

T. C.  
Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı  
Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha  
Enstitüsü

TÜRK  
HIJİYEN ve TECRÜBÎ  
BİYOLOJİ DERGİSİ

Cilt: XXXVII — Sayı : 3

(1977)

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

□

REVUE TURQUE D'HYGIENE ET DE BIOLOGIE EXPERIMENTALE

□

TÜRKISCHE ZEITSCHRIFT FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

TÜRK HIJ. TEC. BİYOL. DERG.

Vol: XXXVII — No: 3

# Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi

Sorumlu Yayın Yönetmeni: Bak. Dr. Necmettin ALKIŞ

Yayın Kurulu  
(Editorial Board)

Bak. Turgut TULGA  
Doç. Dr. Orhan YALÇINDAĞ  
Dr. Günay OSMANLIOĞLU  
Gıda Uz. Mehmet BOZKURT  
Mik. Dr. Sevgi TÜRET  
Ecz. Akil ÇELEBİOĞLU

ISSUED BY  
PUBLIÈ PAR  
HERAUSGEGEBEN VOM

REFİK SAYDAM MERKEZ HIFZISSIHHA ENSTİTÜSÜ (ANKARA)

Senede üç defa çıkar

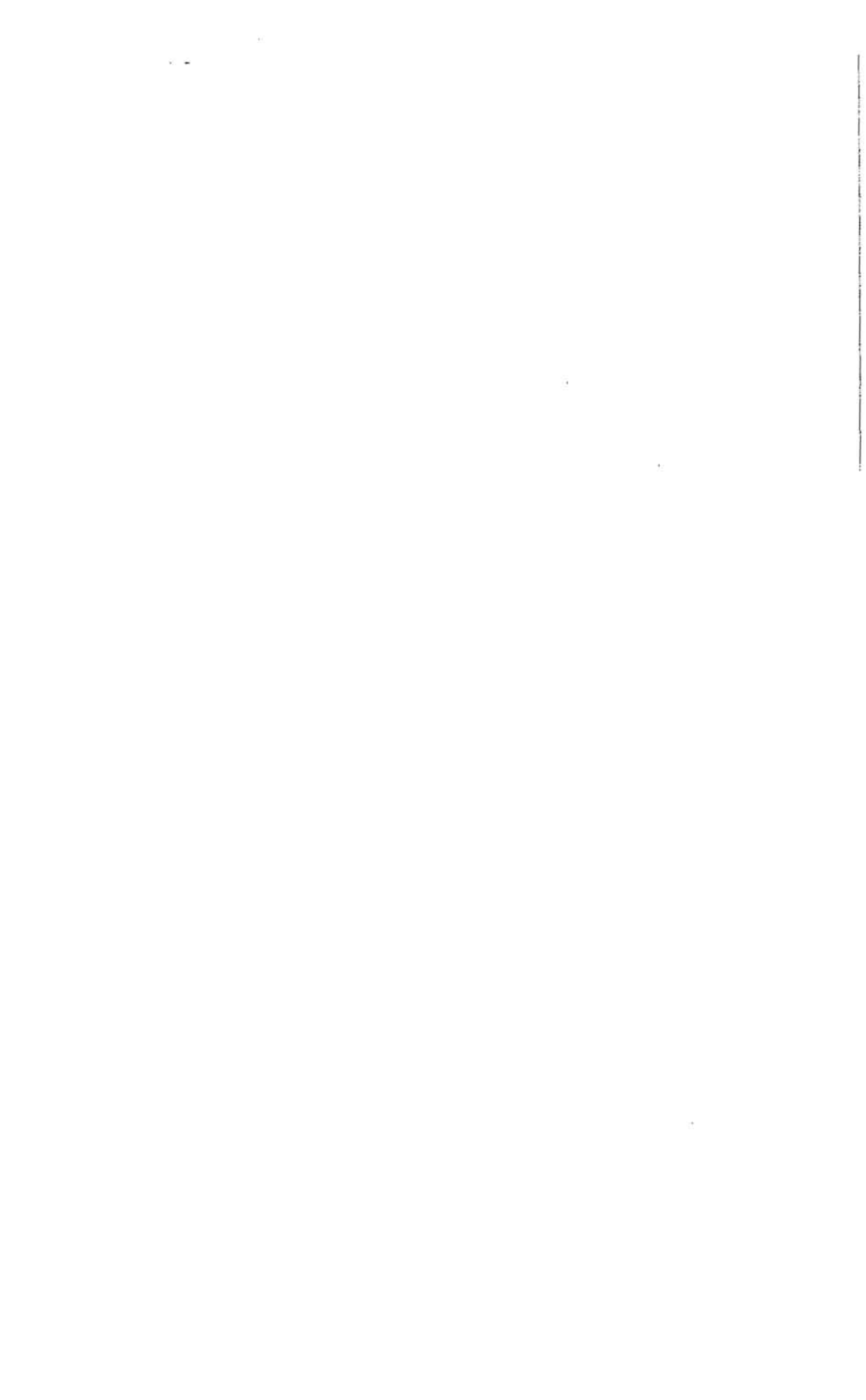
The Bulletin is issued three times a year.

Revue paraissent trois fois par an.

Die Zeitschrift erscheint dreimal Jaerlich

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1 — Dr. Fahamet YALÇINKAYA Larva migransın Tedavisinde Deneysel Çalışmalar ...	253
2 — Dr. Fahamet YALÇINKAYA Oestrus ovis Larvasının Neden Olduğu Nasomyiasis Olgusu .....	262
3 — Kim. Y. Müh. Serpil ŞENELT Yağların Tanınmasında Yağ Asitlerinin Gaz Kroma- toğrafisi İle Ayrılması Yöntemi .....	266



## LARVA MIGRANSIN TEDAVİSİNDE DENEYSEL ÇALIŞMALAR\*

Dr. Fahamet YALÇINKAYA\*\*

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enst.

### Ö Z E T

Larva migransın sağıtılmasında özel bir ilaç yoktur. Diethylcarbamazine (Hetrazan) ile thiabendazole (Mintezoll) uygulanması önerilmektedir.

Biz thiabendazole'ün larva migranstaki etkinliğini araştırmak için fareler üzerinde deneysel bir çalışma yaptık.

Farelerin enfeksiyonunda kullandığımız yumurtalar, köpeklerden toplanan *Toxocara canis*'lerin uterusundan hazırlanan yumurta kültüründen elde edildi. Kültürü yapılan yumurtalar oda ısısında geliştirildikten sonra Mc Master yöntemi ile sayılarak farelere ağızdan lastik sonda ile verildi.

Değişik fare grupları 250, 300, 500 yumurta ile infekte edildi. Enfeksiyondan 1,5 saat evvel ve enfeksiyondan 1,5, 24, 48 saat ve 9 gün sonra 100 mgr/kgr. olarak thiabendazole'ün 0,1 lik süspansiyonu uygulandı. Deney fareleri enfeksiyondan 48, 72 saat 7, 12, 40 gün ve 2, 4 ay sonra olmak üzere eterle öldürülüp otopsileri yapıldı. Çıkarılan karaciğer, akciğer, kalp, dalak, böbrek gibi organlar makasla küçültülüp bisturi ile kıyıldıktan sonra fizyolojik tuzlu su ile karıştırılıp sübye yapıldı. Beyin iki lām arasında ezildi. Elde edilen sübye lāma yayılarak mikroskopta larvalar sayıldı ve boyları ölçüldü.

Genel bir değerlendirme ile diyebilirizki erken tedavi yani enfeksiyondan 1,5 saat önce ve 1,5 saat sonra tedavi uygulanan farelerde larva göçü ya hiç olmamış ya da çok az olmuştur.

24 saat sonra tedavi uygulanan ve 48 saat sonra otopsi yapılan farelerde larvalara karaciğerde daha az sayıda rastlanmış ve boylarının kontrollara göre kısa kaldığı gözlenmiştir.

48 saat sonra tedavi uygulanan ve 1-12 gün sonra otopsi yapılanlarda larvalara rastlanmamış, kontrolların hepsinde karaciğer, akciğer ve beyinde rastlanmıştır.

9 gün sonra, yani geç tedavi uygulanan ve 40 gün, 2, 4 ay sonra otopsi yapılan gurupta ise kontrollarla fark görülmemiştir. Gurup farelerinde de, kontrollarda da larvalara beyinde rastlanmıştır.

Bu deneyler bize thiabendazole'ün erken kullanılmak koşulu ile etkin olabileceği izlenimini vermiştir.

(\*) 1. Akdeniz Parazitoloji Konferansında (7.10.9771) tebliğ edilmiştir.

(\*\*) Parazitoloji Lab. Şefi

## GİRİŞ:

T. canis ve T. cati gibi köpek ve kedi nematodlarına ait larvaların, insanın iç organlarındaki göçüne «visceral larva migrans» denir.

Yutulmuş embriyonlu yumurtalardan ince barsakta çıkan larvalar göçe başlar karaciğer, kalp, akciğer yolunu izleyerek büyük dolaşıma geçer ve çeşitli iç organlara ulaşır. En çok bulunduğu organlar karaciğer, akciğer ve beyindir. Diğer organlar ve gözde de rastlanır (1, 2, 8). Bazı yazarlar T. canis için insanı ara konakçı ya da taşıt konakçı olarak kabul ederler (3).

1947 de Perlingiero ve György, yüksek eozinofili ile organlardaki granülomatöz lezyonları tanımladı. Etkenin T. canis larvaları olduğu 1952 de P. C. Beaver ve arkadaşları tarafından saptandı ve bu larva göçüne V.L.M. dendi (8, 13).

V.L.M. in tanımlanmasından sonraki 10 yıl içinde (1952 — 1962) dünyanın değişik yerlerinden 159 olgu bildirildi (8). Kuşkusuz gerçekte bu olayların sayısı daha kabardır. Bildirilen olguların azlığı, tanının karaciğer biyopsisi ve laparotomi gibi zor yöntemlere dayanmasından ileri gelmektedir (7).

Yurdumuz köpek ve kedilerinde Toxocara'ların çok yaygın oluşu ve halkımızın bu hayvanlarla sıkı teması, yurdumuzda bir V.L.M. problemi olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim yurdumuzda saptanan geçici eozinofili olaylarının etiyojik orijinleri bilinmemektedir. (6).

Diğer yandan A. lumbricoides, T. canis ve T. cati arasında çapraz bağışıklık ilişkileri bulunduğundan ascariasis'in sık görüldüğü ülkelerde V.L.M. a seyrek rastlanabileceği düşünülebilir (8, 13).

Larvalarla enfekte edilen kovalarda enfeksiyon yinelenirse göç olmamakta ve larvalar büyümektedir (3). Köpek yavrularında da reenfeksiyona karşı etkin bir direnç oluşur (8).

Hastalık daha çok köpeklerle sıkı beraberliği olan 4 yaşındaki çocuklarda görülür (8,12). Hastalık semptomları düzensiz ateş, öksürük, iştahsızlık, huzursuzluk, kas, eklem ve karın ağrıları, deri döküntüleri, hepato-splenomegali, çevre kanında % 80 eozinofili'dir.

Kesin tanı karaciğer biyopsisi ile konur. Toxocara antijeni ile allerjik ve serolojik reaksiyonlar yapılabilir fakat sonuç kesin değildir.

İnsan *T. canis* ve *T. cati*'den başka vahşi hayvanların nematodları ile de enfekte olabilir (11). Yılanlar ve keza gelincik, sansar, kocarca ve porsuk gibi küçük vahşi hayvanlar gaitaları ile sebzeleri kirletir ve insanı enfekte edebilirler. E. K. Unat yurdumuzda kemiricilerin *capillaria hepatica* adlı nematodunu bir hastada saptamıştır.

Hastalığın tedavisi genel olarak yüz güldürücü değildir. (11). Özel bir ilâcı yoktur. Çeşitli ilâçlar önerilmiştir. Bizde thiabendazole'ü fareler üzerinde denedik.

#### MATERYEL VE METOD

Deneylerimize aldığımız beyaz farelerin tanımı için baş, sırt ve kuyrukları değişik renklere boyandı. Sonra 6 şar farelik guruplar yapılarak bunların 3 ü kontrol olarak ayrıldı ve diğer üçüne de tedavi uygulandı. İlâç dozunu kiloya göre belirlemek için hayvanlar tartılarak not edildi.

Farelerin enfeksiyonunda kullanılan yumurtalar, köpeklerden toplanan *Toxocara canis*'lerin uterusundan elde edildi. Mikserde bir miktar su ile karıştırılarak uterusların sübyesi yapıldı. Bu sübye karbon animal ile karıştırılarak 30 cm. çapında 5 cm. derinliğindeki cam kaplara 1 - 1,5 cm. kalınlığında döküldü. Dibe çöken yumurtalara oksijen sağlamak için zaman zaman bagetle karıştırıldı. Oda ısısında bırakıldı. Hazırlanan yumurta kültürü mikroskopta kontrol edilerek gelişimi izlendi. Kültürdeki yumurtalar gelişince Mc Master yöntemi ile sayılarak deney farelerine verildi.

Mc Master yöntemi ile sayım yapmak için, yumurta emülsiyonundan 1 cc alınarak 1 cc doymuş şekerli su ile karıştırıldı. Bu karışımdan bir miktar alıp hava kabarcığı kalmayacak biçimde Mc Master lamına kondu. 10 dakika bekleyip yumurta sayıldı. Sayılan yumurta adedi 6,66 ile çapıldı. Çıkan sayı 2 ile çarpılarak 1 cc ana solüsyondaki yumurta sayısı bulunmuş oldu (lamın hacmi 0,15 cc dir). Doymuş şekerli su elde etmek için 500 gr toz şeker 360 cc su ve 6.5 cc % 5 lik phenol ile karıştırıl-

di. Kùltürde gelişimini tamamlamış yumurtalar Mc Master yöntemi ile sayılarak değişik fare guruplarına 250, 300, 500 adet verildi. Farelerin enfeksiyonunda ağızdan yutturulan lastik son- da kullanıldı. Enfekte edilen 6 farelik gurupların üçüne tedavi uygulandı. Tedavi de thiabendazole'ün % 1 lik süspansiyonun- dan 100 mgr/kgr. lik doz kullanıldı. Tedavi uygulaması enfeksi- yondan 1,5 saat evvel, 1, 5, 24, 48 saat ve 9 gün sonra olmak üzere değişik zamanlarda yapıldı. 6 farelik guruplardaki 3 fa- reye ilaç verilmeyip kontrol olarak bırakıldı.

Enfeksiyondan 48, 72 saat ve 7, 12, 40 gün 2, 4 ay sonra ol- mak üzere fareler eterle öldürölüp otopsileri yapıldı. Çıkarılan karaciğer, akciğer, kalp, dalak, böbrek, gibi organlar makasla küçültölüp bisturi ile kıyıldıktan sonra 37° ye ısıtılmış fizyolo- jik tuzlu su ile karıştırılıp 1-2 dakika santrifüj edilerek çökel- tiden sübye yapıldı. Beyin ise iki lām arasında ezildi. Elde edi- len sübye lāma yayılarak gliserinli su ile karıştırılıp mikroskop- ta larvalar sayıldı ve boyları ölçölüdü.

Çalışmamızda gördük ki farelere verilen yumurta sayısı çok olduğu halde bulduğumuz larvalar çok azdı. Bizim bu göz- lemimiz bir araştırmacı tarafından da teyid edilmiştir (14).

## BULGULARIMIZ

Deneylerimiz 6 şar fareden oluşan 5 gurup üzerinde yapıldı.

1. guruptaki farelere enfeksiyondan 1,5 saat evvel ilaç ve- rilip 500 yumurta yutturuldu. Otopsi 48 saat sonra yapıldı. Bar- sak, karaciğer, ve akciğer incelendi. Deneye giren hiç bir hay- vanda larva görülmedi. Kontrollardan 1 farenin barsağında, bir fareninde karaciğerinde birer larva görölüdü (410.5 µ). Erken te- davi uygulanan bu gurupta ilaç etkili olmuştur.

2. guruptaki farelere 300 yumurta yutturulup enfeksiyon- dan 1,5 saat sonra tedavi uygulandı. Otopsi 72 saat sonra yapıldı. Barsak karaciğer, akciğer incelendi. Farelerin hiç birinde larva görülmedi. İlaç verirken ölen bir farenin ertesi gün otop- sisi yapıldı. Barsaklarca larvalı yumurtalar ölü olarak görölüdü. Kontrollardan bir farede barsakta, bir farede de karaciğerde görölüdü (430.54 µ). Bu gurupta ilacın etkisi bir önceki gurupta- ki gibi olmuştur.



3. gruptaki farelere 250 yumurta yutturulup, enfeksiyondan 24 saat sonra tedavi uygulandı. Otopsi 48 saat sonra yapıldı. Karaciğer, akciğer, kalp, dalak, böbrek ve beyin incelendi. Deneye giren farelerden birinin karaciğerinde 1 larva görüldü (410.54  $\mu$ ). Kontrolların ikisinin karaciğerinde larva görüldü. Bir kontrolde görülen tek larva 426.33  $\mu$ , ikinci kontroldaki 2 larva da 442.12  $\mu$  idi. Bu gurubun kontrol farelerindeki larva sayısı ve uzunluğu deney farelerinden fazladır. İlacın bu grupta da bir etkisi olmuştur.

4. gruptaki farelere 250 yumurta yutturulup enfeksiyondan 48 saat sonra tedavi uygulandı. Otopsi 7 - 12 gün sonra (evvelkilerden daha geç) yapıldı. Karaciğer, akciğer, kalp, dalak, böbrek ve beyin incelendi. Deneye giren farelerde hiç larva görülmedi. Kontrolların hepsinde değişik organlarda larva görüldü. Birinci kontrolün karaciğerinde 1 larva (378.96  $\mu$ ), beyninde 1 larva (631.60  $\mu$ ). İkinci kontrolün akciğerinde 2 larva (442.12  $\mu$ , 410.54  $\mu$ ). Üçüncü kontrolün beyninde 1 larva (569.34  $\mu$ ) saptandı. Bu grupta ilacın etkisi belirgin biçimdedir.

5. gruptaki farelere 250 yumurta yutturulup enfeksiyondan 9 gün sonra tedavi uygulandı. Otopsi 40 gün, 2, 4 ay sonra yapıldı. Karaciğer, akciğer, kalp, dalak, böbrek, ve beyin incelendi. Deneye giren farelerin birinin beyninde 1 larva (521.07  $\mu$ ) ikincisinin beyninde 2 larva (426.33  $\mu$  - 457.91  $\mu$ ) görüldü. Bu grupta deney fareleri ile kontroller arasında larvaların sayısı bakımından bir fark bulunmayıp kontrollerdeki larva uzunluğunun biraz daha fazla olduğu görülmüştür. Bu da geç uygulanan tedavide etki oranının azaldığı biçiminde yorumlanabilir.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmamızda uyguladığımız teknik diğer araştırmacıların kullandığı tekniğe benzemektedir. Deneylerimizde kullandığımız yumurtalar, diğer bazı araştırmacılar gibi (5, 10) erişkin *T. canis*'in uterusundan sağlandı. Bazı araştırmacılar ise (2, 9) gaitadan elde etmiştir. Yumurtaları bizim gibi %5 lik formalinde ve oda ısısında geliştirmişlerdir (2, 5, 9, 10). Kullanılan deney hayvanları genellikle fınık faresi olup (5, 9, 10), bir çalışmada (2) piliç ve güvercin kullanılmıştır.

Deneylerde larvalar genellikle 2 yöntemle elde edilir (2). 1.

yöntemde % 1 lik pepsin (pH 1,5) ve ‰ 83 lük saline içinde dokular 37°C de 3-4 saatte sindirilir. 2. yöntemde: organlar makasla küçültülüp, bistüri ile kıyıldıktan sonra % 1 lik pepsinde yapılan süspansiyon 37°C de 3-4 saat tutulur. Santrifüj edilip sedimentten elde edilen larvalar incelenir. Bu 2. yöntemin evvelkinden daha iyi sonuç verdiği bildiriliyor (2). Biz küçük bir değişiklik yapıp 2. yöntemi uyguladık. Pepsinle süspansiyon yapma yerine başka bir çalışmada da uygulandığı gibi (14) gerilen gazlı beze kıyılmış parçalar konduktan sonra 37° ye ısıtılmış fizyolojik tuzlu su koyduk ve 37° lik etüvde 20 dakika bekletildikten sonra 1-2 dakika santrifüje edip çökeltiden yapılan preparatlarda larvaları aradık.

V.L.M. in sağıtılmasında özel bir ilaç yoktur (8) değişik ilaçlar önerilmiştir.

Bir çalışmada köpeklerde *T. canis* ile doğum öncesi enfeksiyon yapılmış ve piperazine citrate'ın değişik dozlardaki etkisi araştırılmıştır. İlacın kullanıldığı 9 hayvanda *T. canis* ile intra uterin bulaşmada bir azalma görülmemiştir (4). Başka bir araştırmada (12) 20 gr. lik beyaz fareler 500 *T. canis* yumurtası ile enfekte edilmiş ve bunlar 3 ayrı ilacın değişik dozları ile sağıtılmışlardır. Piperazine citrate'ın yumurtadan yeni çıkmış larvalar üzerine de, larva migrasyonuna da bir etkisi olmamıştır. Diethylcarbamazine ağızdan 2 değişik doz ve 3 zaman ölçüsünde ve enfeksiyondan 14-16 gün sonra kullanılmıştır. Az dozun larvalara bir etkisi olmamış, eozinofiliyi etkilemiştir. Yüksek dozun larva sayısına az bir etkisi olmuştur.

Oxyphenarsine hydrochloride tedavisi periton içine ve inokulasyondan 14 gün sonra yapılmış hayvanlar 1 hafta sonra öldürülmüştür. Bu 3 ilaçtan en etkilisi bu sonuncu olmuş, larva sayısında bir azalma saptanmıştır. Bazı yazarlar piperazin derivelerinin etkisiz, cortison + antibiyotik bileşiminin endike olduğunu ancak teyid edilmediğini bildirmiştir (11). Genellikle diethylcarbamazine (Hetrazan) (1, 8, 13) ve thiabendazole (Mintezol) (8) önerilmektedir.

Biz de araştırmamızın sonucunda erken uygulamak koşulu ile thiabendazole'ün etkili olabileceği kanısına varmış bulunuyoruz.

## Experimental Investigations On The Treatment of Larva Migrans With Thiabendazole

Dr. Fahamet YALÇINKAYA

### SUMMARY

There is no spesific drug in the treatment of larva migrans. Some outhors recommend administration of diethylcarbamazine (Hetrazan) and Thiabendazole (Mintezol).

In the investigation reported below an attempt was made to evaluate the therapeutic effect of thiabendazole in mice.

The eggs of *T. canis* were incubated at room temperature and calculated by the method of Mc Master after they were cultured in the uterus of *Toxocara canis*.

The animals were divided into several groups according to the number of infective eggs, varied between 250 and 500 and were infected by mouth. The drug was given in a dose of 100 mgr per kgr. of body weight. The treatment was started 1, 5, 24, 48 hours and 9 days after infection.

Animals were killed 48, 72 hours and 40, 60 days and 4 months after infection. Some important organs, including heart liver, kidney, lung, spleen and brain were examined.

In our investigation we could say in evaluating the result of treatment, according to the recovery of the typical larval migration through the organs :

a. No or very few lesions were found in groups of mice which were treated 1, 5 hours before or 1, 5 hours after infection.

b. Lesions were found in the group of mice which were treated 24 hours and killed 48 hours after infection, but the number of lesions were less than the number in the control group.

c. No larvae were observed in mice which were treated 48 hours and killed 7 to 12 days after infection.

d. Lesions were found in the brains of mice which were treated 9 days after infection and killed 40 - 120 days after exposure. The number and the size of larvae were the same as the number and size of controls.

Our investigation has shown that early administration of thiabendazole could be effective in the treatment of larva migrans.

### Les Travaux Expérimentals sur le Traitement de la Larva Migrans

#### RÉSUMÉ

Nos essais ont été effectués dans cinq groupes. Chaque groupe contenait six souris. Trois d'entre elles étaient des souris de contrôle, les trois autres se sont prises à l'épreuve.

Nous avons commencé par obtenir des oeufs de *Toxocara canis* en divisant leur utérus.

Dès que l'évolution des larves a eu lieu nous avons infecté les souris. Nous les avons ingérés par le moyen d'une sonde digestive. Le nombre des oeufs ingéré changeait entre deux cents à cinq cents.

On a pratiqué le thiabendazole en suspension d'un pour cent en dose de cent mgr. par kilogramme.

Après qu'ils étaient infectés nous avons tué l'éther. Nous avons fait leurs autopsie. On a examiné les préparations de foie, de coeur, de rate, des poumons, des reins des souris sous le microscope. Ainsi nous avons établi le nombre et la longueur des larves.

D'après ce que nous avons observé dans un traitement pratiqué tard, l'effet thérapeutique de ce médicament se diminue.

En somme il est possible que le thiabendazole soit efficace si on l'emploie tôt.

#### KAYNAKLAR

- 1 — Çetin E. T., Ang. Ö., Töreci. K. : Tibbi Parazitoloji. Hilal Mat. Koll. Şti. Ist. 1973
- 2 — Gabin. T. J. : Experimental *Toxocara canis* infections in chickens and pigeons. J. Parasitology. 50.1. 124 - 127. 1964

- 3 — Gailliard, H. : Larva Migrans viscérale. La presse medicale 39. 916 - 918, 1957
- 4 — Hayes, F. A., Mc. Daniel, H. : An evaluation of piperazine citrate for preventing prenatal infections with the common dog ascarid (*Toxocara canis*). J. Amer. Vet. Med. Ass. 134/12 565 - 567. Excerpta medica 6.3 323, 1960.
- 5 — Lee H. F. : Effects of super infection the behavior of *Toxocara canis* larvae in mice. J. Parasitology, 5. 583-598. 1960
- 6 — Merdivenci, A. : İnsanın eozinofili sendromlarında larval ascariasis'in önemi ve larval ascariasis'de konak-parazit ilişkileri. Sağlık derg. XL. 7-8. 3-24. 1966
- 7 — Merdivenci, A. : İnsanda visceral larva migrans sorunu ve larval Toxocariasis'de konak-parazit-ilişkileri. Sağlık Derg. XL İv. 1-2. 1970
- 8 — Merdivenci, A. : Medikal Helmintoloji. s. 179. Hilal Mat. Koll. Şti. İst. 1973
- 9 — Nichols, R. L. : The etiology of visceral larva migrans 1. Diagnostic morphology of infective second - stage toxocara larvae. J. Parasitology. 42.4.1956.
- 10 — Oshima, T. : Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migrations routes of the larvae. J. Parasitology. 652-656. 1961
- 11 — Petter, C. : Etude Zoologique de la larva migrans. Ann. de Parasitol. 35. 1-2. 118-137. 1960
- 12 — Pike, E. H. : Effect of diethylcarbamazine, oxophenarsine hydrockloride and piperazine citrate on *Toxocara canis* larvae in mice. exp. Parasit. 9/3 223-232.1960
- 13 — Tiğın, Y. : İnsan ve evcil hayvanlarda larva migrans. T. Vet. Hek. Dern. Derg. 40.9.1970
- 14 — Yanç, F. : *Toxocara cati* yumurtalarının ısıya karşı mukavemetleri. İ. Ü. Tıp Fak. Mec. 16. 1553

## OESTRUS OVIS LARVASININ NEDEN OLDUĞU NASOMYIASIS OLGUSU

Dr. Fahamet YALÇINKAYA (\*)

Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enst.

### Ö Z E T

Olgumuz 12 aylık bir erkek çocuktur. Çocuğun burnundan düştüğü bildirilen bir larva, annesi tarafından tanı için laboratuvarımıza getirilmiş ve *Oestrus ovis* larvası olarak teşhis edilmiştir.

Parazitoloji literatüründe *Oestrus ovis* larvalarından ileri gelen olgular daha çok *Myiasis ocularis*'dir. *Nasomyiasis* sin azlığı nedeniyle olguyu yayınlamayı uygun bulduk.

### GENEL BİLGİ VE OLGU

Dipter larvalarının, insan ve hayvanların doku ya da organlarına salmasına *Myiasis* denir. Larvaların lokalizasyonuna göre çeşitli adlar alır. Burun ve sinüslerin miyazı *Nasomyiasis*'dir. Yurdumuzda ilk *Nasomyiasis* olgusu 1967 de bildirilmiştir. (5). Bu, *Oestrus ovis* in 1. dönem larvalarından ileri gelen ilk burun miyazı olgusudur. O zamana kadar yurdumuzda bu sineğin larvaları ile yalnız göz miyazı olguları bildirilmişti (1, 2, 3). Dünyada ilk olarak Ed. ve Et. Sergent kardeşler 1906 da insanda *Oestrus ovis* in 1. devre larvaları ile meydana gelen *myiasis oculo - nasalis* olgusu yayınlamışlar, daha sonra çeşitli yayınlar birbirini kovalamıştır.

Yerli tip literatürümüzde, gözünden 21 larva toplanan 26 yaşında bir erkek (1), 6 larva toplanan 14 yaşında bir köylü çocuğu (2) ve gözündeki ağrı, yanma, kaşıntı, kızarıklık ve şişlik-

(x) Parazitoloji Lab. Şefi

ten şikâyetçi 48 yaşındaki kadın hasta (3) yer almaktadır. Bunların hepsi *Oestrus ovis*in neden olduğu ophthalmomyiasis olgularıdır. 1926 yılında yayınlanmış bir olgu daha değişiktir (4). Yazar Berlin Vet. Fakültesi enfeksiyon hastalıkları enstitüsünde iken başka bir ilden, 40 yaşındaki bir kadına ait kusmukta 50 kadar *Oestrus* larvası saptamıştır. Hastanın 6 aydanberi mide barsak sancısı, iştahsızlık, hazımsızlık çektiği ve kaşektik bir halde olduğu kaydedilmektedir. Hastanın midesi ameliyat edildikten 7 gün sonra kusmukta görülen bu larvaların yutularak mideye indirilmiş olması çok zordur. Yazarın kanısına göre larvaların bulunduğu besin ile geçmiştir.

Koyunların üzerinde yapılan bir araştırma esnasındaki otopside 1., 2., 3. dönem *Oestrus* larvalarına akciğerlerde rastlanmış ve yine bir kuzunun farinksinde 1 ve akciğerinde 6 larva görülmüştür. (6).



Şekil 1. *Oestrus ovis* larvası



Şekil 2. *Oestrus ovis* larvası

Yerli parazitoloji literatüründe, *Oestrus ovis*in 1. dönem larvaları ile daha çok göz miyazı olguları yer aldığı için biz bu bu-

run miyazı olgumuzu meslektaşlarımız duyurmayı uygun bulduk.

Olgumuz O. E. 13 aylık bir erkek çocuktur. Yeni Turan mahallesinde oturmaktadır. Çocuğun annesi tanı için laboratuvarımıza getirdiği larvayı çocuğun bir gün önce burnundan düşürdüğünü bildirdi. Larva *Oestrus ovis* larvası olarak teşhis edildi.

Myiasis yapması nedeniyle bu sineğin yalnız larvalarının tıbbi önemi vardır. İnsan bu parazitin normal konağı değildir. bu nedenle insanda larvalar 1. dönemden daha ileri gidememektedir (5). Larvalar koyun ve keçilerin burun boşluklarında, sinüslerinde yaşarlar. Bütün koyun yetiştiren yerlerde olduğu gibi yurdumuzda da rastlanır.

*Oestrus* soyunda bizi ilgilendiren tek tür *Oestrus ovis* Linnaeus, 1761 dir. Bu sinek 10 - 12 mm. uzunluğunda, koyu gri renktedir. Sinek vivipardır. Larvalarını konakçılarının burun delikleri etrafına, göz kenarına bırakır, bazan hastalar bir sineğin yüzlerine bir şey püskürttüğünü farkederler. Sarımtırak beyaz olan larva burun boşluğuna doğru yol alır. 1 - 9 ayda gelişimini tamamlayarak aksırıkla dışarı atılır. Pupa safhsını 3 - 6 haftada toprakta tamamlayarak ergin hale gelir.

### Sur un cas de Nasomyiasis dû à larve d'*oestrus ovis*

#### RESUME

Notre observation a été effectuée chez un garçon âgé de 13 mois qui habite à Yeni Turan. La mère du garçon nous a apporté une larve éliminée par du nez pour le diagnose. C'était une larve d'*oestrus ovis*.

#### KAYNAKLAR

- 1 — Merdivenci, A. : Türkiyede *Oestrus ovis* (Linnaeus, 1761) in İnsanlarda Sebebiyet Verdiği Bir Myiasis Ocularis Olayı. Sağlık Derg. 31.5.1957.
- 2 -- Oytun, H. Ş. : Ankara Çevrelerinde Bir Çocuğun Gözünde Görülen *Oestrus ovis* Linné, 1761 Larvalarından Mütevellit Ophthalmomyiasis Olayı.



Ank. Tıp. Fak. Mec. 18.3.1965.

- 3 — Tezok, F., Güner, I., Hakkı, A. : Oestrus ovis Larvalarının Sebep Olduğu Bir Eksternal Ophthalmomyiasis Vak'ası Münasebetiyle Ön Rapor. Gülhane Ask. Tıp. Akad. Bül. 8.3.1965.
- 4 — Düzdil, N. : Bir kadının Midesinde Oestrus Sürfeleri. Tıbbi Bayt Mec. 3 (6). 182 - 186. 1926.
- 5 — Unat, E. K., Karatay, S. : Bir Burun Miyazı Vak'ası. İst. Tıp. Fak. Mec. 30.1967.
- 6 — Zeybek, H. : Akciğerde Görülen Oestrus ovis Larvaları. 5. Bilim Kongresi Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Gurubu Tebliğ Özetleri. Tübitak. 120. 1975. Vet. Hek. Dern. Derg. 45.3.1975.

## YAĞLARIN TANINMASINDA YAĞ ASİTLERİNİN GAZ KROMATOĞRAFİSİ İLE AYRILMASI YÖNTEMİ

Kimya Yük. Müh. Serpil ŞENELT (\*)

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enst.

### ÖZET

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin edilen ayçiçeği, zeytinyağı, prina yağı, pamuk yağı, mısırözü yağı, soya yağı, ile haşhaş yağı, çaytohumu yağı, kakao yağı, susam yağı, yer fıstığı yağı numuneleri materyal olarak kullanılarak bu yağların ihtiva ettikleri yağ asitlerinin cins ve miktarları gaz kromatografisi ile tesbit edilmiştir. Yağlar  $H_2SO_4$ /Metanol metodu ile esterleştirildikten sonra 4 mm çap x 1,8 m uzunlukta cam kolon ve 15 % DEGS on Chromosorb W AW DMCS, 60/80 mesh dolgu maddesi kullanılarak 180-195 °C sıcaklıklarda, 50-70 ml/dk. azot akış hızında kolonda ayrılmıştır. Elde edilen piklerin tanınmasında bilinen standartlar, bileşenlerin hesaplanmasında ise üçgen alanı metodu kullanılmıştır. Sonuçlar bu yağlar için literatürde verilen değerlere genellikle uygun düşmektedir.

### GİRİŞ :

Yağların tanınması için laboratuvarlarda kullanılmakta olan analiz metodları genel anlamda iki grupta toplanabilir..

#### 1. Klasik laboratuvar metodları :

Bunlar çok eski yıllardan beri kullanılmakta olan fiziksel ve kimyasal analiz yöntemleridir. Örnek olarak kırılma indisi, iyot sayısı, sabunlaşma sayısı, A ve B indisleri, Reichert Meissl sayısı tayinleri verilebilir.

#### 2. Modern analiz metodları :

---

(\*) Yağ Analiz Lab. sorumlusu

Bunlar ise kromatografik, spektrofotometrik ve benzeri enstrumantal metodlardır. Bu metodların geliştirilip yaygın olarak kullanılmaya başlanılmaları daha çok son yıllarda gerçekleştirilmiştir.

## MATERYEL VE METOD :

### 1. Gaz Kromatografisinin Genel Esasları : (1), (2).

Günümüzde yaygın olarak kullanılmakta olan elektronik laboratuvar cihazlarının başında Gaz Kromatografisi gelmektedir. Cihazın kullanımındaki gaye genellikle bir karışımdaki uçucu bileşenlerin kalitatif ya da kantitatif tayinidir.

Gaz Kromatografisi tekniğinde iki temel sistem vardır :

a) Gaz Sıvı Kromatografisi — bir sıvı faz içerisindeki gazların çözünürlük farkları nedeniyle belirli sıcaklık ve taşıyıcı gaz akış hızında ayrılmaları esasına dayanır. Bu sistemde sıvı faz yüzey alanı büyük olan inert bir maddeye emdirilerek yüzeyi genişletilir.

b) Gaz Katı Kromatografisi — Gazların bir katı faz üzerinde ayrıldığı durumlardır ki burada ayrılma belirli sıcaklıklarda adsorbsiyon - desorbsiyon dengesine bağlı olarak meydana gelmektedir.

### 1.1. Gaz Kromatografisi Cihazı :

Bir Gaz Kromatografinin en önemli kısımları kolon, detektör ve kaydedicidir. Analiz için uygun dolgu maddesi ile doldurulmuş olan kolona çalışma sıcaklığında enjekte edilen nümune kolon girişinde yüksek sıcaklık nedeniyle buharlaşır. Gaz fazına geçen komponentler taşıyıcı gaz olarak kullanılan azot ya da helyum gazı ile sürüklenerek kolonda ilerler ve bu arada sıvı fazda ayrılırlar. Dedektör, kolondan çıkan buhar halindeki bileşenlerin kimyasal veya fiziksel bir özelliğinden yararlanarak tanınmalarını sağlar. Örneğin Alev İyonizasyon Detektörü kullanıldığında taşıyıcı gaz detektörde sabit akım hızındaki hidrojen ve kuru hava ile karışarak yanar. Bu sırada meydana gelen iyonlar bir akım yaratır. Organik buharların iyonlaşmasıyla meydana gelen akım detektördeki elektrotlarla yükselticilere, sonra da kaydediciye gönderilir. Taşıyıcı gaz içerisinde bu-

har bulunmadığında akım çok küçüktür ve kaydedicide düz bir çizgi görülür; kolondan organik buharların çıkmakta olduğu kaydedicide düz çizgiden sapmalar şeklinde görülür ki bu sapmalara pik (tepe) adı verilir. Bu piklerin kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirilmeleri ile istenilen analiz sonuçları elde edilmektedir.

Alev İyonizasyon Detektörünün dışında gaz kromatografisinde çok kullanılan iki dedektör cinsi daha vardır. Bunlar :

- i) Isı İletkenlik Detektörü (Termal Kondaktivite Dedektörü)
- ii) Elektron Yakalayıcı Detektördür.

Isı İletkenlik Detektörü, gaz fazına geçirilebilen her madde için kullanılabilir, ancak fazla hassas değildir. Elektron Yakalayıcı Detektör ise özellikle insektisidlerin analizinde kullanılmakta olup Alev İyonizasyon Detektöründen 1.000, Isı İletkenlik Detektöründen 1.000.000 defa daha hassastır. Alev İyonizasyon Detektörü ise sadece yanabilen organik maddelerin analizinde kullanılabilir.

## 1.2. Kromatogramdaki Piklerin Değerlendirilmesi :

### 1.2.1. Kalitatif Analiz :

Bir bileşenin kolona enjeksiyonundan kolondan çıkışına kadar geçen süreye o bileşenin alıkonulma süresi denir. Gaz Kromatografisinde kalitatif analiz için kullanılan yöntem aynı şartlarda, yani sabit sıcaklık ve taşıyıcı gaz akış hızında ve aynı kolon kullanıldığında elde edilen nümune pikleri ile standard madde piklerinin alıkonulma sürelerinin karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Şartlar sabit tutulduğunda her bileşenin alıkonulma süresinin sabit kaldığı kabul edilebilir. Ancak daha kesin sonuç elde etmek istenildiğinde Infrared analizi veya Gaz Kromatografisinin Kütle Spektrometresine bağlanması yöntemleri tercih edilmektedir.

### 1.2.2. Kantitatif Analiz :

Kantitatif analizde kromatogramdaki piklerin altında kalan alan hesaplanır. Ancak bunun için piklerin iyi bir şekilde ayrılmış olmaları gereklidir. Her pikin alanının toplam pik alanlarına bölünmesiyle o bileşenin nümunedeki bağıl yüzdesi bu-

lanmış olur. Yapılan çalışmalar Alev İyonizasyon Detektörü kullanılarak yapılan gaz kromatografik analizde pik alanlarından hesaplanan değerlerin doğrudan doğruya maddenin numune içerisindeki ağırlık yüzdesi olarak alınabileceğini göstermiştir (3). Ancak Isı İletkenlik Detektörü kullanıldığında durum farklı olmakta ve bir düzeltme faktörü kullanmak gerekmektedir.

Pik alanlarının hesaplanmasında değişik metodlar kullanılmaktadır:

1.2.2.1. En çok kullanılan, üçgen alanı hesaplanmasına dayanan yöntemlerdir. Pikin her iki kenarına birer teğet çizilerek meydana getirilen üçgenin alanı yükseklik ile tabanın yarısı çarpılarak hesaplanır :

$$A = hx - \frac{1}{2}b$$

Burada :

A : alan

h : yükseklik

b : taban uzunluğudur.

Daha genel olarak kullanılan şekilde ise yükseklik ile yüksekliğin orta noktasındaki genişlik çarpılarak alan hesaplanmaktadır :

$$A = h \times b_{(1/2h)}$$

Burada :

$b_{(1/2h)}$  = yüksekliğin orta noktasındaki genişliktir.

1.2.2.2. Bir diğer yöntem pik yüksekliği ile alikonulma sürelerinin çarpılması esasına dayanmaktadır. Piklerin tanınması için alikonulma süreleri ölçülmüş olacağından ilâve olarak sadece pik yüksekliklerinin ölçülmesi gerekmektedir (4), (5).

1.2.2.3. Piklerin kesilerek tek tek tartılması ve her bir pik ağırlığının toplam ağırlığa oranından bileşimin hesaplanması da bir başka metoddur. Ancak burada kullanılan grafik kâğıdının homojen olması gerekmektedir.

1.2.2.4. Üçgen alanlarının hesaplanmasında kaydedici ile birlikte çalışan bir integratör de kullanılabilir. Bu hesaplamaların sağlıklı olabilmesi için ise cihazın tam elektronik sınıfta olması ve piklerin çok iyi ayrılması gereklidir.

1.2.2.5. Pik alanlarının ve dolayısıyla nümune bileşiminin hesaplanmasında en hassas ve en az zaman alan yol yeni geliştirilen elektronik integratör ve kompüter sistemleridir (data system). Bu yöntem kullanıldığında operatöre fazla iş düşmemekte ve bileşenlerin yüzde miktarları çok hassas olarak elektronik sistemle hesaplanmaktadır.

## 2. Yağ Asitlerinin Gaz Kromatografik Analizi :

Yağın esas yapısını yağın bünyesindeki yağ asitlerinin glicerol esterleri teşkil etmektedir. Her yağın cinsine bağlı olarak içerdiği yağ asitlerinin çeşit ve miktarları değişmektedir; bu değerler literatürde verilmiştir (Tablo—II).

Yağların Gaz Kromatografisi ile tanınmalarında takip edilen yol yağın iktiva ettiği yağ asitlerinin tayini esasına dayanmaktadır. Bu konudaki ilk çalışmalar 1952 de James ve Martin tarafından yapılmıştır (6). Formik asitten dodekanoik asite kadar olan yağ asitlerinin ayrılmasını veren ilk kromatogramlar mükemmel olmamakla beraber o günden bu yana üzerlerinde çok çalışma yapılarak bu konuda çok gelişme kaydedilmiştir.

Yağ asitlerinin, polar olduklarından hem kendileriyle ve hem de kolondaki taşıyıcı madde ile reaksiyona girdikleri bilinmektedir. Bunun sonucu olarak simetrik olmayan pikler elde edilir. Ayrıca kolonda absorblanmadan dolayı madde kaybı da olmaktadır. Bu mahzurları ortadan kaldırmak amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Örneğin kolondaki taşıyıcı madde olan Celite'in fosforik asit ile muamele edilmesi, daha inert bir taşıyıcı madde kullanılması ya da taşıyıcı gazın formik asit buharları ile doyurularak kolona verilmesi yoluna gidilmiştir. Metcalfe (7) yüksek karbonlu serbest yağ asitlerinin analizinde % 2 oranında fosforik asitle muamele edilmiş poliester kolon dolgu maddesi kullanmıştır.

Bu gibi yöntemler uygulanarak serbest haldeki yağ asitlerinin gaz kromatografisi ile ayrılması başarılı olmakla beraber, bugün yaygın olarak tercih edilen yağ asitlerinin uçucu esterle-

rine dönüştürülerek kolona verilmesidir ki burada metil esterleri tercih edilmektedir. Bu yöntemin üstünlüğü daha az zorluk çıkartması ve daha iyi netice vermesidir.

#### 2.1. Esterleştirme Metodları :

Yağ asitlerinin esterleştirilmesi için literatürde verilen çeşitli metodlardan en çok kullanılanları aşağıda kısaca açıklanmıştır (8).

##### 2.1.1. Diazometan ile Esterleştirme :

Bu yöntemle esterleşme 2-3 dakikada tamamlanmakla beraber tercih edilmeyen bir methoddur, çünkü diazometanın her seferinde kullanılmadan hemen önce taze hazırlanması gereklidir, ayrıca reaktif toksik ve patlayıcıdır.

##### 2.1.2. Anhidrit HCl/Metanol ile Esterleştirme (9) :

Yağ asitleri anhidrit HCl, benzen ve metanol karışımı ile geri soğutucu altında 2 saat ısıtılır, esterler petrol eterine alınır. Bu methodda HCl yerine  $H_2SO_4$  de kullanılabilir (10). Bu nedenle metoda genel olarak «Mineral Asit Katalizi» adı verilir.

##### 2.1.3. Anhidrit Metanol/Bortrifluorür Metodu (11), (12) :

Yağ asitleri, metanol içerisine  $BF_3$  gazı emdirilerek hazırlanan  $BF_3$ /Metanol reaktifi ile su banyosu üzerinde birkaç dakika ısıtılarak esterleştirilir, petrol eterine alınır, oda sıcaklığında rotary evaporatörde uçurularak konsantre edilir. Bu methodla esterleşme 2-3 dakikada tamamlanmaktadır.

##### 2.1.4. Dimethoxypropane Metodu (13) :

Trigliseridlerin transesterifikasyonu için anhidrit HCl/Metanol işleminde Dimethoxypropane ilâve edilerek esterleştirilen nünuneler, ekstraksiyon ya da temizleme işlemine gerek kalmadan doğrudan doğruya Gaz Kromatografisine enjekte edilebilirler.

Metcalf, Schmitz (11) ve Vorbeck (8) bu yöntemlerin karşılaştırmasını yaparak yüksek karbonlu yağ asitlerinin esterleştirilmesinde metodların herbiriyle de kantitatif sonuçlar elde edildiğini göstermişlerdir. Ancak daha az zaman alması ve basit olması nedeniyle  $BF_3$ /Metanol metodu genellikle tercih edilmektedir.

## 2.2. Gaz Kromatografik Analiz :

Genellikle düşük karbonlu yağ asitleri serbest asitler halinde, daha çok yüksek karbonlu yağ asitlerini ihtiva eden biyolojik maddeler ise metil esterlerine dönüştürülerek Gaz Kromatografisine verilirler. Kolon, nümunenin miktarına, karmaşıklığına ve istenilen ayırma oranına bağlı olarak 5 ft'den, 20 ft uzunluğa kadar ve dış çap 1/8 in veya 1/4 in olacak şekilde seçilebilir.

Kolon dolgu maddesi olarak da çeşitli maddeler kullanılabilir. Yağ asitlerinin metil esterlerinin ayrılmasında hem polar ve hem de apolar dolgu maddeleri kullanılır. Polar olanlara örnek olarak DEGS (Diethylene Glycol Succinate) ve DEGA (Diethylene Glycol Adipate) gibi polyesterler gösterilebilir ki bunlar, çift bağlı yağ asitleri de dahil olmak üzere tam bir ayırma sağlamaktadırlar.

En çok kullanılan iki apolar kolon dolgu maddesi SE-30 ve Apiezon-L'dir. Bunlardan SE-30 yalnızca doymuş yağ asitlerini ayırabilmektedir. Apiezon-L ise buna ilâve olarak bir çifte bağlı yağ asitlerini de ayırabilmektedir. Ancak iki ve üç çifte bağlı olanlar (linoleik asit ve linolenik asit gibi) kromatogramda tek bir pik halinde görünmektedir.

Yağ asitlerinin kromatogramda elde edilmiş sıraları kullanılan kolon dolgu maddesine göre değişmektedir. Örneğin DEGS gibi polar maddelerle çalışıldığında yağ asitleri pikleri karbon sayısı en küçükten en büyüğe ve aynı karbon sayılı yağ asitlerinde ise en fazla doymuştan en az doymuşa doğru sıralanır. Örneğin ilk sayı yağ asidindeki karbon sayısını, ikinci ve çift bağ sayısını vermek üzere :

C 14:0, C 16:0, C 18:0, C 18:1, C 18:2, C 20:0 şeklinde bir sıralanma görülür.

Apolar olan Apiezon-L dolgu maddesi kullanıldığında ise bunun tersine olarak doymamış yağ asitleri doymuş olanlardan önce kromatogramda sıralanmaktadırlar.

## 3. DENEYSEL ÇALIŞMA :

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Yağ Analizleri Laboratuvarında bu konuda bir seneden fazla bir süredir çalış-



malar sürdürülmektedir. Öncelikle bitkisel yağlar elde alınmış, daha sonra çalışmaların hayvansal yağlarla devam ettirilmesi düşünülmüştür.

### 3.1. Materyel :

Bu araştırmada esas olarak kontrol ve analiz için çeşitli il ve ilçelerden laboratuvarımıza gönderilen değişik yağ örnekleri kullanılmıştır. Bunlar :

3.1.1. Naturel ve Rafine Ayçiçek Yağları: Antalya, Balıkesir, Bilecik, Edirne, Erzurum, Eskişehir, Isparta, İstanbul, İzmir, Kırklareli, Manisa, Ordu, Sakarya, Tekirdağ illeri ile bu illere bağlı ilçelerden gönderilen numuneler,

3.1.2. Naturel ve Rafine Zeytinyağları ile Prina Yağları: Aydın, Balıkesir, Bursa illeri ile bu illere bağlı ilçelerden gönderilen numuneler,

3.1.3. Naturel ve Rafine Pamuk Yağları: Antalya, Eskişehir, Manisa illerinden gönderilen numuneler,

3.1.4. Rafine Mısırozü Yağları: Kocaeli ve Samsun illerinden gönderilen numuneler,

3.1.5. Naturel ve Rafine Soya Yağları: Ordu - Sümerbank tesislerinde üretilen ve dışarıdan ithal edilen numuneler,

3.1.6. Haşhaş Yağı, Çaytohumu Yağı, Kakao Yağı, Tahinden ayrılan Susam Yağı, Yerfıstığından ekstraksiyonla elde edilen Yerfıstığı Yağı numuneleridir.

### 3.2. Metod :

#### 3.2.1. Esterleştirme Yöntemi :

Bu çalışmada yağ asitlerinin metil esterleri  $H_2SO_4$ /Metanol metodu ile hazırlanmıştır. Nümuneye benzen ve % 4  $H_2SO_4$ /Metanol karışımı ile bir saat geri soğutucu altında ısıtılmış, meydana gelen esterler petrol eterine alınarak ayrılmıştır. Petrol eteri fazı su ile yıkanmış, susuz  $Na_2SO_4$  ile kurutulmuş ve petrol eterinin fazlası azot akımında uzaklaştırılmıştır.

#### 3.2.2. Gaz Kromatografik Analiz Şartları :

Detektör : Alev İyonizasyon Detektörü

Kolon : 4 mm çap x 1.8 m uzunlukta, cam

Dolgu Maddesi : % 15 DEGS on Chromosorb W AW  
DMCS, 60/80 mesh

Analiz Sıcaklıkları :

Detektör : 220° C

Enjeksiyon Bölümü : 220° C

Kolon : 180 - 195° C

Taşıyıcı Gaz : Azot

Taşıyıcı Gaz Akış Hızı : 50 - 70 ml/dakika

### 3.2.3. Komponentlerin Tanınma ve Hesaplanmaları :

Kromatogramlardaki piklerin tanınması için, standard yağ asidi metil esterleri kullanılmıştır. Standard maddelerin alıkonulma süreleri ölçülmüş, hazırlanan yağ numunelerinin verdiği piklerin alıkonulma süreleriyle karşılaştırılarak pikler saptanmıştır. Mevcut yağ asitlerinin miktarlarını tayin etmek için de üçgen alanlarının hesaplanması yöntemi kullanılmıştır.

### 3.2.4. Analizlerden Elde Edilen Neticeler :

Materyel bölümünde isimleri verilen yağların Gaz Kromatografik yöntemle bulunan bileşimleri her yağ türü için ortalama yağ asidi miktarları hesaplanarak (Tablo - 1) de verilmiştir. Aynı yağ türlerinin literatürde verilen yağ asitleri bileşimleri (Tablo - II) de, Klasik Laboratuvar Metodları ile elde edilen karakteristik özellikleri de (Tablo - III) de verilmiştir.

## 3.3. TARTIŞMA VE SONUÇ :

Çalışmada yağlar için bulunan değerler tablolardan görüleceği gibi genellikle literatürde verilen değerlere uymaktadır. Ayçiçek yağında Oleik Asit miktarı % 16.2 ile 27.9 arasında, Linoleik Asit miktarı ise % 61.1 ile % 73.4 arasında değişmektedir. Daha önce yapılan araştırmalar tohumun Oleik Asit ve Linoleik Asit muhtevasının ısıya bağımlı olarak değiştiğini göster-

TABLE I. Yağ türleri için ortalama yağ asidi miktarları

Yağ Asitleri Bileşimi (% Ağırlık Olarak)

Yağın Cinsi	C 14:0 Miyristik Asit	C 16:0 Palmirik Asit	C 16:1 Palmitolik Asit	C 18:0 Stearik Asit	C 18:1 Oleik Asit	C 18:2 Linoleik Asit	C 18:3 Linolenik Asit ve C 20:1 Eikosenik Asit	C 20:0 Arasidik Asit	C 22:0 Behenik Asit	C 24:0 Lignosik Asit
Mat Ayçiçek Yağı	Eser	7.2-9.9	-	2.2-3.7	16.2-23.5	65.3-74.4	-	-	-	-
Raf Ayçiçek yağı	Eser	7.0-9.1	-	2.1-3.9	17.1-27.9	61.1-72.4	-	-	-	-
Mat Zeytin yağı	-	13.7-14.4	0.5-0.8	1.8-2.1	74.6-74.9	8.4-8.7	Eser	Eser	-	*
Raf Zeytin yağı	-	14.3-15.7	0.7-0.8	2.1-2.5	73-75	7.4-9.1	Eser	Eser	-	-
Prina yağı	Eser	15.1-19.2	0.5-0.8	1.9-2.7	69.8-72.4	7.1-8.5	Eser	Eser	-	-
Pamuk Yağı	0.6-0.9	16.1-29.0	0.2-0.4	1.3-1.2	16.4-19.0	52.2-61.5	Eser	-	-	-
Visirözü Yağı	-	14.3-15.1	-	1.6-1.8	31.3-34.1	48.8-51.5	Eser-1.3	-	-	-
Soya Yağı	Eser	11.1-14.5	Eser	1.2-1.6	18.5-23.0	52.9-62.1	4.5-7.0	-	Eser	-
Yaprag Yağı	Eser	17.1-17.6	0.3-0.5	4.4-4.6	25.5-28.8	49.1-52.0	Eser	Eser	-	-
Zeytin Yağı	Eser	17.1-18.7	Eser	1.1-1.7	60.2-60.3	18.5-19.5	1.4-1.5	-	-	-
Çakao yağı	0.2-0.4	14.6-15.1	Eser	28.8-30.8	10.8-12.0	2.8-1.3	Eser	0.5-0.7	-	-
Susam Yağı	-	9.5-11.5	Eser	1.1-1.1	41.2-44.5	30.9-41.2	0.7-0.8	-	-	-
Orfietliği yağı	Eser	13.7-14.9	-	2.2-2.4	45.6-46.8	30.0-30.1	1.5-2.0	0.5-0.6	1.7-1.8	2.0

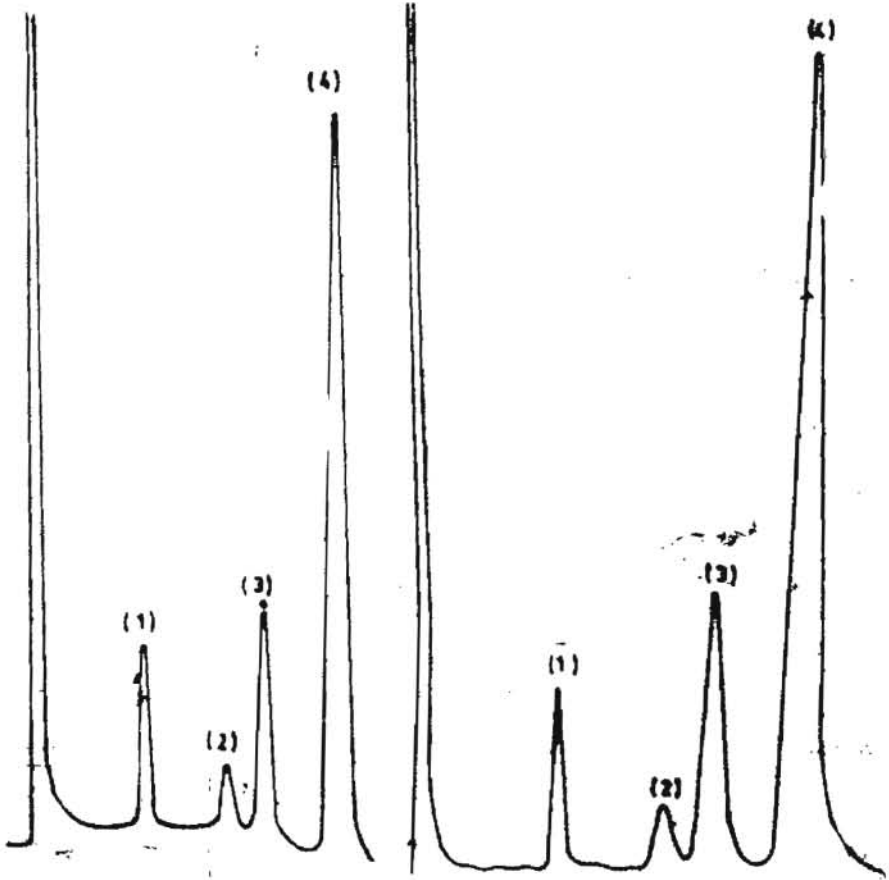
TABLE II — Çalışmada kullanılan yağların literatürde verilen yağ asitleri bileşimleri (% ağırlık olarak) (14), (15), (16)

Yağın Cinsleri	Yağ Asitleri Bileşimi (% Ağırlık Olarak)											
	C 14:0 Myristik Asit	C 16:0 Palmirik Asit	C 16:1 Palmitolik Asit	C 18:0 Stearik Asit	C 18:1 Oleik Asit	C 18:2 Linoleik Asit	C 18:3 Linolenik Asit	C 20:0 Arasidik Asit	C 20:1 Eikosanik Asit	C 22:0 Behenik Asit	C 22:1 Erucik Asit	C 24:0 Lignocerinik Asit
Ayçiçek yağı	<0.5	2-20	<1.0	1-10	14-65	20-75	<0.7	<1.0	<0.5	<1.0	<0.5	<0.5
zeytin Yağı	-	8.2-16	0.7-2.1	2.0-2.6	59.5-78.4	7.7-19.2	<0.8	<0.5	<0.5	-	-	-
Pamuk Yağı	0.5-2.0	17-29	0.5-1.5	1.0-4.0	12-44	33-58	0.1-2.1	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Mısırözü Yağı	<1.0	8-19	<0.5	0.5-4.0	19-50	34-62	<2.0	<1.0	<0.5	<0.5	-	<0.5
Soya Yağı	<0.5	7-12	<0.5	2-5.5	19-30	48-58	4-10	<1.0	<1.0	<0.5	-	-
Haşhaş Yağı	-	5	-	1	30	62	-	9	-	-	-	-
Çay tohumu yağı	-	8	-	2	88	8	-	-	-	-	-	-
Kakao yağı	-	25	-	35	38	2	-	-	-	-	-	-
Susam yağı	<0.5	7-12	<0.5	3.5-6.0	35-50	35-50	<1.0	<1.0	<0.5	<0.5	-	-
Yer fıstığı yağı	<0.1	6-15.5	<1.0	1.3-0.5	36-72	13-45	<0.1	1-2.5	0.5-2.1	1.5-4.8	<0.1	1.0-2.5

TABLO III. Çalışmada kullanılan bitkisel yağların klasik metodlarla tayin edilen karakteristik özellikleri (16).

YAĞIN CINSİ	KIRILMA İNDİSİ	İYOT İNDİSİ	SABUNLAŞMA SAYISI
Ayçiçek Yağı	(25°C) 1.472 — 1.474	125 — 136	188 — 194
Zeytin Yağı	(20°C) 1.469 — 1.470	80 — 88	186 — 196
Pamuk Yağı	(25°C) 1.468 — 1.472	99 — 113	189 — 196
Mısırozü Yağı	(25°C) 1.470 — 1.474	103 — 128	187 — 193
Soya Yağı	(25°C) 1.470 — 1.476	120 — 141	189 — 195
Haşhaş Yağı	(60°C) 1.4604 —	134 —	191 —
Çay Tohumu Yağı	(40°C) 1.460 — 1.464	80 — 90	188 — 196
Kakao Yağı	(40°C) 1.453 — 1.458	35 — 40	190 — 200
Susam Yağı	(25°C) 1.470 — 1.474	103 — 116	188 — 195
Yerfıstığı Yağı	(25°C) 1.467 — 1.470	64 — 100	188 — 195

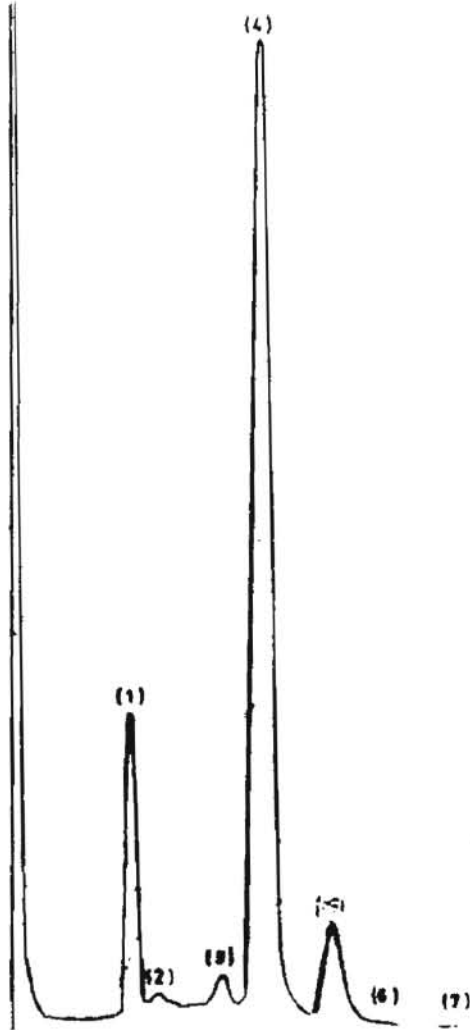
miştir (17). Düşük sıcaklıklar Linoleik Asit miktarını, yüksek sıcaklıklar ise Oleik Asit miktarını artırmaktadır. Bunun sonucu olarak yaz sıcaklığında gelişen güney bölgelerdeki ayçiçeklerinden elde edilen yağda Oleik Asit miktarı % 40'a kadar yüksekmektedir. Kuzeyde yetişen ya da güneyin geç ekilen ürünlerinde ise Oleik Asit % 20'den az bulunmaktadır. Linoleik Asit miktarı ise bölgelere bağlı olarak % 60 ile % 72 arasında değişmektedir (18). Şu halde analizi yapılan ayçiçek yağlarında bu yağ asitlerinin miktarlarında görülen farklılık yağların Türkiyen'in değişik bölgelerinden temin edilmiş olmalarının bir sonucudur.



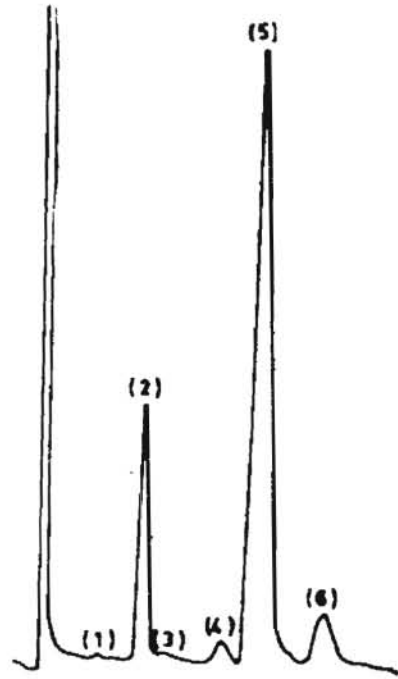
Şekil — 1. Naturel Ayçiçek yağı yağ asitleri metil esterleri: (1) Palmitik Asit, (2) Stearik Asit, (3) Oleik Asit, (4) Linoleik Asit metil esterleri.

Şekli 2 : Rafine Ayçiçek Yağı yağ asitleri metil esterleri: (1) Palmitik Asit, (2) Stearik Asit, (3) Oleik Asit, (4) Linoleik Asit metil esterleri.

Ayçiçek yağlarında dikkati çeken ikinci bir konu ise naturel ve rafine yağlardaki bileşimin gösterdiği farklılıktır. Genel olarak naturel ayçiçek yağları ile rafine ayçiçek yağları karşılaştırıldığında, naturel yağlarda Oleik Asit miktarının rafine yağa kıyasla daha az, Linoleik Asit miktarının ise daha fazla olduğu görülmektedir. Şu halde rafinasyon sırasında ayçiçek yağının ihtiva ettiği Linoleik Asidin bir kısmının Oleik Aside dönüştüğü düşünülebilir. (Şekil - 1), (Şekil - 2).

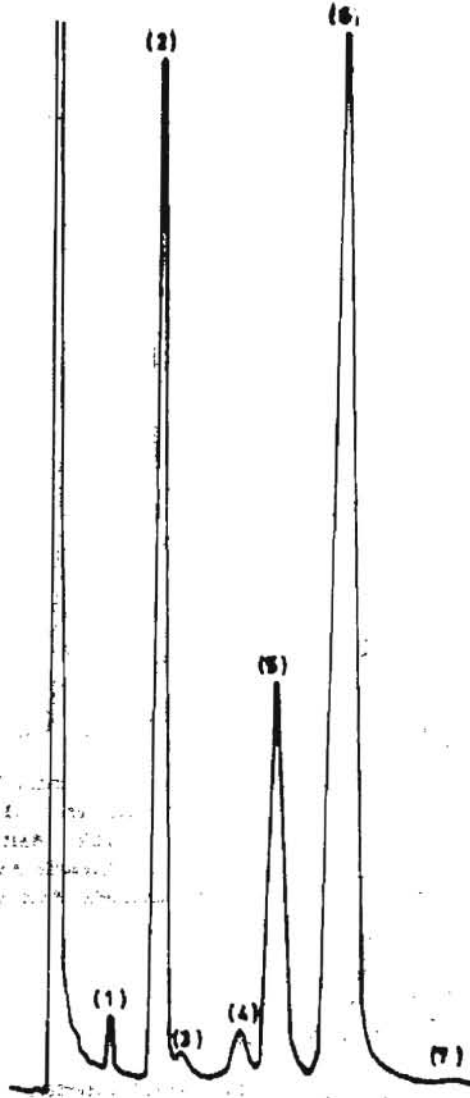


Şekil — 3 : Rafine Zeytinyağı yağ asitleri metil esterleri :  
 (1) Palmitik Asit, (2) Palmitoleik Asit, (3) Stearik Asit, (4)  
 Oleik Asit, (5) Linoleik Asit, (6) Araşidik Asit, (7) Linole-  
 nik Asit + Eikosenoik Asit metil esterleri.



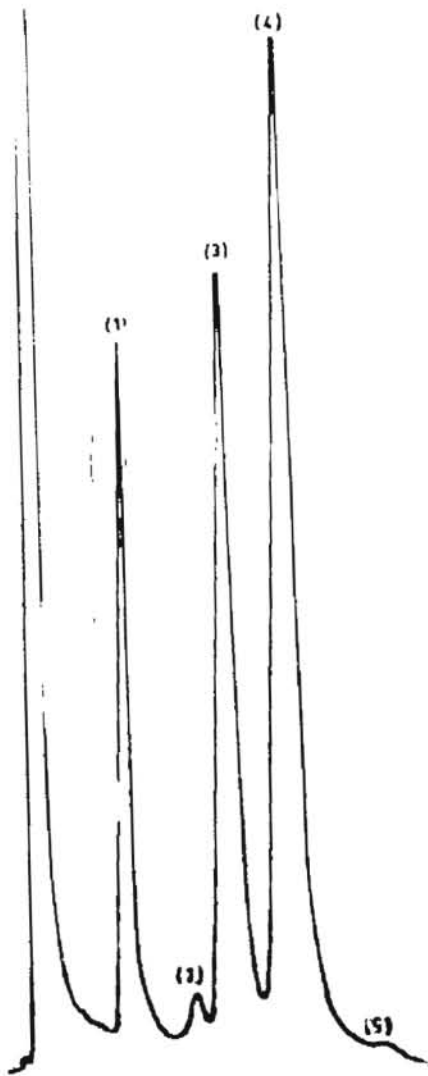
Şekil — 4 : Prina Yağı yağ asitleri  
 metil esterleri : (1) Myristik Asit,  
 (2) Palmitik Asit, (3) Palmitoleik  
 Asit, (4) Stearik Asit, (5) Oleik Asit,  
 (6) Linoleik Asit metil esterleri.

Naturel ve rafine zeytinyağları ile prina yağının ihtiva ettiği yağ asitleri ve miktarları incelenecek olursa, prina yağı ile diğerleri arasındaki en belirgin fark olarak prina yağında eser miktarda Myristik Asit bulunduğu görülmektedir. Bu yağ asidi

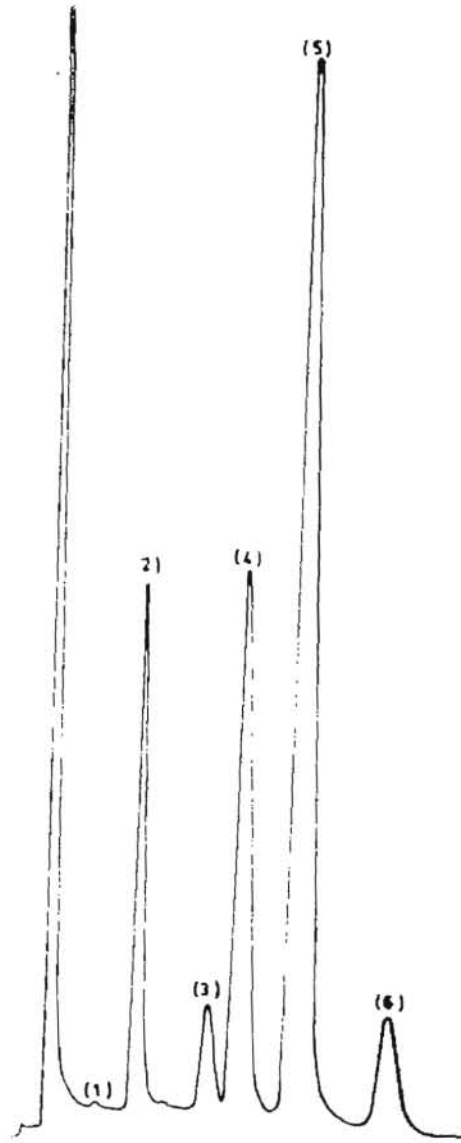


Şekil — 5 : Naturel Pamuk Yağı yağ asitleri metil esterleri : (1) Myristik Asit, (2) Palmitik Asit, (3) Palmitoleik Asit, (4) Stearik Asit, (5) Oleik Asit, (6) Linoleik Asit, (7) Linolenik Asit + Eikosenolik asit metil esterleri.





Şekil — 6 : Rafine Mısırozü Yağı yağ asitleri metil esterleri: (1) Palmitik Asit, (2) Stearik Asit, (3) Oleik Asit, (4) Linoleik Asit, 5) Linoleik Asit + Elkosenoik Asit metil esterleri.



Şekil — 7 : Naturel Soya Yağı yağ asitleri metil esterleri : (1) Myristik Asit, (2) Palmitik Asit, (3) Stearik Asit, (4) Oleik Asit, (5) Linoleik Asit, 6) Linolenik Asit + Elkosenoik Asit metil esterleri.

naturel ve rafine zeytinyağına ait kromatogramlarda görülmektedir. Buna ilâve olarak prina yağında Palmitik Asit miktarı diğerlerindekiinden fazladır : % 15.1 — 19.2. Bu oran naturel zeytinyağında % 13.7 — 14.4 ve rafine zeytinyağında ise % 14.3 — 15.7 dir. Oleik Asit miktarı ise prina yağında diğerlerine nazaran daha düşük olup % 69.8 — 72.4 arasında bulunmuştur. Naturel zeytinyağında bu yağ asidi % 74.6 — 74.9, rafine zeytinyağında ise % 73.0 — 75.0 değerleri arasında bulunmuştur (Şekil - 3), (Şekil - 4).

Pamuk yağında doymuş yağ asitlerinden, Myristik Asit % 0.9'un altında bulunmakta, Palmitik Asit % 29'a kadar yükselmekte, Stearik Asit ise %1.3 — 3.2 değerleri arasında bulunmaktadır. Buna göre pamuk yağı yağ asitlerinin üçte birini doymuş yağ asitlerinin teşkil etmekte olduğu söylenebilir. (Şekil — 5).

Mısırözü yağında ise mevcut yağ asitlerinin sadece % 17 kadarı doymuş yağ asitleridir, geri kalan % 83 kadarını ise doymamış yağ asitleri teşkil eder (Şekil — 6).

(Tablo - III) de ayçiçek yağı ile soya yağı için verilen indis değerleri incelenecek olursa; kırılma indisi (25°C da) 1.472 — 1.474, iyot indisi : 125-136 ve sabunlaşma sayısı : 189-194 olan bir yağ örneğinin bu değerlere göre saf ayçiçek yağı, saf soya yağı, ya da bu iki yağın karışımı olması muhtemeldir. Bunun tesbiti için gaz kromatografik analiz yöntemi ile nümunenin yağ asitleri bileşiminin ortaya çıkarılması gereklidir, çünkü soya yağını ayçiçek yağından ayıran en belirgin özellik % 10'a ulaşan oranda ihtiva ettiği Linolenik Asittir. Çalışmamızda soya yağındaki Linolenik Asit ile Eikosenoik Asitin toplam miktarı % 4.5 ile 7.0 değerleri arasında bulunmuştur. Kullanılan kolon dolgu maddesi DEGS ile bu iki yağ asidini ayırmak mümkün olmaktadır. Ancak literatür bilgisi soya yağında mevcut Eikosenoik Asitin % 1 den az olduğu şeklindedir. Yukarıda bahsi geçen örnekteki nümunenin gaz kromatografik analizi ile Linolenik Asit ihtiva edip etmediği tesbit edilerek, buna göre yağın cinsi ve karışıklığı ortaya çıkarılabilir (Şekil — 7).

Benzer şekilde (Tablo — III) de susam yağı ile yarfıstığı yağı indis değerleri karşılaştırıldığında bu iki yağ arasında her zaman kesin bir ayırım yapmanın mümkün olmadığı anlaşılacak-

tadır. Oysa (Tablo — I) deki susam yağı ile yerfıstığı yağı bileşimleri karşılaştırıldığında susam yağında kayda değer miktarda bulunan Palmitik Asit, Stearik Asit, Oleik Asit, Linoleik Asit ve az miktardaki Linolenik Asit ile Eikosenoik Asite mukabil yerfıstığı yağında bunlara ilâve olarak % 0.6 kadar Araşidik Asit, % 3.8 kadar Behenik Asit ve % 2 kadar Lignoceric Asit bulunduğu görülmektedir. Bu yağ asitlerinin mevcudiyeti özellikle tahine katılan yerfıstığı yağının tesbitini sağlayabilecektir.

Kakao yağı, analize alınan diğer bitkisel yağlarla kıyaslandığında ihtiva ettiği doymuş yağ asitlerinin fazla miktarda olması nedeniyle farklı bir yapı göstermektedir. Buna bağlı olarak da çukolata ve benzeri gıda maddelerinin taşışını bu analiz yöntemiyle tesbit etmek mümkün olabilecektir.

Bu çalışmada kullanılan haşhaş yağı, ve çaytohumu yağı halen ülkemizde fazla tüketilmeyen yağlardır. Bunların gaz kromatografik analiz yöntemiyle tesbit edilen yağ asitleri bileşimleri de (Tablo — I) de verilmiştir. Çaytohumu yağının yağ asitleri bileşiminin zeytinyağına benzemesi nedeniyle bu yağın ileride zeytinyağı yerine kullanılabilmesi ihtimali ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle çaytohumu yağı üzerinde çeşitli çalışmalar yürütülmektedir.

Sonuç olarak söyleyebiliriz ki yağ asitlerinin gaz kromatografisi ile ayrılması yöntemi yağların tanınması ve çok çeşitli problemlerin çözümlenmesi için kullanılabilir çok yönlü bir analiz yöntemidir. Ancak iyi sonuç alınabilmesi için üzerinde uzun süre çalışmayı gerektirmektedir.

**FATTY ACID ANALYSIS BY GLC FOR THE  
IDENTIFICATION AND DETECTION  
OF ADULTERATION OF FATS AND OILS  
Serpil ŞENELT**

**SUMMARY**

The fatty acid composition of various fats and oils of vegetable origin were determined by Gas Chromatographic Analysis. For this purpose, both virgin and refined samples of sunflowerseed oil, olive oil, cottonseed oil, maize oil, soyabean oil from different parts of Turkey were used in the laboratory together

with olive residue oil, poppyseed oil, teaseed oil, cocoa butter, sesameseed oil extracted from tehina and oil extracted from peanuts.

For GLC analysis, the oil samples were esterified with  $H_2SO_4$ /Methanol procedure. The Gas Chromatographic separation of methyl esters was carried out using a 4 mm x 1.8 m glass column packed with 15 % Diethylene Glycol Succinate on Chromosorb W AW DMCS 60/80 mesh with a column temperature of 185 to 195°C using nitrogen at 50 to 70 ml/min. as carrier gas. The peaks were identified by comparing with known standards and calculated using the triangulation method.

The results obtained for the fatty acid composition of the analysed oils were quite satisfactory. It was recorded that the amount of Oleic Acid and Linoleic Acid in sunflowerseed oil differs mainly because of the climate conditions of the origin of the seed, low temperatures raising levels of Linoleic Acid and high temperatures raising levels of Oleic Acid. Also the refined oil contains more Oleic Acid and less Linoleic Acid than the virgin oil probably as a result of partial saturation during the refining operation.

By comparing the chromatograms of olive oil and olive residue oil, it is seen that the two oils differ mainly in Myristic Acid, Palmitic Acid and Oleic Acid content.

Cottonseed oil contains Myristic Acid, Palmitic Acid and Stearic Acid as saturated fatty acids which add up to about 1/3 of the total fatty acids where as the amount of saturated fatty acids of the maize oil only add up to 17 % of the total fatty acids.

The major difference of soyabean oil from sunflowerseed oil is the Linolenic Acid content of the soyabean oil which can be as high as 10 % of the total fatty acids. This is used as a reference in identifying soyabean oil by GC analysis where the classical laboratory methods are not satisfactory for identification of a sample.

By comparing the chromatograms of sesameseed and peanut oils, one concludes that the oil from peanuts contains Arachidic Acid, Behenic Acid and Lignoceric Acid in addition to the other

fatty acids also present in the sesame seed oil. This fact can be used to detect adulteration of Tehina with peanuts.

Another important point is the characteristic chromatogram of the cocoa butter as a result of the high content of the saturated fatty acids. This can be used to detect the adulteration of chocolates and the like with other fats and oils instead of the cocoa butter.

We can conclude that the Gas Chromatographic Separation of the fatty acids is an important multipurpose method which must therefore be much valued and worked on.

#### KAYNAKLAR

- 1 — Littlewood, A.B., Gas Chromatography - Principles, Techniques and Applications, Academic Press (1970) New York and London
- 2 — Yürüm, Y., Gaz Kromatografisi, Kimya Mühendisliği Dergisi, 82, 49 (1977)
- 3 — Ettre, L.S., and Kabot, F.J., Relative Response of Fatty Acid Methyl Esters on the Flame Ionization Detector, J. Chromatog. II, 114 (1963)
- 4 — Carrol, K.K., Quantitative Estimation of Peak Areas in Gas Chromatography Nature, 191, 377 (1961)
- 5 — Bartlet, J.C., and Iverson, J.L., Estimation of Fatty Acid Composition by Gas Chromatography using Peak Heights and Retention Times, J.A.O.A.C. 49, 21 (1966)
- 6 — James, A.T., and Martin, A.J.P., Gas-Liquid Partition Chromatography, The Separation and Micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid, Biochem. J. 59, 679 (1952)
- 7 — Metcalfe, L.T., Gas Chromatography of unesterified fatty acids using Polyester columns treated with phosphoric acid, Nature, 188, 142 (1962)
- 8 — Vorbeck, M.L., Mattick, L.R., Lee, F.A. and Pederson, C.S., Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids for GLC. Quantitative Comparison of Methylation Techniques, Anal. Chem. 33, 1512 (1961)
- 9 — Stoffel, W., Ahrens, E.H. and Chu, F., Analysis of long-chain fatty acids by GLC. Micromethod for preparation of methyl esters., Anal. Chem. 31, 307 (1959)
- 10 — Methyl Esters of Fatty Acids, A.D.A.C. 10 th Ed., 429 (1965), Washington 4, D.C.
- 11 — Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A., The Rapid Preparation of Fatty Acid Esters for Gas Chromatographic Analysis, Anal. Chem. 33, 323 (1961)
12. Preparation of Methyl Esters, A.O.A.C. II th Ed. 454 (1970), Washington 4, D.C.

- 13 — Mason, M.E., Eeager, M.E., Waller, G.R., A Procedure for the Simultaneous Quantitative Determination of Glycerol and Fatty Acid Contents of Fats and Oils, *Anal. Chem.* 36, 587 (1964)
- 14 — Spencer, G.F., Fatty Acid Composition as a basis for Identification of Commercial Fats and Oils, *J.A.O.C.S.* 53, 94 (1976)
- 15 — Iverson, J.L., Eisner and Firestone, Fatty Acid Composition of Olive Oil by Urea Fractionation and Gas Liquid Chromatography *J.A.O.A.C.* 48, 1191 (1965)
- 16 — Morris, Jacobs, *The Chemistry and Technology of Food and Food Products*, Vol 2, 1150, Interscience Publishers Inc, New York and London.
- 17 — Knowles, P.F., Recent Research on Safflower, Sunflower and Cotton, *J.A.O.C.S.* 52, 374 (1975)
- 18 — Langstraat, A., Characteristics and Composition of vegetable Oil bearing Materials, *J.A.O.C.S.* 53, 241 (1976)