

Zeytinyağı ve Bitkisel Yağ Analizlerinde ANALİTİK CİHAZLAR



Berna Özkan
Pazarlama Müdürü
ANT TEKNİK



Zeytinyağı ve bitkisel yağlarla ilgili yasal düzenlemeler Türk Gıda Kodeksi'nde yer alan "Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği", "Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliği" ve "Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemeler Yönetmeliği" gibi mevzuatlar kapsamında ele alınmakta ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından izlenmektedir. Mevzuatlarla söz konusu yağların tekniğine uygun üretiminin, hazırlanmasının, işlenmesinin ve pazarlamasının sağlanması için özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmektedir. Bu kapsamda farklı yağ türlerine göre belirlenmiş olan kalite ve saflık kriterleri tüketici hak ve beklentilerinin karşılanması ve insan sağlığının yüksek seviyede korunması açısından izlenmektedir.

Zeytinyağı ve bitkisel yağların analizlerinde en sıklıkla kullanılan analitik teknik gaz kromatografisidir (GC). Bununla birlikte ECN 42 ve benzopiren analizleri için HPLC, özgül absorpsiyon ölçümleri ve toplam fosfor gibi analizler için UV-VIS spektroskopisi gibi analitik teknikler de kullanılmaktadır. Ayrıca yağlarla temas eden metal ve plastik esaslı ambalajlarda monomer, katkı maddesi, metal analizleri, yapı tanımlaması, uçucu bileşiklerin analizleri, boyaların migrasyon testleri vb. testler için yine gaz kromatografisi, UV, IR ve atomik absorpsiyon spektroskopisi ve kütle spektrometri gibi farklı analitik tekniklere başvurulmaktadır. Bu yazıda, zeytinyağı ve bitkisel yağ analizlerinde yağın olarak kullanılan analitik

ANALİTİK KOŞULLAR:

Cihaz	: GC-2010 PLUS	Kolon Sıcaklık Programı:	
Dedektör	: FID		140 °C 5 dk
Kolon	: TRCN-100 (100 m x 0.25 mm x 0.20 um)		4 °C / dk 240 °C 15 dk
Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	: 250 °C	FID Sıcaklığı	: 250 °C
Enjeksiyon Modu	: Split	Enjeksiyon Hacmi	: 1 ul
Akış Kontrol Modu	: Pressure		
Basınç	: 250 kPa		
Split Oranı	: 100		

tekniklerden olan gaz kromatografisi, sıvı kromatografisi ve spektrofotometriye ilişkin bazı uygulama örneklerine yer verilecektir.

1. GAZ KROMATOĞRAFİ (GC)

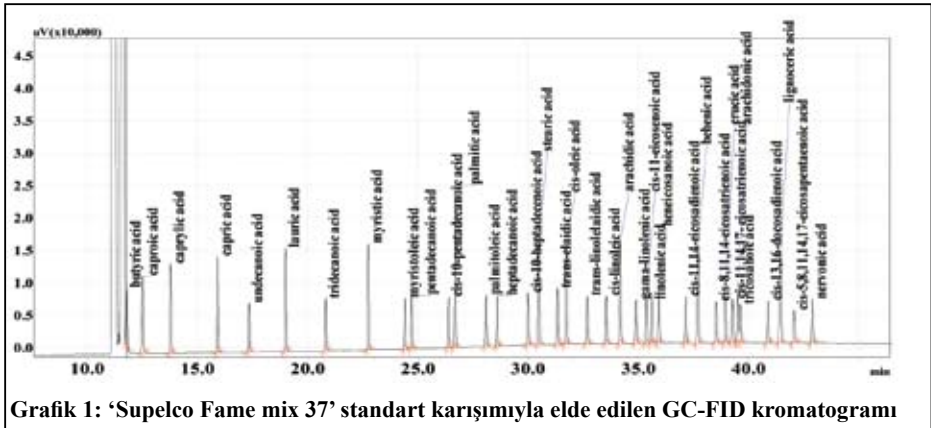
Gaz Kromatografisi sisteminin amacı; gaz fazına geçirilebilen bir karışımdaki bileşiklerin ayrıştırılması, tespiti ve miktarlarının ölçülmesidir. Bu teknik yağ endüstrisinde aşağıdaki analizler için kullanılmaktadır:

- » Yağ asitleri metil ester (FAME) analizleri
- » Hekzan analizi (GC-headspace ile)
- » Sterol bileşimi ve miktarının tayini
- » Wax esterleri (mumsu madde) analizleri

- » Stigma Stedien ve Palmitat analizleri
- » Alifatik alkol miktarının tayini
- » Mineral yağ analizleri

GC Uygulama Örneği 1: Yağ Asitleri Metil Ester Kompozisyonu Analizleri

Yağ asiti metil ester kompozisyonu; yağın türünün ve saflığının belirlenmesinde önem taşımaktadır. Ayrıca diyet içeriklerinin belirlenmesi ve gıda endüstrisinde yapılan AR-GE çalışmalarına yön vermesi açısından yağ asitleri içeriğinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Yağ asitleri kompozisyonu kromatografik cihazlarla belirlenmekte ve ağırlıklı olarak Gaz Kromatografisi (GC-FID / Alev İyonlaştırma Dedektörü) sistemi kullanılmaktadır.



Grafik 1: 'Supelco Fame mix 37' standart karışımıyla elde edilen GC-FID kromatogramı

Tablo 1: Bitkisel Yağların Yağ Asiti Metil Ester Kompozisyonu

% Yağ asiti metil esterler kompozisyonu	Ayçiçeği	Pamuk	Mısır	Palm	Susam	Zeytin yağı	Soya
Kaproik asit	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kaprilik asit	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kaprik asit	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Laurik asit	0.0-0.1	0.0-0.2	0.0-0.3	0.0-0.4	ND	ND	0.0-0.1
Miristik asit	0.0-0.2	0.6-1.0	0.0-0.3	0.5-2.0	0.0-0.1	0.0-0.05	0.0-0.2
Palmitik asit	5.6-7.6	21.4-26.4	8.6-16.5	41.0-47.5	7.9-10.2	7.5-20.0	8.0-13.5
Palmitoleik asit	0.0-0.3	0.0-1.2	0.0-0.4	ND	0.1-0.2	0.3-3.5	0.0-0.2
Margarik asit	ND	ND	ND	ND	0.0-0.2	0.0-0.3	0.0-0.1
Heptadekanoik asit	ND	ND	ND	ND	0.0-0.1	0.0-0.3	0.0-0.1
Stearik asit	2.7-6.5	2.1-3.3	1.0-3.3	3.5-6.0	4.8-6.1	0.5-5.0	2.0-5.4
Oleik asit	14.0-39.4	14.7-21.7	20.0-42.2	36.0-44.0	35.9-42.3	55.0-83.0	17.7-20.0
Linoleik asit	48.3-74.0	46.7-58.2	39.4-62.5	6.5-12.0	41.5-47.9	3.5-21.0	49.8-59.0
Linolenik asit	0.0-0.2	0.0-0.4	0.5-1.5	0.0-0.5	0.3-0.4	0.0-1.0	5.0-11.0
Araşidik asit	0.2-0.4	0.2-0.5	0.3-0.6	0.0-1.0	0.3-0.6	0.0-0.6	0.1-0.6
Ekosenoik asit	0.0-0.2	0.0-0.1	0.2-0.4	ND	0.0-0.3	0.0-0.4	0.0-0.5
Behenik asit	0.5-1.3	0.0-0.6	0.0-0.5	ND	ND	0.0-0.2	0.0-0.7
Erusik asit	0.0-0.2	0.0-0.3	0.0-0.1	ND	ND	ND	0.0-0.3
Lignoserik asit	0.2-0.3	0.0-0.1	0.0-0.4	ND	0.0-0.3	0.0-0.2	0.0-0.5

ND:Not detectable (tespit edilememiştir)

Yağ asiti metil ester analizlerinde, tüm yağ asiti bileşenlerini ihtiva eden 37'lik standart karışım kullanılmaktadır. Karışım trans-cis, omega-3 ve omega-6 yağ asitlerini de içermektedir. Grafik 1'de 37'lik yağ asiti metil ester karışımının GC kromatogramı görülmektedir. Yağ asitleri bileşimi, örneğe göre farklılık göstermektedir. Her bir yağ asitinin, o bitkiye has referans aralıkları incelenerek yağın saflığına karar verilebilmektedir. Tablo 1'de farklı bitki türleri için yağ asiti metil esterlerinin referans aralıkları verilmiştir.

GC Uygulama Örneği 2: Sterol Analizleri

Sterol tayini zeytinyağının saflığının belirlenmesinde ve tağışışın saptanmasında en önemli yöntemdir. Zeytinyağına başka bitkisel yağların karışıp karışmadığının belirlenmesi için toplam sterol miktarı ve sterol kompozisyonu belirlenmelidir. Zeytinyağına çok düşük oranlarda bitkisel yağ ve prina yağ katılsa bile sterol analiziyle bu durum tespit edilebilmektedir. Sterol tayini kromatografik cihazlarla gerçekleştirilmekte ve ağırlıklı olarak Gaz Kromatografi (GC-FID (Alev İyonlaştırma Dedektörü) sistemi kullanılmaktadır.

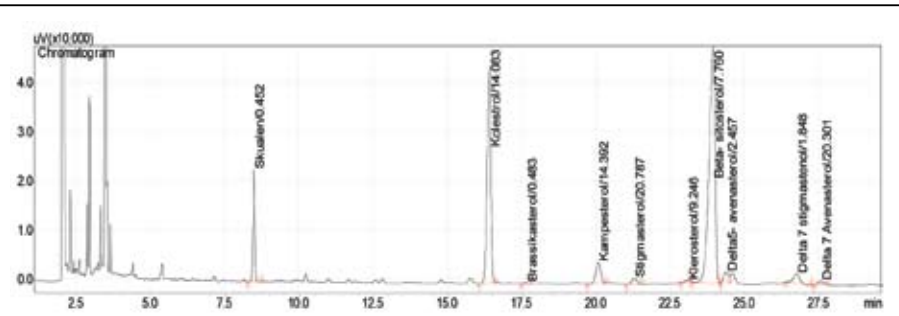
Çalışılan analitik koşullarda elde edilen kromatogram ve sonuçlar aşağıda verilmiştir.

ANALİTİK KOŞULLAR:

Cihaz	: GC-2010 PLUS	Kolon Sıcaklık Programı:	
Dedektör	: FID		280 °C 40dk (Izotermal)
Kolon	: TRB-Sterol (30 m x 0.22 mm x 0.22 um)	FID Sıcaklığı	: 300°C
Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	: 280 °C		
Enjeksiyon Modu	: Split		
Akış Kontrol Modu	: Pressure		
Basınç	: 180 kPa		
Split Oranı	: 50		

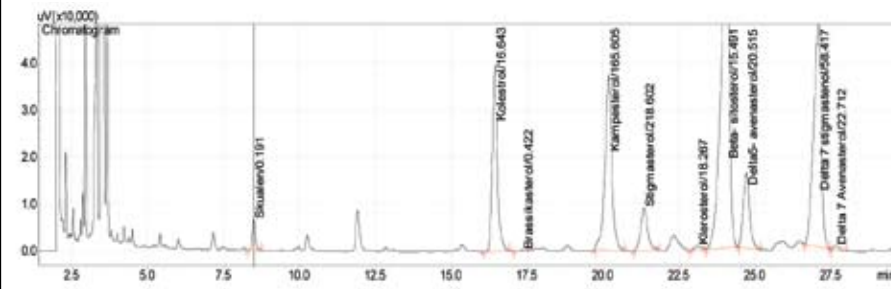
Tablo 2: Sterol Kompozisyonu ve Alınma Zamanları Tablosu

ID	İsim	Alınma Zamanı
1	Skualen	8.515
2	Kolesterol	16.353
3	Brassikasterol	17.261
4	Kampesterol	20.037
5	Stigmasterol	21.239
6	Klerosterol	23.058
7	Beta- sitosterol	23.902
8	Delta5- avenasterol	24.547
9	Delta 7 stigmastenol	26.821
10	Delta 7 Avenasterol	27.517

**Grafik 2. Fındık yağı GC-FID kromatogramı**

Tablo 3: Fındık Yağı Sonuç Tablosu

ID	R.time	Name	Area %	Area	Conc.	Unit
1	8.458	Skualen	7.5959	99720.9	0.45191	ppm
2	16.396	Kolesterol	29.3373	385145.7	14.08291	ppm
3	17.628	Brassikasterol	0.1407	1846.7	0.48346	ppm
4	20.037	Kampesterol	3.8546	50603.5	14.39193	ppm
5	21.251	Stigmasterol	1.0425	13686.5	20.78666	ppm
6	23.056	Klerosterol	0.4456	5849.6	9.24618	ppm
7	23.914	Beta- sitosterol	52.6052	690610.3	7.75998	ppm
8	24.334	Delta5- avenasterol	2.128	27937.1	2.45737	ppm
9	26.723	Delta 7 stigmastenol	2.0227	26554.5	1.84847	ppm
10	27.55	Delta 7 Avenasterol	0.8275	10863.8	20.30078	ppm



Grafik 3. Keten yağı GC-FID kromatogramı

Tablo 4: Keten Yağı Sonuç Tablosu

ID	R.time	Name	Area %	Area	Conc.	Unit
1	8.471	Skualen	1.1375	42084	0.19071	ppm
2	16.415	Kolesterol	12.302	455150.8	16.64266	ppm
3	17.313	Brassikasterol	0.0436	1612.6	0.42218	ppm
4	20.166	Kampesterol	15.7383	582285.4	165.60532	ppm
5	21.314	Stigmasterol	3.8903	143933.8	218.60171	ppm
6	23.076	Klerosterol	0.3124	11557	18.26744	ppm
7	24.066	Beta- sitosterol	37.2615	1378604.5	15.49057	ppm
8	24.699	Delta5- avenasterol	6.3037	233224.3	20.51455	ppm
9	27.063	Delta 7 stigmastenol	22.6822	839199.1	58.41702	ppm
10	27.633	Delta 7 Avenasterol	0.3285	12154.2	22.7122	ppm



Şekil 1. Shimadzu GC-2010 Plus Gaz Kromatografi Sistemi

2. SIVI KROMATOĞRAFI (HPLC)

Sıvı Kromatografi sisteminin amacı; bir sıvı içerisinde çözülebilen tüm türlerin Kalitatif ve Kantitatif analizinin gerçekleştirilmesidir. Bu teknik yağ endüstrisinde aşağıdaki analizler için kullanılmaktadır:

- » ECN42 Trigliserit analizi
- » PAH (benzopiren) analizi

yağı, rafine pirina yağı ve pirina yağı için belirlenmiştir. GC-FID metil ester değerinden yola çıkarak hesaplanan teorik (beklenen) trigliserit kompozisyonu ile HPLC-RI (refraktif indeks dedektörlü HPLC) ile ölçülen gerçek trigliserit değeri arasındaki fark değeri (ECN42) zeytinyağındaki taşışın belirlenmesi için önemli bir kriterdir. ECN42 fark değerinin yüksek olması, genellikle linoleik asit içermeyen zeytinyağının içine linoleik asit oranı yüksek tohum yağları gibi farklı yağların katıldığına bir göstergesidir.

3. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRE (UV-VIS)

Spektroskopi; bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromagnetik ışımının ölçülmesi ve yorumlanmasıdır. UV-VIS spektrometri, UV-Vis spektral bölgedeki absorpsiyon veya reflektans spektroskopisi anlamına gelmektedir. Bu teknik yağ endüstrisinde aşağıdaki analizler için kullanılmaktadır:

- » Özgül absorbans (soğurma) ölçümü
- » Toplam fosfor analizi

UV-Vis Uygulama Örneği: Özgül absorbans (soğurma) ölçümü

Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği kapsamında kalite kriterlerinden biri olarak UV ışığında özgül absorbans değerleri tanımlanmıştır. 232 nm ve 270 nm’de alınan absorbans değerlerine göre hesaplanan özgül soğurma ve Delta E değerleri zeytinyağı saflığının belirlenmesi açısından önemlidir. UV bölgedeki düşük absorbans değerleri yüksek kalitede natürel sızma zeytinyağı için bir gösterge olarak görülürken, rafine veya farklı yağlar katılmış yağlar bu bölgede daha yüksek absorbans değerleri verebilmektedir.

HPLC Uygulama Örneği: ECN42 Analizi

Zeytinyağı kalite kriterlerinden biri olan tohum yağlarının tespiti kapsamında gerçek ve teorik ECN 42 trigliserid içeriği arasındaki maksimum fark değerleri tanımlanmıştır. Bu değer ham zeytinyağı, natürel sızma zeytinyağı, rafine zeytinyağı, riviera, ham pirina

Tablo 5: Zeytinyağı ve Pirina Yağı Tebliği kapsamında UV Özgül Soğurma değerleri

Özellikler	Değerler							
	Ham Zeytinyağı	Natürel Sızma Zeytinyağı	Natürel Birinci Zeytinyağı	Rafine Zeytinyağı	Riviera Zeytinyağı	Ham Pirina Yağı	Rafine Pirina Yağı	Pirina Yağı
Kalite Kriterleri								
UV Işığında Özgül Soğurma (E)								
E (232 nm)	-	≤ 2,5	≤ 2,60	-	-	-	-	-
E (270 nm)	-	≤ 0,22	≤ 0,25	≤ 1,10(4)	≤ 0,90(4)	-	≤ 2,00	≤ 1,70
Delta E	-	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,16(4)	≤ 0,15(4)	-	≤ 0,20	≤ 0,18

Şekil 2. Shimadzu UV-1800 UV-VIS Spektrofotometre

