

UYGULAMA NOTU

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

L003

HPLC ile Gıda Numunelerinde Likopen ve β -Karoten Tayini

HAZIRLAYAN

Yük. Kimyager Ozan HALIŞÇELİK
Ant Teknik Cihazlar Ltd. Şti.

1.AMAÇ

Bu prosedür gıda maddelerinde likopen ve β -Karoten miktarının saptanması amacıyla kullanılacak olan standart çalışma yöntemini açıklamaktadır.

Likopen, parlak kırmızı bir karotenoid pigmenttir, domates ve diğer kırmızı meyvelerde bulunur. Likopen insan vücudunda bulunan en yaygın karotenoiddir ve en güçlü karotenoid antioksidanlardan biridir.

2.KAPSAM:

Bu analiz metodu; Domates,salça,turunçgiller vb. ürünleri kapsar.

3.PRENSİP:

Deney numunesinden hekzan:aseton:metanol/50:25:25, %0.1BHT ile ekstrakte edildikten sonra ters faz yüksek işlevli sıvı kromatografi ile tespit edilmesi ilkesine dayanır.

4.ALET - EKİPMAN ve AKSESUARLAR:

1. HPLC (Shimadzu LC-20A Prominence)
2. Dedektör (SPDM-20A Photodiode Array Dedektör)
3. HPLC Kolonu (GL Sciences Inertsil ODS2 - 250 mm x 4.6 μ m)
4. Analitik Terazî(0.001 g hassasiyette)
5. Ultra Saf Su Cihazı
6. Karıştırıcı
7. Otomatik Pipet (0-1 ml)
8. Membrane Filtre kağıdı
9. Mobil Faz Süzme Aparatı
10. Laboratuvar Cam Malzemeleri
11. Enjektör (20 ml lik tek kullanımlık)
12. Vial (Amber renkli 1.5 ml'lik)

5. KULLANILAN KİMYASALLAR VE KİMYASALLARIN HAZIRLANIŞI:

5.1. HPLC Mobil Faz Hazırlanması : Metanol(A), Metil Ter-Butil Eter(B), Su (C), gradient akış (MTBE ve MeOH % 0.1Butil Hidroksi Toluen ve % 0.02 amonyum asetat içerikli)

5.2. Çözücü : %50 Metanol: %50 Aseton Karışımı

5.3. Numune Hazırlanışı: 1 g meyve pulpu teflon bir tüpe aktararak üzerine 25 mL ekstraksiyon çözeltisi (hekzan:aseton:metanol/50:25:25, %0.1BHT içerikli) ilave edilmiştir. Tüpe karıştırma işlemi uygulandıktan sonra santrifüjle yapılmıştır (4000rpm, 10d, 4°C). Berrak kısım alınarak 4 defa ayırma

hunisinde 15 mL damıtık su ile yıkama yapılmıştır. 15 mL %10'luk KOH ile azot gazı altında 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Sabunlaştırmayı sonlandırmak için 10 mL %10'luk NaCl ilave edilmiştir. Karışım tekrar 4 defa 15 mL damıtık su ile yıkanıp hekzan fazı rotari evaporatörde uçurulmuştur. Kalıntı 2 mL aseton:metanol çözeltisinde çözündürülüp 0,45 µm'lik filtreden geçirilerek viallere alınmıştır [25].

HPLC Şartları:

Model: Shimadzu LC-20A Prominence

Dedektör : SPDM-20A PDA dedektör

Kolon sıcaklığı: 20 °C

Hareketli faz akışı: 1 mL/dak

Enjeksiyon hacmi: 50 µL

Elüsyon Süresi: 65 dakika

Dalga Boyu: 450 nm

Kolon sıcaklığı: 20 °C

Hareketli faz akışı: 1 mL/dak

Enjeksiyon hacmi: 50 µL

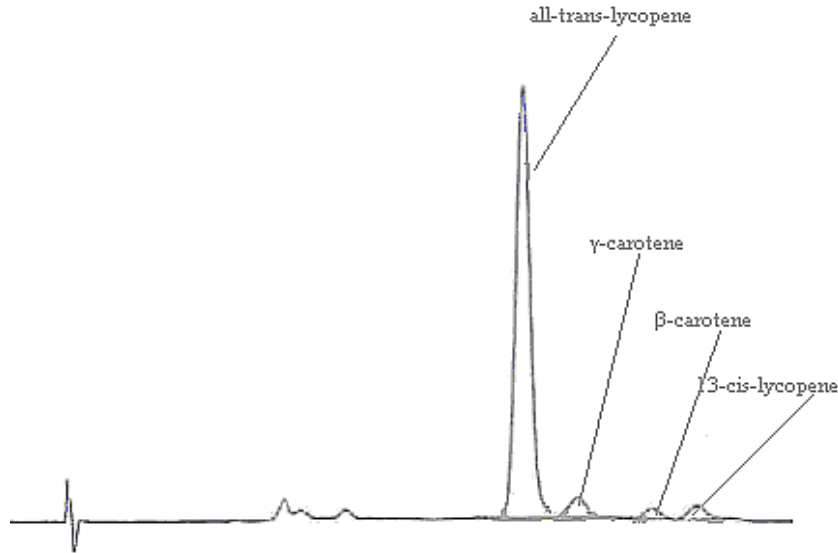
Elüsyon Süresi: 65 dakika

Dalga Boyu: 450 nm

Gradient Programı:

Süre (dk)	A (MeOH)	B (MTBE)	C (Su)
0	65	30	5
5	70	30	0
20	55	45	0
30	40	60	0
55	25	75	0
60	65	30	5
65	65	30	5

KROMATOGRAM



Çalışmalarımız T.C. Gıda ve Tarım Bak. Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu, Mersin'de yapılmıştır. Desteklerinden dolayı teşekkürlerimizi sunarız.

Bu Aplikasyon Notu uygulamanın gerçekleştirildiği tarihe ait bilgiler ışığında oluşturulmuştur. Bu yayında yer alan bilgilerin referans gösterilerek başka bir yerde kullanılması Ant Teknik'in iznine tabidir. Aplikasyon Notu Ant Teknik tarafından önceden bildirilmeksizin değiştirilebilir.