

Maydanozdaki (*Petroselinum sativum*) Askorbik Asit Oksidasyonunun Zamana Bağlı Olarak Araştırılması

Ebru ÇÖTELİ, *Fikret KARATAŞ

Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü 23119-Elazığ/Türkiye.

*fkaratas@firat.edu.tr

(Geliş/Received: 15.08.2013; Kabul/Accepted: 17.03.2014)

Özet

Bu çalışmada, değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standart askorbik asit (C vitamini) çözeltileri ile maydanozdaki (*Petroselinum sativum*) askorbik asit miktarlarının zamana bağlı olarak değişimi Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile belirlendi. Değişik konsantrasyonlarda 0.5 µg/mL, 1.0 µg/mL, 2.0 µg/mL ve 4.0 µg/mL hazırlanan standart askorbik asit çözeltileri ile kıyılmış taze maydanoz yapraklarının suda çözölen kısmındaki (maydanoz suyu) askorbik asit miktarının zamana bağlı olarak azalması (oksidasyonu) belirlendi. Bu amaçla çözeltilerin hazırlandığı andan itibaren 1'er saat ara ile ilk 8 saat süre içerisinde analizler yapıldı. Tüm çalışmalar oda sıcaklığında gerçekleştirilmiş olup, derişimi 0.5 µg/mL olan standart askorbik asit çözöltisi 4. saatin sonunda HPLC'nin tayin sınırının altında olduğu için belirlenemedi. Diğer standart stok askorbik asit çözeltilerinde (1.0, 2.0 ve 4.0µg/mL) ise azalma devam etmiş, HPLC'nin tayin sınırının üzerinde oldukları için belirlenmişlerdir. Standart askorbik asit çözeltilerinde oksidasyonun derişimle ters orantılı olduğu gözlenmiştir. Maydanoz suyundaki askorbik asit oksidasyonunun 8. saatte yaklaşık % 37 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca derişik çözeltilerdeki askorbik asit derişimleri ile HPLC'nin kromatogramlarındaki pik alanları arasındaki korelasyonun bozulduğu da gözlenmiştir. Tüm bu sonuçlardan; 1) Askorbik asidin kantitatif analizlerinde örneklerin saklanma ve analizlenme sürelerinin önemli olduğu, 2) Yüksek askorbik asit derişimlerinde kromatogramlardaki pik alanları ile konsantrasyon arasındaki lineerliğin bozulduğu, 3) Askorbik asit analizlerinde uygun seyreltmeler ile analizlerin en kısa sürede gerçekleştirilmesinin gerekli olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Askorbik asit, Maydanoz, Oksidasyon

Investigation the degradation of the ascorbic acid in the *Petroselinum sativum* the depend of time

Abstract

In this study, according to time the prepared in the various concentrations of ascorbic acid (vitamin C) standard as well as the amount of ascorbic acid in parsley (*Petroselinum sativum*) were determined by using high performance liquid chromatography (HPLC). Various concentrations of 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 2.0 mg/mL and 4.0 mg/mL ascorbic acid solutions and minced fresh parsley leaves (parsley juice) were prepared. Than, it was found that the amount of ascorbic acid shown a decrement at time dependly. After solution prepared, for this purposed all analysis were performed within eight hours began interval of one hour. All of the studies were done at room temperature. Standard ascorbic acid solution (0.5 mg/mL) was not determined because of being under detection of limit of HPLC at end of four hour. The other standards ascorbic acid solutions (1.0, 2.0 and 4.0mg/mL) continued to be a decrease. It was observed that the oxidation of ascorbic acid in the parsley solution was around 37%. Also, we observed that when concentration of ascorbic acid increased, there was no correlation between peak area in chromatogram of HPLC and ascorbic acid concentration. All of these result taken together; 1) the quantitative analysis of ascorbic acid and storage time of the samples in analysis are an important, 2) linearity was lost at HPLC chromatogram in presence of higher of concentration of ascorbic acid versus peak area, 3) it was assumed that after appropriate dilution analysis of ascorbic acid should be determined as soon as possible short time.

Key words: Ascorbic acid, *Petroselinum sativum*, Oxidation

1. Giriş

Askorbik asit (C vitamini), kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolakton olup, insan

plazmasında ve hücre zarında bulunan, zarı geçebilen suda çözünebilir düşük molekül ağırlıklı major antioksidanlardan biridir [1,2]. Askorbik asidin demir emilimini arttırdığı [3],

kalp krizi ve felç riskini azalttığı, immun sistemin kuvvetlenmesine yardımcı olduğu, soğuk algınlığının semptomlarını hafifletebildiği belirtilmektedir [4-7]. Ayrıca kemik, kan damarları ve yara iyileşmesinde koruyucu, bağlayıcı ve yapısal dokuların kuvvetlendirilmesinde gerekli bir protein zinciri olan kollojenin gelişmesi için gerekli olduğu kanıtlanmıştır [4,8]. Askorbik asidin antioksidan etkisi nedeniyle oksidatif strese kullanılmasının yanı sıra safra yolu hastalıklarını, safra taşı oluşumunu, karsinogenezi ve kataraktı da önlediği rapor edilmektedir [4,7, 9]. Aynı şekilde askorbik asidin midede karsinojenik nitrozaminlerin oluşumunu önlediği [7,9,10], A vitamini ve folik asidin parçalanmasını azalttığı belirtilmektedir [4]. Ayrıca askorbik asidin tokoferoller, peroksidler ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerini indirgediği, lipid hidroperoksitlerin oluşumunu engellediği ve etkili bir singlet oksijen temizleyicisi olduğu da ileri sürülmektedir [11-14].

Askorbik asidin bitkisel ve hayvansal yağları, balık, margarin ve süt gibi yağ ihtiva eden yiyecekleri oksidatif bozulmaya karşı koruduğu bilinmektedir. Askorbik asit, E vitamininin ve yahut radikalik tokoferollerin yenilenmesinde görev alır. Burada askorbat radikali (semidehidroaskorbik asit) NAD tarafından enzimatik olarak yeniden redüksiyona uğratarak askorbik aside dönüşür. Bu mekanizma ile de E vitamininin antioksidan fonksiyonları sürekli hale getirilir [15-17]. Suda eriyebilen vitaminlerden olan askorbik asit, özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turuncgillerde bol miktarda bulunur ve ince bağırsaklardan kolayca emilir. Askorbik asit ısıtılmaya dayanıksız, dondurulmaya ise dayanıklı olup [14] hava ile temasta kolay okside olur, suda erir, ekşi tattadır, ışıkla temasta rengi koyulaşır [18]. Her gün yenilecek 7,0 gram maydanozun, insanın C vitamini ihtiyacının tümünü, yada 10 dal maydanozun günlük ihtiyacının %15'ini karşılayabileceği ifade edilmektedir [19]. Bu çalışmada oda sıcaklığında belli konsantrasyonlarda hazırlanmış olan standart askorbik asit çözeltileri ile maydanozun (*Petroselinum sativum*) suda çözünürleştirilmiş çözeltisindeki askorbik asit miktarlarındaki zamana bağlı azalmalar takip edilerek, askorbik asidin süreye bağlı oksidasyon hızını belirlemek,

ayrıca laboratuardaki araştırmacıların bu konuya dikkatlerini çekmek ve literatür bilgisine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

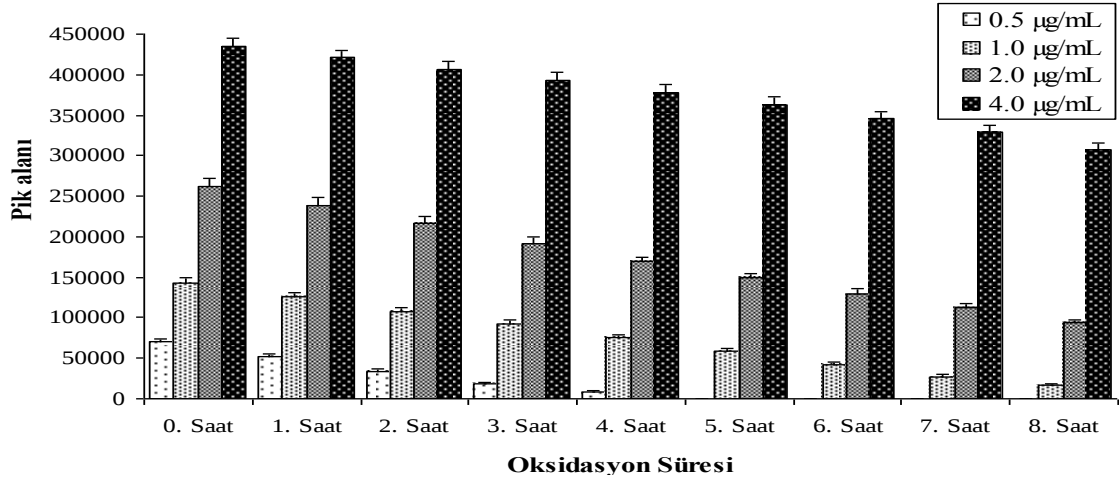
2. Materyal ve Metot

Standart askorbik asitten 100 µg/mL derişimde, 50 mL stok çözelti hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltiden uygun seyreltmelerle 10'ar mL'lik 0.5 µg/mL, 1.0 µg/mL, 2.0 µg/mL ve 4.0 µg/mL standart çözeltilere dönüştürüldü. Ayrıca taze, temiz maydanoz (*Petroselinum sativum*) bitkisinin yaprakları homojenizatörde iyice parçalandı. İyice parçalanmış örneklerden plastik tüpün her birine 50 mg alınarak üzerlerine 0.5 M HClO₄ çözeltisinden 1.0 mL katılarak vortekslendi. Daha sonra toplam hacim saf su ile 10 mL'ye tamamlandı. Karışımlar daha sonra ultrasonik su banyosunda 15 dk bekletildikten sonra 4000 rpm'de 4 dk santrifüjlenerek asıltı partiküller çöktürüldü [20]. Santrifüjlenen çözelti süzülerek çökelek ve çözelti ayrıldı. Bu çözeltiden 20 µL alınarak HPLC'ye enjekte edildi. HPLC'de hareketli faz olarak: 3,7 mM KH₂PO₄ (pH: 4, H₃PO₄ ile) ve akış hızı: 1.0 mL/dk dalgaboyu: 245 nm'de C18 kolonu kullanılarak askorbik asit miktarları tayin edildi [21].

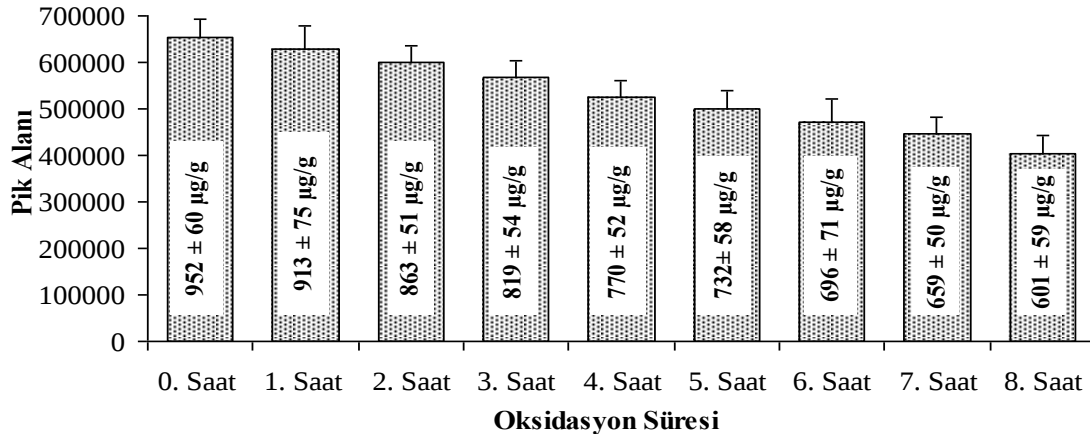
Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Merck firmasından temin edilmiş ve tüm çalışmalarda bidistile su, vitaminlerin analizlerinde ise Cecil 1100 serisi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Cotati marka 7125 enjeksiyon lobu, Cecil 68174 UV dedektörü ve HP 3395 integratörü) kullanıldı.

Sıcaklık ve ışığın etkisi dikkate alınarak deneyler laboratuvar koşullarında gerçekleştirildi. Analizler beş örnek halinde paralel yürütülerek, verilerin aritmetik ortalamaları ile standart sapmaları hesaplandı.

3. Sonuçlar



Şekil 1. Değişik konsantrasyonlardaki askorbik asit çözeltilerinin zamana bağlı olarak değişim grafiği



Şekil 2. Maydanozdaki (*Petroselinum sativum*) askorbik asit miktarlarının zamana bağlı olarak değişim grafiği.

4. Tartışma

Maydanoz halk arasında yaygın olarak kullanılan bir sebze olup, geleneksel halk hekimliğinde ise; maydanoz suyunun mesane iltihaplanmasını önlemek, kum, romatizma, böbrek taşı ve idrar söktürücü olarak kullanılmak, iltihaplı yaraları iyileştirmek, aybaşı sancılarını kesmek (antienflamatuvar etkiler) amacıyla kullanıldığı bildirilmektedir [22]. Maydanoz suyunun kanı arıtıp oksijeni metabolize etmekte, böbrekleri, karaciğeri ve idrar yollarını temizlemekte olup görme gücüne, kılcal damar sistemine, adrenal ve tiroid bezine iyi geldiği rapor edilmektedir [23]. Gıdaların

işlenmesi, depolanması ve pişirilmesinde en fazla kaybolan askorbik asittir. Çeşitli işlemlere bu kadar duyarlı olması nedeniyle, gıdalara uygulanan birçok işlemin olumsuz etkisinin belirlenmesinde askorbik asitteki kayıp miktarı bir gösterge olarak kullanılmaktadır [24]. Çünkü askorbik asit gıdalarda bulunan diğer besin bileşenlerine göre çabuk değişebilen bir yapıya sahiptir. Yani askorbik asit çeşitli faktörlerden kolaylıkla etkilenecek oksidasyona uğramaktadır. Zamana bağlı olarak askorbik asit seviyesindeki azalmalar çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunlar; oksijen içeriği, metal iyonu katalizi, ışık, sıcaklık ve nem içeriğidir [25-28]. Walkling-Ribeiro ve ark. [29] elma suyu UV uygulaması (20°C'de

30 dk) sonucunda, elma suyunun askorbik asit içeriğinin 54 µg/mL'den 40 µg/mL'ye düştüğünü saptamışlardır. Çalışmalarımız oda sıcaklığında (23-25°C) gerçekleştirildi, Şekil 1'de görüleceği üzere değişik konsantrasyonlardaki standart askorbik asit çözeltilerinde oksidasyonunun derişimle ters orantılı ve zamana bağılı olarak arttığı gözlemlendi. 0.5 µg/mL standart askorbik asit çözeltisinin 4. saatin sonunda HPLC'nin tayin sınırının altına düştüğü gözlemlendi. HPLC ile askorbik asit tayininde tayin sınırı 20 ng/mL, geri kazanımı ise % 96 olarak belirlendi. Aynı şekilde 1.0 µg/mL, 2.0 µg/mL ve 4.0 µg/mL askorbik asit çözeltilerinin ise 8. saatin sonuna kadar tayin edilebildiği belirlendi. Genelde bütün standart askorbik asit çözeltilerinde zamanla oksidasyonun doğru orantılı olarak arttığı izlendi. Oda sıcaklığında seyreltik askorbik asit çözeltisinde (0.5µg/g) saatteki oksidasyon yaklaşık ortalama % 35-40 iken, derişik çözeltilerde (4.0µg/g) ise yaklaşık % 4-5 civarında azalma olduğu görülmektedir.

Benzer şekilde, Uysal Pala ve Kırca Toklucu [30], portakal suyunda 9 lambalı bir UV reaktörü kullanarak yapılan UV uygulaması sonucunda, portakal suyunun askorbik asit içeriğinin sistemden 4 geçiş sonucunda % 10,6 oranında azaldığını belirlemişlerdir.

Bu sonuçlarımızdan derişik çözeltilerde oksidasyonun daha az olduğu görülmektedir. Seyreltik çözeltilerde oksidasyonun hızlı olması sıcaklık faktörü ile açıklanabilir iken, derişik çözeltilerde oksidasyonun daha yavaş olması lineer çalışma aralığı ile açıklanabilir. Gerek bulgularımızdaki oksidasyonun hızı hemde miktarı, yukarıda verilmiş olan araştırmalarla uyumlu olduğu görülmektedir. Bulgularımızdaki oksidasyon hızı ve miktarlarının yukarıda verilmiş olan literatürlerle uyumlu olduğu görülmektedir.

Askorbik asit enzimatik yolla da parçalanabilmektedir. Oksidaz enzimi başta olmak üzere lipoksigenaz, fenol oksidaz, sitokrom oksidaz ve peroksidad gibi enzimler askorbik asidin parçalanmasını katalize eden enzimlerdir. Bunlardan sadece askorbik asit oksidaz, askorbik asidi doğrudan doğruya okside ederken diğerleri dolaylı olarak oksidasyonuna neden olurlar [25,33].

Şekil 2'deki sütun grafiği pik alanına karşı oksidasyon süresi sütun grafiği olarak verilmiş olup, her bir saatteki askorbik asit miktarları ayrıca sütunlar üzerinde gösterilmiştir. Burada maydanoz suyunun ilk hazırlanış safhasında askorbik asit derişimi 952±60µg/g iken, yaklaşık %5'lik bir azalma ile 8. saatin sonunda miktarı 601±59µg/g olarak belirlenmiştir. Yani 8. saatte maydanoz suyundaki askorbik asit miktarında %37'lik bir azalma olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bir başka araştırmada 4°C'da stoklanan portakal suyunun 72 saatin sonunda, askorbik asit miktarının başlangıç miktarına göre % 72-85 oranında korunduğu belirlenmiştir [31]. Askorbik asit miktarı 4.4°C ve daha düşük sıcaklıklarda depolama ile 2 hafta sonunda % 86-93 oranında korunmuştur [31, 32]. Yine bulgularımızın literatürlerle uyumlu oldukları söylenebilir. Sonuç olarak standart askorbik asit çözeltilerindeki azalma saat başına oksidasyon yüksek iken, maydanoz suyundaki askorbik asit oksidasyonun daha yavaş olması, maydanoz suyundaki diğer koruyuculardan kaynaklanabilmiş olabileceği sorusunu akla getirmektedir. Bütün kantitatif analizlerde geçerli olduğu üzere, analizlerde yüksek derişimli askorbik asit çözeltilerinde HPLC'nin pik yüksekliği yada pik alanı ile orantılı olmadığı belirlendi. Bu nedenle lineer çalışma aralığında olacak şekilde uygun derişimin belirlenmesi gereklidir.

Tüm bu sonuçlardan; özellikle kantitatif askorbik asit analizlerinde sıcaklığa dikkat edilmesi gerektiği ve lineer çalışma aralığındaki derişimlerin tercih edilmesinin önemli olduğu söylenebilir. Ayrıca oda sıcaklığında askorbik asit oksidasyonunun devam ettiği görülmektedir. Metabolizma için çok önemli bir vitamin olan askorbik asitin özellikle oda sıcaklığında dayanıksız olmasından dolayı, sebze ve meyvelerin taze, ısı ve ışığa maruz bırakılmadan hemen tüketilmesi gerektiği ayrıca bulgularımızın kantitatif analiz çalışanlarına ve literatür bilgisine katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.

5. Kaynaklar

1. Tüzün, C. (1997). Biyokimya, 3. Baskı, PalmeYayıncılık, 151-187s, Ankara.
2. Emerk, K., Onat, T. (1997). Temel Biyokimya, 2. Baskı, Saray Medikal Yayıncılık ve Tic. Ytd.

- Şti., İzmir- Türkiye.
3. Yurdakök, K., İnce, O.T. (2009). Çocuklarda demir eksikliği anemisini önleme yaklaşımları. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, **52**, 224-231.
 4. Akkan, A.G. (1999). Vitaminler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı ilaç Kullanımı Sempozyumu, 45-57s, İstanbul.
 5. Furness, F.N. (1962). Vitamin C. *Annals of the New York Acad. Sci.* Vol 92. New York, NY.
 6. Rouseff, R.L., Nagy, S. (1994). Health and nutritional benefits of citrus fruit components. *Food Technol.* **48**, 125-132.
 7. Henson, D.E., Block, G., Levine, M. (1991). Ascorbic acid; biologic functions and relation to cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, **83**, 547-550.
 8. Garriguet, D. (2010). The effect of supplement use on vitamin C. *Health Reports*, **21**, 1-6. (PDF)
 9. Hanck, A.B. (1988). Vitamin C and cancer. *Prog. Clin. Biol. Res.*, **259**, 307-327.
 10. Tannenbaum, S.R., Wishnok, J.S., Leaf, C.D. (1991). Inhibition of nitrosamine formation by ascorbic acid. *Am. J. Clin. NW.*, **53**, 247S-250s.
 11. Kılınç, K. (1985). Oksijen radikalleri, üretilmeleri, fonksiyonları, toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi*, **10**, 60-89.
 12. Frei, B., Stocker, R., England, L., Ames, B.N. (1990). Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. *Av Exp Med Biol.*, **264**, 155-163.
 13. Sies, H., Stahl, W., Sundquist, A.R. (1992). Antioxidant function of vitamins. Vitamin E and C, betacarotene and other carotenoids. *Ann N Y Acad Sci*, **669**, 7-20.
 14. Akkuş, İ. (1995). Serbest oksijen radikalleri ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya, 1-15.
 15. Aydın, A., Sayal, A., İşimer, A. (2001). Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Basımevi No: 20, 75s. Ankara.
 16. Wolf, R., Wolf, D., Ruocco, V. (1998). Vitamin E: The radical protector. *Journal of Eur. Academy of Derm. and Ver.*, **10**, 103-117.
 17. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (2005). Vitaminler. Aslan D. Eds. Klinik Kimyada Temel İlkeler. Palme Yayınları, 548-550, 332-333, 578-601s, Ankara.
 18. Samur, G. (2008). Vitaminler mineraller ve sağlığımız Hacettepe Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara
 19. "Maydanoz"un Sayısız Yararları! Güncelleme: 26/04/2009 Nihal Doğan, iyilikguzellik, 17/04/2009.
 20. Munzuroğlu, Ö., Karataş F., Gür N. (2000). Işgın (Rheum-ribes L.) Bitkisindeki A, E ve C Vitaminleri ile Selenyum Düzeylerinin Araştırılması, *Türk J. Biol.*, **24**(3), 397-404.
 21. Tavazzi, B., Lazzarino, G., Di-Pierro, D., Giardina, B. (1992). Malondialdehyde production and ascorbate decrease are associated to the eperfusion of the isolated postischemic rat heart. *Free Radic. Biol. Med.*, **13**, 75-78.
 22. Uğur, A. (2004). Gıda- Herşeye Maydanoz, (www.ekolojimagazin.com/?s=magazin&id=179) Doğa Çevre ve Kültür Dergisi, ocak-mart, sayı 1, Erişim Tarihi: 29.08.2008.
 23. Çağın, H.K. (2005). Bitkilerin gizli dünyası IV maydanozgiller (apiaceae). Bulut Yayınları, İstanbul.
 24. Cemeroğlu, B. (2007). Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:34. Ankara.
 25. Pyler, E.J. (1988). Baking science and technology. Sosland Publishing Company, 1345s, USA.
 26. Le Maguer, M., Jelen, P. (1986). Food engineering and process applications (Vol. 1, pp. 313-321). Elsevier Applied Science Publishers, London and New York:
 27. Lee, S.K., Kader, A.A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, **20**, 207-220.
 28. Rojas, A.M., Gerschenson, L.N. (2001). Ascorbic Acid destruction in aqueous model systems: an additional discussion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**, 1443-1439.
 29. Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D.A., Riener, J., Lyng, J.G., Morgan, D.J. (2008). Reduction of *Staphylococcus aureus* and quality changes in apple juice processed by ultraviolet irradiation, preheating and pulsed electric fields. *J. Food Eng.* **89**, 267-273.
 30. Uysal Pala, Ç., Kırca Toklucu, A. (2009). Effects of UV-C irradiation on some quality characteristics of orange juice. New Challenges in Food Preservation, Processing-Safety-Sustainability, 11- 13 November 2009, P:12, Budapest-Hungary.
 31. Bağcı, U., Temiz, A. (2006). Taze sıkılmış meyve sularının mikrobiyolojik kalitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **04**, 1-20.
 32. Fellers, P.J. (1988). Shelf life and quality of freshly squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled citrus juice, *Journal of Food Science*, **53**, 1699-1703.
 33. Çakmakçı, S., Çelik, İ. (2004). Gıda katkı maddeleri, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, 214s, Erzurum.