



**TÜBİTAK – BİDEB**  
**LİSE ÖĞRETMENLERİ-FİZİK, KİMYA, BİYOLOJİ, MATEMATİK- PROJE**  
**DANIŞMANLIĞI EĞİTİMİ ÇALIŞTAYI**  
**LİSE-3 [ÇALIŞTAY 2013]**

**GRUP ADI**

HMF

**PROJE ADI**

BAL ÇEŞİTLERİNDEKİ HİDROKSİMETİL FURFURAL (HMF)  
VARLIĞININ SPEKTROSKOPİK YÖNTEMLE İNCELENMESİ

**Proje Ekibi**

Tuğba Yılmaztürk      Nadide Ünal

**PROJE DANIŞMANLARI**

Doç. Dr. Osman DAYAN      Doç. Dr. Faruk YILMAZ

GÜZELYALI/ÇANAKKALE

**ŞUBAT-2013**

## İÇİNDEKİLER

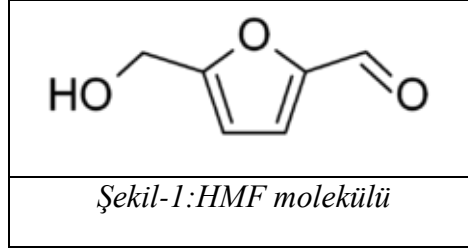
	SAYFA NO
PROJENİN AMACI.....	2
1. GİRİŞ.....	2
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	4
2.2. ÜZÜM ÇEKİRDEĞİNDEN EKSTRAKT ELDESİ.....	6
2.2.1. SOXHLET EKSTRAKSİYONU.....	6
2.2.2. DÖNER BUHARLAŞTIRICI İLE ÇÖZÜCÜNÜN UZAKLAŞTIRILMASI.....	6
2.3. BAL ÇEŞİTLERİNDE HMF MİKTARINI ARTIRMA.....	6
2.4. UV-VIS SPEKTRUMLARININ ALINMASI.....	7
2.5. 2-HİDROKSİ ANİLİN KULLANARAK UV-VIS SPEKTRUMLARININ ALINMASI.....	7
3. BULGULAR.....	7
3.1. ÇİÇEK BALI – ÇİÇEK BALI + ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜ.....	7
3.2. KESTANE BALI - KESTANE BALI + ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜ....	8
3.3. ÇAM BALI - ÇAM BALI + ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜ.....	9
3.4. ÇİÇEK BALI - 2-HİDROKSİ ANİLİN – ÇİÇEK BALI + 2-HİDROKSİ ANİLİN.....	10
3.5. KESTANE BALI - 2-HİDROKSİ ANİLİN – KESTANE BALI + 2-HİDROKSİ ANİLİN .....	11
3.6. ÇAM BALI - 2-HİDROKSİ ANİLİN – ÇAM BALI + 2-HİDROKSİ ANİLİN.....	12
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	13
TEŞEKKÜRLER.....	13
KAYNAKLAR.....	13
ÖZGEÇMİŞLER.....	14

## PROJENİN AMACI

- Kara üzüm çekirdeğinden doğal polifenolik maddelerin özütlenmesi
- Bal çeşitlerinde, kara üzüm çekirdeği özütü ve 2-Hidroksi anilin kullanarak Hidroksimetil furfural (HMF) varlığının araştırılması

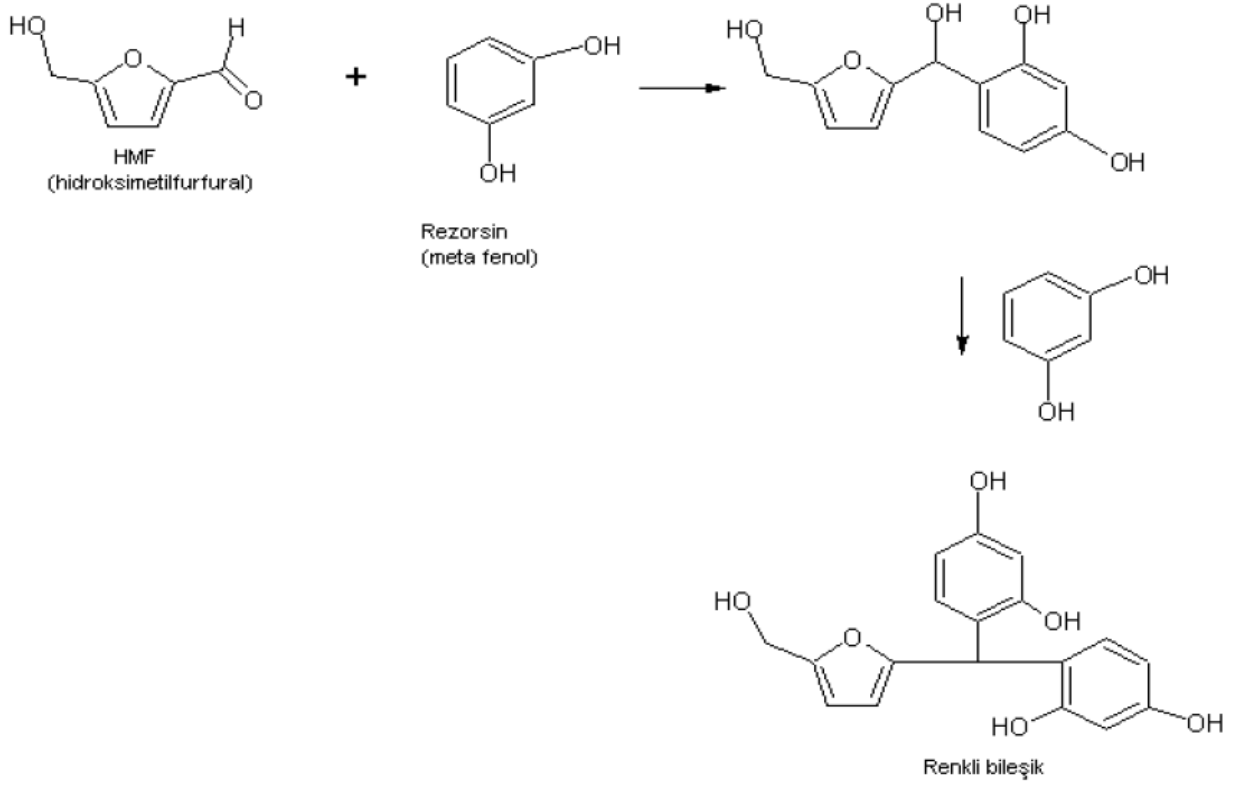
## 1. GİRİŞ

Bal, arı ürünleri arasında en çok bilinen maddedir. Yapılan çalışmalar tüketilen balların sağlık açısından bir takım olumsuzluklara sahip olduğunu göstermiştir. Bal, işlenmesi ve saklanması sırasında maruz kaldığı ısıl işlemler sonucu enzim kayıplarına ve içerdiği HMF miktarında artışa uğramaktadır; dolayısıyla da tazeliğini kaybetmektedir[1]. HMF'nin kimyasal yapısı şekil 1'de verilmiştir.

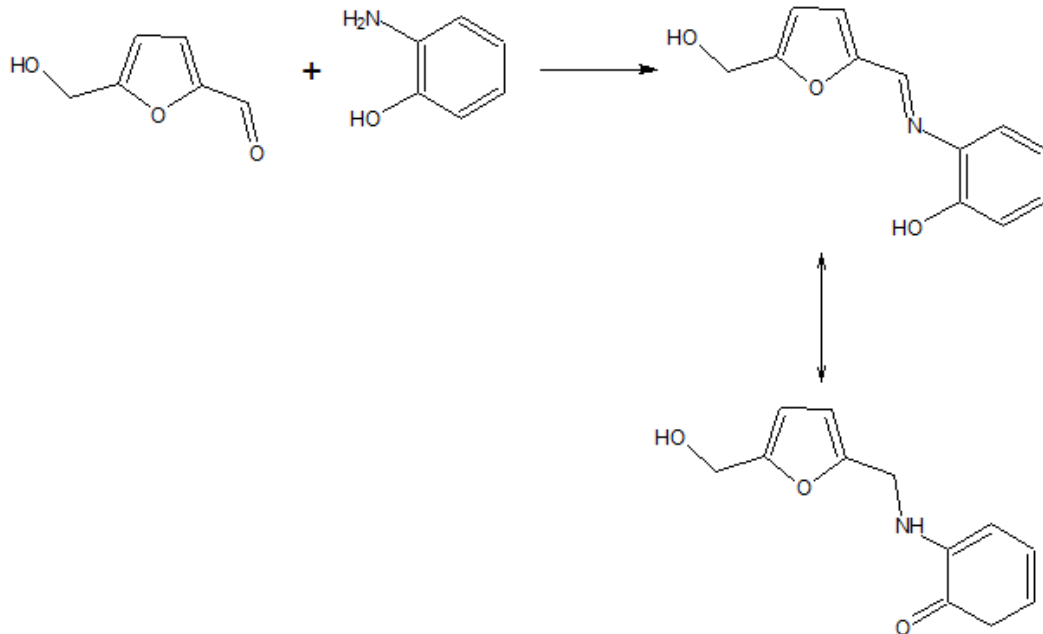
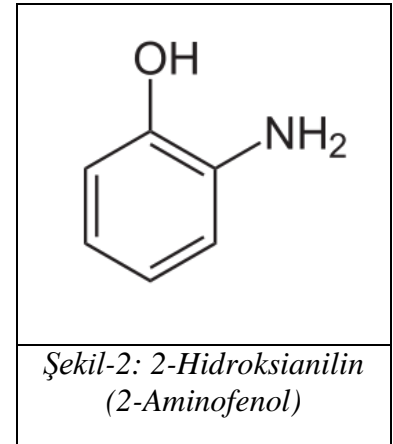


HMF, balın kalitesini belirlemede önemli bir madde olduğu gibi HMF'nin fazla miktarda bulunması bala invert şeker katıldığına da göstergesidir[2]. HMF aynı zamanda insan sağlığına zarar veren toksik ve kanserojen bir maddedir[3]. HMF miktarı balda 40 mg/kg, meyve suyu için 20 mg/kg, pekmez için 70 mg/kg sınır değer olarak kabul edilmiştir. HMF Maillard tepkimesinin ileri aşamalarında oluşan furan bileşiklerinden biridir; Maillard tepkimesi protein ve karbonhidratlara sıcaklık uygulanması sonucu gerçekleşir. Dolayısıyla protein ve şeker içeriği yüksek olan çikolatalar, dondurmalar, meyve aromalı toz içeceklerde HMF oluşur; fakat birçok gıdadaki HMF içeriği henüz belirlenmemiştir[6].

Baldaki HMF oranının yüksek olduğunu HMF nin rezorsinol (*m*-hidroksifenol) ile oluşturduğu renkli bileşik sayesinde gözlenebilir[4]. HMF'nin rezorsinol ile tepkimesi aşağıda verilmiştir. Üzüm çekirdeği, polifenol içeriği yüksek olan gıdalardan biridir. Bu polifenolik maddeler, n-hegzan yardımıyla izole edilebilir[5]. Baldaki HMF, rezorsinolün kimyasal yapısına benzer üzüm çekirdeği özütü veya sentetik diğer fenolik yapıdaki kimyasal maddeler ile analiz edilebilir.



Bu amaç doğrultusunda, üzüm çekirdeğinden özütlenen polifenolik madde ve 2-hidroksianilin (şekil 2’de gösterildiği gibi) bal çeşitleri (kestane, çiçek ve çam balı) ile oluşturdukları tepkime ürünlerinin absorbanans spektrumları UV-Vis cihazında alındı. Böylece biyolojik ve sentetik kimyasallar ile farklı bal çeşitlerindeki HMF tespit edilmeye çalışıldı. HMF’nin 2-hidroksi anilin ile tepkimesi aşağıda verilmiştir.



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Materyaller ve Kimyasallar

Proje sürecinde kullanılan materyal ve kimyasallar aşağıda verilmiştir.

- Çam balı
- Çiçek balı
- Kestane balı
- 50 g Kara üzüm çekirdeği tozu
- 300 ml n-hegzan
- 50 ml susuz eter
- 400 ml derişik HCl
- Boğumlu soğutucu
- Sepet ısıtıcı
- 500 ml'lik yuvarlak dipli balon
- 12 adet 100 ml'lik beher
- Isıtıcı tabla
- Süzgeç kağıdı
- 10 ml'lik Pipet
- Puar
- Hassas terazi
- Kaynama taşı

#### Soxhlet cihazı



Franz von Soxhlet tarafından icat edilen bir laboratuvar cihazıdır. Katı maddelerden bir bileşiyi özütlemek için kullanılır. Katı numune kartuş içerisine konularak ya da süzgeç kağıdı içerisine alınarak cihaz içerisine yerleştirilir. Soxhlet cihazına şilifli bir balon ve soğutucu bağlanır. Balona uygun çözücü konur. Bu çözücü genellikle eter, hegzan veya alkol olur. Çözücü ısıtılır ve buharlaştırılır. Sıcak çözücü soğutucu etkisiyle tekrar yoğunlaşarak katı numunenin üzerinde toplanır. Numuneyi içeren kartuş yoğunlaşan çözücü ile tam dolduğunda sifon oluşarak

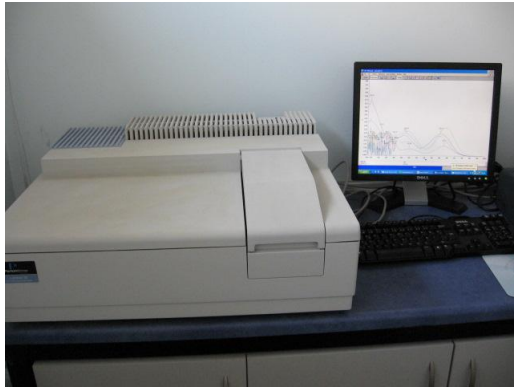
çözücü tekrar cam balona boşalır. Her döngü sırasında, katının içerdiği bir miktar yağ çözücüde çözünür. Sifon etkisi birkaç kere tamamlandıktan sonra çözücü uygun yöntemle uzaklaştırılır[7].

### Döner buharlaştırıcı



Lyman C. Craig tarafından icat edilen, kimyasal çözücüleri uygun sıcaklıkta uzaklaştırmak için kullanılan cihazdır. Örnek, sıcaklığı ayarlanabilen su banyosu içerisine yerleştirilir ve dönerek homojen olarak ısıtma sağlanır. Buharlaşan çözücü vakumlu soğutucu sayesinde tekrar yoğunlaşarak soğutucuya bağlı olan diğer balon içerisinde toplanır[8].

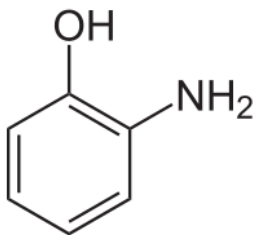
### Ultraviyole (Görünür bölge) Spektrofotometre



Çözeltinin tuttuğu ışık miktarından faydalanarak çözeltideki madde varlığını ve miktarını belirlemeye yarayan cihazdır. Örnekten bir ışın demeti geçtikten sonra ışığın şiddetinin azalmasının ölçülmesidir. Işık kaynağı, dalga boyu seçici ve detektörden oluşur. Örnek çözelti, kullanılan dalga boyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına konularak ışık yoluna yerleştirilir. PerkinElmer

Lambda 35 UV-Vis Spektrofotometre dalga boyu 190-1100 nm ve bant aralığı 0,5, 1, 2,4 nm değiştirilebilir. Işık kaynağı döteryum ve tungsten lambalardır[9].

### 2-Hidroksi anilin (2-Amino fenol)



Kapalı formülü  $C_6H_4(OH)NH_2$  olan indirgen, organik bir moleküldür. Beyaz toz halde bulunur ve alkollerde orta derecede çözünür. Amin ve hidroksil grupları ile bir iç hidrojen bağı oluşturduğundan yüksek bir erime noktasına sahiptir. Aminofenol boyaların sentezinde bir ara üründür[10].

## 2.2. Üzüm çekirdeğinden ekstrakt eldesi

### 2.2.1. Soxhlet ekstraksiyonu

50 g toz halindeki kara üzüm çekirdeği süzgeç kağıdı içerisinde yerleştirilerek Soxhlet cihazının içerisine konur ve üzerine boğumlu soğutucu bağlanır. 500 ml'lik balon içerisine 300 ml n-hegzan ve kaynama taşı konur. Sepet ısıtıcı ile balon içerisindeki hegzan ısıtılır ve buharlaşıp tekrar yoğunlaşarak Soxhlet cihazı içerisine dolması sağlanır. Çözücü Soxhlet cihazı içerisine dolarak sifon etkisi yapar ve balona geri döner. Bu çevrim 4 kere tekrarlanır.



**Resim 1:** Kara üzüm çekirdeğinin Soxhlet cihazına yerleştirilmesi



**Resim 2:** Soxhlet düzeneği

### 2.2.2. Döner buharlaştırıcı ile çözücünün uzaklaştırılması

Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen karışımdan döner buharlaştırıcı ile 40°C de hegzan uzaklaştırılır. Elde edilen madde flavanoidce zengin polifenol özütüdür.



**Resim 3:** Çözücünün döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılması

## 2.3. Bal çeşitlerinde HMF miktarını artırma

Bal örneğinden 5 g 100 ml'lik beher içerisine tartılır. Sıcak su banyosu hazırlanarak bal örneği ısıtılır. Sıcak bal örneği üzerine 2 ml eter eklenerek balın dehidratize olması

sağlanır. 25 ml derişik HCl eklenerek bal tamamen çözüdür. Aynı işlem çiçek, çam ve kestane balları ile tekrarlanır.

#### 2.4. UV-Vis spektrumlarının alınması

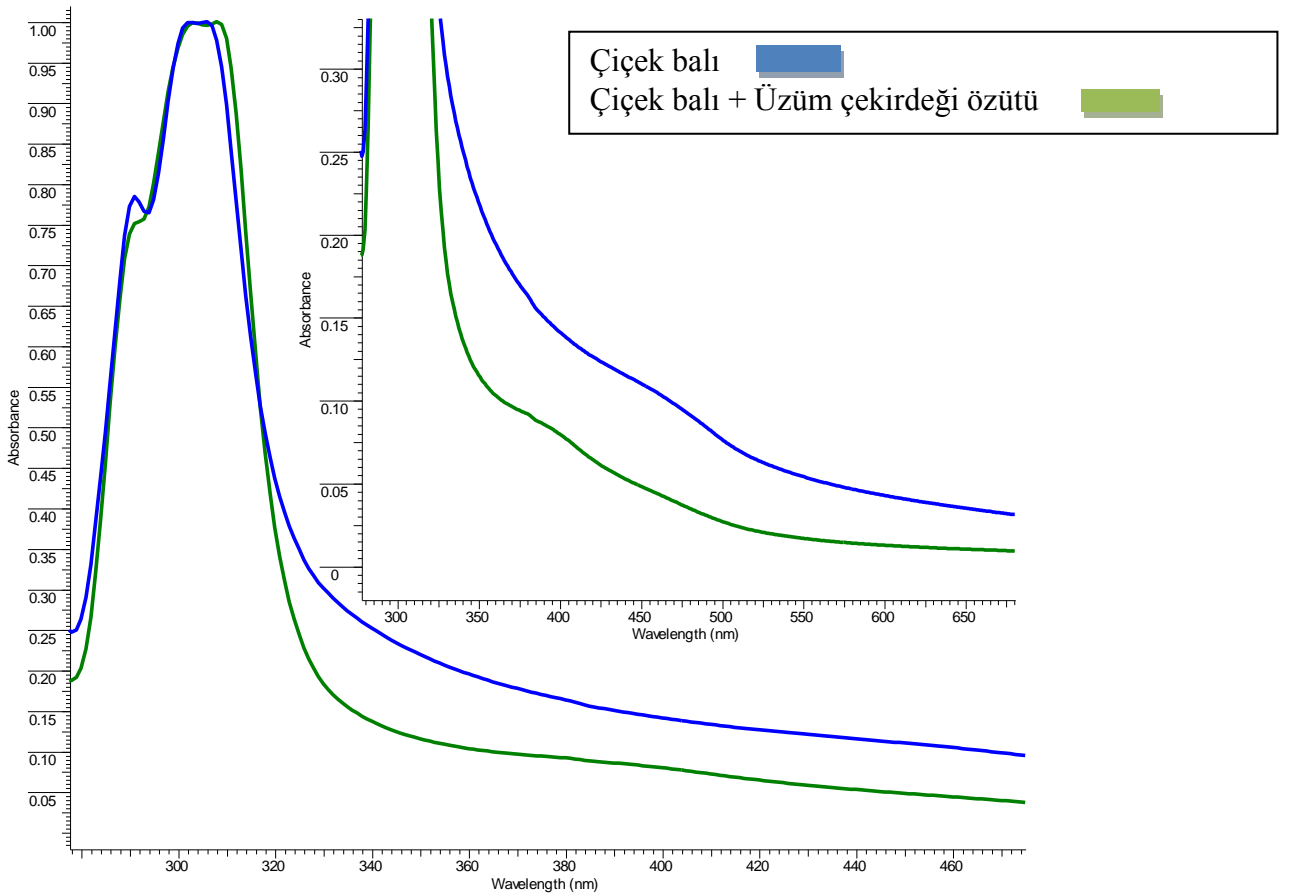
Çiçek, çam ve kestane ballarından hazırlanan örneklere, elde edilen üzüm özütünden 5 damla eklenerek 200-1000 nm dalga boyu aralığında UV Spektrofotometre ile absorbans değerleri alınır.

#### 2.5. 2-Hidroksi anilin kullanarak UV-Vis spektrumlarının alınması

Sıcak çiçek, çam ve kestane balları seyreltilerek UV spektrumları alınır. Daha sonra sıcak çiçek, çam ve kestane ballarına spatül ucuyla 2-hidroksi anilin eklenerek UV spektrumları gözlenir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Çiçek balı – Çiçek balı + Üzüm çekirdeği özütü

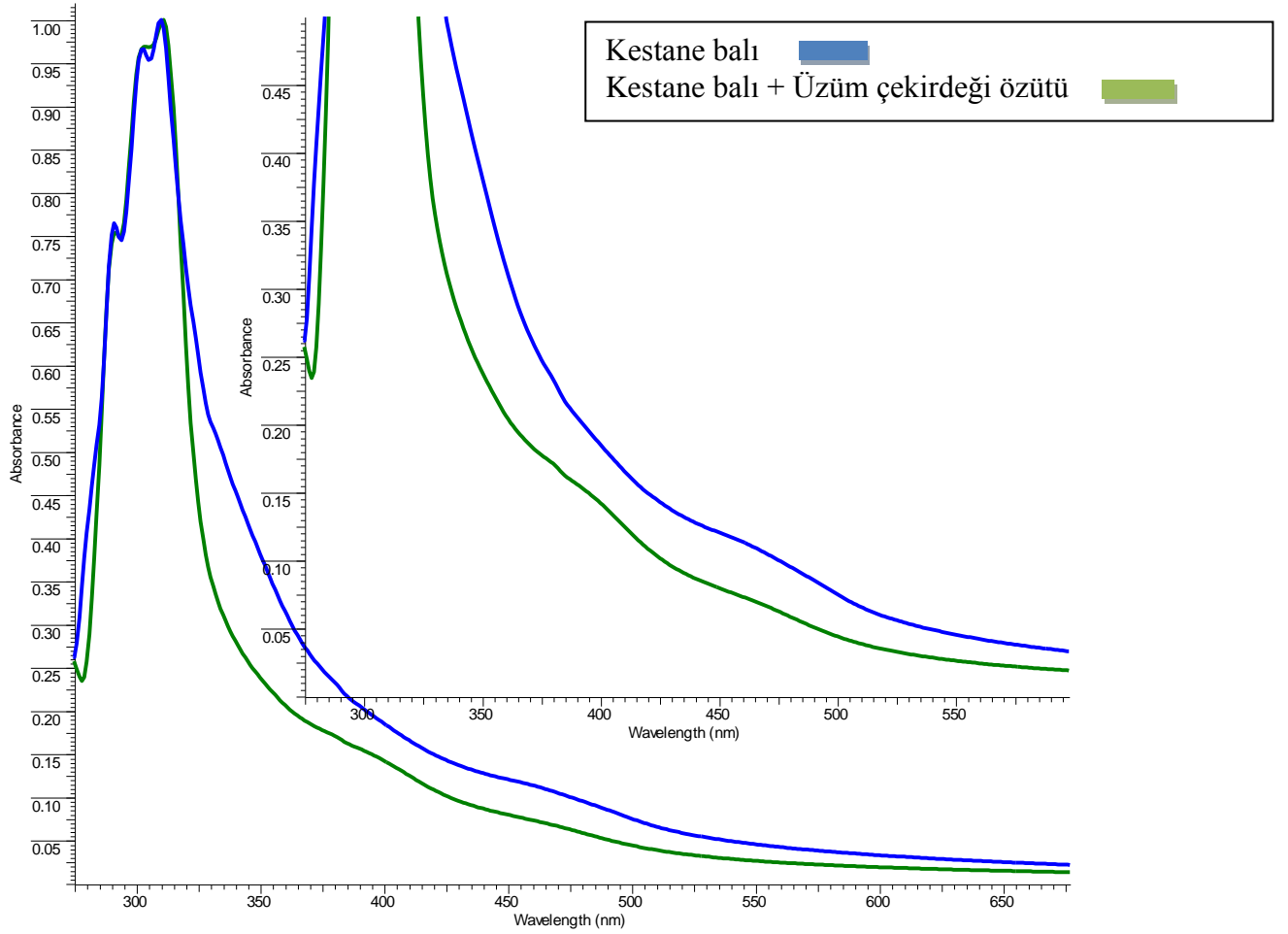


\*Çiçek balı 460 nm, çiçek balı ve üzüm çekirdeği özütü 399 nm

UV-Vis spektrumunda görülen 399 nm deki omuz pik çiçek balında bulunan HMF nin üzüm özütü ile verdiği tepkimenin göstergesidir.



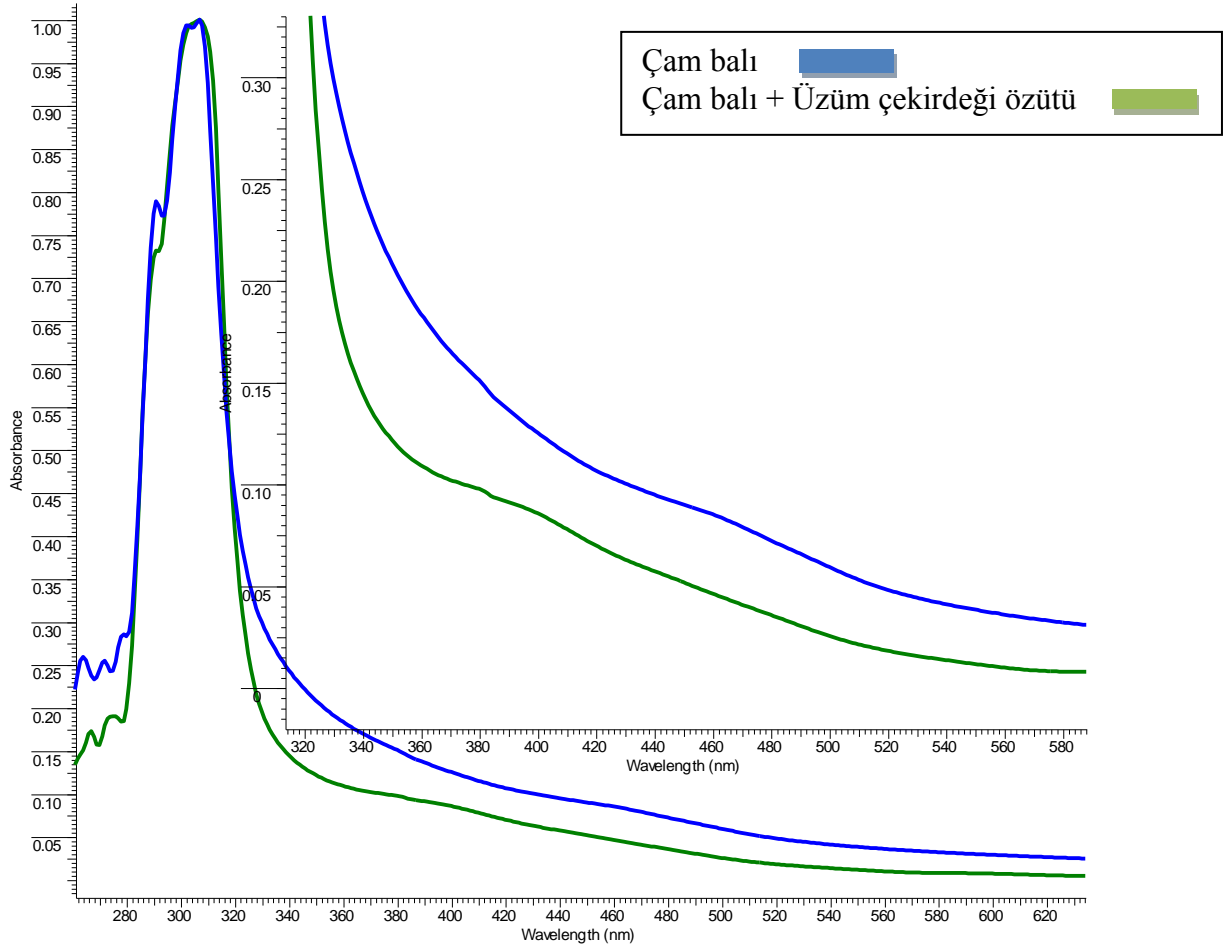
### 3.2. Kestane balı - Kestane balı + Üzüm çekirdeği özütü



\*Kestane balı 468 nm, kestane balı ve üzüm çekirdeği özütü 470 nm ve 398 nm

UV-Vis spektrumunda görülen 470 nm ve 398 nm deki omuz pikler kestane balında bulunan HMF nin üzüm özütü ile verdiği tepkimenin göstergesidir.

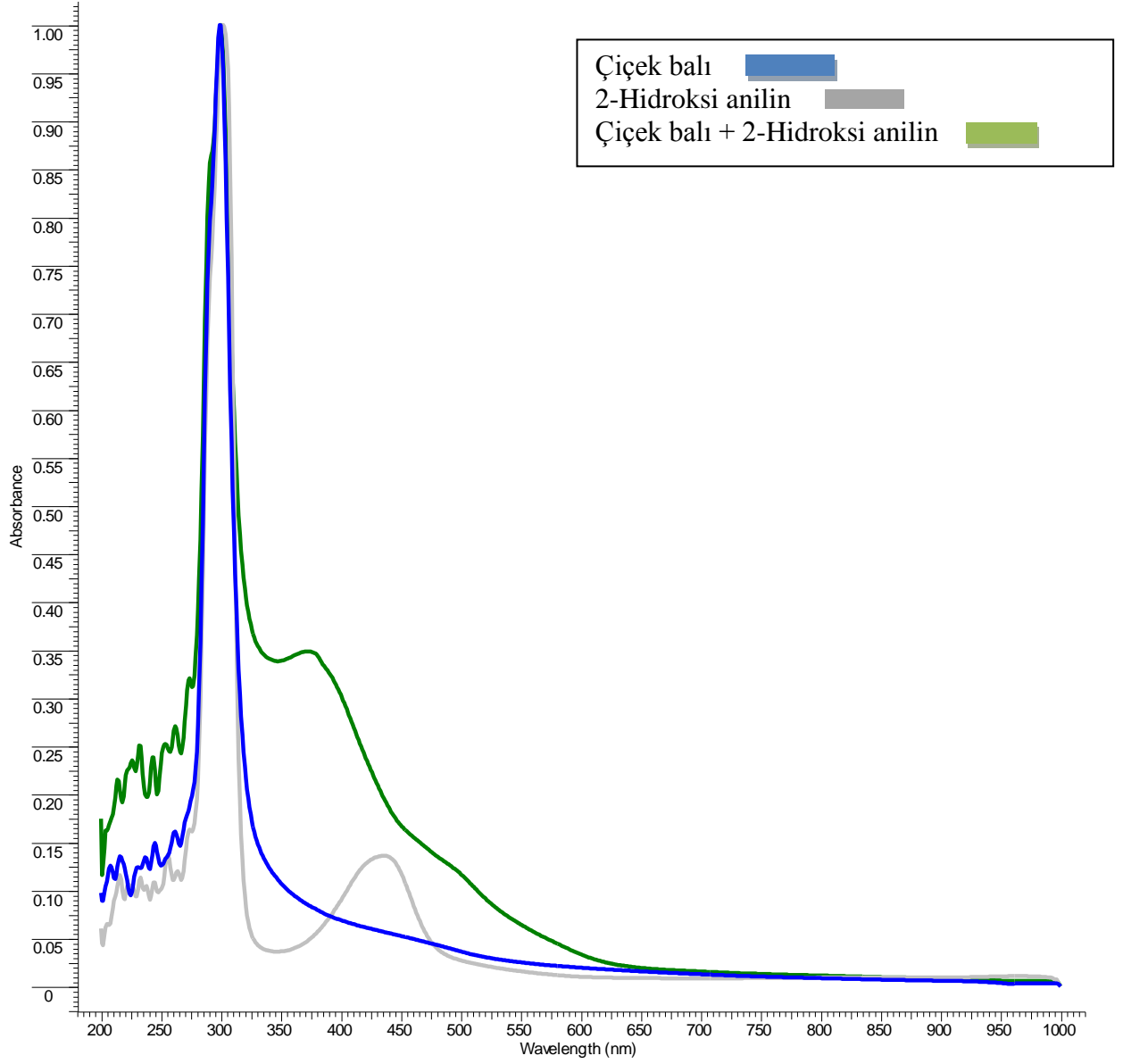
### 3.3. Çam balı - Çam balı + Üzüm çekirdeği özütü



\*Çam balı 459 nm, çam balı ve üzüm çekirdeği özütü 400 nm

UV-Vis spektrumunda görülen 400 nm deki omuz pikler çam balında bulunan HMF nin üzüm özütü ile verdiği tepkimenin göstergesidir.

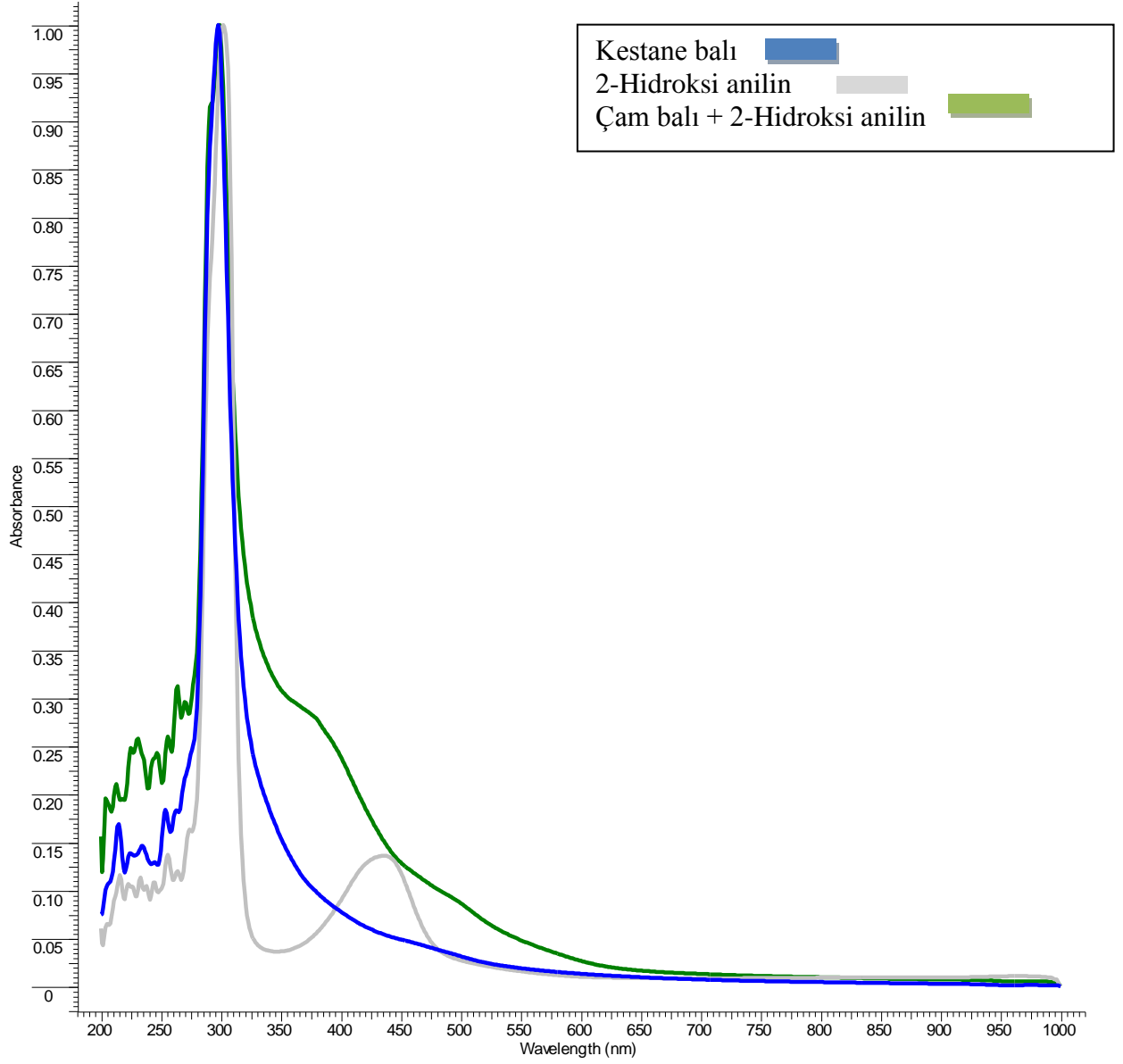
### 3.4. Çiçek balı - 2-hidroksi anilin - Çiçek balı + 2-Hidroksi anilin



\*Çiçek balı 451 nm, 2-hidroksi anilin 436 nm, çiçek balı ve 2-hidroksi anilin 497 nm, 380 nm

UV-Vis spektrumunda görülen çiçek balı ve 2-hidroksi anilin'in 497 nm'de verdiği pik ve 380 nm deki omuz piki çiçek balında bulunan HMF ile 2-hidroksi anilin'in tepkimesinin göstergesidir.

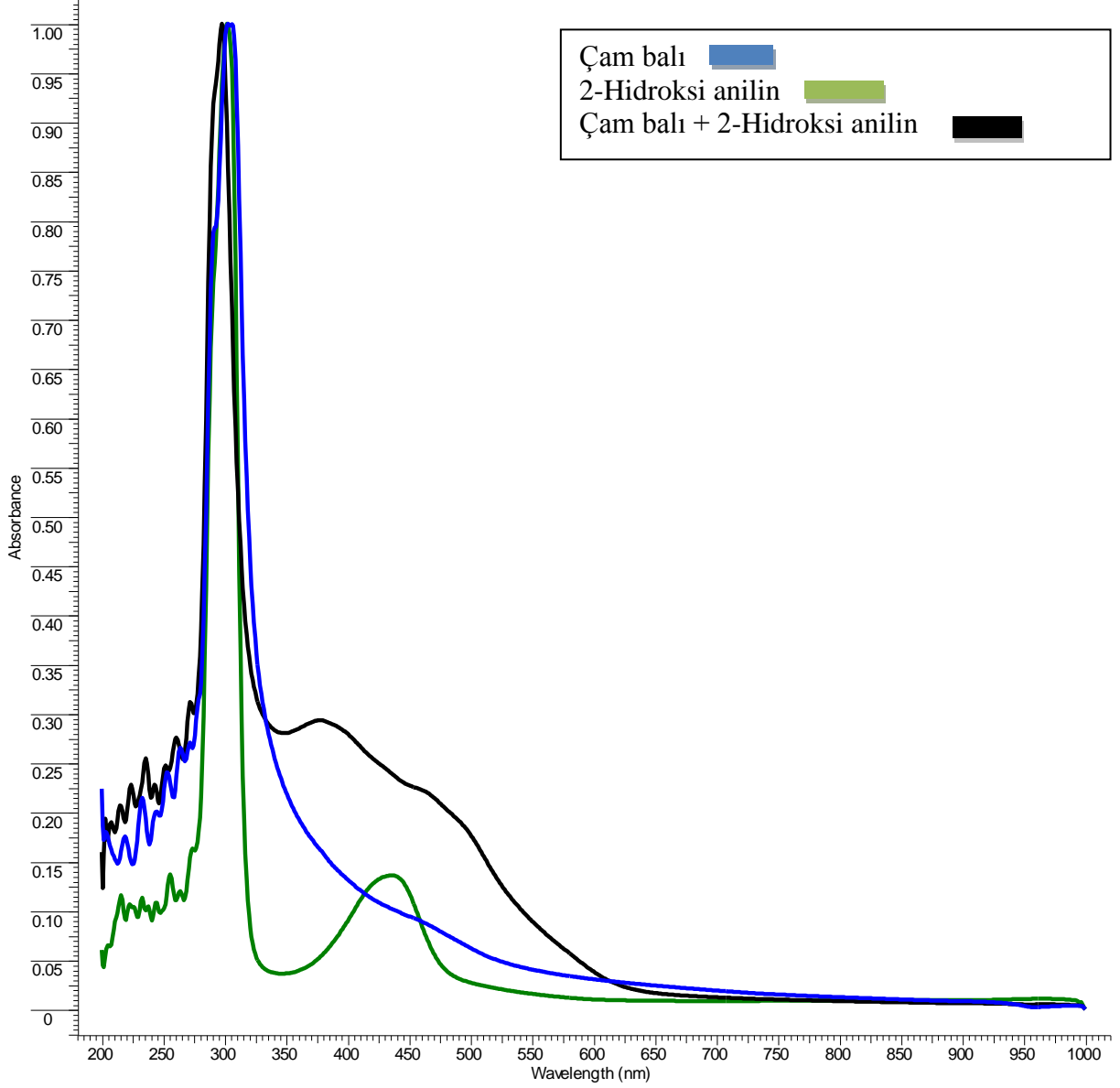
### 3.5. Kestane balı - 2-hidroksi anilin - Kestane balı + 2-hidroksi anilin



\*Kestane balı 465 nm, 2-hidroksi anilin 436 nm, kestane balı ve 2-hidroksi anilin 490 nm, 380 nm

UV-Vis spektrumunda görülen kestane balı ve 2-hidroksi anilin'in 490 nm'de verdiği pik ve 380 nm deki omuz piki kestane balında bulunan HMF ile 2-hidroksi anilin'in tepkimesinin göstergesidir.

### 3.6. Çam balı - 2-Hidroksi anilin - Çam balı + 2-Hidroksi anilin



\*Çam balı 459 nm, 2-hidroksi anilin 436 nm, çam balı ve 2-hidroksi anilin 490 nm, 381 nm

UV-Vis spektrumunda görülen çam balı ve 2-hidroksi anilin'in 490 nm'de verdiği pik ve 381 nm deki omuz piki çam balında bulunan HMF ile 2-hidroksi anilin'in tepkimesinin göstergesidir.

#### 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çiçek, kestane ve çam bal türlerinde oluşan HMF'nin kara üzüm çekirdeğindeki fenolik maddeler ile tepkime verdiği gözlenmiştir. HMF ile tepkime veren rezorsinol yerine kullanılan 2-hidroksi anilin daha hızlı sonuç vermektedir. Daha sonraki çalışmalarda farklı derişimlerde yapılacak ölçümler gözle açık bir şekilde görülebilir veya UV-Vis spektrofotometre ile daha net pikler veren sonuçlar gözlenebilir.

#### TEŞEKKÜR

Çalıştay koordinatörü Prof. Dr. Mehmet AY' a, sunuları ve çalışmalarıyla bizleri aydınlatan danışmanlarımız Doç. Dr. Faruk Yılmaz'a, Doç.Dr.Osman Dayan'a , teknisyen Tuğba GÜNGÖR'e, teknisyen Selin Demirmen'e, yardımcı personel Ruhiye Nilay Tezel'e ve tüm çalıştay ekibine ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi'ne ve TÜBİTAK – BİDEB'e teşekkür ederiz...

#### KAYNAKLAR

- [1] Karadal F., Yıldırım Y.,(2012), Balın Kalite Nitelikleri, Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi, Erciyes Üniversitesi Vet. Fak. Derg. 9(3) 197-209
- [2] MEGEP Bal analizleri-1 modülü,Ankara 2012
- [3] <http://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxymethylfurfural> (Erişim tarihi 5.2.2013)
- [4] Tosun İ., Color changes and 5-hydroxymethyl furfural formation in zile pekmezi during storage, Ondokuz Mayıs University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Samsun.
- [5] Canbay H.S., Bardakçı B.,(2011), Determination of Fatty Acid, C, H, N and Trace Element Composition in Grape Seed by GC/MS, FTIR, Elemental Analyzer and ICP/OES, Mehmet Akif Ersoy Universty, Burdur.

- [6] Dođan M., Türkiye’de Gıda Güvenliğinde Karşılaşılan Temel Sorunlar ve Bilimsel Bir Araştırma Sonuçları, Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri
- [7] [http://tr.wikipedia.org/wiki/Soxhlet\\_ekstrakt%C3%B6r%C3%BC](http://tr.wikipedia.org/wiki/Soxhlet_ekstrakt%C3%B6r%C3%BC) (Erişim tarihi 09.02.2013)
- [8] [http://en.wikipedia.org/wiki/Rotary\\_evaporator](http://en.wikipedia.org/wiki/Rotary_evaporator) (Erişim tarihi 09.02.2013)
- [9] <http://merlab.metu.edu.tr/uv-vis-spektrofotometresi> (Erişim tarihi 09.02.2013)
- [10] <http://en.wikipedia.org/wiki/2-Aminophenol> (Erişim tarihi 09.02.2013)

## ÖZGEÇMİŞLER

### **Nadide ÜNAL**

Kırşehir’de 1987 yılında doğmuştur. Liseyi İzmir’de tamamlamış, lisans öğrenimini Dokuz Eylül Üniversitesi Kimya Öğretmenliği bölümünde 2009 yılında bitirmiştir. İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü’nde 2012 yılında yüksek lisansına başlamış ve halen devam etmektedir.

### **Tuğba YILMAZTÜRK**

İzmir’de 1982 yılında doğmuştur. Liseyi İzmir’de tamamlamıştır, lisans öğrenimini Orta Doğu Teknik Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliğini 2006 yılında bitirmiştir. 2011 yılından beri Özel Enka Teknik ve Endüstri Lisesinde Kimya ve Kimya Teknoloji Öğretmeni olarak çalışmaktadır.