılan kükürt dioksit ve aroma maddelerine karşı dayanıklı olmalıdırlar. Üretim sırasında renk maddeleri çoğunlukla son aşamada ürüne katılırlar; bu nedenden dolayı, kullanılacak boyaların şekerli şuruplar içerisinde çok iyi çözünebilir özellikte olmaları gerekir. Paprika, safran, karamel, bitkisel karbon, Patent Blue V, Eritrosin ve Amarant bu özelliklere sahip boyalardandır.

Buz ürünleri ve dondurulmuş gıdalar: Bu tür ürünlerde (dondurmalar, dondurmali pastalar, buzlu içecekler ve tüm dondurulmuş diğer gıdalar) ısısal işlemlerini çok az ya da hiç olmaması hemen hemen her cins gıda boyasını kullanmamıza olanak verir, ancak kullanılacak olan rengin ışığa karşı duyarlı olmaması gerekir.

Reçel, marmelat ve jöleler: Kullanılacak boyaların yüksek sıcaklıklarda dayanıklı olmaları, kükürt dioksit gibi koruyucu maddeler karşısında renklerini koruyabilmeleri ve meyve asitlerine karşı dayanıklı olması istenir. Jölelere katılacak boyaların ise, bunların yanı sıra, koku verici maddelere ve jelatine karşı dayanıklı olması tercih nedenidir. Antosiyaninler, riboflavin, pancar kırmızısı, İndigo karmin ve Eritrosin en çok kullanılan gıda boyalarıdır.

Unlu mamüller: Tüm kek, bisküvi, tahıl içerikli kahvaltılık ürünler ve pastacılık ürünleri proses sırasında yüksek sıcaklıklarda (250°C) işlem görmektedirler. Bu nedenle kullanılacak boyaların, uzun süreyle yüksek sıcaklıklarda, yapısını ve rengini bozmadan kalması istenir.

Konserve meyveler, sebzeler ve çorbalar: Konserve ürünler, üretim esnasında yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen pişirme ve sterilizasyon koşullarına dayanıklı gıda boyaları ile renklendirilmelidir. Ayrıca bu boyalar diğer koruyucu ya da tatlandırıcı maddeler ile reaksiyona girerek metal kutularda korozyon meydana getirmemelidir. Genellikle Beta-karoten, Green S, Red 2G ve İndigo karmin en çok kullanılan boyalardır.

Et ve balık ürünleri: Sosis, salam ya da sucuk gibi et ürünlerine katılacak gıda boyalarının, kükürt dioksit ile yapılacak işlemlere dayanıklı olmaları, balık ve et ile yapılan ezme çeşitlerinde uygulanan sterilizasyon koşullarında renk stabilitelerini korumaları ve salamura et ve balık işleme proseslerinde tuzlu su içerisinde kolayca çözünbilmeleri gerekir. Tartrazin, Red 2G, Brown FK, Eritrosin sık kullanılan boyalardır.

Hazır toz ürünler: Toz halindeki kullanılmaya hazır içecekler, tatlılar, çorbalar, soslar, et ve tavuk suyu tabletleri gibi ürünler için kullanılacak olan gıda boyalarının sudaki çözünürlüklerinin iyi ve ışığa karşı stabilitelerinin yüksek olması gerekir. Ayrıca geniş bir renk spektrumuna sahip olmalı, karışım içerisinde homojen bir dağılım ve pişirme şartlarına karşı dayanıklılık göstermelidir. Annatto, beta-karoten, kantaksantin, karamel, klorofil, antosiyanin, karmosin, Amarant, Sunset Yellow FCF örnek olarak verilebilecek gıda boyalarıdır.

Süt ürünleri: Süt ve süt ürünlerin için kullanılacak gıda boyalarının pastörizasyon koşullarına ve şiddetli ışığa karşı dayanıklı olması istenir. Genellikle Amarant, Eritrosin, karmosin, Tartrazin ve İndigo karmin kullanılır.

Çerezler: Patates cipsi ve ekstrüde çerezler için kullanılan gıda boyalarının prosesin uygulanma aşamasında meydana gelen yüksek sıcaklıklara karşı dayanıklı olması ve renklerinde solma görülmemesi gerekir.

Diğer ürünler: Turşular, salata sosları, mayonez, ketçap ve diğer soslar için kullanılacak gıda boyalarının proses çalışma koşullarına dayanıklı olmaları, renkte solmanın meydana gelmemesi ve asetik asitli ortamlarda dayanıklılık göstermesi istenir. Beta-karoten, karamel, riboflavin, Green S, Sunset Yellow FCF ve Tartrazin en çok kullanılan boyalardır.

5. KADİFE ÇİÇEĞİNDEN LUTEİN ÜRETİMİ

5.1. Materyal ve Yöntemler

5.1.1. Materyal

Çalışmada ekstraksiyon yöntemi ile lutein üretimi için hammadde olarak kadife çiçeği (*Tagetes L.*) kullanılmıştır. Kadife çiçekleri Marmara Bölgesi'nde sadece Haziran ayı başından Eylül ayı sonuna kadar açma özelliği göstermesi nedeni ile, deneysel çalışmalara Şubat, 1993'de Natürel A.Ş. (Manisa) Firması'ndan temin edilen kadife çiçeği ekstraktı ile başlanmıştır. Daha sonra Erenköy Tarım-İl Müdürlüğü'nden temin edilen *Tagetes erecta* cinsi sarı ve turuncu renkteki kadife çiçeği fideleri, TÜBİTAK-Marmara Araştırma Merkezi bahçesine ekilmiştir. Yine aynı yerde ekili bulunan *Tagetes tenuifolia* cinsi kırmızı-kahve renkteki kadife çiçekleri de araştırmada kaynak olarak kullanılmıştır. Şekil 5.1 ve 5.2'de bu kadife çiçeklerinin fotoğrafları gösterilmiştir.

5.1.2. Yöntemler

5.1.2.1. Kullanılan Cihazlar

- a) Kromatografik kolon: 35 cm boyunda, 2 cm çapında musluklu cam tüpdür. Lastik bir bağlantı halkası ile ortamda vakum yaratabilmek için vakumlu bir erlene adapte edilmiştir.
- b) Çiçek petallerini parçalamak için bir blender.
- c) Sabunlaştırma işlemini hızlandırmak için magnetik karıştırıcı.
- d) Vakumlu evaporatör ve kurutma fırını.

5.1.2.2. Kullanılan Solventler ve Kimyasal Maddeler

- a) Çözücüler: Etilasetat, isopropilalkol, aseton-hekzan (80:20) çözeltisi.
- b) 1) Metanolik potasyum hidroksit çözeltisi: %40'lık; 40 g KOH metanol içerisinde çözülerek soğutulur ve 100 ml'ye metanol ile tamamlanır.
- 2) Etanolik potasyum hidroksit çözeltisi: %60'lık; 60 g KOH etanol içerisinde çözülerek soğutulur ve 100 ml'ye etanol ile tamamlanır.



Şekil 5.1. *Tagetes erecta* cinsi sarı renkli kadife çiçekleri.



Şekil 5.2. *Tagetes tenuifolia* cinsi kırmızı-kahverengi renkteki kadife çiçekleri.

- c) Adsorban: Silika jel G ve selit (1:1), homojenizatörde iyice karıştırılarak 2-3 saat 100°C'lik etüvde aktive edilir.
- d) Eluanlar: (1) Karoten için: Hekzan-aseton (96+4).
- (2) Monohidroksi pigmentler (MHP) (zeinoksantin, kriptoksantin gibi) için: Hekzan-aseton (90+10).
- (3) Dihidroksi pigmentler (DHP) (lutein, zeaksantin ve bunların izomerleri) için: Hekzan-aseton (80+20).
- e) Sodyum sülfat (Na_2SO_4): 2-3 saat 100°C'lik etüvde aktive edilir.
- f) Kristalizasyonda kullanılan çözücüler:
- (1) İsopropil alkol.
- (2) Hekzan-aseton (80+20).
- g) TLC: Merck silika jel G plakaları.
- Akışkan fazlar: 1) Hekzan-aseton (95+5).
- 2) Hekzan-aseton (70+30).
- 3) Kloroform-etilasetat (100+30).
- 4) Hekzan-aseton-benzen (70+20+10).
- 5) Hekzan-aseton-kloroform-metanol (70+25+10+5)

5.1.2.3. Örneklerin Hazırlanması

Bu çalışma sırasında yapılan tüm deneyler, oksidasyonu önlemek için azot gazı altında, foto-oksidasyonu ve foto-degratasyonu önlemek için ışığı azaltılmış ve mümkün olduğunca soğuk bir ortamda yapılmıştır.

5.1.2.3.1. Manisa'dan Alınan Kadife Çiçeği Ekstraktının Hazırlanması

Manisa'daki Natürel A.Ş. Firması'ndan hazır olarak alınan kadife çiçeği ekstraktı, sabunlaştırılmadan önce bir ön kristalizasyon işlemine tabi tutularak, ürün içerisindeki istenmeyen maddeler elimine edilir. Bu işlem için 10 g ekstrakt sıcak isopropil alkolde çözülerek azot gazı altında buzdolabında kristallendirilir. Daha sonra filtre edilerek elde edilen kristaller vakum altında ve düşük sıcaklıkta kurutulur (Philip et al, 1976).

5.1.2.3.2. Kadife Çiçeklerinin Hazırlanması

Genellikle sabahın erken saatlerinde toplanan kadife çiçekleri önce petallerinden ayrılır. Daha sonra bu petaller yabancı ot, böcek ve toprak gibi maddelerden arındırılarak bir kurutma kağıdı yardımı ile eğer varsa üzerlerindeki fazla suları alınır.

5.1.2.4. Ekstraksiyon

Ekstraksiyon işlemi için iki ayrı yöntem denenerek karşılaştırılmıştır.

1.Ekstraksiyon: 30 g yaş kadife çiçeği petalleri 200 ml isopropil alkol ile bir blenderde bir kaç dakika iyice parçalanarak homojenize edilir. Daha sonra vakum altında bühner hunisinden filtre edilir. Üstte kalan kek 400 ml'lik aseton-hekzan (80:20) karışımı ile tekrar blenderde bir kaç dakika homojenize edilir ve filtre edilir. Bu işlem bir kere daha tekrarlandıktan sonra bütün filtratlar toplanarak vakum altında uçurulur (Gregory et al., 1986).

2.Ekstraksiyon: Tamamı ile temizlenen petaller yüksek devirli bir blenderde bir miktar etilasetat ile 5 dakika boyunca iyice parçalanarak homojenize edilir. Cam bir balon içerisine alınan çiçek petalleri 1 g yaş çiçek petaline 2 ml etilasetat oranında olmak üzere çözücü içerisine yatırılır. Balon içerisine azot gazı verilerek ağzı iyice kapatılır ve ışıktan etkilenmemesi için alüminyum folyö ile kaplanarak oda sıcaklığında bir dolap ya da benzeri kapalı bir mekanda bir gece bekletilir.

Daha sonra parçalanmış petaller bir filtrasyon düzeneğinde filtre edilerek tekrar etilasetat ile ekstraksiyon işlemine tabi tutulurlar. Bu işlem üç defa tekrarlanarak çiçek petallerindeki istenen tüm renk maddeleri ekstre edilir. Toplanan filtratlar vakumlu bir evaporasyon düzeneğinde tamamen kuruyuncaya kadar uçurulurlar. Uçurma işlemi ile geri kazanılan etilasetat tekrar ekstraksiyon işleminde kullanılabilir.

5.1.2.5. Sabunlaştırma

Yapılan ince tabaka kromatografisi (TLC) deneyleri sonucunda örneğimizin, dipalmitat, dimiristat, stearat gibi yağ asit esterleri halinde bulunduğu saptanmıştır. Bu nedenle örneğin sabunlaştırılarak, bu yağ asit esterlerinden arındırılması gerekmektedir. Sabunlaştırma işlemi ile, ürün içerisindeki yağ asit esterlerinin, lutein ile oluşturdukları bağlar kopararak hidrolize edilirler. Sabunlaştırma denemeleri için iki ayrı yöntem denenmiştir ve bu denemelerde örneği sabunlaştırmak için gereken optimum KOH çözeltisi miktarı saptanmıştır.

1.Yöntem: Bu işlemde ürün, ağzı kapaklı bir cam balona aktarılır. Balon içerisine, 1 g yaş çiçek petaline karşılık gelecek çeşitli miktarlarda (1, 1.5, 2 ml gibi) %40'lık metanolik KOH çözeltisi ilave edilerek, azot gazı altında ve karanlıkta, magnetik karıştırıcı ile 2 saat karıştırılır. Bu süre sonunda balon içerisine KOH çözeltisinde tam olarak erimeyen ürünü tamamı ile çözebilmek için 100 g yaş çiçek petali için 30 ml hekzan ve ortamda dengenin sağlana bilmesi için her 100 g yaş çiçek petali için 2 ml demineralize su ilave edilir ve yine azot gazı altında ve karanlıkta 5 saat daha karıştırılır (AOAC, 1990).

2.Yöntem: Ürün ağzı kapatılabilen cam bir balon içerisinde, 1 g yaş çiçek petaline karşılık gelecek çeşitli miktarlarda (1, 1.5, 2 ml gibi) %40'lık etanolik KOH çözeltisi ilave edilerek azot gazı altında ve karanlıkta magnetik karıştırıcı ile 3 saat karıştırılır. Daha sonra balon içerisine 30 ml hekzan eklenerek 4 saat boyunca yine azot gazı altında karıştırılmaya devam edilir (Rivas, 1989).

5.1.2.6. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon

Sabunlaştırma işlemi ile yağ asit esterleri ile yaptığı bağları koparılan örnek, bir ayırma hunisinde etilasetat ile ekstre edilir. Böylece sabunlaşan maddeler alt fazdaki KOH çözeltisinde kalırken, lutein üst fazdaki etilasetat fazında sabunlaşma ürünlerinden ve diğer istenmeyen safsızlıklardan arındırılmış olarak geçer. Etilasetat fazı bir kaç defa demineralize su ile yıkanarak çözelti içerisindeki KOH fazlası alınır.

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu işleminde eğer örnek çok konsantre ise faz ayrımı gerçekleşmeyebilir Bu durumda yıkama suyunun tuz ile iyice doyurulması faz ayrımının hızlanmasını sağlamaktadır.

Yıkılarak KOH çözeltisinden iyice temizlenen örnek susuz Na₂SO₄ ile sudan arındırılır ve vakumlu evaporasyon düzeneğinde tamamen uçurulur Daha sonra da vakumlu fırında düşük sıcaklıkta iyice kurutularak toz haline getirilir.

5.1.2.7. Saflaştırma

Yapılan ince tabaka kromatografi (TLC) analizleri sonucunda, sabunlaştırma işlemi ile yağ asit esterlerinden arındırılan örneğin içerisinde, diğer bazı karotenoidlerin de (β -karoten, monohidroksi karotenoidler, dihidroksi karotenoidler ve epoksi ürünler gibi.) bulunduğu saptanmıştır. Bu karotenoidler, kristalizasyon ve kolon kromatografisi yöntemleri denenerek örneğimizin içinden uzaklaştırılmaya çalışılmıştır.

5.1.2.7.1. Kristalizasyon

Kristalizasyon işlemi için Tyczkowski ve arkadaşlarının (1991) geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. Bunun için örnek sıcak hekzan-aseton (80+20) çözeltisinde çözülerek azot gazı altında kristallendirildi. Daha sonra filtre edilerek azot gazı altında kurutuldu.

5.1.2.7.2. Kolon Kromatografisi

Kolon kromatografisi yöntemi için AOAC Official Methods Of Analysis'in 970.64 numaralı (1990) prosedürü uygulanmıştır. Kromatografi kolonu olarak kullanılan cam kolonun alt kısmına önce bir parça cam elyafı konarak adsorbantın aşağıya akması önlenir. Daha sonra kolona 25 cm yükseklikte adsorbant doldurulur ve vakum uygulanarak adsorbant yüksekliği 20 cm'ye indirilir. Dikkat edilmesi gereken nokta kolon malzemesinin çok sıkışık olmamasıdır, aksi takdirde kromatografi işlemi gerçekleştirilememektedir. Adsorbantın üst kısmına 1,5 cm kalınlığında susuz Na₂SO₄ yerleştirilir.

Kolondan önce 1 numaralı eluant geçirilerek adsorbant tamamı ile ıslatılır. Bu aşamada kolon için tartılmış örnek bir kaç mililitre hekzanda tamamı ile çözülerek bir defada kolona verilir. Akış hızı 2-3 damla/saniye olacak şekilde ayarlanarak 1 numaralı eluant kolona verilmeye devam edilir.

1 Numaralı eluant ile kolonun alt kısmındaki erlene toplanan karotenler (β -karoten, a-karoten gibi) alınarak kolonun altına yeni bir erlen yerleştirilir ve 2 numaralı eluant kolona verilir. 2 Numaralı eluant ile erlene toplanan monohidroksi pigmentler (zeinoksantin, kriptoksantin gibi) alınarak kolona 3 numaralı eluant verilir. Bu eluant ile erlende toplanan dihidroksi pigmentler (lutein ve zeaksantin gibi) hemen vakit geçirilmeden vakumda evapore edilerek azot gazı altında karanlıkta saklanır.

Bu işlem sonunda kolonda kalan son bant violaksantin, neoksantin gibi polioksi pigmentlerdir.

Gerek kristalizasyon ve gerekse kolon kromatografisi yöntemi ile saflaştırılan örnekler, ince tabaka kromatografisi (TLC) ve spektrofotometrik analiz yöntemleri ile saflıkları kontrol edilerek hangi saflaştırma yönteminin daha etkili olduğu belirlendi.

5.1.2.8. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)

İnce tabaka kromatografisi için 5 farklı mobil faz denenerek hangi fazın daha iyi olduğu yapılan denemelerle saptandı. Daha sonra bu mobil faz ile, yapılan deney sonucunda elde edilen örneklerin saflıkları standart lutein ile karşılaştırılarak kontrol edildi.

5.1.2.9. Spektrofotometrik Analiz

Kolon kromatografisi ve kristalizasyon yöntemleri ile saflaştırılan örneklerin, spektrofotometrede absorbanları ölçüldü ve literatürlerdeki verilerle karşılaştırılarak saflık yüzdeleri bulundu. Bunun için hassas olarak tartılan örnek bir balon joje içerisine konarak etanol ile 100 ml'ye tamamlandı ve 446 nm'de absorbanları okunarak soğurma faktörü (Extinction coefficient) değeri hesaplandı (Gregory, 1986).

Soğurma faktörü değerin hesaplanması:

$$Ex_{1cm}^{\%1} = \frac{Abs \times d}{c \times f_s}$$

c : Konsantrasyon (g/100 ml).

Abs : 446 nm'de okunan absorban.

f_s : Seyreltme oranı.

d : Küvet kesiti (cm).



6. BULGULAR

Kadife çiçeğinden lutein eldesi çalışmalarında, başlıca iki kaynak kullanılmıştır. Bunlar:

- a) Manisa'daki Natürel A.Ş. Firması'ndan temin edilen kadife çiçeği ekstraktı.
- b) Yaş kadife çiçeği petalleri.

Bu çalışmada denenen yöntemler ve alınan sonuçlar aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir.

Tablo 6.1.'de kadife çiçeği ekstraktı ile yapılan çalışmalar ve sonuçları verilmiştir. Bunlar sırası ile ön kristalizasyon, sabunlaştırma, saflaştırma yöntemleri ve soğurma faktörü değerleridir.

Tablo 6.1.'de görüldüğü gibi, kadife çiçeği ekstraktının bir ön kristalizasyon işleminden geçirilmesinin son ürün saflığına etkisi büyük olmaktadır. Özellikle E1 ve E3 örneklerinin soğurma faktörleri ile E4, E5 ve E6 örneklerinin soğurma faktörleri karşılaştırıldığında, ön kristalizasyonun son ürünün saflığına etkisi daha açık görülmektedir. E2 örneğinde görüldüğü gibi, sabunlaştırma işlemi için kullanılacak KOH çözeltisinin miktarı iyi ayarlanmalıdır. Örnek içerisindeki serbest yağ asitlerinin tam olarak sabunlatırılamaması yine son ürünün saflığını düşürmektedir. Ayrıca yapılan deneyler sonucunda etanolik KOH çözeltisinin sabunlaştırma işleminde başarılı olamadığı görülmüştür. Son ürün saflığına etki eden diğer bir etken de, sabunlaştırma işlemi sırasında ortamda bir miktar suyun bulunmasıdır. Su, sabunlaştırma işleminde ortamın dengeye ulaşmasına yardım etmektedir. E4, E5 ve E6 örneklerini incelediğimizde, ürün verimi açısından en iyi sonucu E6 örneğinin verdiği görülmektedir. Bunun nedeni, sabunlaştırma işleminde kullanılan KOH çözeltisi miktarının çok iyi ayarlanmış ve ön kristalizasyon işleminin başarıyla gerçekleştirilmiş olmasıdır. Tabloda görüldüğü gibi ön kristalizasyon sonrası elde edilen en yüksek ürün miktarı E6 örneğinde görülmektedir. Ancak, saflaştırma işleminde yapılacak küçük dikkatsizlikler son ürünün saflığını düşürmektedir. E6 örneğinden en yüksek verimin alınmasına karşın, uygulanan kolon kromatografisi yönteminde, örneğin fazla ısı alması ve hava ile temas süresinin uzun olması son ürünün saflığındaki düşüşe neden olmuştur. E4 ve E6 örneklerinin soğurma faktörleri incelendiğinde bu düşüş açıkça görülmektedir.

Tablo 6.1. Kadife çiçeği ekstraktı ile yapılan çalışmalar ve sonuçları.

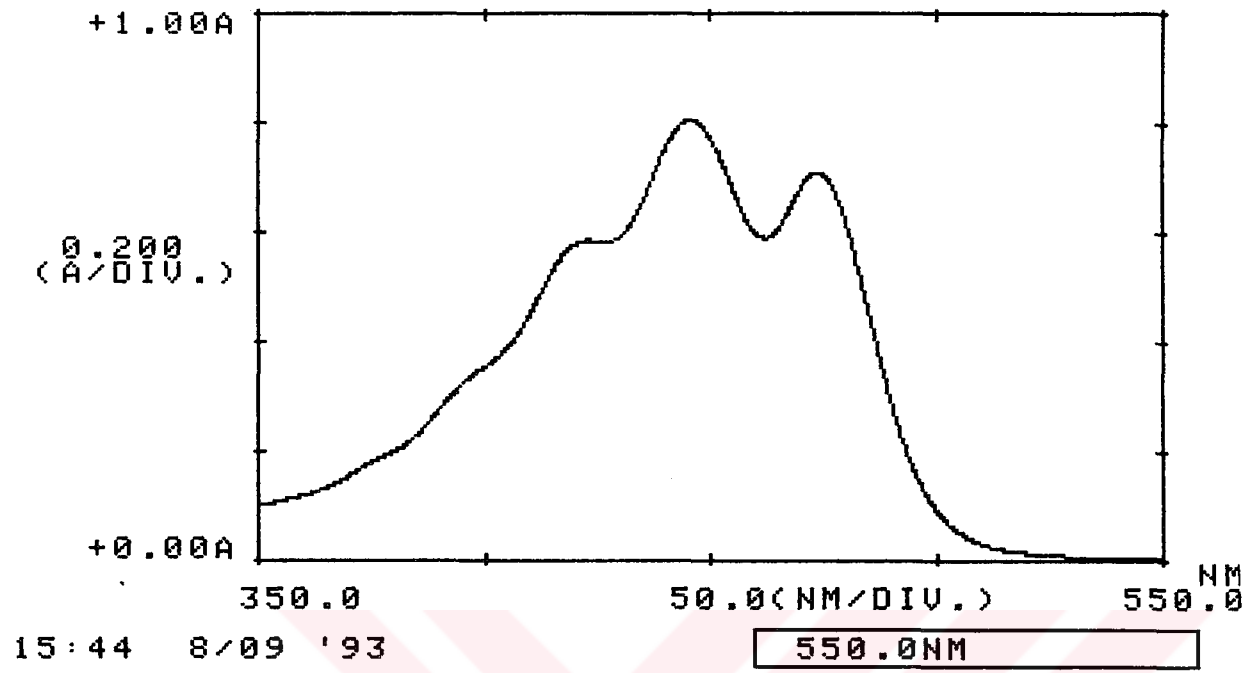
Ornek No	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Tarih	9.4.93	21.4.93	28.4.93	5.5.93	25.5.93	15.7.93
Başlangıç Madde Miktarı	2 g	10 g	5 g	10 g	10 g	10 g
On İşlemler	-	Isopropil alkolde kristalizasyon (0.97 g)	-	Isopropil alkolde kristalizasyon (1.25 g)	Isopropil alkolde kristalizasyon (2.12 g)	Isopropil alkolde kristalizasyon (2.40 g)
Sabunlaştırma	100 ml %60'lık KOH (Etanolik) +Etilasetat	73 ml %40'lık KOH (Metanolik) +0.5 ml H ₂ O +45 ml Hekzan	100 ml %40'lık KOH (Metanolik) +70 ml Hekzan	100 ml %40'lık KOH (Metanolik) +1.25 ml H ₂ O +30 ml Hekzan	100 ml %40'lık KOH (Metanolik) +2.2 ml H ₂ O +30 ml Hekzan	250 ml %40'lık KOH (Metanolik) +2 ml H ₂ O +30 ml Hekzan
Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu	Etilasetat ve doygun tuzlu su çözeltisi	Etilasetat ve doygun tuzlu su çözeltisi	Etilasetat ve doygun tuzlu su çözeltisi	Etilasetat ve doygun tuzlu su çözeltisi (950 mg)	Etilasetat ve doygun tuzlu su çözeltisi (1.60 g)	Etilasetat ve doygun tuzlu su çözeltisi (2.2 g)
Safılaştırma	Isopropil alkolde kristalizasyon	Metanolde kristalizasyon	Isopropil alkolde kristalizasyon	Kolon kromatografisi AOAC 970.64 (1990)	İki defa Hekzan-Aseton (80:20) çözeltisinde kristalizasyon	Kolon kromatografisi AOAC 970.64 (1990)
Son Ürün Miktarı	-	-	-	33 mg	350 mg	613 mg
Ex1cm %1 Değerleri	30.9	33.1	-	E4 sabunlaşma ürünü: 519.1 E4 kolon krom. ürünü: 1809.1	947	E6 sabunlaşma ürünü: 440 E6 kolon krom. ürünü: 846

Yaş kadife çiçeği petalleri ile yapılan denemeler, geliştirilen ekstraksiyon ve saflaştırma yöntemleri ile soğurma faktörü değerleri Tablo 6.2.'de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde, sarı renkli kadife çiçeklerinden elde edilen lutein miktarının çok düşük olması nedeni ile alınan sonuçların kayda değer olmadığı anlaşılmaktadır. Ayrıca, bu çiçeklerde uygulanan isopropil alkol-hekzan-aseton ekstraksiyon sistemi de başarılı olamamıştır. Turuncu ve kırmızı-kahverengi renkteki çiçekler karşılaştırıldığında ise turuncu renkteki çiçeklerden elde edilen luteinin saflığının diğerine oranla daha az olduğu görülmektedir. Yine yapılan bu çalışmada, ekstraksiyon işlemi için etilasetatın en iyi çözücü olduğu anlaşılmıştır. Tablo 6.2.'de görüldüğü gibi, K örneği iki parçaya bölünerek, bir kısmı kristalizasyonda, diğer kısmı ise kolon kromatografisinde kullanılmıştır. K örneğine ait soğurma faktörleri incelendiğinde, son ürün saflığının kolon kromatografisi ile saflaştırılan örnekte daha yüksek olduğu görülmektedir (%100).

Şekil 6.1.-6.14.'te lutein standardı, zeaksantin standardı ve örneklerin spektrofotometrede ölçülen absorbans grafikleri ve her örneğe ait maksimum absorbans değerleri gösterilmiştir. Bu grafikler incelendiğinde, yukarıda da belirtildiği gibi uygulanan yöntemlerin son ürünün saflığına etkileri görülebilmektedir. Örneğin Şekil 6.12.-6.13. ve 6.14. incelendiğinde, sabunlaştırma işleminden sonra elde edilen ürünün 445 nm'deki maksimum absorbansı 1.519 olarak okunmaktadır. Oysa ki aynı örnek kristalizasyon işlemi ile saflaştırıldığında seyreltme oranı 1/25 olmasına rağmen, 445 nm'deki maksimum absorbansı 0.565 olmaktadır, yani ürün saflığı kristalizasyon işlemi ile yaklaşık 9 kat daha artmaktadır. Aynı oranı kolon kromatografisi yöntemi ile saflaştırılan ürün için kurarsak, Şekil 6.14.'de de açıkça görüldüğü gibi seyreltme oranı 1/50 olduğu halde 445 nm'deki maksimum absorbansı 0.762 olan örneğin, saflığı sabunlaştırma sonrası elde edilen örneğin saflığından yaklaşık 25 kat daha fazladır. Ayrıca, kolon kromatografisi yöntemi ile kristalizasyon işlemi karşılaştırıldığında, kolon kromatografisi yöntemi ile saflaştırılan örneğin, kristalizasyon işlemi ile saflaştırılan örneğe göre 3 kat daha saf olduğu görülmektedir.

Tablo 6.2. Yaş kadiife çiçeği petalleri ile yapılan çalışmalar ve sonuçları.

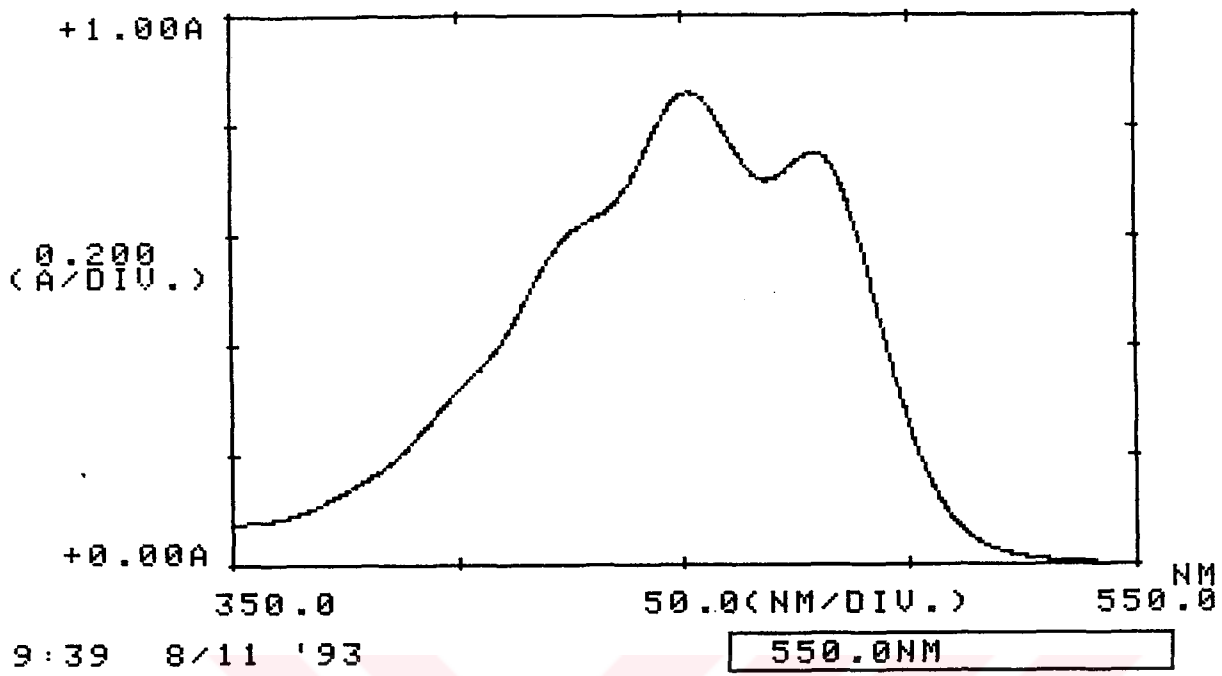
Ornek No	S	T1	T2	T3	K
Kaynak	San renkli çiçekler	Turuncu renkli çiçekler	Turuncu renkli çiçekler	Turuncu renkli çiçekler	Kırmızı-kahverengi çiçekler
Tarih	22.6.93	8.7.93	8.7.93	5.8.93	16.8.93
Başlangıç Madde Miktarı	150 g	180 g	150 g	100 g	250 g
Ekstraksiyon	200 ml isopropil alkol ve 300 ml Aseton-Hekzan (80:20) çözeltisi ile ekstraksiyon	Etilasetat ile ekstraksiyon	Etilasetat ile ekstraksiyon	Etilasetat ile ekstraksiyon (3.42 g)	Etilasetat ile ekstraksiyon
Sabunlaştırma	100 ml %40'lık KOH (Etanolik) +Etilasetat	73 ml %40'lık KOH (Metanolik) +0.5 ml H ₂ O +45 ml Hekzan	100 ml %40'lık KOH (Metanolik) +70 ml Hekzan	100 ml %40'lık KOH (Metanolik) +1.25 ml H ₂ O +30 ml Hekzan	100 ml %40'lık KOH (Metanolik) +2.2 ml H ₂ O +30 ml Hekzan
Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu	Etilasetat ve doymuş tuzlu su çözeltisi	Etilasetat ve doymuş tuzlu su çözeltisi	Etilasetat ve doymuş tuzlu su çözeltisi	Etilasetat ve doymuş tuzlu su çözeltisi (0.95 g)	Etilasetat ve doymuş tuzlu su çözeltisi (1.60 g)
Safılaştırma	Isopropil alkolde kristalizasyon	Metanolde kristalizasyon	Isopropil alkolde kristalizasyon	Kolon kromatografisi AOAC 970.64 (1990)	İki defa Hekzan-Aseton (80:20) çözeltisinde kristalizasyon
Son Ürün Miktarı	-	-	-	33 mg	350 mg
Ex1cm %1 Değerleri	30.9	33.1	-	E4 sabunlaşmadan sonraki ürün: 519.1 E4 Kolon krom. ürünü: 1809.1	947



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
473.4	0.710	461.6	0.591
445.6	0.806	426.6	0.583
423.2	0.586		

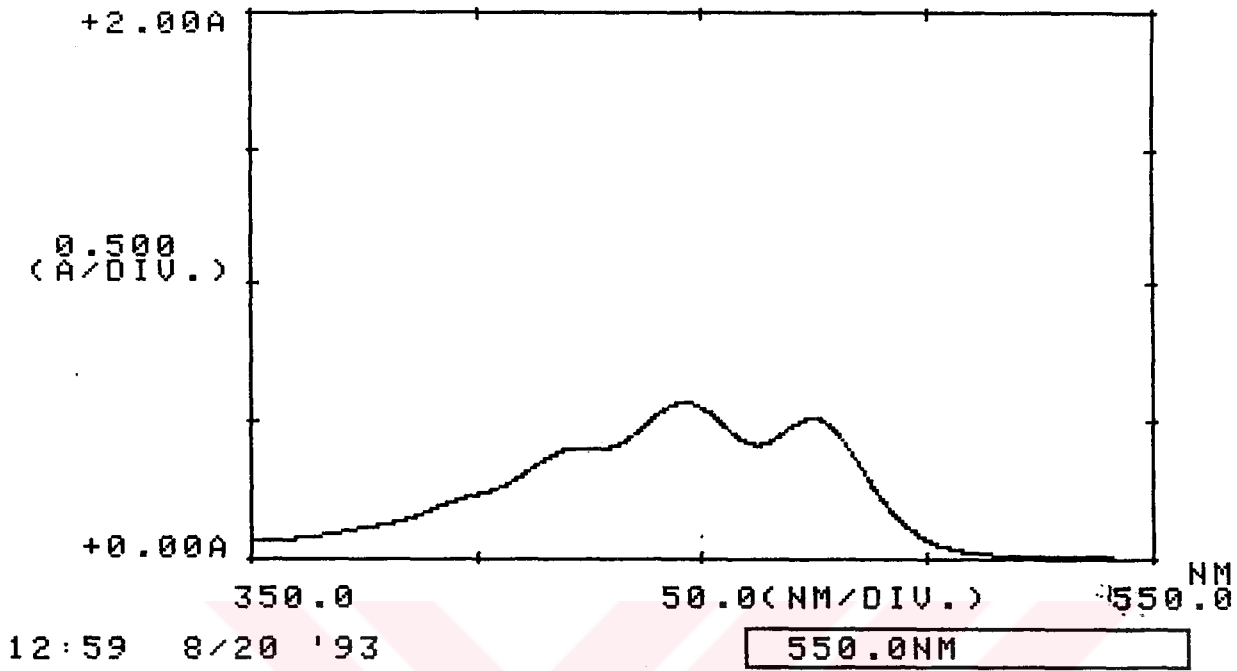
Şekil 6.1. Lutein standartının, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri.



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
478.8	0.751	468.2	0.699
450.8	0.860		

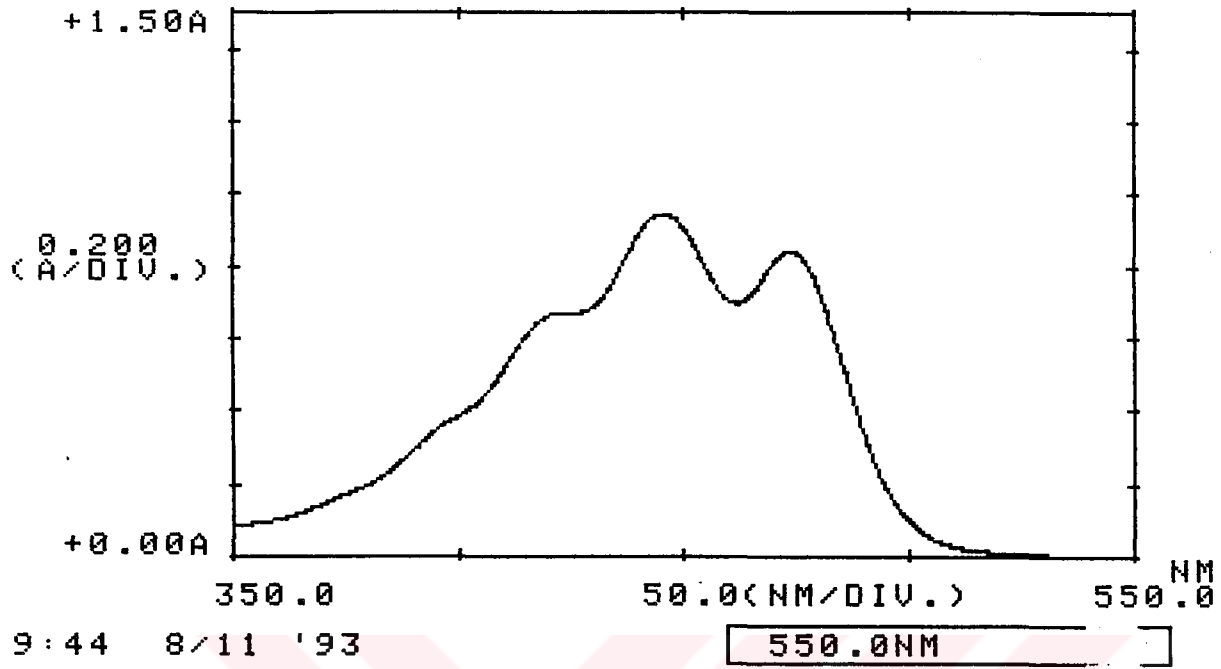
Şekil 6.2. Zeaxantin standartının absorbands, grafiği ve maksimum absorbands değerleri.



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
474.0	0.514	462.2	0.416
446.2	0.571	426.6	0.401
423.0	0.403		

Şekil 6.3. E4 Sabunlaşma sonrası ürünün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri (Seyreltme oranı: -).

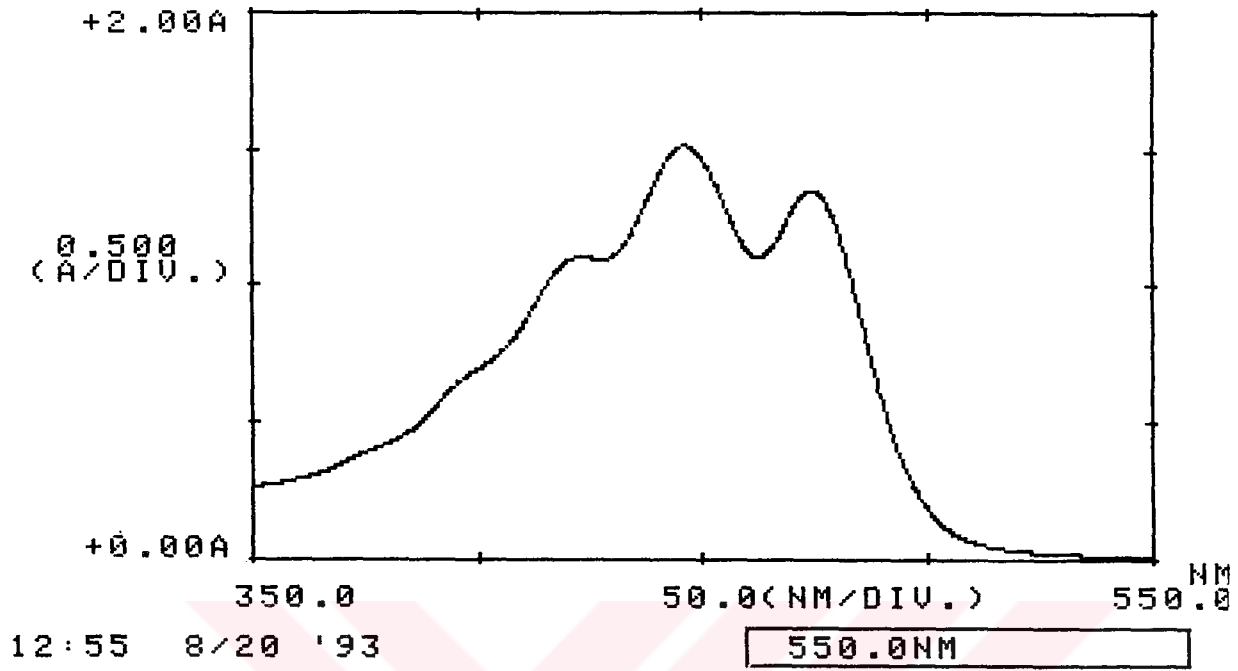


*** PEAK-PICK ***

-- PEAK -- -- VALLEY --

λ	ABS	λ	ABS
473.8	0.842	461.8	0.698
445.2	0.947	425.2	0.671
423.4	0.672		

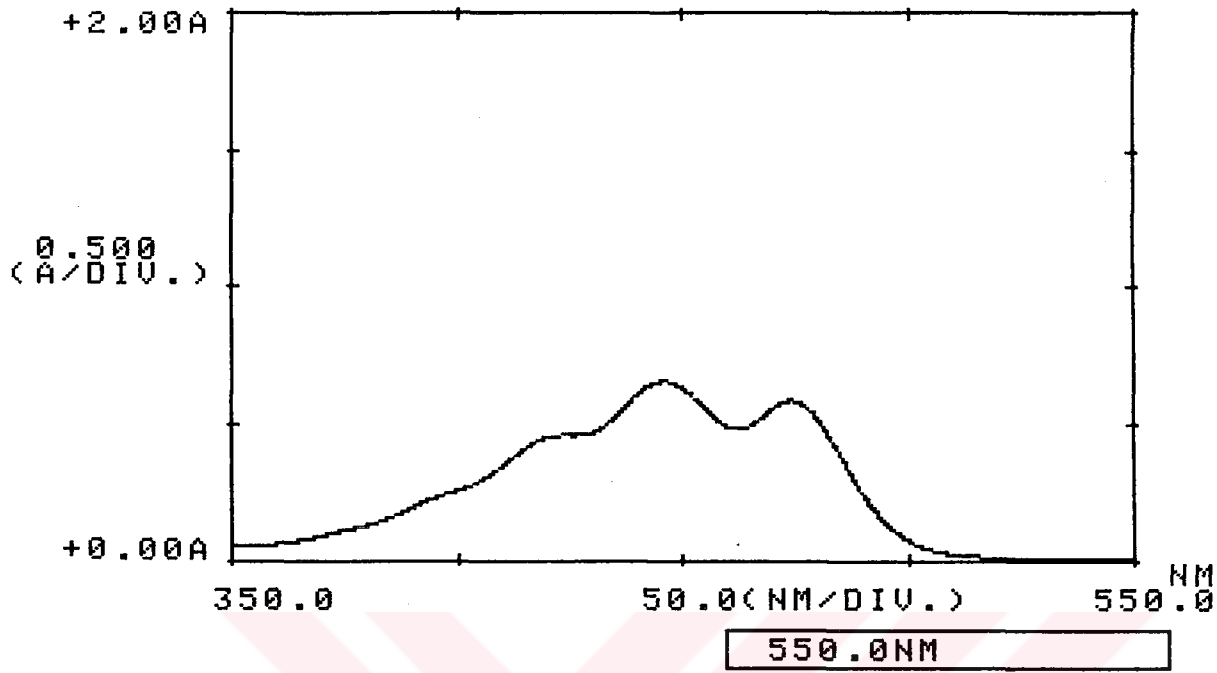
Şekil 6.4. E4 Kolon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri (Seyreltme oranı: 1/5).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
474.2	1.351	462.4	1.104
445.8	1.515	427.6	1.098
423.2	1.106		

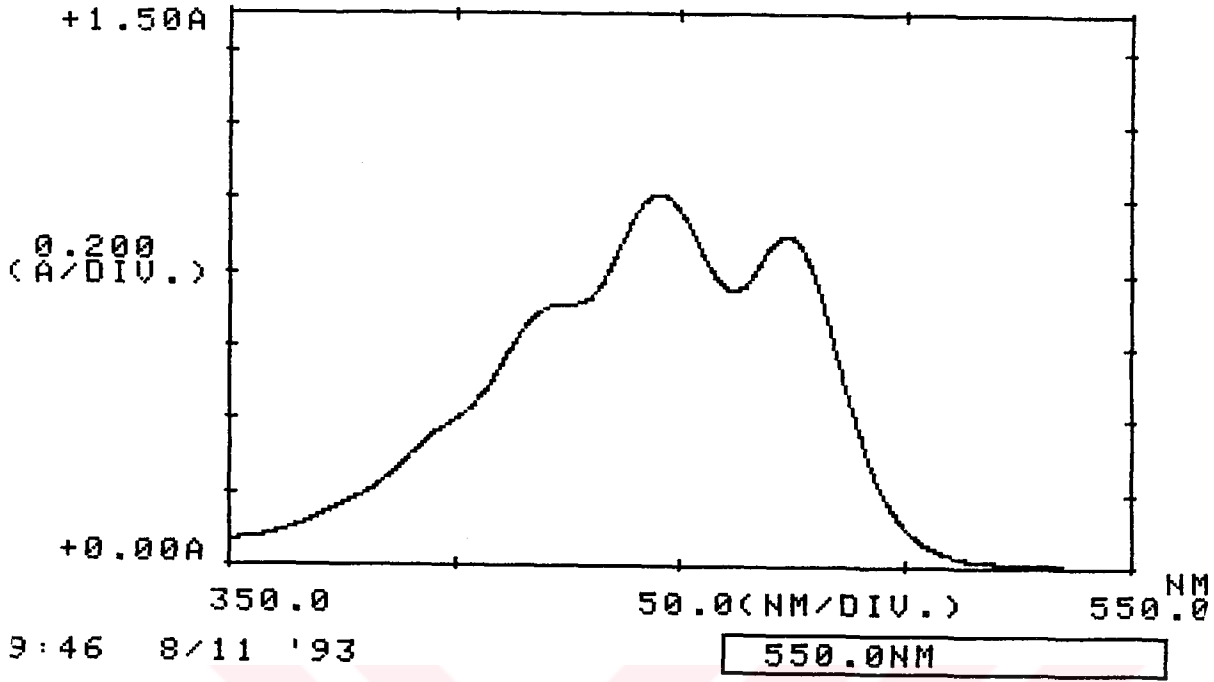
Şekil 6.5. E5 Kristalizasyon ürününün, absorbands grafiği ve maksimum absorbands değerleri (Seyreltme oranı: -).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
474.0	0.589	534.6	0.011
445.4	0.659	462.2	0.486

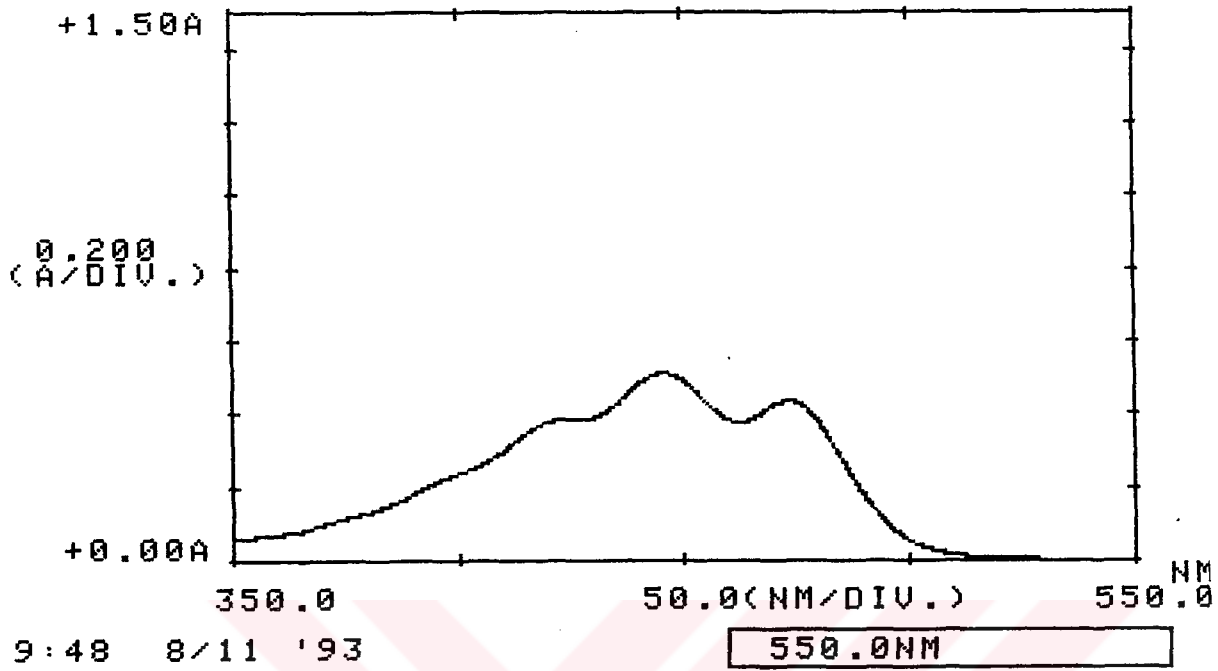
Şekil 6.6. E6 Sabunlaşma sonrası ürünün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri (Seyreltme oranı: -).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
473.6	0.904	461.8	0.753
444.8	1.015		

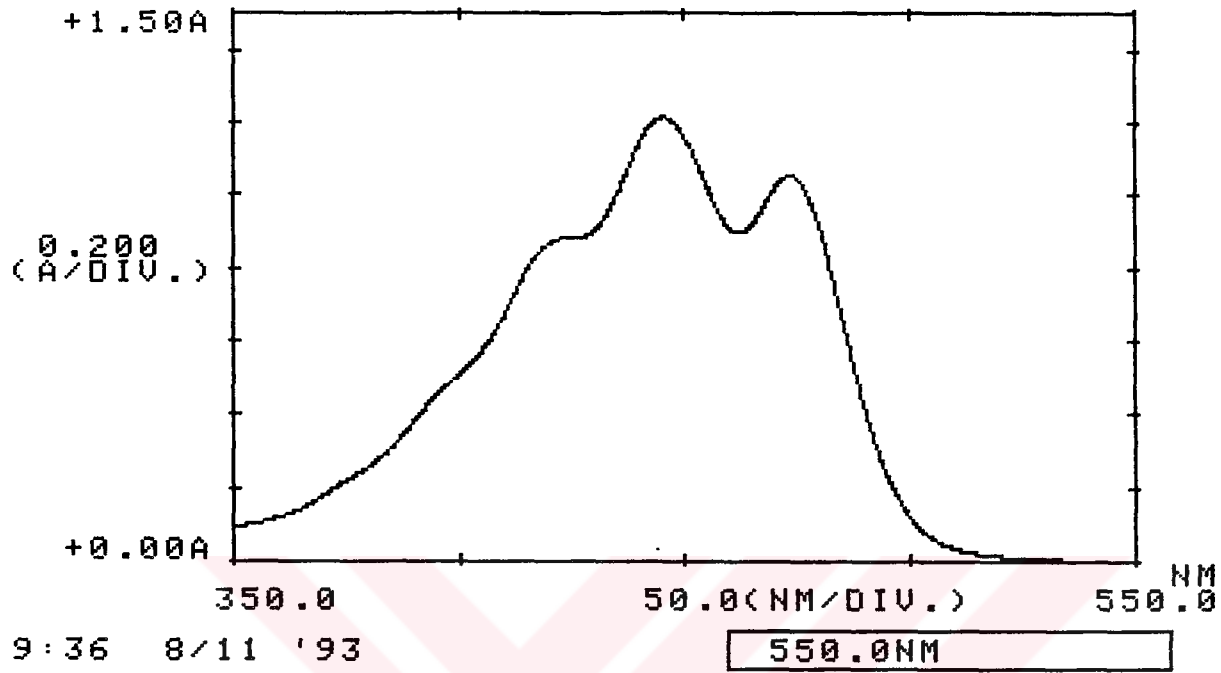
Şekil 6.7. E6 Kolon ürününün, absorbands grafiği ve maksimum absorbands değerleri (Seyreltme oranı: 1/2).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
473.4	0.435	462.4	0.377
445.2	0.512		

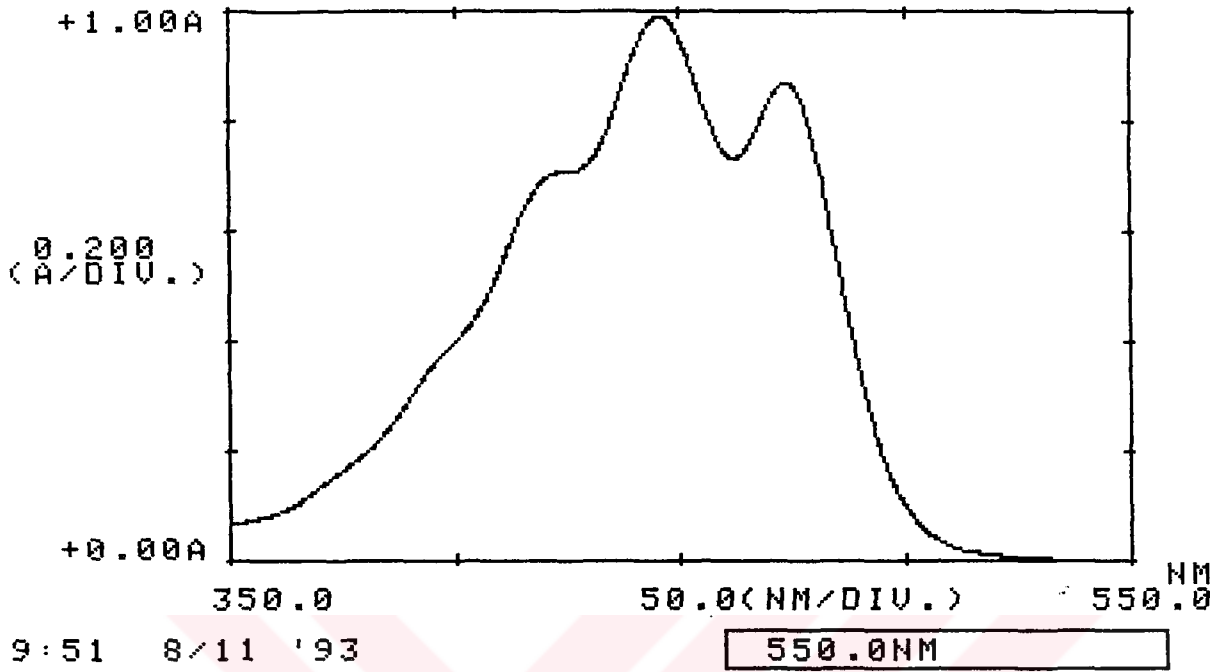
Şekil 6.8. T1 Kristalizasyon ürününün, absorbands grafiği ve maksimum absorbands değerleri (Seyreltme oranı: 1/2).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
473.2	1.053	461.8	0.897
445.2	1.214		

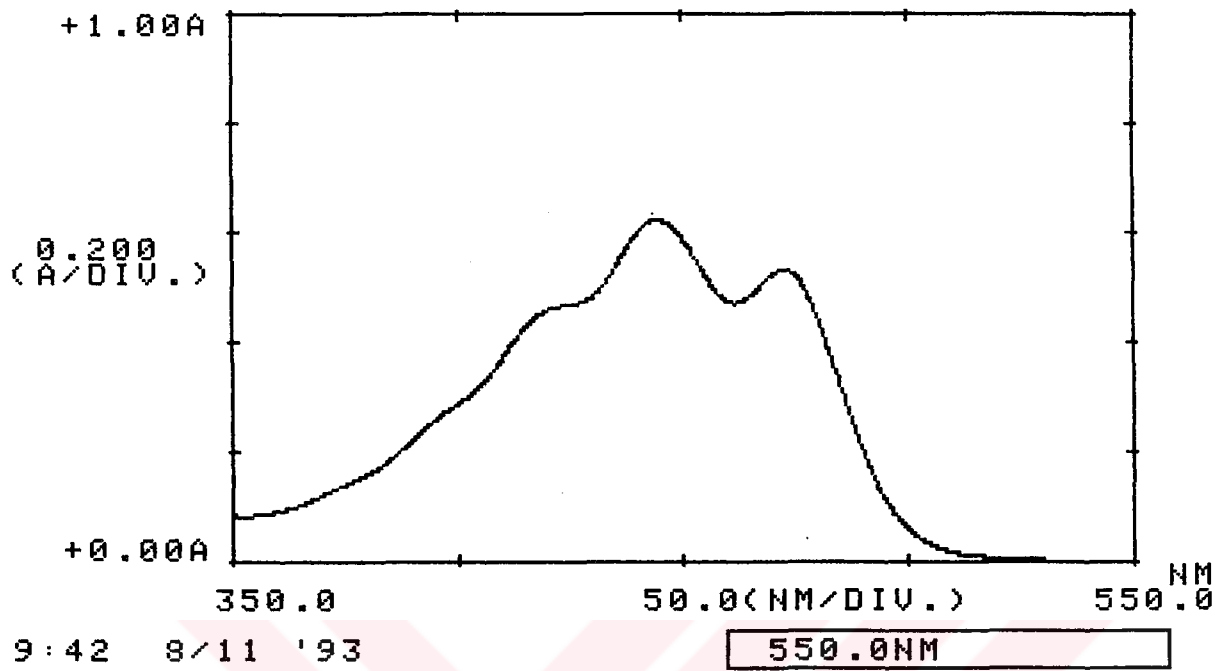
Şekil 6.9. T2 Kristalizasyon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri (Seyreltme oranı: 1/2).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
473.6	0.870	462.0	0.731
445.6	0.990		

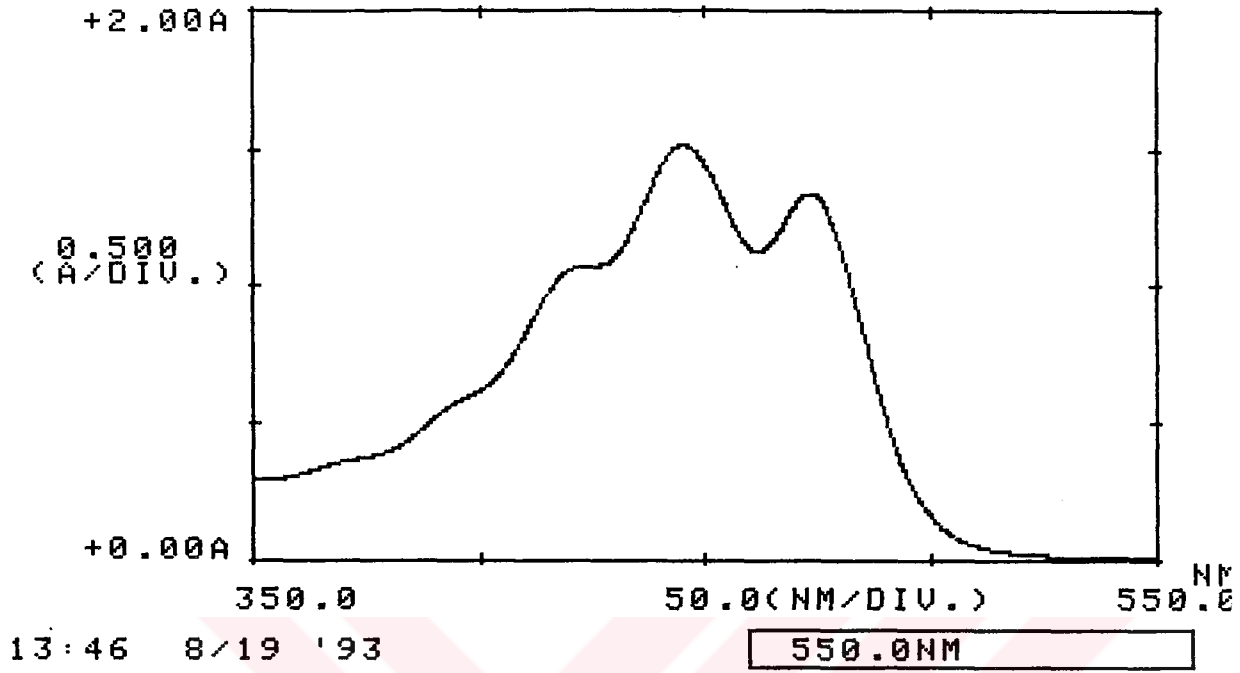
Şekil 6.10. T2 Kolon ürününün, absorbands grafiği ve maksimum absorbands değerleri (Seyreltme oranı: 1/2).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
473.8	0.462	462.0	0.391
445.4	0.521		

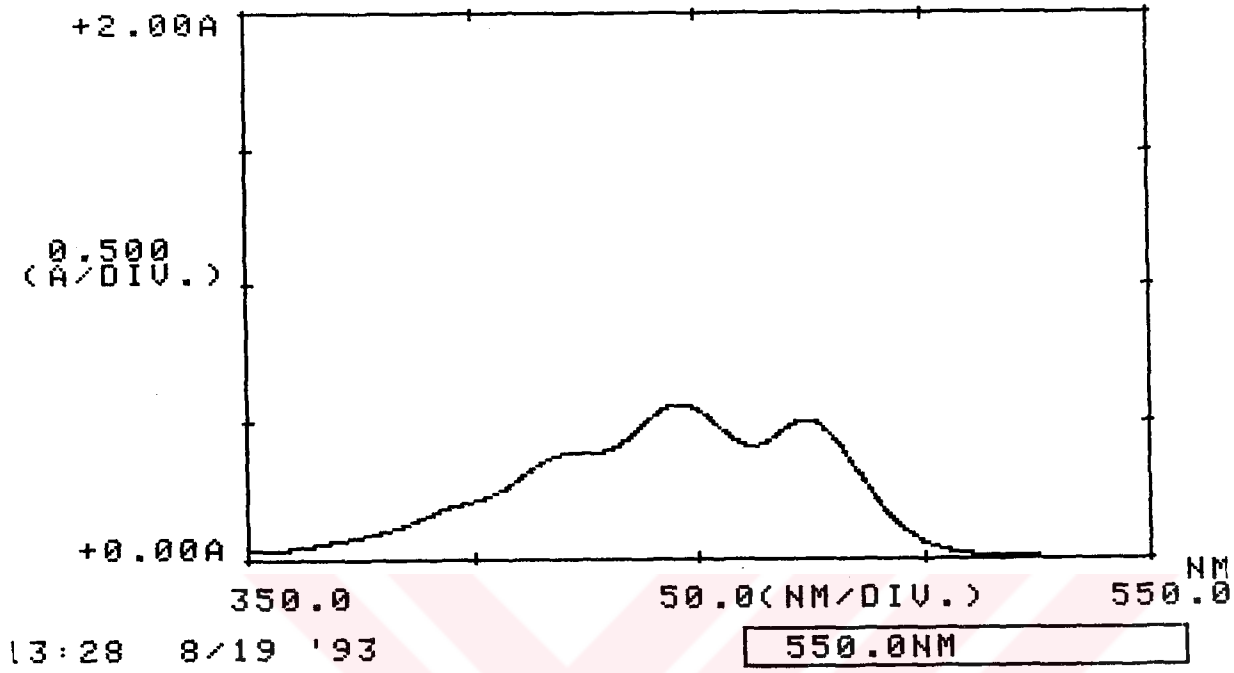
Şekil 6.11. T3 Kolon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri (Seyreltme oranı: 1/5).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
473.2	1.342	461.6	1.130
445.4	1.519		

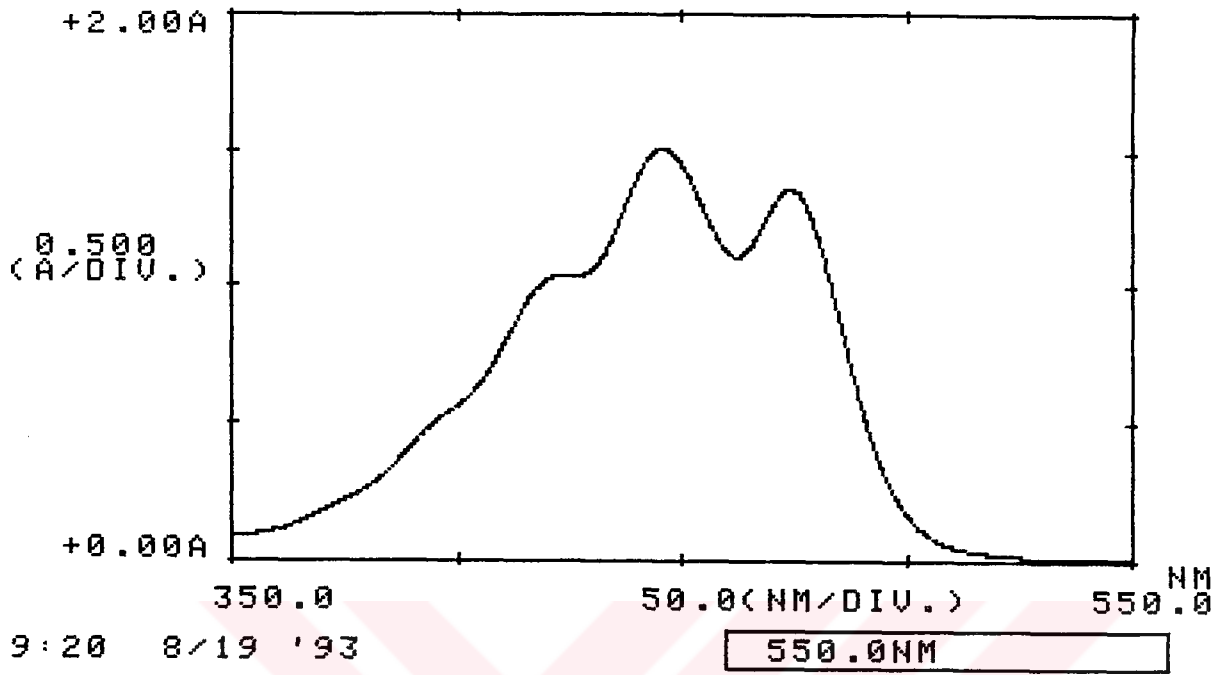
Şekil 6.12. K Sabunlaşma sonrası ürünün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri (Seyreltme oranı: -).



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
473.8	0.507	461.8	0.414
445.8	0.565		

Şekil 6.13. K Kristalizasyon ürününün, absorbans grafiği ve maksimum absorbans değerleri (Seyreltme oranı: 1/25).



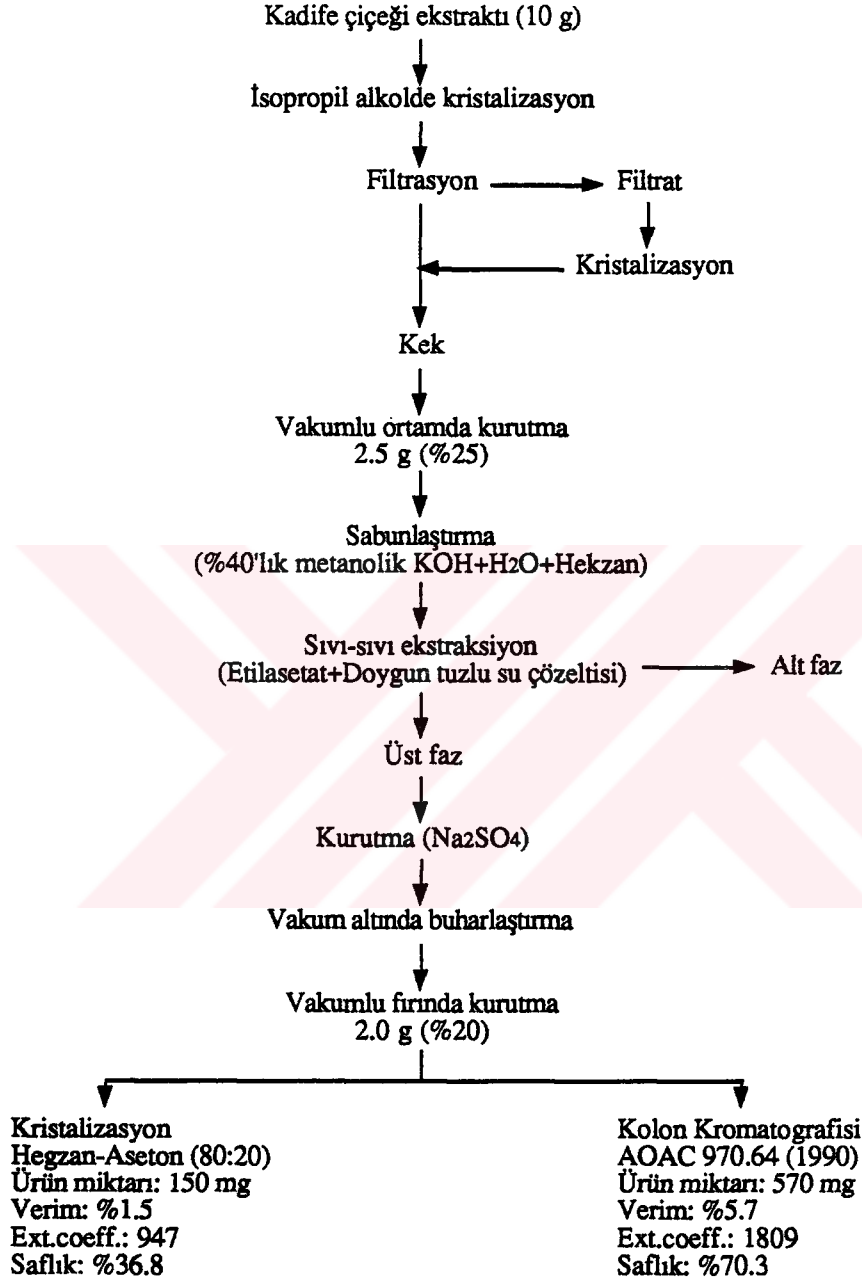
*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
474.0	0.686	461.8	0.560
445.6	0.762		

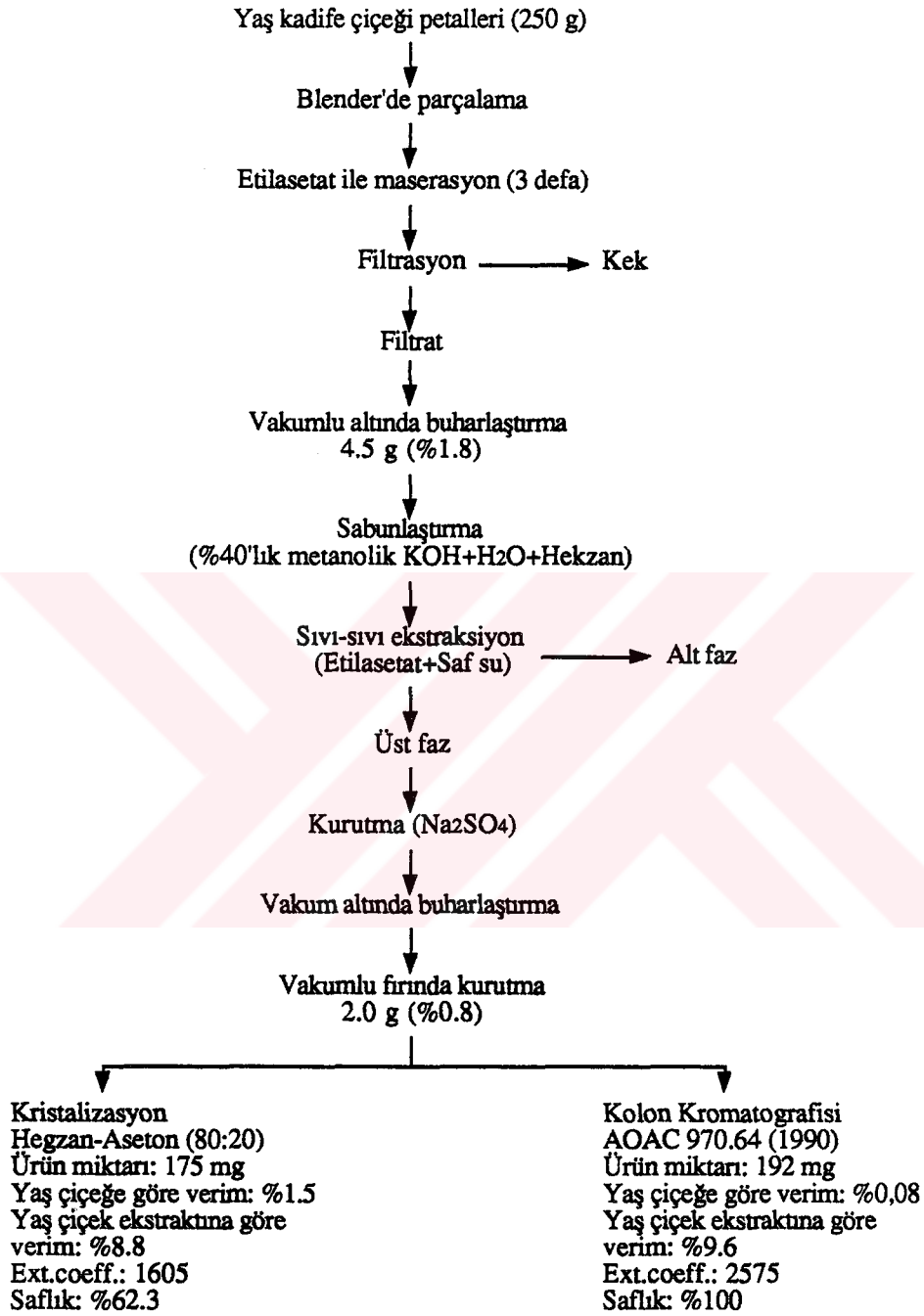
Şekil 6.14. K Kolon ürününün, absorbands grafiği ve maksimum absorbands değerleri (Seyreltme oranı: 1/50).

Şekil 6.15. ve 6.16.'da ise kadife çiçeği ekstraktı ve yaş kadife çiçeği petallerinden lutein eldesinin akış şeması gösterilmiştir. Bu iki tablo karşılaştırılırsa, kadife çiçeği ekstraktına, kristalizasyon yöntemi uygulandığında verim %1,5 olarak bulunmaktadır. Oysa ki aynı yöntem yaş kadife çiçeği petallerinden elde edilen ekstrakt için uygulandığında verim %8.8 olmaktadır. Ayrıca, son ürünün saflık yüzdesinin 36.8'den 62.3'e çıktığı görülmektedir. Yine aynı şekilde iki farklı kaynaktan uygulanan kolon kromatografisi yöntemleri karşılaştırıldığında, kadife çiçeği ekstraktında son ürün verimi %5.7 iken yaş çiçeklerde çiçek ekstraktına göre verimin %9.6'ya çıktığı bulunmuştur. Buradaki saflık yüzdesi ise 70.3'den 100'e çıkmıştır.

Tablo 6.3.'de, bu çalışma süresince yapılan denemeler sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda hesaplanan soğurma faktörü değerlerinin, literatür değeri ile karşılaştırılması ile bulunan saflık yüzdeleri belirtilmiştir. Burada E4 örneğinin kolon kromatografisi yöntemi ile saflaştırılarak, soğurma faktörünün 519'dan 1809'a çıkartıldığı ve saflık yüzdesinin 20'den 70'e çıkarıldığı açıkça görülmektedir. Tablo 6.1.'de açıklandığı gibi, E6 örneğinden en yüksek ürün verimini sağlanmış ise de, bu tabloda da görülmektedir ki elde edilen son ürünün saflığı -saflaştırma işleminde örneğin, ışık ve hava ile temas etmesi sonucu- ancak %32 olmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda E4 (kolon ürünü), K (kristalizasyon ürünü) ve K (kolon ürünü) örneklerinden en iyi sonuçlar alınmıştır. Tabloda ayrıca, K örneğindeki lutein oranının kristalizasyon işlemi ile %12'den %62'ye ve hatta kolon kromatografisi yöntemi ile %100'e çıkartıldığı görülmektedir.



Şekil 4.15. Kadife çiçeği ekstraktından lutein eldesinin genel akış şeması.



Şekil 4.16. Yaşkadife çiçeği petallerinden lutein eldesinin genel akış şeması.

Tablo 6.3. Örneklerin hesaplanan soğurma faktörleri ve saflık yüzdeleri.

Örnek	$E_{x_{1cm}}^{1\%}$	Saflık (%)
Literatür*	2550	99
E1 (Kristalizasyon ürünü)	31	1
E2 (Kristalizasyon ürünü)	33	1
E4 (Sabunlaşma ürünü)	519	20
E4 (Kolon ürünü)	1809	70
E5 (Kristalizasyon ürünü)	947	37
E6 (Sabunlaşma ürünü)	440	17
E6 (Kolon ürünü)	846	32
T1 (Kristalizasyon ürünü)	353	14
T2 (Kristalizasyon ürünü)	736	29
T2 (Kolon ürünü)	600	23
T3 (Kolon ürünü)	1085	42
K (Sabunlaşma ürünü)	316	12
K (Kristalizasyon ürünü)	1605	62
K (Kolon ürünü)	2575	100

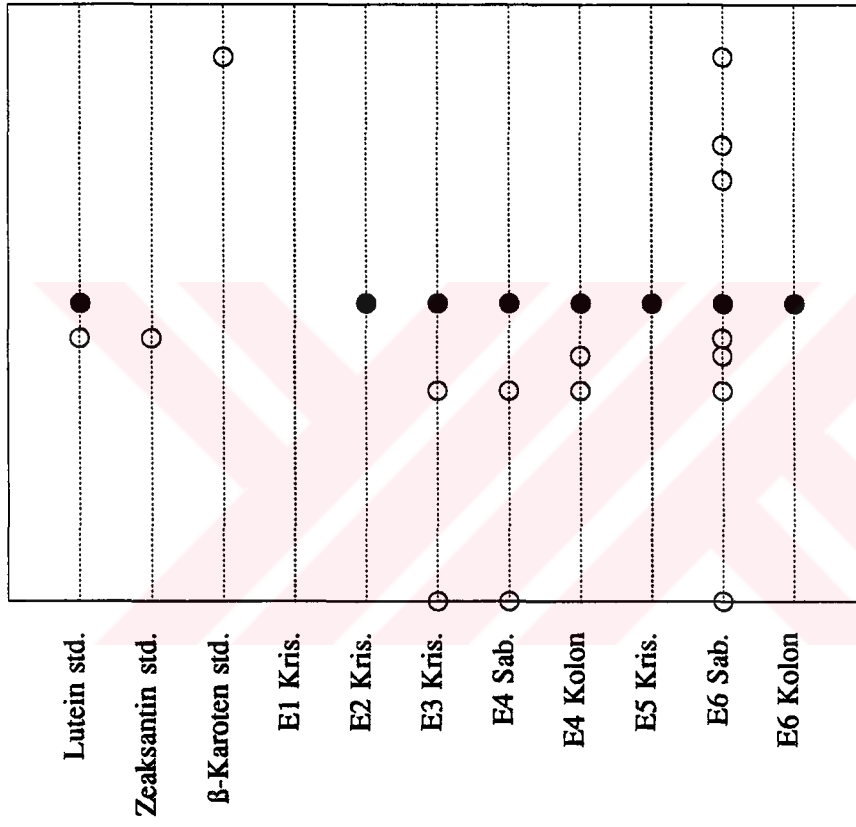
* Gregory, et al., 1986

İnce tabaka kromatografisi (TLC) sonuçları:

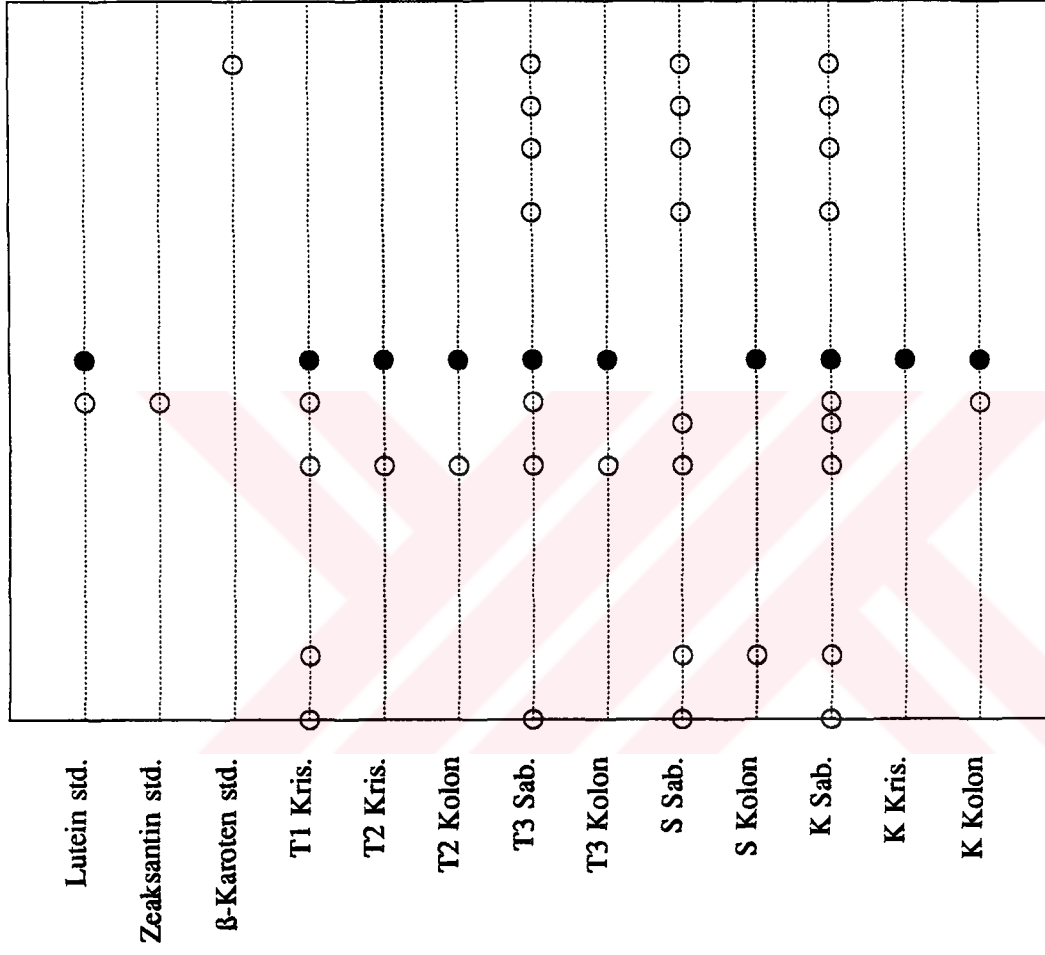
Beş ayrı mobil faz ile yapılan denemeler sonucunda kloroform-etilasetat (100+30) karışımının en iyi mobil faz olduğu anlaşılmıştır. Şekil 6.17 ve 6.18.'de, örneklerin kloroform-etilasetat (100+30) akışkan fazındaki TLC sonuçları verilmiştir. Şekil 6.17. ve 18.'de siyah olarak gösterilen noktalar luteini belirtmektedir, şeklin en üstünde bulunan noktalar ise β -karoteni ifade etmektedir. β -karoten ile lutein arasındaki noktalar da monohidroksi pigmentleri (zeinoksantin, kriptoksantin gibi), yani yapılarında bir tane -OH grubu bulunduran karotenoidleri göstermektedir. Lutein noktasının hemen altındaki nokta zeaksantini işaret eder. Şekiller incelendiğinde, lutein standardının içerisinde bir miktar da zeaksantin olduğu açıkça görülmektedir. Zeaksantin noktasının hemen altındaki grup ise polioksi pigmentler (viyolaksantin, neoksantin gibi) grubudur. En alttaki iki nokta da, sıcaklık, ışık ya da nem gibi nedenlerden dolayı yapısal bozunmaya uğramış pigmentlerdir.

Şekil 6.17.'de E6 örneğinin sabunlaşma aşamasından sonra, içerisinde hala pek çok safsızlıklar bulundurduğu görülmektedir, bunlar yukarıdan aşağıya β -karoten, mono hidroksi pigmentler, zeaksantin ve epoksi ürünler. E6 örneği kolon kromatografisi yöntemi ile saflaştırıldığında, bu safsızlıkların tamamen giderildiği gözlenmektedir. Aynı sonuçlar E2 ve E5 örneklerinde de alınmıştır. Ancak, ince tabaka kromatografisi yöntemi ile sadece, örnek içerisindeki yüksek konsantrasyonlu maddeler görülebilmektedir. Bu nedenle TLC yöntemi sadece genel kontrol amacı ile kullanılabilir.

Şekil 6.18.'de de görüldüğü gibi, T3, S ve K örneklerinin içerdikleri safsızlıklar, kolon kromatografisi yöntemi ile giderilmiştir. Bu örnekler içerisinde bulunan β -karoten ve monohidroksi pigmentler, kolon kromatografisinde birinci ve ikinci eluantlar ile tamamen giderilmiştir. Lutein noktasının aşağısında kalan noktalar ise, diğer bazı polioksi pigmentleri ve ışık, ısı ve oksijen ile temas ederek yapısal bozunmaya uğramış bileşikler ifade etmektedir. En alttaki iki nokta da epoksi ürünlerini göstermektedir. Bunlarda dikkatli bir ayırma ile kolon içerisinde kalırlar.



Şekil 6.17. Örneklerin TLC sonuçları.



Şekil 6.18. Örneklerin TLC sonuçları.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Gerek kadife çiçeği ekstraktı ile ve gerekse yaş kadife çiçeği petalleri ile yapılan çalışmalar sonucunda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

1) Manisa Naturel A.Ş. firmasından hazır olarak temin edilen kadife çiçeği ekstraktının bir ön kristalizasyon işlemine tabi tutulması, örnek içerisindeki istenmeyen safsızlıklardan bir bölümünü elimine ederek, sabunlaştırma işleminin daha başarılı gerçekleşmesini sağlamaktadır. Ön kristalizasyon işlemi için metanol, hekzan ve isopropil alkol kullanılmış, bu solventlerden isopropil alkol en iyi sonucu vermiştir.

2) Çiçek petallerinin ekstraksiyonu için literatürlerde belirtilen çeşitli solvent sistemleri denenmiştir. Ancak ekstraksiyon işlemi için kullanılacak çözücünün tek bir organik solventten oluşmasının, ekstraksiyonun ekonomisi açısından önemli olduğu görülmüştür. Bu nedenle, ekstraksiyon işleminde, lutein ve lutein yağ asit esterlerini en yoğun düzeyde çözebilen çözücüler denenmiş ve en iyi sonucu etilasetat vermiştir. Bu nedenle ekstraksiyon işlemlerinde bu çözücü kullanılmıştır.

3) Sabunlaştırma işleminde, %40'lık metanolik KOH çözeltisi, %60'lık etanolik KOH çözeltisine göre daha iyi sonuç vermiştir. Ayrıca, ortamda bir miktar suyun bulunmasının sabunlaşma reaksiyonunun dengeli bir biçimde yürümesini sağladığı görülmüştür. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu ise, faz ayrımının gerçekleşmediği durumlarda yıkama çözeltisinin tuz ile iyice doyurulması olumlu sonuçlar vermiştir.

4) Ürünün saflaştırılması için uygulanan kristalizasyon ve kolon kromatografisi yöntemleri karşılaştırıldığında, yüksek saflıkta lutein eldesi için kolon kromatografisi yöntemi kristalizasyona oranla daha başarılı olmuş ve %100 saflıkta lutein elde edilebilmiştir. Ancak kullanılacak kolonun boyutları adsorbant madde miktarı, solvent sistemleri ve diğer aparatların maliyetleri düşünüldüğünde kolon kromatografisi endüstriyel ölçekte üretim için oldukça pahalı ve komplike bir yöntemdir.

5) Kristalizasyon işlemi ise çok daha ucuz ve basit bir yöntemdir, ancak kristalizasyon işlemi ile %100 saflıkta ürün elde etmek mümkün olmamıştır. Bu yöntem ile en yüksek %60 saflıkta lutein elde edilebilmiştir. Kristalizasyon işleminin tekrarlanması ile saflık yüzdesi artırılabilir, ancak buna karşılık madde miktarında azalma meydana gelmektedir. Yine de, endüstriyel ölçekte lutein üretimi için kristalizasyon yöntemi işlem süresinin kısa ve kullanılan solvent miktarının az olması açısından daha avantajlıdır.

6) Yapılan deneyler sonucunda, *Tagetes erecta* cinsi sarı renkteki kadife çiçeklerinin, lutein içeriği bakımından çok zayıf oldukları görülmüştür. *Tagetes erecta* cinsi turuncu renkteki kadife çiçekleri ise lutein içeriği bakımından orta derecede zengin bulunmuştur. En iyi sonucu ise *Tagetes tenuifolia* cinsi kadife çiçekleri vermiştir. Bu nedenden dolayı endüstriyel ölçekte lutein eldesinde *Tagetes erecta* ya da *Tagetes tenuifolia* cinsi kadife çiçekleri kullanılması uygun olacaktır. Ancak, üretimde amaç %100 saflıkta ürün elde etmek olduğunda, *Tagetes tenuifolia* cinsi kadife çiçeklerinin kullanılması tavsiye edilir, çünkü bu çiçeklerden saf lutein elde etmek daha kolay olmaktadır.

7) Bu çalışmada pek çok literatürde belirtilen farklı yöntemler ayrı ayrı denenerek, bulunan değerler ışığı altında, kadife çiçeğinden lutein eldesinde yeni bir proses geliştirilmiştir. Bu yeni proses ile üretilen luteinin saflığı spektrofotometrik ölçümlerle saptanmış ve bulunan değer literatürle karşılaştırılmıştır. Tablo 6.3'de de görüldüğü gibi literatürde belirtilen soğurma faktörü değeri 2550'dir. Oysaki kullandığımız spektrofotometre ile yapılan ölçümlerde saf luteinin soğurma faktörü 2575 olarak gözlenmiştir.

8) Bölüm 6'da verilen TLC ve spektrofotometrik analiz sonuçlarından, ara ürünlerdeki lutein oranının, her aşamada nasıl değiştiği açıkça görülmektedir. Özellikle işlem görmemiş ana örnek, sabunlaştırma sonrası elde edilen örnek ve kolon kromatografisi ile saflaştırılan örnek arasındaki farklar oldukça dikkat çekicidir.

9) Ekstraksiyon, sabunlaştırma ve saflaştırma aşamalarında, yapılan çalışmaların tümünün azot gazı altında ve ışıktan arındırılmış bir ortamda yapılması son ürünün kalitesini ve verimini önemli ölçüde etkilemektedir. Ayrıca iklim koşulların da ürünün kalitesine ve verimine etkisi büyük olmaktadır. Özellikle çok sıcak havalarda veya nem oranının yüksek olduğu şartlarda ürün kalitesinde önemli bozulmaların meydana geldiği araştırmalarımızda gözlenmiştir. Bu nedenle üretimin yapılacağı mekanlarda iklim koşulları çok iyi ayarlanmalı, mutlaka bir nem tutucu düzenek ile oda sıcaklığını sabit bir derecede tutabilecek iyi bir havalandırma sistemi bulundurulmalıdır. Nem ve sıcaklık değerleri sırasıyla yaklaşık %50 ve 15°C olmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1) Aksu, S., 1971. Bitkisel maddeler kimya ve teknolojisi, Tekel Enstitüleri Yayınları, A serisi, No: 12, İstanbul: 133-166.
- 2) AOAC Official Methods Of Analysis, 1990. 15 th Edition, Arlington VA., 970.64.
- 3) Bell, P. and Coombe, D., 1976. Strasburger's textbook of botany, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart: 733.
- 4) Bishop, M., 1971. The penguin book of the Middle Ages, Penguin Books Ltd., Harmondsworth: 157.
- 5) Camp, W.H. and Boswell, V.R., Magness, J.R., Grosvenor, M.B., 1957. The world in your garden, National Geographic Society, Washington: 90.
- 6) Chambers Encyclopaedia, 1972 Edition.
- 7) Chandler, L.A. and Schwartz, S.J., 1987. HPLC separation of cis-trans carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables, J. Food Science, 53(3): 669-672.
- 8) Chen, B.H. and Chen, Y.Y., 1992. Determination of carotenoids and chlorophylls in water convolvulus (*Ipomoea aquatica*) by liquid chromatography, Food Chemistry Analytical Methods Section, 45: 129-134.
- 9) Counsell, J.N., Jeffries, G.S. and Knewstubb, C.J., 1981. Some other natural colours and their applications, In: J.N.Counsell (Editor), Natural colours for food and other uses, Applied Science Publishers Ltd., London, Chapter 7: 123-151.
- 10) Cuca, G.M. and Avila, G.E., 1973. Preliminary studies on triticale in diets for laying hens, Poultry Science, 52: 1973-1974.
- 11) Çolakoğlu, M. ve Tömek, S., 1975. Ege bölgesinde bazı yenebilen otların bileşimi, Ege üniversitesi Ziraat fakültesi Yayınları, No: 228, Bornova-İzmir.

- 12) Dziezak, J.D., 1987. Applications of food colorants, Food Technology, April: 78-88.
- 13) Emmam, S.S., İbrahim, S.S., Ashour, M.M.S. and Askar, A., 1990. Extraction of carotenids from orange peel by treatment with enzymes, Flüssiges Obst, 57(5): 287-288.
- 14) Finar, I.L., 1975. Organic chemistry, 5 th Edition, Longman Group Limited, 2: 463-491.
- 15) Fletcher, D.L. and Halloran, H.R., 1983. Egg yolk pigmenting properties of a marigold extract and paprika oleoresin in a practical type diet. Poultry Science, 62: 1205-1210.
- 16) Fletcher, D.L. and Papa, C.M., 1986 The effect of saponification on the brolier coloring capability of marigold extracts, Poultry Science, 65: 1708-1714.
- 17) Fox, H., 1976. Food industries of South Africa, August: 38.
- 18) Francis, F.J., 1987. Lesser-known food colorants, Food Technology, April: 62-68.
- 19) Gau, W, Ploschke, H.J. and Wünsche, C., 1983. Mass spectrometric identification of xanthophyll fatty-acid esters from marigold flowers (*Tagetes erecta*) obtained by high performance liquid chromatography and craig counter-current distribution, J. Chromatography, 262: 277-284.
- 20) Gıda maddeleri ile ilgili tüzük ve yönetmelik, 1988., İstanbul Ticaret Odası, Yayın No: 1988-26, İstanbul.
- 21) Goldenberg, N., 1977. Why additives-The safety of foods, Chapter 6: Colours-do we need them?, British Nutrition Foundation, London.
- 22) Gregory, G.K., Chen, T.S. and Philip, T., 1986. Quantitative analysis of lutein esters in marigold flowers (*Tagetes erecta*) by high performance liquid chromatography, J. Food Science, 51(4): 1093-1094.

- 23) Guenther, E., Carlson, C.W., Olson, O.E., Kohler, G.O. and Livingston, A.L., 1973. Pigmentation of egg yolks by xanthophylls from corn, marigold, alfalfa and synthetic sources, *Poultry Science*, 52: 1787-1798.
- 24) Hicks, D., 1981. The importance of colour to the food manufacturer, In: J.N.Counsell (Editor), *Natural colours for food and other uses*, Applied Science Publishers Ltd., London, Chapter 3: 39-53.
- 25) Ilker, R., 1987. In-vitro pigment production: An alternative to color synthesis, *Food Technology*, April: 70-72.
- 26) Jaques, H.E., 1949. *Plant families: How to know them*, W.M. C. Brown Company, Dubuque-Iowa: 136-137.
- 27) Javier, D.L.R., 1989. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of lutein and lutein fatty acid esters from marigold flower petal powder, *J. Chromatography*, 464: 442-447.
- 28) Jorgensen, K. and Skibsted, L.H., 1990. Light sensitivity of carotenoid used as food colours. *Z. Lebensm. Unters. Forsch*, 190: 306-313.
- 29) Kassner, J.E., 1987. Modern technologies in the manufacture of certified food colors, *Food Technology*, April: 74-76.
- 30) Kearsley, M.W., Rodriguez, N., 1981. The stability and use of natural colours in foods: anthocyanin, β -carotene and riboflavin, *J. Food Technol.*, 16: 421-431.
- 31) Khachik, F., Beecher, G.R. and Whittaker, N.F., 1986. Separation, identification, and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography, *J. Agr. Food Chem.*, 34(4): 603-616.
- 32) Khachik, F. and Beecher, G.R., 1988. Separation, identification of carotenoids and carotenol fatty acid esters in some squash products by liquid chromatography. 1. Quantification of carotenoids and related esters by HPLC, *J. Agric. Food Chem.*, 36: 929-937.

- 33) Khachik, F., Beecher, G.R. and Lusby, W.R., 1989. Separation, identification, and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe and pink grapefruit y liquid chromatography, J. Agric. Food Chem., 37: 1465-1473.
- 34) Kläui, H., 1981. Carotenoids and thier applications, In: J.N.Counsell (Editor), Natural colours for food and other uses, Applied Science Publishers Ltd., London, Chapter 6: 91-122.
- 35) Knowles, R.E., Livingston, A.L. and Kohler, G.O., 1972. Rapid determination of carotene and xanthophyll in dried plant materials, J. Agr. Food Chem.,20(6): 1127-1129.
- 36) Krinsky, N.I., 1989.Carotenoids and cancer in animal models, J. Nutrition, 199(1): 123-126.
- 37) Lauren, D.R., McNaughton, D.E. and Agnew, M.P., 1987. Simple liquid chromatographic method for determination of carotenoids in alfalfa products, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70(3): 428-433.
- 38) Lee, C.Y., 1986. Changes in carotenoid content of carrots during growth and post-harvest storage, Food Chemistry, 20: 285-293.
- 39) Lille, R.D., 1979. The red dyes used by Ancient dyers: Their probable identity, J. society of dyers and colourists, Februrary 95: 57.
- 40) Livingston, A.L., Knowles, R.E., Nelson, J.W. and Kohler, G.O., 1968. Xanthophyll and carotene loss during pilot and industrial scale alfalfa processing, J. Agr. Food Chem., 16(1).
- 41) Livingston, A.L., 1986. Rapid analysis of xanthophyll and carotene in dried plant materials, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 69(6): 1017-1019.
- 42) Moore, L., 1991. The natural vs. certified debate rages on, Food Engineering, August: 69-72.
- 43) Olmsted, F.L., Coville, F.V. and Kelsey, H.P., 1924. Standardized plant names, American joint committee on horticultural nomenclature salem, Mass.: 488.

- 44) Palan, P.R., Romney, S.L., Mikhail, M., Basu, J. and Vermund, S.H., 1988. Decreased plasma β -carotene levels in women with uterine cervical dysplasias and cancer, J. National Cancer Institute, 80(6): 454- 455.
- 45) Papa, C.M. and Fletcher, D.L., 1985. Utilization and yolk coloring capability of xanthophylls from synthetic and high xanthophyll concentrates, Poultry Science, 64: 1464-1469.
- 46) Pelham, W.N., 1963. A thousand years of Cochineal: A lost but traditional Mexican industry on its way back, American dyestuff reporter, 19 August: 25.
- 47) Philip, T. and Weber, C.W., 1975. Nature of lutein acylation in marigold (*Tagetes erecta*) flowers, J. Food Science, 40: 1089-1090.
- 48) Philip, T., Weber, C.W. and Berry, J.W., 1976. Utilization of lutein and lutein-fatty acid esters by laying hens, J. Food Science, 41: 23-25.
- 49) Porter, C.L., 1959. Taxonomy of flowering plants, W.H.Freeman and Company, San Francisco and London: 410.
- 50) Premachandra, B.R., 1984. A simple TLC method for the determination of pro-vitamin A content of fruits and vegetables, Internat. J. Vit. Nutr. Res., 55: 139-147.
- 51) Raymundo, L.C., Chichester, C.O. and Simpson, K.L., 1976. Light-dependent carotenoid synthesis in the tomato fruit, J. Agric. Food Chem., 24(1): 59-64.
- 52) Rivas, J.D.L., 1989. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of lutein and lutein fatty acid esters from marigold flower petal powder, J. Chromatography, 464: 442-447.
- 53) Rohan, T.E., McMicheal, A.J. and Baghurst, P.A., 1988. A population based case control study of diet and breast cancer in Australia, American Journal of Epidemiology, 128(3): 478-489.

- 54) Saylor, W.W., 1986. Evaluation of mixed natural carotenoid products as xanthophyll sources for broiler pigmentation, *Poultry Science*, 65: 1112-1119.
- 55) Scott, K.J., 1992. Observations on some of the problem associated with the analysis of carotenoids in foods by HPLC, *Food Chemistry*, 45: 357-364.
- 56) Tanrıverdi, F., 1993., *Çiçek üretimteknîği*, İnkılap yayınevi, İstanbul: 207.
- 57) Taylor, R.J., 1980. Food additives, John Wiley and Sons, New York: 26-36.
- 58) Tyczkowski, J.K. and Hamilton, P.B., 1991. Preparation of purified lutein and its diesters from extracts of marigold (*Tagetes erecta*), *Poultry Science*, 70: 651-654.
- 59) Tırman, F., 1987. Tabii çiçekler morfolojisi ve yapma çiçekçilikte kullanılan kalıplar, *Selçuk Üniversitesi Yayınları*, 34: 39-40.
- 60) Vaillant, G.C., 1972. Aztecs of Mexico, Penguin Books Ltd., Harmondsworth: 142.
- 61) Wald, N.J., Thompson, S.G., Dersem, J.W., Boreman, J. and Bailey, A., 1988. Serum beta-carotene and subsequent risk of cancer: results from BUPA study, *British Journal of Cancer*, 57(4): 428-433.
- 62) Walford, J., 1980. Developments in food colours-1, Applied Science Publishers Ltd., London.
- 63) Watson, R.H.J., 1981. The importance of colour in food psychology, In: J.N.Counsell (Editor), *Natural colours for food and other uses*, Applied Science Publishers Ltd., London, Chapter 2: 27-38.
- 64) Williams, C.M. and Dickerson, J.W.T., 1990. Nutrition and cancer-Some biochemical mechanisms, *Nutrition Research Reviews*, 3: 75-100.
- 65) Yentür, S., 1984. Bitki anatomisi, İstanbul Üniversitesi Fen fakültesi Yayınları, No: 3283, İstanbul: 18-19.

Tablo E.1 Gıda Maddeleri Tüzük ve Yönetmeliği'ne göre Türkiye'de gıdalarda kullanılmasına izin verilen gıda boyaları.

E.C.	Maddenin Adı	Kullanılacağı Mamül	Maksimum Miktar	Açıklama
E160	Annatto ekstrakt CI Natural Orange CI 75120	Peynir çeşitleri Çerezler Şekerlemeler Cikletler İçecek tozları Hazır jöle kar. Buz ürünleri	600 mg/kg 50 mg/kg 15 mg/kg 15 mg/kg 45 mg/kg 15 mg/kg 15 mg/kg	Tek başına veya Beta-Karoten ile birlikte. Bixin üzerinden hesaplanarak. " " " " " " " "
E160	Beta-Apo-8-Karotenoik asit CI 40825	Margarinler Alkolsüz içecekler Şekerlemeler	UTG (GMP) UTG (GMP) 35 mg/kg	
E160	Beta-Apo-8-Karotenol CI 40820	Margarinler Alkolsüz içecekler Şekerlemeler Peynir çeşitleri Cikletler İçecek tozları	UTG (GMP) 25 mg/kg 35 mg/kg UTG (GMP) 50 mg/kg 200 mg/kg	
E160	Beta-Karoten CI 40800	Aromalı sütler Aromalı pudingler Margarinler Yenilebilir bitkisel ve hayvansal yağlar Şekerlemeler Cikletler Alkolsüz içecekler Bisküvi kremaları Peynir çeşitleri Buz ürünleri (Meyveli buz, meyveli sütlü buz vb.) Çerezler İçecek tozları Hazır jöle kar.	UTG (GMP) 10 mg/kg UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) 10 mg/kg 600 mg/kg UTG (GMP) 40 mg/kg UTG (GMP) UTG (GMP)	Tek veya Annatto ile beraber

Tablonun devamı.

[illegible]

Tablonun devamı.

		Aromalı bisküvi ve gofret kremaları Hazır jöle kar. Hazır çorbalar	UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP)	
E127	Eritrosin CI Food Red 14 CI 45430	Aromalı pudingler Aromalı bisküvi ve gofret kremaları Dondurulmuş veya konserve kerevit ve karides Aromalı sütler Şekerlemeler Çikletler Hazır jöle kar. İçecek tozları Buz ürünleri Çerezler	20 mg/kg 50 mg/kg 30 mg/kg 20 mg/kg 50 mg/kg 50 mg/kg 50 mg/kg 50 mg/kg 20 mg/kg 30 mg/kg	
E132	Indigotin CI Food Blue 1 CI 73015	Buz ürünleri Şekerlemeler Çikletler İçecek tozları	100 mg/kg 200 mg/kg 200 mg/kg 300 mg/kg	veya Al, Ca laktatları şeklinde
E101	Riboflavin	Aromalı sütler Aromalı pudingler Buz ürünleri Peynir çeşitleri Alkolsüz içecekler İçecek tozları Çikletler Şekerlemeler Hazır jöle kar. Aromalı bisküvi ve gofret kremaları Çerezler Margarinler Diyet gıdalar Hububat mamülleri Soslar Pastacılık kremaları Patates mamülleri Hazır çorbalar Kahve beyazlatıcıları	UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP)	

Tablonun devamı.

E110	Sunset Yellow CI Food Yellow 3 CI 15985	İçecek tozları Çerezler Hazır jöle kar. Karides konserveleri Cikletler Aromalı bisküvi ve gofret kremaları	200 mg/kg 50 mg/kg 200 mg/kg 10 mg/kg 100 mg/kg 50 mg/kg	veya Al, Ca lakları şeklinde
E102	Tartrazin CI Food Yellow 4	Karides konserveleri Hazır jöle kar. Şekerlemeler Cikletler İçecek tozları	30 mg/kg 200 mg/kg 100 mg/kg 100 mg/kg 200 mg/kg	veya Al, Ca lakları şeklinde
E131	Patent Blue V	Şekerlemeler Cikletler	90 mg/kg 90 mg/kg	
E124	Ponso 4R Poncau 4R	Şekerlemeler Cikletler Hazır jöle kar. İçecek tozları	100 mg/kg 100 mg/kg 200 mg/kg 200 mg/kg	
E171	Titanyum dioksit Pigment White 6 CI 77891	Şekerlemeler İçecek tozları Cikletler Beyaz leblebi	UTG (GMP) 500 mg/kg UTG (GMP) UTG (GMP)	
E163	Antosiyaninler (Bitkinin yenebilen kısımlarından ekstrakte edilmiş)	Alkolsüz içecekler Şekerlemeler Cikletler Hazır jöle kar. İçecek tozları Buz ürünleri	25 mg/kg UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP)	
E173	Metalik Aluminyum CI 77000	Şekerlemeler	UTG (GMP)	
E153	Bitkisel tıbbi karbon	İçecek tozları Cikletler Aromalı bisküvi ve gofret kremaları Hazır jöle kar. Şekerlemeler	100 mg/kg 50 mg/kg 50 mg/kg 100 mg/kg 50 mg/kg	
E141	Klorofil-Bakır kompleksi	Şekerlemeler	100 mg/kg	Klorofil üzerinden hesaplanarak

Tablonun devamı.

		Çikletler Hazır jöle kar.	100 mg/kg 200 mg/kg	Klorofil üzerinden hesaplanarak
		İçecek tozları Buz ürünleri	200 mg/kg 100 mg/kg	Klorofil üzerinden hesaplanarak
E162	Pancar kırmızısı	İçecek tozları Hazır jöle kar. Hazır çorbalar Aromalı pudingler	UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP) UTG (GMP)	Etken boya miktarı en az %0.4 ve herbir gram etken maddeye karşılık en fazla 2 g Nitrat anyonu bulunacaktır.

T.C. YÜKSEK ÖLÇÜLERİ KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖZ GEÇMİŞ

Adı : Sevinç
Soyadı : Eren
Doğum Tarihi : 22 Kasım 1970
Doğum Yeri : Ankara

Öğrenim Durumu

İlkokul : 1976 - 1981 Göztepe İlhami Ahmet Örnekal İlkokulu
Ortaokul : 1981 - 1984 İstanbul Fenerbahçe Lisesi
Lise : 1984 - 1987 İstanbul Fenerbahçe Lisesi
Üniversite : 1987 - 1991 İstanbul Yıldız Teknik Üniversitesi,
Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya
Mühendisliği Bölümü.
Lisans Tezi : 1991 Bir Kurutma Prosesi Tasarımı.
Yabancı Dil : İngilizce (İyi).