



YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Celtis tourn. lam. ağac. elde  
edilen yağlar..

Yüksek Lisans Tezi

Naciye Yılmaz

YILDIZ ÜNİVERSİTESİ  
GENEL KİTAPLIĞI

R 361  
67

Kot : .....

Alındığı Yer : Fen Bil. Enst. ....

Tarih : 11.12.1990 .....

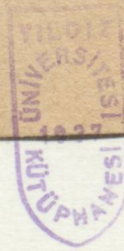
Fatura : .....  
Fiatı : 5000 TL .....

Ayniyat No : 1/28 .....

Kayıt No : 47390 .....

UDC : 54 ..... 378.242

Ek : .....



YILDIZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
GİRİŞ .....	1
TEORİK BÖLÜM .....	
1. SİTİNİN TANIMI .....	2
2. YAĞLAR .....	3

CELTİS TOURNEFORTII LAM. AĞACININ MEYVALARINDAN  
ELDE EDİLEN YAĞLARIN TRİGLİSERİD BİLEŞİMİNİN  
KROMATOĞRAFİK İNCELENMESİ

3.1.1.3. Deterjanlar .....	67
3.1.2. Gliserin .....	4
3.2. Trigliseritler .....	10
3. KROMATOĞRAFI .....	11
3.1. Kromatografi (Yüksek Lisans Tezi) .....	12
3.2. Kromatografik yöntemler .....	13
3.2.1. Adsorpsiyon Kromatografisi .....	14
3.2.2. Dalgıç kromatografisi .....	15
3.2.3. İyon değişirici kromatografisi .....	16
3.2.4. Sterik .....	17
3.3. İnce Tabaka Kromatografisi .....	18
3.3.1. Adsorpsiyon .....	19
3.3.2. Yüzeysel .....	20
3.4. İnce Tabaka Kromatografisi .....	21
3.4.1. Yağlar .....	22
3.4.2. Trigliseritler .....	23

Naciye YILMAZ

Kimya Mühendisi.

## İÇİNDEKİLER

	<u>sayfa</u>
GİRİŞ .....	1
TEORİK BÖLÜM	
1.BİTKİNİN TANIMI.....	2
2. YAĞLAR.....	3
2.1.Yağın Yapısı .....	4
2.1.1.Yağ asitleri.....	6
2.1.1.1. Düz zincirli doymuş yağ asitleri.....	6
2.1.1.2. Düz zincirli doymamış yağ asitleri.....	7
2.1.1.3. Dallanmış ve aliciklik yağ asitleri.....	8
2.1.2. Gliserin.....	9
2.2.Trigliseridler-Yağlarda Dağılımı.....	10
3.KROMATOĞRAFİ.....	13
3.1.Kromatografinin Esası.....	13
3.2.Kromatografinin Sınıflandırılması.....	15
3.2.1.Adsorbsiyon Kromatografisi.....	15
3.2.2.Dağılma kromatografisi.....	15
3.2.3.İyon değiştirici kromatografi.....	16
3.2.4.Sterik seçicilik kromatografisi....	16
3.3.İnce Tabaka Kromatografisi.....	17
3.3.1. Adsorban.....	17
3.3.2.Yürütücü Solvent.....	19
3.4.İnce Tabaka Kromatografisinin Yağlara Uygulanması.....	21
3.4.1.Yağların ince tabakada kantitatif olarak belirlenmesi.....	23
3.4.2.Trigliseridlerin kantitatif tayini.	24

3.5.Gaz Kromatografisi.....	26
3.5.1.Gaz kromatografisinin yağlara uygulanması.....	28
DENEYSEL ÇALIŞMA ve BULGULAR .....	29
1. GAZ KROMATOĞRAFİSİ İLE YAĞ ASİTLERİNİN TAYİNİ.	30
1.1. Bortriflorür Metodu İle Yağ Asidi Metil-esterlerinin Hazırlanması.....	30
1.1.1.Deneyin yapılışı.....	30
1.2.Gaz Kromatografisi İle Çalışma Koşulları.	31
2. İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ İLE TRİGLİSERİDLERİN AYRILMASI VE KANTİTATİF TAYİNİ.....	35
2.1.Gümüş Nitrat-Silicagel Plakalarının Hazırlanması.....	35
2.1.1.Ayırma kutularının hazırlanması.....	35
2.1.2.Analiz maddesinin uygulanması.....	35
2.2.Trigliserid Fraksiyonlarının Kantitatif Tayini.....	36
2.2.1.Deneyin yapılışı.....	38
TARTIŞMA VE SONUÇ .....	41
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ	

Naciye YILMAZ

Ocak 1988

~~ÖZET~~

Bu çalışmada, Elmaceas familyasından Celtis boursieri  
fortii Lam. ağacının meyvalarından elde edilen yağların  
trigliseridleri incelenmiştir.

Araştırma konusunu veren, çalışmalarımı yürüten Y.Ü.  
Fen.Ed. Fak. Kimya Bölümü Anorganik Kimya Anabilim Dalı  
Başkanı hocam Doç. Şirin PAKSOY'a içten teşekkürlerimi  
sunarım. Ayrıca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım İ.Ü.  
Eczacılık Fak. Öğretim Üyesi Prof.Dr. Asuman BAYTOP'a ve  
TÜBİTAK laboratuvarlarında çalışma olanağı sağlayan İ.T.Ü.  
Kimya Metalürji Fak. Dekanı Prof.Dr. Özer BEKAROĞLU'na  
teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmada bulunan doygun ve doymamış  
yağ asitleri gaz kromatografisi ile kalitatif ve kantitatif  
olarak belirlenmiştir.

Çalışma sonuçları literatürde bulunamayanlarla  
karşılaştırılmıştır.

Naciye YILMAZ

Ocak 1988

## Ö Z E T

Bu çalışmada, Ulmaceae familyasından *Celtis tournefortii* Lam. ağacının meyvalarından elde edilen yağların trigliseridleri incelenmiştir.

Trigliseridlerin yağdaki dağılımı ince tabaka kromatografisi ile incelenmiş ve doymamışlık derecelerine göre gümüşnitrat/silicagel plakalarında ayrılan fraksiyonların relatif mektarları Chromotrop Asidi Metodu ile tayin edilmiştir.

Ayrıca Trigliseridlerde bulunan doymuş ve doymamış yağ asitleri gaz kromatografisi ile kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir.

Çalışma sonuçları literatürde bulunan değerlerle karşılaştırılmıştır.

## SUMMARY

In this study, the triglycerides in the oils obtained from the fruits of the *Celtis tournefortii* Lam. tree of the Ulmaceae family were examined.

The distribution of the triglycerides in the oil was examined by thin layer chromatography and the relative quantities of the fractions separated on silver nitrate / silica gel plates due to their unsaturation degree were determined by Chromotropic Acid Method.

Also, the saturated and the unsaturated fatty acids in the triglycerides were determined qualitatively and quantitatively by gas chromatography.

The results of the study were compared with the values in literature.

## GİRİŞ

*Celtis tournefortii* Lam. ülkemizin çeşitli yörelerinde kendiliğinden yetişen bir ağaçtır.

Ulmaceae familyasının *Celtis*, *Ulmus* ve *Zelkova* olmak üzere üç türüne sahiptir. Çalışmamızda bu ağacın meyvasından elde edilen yağlardaki trigliserid bileşiminin incelenmesi amaçlanmış ve çalışma bu yönde yapılmıştır. Ulmaceae familyasından bazı türlerin yağ asidi bileşiminin gaz kromatografisi ile incelenmesi üzerine çalışmalar vardır (1). Bizim çalıştığımız *Celtis tournefortii* Lam. ile daha önce çalışılmış olan *Celtis sinensis* var. *Japonica* türlerinin trigliseridlerindeki yağ asidi bileşimi arasında benzerlik olduğu görülmüştür.

Yapraklarına dökün bir ağaçtır. Herer yanındaki güvün düzgün kabuğa sahiptir. Yaprakları en çok 6-4.5 cm. boyutlarında, oval, ucu uzun ve sivri, kenarları testere dişlidir. Yaprakların üst yüzü koyu yeşil bir madde ile kaplı olup alt yüzü daha parlaktır. Çiçekler ya erdigidir ve tek olarak bulunurlar; veya dişli organın gelişmeden kalması sonucu erkek egemlidir. Meyvalar sarı veya turuncu renkli, pek çekirdekli ve az etli olup 9-12 mm çapındadır. Tatlı olan meyvaları yenilir.

Bu bitki İç Anadolu, Ege, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerimizde kendiliğinden yetişmektedir.

## 2. YAĞLAR

### TEORİK BÖLÜM

#### 1. BİTKİNİN TANIMI

Ulmaceae familyasının Celtis, Ulmus ve Zelkova olmak üzere üç cinsi bulunur.

Celtis L. cinsinde australis, caucasica, tournefortii, glabrata olmak üzere çeşitli türler vardır (2).

##### 1.1. CELTİS TOURNEFORTİİ LAM.

Mart-Nisan aylarında çiçek açan 6 m yüksekliğinde, kışın yapraklarını döken bir ağaçtır. Esmer renkteki gövde düzgün kabuğa sahiptir. Yaprakları en çok 6-4.5 cm. boyutlarında, oval, ucu uzun ve sivri, kenarları testere dişlidir. Yaprakların üst yüzü toz gibi beyaz bir madde ile kaplı olup alt yüzü daha parlaktır. Çiçekler ya erdişidir ve tek olarak bulunurlar; veya dişi organın gelişmeden kalması sonucu erkek eşemlidir. Meyvalar sarı veya turuncu renkli, tek çekirdekli ve az etli olup 9-12 mm çapındadır. Tatlı olan meyvaları yenilir.

Bu bitki İç Anadolu, Ege, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerimizde kendiliğinden yetişmektedir.

## 2. YAĞLAR

Lipidler bünyelerinde karbon, hidrojen, oksijen ve bazı durumlarda azot ve fosfor taşıyan bileşiklerdir. Basit ve bileşik lipidler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Basit lipidler yağlar ve mumlardır. Bileşik lipidler fosfatidler (lesitin, fosfatin), serebrozidler (gluko ve galaktolipidler) dir (3).

Yağlar karbonhidratlar ve proteinlerle beraber üç ana besin maddesini oluştururlar. Yağlar üç değerlikli bir alkol olan gliserinin yüksek moleküllü yağ asitleri ile oluşturduğu esterlerdir.

İlk olarak CHEVRUL, 1811 yılında yağın gliserin ve yağ asitlerinden meydana geldiğini ispatlamıştır. Onun için kendisi yağ kimyasının kurucusu sayılır. FREMY, yağ asitlerinden butirik ve palmitin asitlerini izole etmiş; daha sonra LIEBIG'in laboratuvarında da yağ asitleri homolog sıra halinde tespit edilmiştir. İkinci Dünya Savaşından sonra yağlar üzerindeki araştırmalar hızlanmış; KAUFMANN kağıt kromatografisini, HOWARD ve MARTİN kolon kromatografisini, JAMES'de gaz kromatografisini yağlara uygulamışlardır. U.V. ve IR. spektroskopisi ile de yağ ve yağın yan komponentlerinin karakterleri aydınlatılmıştır(4).

Gıdai yağlar bitkilerde ve hayvansal kaynaklarda bulunur. Bitkisel yağlar, genelde bitkilerin tohum ve meyvalarından elde edilir. Bazı bitkilerin kök, dal, sap ve yaprakları da yağ içerir. Bitkisel yağlarda bulunan yağ asitleri, basit olup genellikle palmitin, olein ve linol asitleridir.

Hayvansal yağlar daha karmaşık yapıdadırlar. Bu yağlar, yağ deposu olan karaciğer, karın boşluğu ve bazı dokulardan elde edilir. Tek hücreli deniz hayvanlarından elde edilen yağın, memeli hayvanların yağından daha karmaşık bir yapıda olduğu görülür. Bu yağlarda 12, 16, 18 karbonlu doymuş yağ asitlerinin yanında  $C_{14}$ - $C_{22}$  hatta  $C_{24}$ 'e kadar doymuş yağ asitleri de vardır.

## 2.1.YAĞIN YAPISI

Hayvansal ve bitkisel yağın ana komponenti trigliseridlerdir. Yağın kaynağına göre yan komponent olarak fosfatidler, steroller, karotenoidler, vitaminler, tat ve koku verici maddeler bulunur. Ayrıca tabii yağların yapısında farkedilir miktarda mono ve digliseridlere de rastlanır.

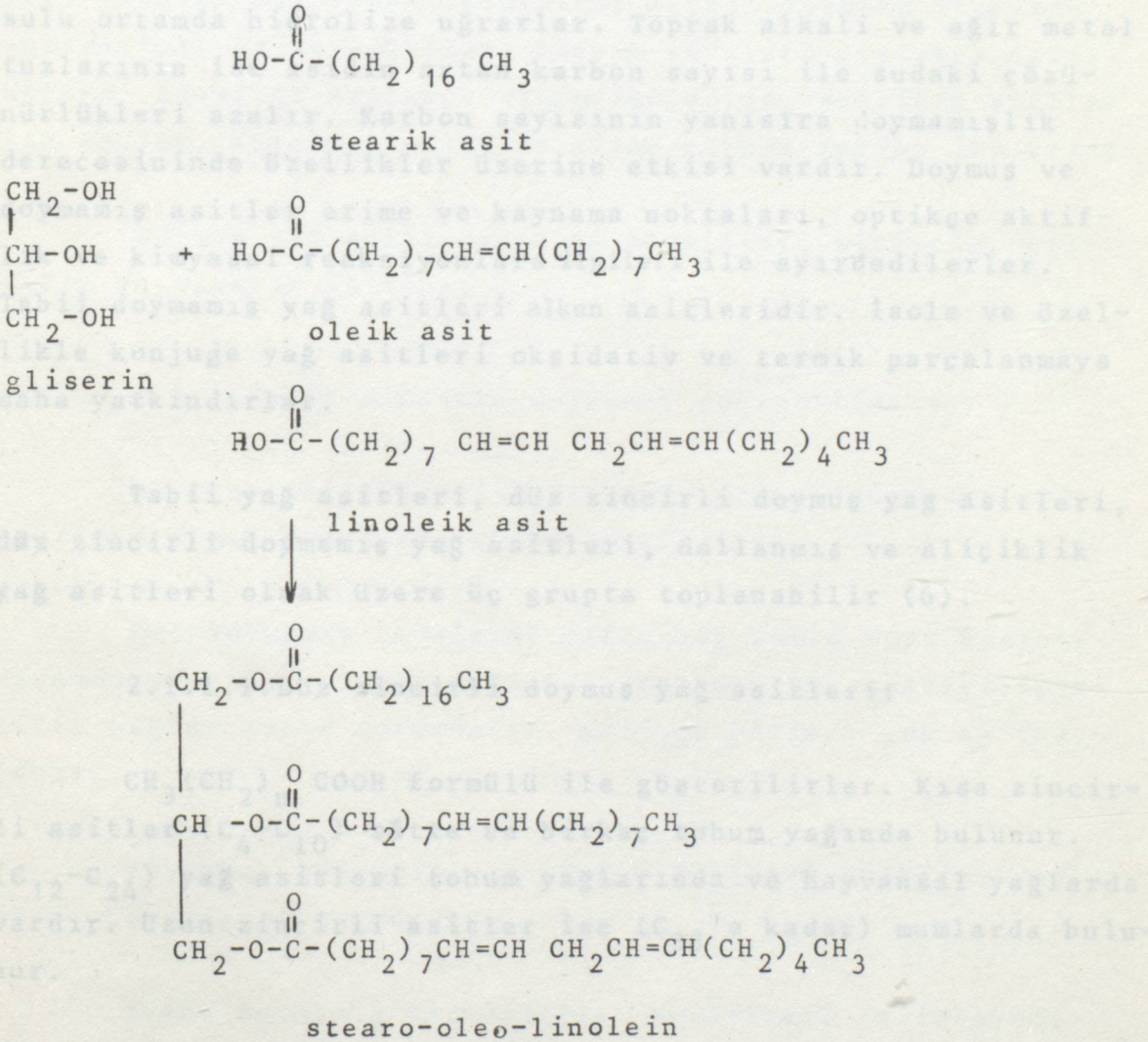
Tabii yağın karmaşık yapısı çeşitli sayıda karma trigliseridlerin bulunmasından ileri gelir. Örneğin keten toğumu yağı stearo-oleo-linol, oleo-linolo-linolenin, oleo-dilinolin ve stearodilinolin gibi birkaç trigliseridden oluşur.

Bu karmaşık yapılarından dolayı yağların erime noktaları kesin değildir. Yağı oluşturan her bir trigliseridin erime noktası farklı olduğundan, erimeden önce yumuşarlar (5).

Yüksek yağ asitlerinin saf trigliseridleri, kokusuz ve tatsızdır.

Yağların yoğunlukları genel olarak 1'den küçük olup, ışığı kırma özelliği de gösterirler.

Yağın ana komponenti olan trigliseridler, yağ asitleri ile gliserinin oluşturduğu esterlerdir. Yapılan analizler bu iki maddeye dayanır.



Şekil 1: Tabii yağdaki trigliseridin yapısal formülü.

### 2.1.1.Yağ Asitleri

Yağ asitleri, yağlarda gliserin ile esterleşmiş olarak bulunmaları yanında az miktarda serbest olarak bulunurlar.

Yağ asitlerinin kimyasal ve fiziksel özellikleri molekül ağırlıklarına, yani karbon zincirinin uzunluğuna bağlıdır. Bütün yağ asitleri zayıf asit özelliği gösterirler. Yüksek molekülü asitlerin alkali tuzları yüzeysel aktiftir ve sulu ortamda hidrolize uğrarlar. Toprak alkali ve ağır metal tuzlarının ise asidin artan karbon sayısı ile sudaki çözünürlükleri azalır. Karbon sayısının yanısıra doymamışlık derecesinde özellikler üzerine etkisi vardır. Doymuş ve doymamış asitler erime ve kaynama noktaları, optikçe aktiflik ve kimyasal reaksiyonlara ilgileri ile ayırdedilerler. Tabii doymamış yağ asitleri alken asitleridir. İsole ve özellikle konjuge yağ asitleri oksidatif ve termik parçalanmaya daha yatkındırlar.

Tabii yağ asitleri, düz zincirli doymuş yağ asitleri, düz zincirli doymamış yağ asitleri, dallanmış ve aliciklik yağ asitleri olmak üzere üç grupta toplanabilir (6).

#### 2.1.1.1.Düz zincirli doymuş yağ asitleri:

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n \text{COOH}$  formülü ile gösterilirler. Kısa zincirli asitler ( $\text{C}_4-\text{C}_{10}$ ) sütte ve birkaç tohum yağında bulunur. ( $\text{C}_{12}-\text{C}_{24}$ ) yağ asitleri tohum yağlarında ve hayvansal yağlarda vardır. Uzun zincirli asitler ise ( $\text{C}_{38}$ 'e kadar) mumlarda bulunur.

Yeni araştırmalar tek karbonlu yağ asitlerininde tabii yağlarda çok az olarak bu asitlerle birlikte bulduklarını göstermektedir. Doymuş tek karbonlu asitler hayvansal ve bazı bitkisel yağlarda bulunur (6).

Bu yağ asitleri doymuş olduklarından kimyasal reaksiyonlara karşı ilgisizdirler. Alkil grupları pasiftir. Karboksil grubuna komşu olan metilen grubu reaksiyona en yatkın olan alkil grubudur. Zayıf asidik özellik gösterirler ve alkali hidroksitlerle tuzları yaparlar. Düşük karbon sayılı olanlar adi sıcaklıkta sıvı, kaprik asitten itibaren katıdırlar. Erime noktaları karbon sayıları arttıkça artar. Molekül ağırlığı arttıkça viskozite artar, spesifik ağırlık ise azalır. Kırılma indisi de artan karbon sayısı ile artar.

Doymuş yağ asitlerinin en önemlileri miristin, palmitik ve stearik asittir.

2.1.1.2. Düz zincirli doymamış yağ asitleri:

Bu gruptaki yağ asitleri: mono ve polydoymamış yağ asitleri olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

Polydoymamış asitlerde çifte bağ izole veya konjuge durumda olabilir. Tabii yağlarda doymamış yağ asitlerindeki çifte bağlar izole durumdadır. Konjuge bağlara çok az rastlanır.

Doymamış yağ asitleri ve gliseridleri bitkisel yağlarda ve balıklarda bulunurlar.

Bütün doymamış yağ asitleri kolaylıkla oksidasyon, polimerizasyon ve addisyona uğrarlar. Doymamış yağ asitleri veya onların gliseridleri özellikle hava oksijeninin etkisi

ile otooksidasyona uğrarlar. Bu olayın sonunda yağlar acılaşır. Yağ asitlerinin aldehit, keton veya daha küçük moleküllü asitlere dönüşmesi yağın acılaşma nedenlerinden-  
dir. Bu oksidasyonu nem, ışık ve bazı metaller hızlandırır-  
lar.

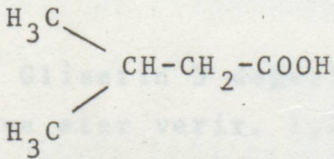
Çifte bağlara hidrojen veya halojenlerin katılmasıyla bu yağ asitleri veya gliseridleri doymuş hale geçerler.

Monodoymamış yağ asitlerinin en önemlisi olein asidi, polydoymamış yağ asitlerinin en önemlileri ise, linolein ve linolenik asitlerdir.

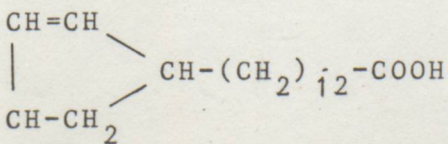
#### 2.1.1.3. Dallanmış ve aliçiklik yağ asitleri:

Yağ asitlerinin büyük çoğunluğu düz zincirli bileşikler olmasına karşın, dallanmış zincirli veya aliçiklik bir grup içeren birçok ilginç asit vardır. Bu yapısal değişiklikler erime noktasının düşmesine ve bazı durumlarda optik izomerleşmeye yol açar.

Dallanmış yağ asitlerine örnek yunus balığı yağında bulunan isovalerian asididir.



Aliçiklik yağ asitlerine örnek kaulmagra asididir.

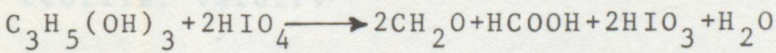


## 2.1.2. Gliserin (CH<sub>2</sub>OH-CHOH-CH<sub>2</sub>OH)

Bir trialkoldür. Hidroskopik, kokusuz, renksiz bir sıvıdır. Su ve alkolde her oranda, asetonda kısmen çözünür, diğer organik çözücülerde çözünmez.

Potasyum bisülfat veya fosfat asidi gibi asidik karakterdeki maddelerle gliserinden su çekilirse akrolein meydana gelir. Dikromat ve potasyum permanganat gibi kuvvetli oksidan maddeler gliserini su ve karbondioksitde parçalar. Gliserin aynı maddelerde nötral ortamda gliserinalde ve dioksiaseton, bazik ortamda da gliserin asidini verir. Brom ile reaksiyonundan dioksiaseton meydana gelir.

Kantitatif gliserin tayininde, gliserinin periyodat asidi ile oksidasyon reaksiyonundan faydalanılır. Gliserin, periyodat asidi ile reaksiyona girer ve 2 mol formaldehit ve 1 mol karınca asidi verir.

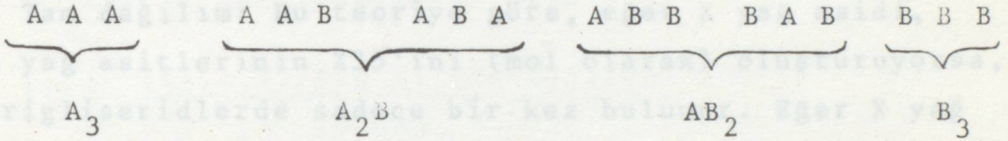


Formaldehitin çeşitli maddelerle vermiş olduğu renk reaksiyonlarına dayanarak kantitatif tayinler yapılır.

Gliserin 3 değerlikli bir alkol olduğundan üç çeşit ester ve eter verir. 1,2 veya 3 hidroksil grubunun yağ asitleri ile esterleşmesinden mono, di veya trigliseridler oluşur.

## 2.2. TRİGLİSERİDLER-YAĞLARDA DAĞILIMI

Bir yağın yapısını saptamak için, onun sadece asit komponentlerini bilmek yeterli değildir. Yağların özellikleri, trigliserid bileşimiyle de ilgilidir. Sadece iki yağ asidini içeren bir yağda izomerleri dikkate alındığı durumda altı, izomerleri dikkate alınmadığı durumda ise dört trigliserid vardır.



Yağda bulunan n adet farklı yağ asidinin oluşturduğu trigliserid sayısı, izomerleri dikkate alındığında  $\frac{n^3+3n^2+2n}{6}$  formülü ile bulunur.

Yağlardaki trigliserid bileşimi üzerine bazı teoriler vardır.

**Monoasid teori:** Bu teoriye göre doğal trigliseridler, basit trigliseridlerin karışımıdır. Buna göre, bir yağda palmitin, olein, linolein asitleri varsa, trigliserid karışımı tripalmitin, triolein ve trilinolein'den oluşmuştur.

Ancak 1860'da M.BERTHELOT, tabii yağların basit trigliseridlerin yanısıra, karma trigliseridleri de içerdiğini göstermiştir.

Rastgele dağılım: Bazı araştırmacılar doymuş (saturated) ve doymamış (unsaturated) asit komponentlerinin, bütün gliserid moleküllerinin hidroksil grupları arasında gelişigüzel dağıldığını öne sürmüşlerdir.

Sınırlı rastgele dağılım: Tamamen doymuş asitler (saturated)  $S_2U$  ve  $SU_2$  trigliseridlerini oluşturmak için rastgele dağılmışlardır.

Tam dağılım: Bu teoriye göre, eğer X yağ asidi, toplam yağ asitlerinin %35'ini (mol olarak) oluşturuyorsa, çoğu trigliseridlerde sadece bir kez bulunur. Eğer X yağ asidi, toplam asitlerin %35-65'ini oluşturuyorsa birçok trigliseridde iki kere bulunur. Eğer X yağ asidi, toplam asitlerin %65'inden fazla ise, basit trigliseridleri yapar. Eğer X yağ asidi, toplam asitlerin %15'inden az ise bir trigliserid molekülünde bulunmayacağı gibi, bulunduğu trigliseridlerde de sadece bir kez bulunur.

1,3 rastgele ve 2 rastgele dağılım: Bu konuda yapılan son teoridir. Yağın 2. durumundaki ve toplam yağ asitleri bilindiği zaman 1,3 durumundaki asitler hesaplanabilir. A, B ve C'nin trigliseridlerdeki farklı yağ asitlerini gösterdiği kabul edilirse, bir, iki ve üç asitli trigliseridler için şu bağıntılar yazılabilir.

Bir asitli trigliseridler için;

$$\%AAA = \frac{(\%A_{1,3}) (\%A_2) (\%A_{1,3})}{10.000}$$

iki asitli trigliseridler için;

$$\%AAB = \frac{(\%A 1,3) (\%A 2) (\%A 1,3)}{10.000}$$

$$\%ABA = \frac{(\%A 1,3) (\%B 2) (\%C 1,3).2}{10.000}$$

Üç asitli trigliseridler için;

$$\%ABC = \frac{(\%A 1,3) (\%B 2) (\%C 1,3).2}{10.000}$$

$$\%ACB = \frac{(\%A 1,3) (\%C 2) (\%B 1,3).2}{10.000}$$

$$\%CAB = \frac{(\%A 1,3) (\%A 2) (\%B 1,3).2}{10.000}$$

Bu teorilerden son yazılan bağıntı gerçeğe en çok yaklaşmaktadır.

### 3.1. KROMATOGRAFİNİN ESASI

Bütün kromatografik yöntemlerde maddenin ayrılmasını sağlayan iki faz vardır. Biri hareketsiz stasyoner faz (dururu faz) diğeri de hareket halindeki mobil faz (hareketli faz) dir. Analiz edilecek örnek molekülleri hareketli faz yardımıyla stasyoner faz üzerinde taşıyarak, örnek molekülleri bu iki faz arasında dağılıma uğratarlar.

### 3. KROMATOGRAFI

Kromatografi yöntemi ile, fiziksel ve kimyasal özellikleri birbirine çok yakın bileşiklerden oluşan bir karışımı ayırmak mümkündür.

Kromatografi konusundaki ilk çalışmalar 1822'de organik katyonların kapiler, gözenekli maddelerden geçerken ayrılmalarını inceleyen F.RUNGE tarafından yapılmıştır. 1906 yılında Rus bilgini M.TSWETT adsorban olarak toz  $CaCO_3$  kullanarak bitkisel boyar maddeleri ayırmayı başarmış ve renkli çizgiler elde etmiştir. Adsorbanda oluşan renkli çizgilerden ötürü bu metoda "Chromatography" adı verilmiştir.

1931 yılında KUHN ve LEDERER A ve D<sub>3</sub> vitaminlerini aynı yöntemle birbirinden ayırmışlardır. 1941 yılında MARTİN ve arkadaşları kromatografinin teorik esaslarını kurmuşlardır. 1952'de JAMES ve MARTİN gaz kromatografisini kurarak analitik kimyada yeni çığır açmışlardır.

#### 3.1. KROMATOGRAFINİN ESASI

Bütün kromatografik yöntemlerde maddenin ayrılmasını sağlayan iki faz vardır. Biri hareketsiz stasyoner faz (durucu faz) diğeri de hareket halindeki mobil faz (hareketli faz) dır. Analizedilecek örnek molekülleri hareketli faz yardımıyla stasyoner faz üzerinde taşınır. Örnek molekülleri bu iki faz arasında dağılıma uğrarlar.

$$K = \frac{n_s}{n_m} = \text{Dağılma katsayısı.}$$

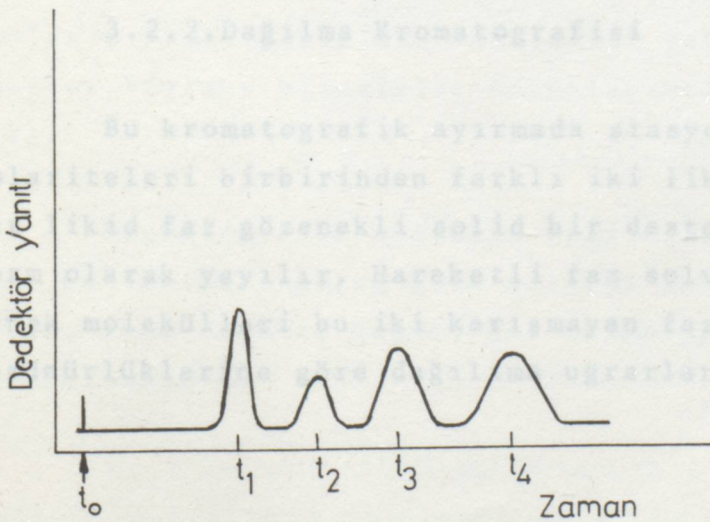
$n_s$  = X komponentinin durucu fazdaki mol sayısı

$n_m$  = X komponentinin hareketli fazdaki mol sayısı.

### 1. Adsorpsiyon kromatografisi

Örnek molekülleri iki faz arasında binlerce kez tekrarlanan sorption-desorption sonucu birbirlerinden ayrılırlar. Herbir molekül stasyoner fazda  $t_s$  zamanı, hareketli fazda  $t_m$  zamanı süresince alıkonur. Moleküller sadece hareketli fazda alıkondduğu süre içinde yol alırlar. K (dağılma katsayısı)'nın büyük olması, yani stasyoner faza ilginin fazla olması halinde molekülün sürüklenmesi için geçen zaman uzun olur (8).

İşlem kolonda yapılıyorsa, kolon sonuna bir dedektör koyarak her komponentin kolondan çıkışına tekabül eden pikler elde edilir.



Şekil 2: Dört komponentten oluşan karışımın kromatogramı.

### 3.2. KROMATOĞRAFİNİN SINIFLANDIRILMASI

Kromatografik metodlar, durucu faz ile hareketli faz arasındaki ayırmaya neden olan çeşitli faktörlere göre 4 grupta toplanabilir.

1. Adsorpsiyon kromatografisi
2. Dağılma kromatografisi
3. İyon değiştirici kromatografi
4. Sterik seçicilik kromatografisi.

#### 3.2.1. Adsorpsiyon Kromatografisi

Bu yöntemde stasyonel faz olarak kullanılan solid adsorban genellikle silikagel, alüminyumoksit gibi polar maddeler veya yüzeyi polar olmayan odun kömürüdür. Adsorban kolonda paketlenir, plaka üzerine yayılır veya gözenekli bir kağıda impregne edilebilir (9). Ayrılma adsorbana olan ilgiye dayanır. Adsorbana ilgisi en fazla olan madde daha az yol alır.

#### 3.2.2. Dağılma Kromatografisi

Bu kromatografik ayırmada stasyonel ve hareketli faz polariteleri birbirinden farklı iki likiddir. Ancak stasyonel likid faz gözenekli solid bir destek maddesi üzerine uniform olarak yayılır. Hareketli faz solvent karışımı olabilir. Örnek molekülleri bu iki karışmayan faz arasında relatif çözünürlüklerine göre dağılıma uğrarlar (10).

### 3.2.3. İyon Değişirici Kromatografi (IN LAYER CHRO.)

Çözeltideki iyonların stasyoner faz üzerindeki zıt yüklü iyonlara olan ilgisine dayanır. Stasyoner faz fonksiyonel gruplara sahip, gözenekli bir soliddir (genellikle reçine kullanılır). Hareketli faz ise analiz edilecek madde ile aynı yüke sahip tamponlanmış bir çözeltidir (10). Stasyoner faz üzerindeki iyonlar için örnek molekülleri ve hareketli fazdaki karşı iyonlar arasındaki değişme, kromatografik ayrılmayı belirler.

İnce tabaka kromatografisinde stasyoner faz tabakası

### 3.2.4. Sterik Seçicilik Kromatografisi (SİLİCİ VEYA SOLVENT KARIŞIMIDIR.)

Ayırma genellikle kolonda yapılır. Hareketli faz ayrılacak bileşikleri tamamen çözmelidir. Stasyoner faz ise kimyasal olarak inert, adsorplama yapmayan, gözenekli polimer maddelerdir. Hareketli faz, stasyoner fazın gözeneklerini doldurur. Örnek kolona verildiği zaman stasyoner fazın gözeneklerinden büyük olan moleküller kolonu hemen terk ederler. Gözenek büyüklüğünde ve daha küçük olan moleküller gözeneklerin içine girer ve burada tutulurlar. Gözeneklerin hemen girişinde tutulanlar daha sonra kolonu terk ederler. Böylece bileşikler büyüklüklerine göre ayrılırlar (11).

Kromatografik metodlar esas olarak analitik amaçlar için kullanılır. Amaca göre çalışma tekniği de değişir. Kolon, ince tabaka, kağıt, gaz kromatografisi gibi metodlar kullanılabilir.

İnce tabaka kromatografisinde stasyoner fazın homogen ve aynı kalınlıkta uygulanması için plakalar kullanılır.

### 3.3. İNCE TABAKA KROMATOGRAFİSİ (THIN LAYER CHRO.)

İnce tabaka kromatografisinin gelişimi 1950'li yıllarda başlar. İlk çalışmalar N.A. İZMAİLOV ve M.S. SCHRAIBER tarafından yapılmıştır. J.E. MEINHARD ve N.F. HALL nişasta ilavesi ile adsorbanın sabitleşmesini sağlamışlardır. J.G. KIRCHNER ve arkadaşları bu metodu dahada geliştirmiş ve terpenleri ayırmışlardır. E. STAHL homogen plakalar elde etmek için uygun bir alet geliştirmiştir.

İnce tabaka kromatografisinde stasyoner faz cam plakaya kaplanmış bir adsorban, hareketli faz ise bir solvent veya solvent karışımıdır.

Analiz edilecek madde plakaya uygulandıktan sonra yürütücü solvent yardımıyla herbir komponent plaka üzerinde farklı hızda yol alır (12). Bu nedenle ince tabakada her maddenin bir  $R_f$  değerinden söz edilir.

$$R_f = \frac{\text{Maddenin başlangıç noktasına uzaklığı}}{\text{Yürütücü solventin başlangıç noktasına uzaklığı}}$$

$R_f$  daima  $0 \leq R_f \leq 1$  değerindedir. Aynı koşullar altında kromatografisi yapılan bir madde için karakteristik bir değerdir.

#### 3.3.1. Adsorban (Stasyoner faz).

İnce tabaka kromatografisinde adsorbanların homogen ve aynı kalınlıkta uygulanmasıyla hazırlanan cam plakalar kullanılır.

Çoğu ince tabaka kromatografisi adsorbanlarının tane büyüklüğü 5-50 µm arasındadır. Adsorbanın tane büyüklüğünü seçerken, teknik işlem ve kromatogramdaki yürüme hızları göz önüne alınmalıdır.

Tablo 1:

İnce Tabakada Kullanılan Adsorbanlar (13)

A n o r g a n i k	O r g a n i k
Silicagel (kieselgele)	Asétillenmiş asetilen tozu
Alüminyumoksit (çeşitli pH'da)	Sellüloz tozu
Kieselgur	Karboksimetil
Magnezyumsilikat	Asetil sellüloz
Magnezyum oksit	Polyamid tozu
Magnezyum hidrogen fosfat	Polyakrilnitriil
Kalsiyum sulfat	Polyetilen
Kalsiyum oksit	Üre
Kalsiyum fosfat	
Kalsiyum silikat	
Kalsiyum hidroksit	
Optikçe aktif silicagel	

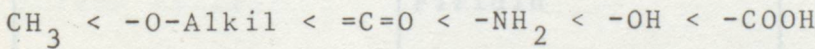
### 3.3.2. Yürütücü Solvent (Hareketli faz).

İyi bir ayırma için, kolon ve kağıt kromatografisinde olduğu gibi solvent çok önemlidir. İnce tabaka kromatografisinde daha saf solventler kullanılmalıdır. Solventin özellikle su içermemesi gerekir. Su adsorbanın aktifliğini azaltır.

Kromatografide kullanılan solventler sürüklenme etkilerine göre sıraya konulabilir. Solventin polaritesinin artmasıyla sürüklenme gücü artar. Solventin dielektirik sabiti polaritesinin bir ölçüsüdür. Hatta daha iyi ilişki su ile arayüzey gerilimini karşılaştırarak görülür. Bir solventin göç etme hızı onun viskozitesine bağlıdır.

Solvent seçimi yaparken stasyoner faz, hareketli faz ve örnek molekülleri arasındaki ilişki göz önüne alınmalıdır.

Analiz maddesinin adsorpsiyon ilgisi içerdiği gruplara göre değişir. Adsorbana olan ilgi aşağıdaki sıraya göre değişir (13).



Ayırma tek bir solvent ile olmazsa solvent karışımı kullanılır. Bu karışım polar bir solvent ile elue etkisi fazla bir solventin karışımı şeklinde olmalıdır.

Tablo 2:  
Solventlerin Eluotrop Etkilerine Göre Sıralandırılması

W.Trappe	H.H.Strain	H.S.Knight ve S.Groennings
Hafif petrol	Hafif petrol (30 <sup>o</sup> -50 <sup>o</sup> C)	Heptan
Çiklo heksan	Hafif petrol (50 <sup>o</sup> -70 <sup>o</sup> C)	Diisobutilen
Karbontetraklorür	Hafif petrol (70 <sup>o</sup> -100 <sup>o</sup> C)	Benzol
Trikloretilen	Karbontetraklorür	İsopropilklorür
Toluol	Çiklo heksan	İsopropileter
Benzol	Karbonsülfür	Dietileter
Diklormetan	Dietileter(susuz)	Etilasetat
Dietileter	Benzol	Etilalkol
Etilasetat	Toluol	Su
Aseton	Organik asit ester esterleri	Aseton
n.propanol	1,2 diklor etan	Metanol
Etanol	Alkoller	
Metanol	su	
	Piridin	
	Organik asitler	

Solventlerin elue etkisi yukarıdan aşağıya doğru artar (13).

### 3.4. İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİNİN YAĞLARA UYGULANMASI

İlk olarak 1960'da H.K. MANGOLD ve D.C. MALİNS yağ analizinde ince tabaka kromatografisini kullanmışlardır. İnce tabakada kolon ve kağıt kromatografisinden elde edilen tecrübelerden yararlanılmıştır.

Yağları ayırmada adsorban olarak silicagel, kieselgur, gibs ve nadiren alüminyumoksit kullanılmıştır. Sabitleştirici olarak silicagel'e ilave edilen gibs miktarının yağlar üzerine etkisi N.PELİCK tarafından incelenmiş ve artan gibs miktarının ayrılan maddenin  $R_f$  değerini artırdığı görülmüştür. Ayrıca yağın yapısına göre adsorbana gümüş nitrat borat veya arsenit eklenebilir (14). Hidroksi yağ asitleri ve esterleri borat ve arsenit kompleksi yapma yatkınlığı gösterirler. Bu nedenle bu maddeler borat veya arsenitli adsorbanlardan ayrılırlar. Gümüşnitratlı plakalarda metil esterleri, kolesterin esterleri, wax esterleri ve trigliseridler ayrılabilir. Gümüşnitrat /silicagel plakalarda doymamış yağ asidi içeren yağlardaki çifte bağ gümüş iyonu ile kompleks bileşikler oluşturarak ayrılırlar. Meydana gelen bileşikler çözücülerle elue edilince tekrar bozulurlar(15). Ayrılmada çifte bağın durumu esastır.

Yağların ayrılması için kullanılacak yürütücü solvent yağın polaritesine göre seçilir. Genellikle petrol eteri, di- etileter, benzol kullanılır. Kuvvetli polar yağlarda alkol ve su içeren solventler tercih edilir. Eğer yağda serbest yağ asidi varsa az miktarda sirke asidi ilavesi yararlı olur.

Tablo 3:

Yağların Ayrılmasında Kullanılan Solvent Karışımları

Yürütücü solvent	Oranı	Literatür
Petrol eteri (40°-60°C) / dietileter/asitik asit	80/20/1	16,17
Benzen/Petrol eteri	70/30	18
Benzen/dietil eter	80/20	19
Petrol eteri(60°-70°C) dietileter		20

Yağın yapısına göre adsorban ve yürütücü solvent seçildikten sonra, ayırma yapılır ve kromatogramlar elde edilir. Kromatogramda ayrılan maddelerin belirgin hale getirilmesi için çeşitli metodlar vardır. Bunlar iyot buharına tutma, süfat asidi ile kömürleştirme gibi yöntemler olduğu gibi kalsiyumdikromatin derişik süfat asidindeki çözeltisi, Rhodamin B, Rhodamin 6G, fosfomolibdat asidi, bromtimol mavisi, 2'7' diklorfluorescein gibi reaktiflerle belirgin hale getirme yöntemleri olabilir (14).

### 3.4.1 Yağların İnce Tabakada Kantitatif Olarak Belirlenmesi

Yağlar ince tabakada bileşenlerine ayrılıp belirgin hale getirildikten sonra, kantitatif tayinler doğrudan plakada: fotodensitometrik olarak (21,22,23,24) veya ekstrakte edildikten sonra yapılır.

O.S. PRİVETT mono, di ve trigliseridleri ayırdıktan sonra sulfat asidi ile kömürleştirerek, doğrudan plakada fotodensitometrik olarak tayin etmiştir. Bu sırada doymuş bileşiklerin düşük değerler aldığını ve onun için bir düzeltme faktörünün gerektiğini belirtmiştir. Meydana gelen karbon bileşiklerinin miktarı, bileşenlerin uçuculuk ve oksidasyona yatkınlığına bağlıdır. Doymamış bileşikler, doymuş bileşiklerden daha kolay oksitlenirler. Doymuş bileşikleri oksitlemek için temperatür yükseltilir, bu kez de bileşikler buharlaşır; kaybolurlar.

Ekstraksiyon yönteminde ayrılan herbir yağ fraksiyonu plakadan kazınır. Ekstrakte edilir, çözücü uçurulur. Bakiye gravimetrik veya uygun bir reaktif ilavesiyle kolorimetrik olarak tayin edilir.

İnce tabaka ve gaz kromatografisi kombinasyonu trigliseridlerin strüktür tayininde ve fosfolipidlerin belirlenmesinde uygun bir yöntemdir.

Ayrıca ince tabaka, enzimatik parçalanma ve gaz kromatografisi kombinasyonu da gliserid ve fosfolipidler için geçerli yöntemdir.

### 3.4.2. Trigliseridlerin Kantitatif Tayini

Gliserid karışımlarını ayırma teknikleri kristalizasyon kromatografi, kolonda ve ince tabakada adsorpsiyon kromatografi, kolonda ince tabakada ve kağıtta likid-likid dağılma kromatografi ve gaz kromatografisidir (6).

Bu çalışmada adsorpsiyon yoluyla ince tabakada trigliseridlerin ayrılması sağlandı. İnce tabakada gümüşnitrat/silicagel adsorban olarak kullanıldı.

Olefinik bileşikler gümüş iyonları ile güçlü  $\pi$ -kompleksleri oluştururlar. Tamamen doymuş trigliseridler plakada daha hızlı yol alırlar. Örneğin dioleostearat ve linoleodistearat karışımını bu plakalarda ayırmak olasıdır. Bir linoleik zinciri iki oleik zincirinden daha güçlü  $\pi$ -kompleksi oluşturur. Aynı şekilde bir linolenik zinciri iki linoleik zincirinden daha güçlü kompleks oluşturur.

Trigliseridlerin benzen/eter karışımlarındaki ayrılma sırası GUNSTONE ve PADLEY tarafından gösterilmiştir. Linolenik, linoleik, oleik ve doymuş yağ asitleri sırasıyla 3,2,1,0 olarak gösterilirse ince tabakada aşağıdaki gibi ayrılır (25).

Plakanın altı 333 332 331 330 322 321 320 311 222  
310 221 300 220 211 210 111 200 110 100 000 plakanın  
tepesi.

H.P. KAUFMANN tarafından geliştirilen ters fazlı kromatografi ve B. de VRIES'in geliştirdiği gümüşnitrat kromatografisi trigliseritlerin ayrılmasında kullanılan iki önemli metoddur(25,26,27,28).

Trigliseridler ters fazlı kromatografide karbon ve çifte bağ sayısına göre, gümüşnitrat kromatografisinde ise çifte bağın sayısına ve durumuna bağlı olarak ayrılırlar. Her iki çalışma şeklinde de birbirinden ayrılmayan birtakım kritik çiftler vardır. Ters fazlı kromatografide aynı sayıda çifte bağ ve karbon içeren trigliseridler, gümüşnitrat kromatografisinde ise çifte yağ sayıları aynı olan trigliseridler kritik çiftleri oluştururlar. H.P. KAUFMANN ve WESSELS bu iki medodu kombine ederek ayırma işlemini başarmışlardır.

Gümüşnitrat kromatografisinde plakalarda oldukça fazla madde ayrılır. Ayrılan gliseridler saf olduğundan analiz kolaylaşır.

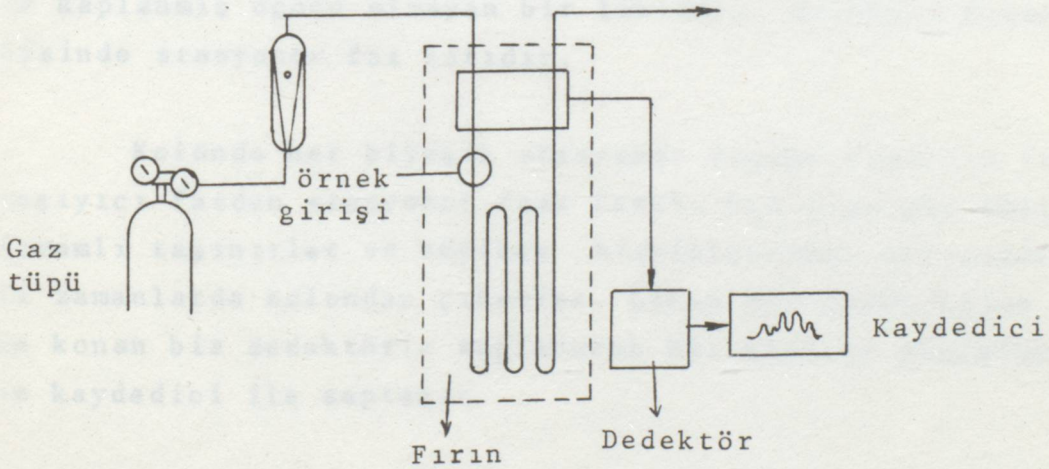
Plakalardan elue edilen trigliseridlerdeki gliserin priyodat asidi fazlası ile sabunlaştırılır. Sodyumarsenit çözeltisi ile geri titre etmek suretiyle tayin edilir.

Benzer bir metodda periyodat oksidasyonundan sonra kromotrop asidi ile oluşan rengin kolorimetrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanır (29). Çok hassas bir yöntemdir. Az miktardaki madde ile de renk verir. Diğer bir yöntem hidroksamasidi ilavesiyle kolorimetrik tayindir. Herbir fraksiyonun yağ asidi miktarı gaz kromatografisi ile tayin edilebilir.

### 3.5 . GAZ KROMATOĞRAFİSİ

Gaz kromatografisinde stasyoner solid veya likid, mobil faz ise gazdır. Stasyoner fazdan gaz akımının geçmesiyle her komponent farklı oranda yol alır.

Bozunmadan gaz halinde geçen sıvı ve katı maddelere uygulanır.



Şekil 3: Gaz kromatografisinin şeması.

Gaz kromatografisinde hareketli fazı oluşturan taşıyıcı gaz genellikle basınç altında bir silindirden sağlanır. Taşıyıcı gaz olarak hidrojen, helyum, argon, azot ve karbon-dioksit kullanılır. Akış hızını ayarlamak için basınç regülatörü ve akımmetreden yararlanılır.

Gaz veya likid örnek, örnek giriş kısmından en az hacimde (1-10 µl) enjekte edilir. Likid örneklerin buharlaşmasını sağlamak için giriş kısmı ısıtılmıştır.

Enjeksiyon bölgesinin temperaturünü örnek komponentlerinin kaynama noktasını geçmesi gerekir. Buharlaşan örnek taşıyıcı gazla karışarak kolona girer. Stasyoner fazla doldurulan kolonun sıcaklığı sabit veya programlı bir şekilde artabilir.

Gaz-likid kromatografisinde stasyoner faz belli tane büyüklüğünde, genellikle gözenekli bir destek maddesi üzerine kaplanmış uçucu olmayan bir likiddir. Gaz-katı kromatografisinde stasyoner faz katıdır.

Kolonda her bileşik stasyoner fazdan taşıyıcı faza ve taşıyıcı fazdan stasyoner faza farklı hızlarda geçerek devamlı taşınırlar ve böylece birbirlerinden ayrılarak farklı zamanlarda kolondan çıkarlar. Çıkan her madde kolon sonuna konan bir dedektörle saptanarak bir sinyale dönüştürülür ve kaydedici ile saptanır.

Dedektör sinyalinde zamanla yer alan değişimlerin kaydedicide çizilmesi ile elde edilen piklerden oluşan grafiklere kromatogram denir. Karışımdaki maddelerin kolondan çıkışı için geçen süre, aynı çalışma koşullarındaki bilinen maddelerin çıkış süreleri ile karşılaştırılarak belirlenir (30.31).

### 3.5.1. Gaz Kromatografisinin Yağlara Uygulanması

Gaz kromatografisi ile yağ asitlerinin tayini oldukça kolaylaşmıştır. Düşük karbon sayılı (6 karbona kadar) yağ asitleri doğrudan tayin edilebilirler. Yüksek karbonlu ( $C_8$ '-den  $C_{30}$ 'a kadar) yağ asitleri ise metil esterleri haline çevrilip analiz edilirler.

Gaz kromatografisi ile trigliseridlerin ayrılması için çalışmalar vardır. Ayrılma moleküldeki karbon sayısına bağlı olarak yürür. Aynı sayıda karbon atomu içeren trigliseridler ayrılmazlar. Gliseridlerin uçuculukları az olduğundan yüksek kolon sıcaklıklarına gerek vardır. Ancak kolay bozulurlar. Bu yüzden trigliseridlerin gaz kromatografisi ile ayrılması güçtür.

Kromatografik analize geçmeden önce yağın ana komponentlerini ya da komponentlerinden ayırmak gereklidir. Bunun için numuneler uygun çözücüde çözülür ve kolona nötral alüminyum oksit üzerinden geçirilir.

Nötral alüminyumoksit 3 saat  $260^{\circ}C$  de aktive edilir, soğutulur. Aktif alüminyum oksitten 20 g tartılır. Cam kolon içine hava kalmasıyla birlikte doldurulur. Petrol eteri ( $40^{\circ}-60^{\circ}C$ ) ile ıslanılır. 5 g yağ 10 ml petrol eterinde çözülür. Petrol eterinde çözünmüş numune alüminyumoksit ile doldurulmuş kolona yukarıdan dökülür. Hız 250 ml'lik bir cam balonda toplarır. Kolon 200 ml petrol eteri ile yıkanır. Balonda trigliserid karışımına petrol eterindeki çözültüsü toplanır. Çözelti yakında uçurulur. Böylece saf trigliserid karışımı elde edilir.

## 1. GAZ KROMATOĞRAFİSİ İLE YAĞ ASİTLERİNİN TAYİNİ

Trigliseridlerdeki yağ asitleri gaz kromatografisi ile tayin edilmiştir. Numune daha uçucu ve daha az polar türavlerine dönüştürülür (32). Trigliseridlerdeki yağ asitleri ise DENEYSEL ÇALIŞMA VE BULGULAR (33).

### DENEYSEL ÇALIŞMA VE BULGULAR

Celtis tournefortii Lam. ağacının meyvalarından elde edilen yağların trigliseridlerinin yağ asitleri gaz kromatografisi yöntemiyle, trigliseridleride ince tabaka kromatografisi ile analiz edilmiştir.

Meyvalar kabuklu olarak ve ayrıca kabuksuz olarak havanda ezildi. Soxlet cihazında kloroformla ekstrakte edildi. Kloroform Rotary evaporatörde uzaklaştırıldı.

Kromatografik analize geçmeden önce yağın ana komponentlerini yan komponentlerinden ayırmak gereklidir. Bunun için numuneler uygun çözücüde çözülür ve kolonda nötral alüminyum oksit üzerinden geçirilir.

Nötral alüminyumoksit 3 saat 260 °C de aktive edilir, soğutulur. Aktif alüminyum oksitten 20 g tartılır. Cam kolon içine hava kalmıyacak şekilde doldurulur. Petrol eteri (40°-60°C) ile ıslatılır, 5 g yağ 10 ml petrol eterinde çözülür. Petrol eterinde çözünmüş numune alüminyumoksit ile doldurulmuş kolona yukarıdan dökülür. Eluat 250 ml'lik bir cam balonda toplanır. Kolon 200 ml petrol eteri ile yıkanır. Balonda trigliserid karışımının petrol eterindeki çözeltisi toplanır. Çözücü vakumda uçurulur. Böylece saf trigliserid karışımı elde edilir.

Çözücü vakumda uçurulur. Geriye yağ asitlerinin metil esterleri kalır. Bu işlemler her numune ile tekrarlanır.

## 1. GAZ KROMATOĞRAFİSİ İLE YAĞ ASİTLERİNİN TAYİNİ

Trigliseridlerdeki yağ asitleri gaz kromatografisi ile tayin edilmiştir. Numune daha uçucu ve daha az polar türevlerine dönüştürülür (32). Triglisericidlerdeki yağ asitleri ise metil esterlerine dönüştürülür (33).

Yağ asidi metil esterlerinin elde edilmesi için bortriflorür metodundan yararlanılmıştır.

### 1.1. BORTRİFLORÜR METODU İLE YAĞ ASİDİ METİLESTERLERİNİN HAZIRLANMASI

#### 1.1.1. Deneyin Yapılışı:

50 ml'lik bir balona saf trigliserid karışımından 200-250 mg arasında tartım alınır. Üzerine 4 ml 0.5 N NaOH çözeltisi ve kaynama taşı konur. Balon geri soğutucuya takılır ve beş dakika yağ su banyosunda sabunlaştırılır. Sabunlaşmadan sonra, geri soğutucunun üstünden 5 ml bortriflorür çözeltisi pipet yardımıyla ilave edilir. İki dakika kaynatılır. Kaynağan çözeltiye aynı şekilde 2-5 ml heptan ilave edilir (Heptan miktarının reaksiyona etkisi yoktur). Kısa bir süre kaynatmaya devam edilir. Balon su banyosundan indirilir, soğuduktan sonra geri soğutucu çıkarılır. Balona 40 ml doymuş sodyumklorür çözeltisi ilave edilir. Metil esterleri heptan fazına geçer. Heptan fazını ayırmak için balon içeriği bir ayırma hunisine aktarılır. Su fazı iki kere petrol eteri ( $k_n=40^{\circ}-60^{\circ}\text{C}$ ) ile yıkanır. Toplanan ekstraktlar asidik reaksiyon vermeyinceye kadar (metil kırmızısı ile kontrol edilir), su ile yıkanır. Susuz sodyumsülfat ilave edilir; bir-iki saat bekletilir ve çözücü vakumda uçurulur. Geriye yağ asitlerinin metil esterleri kalır. Bu işlem her numune ile tekrarlanır.

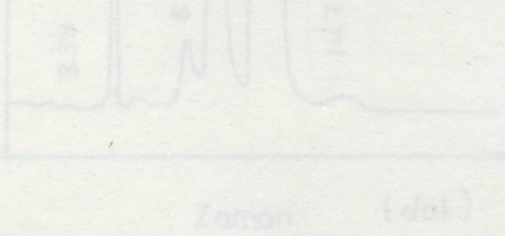
## 1.2. GAZ KROMATOĞRAFİSİ İLE ÇALIŞMA KOŞULLARI

Elde edilen yağ asidi metil esterlerinin heksandaki %5'lik çözeltisi hazırlanır. Numuneler mikro şırınga ile gaz kromatografi aletine enjekte edilir.

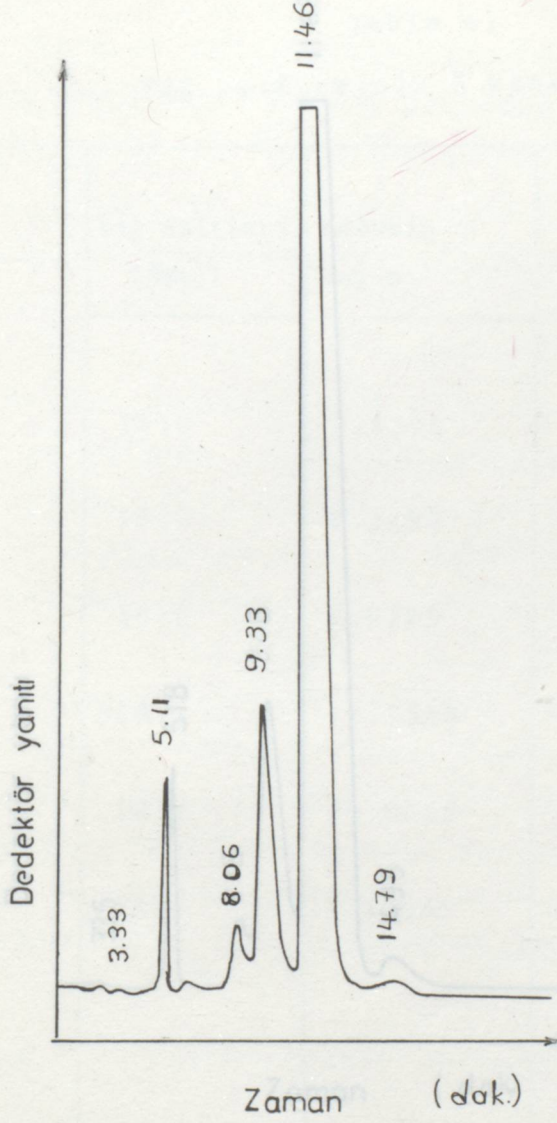
Gaz kromatografisi aleti olarak Varian 2100 modeli kullanılmıştır.

Aletin çalışma şartları:

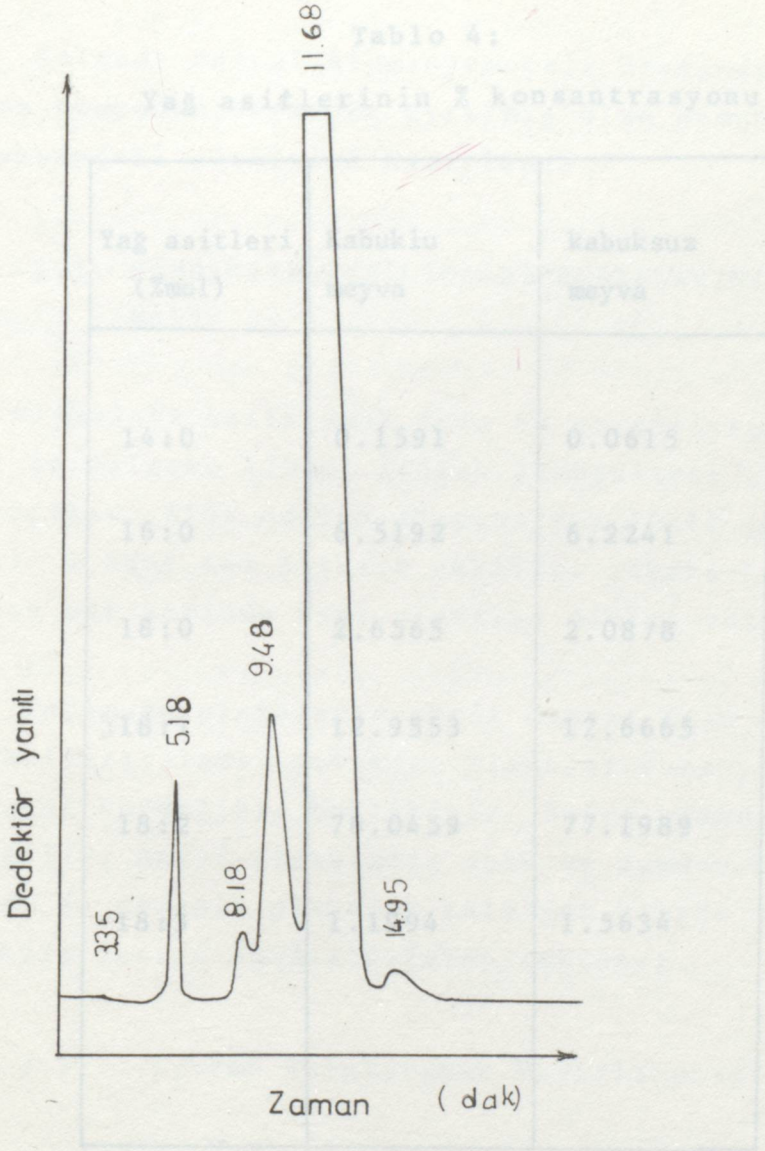
- Kolonlar : Paslanmaz çelikten yapılmış ve %15 DEGS ile doldurulmuştur.
- Sıcaklıklar : Kolon sıcaklığı 225 °C  
Enjekte sıcaklığı 240 °C  
Dedektör sıcaklığı 250 °C
- Taşıyıcı gaz : N<sub>2</sub> (50 ml/dak)  
H<sub>2</sub> (40 ml/dak)  
hava (75 ml/dak)
- Dedektör : Alev iyonizasyon dedektörü



Şekil 4: Kabuklu kayvadana elde edilen trigliseridlerin yağ asitlerinin gaz kromatogramları.



Şekil 4: Kabuklu meyvedan elde edilen trigliseridlerin yağ asitlerinin gaz kromatogramları.



Şekil 5: Kabuksuz meyvadan (çekirdek içi) elde edilen trigliseridlerin yağ asitlerinin gaz kromatogramları.

## 2. İNCE TABAKA KROMATOGRAFİSİ İLE TRİGLİSERİD- LERİN AYRILMASI VE KANTİTATİF TAYİNİ

Tablo 4:

Yağ asitlerinin % konsantrasyonu

Yağ asitleri (%mol)	Kabuklu meyva	kabuksuz meyva
14:0	0.1591	0.0615
16:0	6.5192	6.2241
18:0	2.6565	2.0878
18:1	12.9553	12.6665
18:2	76.0459	77.1989
18:3	1.1994	1.5634

### 2.1.1. Ayırma Kütularının Hazırlanması

Bu deneyde yürütülen solvent karışımı olarak benzen /diyetileter=90/10 kullanıldı. Solvent karışımı cam kutulara konur. Cam kutunun kapağı kapatılarak solvent karışımının buharıyla odanın doyması sağlanır.

### 2.1.2. Analiz Maddesinin Uygulanması

210' luk heksandeki trigliserid çözeltisi plakasının altından 2 cm. yukarıda kalca boru ile çizgi şeklinde uygulanır. Çizgi kalınlığının 0.5 cm'i geçmemesine dikkat edilir.

## 2. İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ İLE TRİGLİSERİD- LERİN AYRILMASI VE KANTİTATİF TAYİNİ

Kolonda nötral Alüminyumoksit üzerinden geçirilerek yan komponentlerinden ayrılmış olan numunelerin %10'luk heksandaki çözeltisi hazırlanır. \*

Şekil 6'da görüldüğü gibi birbirlerinden ayrılan

### 2.1. GÜMÜŞNİTRAT-SİLİCAGEL PLAKALARININ HAZIRLAN- MASI

Plakalara hazırlamak için 60 gr silicagel 60 G (Merc) tartılarak 120 ml %6'lık gümüşnitrat çözeltisi ile karıştırılır. Elde edilen süspansiyon 10x40 cm. boyutlarındaki 2 adet cam plakaya çekilir. Tabaka kalınlığının plakanın her yerinde aynı olmasına dikkat edilmelidir.

Önce trigliseridler sabunlaştırılarak yağ asidi ve

Kaplanan plakaların aktif olması için suyun ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Plakalar önce yatay olarak 2 1/2 saat karanlıkta bekletilir. Sonra etüvde 2 saat aktive edilir. Aktif plakaların ışık ve nemden korunması gerekir. Bu nedenle plakalar kalsiyum klorür veya fösforpentaoksit içeren desikatörlerde saklanır.

#### 2.1.1. Ayırma Kutularının Hazırlanması:

Bu deneyde yürütücü solvent karışımı olarak benzen /dieter =90/10 kullanıldı. Solvent karışımı cam kutulara konur. Cam kutunun kapağı kapatılarak solvent karışımının buharıyla odanın doyması sağlanır.

#### 2.1.2. Analiz Maddesinin Uygulanması:

%10'luk heksandaki trigliserid çözeltisi plakanın altından 2 cm. yukarıda kılcal boru ile çizgi şeklinde uygulanır. Çizgi kalınlığının 0.5 cm'i geçmemesine dikkat edilir.

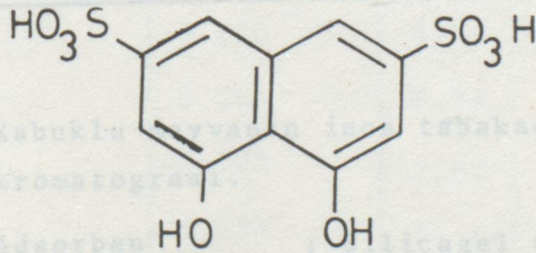
Plakalar kutulara yerleştirilir. Yürütücü solvent plakanın üstünden 3 cm mesafeye gelince plakalar kutudan çıkarılır. Solvent uçurulur. Plakalara 2' 7'- diklorfluorescein'in %0.1'lik sudaki çözeltisi püskürtülerek fraksiyonlar belirginleştirilir. Plaka U.V. ışıkta incelenir.

Şekil 6'da görüldüğü gibi birbirlerinden ayrılan fraksiyonlar plakalarda dikkatle kazınır. Ayrı ayrı dieterlerde çözülür ve içinde 4 g silicagel 60 (70-230mesh) bulunan kolonlardan elue edilir. Eluatlar 100'lük balonjojelerde toplanır.

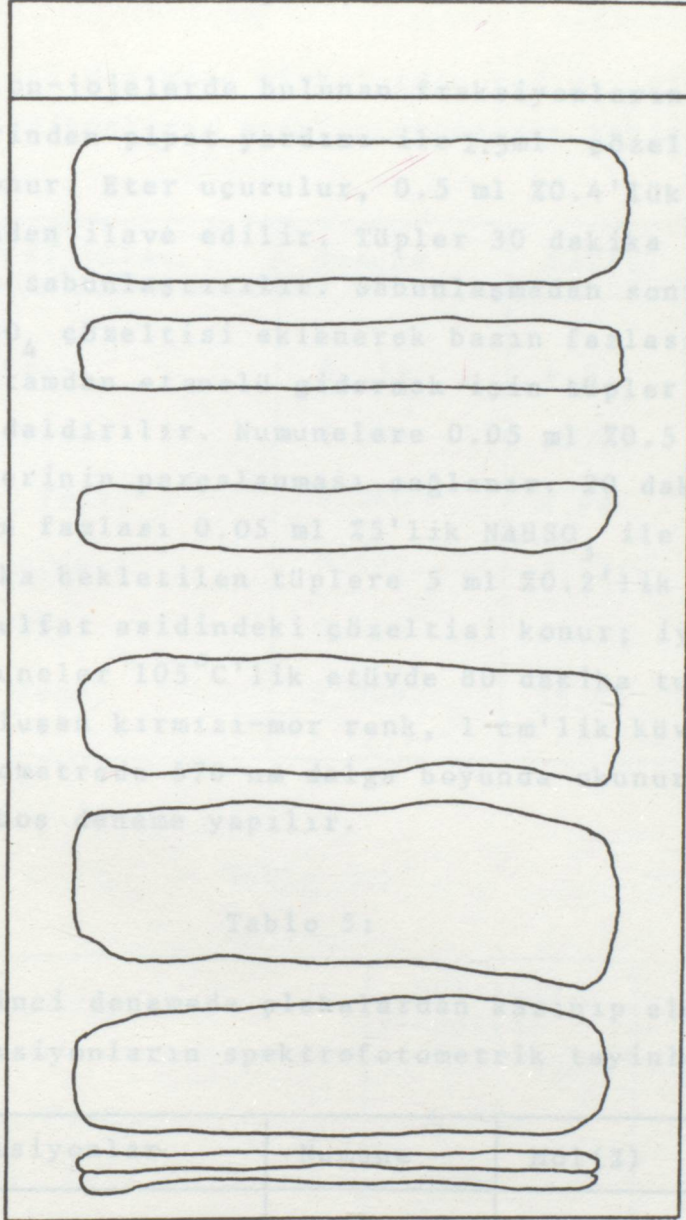
## 2.2. TRİGLİSERİD FRAKSİYONLARININ KANTİTATİF TAYİNİ

Önce trigliseridler sabunlaştırılarak yağ asidi ve gliserine ayrıştırılır. Gliserin sodyumperiyodat ile formaldehite dönüştürülür. Chromotrop asidi ilavesinde oluşan rengin absorpsiyonu spektrofotometre (Shimadzu Double-Beam Spectrophotometer)(UV-150-02) ile ölçülür.

Chromotrop asidi, naftalin βsulfon asidinden elde edilir.



Chromotrop asidi



Şekil 6: Kabuklu meyvanın ince tabakadaki kromatogramı.

I. Frak. 0.130 4.36  
II. Frak. 0.261 8.92  
III. Frak. 0.392 13.52  
IV. Frak. 0.523 18.12  
V. Frak. 0.654 22.72  
VI. Frak. 0.785 27.32

Adsorban : Silicagel 60 G/AgNO<sub>3</sub>  
Yürütücü solvent: Benzen/dieter=90/10.  
Zaman : 3 saat 15 dakika.

### 2.2.1. Deneyin Yapılışı

Balon-jojelerde bulunan fraksiyonların eterdeki çözeltilerinden pipet yardımı ile 2.5ml çözelti alınır ve tüplere konur. Eter uçurulur, 0.5 ml %0.4'lük alkollü KOH çözeltisinden ilave edilir. Tüpler 30 dakika 70°C'lik su banyosunda sabunlaştırılır. Sabunlaşmadan sonra 0.5 ml %1'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi eklenerek bazın fazlası nötralize edilir. Ortamdan etanolü gidermek için tüpler kaynayan su banyosuna daldırılır. Numunelere 0.05 ml %0.5 NaIO<sub>4</sub> ilavesiyle gliserinin parçalanması sağlanır. 20 dakika sonra periyodatın fazlası 0.05 ml %5'lik NaHSO<sub>3</sub> ile giderilir. 15-20 dakika bekletilen tüplere 5 ml %0.2'lik Chromotrop asidinin sulfat asidindeki çözeltisi konur; iyice karıştırılır. Numuneler 105°C'lik etüvde 80 dakika tutulur ve soğutulur. Oluşan kırmızı-mor renk, 1 cm'lik küvetlerde spektrofotometrede 570 nm dalga boyunda okunur. Aynı şekilde bir de boş deneme yapılır.

Tablo 5:

Birinci denemede plakalardan kazınıp elue edilen fraksiyonların spektrofotometrik tayinleri.

Fraksiyonlar	Numune	Mol(%)
I. Frak.	0.130	4.36
II. Frak.	0.261	8.92
III. Frak.	0.206	7.52
IV. Frak.	0.634	21.689
V. Frak	0.762	25.83
VI. Frak.	0.995	31.66

Tablo 6 :

İkinci denemede plakalardan kazınıp elue edilen fraksiyonların spektrofotometrik tayinleri.

Fraksiyonlar	Numune	Mol(%)
I. Frak.	0.139	4.33
II. Frak.	0.284	8.739
III. Frak.	0.240	6.88
IV. Frak.	0.691	21.21
V. Frak.	0.823	25.51
VI. Frak.	1.008	33.31

Tablo 7.:

Fraksiyonlar	Ortalama mol(%)
I. Frak.	4.35
II. Frak.	8.83
III. Frak.	7.21
IV. Frak.	21.458
V. Frak.	25.68
VI. Frak.	32.46

Ayrıca Hanus yöntemine göre iyod indisi tayin edildi. İki paralel çalışma ile aşağıdaki sonuçlar bulundu.

I. deneme:

Yağ miktarı (m) = 0.155 g

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sarfiyatı ( $V_1$ ) = 18 ml

Boş denemedeki  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sarfiyatı ( $V_2$ ) = 35.4 ml

0.1N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ın faktörü = 1.01415

$$II = \frac{1.269 (V_2 - V_1) \cdot F}{m} \text{ formülünden}$$

II = 144.47 bulundu.

II. deneme:

Yağ miktarı (m) = 0.1666

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sarfiyatı ( $V_1$ ) = 17.8

II = 135.95

II ort. = 140.21

Dietil eter/petrol eteri (40°-60°C) = 10/90

Heksan/dietil eter = 90/10 ve 80/20

Benzen/Petrol eteri (40°-60°C) = 90/10 ve 80/20

Benzen/dietil eter = 80/20 ve 90/10

En iyi ayrılma benzen/dietil eter (90/10) solvent karışımında sağlandı.

İnce kabaktaki ayrılmada da görüldüğü gibi doymuş yağ asitlerini içeren trigliserid fraksiyonlarının doymamış yağ asidi içeren trigliserid fraksiyonlarından daha düşüktür. Gaz kromatografisi ile trigliseridlerdeki yağ asitleri incelendiğinde y

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Tablo 4 incelendiğinde 14 karbonlu miristin asidinin %0.15, 16 karbonlu palmitin asidinin %6.5, 18 karbonlu stearin asidinin %2.65 oranlarında bulunduğu görülür. Toplam doymuş yağ asidinin oranı %9.33'dür. Doymamış yağ asitlerinin toplamı (olein+linol+linolen) dikkate alınacak olursa bu değerlerin iyod indisine yakın olduğu görülür.

Kabuklu ve kabuksuz meyvalardan elde edilen yağdaki yağ asitleri metil esterlerinin gaz kromatografisindeki sonuçları karşılaştırıldığında önemli bir fark olmadığı görülür.

İnce tabaka kromatografisinde yürütücü solvent olarak değişik karışımlar kullanıldı. Bu solvent karışımları şunlardır.

Dietil eter/petrol eteri(40°-60°C)	=10/90
Heksan/dietil eter	=90/10 ve 80/20
Benzen/Petrol eteri(40°-60°C)	=90/10 ve 80/20
Benzen/dietil eter	=80/20 ve 90/10

En iyi ayrılma benzen/dietil eter (90/10) solvent karışımında sağlandı.

İnce tabakadaki ayrılmada da görüldüğü gibi doymuş yağ asitlerini içeren trigliserid fraksiyonlarının doymamış yağ asidi içeren trigliserid fraksiyonlarından daha düşüktür. Gaz kromatografisi ile trigliseridlerdeki yağ asitleri incelendiğinde yukardaki bulguyu doğrulayan sonuçlar elde edildi.

1. Ihara, S., Tanaka, T., Journal of the American Oil Chemists Society, 35, 1958.  
İyod indisi de doymamışlığın bir ölçüsüdür. Yapılan tayinlerde ortalama iyod indisi 140 bulundu.

2. Brovicz, K., Zialinski, I., Catis L., in P.H. Davis (ed.) Flora of Turkey and the Eastern Taurus and Zagros Region, 7, 1983.  
Ayrıca aynı familyadan olan Celtis Sinensis var. Japonica bitkisi üzerinde yapılan çalışmaların sonucu bizim bulduğumuz değerlere yakındır.

3. Paksoy, S., Türkliye'de Elde Edilen Zeytinyağların Özelliklerinin Bölgelere Göre Değişmesinin İncelenmesi, Yeterlik Çalışması, İstanbul (1976).  
Doymamış yağ asidi oranı yüksek yağların kullanıldığı yerlerde bu bitkiden elde edilen yağdan yararlanılabilir kanısındayız.

4. Paksoy, S., Türkliye'de Elde Edilen Zeytinyağların Özelliklerinin Bölgelere Göre Değişmesinin İncelenmesi, Yeterlik Çalışması, İstanbul (1976).

5. Gunstone, F.D., An Introduction to the Chemistry and Biochemistry of Fatty Acid and Their Glycerides, Suffolk (1967).

6. Welby, T.J., Food Oils and Their Uses, Newyork (1970).

7. Ewing, G. W., Instrumental methods of Chemical Analysis, McGraw-Hill Book Company, Singapore (1955).

8. Bauer, H.B., Christian, G.D., O'reilly, J.E., Instrumental Analysis, London, Sidney, Toronto (1978).

9. Skoog, D.A., West, D.M., Principles of Instrumental Analysis, Printed in Japan (1981).

### KAYNAKLAR

1. Ihara, Ş., Tanaka, T., Journal of the American Oil Chemists' Society, 55, 471 (1977).
2. Browicz, K., Zielinski, I., Cetis L., in P.H. Davis (ed.), flora of Turkey and the East Aegean Islands, 7, 651, Univercity Press, Edinburgh (1982).
3. Ulubelen, A., Genel Organik Kimya, İstanbul Üni. Yayınları, No.2740 (1980).
4. Paksoy, Ş., Türkiye'de Elde Edilen Zeytinyağlarının Bileşiminin Kromatografik Olarak İncelenmesi, Doç. Tezi, İstanbul (1979)
5. Paksoy, Ş., Türkiye'de Elde Edilen Zeytinyağların özelliklerinin Bölgelere Göre Değişmesinin İncelenmesi, Yeterlik Çalışması, İstanbul(1976)
6. Gunstone, F.D., An Introduction to the Chemistry and Blochemistry of Fatty Acid and Their Glycerides, Suffolk(1967)
7. Weiss, T.J., Food Oils and Their Uses, Newyork(1970)
8. Ewing, G. W., Instrumental methods of Chemical Analysis, McGraw-Hill Book Company, Singapore (1985).
9. Bouer, H.H., Christian, G.D., O'reilly, J.E., Instrumental Analysis, London, Sidney, Toronto (1978).
10. Skoog, D.A, West, D.M., Principles of Insturmental Analysis, Printed in Japan (1981).

11. Red. Erdik E, Genel Organik Kimya, A.Ü. Fen Fak. Organik Kimya Araştırma Enstitüsü Yayınları, No.1 Ankara (1978).
12. Stahl, E., Thin Layer Chromatography, London(1980).
13. Fortschrittsbericht, Teil I, Fette-Seifen- Anstrichmittel 72, 811 (1970).
14. Fortschrittsbericht, Teil II, Fette-Seifen-Anstrichmittel 72, 902 (1970).
15. Fortschrittsbericht, Teil III, Fette-Seifen-Anstrichmittel 72, 993 (1970).
16. Patel, R.G., Patel, V.S. Fette-Seifen-Anstrichmittel 87, 7 (1985).
17. Ramanna, V.S., Chandrasekhard, N., Fette-Seifen-Anstrichmittel, 88, 136 (1986).
18. de Vries, V.B, Jurriens, G., Fette-Seifen-Anstrichmittel 65, 725 (1963).
19. T.H. Applewhite, M.J. Diamond, L.A. Goldblatt, J.Amer. Oil Chemists' Soc. 38, 609 (1961).
20. Mangold, H.K., Malins,D.C., J. Amer. Oil Chemists' Soc. 37, 383 (1960).
21. Privett, O.S., Blank, M.L., J. Liped Research, 2, 37 (1961).
22. Privett, O.S., Blank, M.L., Lundberg, W.O., The Journal of The American Oil Chemists' Society, 38, 312 (1960).
23. Adams, G.M., Sallee, T.L., J. Ohromatog. 54, 136 (1971).
24. Chobanov, D., Tarandjiska, R., Chobanova, R. J.Amer.Oil Chem. Soc. 53, 48 (1975).
25. Burns, D.T., Stretton, R.J., Stephern, G.F., Dallas, M.S. J., Chromatog. 44, 399 (1969).
26. Wessels, Von H., Rajagopal, N.S. Fette-Seifen-Anstrichmittel, 71, 543 (1969).

27. Kaufmann, H.P., Wessels, H., Fette-Seifen-Anstrichmittel, 66, 81 (1964).
28. Wessels, H., Fette-Seifen-Anstrichmittel, 75, 478-483 (1973).
29. Bandyopadhyay, C., J. Chromatog. 37, 123 (1968).
30. McMair, H.M., Bonelli, E.J., Basic Gas Chromatography, California (1969).
31. Willard, H.H., Merrit, L.L., Dean, J.A., Settle, F.A., Instrumental Methods of Analysis, Newyork (1980).
32. Kuksis, A., Fette-Seifen-Anstrichmittel, 73, 130 (1971).
33. Kuksis, A., Fette-Seifen-Anstrichmittel, 73, 332 (1971).
34. Litchifield, C., Farquhar, M., Reiser, R., J. Amer. Oil Chem. Soc. 41, 588 (1964).

START 00.00.00.00.

Kabulsuz

3.93  
3.73

## ÖZGEÇMİŞ

1957 yılında Sivas'ta doğdum. İlk ve Orta öğrenimimi İstanbul'da tamamladım. 1983 yılında İ.Ü. Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünü Kimya Mühendisi olarak bitirdim. 1985 yılında Y.Ü. Fen-Ed. Fakültesi Kimya Bölümü, Anorganik Kimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım. Halen bu görevimi sürdürmekteyim. 1985-1986 öğretim döneminde Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümünde yüksek Lisans programına başladım.

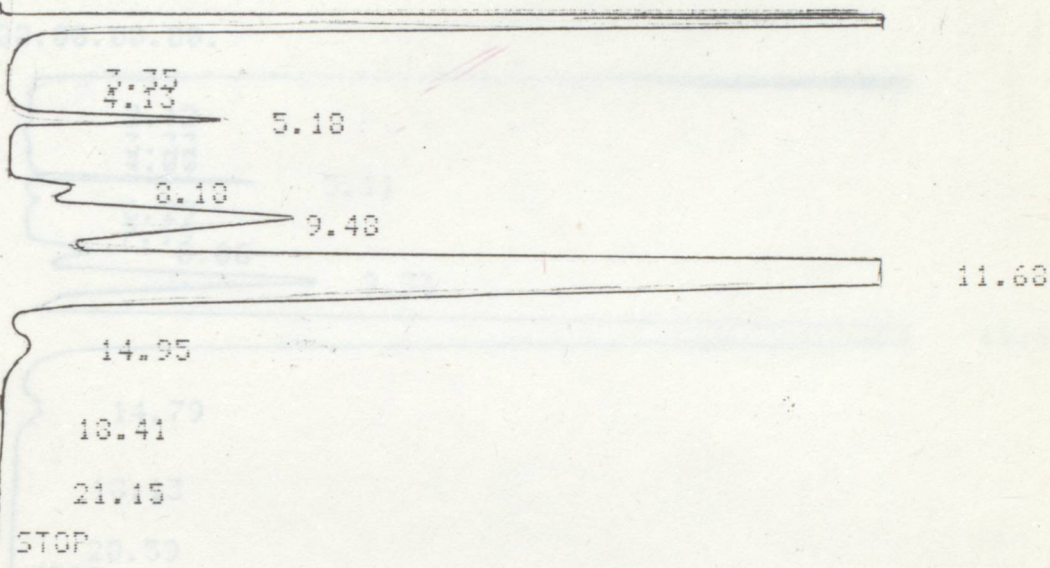
0 RIG  
CHPL #  
FILE #  
REPT #  
METHOD

00  
2  
147  
41

#	NAME	TIME	EDNO	MR	AREA
0		0.23	0.0615		4381
0		4.13	0.0795		4050
0		5.10	0.2241		617373
0		0.13	2.8873		213681
0		9.48	12.6615		1237138
0		11.63	77.1069		798434
0		14.95	1.7614		150185
0		10.41	0.0000		2081
0		21.18	0.0671		7087
	TOTAL		99.9929		10240404

START 00.00.00.00.

Kabuksuz



STOP

C-RID  
 SMP# 00  
 FILE ## 2  
 REPT # 147  
 METHOD 41

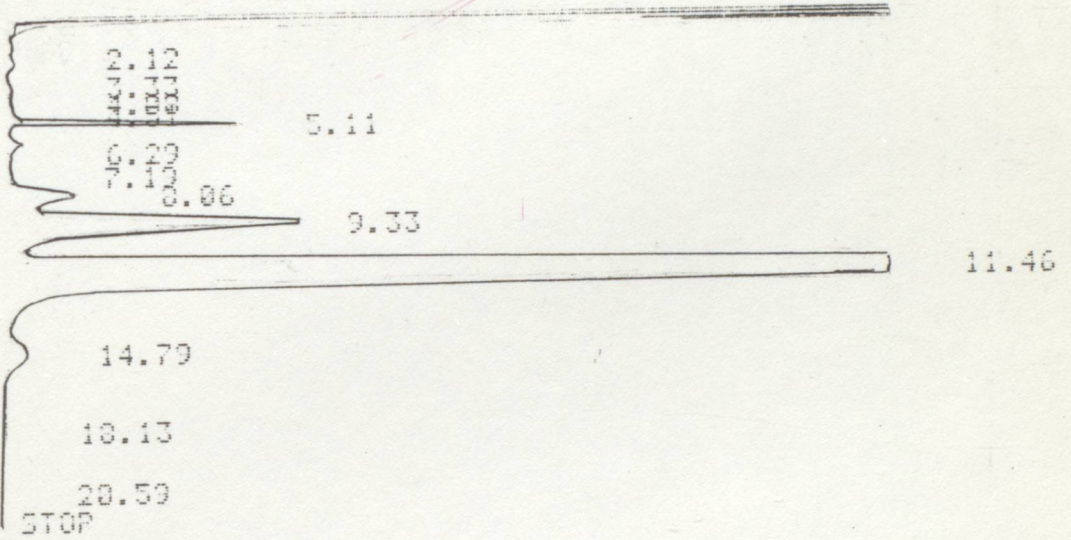
#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		3.35	0.0615		6301
0		4.13	0.0395	V	4050
0		5.18	6.2241	V	637373
0		8.10	2.0078	V	213803
0		9.48	12.6665	V	1297108
0		11.68	77.1989	V	7905404
0		14.95	1.5634	V	160105
0		18.41	0.0886		9081
0		21.15	0.0693		7097
	TOTAL		99.9999		10240404

ATTEN

6

START 00.00.00.00.

Kabul



C-RID  
 SMPLE # 00  
 FILE # 2  
 REPT # 146  
 METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
00		3.33	0.1591		11716
00		4.00	0.1305	V	9616
00		4.51	0.873	V	5382
00		5.11	6.5192	V	488891
00		8.06	2.6565	V	195639
00		9.33	12.9553	V	954856
00		11.46	76.8459	V	5600179
00		14.79	1.1094		88338
00		18.13	0.1284		9462
00		20.59	0.1322		9735
	TOTAL		99.9999		7364200

