

44858

T.C
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ

TARSUS KAYNAKLI SUSAM (*SESAMUM INDICUM L.*)

TOHUM YAĞI ÜZERİNDE

FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Ecz.ÇAĞRI İŞIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof.Dr. SEMRA KURUCU

44858

ANKARA-1995

**Sevgili
Annem'e ve Baba'ma**

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Sesamum indicum L.	3
2.1.1.Bitkinin sistematikteki yeri.....	3
2.1.2.Pedaliaceae familyası.....	3
2.1.3.Sesamum cinsi.....	4
2.1.4.Sesamum indicum L.....	4
2.2.Türkiye 'de susam kültürü.....	6
2.3.Susam tohum yağı üzerinde yapılan çalışmalar.....	8
2.3.1.İlk çalışmalar.....	8
2.3.2.Yağ asitlerinin Gaz Sıvı Kromatografisi ile analizi.....	10
2.3.3.Lignanlar üzerinde çalışmalar.....	12
2.3.3.1.YBSK ile analizler.....	12
2.3.3.2.İzolasyon çalışmaları.....	13
2.3.4.Diğer çalışmalar.....	16
2.4.Susam yağıının fizikokimyasal özellikleri.....	17
2.5.Susam yağıının renk reaksiyonları.....	18
2.5.1. Baudouin testi.....	18
2.5.2. Villavecchia testi.....	19
2.5.3. Soltsien testi.....	19
2.5.4. Behrens testi.....	19
2.5.5. Tocher testi.....	20
2.5.6. Cavalli testi.....	20

2.5.7. Bellier testleri.....	20
2.5.8. Kreis testi.....	20
2.5.9. Guarnieri testi.....	21
2.5.10. Jacobson testi.....	21
2.6.Susam yağıının stabilitesi.....	21
2.7.Susam yağıının besin değeri.....	22
2.8.Susam yağıının kullanımı.....	22
3.MATERYAL VE METOT.....	26
3.1.Materyal.....	26
3.2.Uygulanan yöntemler.....	26
3.2.1.Tohumlar üzerinde anatomik çalışmalar.....	26
3.2.2.Tohumlar üzerinde kimyasal çalışmalar.....	27
3.2.2.1.Tohum yağıının elde edilişi ve miktar tayini çalışmaları.....	27
3.2.2.2.Klasik analizler.....	27
3.2.2.3.İzolasyon çalışmaları ve yapı tayini.....	28
3.2.2.4.Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Sesamolin miktar tayini.....	29
3.2.2.5.Gaz Sıvı Kromatografisi ile yağ asitlerinin analizleri.....	29
4.BULGULAR.....	30
4.1.Tohumlar üzerinde anatomik çalışmalar.....	30
4.2.Miktar tayinleri ve klasik analizler.....	33
4.2.1.Sabit yağıın elde edilişi ve miktar tayinleri.....	33
4.2.1.1.Soxhelet ekstraksiyonu yöntemi.....	33
4.2.1.2.Soğukta perkolasyon yöntemi.....	33
4.2.1.3.Sabunlaşmayan kısım miktar tayini.....	34
4.2.2.Klasik analizler.....	35
4.2.2.1.Asit indisi.....	35
4.2.2.2.Sabunlaşma indisi.....	35

4.2.2.3.İyot indisi.....	36
4.2.2.4.Peroksit indisi.....	37
4.3.İzolasyon ve izole edilen bileşigin yapı tayini bulguları.....	39
4.4.YBSK bulguları.....	48
4.4.1.Standart sesamolin kalibrasyonu.....	48
4.5.Gaz-Sıvı Kromatografisi bulguları.....	51
4.5.1.Yağ asitleri metil esterleri hazırlanışı.....	51
4.5.2.Gaz Sıvı Kromatografisi analizleri.....	52
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	54
6.ÖZET.....	59
7.SUMMARY.....	61
8.KAYNAKLAR.....	63

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçilmesinde, çalışmalarımın yönlendirilmesinde her türlü yardımlarını gördüğüm, tez yöneticim Sayın Hocam *Prof.Dr.Semra KURUCU*'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım esnasında yardımcılarını esirgemeyen, başta Sayın Hocam *Prof.Dr.Mekin TANKER* ve *Nevin TANKER* olmak üzere Farmakognozi Anabilim Dalı ve Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'ının Sayın Öğretim Üyelerine teşekkür ederim.

YBSK analizleri sırasında yardımcılarını gördüğüm Sayın Hocam *Prof. Dr.Maksut COŞKUN'a* teşekkür ederim.

Dr.Osman SONER'e, Uzm.Ecz.Murat KARTAL'a ve bütün araştırma görevlisi arkadaşımı her türlü yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarıma değerli katkılarından dolayı Sayın *Prof.Dr.Sansei NİSHİBE*'ye teşekkürlerimi sunarım.

Ve yaşamımın her döneminde her konuda bana destek olan, güç veren sevgili anne ve babama teşekkür ederim. Kızkardeşim Güle ve ağabeyim Batur'a her türlü yardım ve hoşgörülerinden dolayı teşekkür ederim.



Sesamum indicum L. (Tarsus)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sesamum indicum L. (Susam) Pedaliaceae familyasına ait bir bitkidir. Özellikle tohumlarını elde etmek amacıyla susam bitkisinin kültürü ülkemizde Ege ve Akdeniz Bölgelerinde yaygın bir şekilde yapılmaktadır.

Susam tohumları bilinen en eski gıda kaynaklarından biridir. Eski İbrani ve Mısır yazıtlarında bu tohumlardan bahsedilmiştir. Susam tohum yağıının farklı kullanılışları yine bu yazıtlarda anlatılmıştır (11).

Bitkinin tohumlarından elde edilen yağ intramüsküler enjeksiyonlarda solvan olarak kullanılmaktadır. Susam yağı içermiş olduğu antioksidan etkili, lignan yapısındaki bileşiklerden dolayı eczacılık tekniğinde geniş bir kullanıma sahiptir. Emoliyan ve antioksidan etkisi nedeniyle de susam yağı, emoliyan özellikteki kremlerin bileşimine girmektedir. Diğer bitkisel yaqlara oranla deriden absorbsiyonu oldukça yüksek olan susam yağı ayrıca, güneş kremleri ve güneş yaqlarının da formülasyonlarına girmektedir (25).

Ülkemizde susam tohumu özellikle besin endüstrisinde kullanılmaktadır. Yurt dışında "Türk Balı" olarak adlandırılan "Helva" ve bazı yemeklere tad vermek üzere kullanılan "Tahin" de susam tohumundan hareketle yapılan gıda maddeleridir. Ayrıca susam yağı, laksatif ve besleyici özellikleri nedeniyle de kullanılmaktadır (56).

Susam tohum yağı üzerinde yurt içi ve yurt dışında yapılmış çalışmalar mevcuttur. Ancak bu çalışmalarda susam yağı besin değeri açısından değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ise susam yağıının eczacılıkta kullanılışı açısından ele alınması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada Tarsus kaynaklı susam tohum yağı üzerinde çeşitli kromatografik yöntemlerle kantitatif ve kalitatif analizler yapılması amaçlanmıştır. Bu çerçevede tohum yağıının içeriği yağ asitlerinin kantitatif analizlerinin yapılması, lignan yapısındaki maddeler üzerinde izolasyon ve yapı tayini ile, miktar tayini çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır. Ayrıca

tohumdan enine kesiler alınarak mikroskopik incelemesinin yapılması ve asit indisi, sabunlaşma indisi, peroksit indisi, iyot indisi gibi klasik analizlerin yapılması da planlanmıştır.

Bütün bu analizler ile Türkiye'de elde edilen Tarsus kaynaklı susam yağıının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin saptanması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Sesamum indicum L.

2.1.1.Bitkinin sistematikteki yeri:

Sesamum indicum L. bitkisi Spermatophyta bölümü, Angiospermae alt bölümü, Dicotyledonae sınıfı, Sympetalae alt sınıfı, Tubiflorae takımı, Pedaliaceae familyasında bulunur. İlk kez Linnaeus tarafından isimlendirilmiştir (4).

2.1.2.Pedaliaceae familyası:

Pedaliaceae familyası bitkileri tropik ve subtropik bölgelerde yetişen, bir veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Yaprakları altta dekussat, üstte alternan dizilişlidir. Çiçekler zigomorfür.Yaprakların koltuğundan tek veya salkım halinde çıkar. Kaliks 5 sepallı, korolla geniş bir tüp şeklinde ve bilabiattır. Stamen 4 tane ve didinamıdır. Ovaryum üst durumlu ve iki karpellidir. İki veya dört gözlüdür. Meyva lokulusit kapsula veya nuks şeklindedir (4,59,57).

Familya eryüzünde 16 cins ve yaklaşık 55 kadar tür ile temsil edilmektedir. Ülkemizde yerli olmayan, fakat kültürü yapılan tek türü vardır (4,59).

2.1.3.Sesamum cinsi:

Tek yıllık dik, otsu bitkilerdir. Yaprakların kenarları düz, yada hafif dentat, alt yapraklar karşılıklı, üst yapraklar alternandır. Kaliks hafif zigomorf ve kalıcıdır. Korolla dar tüp şeklinde ve ucu bilabiyatdır. Stamenler 4 tane ve didinamıdır. Meyva kapsül şeklindedir. Kapsül oblong, kısa gagalı, uzunluğuna oluklu ve 4 köşelidir (17).

2.1.4.*Sesamum indicum* L. (=*Sesamum orientale* L.)

Tek yıllık, tüylü, otsu bir bitkidir. Gövde sık dallanmıştır ve 30-150cm. kadar boyanır. Yapraklar saplı, kenarları hemen hemen tam; gövdenin alt kısmında karşılıklı, üst kısmında ise alternandır. Alt yapraklar ovat, üst yapraklar ise lanseolattan linearaya kadar değişir. Çiçekler tek olarak üst yaprakların koltuklarından çıkmaktadır. Çiçek sapi 2-5mm. kadardır. Kaliks lobları lanseolattır. Korolla beyaz, bazen de açık leylak renginde; 2,5-3,5cm. uzunluğundadır (17,8,59,28).

Meyva kapsül şeklindedir. Tohumlar çok sayıda olup, kapsül içinde merkezi bir sütuna bağlanmıştır ve 2,5-3mm. uzunluğundadır.

Susam bir kültür bitkisidir. 27°C kadar sıcaklıkta, 400-500mm. kadar yağışlı yerlerde, iyi topraklarda bol ürün elde edilmektedir (8,59 ,17,14).

Sesamum indicum'a yabancı dillerde verilen isimler;

Arapça: Simsims, Jeljilan, Hall.

İngilizce: Sesame, Gingelly, Gingil.

Fransızca: Sesame, Sesame de l'Inde.

Hintçe: Till, Gingelly.

Afrika'da: Simsims, Benne.

Latin Amerika'da: Ajonjoli (7).



Şekil 1. *Sesamum indicum* L.

2.2.Türkiye'de Susam Kültürü

Susam özellikle sıcak iklime sahip bölgelerde kültürü yapılan bir bitkidir. Bu nedenle, ülkemizde çoğunlukla Akdeniz ve Ege Bölgelerinde susam kültürü yapılmaktadır.

Türkiye'de Adana, Muğla, Antalya, Aydın, Edirne, Çanakkale, Balıkesir, Manisa, İçel ve İzmir'de susam tarımı yapılmaktadır (3, 53, 59).

Susam üretimiyle ilgili yıllara göre ekilen saha, üretim miktarı ve alınan verim ile ilgili kayıtlar, Devlet İstatistik Enstitüsü kayıtlarında mevcuttur ve bu kayıtlar Tablo 1' de verilmiştir (49).

Tablo 1: Susam Üretimi ile İlgili Kayıtlar.

Yıllar	Ekilen alan(hektar)	Üretim(ton)	Verim (kg / hektar)
1986	100.000	45.000	450
1987	108.000	43.000	398
1988	94.000	45.000	479
1989	97.600	37.000	379
1990	85.000	39.000	459
1991	94.000	43.000	457
1992	83.000	34.000	410
1993	80.000	30.000	375

Ülkemizde susam kültürü yaygın olarak yapılmasına rağmen susam tohumu ithal edilen yağlı tohumlar arasındadır.

1993 yılı Devlet İstatistik Enstitüsü kayıtlarına göre İthalatı-İhracatı yapılan yağlı tohumların listesi Tablo 2' de verilmiştir (50).

Tablo 2: İthalatı İhracatı yapılan yağlı tohumların listesi

Yağlı Tohumlar	İTHALAT		İHRACAT	
	Miktar (ton)	Değer (dolar)	Miktar (ton)	Değer (dolar)
Yer fıstığı	10.640	6.237.065	218	159.646
Susam tohumu	44.390	22.198.061	2.263	2.345.383
Ayçiçeği tohumu	66.069	19.148.766	2.051	5.051.332
Haşhaş tohumu	83	48.327	4.994	7.753.637
Çiğit	126.058	16.287.112	-	-

2.3.Susam Tohum Yağı Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.3.1.İlk çalışmalar

1850 yılında Camoin tarafından bulunan renk reaksiyonuna göre susam yağı; içerisinde küçük bir miktar şeker ilave edilip, konsantre HCl asit ile çalkalandığında oluşan kırmızı renk ile tanınabilecektir. Bu reaksiyon daha sonraları geliştirilmiş ve "Baudouin Testi" adını almıştır. 1893 yılında Villavecchia ve Fabris isimli araştırmacılar Baudouin Testini geliştirmeyi düşünmüşlerdir. Ana değişikliği, furfural oluşturan madde üzerinde yapmayı planlamışlardır. Sonuçta geliştirdikleri bu teste "Villavecchia Testi" denilmiştir (12,10).

Soltsien, Bettendorf Reaktifi kullanarak (konsantre HCl asit içinde kalayklorür çözeltisi) zeytin yağı içindeki susam yağını teşhis etmiştir (12).

Tocher, Bishop, Cavalli, Kreis" Sesazo Reaksiyonu" , Ambühl, Kreis, Guarnieri, Pavolini, Jacobson Testleri susam yağının teşhisini için daha sonraki yıllarda geliştirilmiş testlerdir (12).

1890 yılında Tocher, susam yağının asetik asitli ekstresinden sesamin'i izole etmiştir. Birkaç yıl sonra Villavecchia ve Fabris sesamin'i, susam yağının sabunlaşmayan kısmından izole ettiklerini bildirmiştir (12).

Sesamin'in gerçek molekül formülünü 1928 yılında Adriani ve ark. $C_{20}H_{18}O_6$ olarak bulmuşlardır. Sesamin'in yapısı ve kimyasal özellikleri Bertran ve ark. tarafından araştırılmıştır (10,12).

Canzoneri ve Perciabosco, susam yağından kristal bir madde izole etmişlerdir. Bu maddeye "Sesamolin" adı verilmiş ve molekül formülünün $C_{20}H_{18}O_7$ olduğu bildirilmiştir.

Malagnini ve Armanni isimli araştırmacılar, sesamolin'in hidrolizi ile fenol yapısında bir madde açığa çıktığını bulmuşlardır. Daha sonra bu maddeyi Kreis "sesamol" olarak adlandırmıştır (10,12).

Çeşitli araştırmacılar sesamin'i *Sesamum indicum L.* tohumlarından başka bitkilerden de izole etmişlerdir.

Bu bitkilerin bir kısmı;

- Çeşitli Fagara türlerinin kabukları,
- Chamaecyparis obtusa* Sieb.
- Ocotea usambarensis* Engl.
- Ginkgo biloba* L.
- Flindersia pubescens*,
- Evodia micnocorcca* var. *pubescens*,
- Piper guineense* (10).

Susam yağında bulunan piretrin sinerjisti maddelerin (sesamin, sesamolin) tayini yapılmıştır. Buna göre sesamin, kolon kromatografisinde silisik asit üzerinde saf olarak ayrılmıştır. Bu izolasyonda mobil faz olarak izo-oktan içerisindeki %3,5'luk etilasetat çözeltisi kullanılmıştır. Daha sonra susam yağı içerisinde bulunan sesamin'in varlığının UV-Spektrofotometresi ile tayin edildiği bildirilmiştir. Sesamolin ve sesamol varlığı ise, renk reaksiyonları ile tayin edilmiştir (5).

Susam yağı içinde bulunan temel bileşenlerin optik aktiviteleri araştırılmış ve kloroform içerisindeki sesamin, sesamolin ve fitosterol'ün optik çevirme dereceleri ölçülecek, susam yağıının beklenen optik çevirme derecesi hesaplanmıştır. Diğer taraftan, 4 ham susam yağı örneğinin optik çevirme dereceleri ölçüldüğünde, hesaplanan değere uyduğu belirlenmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında sesamin, sesamolin ve fitosterol'ün susam yağıının optik çevirme derecelerinden sorumlu olduğu bulunmuştur (9).

Hilditch ve ark. aralarında susam yağıının da bulunduğu bazı bitkisel yağların içerdığı linoleik asit miktarlarını spektrofotometrik olarak tayin ettiklerini bildirmiştir (29).

1950 yılında Menezes ve ark. sesamol'ün antoksidan özelliğini araştırmışlardır. Bunun için önce piperonal ve perasetik asitten haraketcle sesamol asetatı sentezlemiştirlerdir. Bu maddeden de saponifikasiyon ile % 60 oranında sesamol elde etmişlerdir. Sentezle elde ettikleri sesamol'ün, aktif oksijen metodu ile antioksidan aktivitesini tayin etmişlerdir. Sonuç olarak, hidrojenlenmiş susam yağıının stabilitesinden sorumlu bileşigin sesamol olduğu bildirilmiştir (11).

Budowski ve ark. susam yağıının içeriği serbest, bağlı ve toplam sesamol miktarlarını spektrofotometre ile kantitatif olarak tayin ettiklerini bildirmiştirlerdir. Analizler sonucunda kullanılan 4 farklı orjinli susam yağıının içeriği toplam sesamol miktarlarının % 0,13 ile % 0,17 arasında değiştiği bildirilmiştir (13 ,45).

Perry, aralarında susam yağıında bulunduğu çeşitli bitkisel ve hayvansal yağların içeriği yağ asitlerinin (C_5-C_{24}) ve trigliseritlerin analizlerini yaptığıını bildirmiştir (40).

2.3.2.Yağ asitleri bileşimi üzerinde çalışmalar

Dutta ve ark. Gaz-Sıvı Kromatografisi yöntemi ile susam yağıının içeriği yağ asitlerinin analizlerini yapmışlardır. % 10 Apiezon L ve % 10 Lac-446 (dietilen glikol adipat poliester) kolonları üzerinde azot taşıyıcı gazı ve alev-iyonizasyon dedektörü kullanılarak analizler yapılmıştır. Soxhelet ekstraksiyonu ile elde edilen susam yağı yağı asitleri, metil esterleri haline getirilerek Gaz- Sıvı Kromatografına uygulandığı bildirilmiştir (31).

Susam yağı yağ asitlerinin kantitatif analizleri Yermanos ve ark. tarafından Gaz- Sıvı Kromatografisi ile yapılmıştır. Bu çalışmada önce Borontriflorür-Metanol reaktifi ile yağ asitlerinin metil esterleri hazırlanmıştır.Yağ asitleri metil esterlerinin analizleri %10 HI-EFF dolgulu kolonu kullanılarak yapılmıştır. Analizler sonucunda oleik asit miktarı % 39,6 ve linoleik asit miktarı ise % 47,0 olarak bulunmuştur (58).

Dietilen glikol süksinat dolgulu kolonu (1,5mx 4mm) kullanılarak, BF_3 -MeOH reaktifi ile metil esterleri haline dönüştürülmüş susam yağılarının yağ asitlerinin analizini El-Tınay ve ark. yapmışlardır. GSK çalışmaları sırasında alev-iyonizasyon dedektör kullanılmıştır. Analizler sonucunda oleik asit

miktarı % 41,1-50,5 ve linoleik asit miktarı ise % 36,8-45,0 arasında olduğu bildirilmiştir (20).

Sengupta ve ark. 1976 yılında yaptıkları bir çalışmada, susam yağıının yağ asitlerinin kantitatif analizlerini GSK ile yapmışlardır. Metil esterleri haline getirilen yağ asitlerinin, dietilen glikol adipat dolgulu kolonu üzerinde (6ft X 1/4) alev-iyonizasyon dedektörü kullanılarak analizleri yapılmıştır. Bu analizler sonucunda, yağdaki oleik asit miktarı % 43, linoleik asit miktarı ise % 39 olarak bulunduğu bildirilmiştir (43).

1978 yılında Türkiye 'de yapılan bir çalışmada ise H_2SO_4 / Metanol metodu ile yağ asitleri esterleştirilmiştir. 4mm. çap X 1,8m. uzunlukta ve %15 DEGS ile kaplanmış kolon kullanılmıştır. Analizler sırasında dedektör olarak; alev-iyonizasyon, taşıyıcı gaz olarak da azot gazı kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz akış hızı ise dakikada 50-70ml. olarak verilmiştir. Analizler sonucunda oleik asitin majör pik verdiği bildirilmiştir (46).

Yazıcıoğlu ve Karaali 1983 yılında yaptıkları bir çalışmada Türkiye 'de yetişen ve yağ kaynağı olarak kullanılan çeşitli bitkilerin yağ asitlerinin analizini yapmışlardır. Yağ asitlerinin metil esterlerini Borontriflorür-Metanol reaktifi ile hazırlamışlardır. Analizler sırasında alev-iyonizasyon dedektör, 2mm. çap X 190cm. uzunlukta, % 10 dietilen glikol süksinat ile kaplı dolgulu kolon ve azot taşıyıcı gazını kullandıklarını bildirmișlerdir. Bu çalışma sonucunda; Linoleik asitin majör pik verdiği bildirilmiştir (56).

Raie ve Salma; *Sesamum indicum L.*.. ve *Papaver somniferum* tohum yağıının yağ asitlerinin analizlerini yapmışlardır. Bu araştırma sırasında tohumların içerdığı sabit yağ, hekzan ile ekstraksiyon yöntemi sonucunda alınmış ve yağ asitleri H_2SO_4 / Metanol metodu ile metil esterleri haline dönüştürülmüştür. Gaz-Sıvı Kromatografisi analizleri sırasında 153cm. uzunluğunda, % 10 Polidietilenglikol süksinat dolgulu kolonu kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak ise azot gazı (akış hızı: 40ml / dak.) kullanıldığı bildirilmiştir (41).

Takagi ve ark. cam kapiller kolon kullanarak aralarında susam yağıının bulunduğu rafine edilmiş bitkisel yağların yağ asitlerinin analizlerini yaptıklarını bildirmișlerdir. Metil esterleri haline getirilen yağ asitlerinin Silar-5CP, SP-230, Silar-10CP ve SP-2340 kolonları üzerinde ayrıldıkları bildirilmiştir (52).

2.3.3.Lignanlar üzerinde çalışmalar

2.3.3.1.YBSK analizleri

Fukuda ve ark. susam tohum yağıının içeriği sesamin ve sesamolin'in YBSK ile kantitatif analizlerini yapmışlardır. Petrol eteri kullanarak ekstre etlikleri yağı, Develosil ODS dolgu maddesi içeren paslanmaz çelik kolona uygulamışlardır. Bu analiz sırasında mobil faz olarak % 70 metanol (akış hızı:3ml / dak) kullanılmıştır. Analizler sonucunda sesamin miktarının %0.07-%0.61 arasında ve sesamolin miktarının ise %0.02-%0.48 arasında olduğu tespit edilmiştir (48).

Coors ve Montag sesamin, sesamolin, sesamol ve tokoferolün YBSK ile kantitatif miktar tayinlerini yapmışlardır. Bu çalışma sırasında LiChrosorb Si60 (5 μ m,25 X 0,4cm) kolon kullandıklarını bildirmiştir. 2 farklı solvan sistemi kullanmışlardır;

- A) 1,4-Dioksan+n-Hekzan (6+94)
- B) Etilasetat+n-Hekzan (10+90)

Mobil faz akış hızı ise; 1,0ml / dak olarak bildirilmiştir. Analizler sonucunda rafine edilmemiş susam yağıının önemli miktarda sesamolin, sesamin ve tokoferol içeriği saptanmıştır. Bunun yanı sıra çok az miktarda sesamol'e de rastlanmıştır (16).

Hayakawa ve ark. susam yağıının içeriği sesamolin, sesamin ve sesamol'ün YBSK ile kantitatif analizlerini yapmışlardır. Analizler sırasında 0,54g. susam yağını 10ml. kloroform ile dilüe ederek, Shimadzu LC-6A model YBSK' na enjekte etmişlerdir. Izopropil alkol:n-hekzan (5:95) mobil fazı kullanılarak, shodex silika pak kolon üzerinde 1,5ml / dak. akış hızında bu maddelerin miktarlarını tayin etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda sesamin ve sesamolin miktarları tayin edilmiş, fakat sesamol miktarı tayin edilememiştir (27).

1986 yılında Fukuda ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Develosil 10-ODS kolon üzerinde γ -tokoferol, sesamin, sesamolin ve sesamol miktar tayinleri yapılmıştır. Bu analizleri; Metanol: Su (7:3) mobil

fazı kullanılarak, 3ml / dak. akış hızında sağlamışlardır. Analizler sonucunda ham susam yağıının içeriği lignanların ve γ -tokoferol'ün miktarları şöyledir; Sesamin %0,081; sesamolin %0,051; sesamol eser miktarda ve γ -tokoferol %0,033 (22,23).

Kikugawa ve ark. sesamolin, sesamol ve sesamol dimerlerinin YBSK ile kantitatif analizlerini yapmışlardır. Bu analiz sırasında Zorbax ODS dolgu maddesi içeren paslanmaz çelik kolon (4,6mm id. X 25cm) üzerinde, % 75 metanol mobil fazı kullanarak, 0,8ml/dak. solvan akış hızında sağlamışlardır. Bu çalışma sonucunda Japon Farmakopesine kayıtlı susam yağıının %0,21 sesamolin taşıdığı ve sesamol taşımadığı, yenilebilen susam yağıının ise %0,29 sesamolin ve %0,01 sesamol içeriği saptanmıştır (33).

Sesamin ve sesamolin'in YBSK ile kantitatif analizleri Tashiro ve ark. tarafından Develosil ODS dolgu maddesi içeren paslanmaz çelik kolon (4,6mm i.d X 2,5cm) üzerinde, % 70 metanol mobil fazı kullanılarak 3ml / dak. solvan akış hızında yapılmıştır. Analiz sırasında her maddenin miktarı 290nm. de verdiği pik yüksekliğinden hareketle tayin edilmiştir (48).

2.3.3.2.İzolasyon çalışmaları

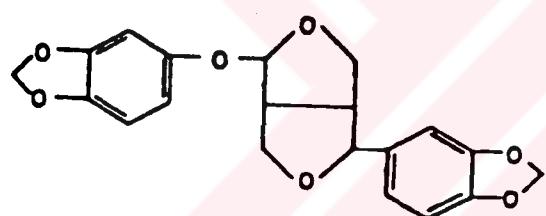
Susam yağıının içeriği lignanların izolasyonları ve saflaştırımları için değişik yöntemler geliştirilmiştir.

Sesamin ve sesamolin'in izolasyonu için susam yağı alkollü KOH ile sabunlaştırılmıştır. Daha sonra bu sabunlaştırılan kısım eter ile ekstre edilmiştir. Eter fazı anhidr Na_2SO_4 ile dehydrate edilip, süzülmüştür. Eterli faz uçurulunca sarı reçine benzeri bir kalıntı elde edilmiştir. Bu artık eterde çözülüp, eter uçurulmuştur. Ham sesamolin kristalleri etanol ile çöktürülmüş, sesamolin preparatif-İTK ile temizlenmiştir.

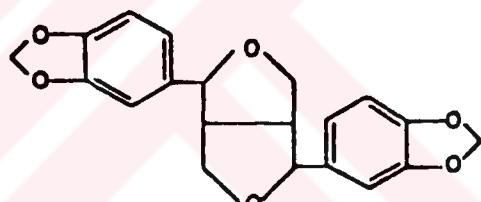
Eterde çözülmeyen artık ise sesamin kristalleri içermektedir. Yine bu kristallerde preparatif-İTK ile temizlenerek saf sesamin kristallerini elde ettiklerini bildirmiştir (27).

Diğer bir yöntemde ise; Susam tohumları aseton ile ekstre edilmekte ve aseton ekstresi - 40°C de 1sa. bekletilmektedir. Daha sonra aseton ekstresi silikajel kolon kromatografisi üzerinde saflaştırılarak, lignan yapısındaki maddeler izole edilmiştir (24).

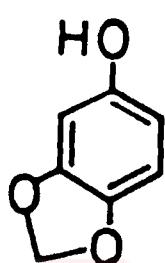
Rafine edilmiş, kavrulmamış susam tohum yağıının içeriği lignan yapısındaki maddelerin izolasyonuna ilişkin bir yöntem de Fukuda ve ark. tarafından geliştirilmiştir. Bu yönteme göre önce susam yağı sıcak metanol ile ekstre edilmektedir. Daha sonra bu ekstre -20°C de buzdolabında soğutularak, çöken faz ayrılmaktadır. Kalan sıvı faz silikajel kolon kromatografisi üzerinde saflaştırılarak ,lignanlar izole edilmektedir (22).



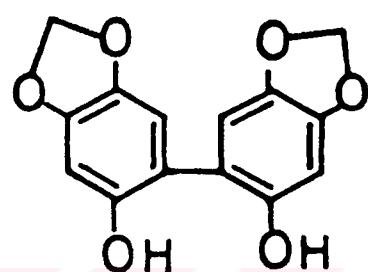
Sesamolin



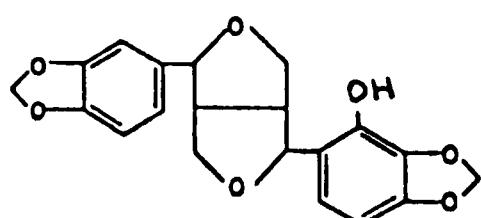
Sesamin



Sesamol



Sesamol dimeri



Sesaminol

2.3.4.Diğer çalışmalar

Fedeli ve ark. aralarında susam yağıının da bulunduğu 18 bitkisel yağ üzerinde araştırmalar yapmışlardır. Bu bitkilerdeki triterpen yapısındaki alkollerİ ve sterollerİ İTK ile tayin etmişlerdir. Gaz-Sıvı Kromatografisi yöntemi ile de bu maddelerin analizlerini yapmışlardır. Susam yağıında sikloartenol ve 24-metilen sikloartenol triterpen alkollerine; β -sitosterol, stigmasterol ve kampasterol sterollerine rastlamışlardır (21).

Speek ve ark. α, β, γ ve δ -Tokoferol ve α -Tokotrienol'ün YBSK ile kantitatif analizlerini yapmışlardır. Çalışma materyali olarak, aralarında susam tohum yağıında bulunduğu çeşitli bitkilerin tohum yağılarını kullanmışlardır. Analizler Poligosil 60-5 dolgu maddesi içeren paslanmaz çelik kolon üzerinde, % 10 di-izopropil eter içeren n-hekzan mobil fazı kullanılarak, 1,8 ml / dak. mobil faz akış hızında yapılmışdır (44).

Dhindsa ve Gupta isimli araştırmacılar 28 farklı kültür susam örneği üzerinde çeşitli kimyasal analizler yapmışlardır. Bu örneklerin ortalama yağ içerikleri % 46,50 - % 53,32 arasındadır. Tohumlarda protein % 18,05 - % 26,25; metionin % 2,85 - 3,85 g/16g. azot; kükürt % 0,156 - 0,288 ve % 1,12 - % 1,51 oranında indirgen oz bulunduğu tayin etmişlerdir. Ayrıca bu tohumlarda toplam şeker oranı % 5,60 - % 7,25; yağların iyot indisleri 109 - 113; kalsiyum % 0,80 -1,40; fosfor % 0,413-0,706 ve potasyum % 0,401 - 0,95 olarak bildirilmiştir (18).

Kim ve ark. Kore ev yapımı susam yağı ile marketlerde satılan susam yağıının stabilitesini ve tadını karşılaştırmışlardır. Analizler sonucunda; her iki örnek arasında organoleptik farklılık ve ayrıca tatları açısından farklılık gözlenmemiştir. Çeşitli fiziksel etkenlere maruz bırakılan bu iki yağ örneğinin (ışık, sıcaklık vb.) asitlik, iyot, sabunlaşma, peroksit indisleri gibi değerleri, renkleri ve stabiliteleri karşılaştırılmıştır (34).

Nagata ve ark. sesamolin'den hareketle moleküller arası transformasyon yöntemini kullanarak, sesaminol'ün dört stereoizomerini sentezlemiştir. Temizleme işleminden sonra sesaminol'ün bu 4 stereoizomerinin sterokimyasal yapılarını başlıca $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopik teknigi ile tayin ettiklerini bildirmiştir (38).

Walde ve Nastruzzi, aralarında susam yağıının da bulunduğu, 8 farklı bitkisel yağı içerdığı serbest yağ asitleri miktarlarını iki farklı metot ile tayin etmişlerdir. Bunlardan birincisinin standart titrasyon yöntemi, ikincisinin ise kolorimetrik bir yöntem olduğu bildirilmiştir. Sonuçta her iki metodun da güvenilir sonuçlar verdiği saptanmıştır. Ancak kolorimetrik metodun, titrasyon metoduna göre daha ekonomik bir metot olduğu ve bundan dolayı da daha küçük miktarlarda örneklerle çalışılabileceği bildirilmiştir (54,55).

Kikugawa ve ark. geliştirdikleri kolorimetrik bir yöntem ile susam yağıının içeriği sesamol'ün kantitatif analizini yapmışlardır (32).

2.4.Susam Yağıının Fizikokimyasal Özellikleri

FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLER: Soluk sarı renkli bir sıvı, hemen hemen kokusuz, lezzeti tatlımsıdır.

$$d=0,916 - 0,920$$

$$(\alpha)_D^{25} = + 1^\circ \text{ ile } + 9^\circ$$

$$n_D^{40} = 1,4650 - 1,4665$$

ÇÖZÜNÜRLÜK: Kloroform, eter, petrol eteri, karbon disülfitde çözünür. Alkol 'de az çözünür. Su'da çözünmez (36).

ASIT /ND/SI: 0,6'dan fazla olmamalıdır.

PEROKSİT /ND/SI: 5,0'dan fazla olmamalıdır (60).

İYOT /ND/SI: 103'den az, 116'dan çok olmamalıdır.

SABUNLAŞMA /ND/SI: 188'den az, 195'den çok olmamalıdır.

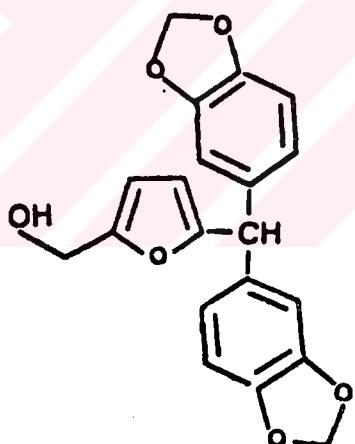
SABUNLAŞMAYAN KISIM MİKTARI: % 1,5 den fazla olmamalıdır (61).

2.5.Susam Yağının Renk Reaksiyonları

2.5.1.Baudouin testi

Bu teste göre susam yağı, biraz sakkaroz taşıyan hidroklorik asit ile karıştırılmakta ve gerekirse hafifçe ısıtılmaktadır. Sesamol, sakkarozdan oluşan hidroksimetil furfural ile bir katım reaksiyonuna girerek önce pembe sonra kırmızı bir renk vermektedir.

Bu testi ilk olarak 1850 yılında, Camoin isimli araştırmacı ortaya atmıştır. İlleriki yıllarda Baudouin testi geliştirmiştir ve kendi ismini teste vermiştir (12).



Kırmızı renkli katım bileşiği

2.5.2.Villavecchia testi

1893 yılında Villavecchia ve Fabris, Baudouin testinde birtakım modifikasyonlar yapmayı düşünmüştür.

Bunun sonucunda Villavecchia Testini ortaya atmışlardır. Bu teste göre susam yağı, % 2 alkollü furfural ile karıştırılır ve üzerine hidroklorik asit ilave edilir. 50°C de 3 dak. ısıtılır. Oluşan kırmızı renk susam yağı varlığını göstermektedir.

Amerika'da Villavecchia Testi, "American Oil Chemist's Society" de diğer yağlarla karışım halindeki susam yağıının tayininde kullanılan bir testtir (12).

2.5.3.Soltsien testi

Soltsien, Bettendorf Reaktifi (Konsantre hidroklorik asit içinde kalay klorür çözeltisi) kullanarak çeşitli yağlarla karışmış susam yağıının, tayinini yapmıştır. Bu teste göre eğer ortamda susam yağı varsa, bu reaktif ile viole renk oluşmaktadır (12).

2.5.4.Behrens testi

Eşit miktarda sülfirik asit ve nitrik asit' ten oluşan karışım, susam yağı ile çalkalandığında yeşil renk oluşmaktadır (12).

2.5.5.Tocher testi

Bu teste göre; Pirogalol'ün konsantrه hidroklorik asit içinde oluşturduğu çözeltisi ile susam ya  kar stır ld nd  mor renk olu maktadır (12).

2.5.6.Cavalli testi

Susam ya  nitrik asit ve hidroklorik asit karışımı ile muamele edild nd  k rm z  renk olu maktadır (12).

2.5.7.Bellier testleri

Bellier susam ya n n 3 tane renk reaksiyonu geli tirmi st r.

Buna göre;

Susam ya ; Amonyum vanadat ve s lfirik asit ile muamele edilmektedir. Olu an ye l renk beklemekle siyahims  ye l renge d nmektedir.

Susam ya ; Formaldehit-S lfirik asit karışımı ile muamele edild nd  k yu mav  renk olu maktadır.

Rezorsinol-Nitrik asit karışımı ile susam ya  muamele edild nd  mavimsi-ye l bir renk olu maktadır (12).

2.5.8.Kreis testi

Bu teste göre susam ya , hidrojen peroksit-s lfirik asit karışımı ile muamele edild nd  a c k ye l renk olu maktadır (12).

2.5.9.Guarnieri testi

Susam yağı, hidrojen peroksitin eter içindeki çözeltisi ile karıştırılır. Üzerine 1-2 damla nitrik asit ilave edildiğinde mavi veya yeşil renk oluşmaktadır (12).

2.5.10.Jacobson testi

Susam yağı, hidrojen peroksit-perklorik asit karışımı ile çalkalandığında yeşilimsi-sarı renk oluşmaktadır (12).

2.6. Susam Yağının Stabilitesi

Susam yağının en önemli özelliklerinden biri oksidatif acılaşmaya karşı dirençli olmasıdır. Grettie'nin 1933 yılında sunduğu bir patent ile hidrojenlenmiş ve rengi giderilmemiş susam yağının küçük miktarları domuz yağı ve diğer margarinlere stabilizasyonu sağlama amacıyla ilave edilmektedir. 1937 yılında Fiero değişik bitkisel yağların farmasötik özelliklerini araştırırken hidrojenlenmiş susam yağının fizikal özelliklerini açısından diğer bitkisel yağlara benzemesine rağmen, bu bitkisel yağların aksine oldukça stabil olduğunu saptamıştır. Fiero araştırmalarının devamında özellikle susam yağının sabunlaşmayan fraksiyonunun sezilebilir ölçüde antioksidan aktivite gösterdiğini bulmuştur (1,11).

Budowski yaptığı araştırmalar sonucunda susam yağının stabilitesinden sorumlu grubun sesamol olduğunu bulmuştur ve susam yağı içerisindeki sesamol'ün miktarının tayini için de bir metot geliştirmiştir. Bunu takip eden araştırmalar sonucunda susam yağının içeriği sesamin ve sesamolinin de, sesamol kadar olmamakla birlikte stabiliteden sorumlu olduğu bulunmuştur (10,12,13).

Susam yağının oksijeni absorblama oranı diğer yaqlara oranla düşük olması nedeni ile susam yağı terapötik amaçla kullanılan diğer yağların bir kısmına oranla depoda uzun süre saklandığında çok stabledir (10,12).

2.7.Susam Yağının Besin Değeri

Susam tohumları bilinen en eski gıda kaynaklarından biridir. Eski İbrani ve Mısır yazıtlarında (Ebers Papirus gibi) bu tohumlardan bahsedilmiştir. Yağın farklı kullanılışları yine bu yazıtlarda anlatılmıştır. Bu çağlarda susam kültürü başlıca Çin, Hindistan, Afrika ve Güney Amerika'nın bazı bölgelerinde yapılmıştır (12).

Susam tohumları veya susam unu çok besleyicidir. Yağı alınan susam tohumları yaklaşık % 60 oranında protein içermektedir. Susam tohumları histidin, arginin, izolösin, lösin, lizin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valin gibi esansiyel amino asitleri içermektedir. Susam proteini % 2,5-4 oranında metionin ve % 3,8-5,5 oranında kükürt içeren aminoasitleri ihtiva etmesi nedeniyle oldukça önemlidir (35).

Diğer bitkisel yağların bir kısmı gibi susam yağı da vitamin A bakımından noksandır. Vitamin E içermektedir (12).

Ayrıca susam yağı, kemiklerin gelişmesi için oldukça önemli sayılan Ca ve P gibi elementleri içermesi açısından önemlidir (39).

Ülkemizde kültürü yapılan susam tohumları özellikle helva ve tahn endüstrisinde kullanılmaktadır. Ayrıca simit, çörek gibi besin maddelerinin yapımında doğrudan tohum halinde kullanılmaktadır (53,56).

2.8.Susam Yağının Kullanılışı

Susam yağı birçok alanda, çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır.

Susam yağı, yalda çözünen maddeler için ortam teşkil etmektedir. Bu nedenle Eczacılıkta susam yağı intramüsküler enjeksiyonlarda solvan olarak kullanılmaktadır. Ayrıca susam yağı kozmetikte ruj yapımında kullanılmaktadır. Susam yağı hem emoliyan etkisi nedeniyle, hem de yapısında bulunan antioksidan maddelerden dolayı emoliyan kremlerin formülasyonlarına da girmektedir. Özellikle yağ/su tipi emoliyan kremlerde susam yağı, yağ fazını oluşturmaktadır (25,27).

Emoliyan etkisinden dolayı susam yağı ayrıca güneş yağıları ve güneş kremlerinin bileşimine de girmektedir. Çünkü; Diğer bitkisel yaqlara oranla deriden absorbsiyonu oldukça yüksektir.

Bir güneş yağı formülasyonunda;

2-Etil heksil salisilat.....	%5
Susam yağı.....	%40
Mineral yağı.....	%55
Parfüm, renk maddesi ve antioksidan.....y.m.	

kullanılmıştır.

Bir güneş kremi formülasyonunda ise;

Dipropilenglikol salisilat.....	%5
Lanolin (kokusu giderilmiş).....	%35
Susam yağı.....	%20
Mineral yağı.....	%20
Su.....	%20
Parfüm, renk maddesi ve antioksidan	y.m.

kullanılmıştır (19, 27).

Susam yağı demulsan etkisi nedeniyle de kozmetikte kullanılmaktadır. Ayrıca laksatif etkisi de vardır (19,27,51).

Susam yağının diğer bir kullanılış alanı ise insektisit endüstrisindedir.

1940 yılında rotenon, piretrinler ve benzeri insektisitlere susam yağı katımı ile sinerjist etkili bir formülasyon elde edilmiştir. Daha sonraki çalışmalarında, bu sinerjist etki, deney hayvanlarına uygulanmıştır. Başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Susam yağı aerosol tarzındaki piretrum spreylerinin bileşimine de girmiştir. (Dikloro diflоро metan içindeki susam yağı) Bu gibi aerosoller bazı sinek ve böcek türlerinde toksik etkili olmuştur.

Daha sonraki yıllarda,

Haller ve ark. susam yağının, piretrinlerin insektisit potansiyelini artırma nedenlerini araştırmışlardır. Bu araştırmalar sonucunda susam yağının içerisinde bulunan sesamin'in bu etkinin sorumlusu olduğunu tayin etmişlerdir. Bunu takiben araştırmacılar sesamin'e benzer moleküllerin sistematik muayenesi ile, sesamin'i sinerjist aktivitesinin yapısında bulunan bozulmamış "metilendioksifenil" grubundan kaynaklandığını bildirmiştir. Ayrıca sesamin'in stereoizomerlerinin de sesamin kadar aktif olduğunu saptamışlardır (6,12,15,47).

Susam yağı şekerleme imalathanelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Avrupa'da bazı margarinlerin bileşimine de girmektedir (2).

Yağ elde edilişi sonunda kalan artıklar kek şeklinde preslenerek ve protein de ilave edilerek çiftlik hayvanlarında yem olarak kullanılmaktadır.

Ayrıca susam yağı sabun yapımında da kullanılmaktadır (2).



KİŞİSEL ÇALIŞMALAR

3.MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

Çalışma materyeli olarak kullanılan örnekler 1994 yılı Ağustos ayında İçel'in Tarsus ilçesi, Kalburgediği köyünden, kültürü yapılan tarladan toplanmıştır.

Toplanan materyel kurutulduktan sonra, tohumlar ayrılmıştır. Çalışmalar bu tohumlar üzerinde yapılmıştır. Toplanan bitki örnekleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda saklanmaktadır.
(AEF 19124).

Klasik ya  analizlerinde kar lastra ma yapma amacıyla piyasadan ayrıca susam ya  temin edilmiştir.

3.2. Yontem

3.2.1. Tohumlar üzerinde anatomik çalışmalar

Tohumdan enine kesiler alınarak Sartur Reaktifi ile hazırlanan preparatla anatomik çalışmalar yapılmıştır. Çizimler mikroskoptan Leitz resim çizme prizması yardımı ile yapılmıştır.

3.2.2. Tohumlar üzerinde kimyasal çalışmalar

3.2.2.1. Tohum yağıının elde edilişi ve miktar tayini çalışmaları

Tohum yağı; n-hekzan kullanılarak, soxhelet ekstraksiyonu yöntemiyle ve soğukta perkolasyon yöntemi olmak üzere iki şekilde elde edilmiştir. Elde edilen sabit yağların miktarları hesaplanmıştır.

Sabunlaşmayan kısım miktar tayini;

USP XXII'e göre yapılmıştır.

3.2.2.2. Klasik analizler

Elde edilen sabit yağı;

Asit indisi BP 1993

Sabunlaşma indisi BP 1993

Peroksit indisi BP 1993

İyot indisi BP 1993'e göre yapılmıştır.

3.2.2.3. İzolasyon çalışmaları ve yapı tayini

Susam tohum yağıının sabunlaşmayan fraksiyonundan hareketle sesamolin izole edildi. İzolasyon çalışmaları sırasında birçok kez ince tabaka kromatografisi uygulandı.

Kullanılan plak: 20x20cm., hazır alüminyum plak .

Adsorban:Slikajel 60 F₂₅₄

Adsorban kalınlığı: 0,2mm.

Mobil faz: Kloroform:Eter (95:5)

Sürüklenme mesafesi: 15cm.

Belirteç: UV-254 ve derişik H₂SO₄

Saflaştırma işlemleri preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle yapıldı.

Kullanılan plak: 20x20cm.

Adsorban: Silikajel GF₂₅₄

Adsorban kalınlığı 0,5mm.

Mobil faz: Kloroform: Eter (95:5)

Sürüklenme mesafesi 15cm.

Belirteç: UV-254

Yapı tayini çalışmaları sırasında izole edilen sesamolin'in UV-spekturumu Shimadzu-160A UV spektrofotometresi kullanılarak izo-oktan ve n-hekzan içerisinde, MS (Kütle spekturumu) ve NMR spekturumları ise Health Sciences University-Hokkaido'da çekildi. NMR Spektrumu 300 MHz'lık NMR ile CDCl₃ içinde çekildi.

3.2.2.4.Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile sesamolin miktar tayini

Susam yağında bulunan sesamolin'in miktar tayini μ -porasil (4,9mm.X25cm) normal faz kolonu üzerinde, Hekzan:Etilasetat (95:5) mobil fazı kullanılarak ve 2ml/dak. akış hızında yapıldı. Bütün solvanlar kullanılmadan önce 0,45 μ m milipor filtreden süzüldü.

YBSK sistemi:

U6K model enjektör, Waters Model 440 pompa, M-745 B model integratör ve Perkin Elmer LC-75 spektrofotometrik dedektör kullanılarak, 280nm. UV filtresi ile analizler yapılmıştır.

YBSK analizleri sırasında Hekzan (Merck 4371), Etilasetat (Merck 868) ve sesamolin (kat.no:50728, Takemoto oil & Fat Co., Ltd.) kullanılmıştır. Eksternal standart yöntemi ile standart sesamolin'den kalibrasyon eğrisi hazırlanarak miktar tayini yapılmıştır.

3.2.2.5.Gaz sıvı kromatografisi ile yağ asitleri analizi

Metcalfe-1966 yöntemi ile yağ asitlerinin metil esterleri hazırlandı. Hazırlanan yağ asitleri metil esterlerinin analizi Shimadzu GC-14A Model kapiller Kromatograf ve buna bağlı model GC-R 6A integratör ile yapıldı.

4.BULGULAR

4.1.Tohumlar Üzerinde Anatomik Çalışmalar

Tohumdan alınan enine kesiler, çok fazla yağ içermesi nedeniye bir süre n-hekzan içerisinde bekletildi ve mikroskopta önce küçük büyültme altında incelendi.

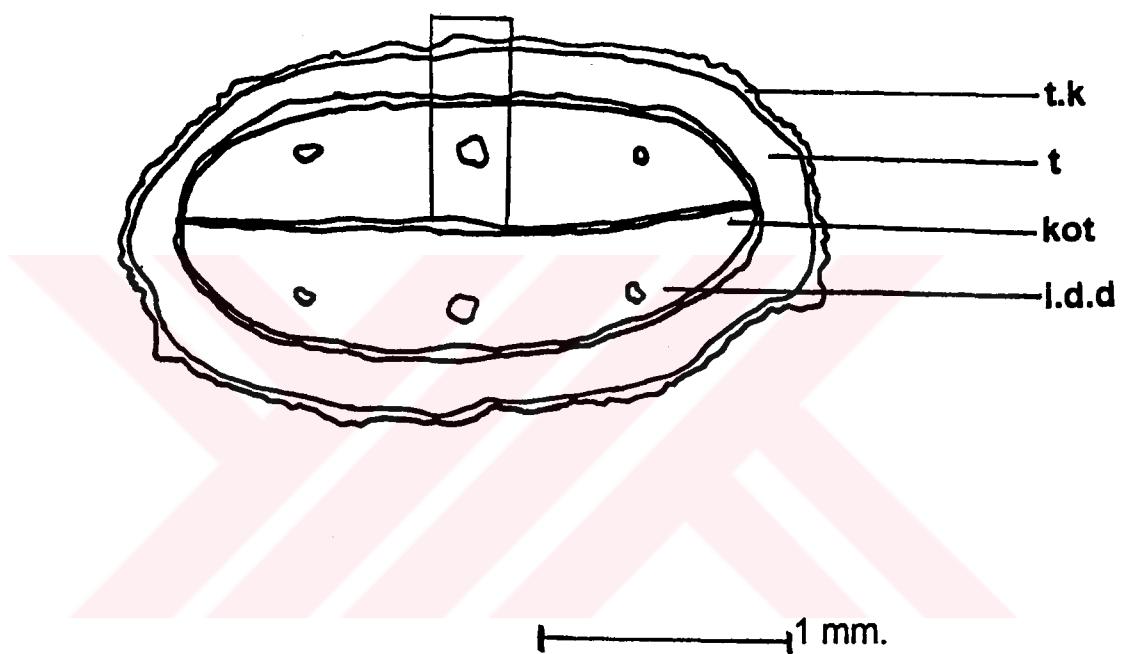
Bu inceleme sonucunda; testanın tohumdan kolayca ayrıldığı görülmektedir. Tohumda, birkaç sıra hücreden meydana gelen testayı kotiledonlar izlemektedir. Kotiledonlarda iletim demetleri de yer almaktadır. Susam tohumunda endosperma bulunmamaktadır. Tohum; testa ile kotiledonlardan meydana gelmiştir (Şekil: 2).

Tohumun anatomik yapısı dıştan içe doğru, kuvvetli büyültme altında incelendiğinde şu dokular görülmektedir (Şekil: 3).

Testanın en dışında, tohum kılıfı bulunmaktadır. Tohum kılıfını, tek sıra halinde dizilmiş testa epiderması hücreleri ve bunun altında 2-3 sıra halinde dizilmiş parenkimatik doku izlemektedir.

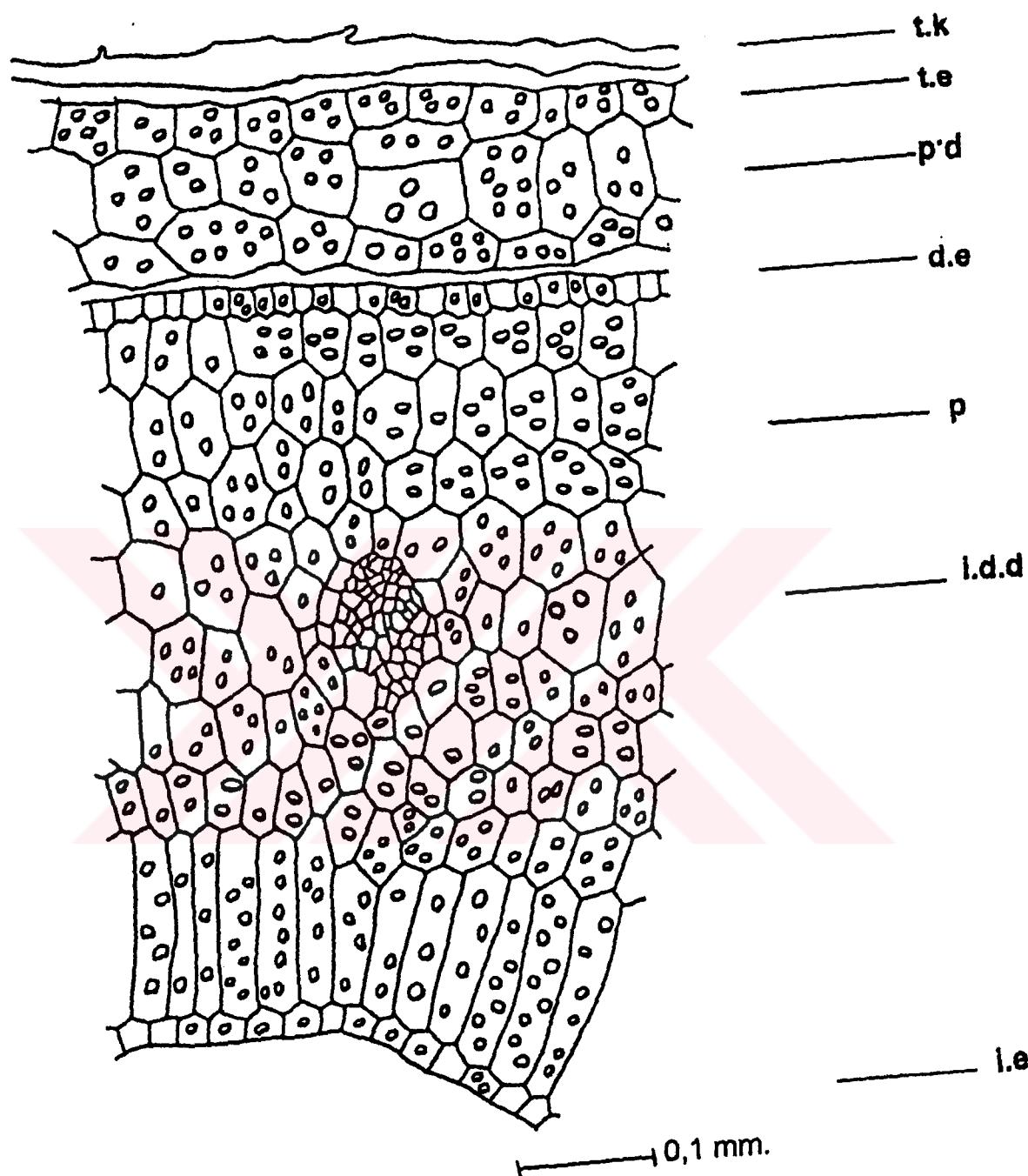
Kotiledonun en dış kısmında bir sıralı dış epiderma hücreleri, bunun altında ise 8-10 sıra halinde dizilmiş parenkimatik hücreler bulunmaktadır. Bunlardan sonuncu sıradaki parenkimatik hücrelerin boyu enlerinden uzun, dikdörtgen şeklinde hücrelerdir. Parenkimatik hücreler arasında iletim doku demetleri yer almaktadır. En içte ise, iç epiderma hücreleri bulunmaktadır.

Tohumdaki bütün hücrelerin içinde bol miktarda yağ daması görülmektedir.



Şekil 2. *Sesamum indicum* L. tohumlarına ait enine kesinin genel görünüşü.

t.k: tohum kılıfı
t: testa
kot: kotiledon
l.d.d: iletim doku demetleri



Şekil 3. *Sesamum indicum* L. tohumlarına ait enine kesinin anatomik görünüşü.

t.k: tohum kılıfı
p.d: parenkimatik doku
p: parenkima
i.e: iç epiderma

t.e: testa epiderması
d.e: dış epiderma
i.d.d: iletim doku demetleri

4.2.Miktar Tayinleri ve Klasik Analizler

4.2.1.Sabit yağın elde edilişi ve miktar tayini bulguları

4.2.1.1.Soxhelet ekstraksiyonu yöntemi

10g. tam tartılmış susam tohumu, 10g. susuz sodyum sülfat ile iyice ezildikten sonra kartuşa aktarıldı ve soxhelet cihazında n-hekzan ile 3sa. tüketildi. Elde edilen ekstre, sabit ağırlığa getirilmiş bir balona kantitatif olarak aktarıldı. Daha sonra ekstre distillenerek hekzandan kurtarıldı. Balon 105°C'lik etüvde sabit ağırlığa getirildi ve yüzde sabit yağ miktarı hesaplandı.

4.2.1.2.Soğukta perkolasyon yöntemi

100g. tam tartılmış susam tohumu porselen bir havanda iyice ezildikten sonra bir perkolatöre dolduruldu. Perkolatörün musluk kısmı kapatıldı ve üzerine n-hekzan ilave edildi. Sonra perkolatörün ağız kısmı bir kapak yardımıyla kapatılarak hekzan'ın uçması önlendi ve perkolatör bir gün bu şekilde bekletildi. Bu süre sonunda, perkolatörün musluğu dakikada 20-25 damla akacak şekilde açıldı. 150-200ml. perkola elde edilinceye kadar işleme devam edildi. Daha sonra 50°C'nin altında, rotavaporda distillenerek hekzan uzaklaştırıldı.

Kalan sabit yağ, sabit ağırlığa getirilmiş bir balona aktarıldı ve 150°C'lik etüvde sabit ağırlığa getirildi. % sabit yağ miktarı hesaplandı (30).

4.2.1.3. Sabunlaşmayan kısım miktar tayini

USP XXII'e göre yapıldı.

5g. yağı tartıldı. Yağ üzerine % 5 lik alkollü KOH çözeltisinden 40ml. ilave edildi ve 2sa. geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Daha sonra alkol su banyosu üzerinde uçuruldu. Artık üzerine 50ml. su ilave edilerek çözüldü. Çözelti ayırma hunisine alındı. 2 kez 25ml. sıcak su ilave edildi, 2 kez 50ml. eter ile ekstre edildikten sonra eterli fazlar birleştirildi. Eter fazı bir kez 20ml. 0,1N NaOH ile yıkandıktan sonra, fenol ftaleine karşı alkali reaksiyon göstermeyinceye kadar 15er ml su ile yıkandı. Eter fazı sabit tartıma getirilmiş bir behere aktarıldı ve subanyosu üzerinde kuruluğa kadar uçuruldu. Artık 100°C de 30 dak. kurutuldu. Desikatöre alınarak 30 dak. soğutuldu. Artık tartılarak % sabunlaşmayan kısım miktarı hesaplandı.

Tablo 3: Sabit yağ ile ilgili miktar tayinleri

NUMUNE	Soxhelet ekstraksiyonu ile elde edilen % a/a sabit yağ	Soğukta Perkolasyon ile elde edilen % a/a sabit yağ	% a/a Sabunlaşmayan kısım miktar tayini
Susam Yağı	52,1	48,9	0,94

4.2.2.Klasik analizler

4.2.2.1.Asit indisi

BP 1993'e göre yapıldı.

10g. sabit ya t tart『ldi ve 250 ml' lik bir erlene al『ndi. 50ml % 96'l k etanol:eter (1:1) karışımda çöz『ldü. 0,5 ml fenolftalein çözeltisi indikatörl『ğ『nde 0,1M KOH ile titre edildi. Olu an pembe renk 15 sn. sabit kal『ncaya kadar titrasyon『n『leme devam edildi.

$$\text{Asit indisi: } \frac{5,610 \cdot V}{W}$$

V: Harcanan 0,1M KOH miktarı (ml)

W:Tart『lan ya n a r『l『gi (g)

4.2.2.2 Sabunla ma indisi

BP 1993'e göre yapıldı.

35-40 g. KOH 20ml. suda çöz『ldü ve % 96'l k etanol ile 1000ml' ye tamamlandı.

2g. sabit ya t tart『ldi ve 200ml' lik bir balona al『ndi. Üzerine 25ml etanol『l『 KOH çözeltisi ilave edildi. Geri 『viren so utucu altında 1sa sabunla t『r『ldi. Karışım sicak iken 1ml fenol ftalein ilave edildi. Alkalinin fazlası 0,5M HCl ile titre edildi.

Sabit ya t koymadan aynı『n『lemler bir kez daha tekrarlanarak k r『r『ldi.

Sabunlaşma indisi: 28,05. V

W

V:Kör deneme için harcanan 0,5M HCl - Numune için harcanan 0,5M HCl (ml)

W:Tartılan yağıın ağırlığı (g)

4.2.2.3.İyot indisi

BP 1993'e göre yapıldı.

0,10-0,15g arasında yağı tartıldı ve 250 ml'lik bir balona aktarıldı. Üzerine 10 ml karbontetraklorür ilave edilerek, yağı çözüldü. Daha sonra, iyotmonoklorür çözeltisinden 20ml ilave edilerek, balonun ağzı kapatıldı. (Balonun kapağı daha önceden potasyum iyodür çözeltisi ile ıslatıldı) 30 dak. çalkalamak suretiyle karanlıkta bekletildi. Süre sonunda 15ml potasyum iyodür çözeltisi ve 100ml distile su ilave edildi. Nişasta indikatörlüğünde, 0,1M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ile titrasyon yapıldı.

Iyot indisi: 1,269 .V

W

V: Harcanan 0,1M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ miktarı (ml)

W: Tartılan yağıın ağırlığı (g)

4.2.2.4. Peroksit indisı

BP 1993'e göre yapıldı.

5g yağ tartıldı ve 250ml' lik bir erlene aktarıldı. Glasiyel asetik asit:Kloroform (3:2) karışımından 30ml. yağ üzerine ilave edildi ve yağ çözüldü. Bu çözelti üzerine 0,5ml potasyum iyodür çözeltisinden eklendi ve 1dak. karıştırılarak beklendi. Daha sonra 30ml distile su ilave edildi ve 0,01M sodyum tiyosülfat ile sarı renk kayboluncaya kadar titre edildi. Sarı renk kaybolunca, 5ml nişasta çözeltisi ilave edilerek mavi renk kayboluncaya kadar titrasyona devam edildi.

Peroksit indisı: 10. V
W

V:Birinci titrasyon sonucu harcanan 0,01M sodyum tiyosülfat - ikinci titrasyon sonucu harcanan 0,01M sodyum tiyosülfat (ml)

W: Tartılan yağın ağırlığı (g)

Tablo 4: Sabit yağın özelliklerı

NUMUNE	Asit indisi	Sabunlaşma indisi	İyot indisi	Peroksit indisi
Susam yağı	0,307	192,1	101,4	4,48
Hazır susam yağı	0,527	194,4	118,5	5,23

4.3. İzolasyon ve Yapı Tayini Bulguları

n-Hekzan ile soxhelet ekstraksiyonu sonucu elde edilen yağıdan 120g. tartılarak alındı. Üzerine 1500ml % 4'lük alkollü KOH çözeltisinden ilave edildi. 90 dak. geri çeviren soğutucu altında ısıtarak sabunlaştırıldı. Sabunlaştırma işlemi tamamlandıktan sonra, bu hidrolizat üzerine 500ml distile su ilave edildi ve rotavaporda etanol uçuruldu. Kalan sulu kısım bir ayırma hunisine aktarıldı ve n-hekzan ile ekstre edildi (3 kez) Hekzanlı fazlar birleştirildi. Su banyosu üzerinde kuruluğa kadar uçuruldu. Artık üzerine 15ml eter ilave edildi. Eter tabakası alındı ve altta kalan çökelek ayrıldı. Eterli faz subanyosu üzerinde kuruluğa kadar uçuruldu. Oluşan sarı kristaller üzerine 10ml kloroform ilave edildi. İTK'de kloroform:eter (95:5) solvan sistemi kullanılarak ekstredeki lignanların Rf değerleri tespit edildi ve standartların Rf değerleri ile karşılaştırıldı. 2 numaralı lekenin Rf değerinin , sesamolin'in Rf değeri ile aynı olduğu tespit edildi.

Daha sonra kloroformlu ekstre kloroform:eter (95:5) solvan sistemi kullanılarak preparatif ince tabaka kromatografisi ile temizlendi. 2 numaralı bant kazınarak alındı ve ikinci kez p-İTK ile tekrar temizlendi.

Kloroform:eter(95:5) solvan sistemi kullanılarak aşağıda verilen Rf değeri saptandı.

Sesamolin Rf: 0,68

Sesamolin : Takemoto oil & Fat Co., Ltd.

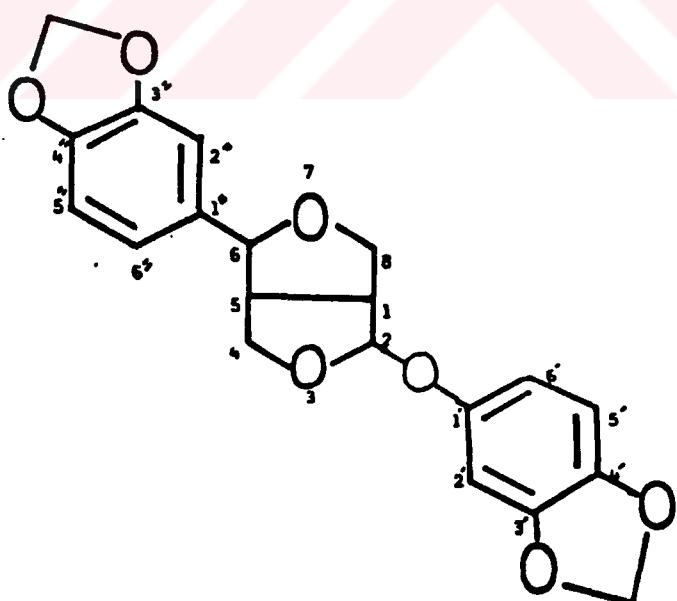
NMR SPEKTRUMU

Izole edilen bu bileşliğin yapısı $^1\text{H-NMR}$ spektroskopik yöntemi kullanılarak açıklandı.

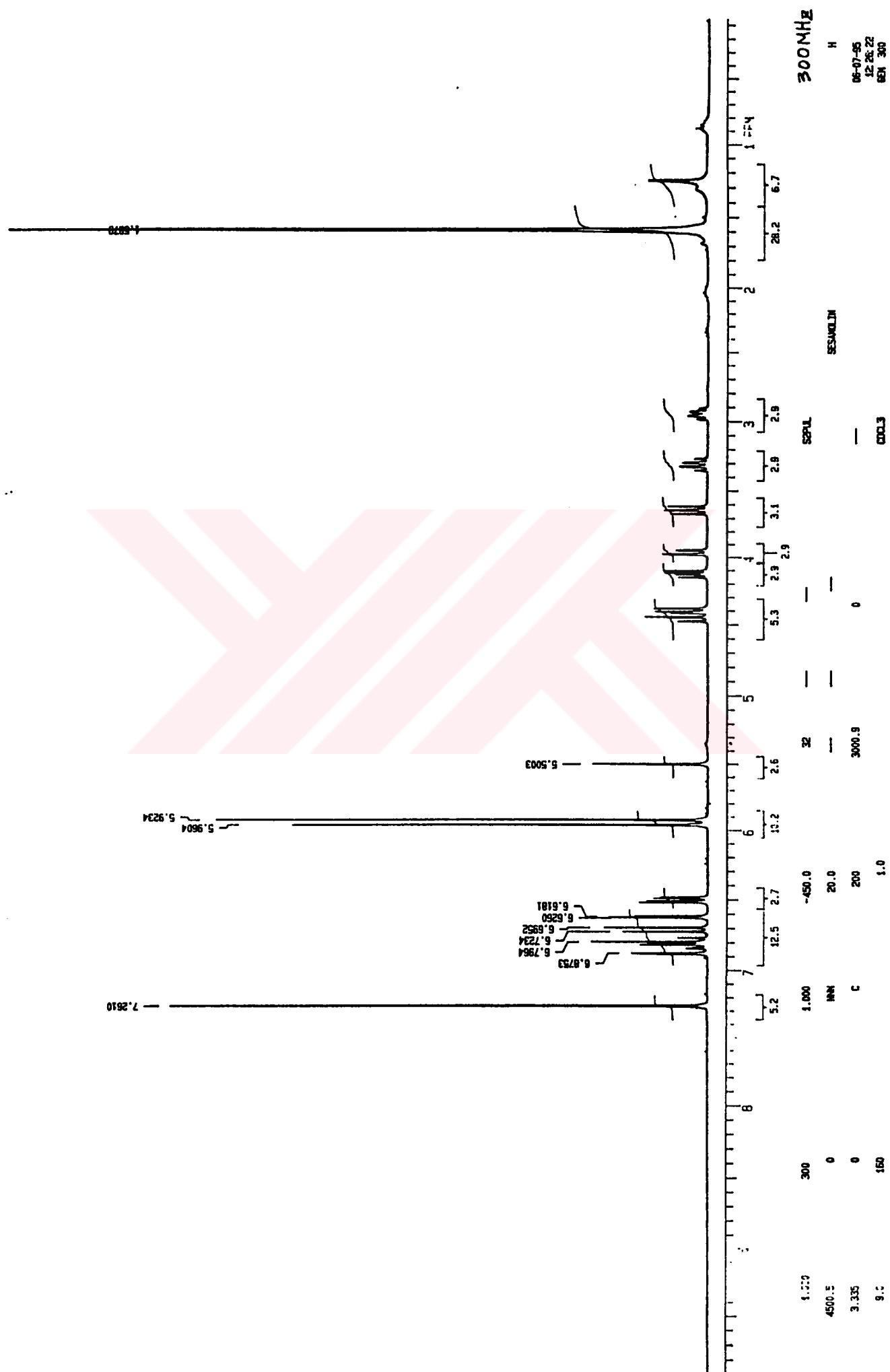
Izole edilen Sesamolin'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrum verileri :

δ 2,95 (1H,m) ; δ 3,35(5H,q) ; δ 3,64(8H_a,dd) ; δ 4,13(8H_e,dd) ;
 δ 3,96(4H_a, dd) ; δ 4,45(4H_e, t) ; δ 5,50(2H,d) ; δ 4,39(6H,d) ;
 δ 5,95 O-CH₂-O (s) ; δ 5,85 O-CH₂-O(s) .İki benzen halkasındaki protonlara ait veriler ise; δ 6,50 (dd); δ 6,63(d); δ 6,71(d); δ 6,87(d);
 δ 6,82(d); δ 6,79(s) 'de görülmektedir.

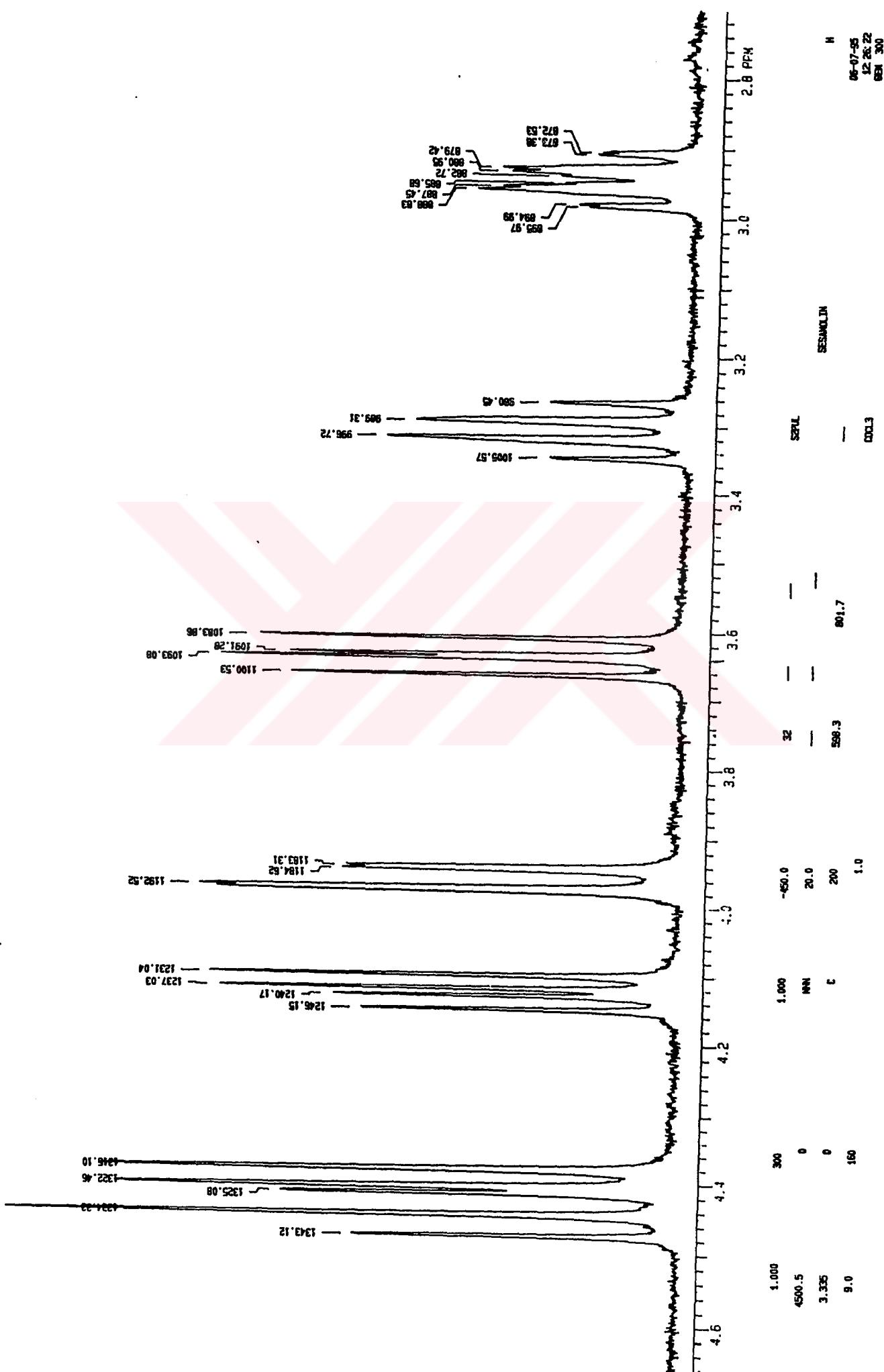
Izole edilen sesamolinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrum sonuçları literatürde verilen değerler ile karşılaştırılmıştır (32), (Şekil: 4,5,6).



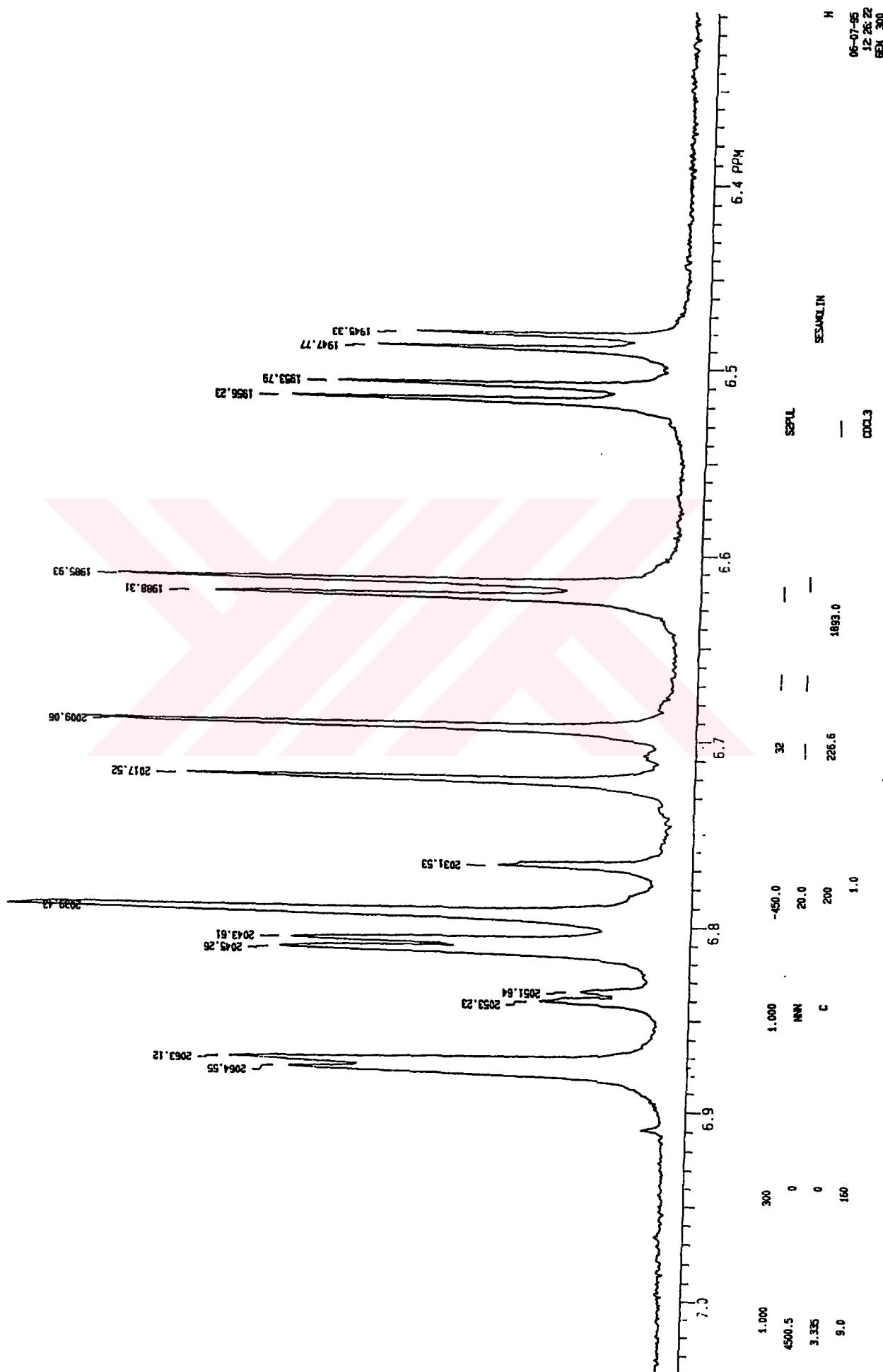
- Sesamolin -



Şekil 4. Sesamolin' in $^1\text{H-NMR}$ spektrini (300 MHz, CDCl₃, iç')

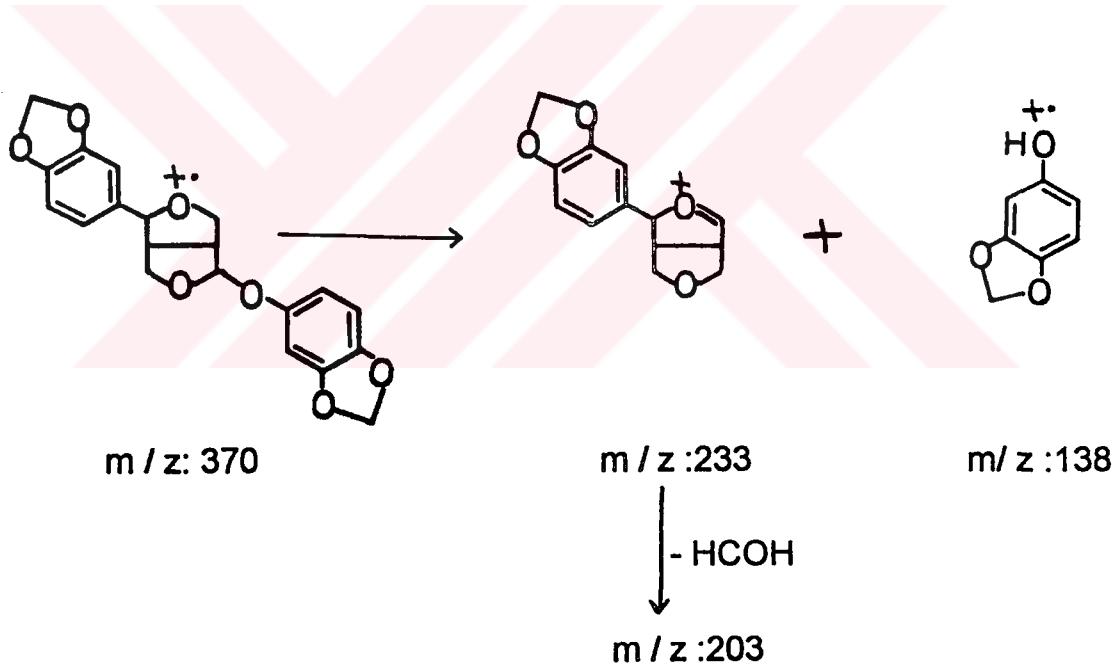


Sekil 5. Sesamolin'in ^1H -NMR spektrumu (300 MHz, CDCl_3 içinde)



MS KÜTLE SPEKTRUMU

Kütle spektrumunda bileşiğin moleküler iyon pikinin $m/e=370,1$ olduğu tesbit edilmiştir. Majör parçalanma iyonları ise $m/e=233$, 203 ve 138 'dir. Bu bulgular literatürde sesamolin için verilen değerlerle identikdir (26).

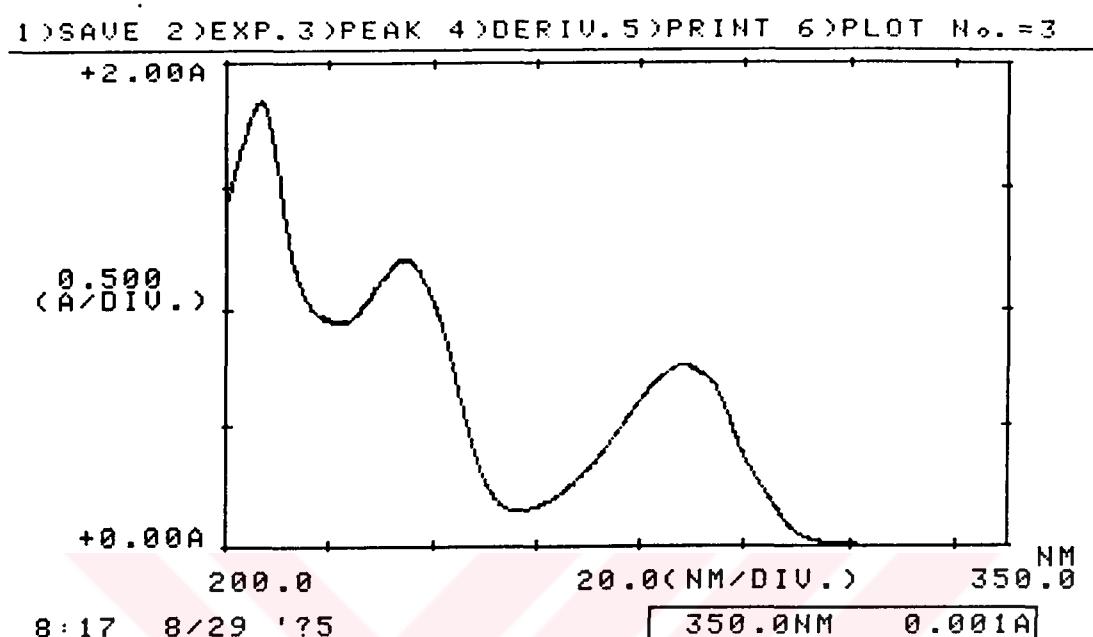


UV SPEKTRUMU

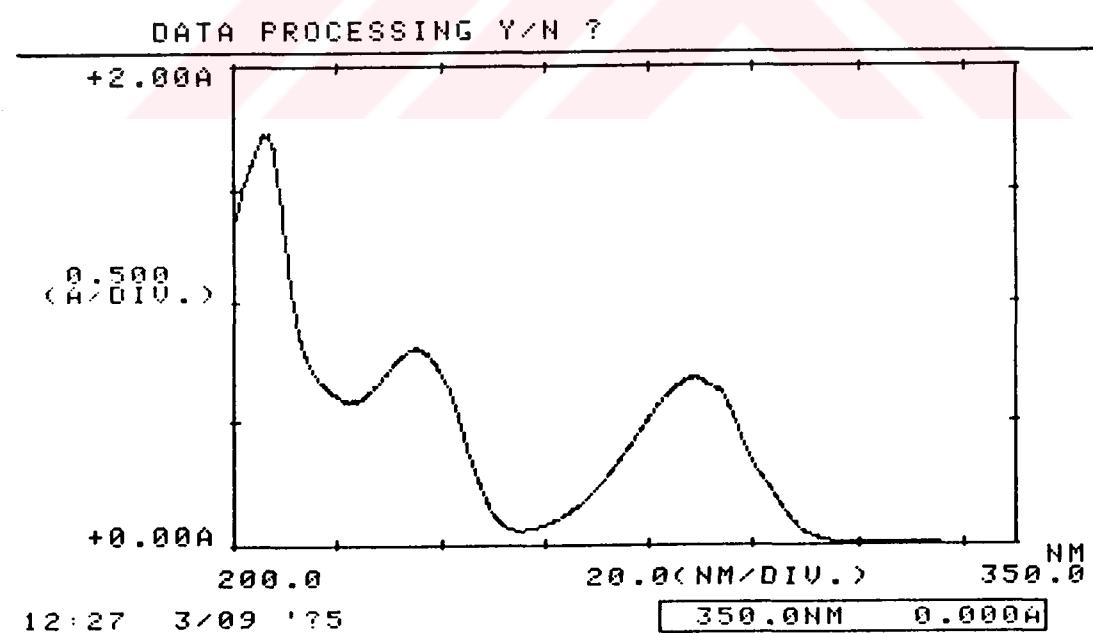
İzole edilen bileşigin ve standart sesamolinin *i*-oktan ve *n*-hekzan içinde, Shimadzu-160A UV spektrofotometresinde UV spektrumları çekilmiştir. Izole edilen bileşigin, literatürde verilen sesamolin'in ve standart sesamolin'in UV spektrum bulguları Tablo 5 de verilmiştir.

Tablo 5: UV-spektrum bulguları

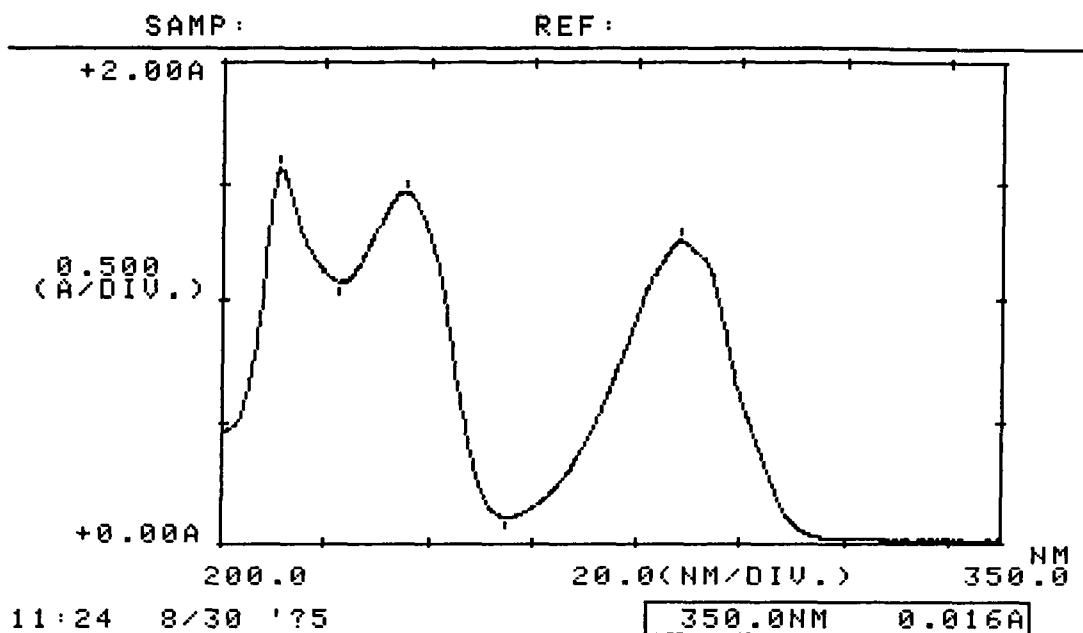
	Çözücü	max 1	max 2	min
Sesamolin(Literatür verileri (16))	<i>i</i> -oktan	289	234,8	255
Sesamolin(Takemoto oil & Fat Co.)	<i>i</i> -oktan	287,6	234,8	257,2
Sesamolin(Takemoto oil & Fat Co.)	<i>n</i> -hekzan	288,6	235,4	254,8
İzole edilen bileşik	<i>i</i> -oktan	288,6	235	255,2
İzole edilen bileşik	<i>n</i> -hekzan	288,4	234,2	256,2



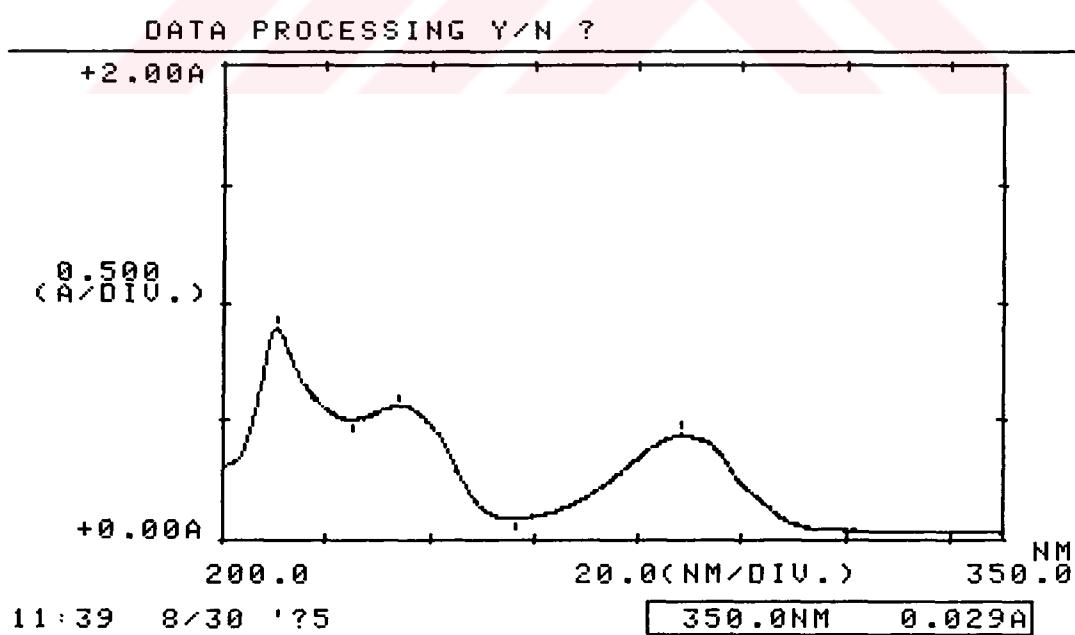
Şekil 7:Standart sesamolinin UV-Spektrumu (i-oktan içinde)



Şekil 8: İzole edilen maddenin UV-Spektrumu (i-oktan içinde)



Şekil 9: Standart sesamolinin UV-Spektrumu (n-hekzan içinde)



Şekil 10: İzole edilen maddenin UV-Spektrumu (n-hekzan içinde)

4.4.YBSK Bulguları

Tarsus kaynaklı susam tohum yağından n-hekzan ile soxhelet ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilen sabit yağ numune olarak kullanıldı. Analizler sırasında 0,154g. susam yağı, 10ml n-hekzan içerisinde çözülerek YBSK'na enjekte edildi.

4.4.1.Standart Sesamolin Kalibrasyonu

Sesamolin (Takemoto oil & Fat Co., Ltd. Kat no:50728) den 2mg tartıldı ve balon joje içerisinde 10ml' ye n-hekzan ile tamamlandı. Böylece 0,2 mg/ml konsantrasyonda sesamolin içeren bir çözelti hazırlandı.Bu çözeltiden hareketle dilüsyonlar yaparak 0.08mg/ml, 0.06mg/ml , 0.04mg/ml 0.02mg/ml konsantrasyonda sesamolin içeren çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerden 10 μ l lik enjeksiyonlar yapıldı. Konsantrasyonlara karşı ölçülen pik alanları y olarak kabul edilerek, $y=1,52512 \cdot 10^6 X - 30513,6$ doğru denklemi sesamolin için bulundu.

Bu doğru denkleminde sesamolin için elde edilen pik alanları y olarak yerine kondu ve X olarak 1 μ l numune içindeki μ g cinsinden sesamolin miktarı hesaplandı. Buradan 10ml içindeki sesamolin miktarı hesaplandı.Bu mikardan hareketle de numune içinde bulunan % sesamolin miktarı hesaplandı.Buna göre soxhelet ekstraksiyonu yöntemine göre, tarafımızdan elde edilen susam yağında % 0,563 sesamolin bulunduğu saptanmıştır.

SESAMOLİN' İN KALİBRASYON VERİLERİ

EN KÜÇÜK KARELER YÖNTEMİ

REGRESYON SONUÇLARI

EĞİM: $1,52512 \cdot 10^6$

EĞİMİN STANDART HATASI: 316866

KESİŞİM: -30513,6

KESİŞİMİN STANDART HATASI: 17355,5

DOĞRU ORJİNDEN GEÇİYOR.

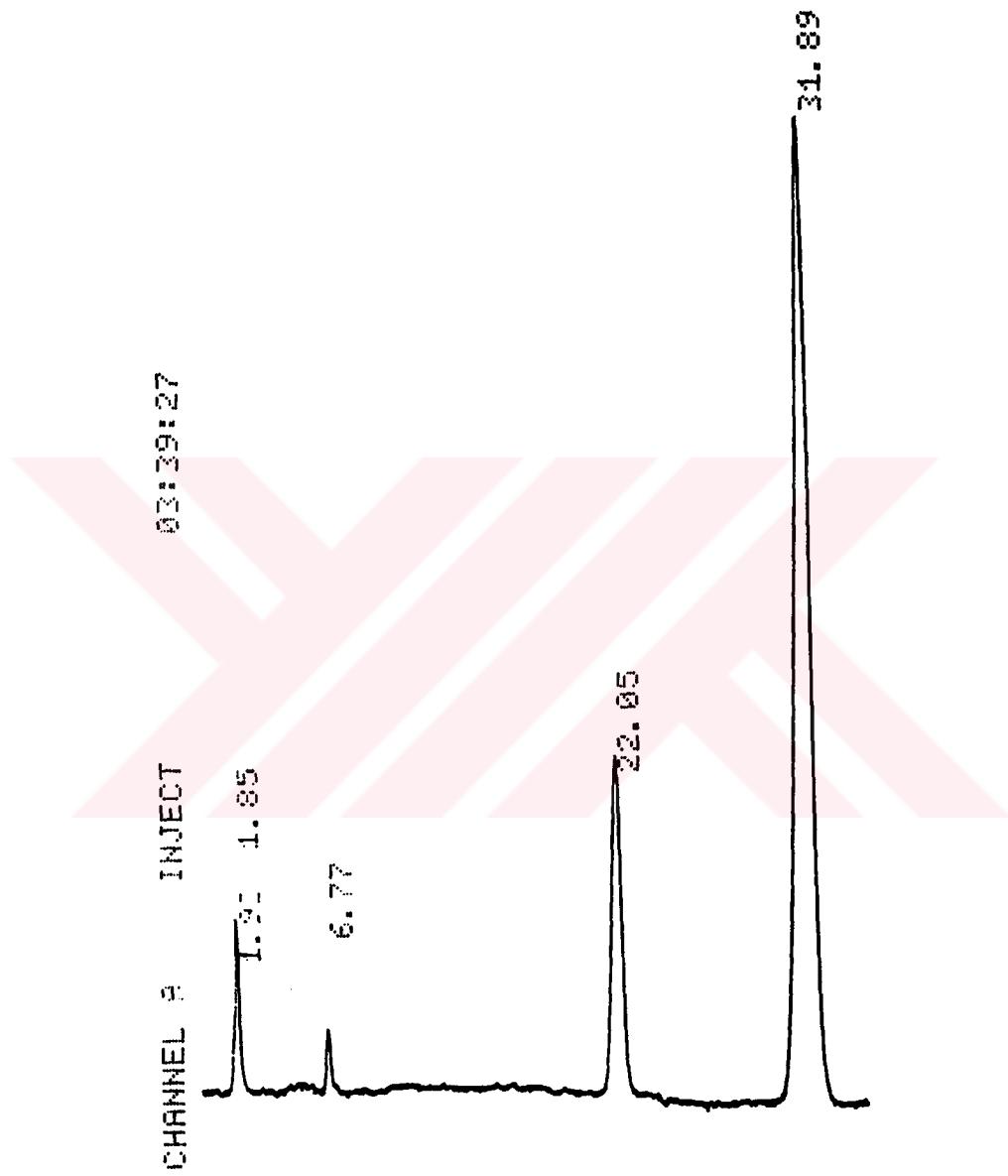
ORJİNDEN GEÇEN DOGRUNUN EĞİMİ: $1,01656 \cdot 10^6$

EĞİMİN STANDART HATASI: 129360

EĞİMİN%95 OLASILIKLI GÜVENLİK SINIRLARI: $459408 - 1,57372 \cdot 10^6$

VERİLER:

NO	X	Y
1	0,02	11.602
2	0,04	22.685
3	0,06	41.767
4	0,08	106.916



Şekil 11: Susam Yağının μ -Porasili (normal faz) kolonu
Üzerinde Yüksek Basınçlı Sıvı kromatogramı.
31,89. dak. Sesamolin' e ait pik görülmektedir.

4.5.Gaz Sıvı Kromatografisi Bulguları

4.5.1.Yağ asitleri metil esterleri hazırlanışı

Metcalfe-1966 yöntemi ile yapıldı.

150mg yağ 50ml'lik balon joje içerisinde alındı. Üzerine 0,5N metanollu NaOH çözeltisinden 4ml ilave edilerek, hiç yağ daması kalmayınca kadar su banyosu üzerinde ısıtıldı. Sonra üzerine BF_3 -Metanol reaktifinden 5ml ilave edilerek, 2dak. su banyosunda kaynatılıp, soğutuldu. Yeterli miktar doymuş NaCl çözeltisinden ilave edilerek 50 ml'ye tamamlandı. Balon jojedeki bu karışım bir ayırma hunisine aktarıldı ve 20 ml petrol eteri ile ekstre edildi. Petrol eterli faz alınarak, 60°C yi geçmeyen su banyosu üzerinde uçuruldu. Elde edilen yağ asiti metil esterleri 2 ml n-hekzanda çözülferek, Gaz Sıvı Kromatografisi analizlerinde kullanıldı (37).

4.5.2.Gaz Sıvı Kromatografisi analizleri

Analiz Şartları:

Gaz-Sıvı Kromatograf

Dedektör:Alev-İyonizasyon Dedektörü (FID)

Kolon:Kapiller, 50m.

Sıvı Faz:SE-52

Taşıyıcı Gaz:Azot.

Enjektör Sıcaklığı:230°C

Dedektör Sıcaklığı:245°C

Sıcaklık Programı

70°C de 5 dak

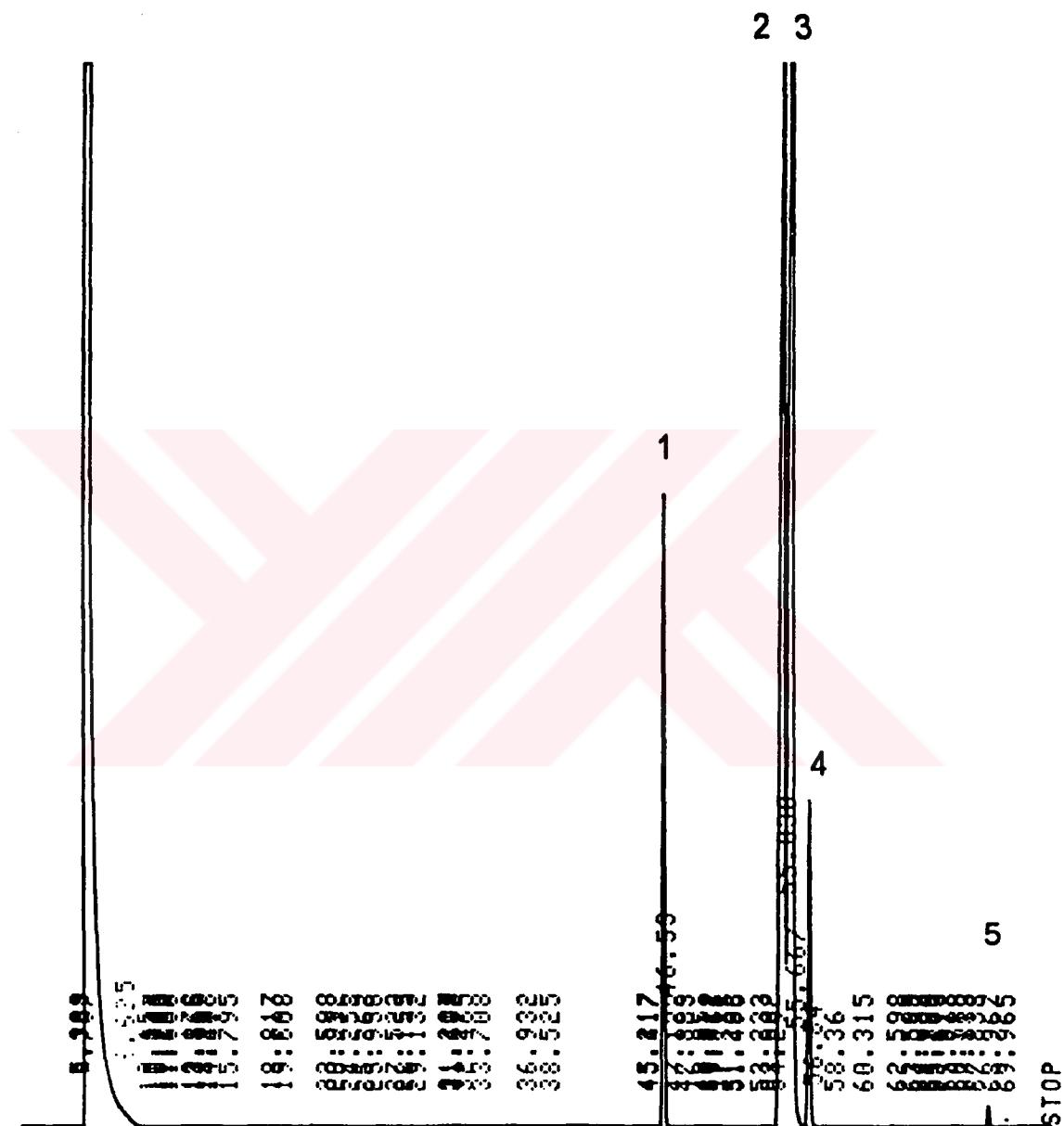
125°C ye kadar 5°C/dak. artış,

240°C ye kadar 1°C/dak. artış,

240°C de 30 dak.

Tablo 6: Susam Yağı Sabunlaşan Kısmı İçindeki Yağ Asitleri ve Miktarları.
Değerler 3 analiz ortalamasını göstermektedir.

MATERİYAL	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit
Susam Yağı	%10,19	%7,09	%44,08	36,96	%0,78



Şekil 12: Susam Yağı Sabunlaşan Kısım İçindeki Yağ Asitlerinin Gaz-Sıvı Kromatogramı

- 1.Palmitik asit; 2.Linoleik asit; 3.Oleik asit; 4.Stearik asit;
- 5.Araşidik asit'e ait pikler.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma; ülkemizde özellikle Ege ve Akdeniz bölgelerinde yaygın bir şekilde kültürü yapılan *Sesamum indicum L.* (susam) tohum yağı üzerinde yapılmıştır.

Çalışmalarımız sırasında soxhelet ekstraksiyonu yöntemi ile (n-hekzan ile) % 52,1 a/a ve soğukta perkolasyon yöntemi ile (n-hekzan ile) % 48,9 a/a oranında susam yağı elde edilmiştir. Soxhelet ekstraksiyonu sırasında uygulanan ısının elde edilen sabit yağ miktarını artırdığı tesbit edilmiştir. Soxhelet ekstraksiyonu ile elde edilen sabit yağ miktarının, literatürlerde verilen %46,5-53,3 (18), %53 (41) değerlere uygunluk gösterdiği tesbit edilmiştir.

n-Hekzan ile soxhelet ekstraksiyonu sonucu elde edilen susam yağıının ve piyasadan elde edilen susam yağıının özellikleri farmakope yöntemlerine göre belirlenmiştir. Bu bulgular tablo 4' de özetlenmiştir.

Tablo 4 : Susam yağıının özellikleri

NUMUNE	Asit indisi	Sabunlaşma indisi	Peroksit indisi	İyot indisi
Susam Yağı	0,307	192,1	4,48	101,4
Hazır susam yağı	0,527	194,4	5,23	118,5

Tez çalışmaları ile elde edilen bulgular Tablo 7'de verilen Farmakope değerleri ile karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlara ulaşılmaktadır.

Tablo 7 : Susam yağıının Farmakopelerde belirtilen özelliklerı.

Farmakopeler	Asit indisisi	Sabunlaşma indisisi	Peroksit indisisi	İyot indisisi
BP 1993	0,6dan fazla olmamalı	-	5,0 dan fazla olmamalı	-
USP 1990	-	188 den az 195 den fazla olmamalı	-	103 den az 116 dan fazla olmamalı

Her iki numunenin de asit indisleri (BP 1993'e) ve sabunlaşma indisleri (USP 1990'a) uygun bulunmuştur.

Tarsus kaynaklı susam yağıının iyot indisisi USP 1990'da belirtilen değerlerden düşük bulunmuştur.Piyasadan temin edilen susam yağıının iyot indisisi ise USP 1990'a göre yüksek bulunmuştur.

Tarsus kaynaklı susam yağıının peroksit indisisi BP 1993'e uygun bulunmuştur. Hazır susam yağıının peroksit indisisi ise BP 1993'ün bildirdiği değerlerden fazla bulunmuştur.

Sabunlaşmayan kısım miktar tayini USP XXII' e göre yapılmıştır. Sonuçta Tarsus kaynaklı susam yağıının içeriği sabunlaşmayan kısım miktarı % 0,94 a/a olarak bulunmuştur. Bu değer farmakopelerde verilen değerlerle karşılaştırılmıştır. Susam yağıının sabunlaşmayan kısım miktarı BP 1993'e göre %1,8 a/a ve USP 1990'a göre de % 1,5 a/a dan fazla

olmamalıdır. Buna göre susam yağıının içeriği sabunlaşmayan kısım miktarı her iki farmakopeye de uygunluk göstermektedir.

Susam yağıının sabunlaşmayan fraksiyonundan hareketle sesamolin izole edilmiştir. Saf olarak elde edilen sesamolin' in kimyasal yapısı $^1\text{H-NMR}$ yöntemi ve diğer spektral yöntemler kullanılarak tespit edilmiştir.

Bunlardan MS(kütle spektrumu) ile bileşiğin moleküler iyon pikinin m/e:370,1 olduğu bulunmuştur. Majör parçalanma iyonları ise m/e: 233, 203 ve 138 olarak saptanmıştır. Bu değerler literatürlerle karşılaştırıldığında sesamolin'e identiktir (26).

Standart sesamolin ile izole edilen bileşiğin UV-spektrumları çekilerek maximum ve minumum absorbsiyon değerleri saptanmıştır. Birbirlerine çok yakın olan bu değerler ayrıca literatürdeki değerler ile karşılaştırılmıştır (16).

YBSK ile susam yağıının içeriği sesamolin miktarı tespit edilmiştir. Analizler sırasında susam yağı direkt n-hekzan içerisinde çözülkerek YBSK'na uygulanmıştır.

Standart sesamolin' in kalibrasyon eğrisinden hareketle oluşturulan $y=1,52512 \cdot 10^6 X - 30513,6$ doğru denkleminden faydalılarak sesamolin miktarı % 0,563 olarak bulunmuştur. Bu değer daha önce yapılmış çalışmalarda bulunan değerler ile karşılaştırılmıştır. Daha önceki çalışmalarda sesamolin miktarı ; %0,02-0,04 (48) ; %0,512 (23) olarak bildirilmiştir. Çalışmalar sonucu bulunan sesamolin miktarının literatürlerde verilen değerlere yakın olduğu görülmüştür.

Metcalfe-1966 yöntemi ile susam yağıının, yağ asitlerinin metil esterleri hazırlanmıştır ve GSK ile yağ asitlerinin miktarları tesbit edilmiştir. Analizler sonucunda soxhelet ekstraksiyonu ile elde edilen susam yağıının sabunlaşan kısmında palmitik asit % 10,19; stearik asit % 7,09 ; oleik asit % 44,08 ; linoleik asit % 36,96 ve araşidik asit % 0,78 olarak bulunmuştur. Bu bulgular Türkiye'de tarımı yapılan susam tohumlarından elde edilen sabit yağıın, ilk kez kapiller gaz kromatografi yöntemi ile analizi sonucu ortaya konmuş bulgulardır. Sonuçlar literatürlerde verilen değerler ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 6:Susam Yağı Sabunlaşan Kısım İçindeki Yağ Asitleri Miktarları

Literatür no	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit
56	10,44	6,29	36,31	45,69	1,2
46	9,5-11,5	3,1-4,1	43,2-44,5	40,5-43,2	eser
58	9,5	4,4	39,6	46,0	eser

Palmitik asit, oleik asit ve araşidik asit miktarları literatürlerde verilen değerlere uygunluk göstermektedir. Ancak stearik asit miktarı, literatürde verilen değerlerden bir miktar fazla bulunmuştur. Linoleik asit miktarı ise literatürde verilen değerlerden az bulunmuştur. Bununla birlikte susam yağıının yağ asitleri miktarları için BP 1988' de verilen değerlere stearik asit hariç uygunluk göstermektedir. BP 1988'e göre; Palmitik asit % 7-12,0 ; Stearik asit % 3,5-6,0 ; Oleik asit % 35-50 ; Linoleik asit % 35-50 ; Araşidik asit % 1' den fazla olmamalıdır.

Susam tohumu mikroskop altında incelendiğinde; tohumun bol yağ taşıyan testa ve kotiledondan meydana geldiği ve endosperma içermediği tesbit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmalar sonucunda; Ülkemizin önemli kültür bitkilerinden biri olan susam bitkisinin yağını, fizikokimyasal özelliklerinin farmakope standartlarına uyduğu saptanmıştır. Bu da ülkemizde farmasötik kalitede susam yağı üretiminin mümkün olabileceğini göstermektedir. Bu tezde ortaya konan araştırma sonuçları; konu ile ilgili olarak yapılacak çalışmalarda girişimcilere yardımcı olacaktır.

6.ÖZET

Sesamum indicum L. ülkemizde özellikle Ege ve Akdeniz bölgelerinde yaygın kültürü yapılan bir bitkidir.

Susam tohumlarından soxhelet ekstraksiyonu yöntemi sonucu % 52,1 a/a ve soğukta perkolasyon yöntemi sonucu da % 48,9 a/a oranında susam yağı elde edilmiştir.

n-Hekzan ile soxhelet ekstraksiyonu sonucu elde edilen susam yağıının ve piyasadan temin edilen susam yağıının sabunlaşma indisi, peroksit indisi, iyot indisi ve asit indisi tayin edilmiştir.

Tablo 4: Susam yağıının özellikleri

Numune	Asit indisi	Sabunlaşma indisi	Peroksit indisi	Iyot indisi
Susam Yağı	0,307	192,1	4,48	101,4
Hazır Susam Yağı	0,527	194,4	5,23	118,5

Susam yağıının sabunlaşmayan fraksiyonundan sesamolin izole edilmiştir. Izole edilen sesamolin'in yapısı $^1\text{H-NMR}$, UV ve MS Spektroskopik yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

YBSK ile susam yağıının içeriği sesamolin miktarı tayin edilmiştir. Analizler sırasında μ -Porasil (4,9mm.x 25cm.) normal faz kolonu üzerinde, n-hekzan : etilasetat (95:5) solvan sistemi kullanılarak, 2ml/dak akış hızında ayırım yapılmıştır.

Analizler sonucunda Tarsus kaynaklı susam yağıının içерdiği sesamolin miktarı % 0,563 olarak bulunmuştur.

Metcalfe-1966 yöntemi ile metil esterleri haline getirilen susam yağıının yağ asitlerinin analizi GSK ile yapılmıştır. Analizler sırasında; SE-52 (kapiller-50m.) kolon, FID dedektör ve azot taşıyıcı gazı kullanılmıştır. Analiz süresi 70 dakikadır ve çok iyi ayırım elde edilmektedir.

Soxhelet ekstraksiyonu sonucu elde edilen susam yağıının sabunlaşan kısmı içindeki yağ asitleri miktarları tablo 6 da verilmiştir.

Tablo 6: Susam yağı sabunlaşan kısım içindeki yağ asitleri miktarları.

	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit
Susam Yağı	10,19	7,09	44,08	36,96	0,78

Sabunlaşmayan kısım miktar tayini USP XXII'e göre yapılmıştır ve % 0,94 a/a olarak tesbit edilmiştir.

Susam tohumu mikroskop altında incelendiğinde; tohumun bol yağ taşıyan testa ve kotiledondan meydana geldiğini ve endosperma içermediği tesbit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Susam , Sesamum indicum L. , Yağ asitleri , Sesamolin.

7.SUMMARY

Sesamum indicum L. is a widely cultivated plant, especially in Aegean and Mediterrenean regions of our country.

By using soxhelet exraction method 52,1 % w/w and with cold percolation method 48,9 % w/w sesame oil was obtained from sesame seeds.

Saponification, peroxide, iodine and acid value for sesame oil which was obtained by n-hexane percolation, by soxhelet extraction and for commercial sesame oil were determined.

Table 4 : Properties of Sesame Oil.

Sample	Acid value	Saponification value	Peroxide value	Iodine value
Sesame oil	0,307	192,1	4,48	101,4
Commercial sesame oil	0,527	194,4	5,23	118,5

Sesamolin was isolated from the non saponified fraction of sesame oil, structure of the isolated sesamolin was clarified by using $^1\text{H-NMR}$, UV and MS spectroscopic methods.

Amount of sesamolin in sesame oil was assayed by HPLC on μ -Porasil (4,9mmX25cm) normal phase column by using n-hexan:ethylacetat solvent system with flow rate of 2ml/min.

As a result of the analysis it is found that sesame oil of Tarsus origin contains 0,563 % sesamolin.

Fatty acids of sesame oil which was converted to methyl esters by using Metcalfe-1966 method, have been analyzed by capillary GLC on SE-52 column ,FID detector and nitrogen carrying gas were used during analysis. Period of analysis is 70 minutes and very good seperation is achieved.

Amount of fatty acids in the saponified part of sesame oil obtained by soxhelet extraction is given in table 6.

Table 6: Amount of Fatty acids in Saponified part of Sesame Oil.

Sample	Palmitic acid	Stearic acid	Oleic acid	Linoleic acid	Arachidic acid
Sesame oil	10,19	7,09	44,08	36,96	0,78

Quantity of unsaponified matter was determined according to USP XXII and was found to be 0,94 % w/w.

Microscopical studies revealed that sesame seed is composed of oily testa and cotyledon but has no endosperm.

Key Words: Sesame, *Sesamum indicum* L., Fatty acids, Sesamolin.

KAYNAKLAR

1. ABOU HADEED ,A.M.F., KOTB ,A.R: A Data Processing Method for the Determination of the Concentration of the Components of Unsaponifiable Matter in Vegetable Oils. *Food Chemistry*, 35, 167-178,1990.
2. ANSELMI,S., CESARI,A: Sesame Oil in Margarine and in Similar Fats, Additions of Coloring Matters. *Ann. Chim. (Rome)* 41, 573-586, 1951. Ref. C.A: 46:6852g.
3. ATAKİŞI, K: Yağ Bitkileri Yetiştirme ve İslahi.Ç.Ü.Ziraat Fakültesi Ofset ve Cilt basım ünitesi, Adana,1975.
4. BAYTOP , A:Farmasötik Botanik. Baha matbaası, İstanbul, 1967.
5. BEROZA,M: Determination of sesamin, sesamolin and sesamol. *Analytical Chemistry*.26(7), 1173-1176, 1954.
6. IBID: Pyrethrum Synerjists in Sesame Oil. Sesamolin, a Potent Synerjist. *The American Oil Chemists' Society Journal*.31, 302-305,1954.
7. BOULOS,L: Medicinal Plants of North Africa. Reference Publications, Inc., USA, pp.141-142, 1983.
8. BRUGGEMAN,L: Tropical Plants and Their Cultivation.Thames and Hudson, London, pp.51-52,1957.
9. BUDOWSKI,P: Sesame Oil.VII.Optical Rotation and the Minor Components of Sesame Oil. *The American Oil Chemists' Society Journal* .28 , 54-55,1951.
- 10.IBID: Recent Research on sesamin, sesamolin and related compounds.*The American Oil Chemist's Society Journal* , 41,280-285,1963.
- 11.IBID: Sesame Oil.III.Antioksidant Properties of Sesamol. *The American Oil Chemist's Society Journal* ,27, 264-267,1950.
- 12.BUDOWSKI,P.,MARKLEY, K.S:The Chemical and Physiological Properties of Sesame Oil. *Chem. Rew.*48,125-151,1950.
- 13.BUDOWSKI,P., O'CONNOR,R.T., FIELD,E.T: Sesame Oil.IV. Determination of Free and Bound Sesamol. *The American Oil Chemists' Society Journal*, 27, 307-310, 1950.

- 14.CANDOLLE,A: Origin of Cultivated Plants. Hafner Publishing Company, New York and London, pp.419-422, 1964.
- 15.CLAUS,E.P., TYLER, V.E., BRADY, L.R:Pharmacognosy. 6 th ed.,Henry Kimpton Publishers, London, pp.148, 1965.
- 16.COORS,V.U.,MONTAG,A: Zum Nachweis von Sesamöl. Fette.Seifen. Annstrichmittel.87(5), 177-180,1985.
- 17.DAVIS,P.H: Flora of Turkey. Vol.6. Edinburgh University Press, Edinburgh, pp.195-196 ,1978.
- 18.DHINDSA, K.S., GUPTA, S.K: Variability in Chemical Composition of Sesame (*Sesamum indicum* L.) HAU J. Res. Hissar. 3(4), 197-201, 1983.
- 19.ECKEY, E.W: Vegetable Fats and Oils. Reinhold Publishing Corporation, New York,pp.746-748,1954.
- 20.EL TINAY,A.H., KHATTAB,A.H., KHIDIR,M.O: Protein and Oil Compositions Of Sesame Seed.The American Oil Chemists' Society Journal, 53, 648-653, 1976.
- 21.FEDELLİ,E.,LANZANI,A.,CAPELLA,P.,JACİNİ,G: Triterpene Alcohols and Sterols of Vegetable Oils. The American Oil Chemists' Society Journal.43 , 254-256,1966.
- 22.FUKUDA,Y.,NAGATA,M.,OSAWA,T.,NAMİKİ,M: Contribution of Lignan Analogues to Antioxidative Activity of Refined Unroasted Sesame Seed Oil. The American Oil Chemists' Society Journal. 63(8),1027-1031,1986.
- 23.IBID:Chemical Aspects of the Antioxidative Activity of Roasted Sesame seed Oil and the Effect of Using the Oil for Frying. Agric. Biol. Chem. 50(4),857-862,1986.
- 24.FUKUDA,Y.,OSAWA, T., NAMIKI, M., OZAKI, T: Studies on Antioxidative Substances in Sesame Seed. Agric. Biol. Chem. 49(2) ,301-306,1985.
- 25.GOULDEN,H.D., KLARMANN,E.G.,POWERS,D.H., SAGARIN,E: Cosmetics Science and Technology. Interscience Publishers, New York , pp.199-203, 1957.
- 26.HASLAM,E: The Stereochemistry of Sesamolin. J. Chem. Soc.(C) 2332-2334, 1970.

- 27.HAYAKAWA, R., MATSUNAGA, K., SUZUKI, M., HOSOKAWA, K., ARIMA,Y., SHIN, C.S., YOSHIDA, M: Is Sesamol Present in Sesame Oil. Contact Dermatitis.17,133-135,1987.
- 28.HILL,A.F: Economic Botany. 2th ed., Mc Graw-Hill Book Company Inc., New York,.pp.192-198, 1951.
- 29.HILDITCH,T.P., SHRIVASTAVA,R.K: Spectrophotometric Determination Of Small Proportions Of Linoleic Acid in Fats.Analyst, 72, 527-531, 1947. Ref. C.A: 42: 245.
- 30.HUDSON,B.J.F: Evening Primrose (Oenothera spp.) Oil and Seed. The American Oil Chemists' Society Journal. 61(3), 540-543, 1983.
- 31.JYOTIRMOY,D., ANITA, G.,AMITABRA,G: Analysis of the Fatty Acid Composition of Some Indian Seed Oils by Gas- Liquid Chromatography.Sesame Oil.Indian j. Appl. Chem. 31(5-6), 218-222, 1968.
- 32.KATSUZAKI,H., KAWAKISHI,S., OSAWA,T: Sesaminol Glucosides in Sesame Seeds. Phytochemistry. 35(3), 773-776, 1994.
- 33.KIKUGAWA, K., ARAI,M., KURECHI,T: Participation of Sesamol in Stability of Sesame Oil. The American Oil Chemists' Society Journal.60(8), 1528-1533, 1983.
- 34.KIM,C., SHIMADA,A., YOSHIMATSU,F: Studies on the Cooking of Sesame Oil (Part 1) Flavor and Stability of Korean Home-Made Sesame Oil Kaseigaku Zasshi. 29(5), 290-296, 1978.
- 35.LYON,C.K: Sesame: Current Knowledge of Composition and Use. The American Oil Chemists' Society Journal. 49, 245-249, 1972.
- 36.MERCK INDEX. Eleventh edition, Published by Merck & Co. INC., New Jersey, pp.1342-1343,1989.
- 37.METCALFE,L.D., SCHIMITA,A.A., PELKA,J.R: Rapid Preparation of Fatty Acid Esters From Lipids for Gas Chromatographic Analysis. Anal. Chem., 38(3), 514-515, 1966.
- 38.NAGATA,M., OSAWA,T., NAMIKI,M., FUKUDA,Y., OZAKI,T: Stereochemical Structures of Antioxidative Bisepoxylignans, Sesaminol and Its Isomers, Transformed from Sesamolin. Agric. Biol. Chem. 51(5), 1285-1289, 1987.

- 39.NATARAJAN,S., CAMA.,H.R: Nutritive Value of Differrently Processed Peanut and Sesame Oils. Indian Oilseeds J.5, 284-290, 1961.
- 40.PERRY,J.J.: The Effects of Fatty Acids on Growth And Antibiotic Production by Streptomyces. Can. J. Microbiol. 7,777-783,1961.
Ref. C.A: 67:5213
- 41.RAIE,M.Y., SALMA: Sesamum indicum And Papaver somniferum Oils. Fette. Seifen. Anstrichmittel. 87(6), 246-247, 1985.
- 42.SEÇMEN,Ö: Tohumlu Bitkiler Sistemi. E.Ü. Yayınları, No:116, İzmir, pp.287,1988.
- 43.SENGUPTA,A., ROYCHOUDHURY,S.K: Triglyceride Composition of Sesamum indicum Seed Oil. J. Sci. Food Agric. 27,165-169, 1976.
- 44.SPEEK, A.J.,SCHRIJVER, J., SCHREURS, W.H.P: Vitamin E Composition of Some Seed Oils as Determination by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorometric Detection. Journal of Food Science. 50, 121-124, 1985.
- 45.SUAREZ, C., O'CONNOR,R.T., FIELD,E.T., BICKFORD,W.G: Determination of Sesamol, Sesamolin and Sesamin in Sesamin Concentrates and Oils. Anal. Chem. 24, 268-271, 1952.
- 46.ŞENELET,S: Yağların Tanınmasında Yağ Asitlerinin Gaz Kromatografisi ile Ayrılması Yöntemi. Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi. 38(1,2,3), 266-286, 1978.
- 47.TANKER,M., TANKER.,N: Farmakognozi. Cilt 2. A.Ü.Basimevi, Ankara, pp.337-341, 1990.
- 48.TASHIRO, T., FUKUDA, Y., OSAWA, T.,NAMIKI, M: Oil and Minor Components of Sesame (Sesamum indicum L.) Strains. The American Oil Chemists' Society Journal. 67(8), 508-511, 1990.
- 49.T.C.BAŞBAKANLIK DEVLET İSTATİSTİK ENSTİTÜSÜ YILLİĞİ: Devlet İstatistik Enstitüsü Matbası, Ankara, 1995.
- 50.T.C.BAŞBAKANLIK DEVLET İSTATİSTİK ENSTİTÜSÜ, Tarımsal Yapı ve Üretim 1993: Devlet İstatistik Enstitüsü Matbası, Ankara, 1995.
- 51.TREASE, G.E., EVANS, W.C: Pharmacognosy. 12th ed., Language Book Society , Oxford, pp.329, 1983.

- 52.TORU,T., YUTAKA,I: Glass Capillary Gas Chromatography of Fatty Acids From Refined Vegetable Oils. *Yukagaku*, 33(1), 23-28, 1984.
- 53.TÜFEKÇİ,F: Yağ Sanayi Araştırması. Araştırma Müdürlüğü Basımevi, İstanbul, pp.16-17, 1976.
- 54.WALDE, P., NASTRUZZI,C: Application of a New, Simple and Economic Colorimetric Method for the Determination of Non-Esterified Fatty Acids in Vegetable Oils. *Food Chemistry*, 39,249-256, 1991.
- 55.WALDE,P: A Colorimetric Determination of Fatty Acids as a New Assay of Lipases in Reverse Micelles. *The American Oil Chemists' Society Journal*, 67(2), 110-115, 1990.
- 56.YAZICIOĞLU,T., KARAALİ,A: On The Fatty Acid Composition of Turkish Vegetable Oils. *Fette. Seifen. Anstrichmittel.* 85(1), 23-29, 1983.
- 57.YENTÜR,S: Bitki Anatomisi. İ.Ü.Yayınları,İstanbul, pp.516-541, 1995.
- 58.YERMANOS, D.M., HEMSTREET,S., SALEEB,W: Oil Content and Composition of the Seed in the World Collection of Sesame Introductions. *The American Oil Chemists' Society Journal*, 49,20-23, 1972.
- 59.ZEYBEK,N., ZEYBEK.,U: Farmasötik Botanik. Ege Ü. Basımevi, İzmir, pp.361-362, 1994.

FAYDALANILAN FARMAKOPELER

60.British Pharmacopoeia 1993, Printed in the United Kingdom for HMSO, London ,1993.

61.The United States Pharmacopeia 22nd. rev., The United States Pharmacopeial Convention. Inc, 1990.

