

Pelemir Tohum (*C. syriaca* Schrad.) Yağında Bulunan Epoksi Yağ Asitlerinin İnce Tabaka (TLC) ve Gaz Kromatografisi (GLC) Metodları ile Belirlenmesi

Dr. Nejat ALTINIĞNE

E.Ü. Eczacılık Fakültesi Besin Analizi Bilim Dalı, Bornova - İZMİR

ÖZET

Bu araştırmada pelemir tohum (*C. syriaca* Schrad.) yağındaki epoksi yağ asitleri, ince tabaka (TLC) ve gaz kromatografisi (GLC) metodları ile saptanmaya çalışılmıştır. Mono ve diepoksi yağ asitleri ile birlikte monohidroksi ve α, β -keto yağ asitleri de bulunmuştur.

1. GİRİŞ

Çeşitli bitkilerin tohum yağlarında 18 ve

20 karbonlu, doymuş ve doymamış epoksi yağ asitleri bulunmuştur (1). Bu epoksi yağ asitleri yanında doymuş ve doymamış hidroksi, α, β -keto asitler ve siklopropan yağ asitleri saptanmıştır (2, 3, 4).

Çizelge - 1'de bazı bitki çeşitlerinin tohum yağlarında bulunan epoksi yağ asitlerinin çeşit ve miktarları verilmiştir.

Çizelge - 1. Bazı bitki çeşitlerinin tohum yağlarında bulunan epoksi yağ asitleri ve miktarları (5).

Bitki çeşitleri	Miktarı (%)	Epoksi yağ asitinin adı ve kapalı formülü
<i>Gossypium hirsutum</i> (pamuk)	1.3	—
<i>Helianthus annuus</i> (ayçiçeği)	1.9	—
Soya fasulyesi (6)	2.0	12, 13 - epoxy - 9 - octadecenoic, 15, 16 - epoxy - 9, 12 - octadecadienoic
<i>Vernonia anthelmintica</i> (7)	76.5	Vernolic; cis - 12, 13 - epoxy - cis - 9 - octadecenoic
<i>Chrysanthemum coronarium</i> (1)	1.2	Coronoric; cis - 9, 10 - epoxy - cis - 12 - octadecenoic
<i>Abutilum indicum</i> (4)	1.5	—
Oruçiçi (8)	3.6	trans - 9, 10 - epoxyoctadecenoic

Birçok araştırmacı tarafından çok çeşitli yöntemler kullanılarak epoksi ve hidroksi yağ asitleri nitel ve nicel olarak saptanmaya çalışılmıştır. Bu yöntemler sırasıyla, ince tabaka (TLC), kolon (CC), gaz kromatografisi (GLC), yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ile ultraviyole (UV), infraruj (IR) ve kütle (Mass) spektroskopisidir (1, 9).

Çizelge 2'de bu güne kadar, pelemir tohum çeşitlerinin yağında değişik metodlarla yapılan analizlerde bulunan, hidroksi ve epoksi yağ asiti miktarları görülmektedir.

Çizelge 2. Bazı pelemir tohum çeşitlerinin yağlarında bulunan hidroksi ve epoksi yağ asitleri miktarları.

Pelemir çeşiti	Epoksi (%)	Hidroksi (%)
<i>Cephalaria joppica</i> (Spreng) Beg. (10)	32	—
<i>Cephalaria leucantha</i> (L.) Schrad. (10)	28	—
<i>Cephalaria syriaca</i> Schrad. (11)	—	12
<i>Cephalaria syriaca</i> Schrad. (12)	7.8	—

Yapılan bu araştırmada bir pelemir çeşidi olan *C. syriaca* Schrad. tohum yağının içerdiği epoksi, hidroksi ve diğer yağ asitleri nitel ve nicel olarak saptanmaya çalışılmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak, Muş - Bulanık Teknik Ziraat Mühendisliği'nin gönderdiği yabancı ot tohumu olarak tanınan pelemir tohum (*C. syriaca* Schrad.) yağı kullanılmıştır.

2.2. Metod

2.2.1. İnce tabaka kromatografisi (TLC)

Önce pelemir yağ örneğinin metil esterleri oluşturulmuş (13), daha sonra 0.250 mm kalınlığında silikagel - G çekilmiş 2 saat 105°C de aktive edilmiş 10 x 20 cm ve 20 x 20 cm'lik cam plakalara 50 µl spotlanmıştır.

İnce tabaka kromatografisinde yürütücü çözücü olarak p. eteri/eter (80 : 20) (I) (14), eter/hekzan (40 : 60) (II) (2), eter/hekzan (15 : 85) (III) (8) ve % 10 eter/p. eterinde % 1 asetik asit (IV) (9) kullanılmıştır. İnce tabakada lekelerin gözlenebilmesi için 45 dakika yürütücü çözücü içinde tutulmuş daha sonra % 50 sülfirik asit belirteci püskürtülerek, 175°C'de 30 dakika etüvde bekletilmiştir.

Epoksi yağ asiti metil esterlerinin ve diğer yağ asitlerinin metil esterlerinin yerleri bu şekilde saptandıktan sonra pelemir yağ asiti metil esteri yeniden gereken yürütücü çözümlere konulmuş ve daha sonra saptanan yerler, kazınarak elüe edilmiştir.

Elde edilen yağ asitleri metil esterleri, gaz kromatografisine verilmiştir.

2.2.2. Gaz kromatografisi (GLC)

İnce tabaka kromatografisinden elüe edilen, epoksi ve diğer yağ asitleri metil esterleri, 100 - 120 mesh Gas - Chrom Q üzerine % 3 EGSP - Z kaplanmış kolon materyali doldurulmuş, 190 cm uzunlukta 4 mm iç çapındaki cam kolonlu, alev iyonizasyon dedektörlü

Huston Instrument - Omni Scrobe yazıcılı Pye Unicam 204 Model Gas - Liquid Chromatography cihazında programlı olarak saptanmıştır.

Akış hızları :

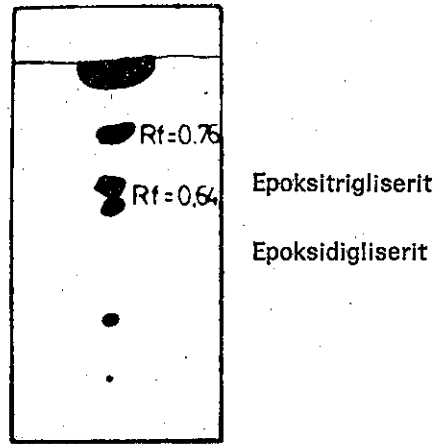
Azot gazı	35 ml/dk
Hidrojen gazı	30 ml/dk
Kuru hava	750 ml/dk

Kolon sıcaklığı :

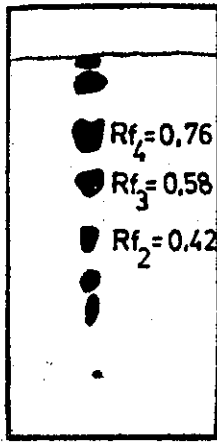
Başlangıç	170°C, 1 dk
Program hızı	2°C/dk
Bitiş	210°C, 26 dk

Dedektör sıcaklığı	: 250°C
Enjektör sıcaklığı	: 225°C
Kart hızı	: 0,5 cm/dk

Pelemir yağ örneği metil esterinin yürütücü çözücü (I) ile yapılan ince tabaka kromatografisinde 0,64 ve 0,76 R_f değerlerinde lekeler gözlemlendi (Şekil - 1.). *Vernonia anthelmintica* (L) Willd. tohum yağının epoksi yağ asitlerinin belirlenmesi için yapılan bir araştırmada aynı R_f değerlerinde epoksitrigliserit ve epoksidigliserit saptanmıştır (14). Bp şekilde pelemir yağında epoksi yağ asitlerinin varlığı saptandıktan sonra bu yağ asitlerinin neler olduğunu anlamak için çeşitli yürütücü çözümler ile ince tabaka kromatografisi denemeleri yapıldı.



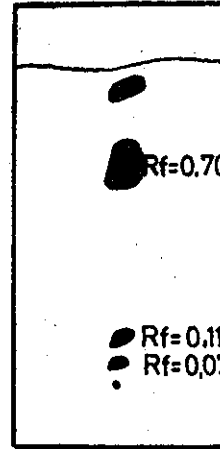
Şekil - 1. Yürütücü çözücü (I) olan ince tabaka kromatografisinde epoksi gliseritler.



Epoksistearik asit - Me

Doymamış α - β Keto
yağ asidi - Me

Doymamış nozohidroksi
yağ asiti - Me



Diepoksioleik

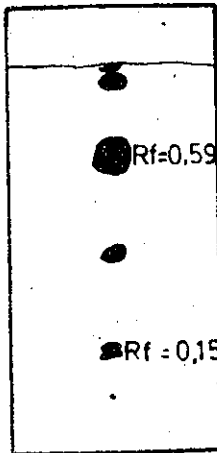
asit - Me

Şekil - 2. Yürütücü çözen (II) olan ince tabaka kromatografisinde monohidroksi, α , β - keto ve epoksi yağ asitleri metil esterleri.

Şekil - 4. Yürütücü çözen (IV) olan ince tabaka kromatografisinde diepoksioleika-sitimetil esterleri (Bant - 1).

Yürütücü çözen (II) olan şekil - 2'deki ince tabaka kromatografisinde görülen lekeler, pelemir yağ örneğinde epoksi yağ asitlerinden başka yağ asitlerinin de bulunduğunu ortaya çıkardı. Bu yağ asitlerinin doğruluğunu kontrol etmek için, şekil - 3'te (14) ve şekil - 4'te (9) görülen ince tabaka kromatografileri yapıldı. Bu şekilde monohidroksi ve diepoksi yağ asitlerinin varlığı saptandı.

Daha sonra yürütücü çözen (II) olan ince tabaka kromatogramında 2,3,4 nolu bantlar elüe edildi. Yürütücü çözen (IV) olan ince tabaka kromatogramından da bant - 1 gaz kromatografisine verilmek üzere elüe edilerek alındı. Pelemir yağ örneğinin yağ asitleri metil esterleri karışımının kromatogramı ve yağ asiti metil esterlerinin karışım standartının kromatogramı grafik - 1'de görülmektedir.

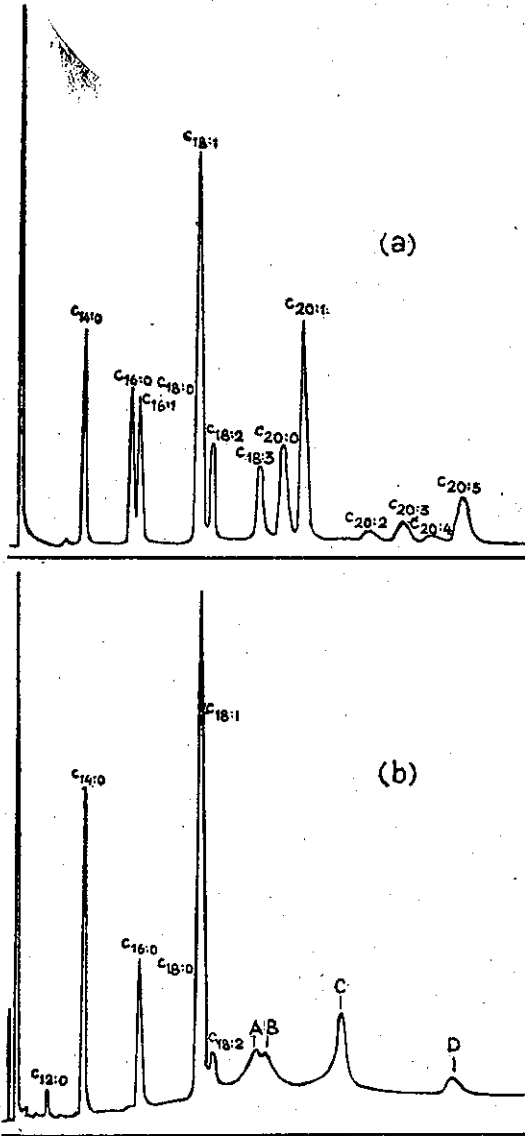


Epoksiester

Mozohidroksiester

Kromatogramdaki (A) pikinin bant - 4'ten elüe edilen monoepoksi yağ asiti metil esterleri, (B) pikinin bant - 2'den elüe edilen monohidroksi yağ asiti metil esterleri, (C) pikinin bant - 3'ten elüe edilen doymamış - α , β - keto yağ asiti metil esterleri ve bant - 1'den elüe edilen (D) pikinin de diepoksi yağ asiti metil esterleri olduğu grafik - 2'deki kromatogramlardan da anlaşılmaktadır.

Şekil - 3. Yürütücü çözen (III) olan ince tabaka kromatografisinde monohidroksi ve epoksi yağ asitleri metil esterleri.

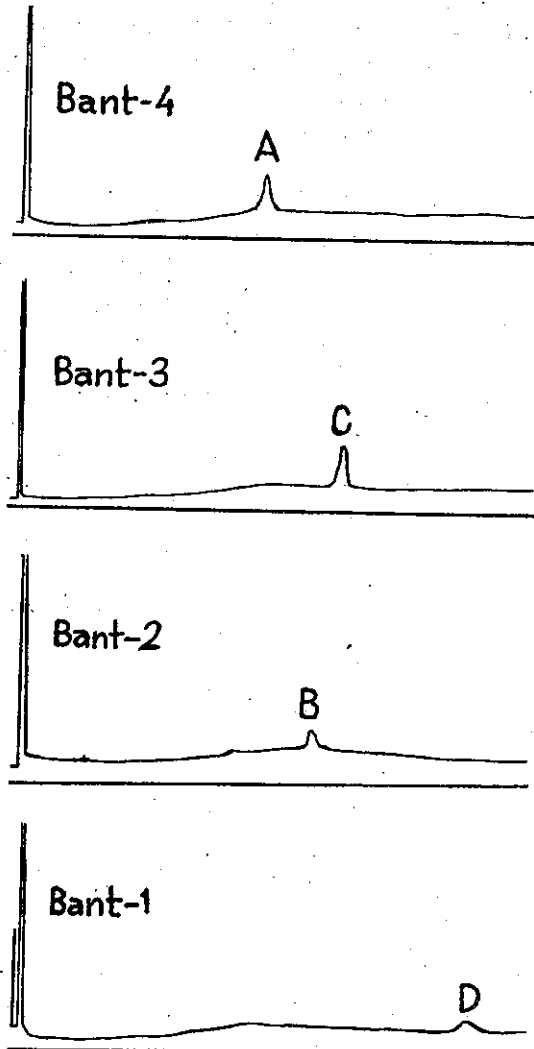


Grafik - 1. Yağ asitleri metil ester standartı (a) ile Muş pelemir yağı, yağ asitleri metil esterlerinin (b) gaz kromatografisinde elde edilen kromatogramları.

Şimdiye kadar yapılan çeşitli araştırmalarda bu bantlardan elde edilen elüatların gaz kromatografisinde tayinleri yapıldığı gibi, kütle spektrumları ve IR'leri alınarak nitelik ve nicelikleri saptanmıştır (1, 5).

Bu araştırmalara göre; monoepoksi yağ asiti metil esterinin, cis - 9, 10 - metilepoksisis-

tearat, monohidroksi yağ asiti metil esterinin 12 - hidroksimetiloleat ve diepoksi yağ asiti metil esterinin de cis, cis - 9, 10 - 12, 13 - diepoksioleat olduğu görülmektedir. Doymamış - α , β - keto yağ asiti metil esterinin ise adı geçen izomerlerden birisi içerdiği zannedilmektedir. Bunlar sırası ile; 8 - keto - 9 - oktadekanoat - Me, 9 - keto - 10 - oktadekanoat - Me, 10 - keto - 8 - oktadekanoat - Me ve 11 - keto - 9 - oktadekanoat - Me esterleridir.



Grafik - 2. İnce tabaka kromatografisinden elde edilen bantların gaz kromatografisinde verdikleri piklerin kromatogramları.

Çizelge - 3. Muş pelemir yağ örneği metil esterinin gaz kromatografisinde elde edilen yağ asitlerinin % miktarları.

Laurik asit	1,16
Miristik asit	16,14
Palmitik asit	9,61
Stearik asit	1,93
Oleik asit	30,98
Linoleik asit	12,07
Monoepoksi yağ asiti	6,08
Hidroksi yağ asiti	6,46
Doymamış - α , β - keto yağ asiti	12,97
Diepoksi yağ asiti	4,54

Muş pelemir yağının içerdiği yağ asitlerinin çeşit ve % miktarları, gaz kromatografisi cihazında çizelge - 3'te görüldüğü gibi saptanmıştır.

ZUSAMMENFASSUNG

«Die Epoxyfettsäuren des Pelemir Samenöles (*C. syriaca* Schrad.) bestimmt mit der Dünnschicht- und Gas - Chromatographie Methoden»

In dieser Arbeit hat man die epoxyfettsäuren des Schuppenkopfsamenöles (*C. syriaca* Schrad.) mit Dünnschicht- und Gas - Chromatographie Methoden bestimmen zu gearbeitet. Mit zusammen den mono- und diepoxyfettsäuren haben auch die monohidroksi- und ungesättigte - α , β - ketofettsäuren gefunden.

KAYNAKLAR

1. Krewson, C.F., 1968. Naturally Occurring Epoxy Oils. The Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol. 45, 250 - 256.
2. Lercker, G., P. Capella, L.S. Conte et U. Pallotta, 1978. Sur certains produits de transformation thermique des hydroperoxydes de l'oleate de methyle. no° 5, 227 - 237.
3. Roomi, M.W., M.R. Subbaram and K.T. Achaya, 1966. Separation of epoxy, hydroxy, halohydroxy and keto fatty acids and derivatives by thin-layer Chromatography. J. Chromatog., 24, 93 - 98.
4. Babu, M., S. Husain, M.U. Ahmad and S.M. Osman, 1980. Abutilon indicum Seed Oil-Characterisation of Hbr-reactive Acids. Fette - Seifen - Anstr., 2, 63 - 66.
5. Morris, L.J., and R.T. Holman, 1961. Naturally occurring epoxy acids: II, detection and measurement of long-chain epoxy acid by near infrared spectrophotometry. J. Lipid Research, 2 (1), 77 - 82.
6. Sessa, D.I., H.W. Gardner, R. Kleiman, D. Weisleder, 1976. Oxygenated Fatty Acid Constituents of Soybean Phosphatidylcolines. Lipids, 12 (7), 613 - 619.
7. Herb, S.F., P. Magidman and R.A. Barford, 1964. A Satisfactory GLC Column for the Determination of Epoxyoleic Acid in Seed Oils, J.A.O.C.S., 41, 222 - 224.
8. Vique, E. and L.J. Morris and R.T. Holman, 1961. Minorcomponents of Olive Oils II. Trans - 9, 10 - Epoxystearic acid in Orujo Oil. J.A.O.C.S., 38, 489 - 492.
9. Morris, L.J., R.T. Holman and K. Fontell, 1961. Naturally occurring epoxy acids: I. detection and evaluation of epoxy fatty acids by paper, thinlayer, and gas-liquid chromatography. J. Lipid Research, Vol. 2, Nr. 1, 68 - 76.
10. Tallent, W.H., D.G. Cope, J.W. Hagemann, F.R. Earle and I.A. Wolff, 1967. Identification and Distribution of Epoxyacyl Groups in New, Natural Epoxy Oils. Lipids, Vol. 1, Nr. 5, 335 - 340.
11. Yazicioğlu, T., 1951. Türkische Pflanzenöle. Fette und Seifen, Nr. 4, 189 - 190.
12. Yazicioğlu, T., A. Karaali, J. Gökçen, 1977. Cephalaria Syriaca Seed Oil. TB TAK Proje No: 2807, Gebze.
13. Barford, R.A., S.F. Herb, F.E. Luddy, P. Magidman and R.W. Riamenschneider, 1963. Alcoholysis of Vernonia anthelmintica Seed Oil and Isolation of Methyl Epoxyoleate. The Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol. 40, 136 - 138.
14. Krewson, C.F. and F.E. F.E. Luddy, 1964. Vernonia anthelmintica (L.) Willd. Highly Purified Epoxy Components from the Seed Oil. The Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol. 4, 134 - 136.