

Ham ve Rafine Pelemir (*C. syriaca* Schrad.) Yağında Toplam Fosfolipid ve α - Tokoferol Niceliği

Dr. Nejat ALTINIĞNE

E.Ü. Eczacılık Fakültesi Besin Analizi Bilim Dalı — İZMİR

ÖZET

Pelemir (*S. syriaca* Schrad.) tohumu ham yağı rafine edilerek hem ham, hem rafine yağında; spektrofotometrik olarak toplam fosfolipid ve yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ile α -tokoferol niceliği saptanmış, kimi yenebilen yağlar yanında değeri araştırılmıştır.

1. GİRİŞ

Bitkisel yağların, doymamış yağ asitlerini, fosfolipidleri ve yağda çözünen vitaminleri içermeleri bakımından gıda teknolojisinde ve insan beslenmesinde önemli yerleri vardır.

Bir fosfolipid olan lesitinden gıda sanayiinde; besleyici, emülsiyonlaştırıcı, yumuşatıcı ve antioksidan olarak yararlanılabilir.

Fosfolipidler, kozmetiklerde yumuşatıcı olarak ta kullanılabilir (KESKİN, 1970; DEWDNEY ve Ark., 1977).

Tokoferoller yapı bakımından birbirlerine yakın olmalarına karşın, biyolojik etkinlikleri farklıdır. Yağlarda E vitamini denilince α -tokoferol anlaşılmalıdır.

Tokoferoller, bitkisel ve hayvansal dokularda yaygın olarak bulunurlar. Bitkisel dokular, hayvansal organizmalara karşın daha çok tokoferol içerirler. Tokoferoller en çok, buğday embriyonu, pamuk (çiğit), soya, mısır, susam, ayçiçeği tohumları, zeytin ve yerfıstığı yağlarında bulunurlar.

Tokoferollerin en önemli fizyolojik etkileri, antisterilite göstermeleridir. Bundan başka, karoten ve A vitaminin oksidasyonunu önleyerek, bozunmamalarını sağlarlar.

α -tokoferol gıda maddelerinde, ilaç yapımında ve yağlarda antioksidan olarak saf halde veya sinerjistler ya da sentetik antioksidanlar ile (Butil hidroksi anisol; Butil hidroksi toluol gibi) beraber kullanılır (KESKİN, 1970; DEWDNEY ve Ark., 1977).

Bu araştırmada, ham ve rafine pelemir yağların içerdiği toplam fosfolipid ve α -tokoferol nicelikleri saptanarak, kimi yağların içerdiği nicelikler yanında değeri araştırılmıştır.

2. ÖZDEK ve YÖNTEM

2.1. Özdek

Araştırmada, Ağrı, Ayvalık, Kayseri, Konya ve Muş olmak üzere, yurdumuzun 5 ilinden alınan pelemir (*C. syriaca* Schrad.) tohumlarının yağları örnek olarak kullanılmıştır.

Pelemir tohumları, H.T. McGill 548 N. Milby St. Bates Laboratory Aspiratör 586-08 V-679 aygıtında 0.64 x 318 P-oval delikli Burrows Equipment Evanston elekleri kullanılarak ön temizleme yapıldıktan sonra, el ile bir defa daha temizlenmiş ve bir çekiçli değirmen olan Sample - Mill aygıtında 0.5 mm. elekten geçecek şekilde öğütülmüştür.

2.2. Yöntem

2.2.1. Pelemir tohum yağının elde edilmesi

İnce öğütülmüş pelemir tohumunun, soxhlette p. eteri (40° - 60° K.N) ekstraksiyonu ile elde edilen ham yağı, azot gazı ile doldurulmuş kahverengi şişelerde, buzlukta - 60°C'de ($\pm 1^\circ\text{C}$) saklanmıştır.

2.2.2. Pelemir tohum yağının rafinasyonu

Pelemir ham yağının rafinasyonu, laboratuvar şartlarına uyulararak yapılmıştır.

Pelemir ham yağını, içinde çözünmüş veya kolloidal olarak dağılmış bulunan renk maddelerinden (α -, β - karoten; klorofil), reçinelerden, fosfolipidlerden ve proteinlerden arındırmak gerekmektedir. Bu nedenle pelemir yağı, vakum altında, su banyosunda 50°C'ye ısıtılmış ve ağırlığının % 0.5'i kadar H_3PO_4 katılmıştır.

Yağların alkali ile rafinasyonunda H_3PO_4 , % 0.05 ve % 1.0 niceliğinde katılabilmektedir (FURIA, 1975; YOUNG, 1978).

Yağın nötrleştirilmesi için, % serbest yağ asitliğine göre 1 N. NaOH'ten saptanan miktarı kadar 60°C'ye ısıtılan yağa katılmıştır. Yağın nötrleştirilmesi için kullanılan NaOH'in normalitesi; yağın serbest asitliği % 1'e kadar ise 0.5 N. ile 1.0 N olabilmektedir. Pele-mir yağına saptanmış olan NaOH'in katımından sonra yağ 60°C'de 30 dakika karıştırılarak, ısıtılmıştır (HEIMANN, 1969; KAUFMANN ve THIEME, 1956).

Karışımındaki fosfolipidleri ve oluşan sabunu ayırmak için 15 dakika, 4000 dönü/dk.'da santrifüjlenmiş, üstteki berrak kısım bir ayırma hunisine alınarak, ılık distile su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi, alttan alınan suyun nötr olmasına kadar devam etmiştir. Yağ ikinci defa 15 dakika, 4000 dönü/dk.'da santrifüjlenerek üstteki berrak kısım alınmıştır (KAUFMANN ve THIEME, 1956).

Pele-mir yağının ağartma işleminde, ağartma toprağı olarak tonsil kullanılmıştır. Yağın ağartılmasında, ağartma toprağı % 0.5 ile % 5.0 oranında yağa katılabilmektedir (KAUFMANN ve THIEME, 1956). Pele-mir ham yağ örneklerinin Lovibond tintometresinde 5 1/4'lik kuvvette saptanan renk değerine göre ağartma toprağı %'si saptanmış ve katılmıştır.

Yağ, içine katılan ağartma toprağı ile birlikte döner buharlaştırıcıda 5 ton'luk vakumda (mm Hg), 250 dönü/dk.'da ve 80°C'de 30 dakika karıştırılarak rengi ağartılmıştır (HAUFMANN ve THIEME, 1956).

Ağartma işleminde yüksek vakumun uygulanması ve zamanın uzun tutulması nedeniyle, ayrıca yağın kurutulması işlemi yapılmamıştır.

Döner buharlaştırıcıdan balonun alınması sırasında oksitlenmeyi önlemek amacıyla, döner buharlaştırıcıdaki vakum, azot gazı verilerek giderilmiş ve balon 30° - 40°C'ye kadar soğutulmuş, yağ filtre edilerek süzülmüştür.

Rafine edilen yağ, azot gazı ile doyurulmuş, kahverengi şişelerde, önceden sıcaklığı saptanan buzlukta — 10°C'de ($\pm 1^\circ\text{C}$) saklanmıştır.

2.2.3. Toplam fosfolipid niceliğinin saptanması

Pele-mir ham ve rafine yağ örneklerinin içerdiği toplam fosfolipid niceliğini saptamak için yakma işleminde, yağ yakma yöntemi uygulanmıştır (TOĞULGA, 1967).

Bu yöntemde 0.5 g. yağ örneği küçük Kjeldahl balonlarına tartılarak üzerine 1.25 ml. derişik H₂SO₄ katılmış, 150° - 160°C'deki etüvde 3 - 5 saat ısıtılmış, soğutulup 3 - 5 damla % 33'lük H₂O₂'ten katılarak 1 saat daha aynı ısıdaki etüvde bırakılmıştır. Etüvden çıkarılarak soğutulmuş, her örneğe 1'er ml. distile su konmuştur. Hafif yanan bunzen bekinde renksiz oluncaya kadar ısıtılmış, sonra soğutulmuştur.

Örnekler 5 ml. lik balonjokelere alınarak, Kjeldahl balonu toplam 1 ml. distile su ile yıkanarak balonjokelere aktarılmış ve distile su ile 5 ml. ye tamamlanarak, süzölmüştür.

Süzüntüden 2 ml. alınarak, 5 ml. lik tüplere konulmuştur. Üzerlerine 1.5 ml indirgeme çözeltilisi, 0.5 ml molibdat çözeltilisi katılarak 10 dakika ve sonra 0.2 ml. baz çözeltilisi katımıyla 5 dakika beklenmiş, örneklerin 690 nm. deki soğurmaları Shimadzu Double-beam UV 150-02 spektrofotometre aygıtında ölçölmüştür.

5 mg/100 ml. fosfor içeren standart potasyumhidrojenfosfat çözeltilisinin alınan miktarının soğurum niceliğı spektrofotometrede saptandıktan sonra, örneklerin fosfor miktarları aşağıdaki bağıntıdan yararlanılarak bulunmuştur (PIERCE, Özel basım).

$$\text{Fosfor niceliğı} = \frac{\text{Örneğın soğurma niceliğı}}{\text{Standartın soğurma niceliğı}} \times 5$$

(mg/100 g. lipid)

Saptanan fosfor nicelikleri, 25 sayısı ile çarpılarak örneklerin toplam fosfolipid nicelikleri saptanmıştır (ROUSER, 1966; FALLANI ve RUGGIERI, 1977).

2.2.4. α -tokoferol niceliğinin saptanması

Pelemir ham ve rafine yağ örnekleri, A.O. C.S. - Tentative Methode Ce 3-74 yöntemine göre sabunlaştırıldıktan sonra dietileterdeki sabunlaşmayanlar ayırma hunisinden alınarak su banyosu üzerinde, azot gazı altında çözgeni uçurulmuş ve % 1.5 isopropilalkollü - hekzan ile 10 ml. ye tamamlanmıştır.

α -tokoferol niceliklerinin saptanması, Waters Associates Model 404, yüksek basınç sıvı kromatografisi aygıtında yapılmıştır.

Yöntemin uygulanmasında, μ -Porasil kolon ve 280 nm'de çalışan UV dedektör kullanılmıştır. Yüksek basınç sıvı kromatografisi aygıtı Pye-Unicam-DP 101 Computing Integratöre ve Houston Instrument-Omni-Scrobe yazıcısına bağlanarak programlanmış ve örneklerin nicelikleri saptanmıştır (ÇOLAKOĞLU ve YALNIZ, 1980).

$$\begin{aligned} \text{Çözgen akış hızı} &= 1 \text{ ml/dk.} \\ \text{Basınç} &= 400 \text{ psig.} \\ \text{Attenuation} &= 0.01 \\ \text{Yazıcı kağıt hızı} &= 1 \text{ cm/dk.} \\ \text{Enjeksiyon} &= 25 \mu\text{l} \\ &A \times 400 \\ \alpha\text{-Tokoferol niceliği} &= \frac{\text{A} \times 400}{\text{B} \times m} \end{aligned}$$

Formülde;

A = İntegratörden alınan değer

B = 0.01 Attenuationda, 1 ppm'e eşdeğer standartın sayısal değeri

400 = Örneğin seyrelme katsayısı

m = Alınan yağ örneğinin ağırlığı (g.) olarak alınmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Ham ve rafine pelemir yağında toplam fosfolipid niceliği ve özellikleri

Ham ve rafine pelemir yağ örneklerinde saptanan toplam fosfolipid nicelikleri çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Ham ve rafine pelemir yağ örneklerinde toplam fosfolipid nicelikleri (%).

Örnekler	Ham yağda	Rafine yağda
Muş	0.50	0.18
Konya	0.95	0.77
Ayvalık	0.71	0.49
Kayseri	0.42	0.10
Ağrı	0.51	0.21
Ortalama *)	0.48 - 0.83	0.16 - 0.63

*) En düşük ve en yüksek değerler arasında alınan ortalama.

Pelemir ham yağında toplam fosfolipid nicelikleri, örnekler arasında çok farklı saptanmıştır. En çok toplam fosfolipid niceliği % 0.95 ile Konya, en az niceliği % 0.42 ile Kayseri pelemir ham yağında bulunmuştur.

Pelemir ham yağının rafine edilmesinden sonra da saptanan toplam fosfolipid niceliklerinin, en çok ile en az %'lerinin sıralanması değişmemiş; % 0.77 ile Konya en çok, % 0.10 ile Kayseri en az değerlerde bulunmuşlardır.

Pelemir ham yağ örneklerinin içerdiği ortalama % 0.62 toplam fosfolipid niceliği, çizelge 2'deki kimi tohum ham yağlarıyla karşılaştırıldığında oldukça yüksek değerlerde bulunmuştur.

Çizelge 2. Kimi ham ve rafine yağlarda toplam fosfolipid nicelikleri (%) (KAUFMANN ve THIEME, 1956).

Kimi yağlar	Ham yağda	Rafine yağda
Zeytin ⁽²⁾	0.01	< 0.005
Ayçiçeği ⁽¹⁾	0.20	0.07
Pamuk (çiğit)	0.80	0.005
Soya	3.20	0.015
Susam	0.10	0.005
Mısır	0.50	0.005
Yerfıstığı ⁽²⁾	0.35	0.005

1) PONOVA ve MIZEV, 1967

2) HELMANN, 1969

Soya, keten ve kolza gibi yağlar, rafinas-yon işleminde yağdan ayrılıp, çöktürülemeyen fosfolipidleri içerirler (KAUFMANN ve THIEME, 1956).

Soya yağında çöktürülemeyen fosfolipidleri ayırmak için yapılan bir araştırmada, rafine soya yağında fosfolipid niceliği % 0.03'e kadar düşürülmüştür (KOCK, 1981).

Pelemir rafine yağ örneklerindeki fosfolipid nicelikleri çizelge 2'de görüldüğü gibi, kimi rafine yağlardaki yaklaşık % 0.005 değerinden çok yüksek bulunmuştur. Pelemir yağının da soya, keten ve kolza yağlarının çöktürülemeyen, bağlı fosfolipidlerine benzer fosfolipidleri içermesi olasılığı ortaya çıkmıştır.

3.2. Ham ve rafine pelemir yağında α -tokoferol niceliği ve özellikleri

Pelemir ham ve rafine yağ örneklerinde saptanan α -tokoferol nicelikleri çizelge 3'de verilmiştir.

α -tokoferol niceliği, pelemir ham yağında ortalama 185.2 mg/kg, rafine yağında ortalama 100.7 mg/kg olarak saptanmıştır.

Çizelge 3. Pelemir ham ve rafine yağ örneklerinde α -tokoferol nicelikleri (mg/kg).

Örnekler	Ham yağda	Rafine yağda
Muş	198.0	113.3
Konya	175.0	102.8
Ayvahık	187.0	94.2
Kayseri	172.0	97.1
Ağrı	194.0	96.1
Ortalama	185.2	100.7

Tohum yağlarında doğal antioksidan olarak bulunan tokoferoller, yağların işlenmeleri ve depolanmaları sırasında; uygulanan sıcaklığa ve katım konsantrasyonlarına bağımlı olarak aktivitelerinde değişim gösterirler (GOUIND RAO ve Ark., 1967; JACOBSBERG ve Ark., 1978).

Çizelge 4. Ham ve rafine bitkisel yağlarda α -tokoferol nicelikleri (mg/kg) (SWERN, 1964).

Kimi yağlar	Ham yağda	Rafine yağda
Zeytin	70 ⁽¹⁾	—
Ayçiçeği	560 ⁽¹⁾	89
Soya	112 ⁽²⁾	75 ⁽²⁾
Pamuk (çiğit)	760	65
Yerfıstığı	300	240
Mısır	126 ⁽¹⁾	90

1) HEIMANN, 1969

2) GUTFINGER ve LETAN, 1972

Yağda bulunan tokoferol konsantrasyonunun, antioksidan aktivite göstermeleri yönünden çok önemli olduğu; çok düşük veya çok yüksek konsantrasyonlardan antioksidan etkinlik göstermeyip, pro-oksidan etkinlik gösterdiği saptandığı gibi (LEA ve Ark., 1959), yüksek nicelikte doymamış yağ asitlerini içeren yağlarda α -tokoferolün; β -, δ - — tokoferollere karşın düşük nicelikte içerildiği ve pro-oksidan davranışı da araştırılmıştır (LEA, 1960; CORT, 1974; CILLARD ve Ark., 1980).

Rafine pelemir yağ örneklerinin α -tokoferol nicelikleri, ham pelemir yağ örneklerine karşın düşük nicelikte saptanmışlardır.

Ham pelemir yağın α -tokoferol niceliği, zeytin, soya ve mısır yağlarından büyük, ayçiçeği, pamuk (çiğit) ve yerfıstığı yağlarından düşük bulunmuştur.

Rafine pelemir yağın α -tokoferol niceliği ise rafine ayçiçeği, soya, pamuk (çiğit) ve mısır yağlarından büyük, yerfıstığı yağından düşük saptanmıştır.

ZUSAMMENFASSUNG

«Die Quantitäten totale Phospholipid und α -Tocopherol in den roh- und raffinierte Ölen des Pelemirs»

Das Rohöl von Pelemir wurde raffiniert und dadurch die totale Phospholipid und α -Tocopherol Quantität von Rohöl und raffiniertes Öle des Pelemirs gleichzeitig festgestellt und dabei die Werte von Pelemir Öl neben manchen essbaren Ölen untersucht.

KAYNAKLAR

- Cillard, J. and P. Cillard. 1980. Behavior of Alpha, Gamma and Delta Tocopherols with linoleic Acid in Aqueous Media. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 57 (1), 39 - 42.
- Cort, W.M., 1974. Antioxidant activity of Tocopherols, ascorbyl palmitate and ascorbic and their mode action. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 51 (7) 321.
- Çolakoğlu, M ve A.K. Yalnız. 1980. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi ile Yemeklik Yağlarda E Vitaminlerinin (Tokoferollerin) Tayin Yöntemleri Üzerinde Çalışmalar. TÜBİTAK-Tarım ve Ormanlık Araştırma Grubu Yürütme Komitesininin 6-10.Ekim.1980 tarihinde Adana'da yapılan VII. Bilim Kongresi.
- Dewdney, P.A.B.A. and M.L. Meare. 1977. Natural Fat-Soluble Antioxidants. *Scientific-Technical Surveys*, No. 96, 27 - 30.
- Fallani, A. and S. Ruggieri. 1977. Lipid Composition of SV 40-Induced Transplantable Hamster Tumor. *Lipids*, 14 (8), 752 - 755.
- Furia, E.T., 1975. Handbook of Additives. Publishing by CRC-Press. 998 p.
- Gouind Rao, M.K. and Achaya, K.T., 1967. Role of Tocopherol as an antioxidant in Safflower Oil. *Fette - Seifen - Anstr.*, 69 (10) 711.
- Gutfinger, T. and A. Letan, 1972. Studies of Tocopherol Dimers from Soybean Oil by Reaction Gas Chromatography. *Lipids*, 7 (7) 483 - 487.
- Heimann, W. 1969. Handbuch der Lebensmittelchemie fette und lipoide (lipids) Band IV. Springer-Verlag. S. 1111.
- Jacobsberg, B., P. Deldime and Abdul Gapor, 1978. Tocopherols and Tocotrienols in Palm Oil Considerations on their Role as Antioxidants and Practical Determinations. *Oleagineux*, 33 (5) 239 - 247.
- Kaufmann, H.P. und J.G. Thieme, 1956. Die Raffination der Fette. Aschendorfsche Verlagsbuchhandlung, Münster Westf. S. 674 - 805.
- Keskin, H. 1970. Gıda Kimyası. J.Ü. Yayınlarından, Sayı: 1525. Kimya Fakültesi No. 3, II. Baskı.
- Kock, M. 1981. Grundlagen zur Qualitätssteigerung von Sojaöl durch Behandlung der Sojaflocken vor der Extraction. *Fette - Seifen - Anstr.*, 552 - 563.
- Lea, C.H. 1960. On the Antioxidant activity of the Tocopherols II. Influence of substrate, temperature and level of oxidation. *J. Sci. Food Agric.* 11, 212.
- Lea, C.H. and R.T. Ward, 1959. Relative antioxidant activity of the seven Tocopherols. *J. Sci. Food Agric.* 10, 537.
- Popov, A. et I.D. Mizev. 1967. Sur les phosphatides de l'huile de Tournesol. Et les possibilites d'obtention D'huiles a teneur elevee en phosphatides. *Revue Français des Corps Gras.* 14 (6) 391 - 396.
- Rouser, A.N., 1966 Quantitative Analysis of Phospholipids by Thin Layer Chromatography and Phosphorus Analysis of Spots. *Lipids*, 1 (1) 85 - 86.
- Swern, D., 1964. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Third Edition. Interscience Publishing a Division of John - Wiley - Sons. 1103 p.
- Toğulga, G., 1967. Sağlam şahısların serum fosfolipidlerinin iki dimensiyonlu Thin - Layer Chromatography'si ile kalitatif ve kantitatif tayini. *E.Ü. Tıp Fak. Mecmuası*, 6 (3) 293-299.
- Young, V., 1978. Processing of Oils and Fats. *Chemistry of Industry*. p. 692 - 703.