

Zeytinyağı ve bitkisel yağ analizlerinde gaz kromatografisi tekniğinin önemi

YÜK. KİMYA MÜH. HACER TANACI

Ant Teknik Cihazlar – Ankara Bölge Aplikasyon Şefi

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 yağlarda yağ asitleri metil ester kompozisyonu, sterol analizleri, aroma bileşiklerinin tayini, ECN 42 analizleri, benzopiren analizi, aroma analizleri ve yağ endüstrisinde



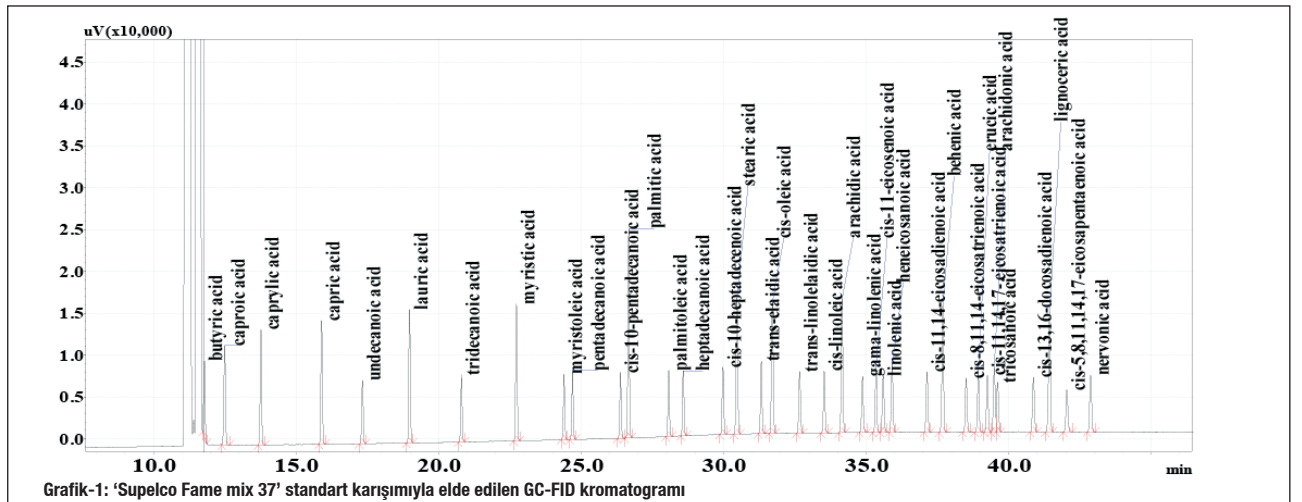
HACER TANACI

kullanılan metal ve plastik esaslı ambalajlarda monomer, katkı maddesi, metal analizleri, yapı tanımlaması, uçucu bileşiklerin analizleri, boyaların migrasyon testleri vb. testler için sıvı kromatografi, gaz kromatografi, UV, IR ve atomik absorpsiyon spektroskopisi ve kütle spektrometri gibi farklı analitik teknikler birarada kullanılmaktadır.

Bu yazıda, zeytinyağı ve bitkisel yağ analizlerinde en yaygın olarak kullanılan analitik teknik olan gaz kromatografisine ilişkin uygulama örneklerinden bazılarına yer verilecektir.

1. YAĞ ASİTLERİ METİL ESTER KOMPOZİSYONU ANALİZLERİ

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 Kromatografi - Alev İyonlaştırma Dedektörü (GC-FID) sistemi kullanılmaktadır.



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

Analitik koşullar:

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

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 asidinin, o bitkiye has referans aralıkları incelenerek; yağın saflığına karar verilebilmektedir.

Tablo 1'de farklı bitki türleri için yağ asiti metil esterlerinin referans aralıkları verilmiştir.

2. STEROL ANALİZLERİ

Sterol tayini zeytinyağının saflığını belirlemede ve tağışın 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

Tablo-1: Bitkisel yağların yağ asidi metil ester kompozisyonu

% Yağ asidi 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)

Tablo 2: Sterol kompozisyonu ve alıkonma zamanları tablosu

ID	İsim	Alıkonma Zamanı
1	Skualen	8.515
2	Kolestrol	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

prına yağ katılsa bile sterol analiziyle bu durum tespit edilebilmektedir. Sterol tayini kromatografik cihazlarla gerçekleştirilmekte ve ağırlıklı olarak Gaz Kromatografi-Alev İyonlaştırma Dedektörü (GC-FID) sistemi kullanılmaktadır.

Analitik koşullar:

Cihaz	: GC-2010 PLUS
Dedektör	: FID
Kolon	: TRB-Sterol (30 m x 0.22 mm x 0.22 um)
Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	: 280 °C
Enjeksiyon Modu	: Split
Akış Kontrol Modu	: Pressure

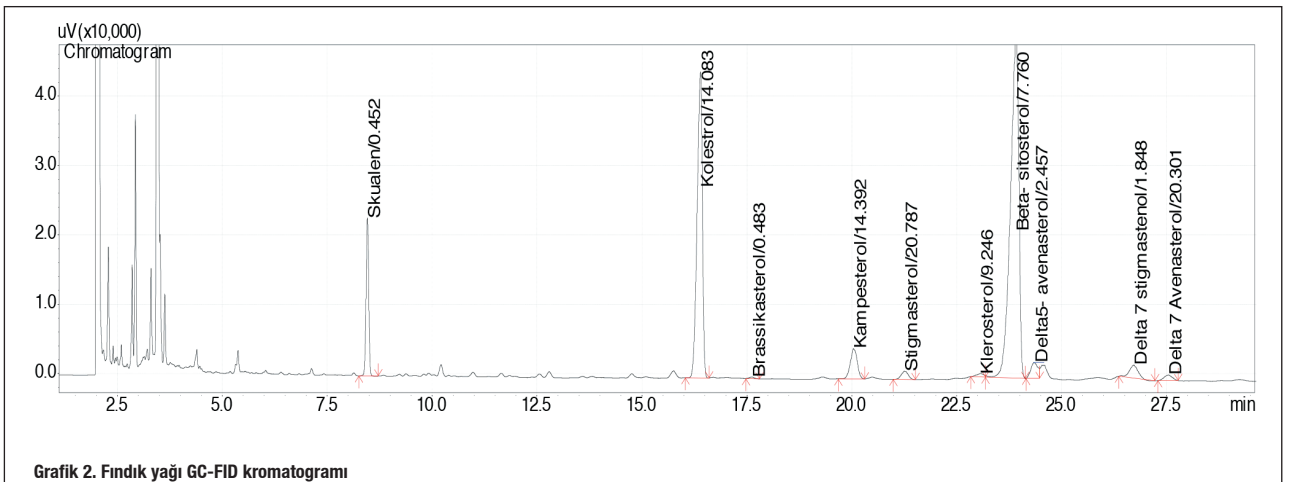
Basınç	: 180 kPa
Split Oranı	: 50
Kolon Sıcaklık Programı	:280 °C 40dk (İzotermal)
FID Sıcaklığı	: 300°C
Çalışılan analitik koşullarda elde edilen kromatogram ve sonuçlar aşağıda verilmiştir.	

3. AROMA BİLEŞİKLERİ ANALİZLERİ

Yemeklik yağların yüksek sıcaklıklara ısıtılması ve tekrar tekrar kullanılması oluşan aroma bileşiklerinin yapısını değiştirmektedir. Sıcaklık artışına bağlı olarak toksik veya kanserojen etkileri bulunan aldehit, keton ve benzeri bileşiklerin oluşumu bilinmektedir. Aşağıda yer alan araştırmada farklı tür yağlar üzerinde farklı sıcaklık koşulları ve uygulama süreleri denenerek oluşan aroma bileşiklerini incelenmiştir. Aroma bileşiklerinin analizinde Gaz Kromatografi Kütle Spektrometri (GCMS) sistemi kullanılmış, numune ekstraksiyonu için SPME (Katı Faz Mikroekstraksiyon) yönteminden yararlanılmıştır.

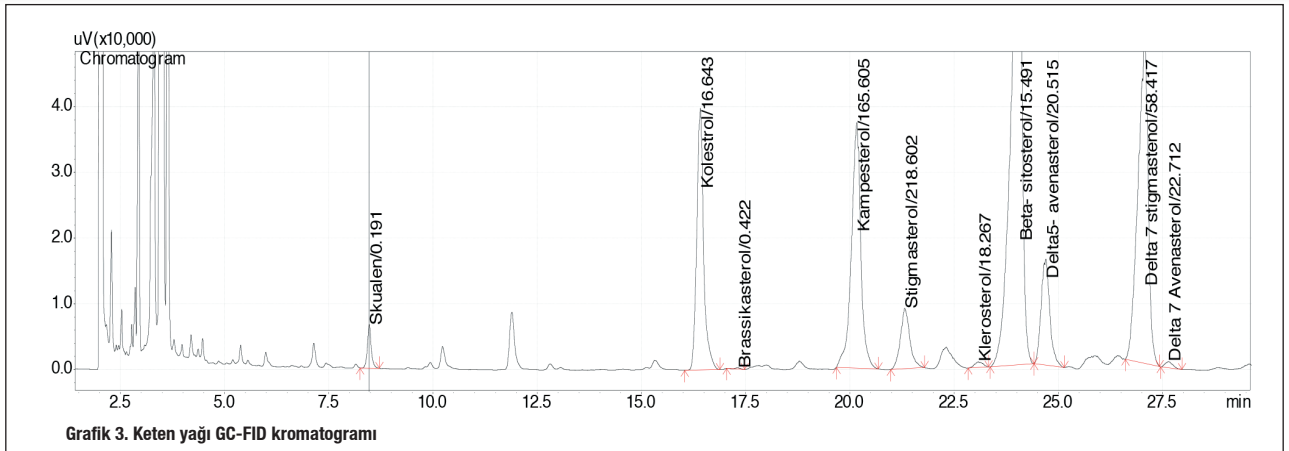
Metod ve materyaller:

- Kromatogramlar Shimadzu marka GCMS-QP2010Plus cihazı ve 30 m'lik 5-MS GC kolonu kullanılarak elde edilmiştir.
- Kütüphane taraması için FFNSC 1.3 (Flavor and Fragrance Natural and Synthetic Compounds) Aroma İndeks Kütüphanesi Alıkonma Zamanı İndeksi (Retention Index) kullanılmıştır.
- C7-C30 Alkan Standardı kullanılarak Alıkonma Zamanı hesaplaması yapılmıştır.



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	Kolestrol	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



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	Kolestrol	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



Şekil1. GCMS-QP2010 Ultra Cihazı



Kullanılan yağ türleri:

Ayçiçeği Yağı, Zeytinyağı, Mısır Yağı,
Fındık Yağı

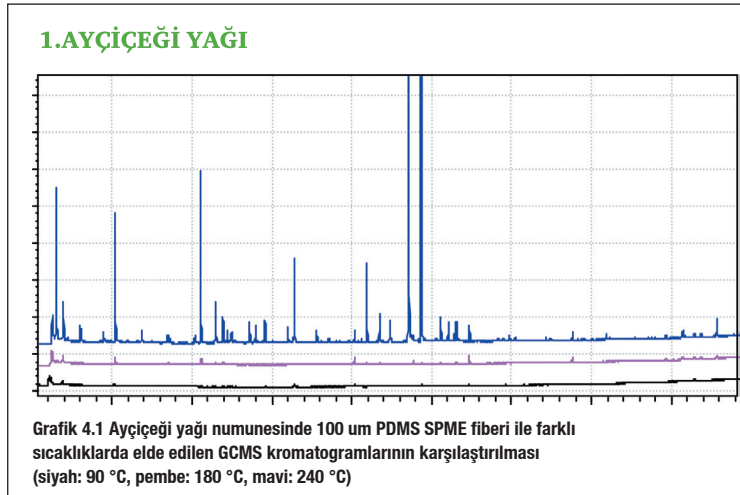
Uygulanan sıcaklıklar:

90°C, 180°C, 240°C

Ekstraksiyon yöntemi:

Yağ örneği istenilen sıcaklığa ayarlanmış hotplate'e konularak ısıtılmış, ısıtma süresince oluşan aroma bileşikleri kullanılan SPME fibri tarafından adsorplanmıştır. SPME fiber sayesinde örneğin kolay ve konsantre bir şekilde analizi yapılmaktadır.

Hesaplama: Numune değerlendirmesi % alan dağılımına göre kalitatif olarak yapılmıştır.



Sonuçlar ve görüşler:

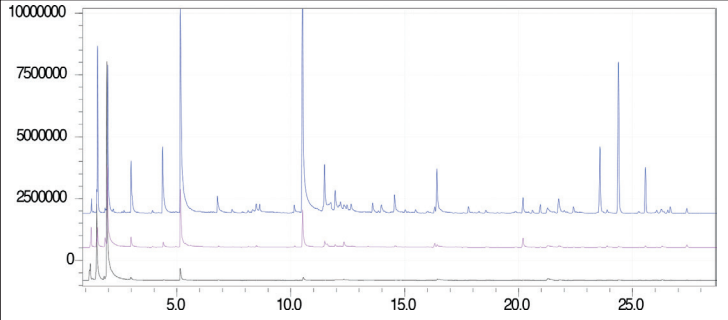
Sıcaklık arttıkça aldehit ve keton türü bileşenler ve miktarları artış göstermektedir. En yoğun değişim 240 °C örneklerde elde edilmiştir.

240 °C'de ayçiçeği yağı numunesinde 100 µm PDMS fibriyle elde edilen aroma bileşiklerinin listesi

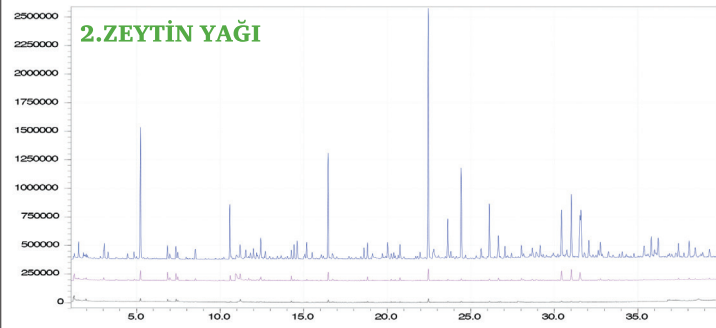
Isobutyl alcohol, Acetate <isopropyl->, Butyraldehyde <2-methyl->, Valeraldehyde, Pent-2(Z)-enol, Capronaldehyde, Hex-2(E)-enal, Enanthaldehyde, Cyclohexanone <2-methyl->, Vinyl amyl carbinol, Furan <2-amyl->, Caprylaldehyde, Eucalyptol, Oct-2(E)-enal, Linalool, Hendecane, Pelargonaldehyde, Formate <octyl->, Non-2(E)-enal, Dodecane, Nona-2(E),4(E)-dienal, Oct-7-enol <3,7-dimethyl->, Heptylidene acetone, Dec-2(E)-enal, Menthyl acetate, Tridecane, Deca-2(E),4(E)-dienal, Citronellyl acetate, Undec-8-enal <cis->, Cyclohexanol <4-tert-butyl-> acetate, Geranyl acetate, Tetradecane, Citronellyl isobutyrate, Lauryl alcohol, Hexadecane, Citronellyl tiglate <(E)->, Neophytadiene, Hexadec-6-enoic acid <16-hydroxy-> omega lactone, Geranyl benzoate.

240°C'de ayçiçeği yağı numunesinde 75 µm Carboxen/PDMS fibriyle elde edilen aroma bileşiklerinin listesi

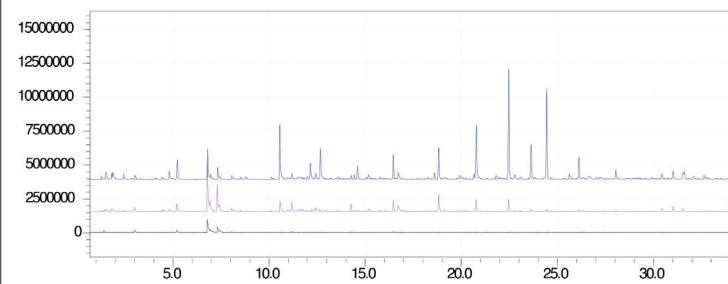
Butyl alcohol, Isobutyl alcohol, Acetate <isopropyl->, Valeraldehyde, Pent-2(E)-enal, Capronaldehyde, Hex-2(E)-enal, Hexanol <n->, Heptenal <4Z->, Enanthaldehyde, Cyclohexanone <2-methyl->, Heptanol <n->, Vinyl amyl carbi-



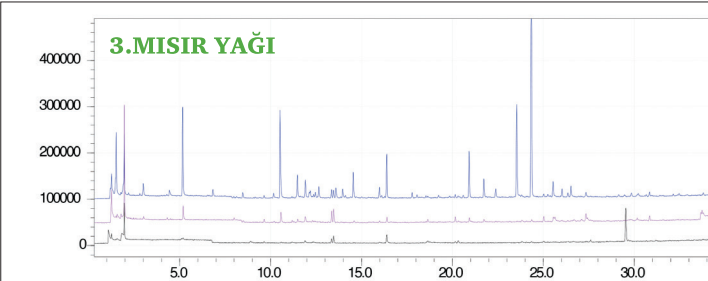
Grafik 4.2 HYPERLINK "<http://www.antteknik.com>" 2 Ayçiçeği yağı numunesinde 75 um Carboxen/PDMS SPME fiberi ile farklı sıcaklıklarda elde edilen GCMS kromatogramlarının karşılaştırması (siyah: 90 °C, pembe: 180 °C, mavi: 240 °C)



Grafik 5.1 Zeytinyağı numunesinde 100 um PDMS SPME fiberi ile farklı sıcaklıklarda elde edilen GCMS kromatogramlarının karşılaştırması (siyah: 90 °C, pembe: 180 °C, mavi: 240 °C)

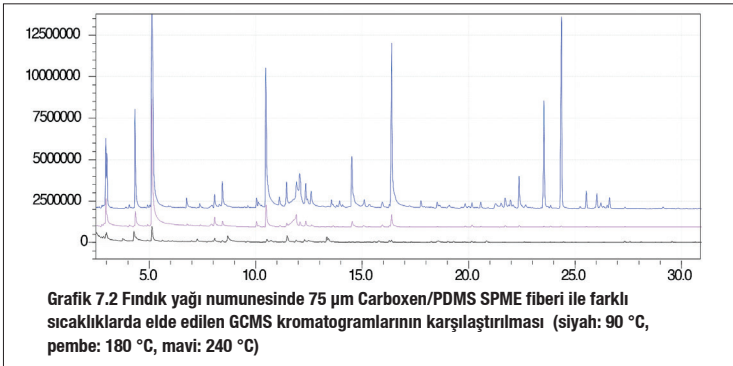
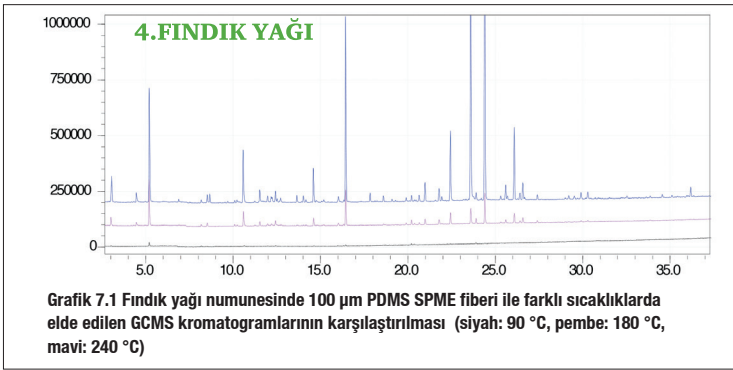
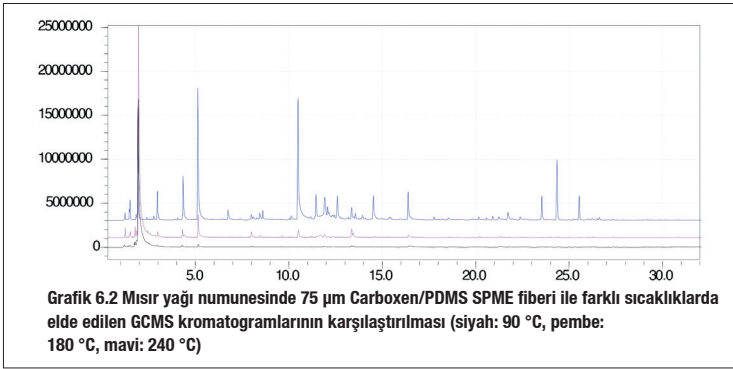


Grafik 5.2 Zeytinyağı numunesinde 75 um Carboxen/PDMS SPME fiberi ile farklı sıcaklıklarda elde edilen GCMS kromatogramlarının karşılaştırması (siyah: 90 °C, pembe: 180 °C, mavi: 240 °C)



Grafik 6.1 Mısır yağı numunesinde 100 um PDMS SPME fiberi ile farklı sıcaklıklarda elde edilen GCMS kromatogramlarının karşılaştırması (siyah: 90 °C, pembe: 180 °C, mavi: 240 °C)





nol, Isocaproic acid, Furan <2-amyl->, Caprylaldehyde, Decane, Caprylaldehyde, Heptandienal <2,4-trans,trans->, Eucalyptol, Oct-2(E)-enal, Hendecane, Pelargonaldehyde, Fenchol <alpha->, Non-2(E)-enal, Dodecane, Nona-2(E),4(E)-dienal, Oct-7-enol <3,7-dimethyl->, Heptylidene acetone, Pulegone, Dec-2(E)-enal, Menthyl acetate, Tridecane, Deca-2(E),4(E)-dienal, Nonanoic acid <4-methyl->, Undec-8-enal <cis->, Undecanal <2-methyl->, Bourbonene <beta->, Tetrade-cane.

Zeytinyağı numunesinde sıcaklık arttıkça aldehit ve keton türü bileşenler ve miktarları artış gös-

termektedir. En yoğun değişim 240 °C örneklerde elde edilmiştir.

Notlar

■ Çalışmalarımız Abant İzzet Baysal Üniversitesi Yenilikçi Gıda Teknolojileri Araştırma ve Geliştirme Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Desteklerinden dolayı Sn. Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek'e teşekkürlerimizi sunarız.

■ Söz konusu çalışma ilk kez 12-14 Nisan 2012 tarihleri arasında Adana'da gerçekleştirilen YABİTED 1. Bitkisel Yağlar Kongresi esnasında sunulmuştur.

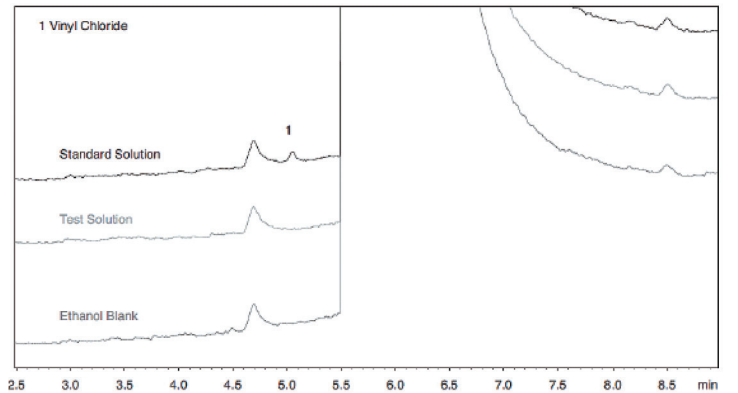
■ Bu yayında yer alan bilgilerin referans gösterilerek başka bir yerde kullanılması Ant Teknik'in iznine tabidir.

4. METAL VE PLASTİK ESASLI MADDE VE MALZEME ANALİZLERİ

Konserve ürünlerde veya içeceklerde sıkça tercih edilen ambalajlardan biri olan metal esaslı malzemelerin iç yüzeyi epoksi reçine, fenolik reçine, PVC gibi maddelerle kaplanabilmektedir.

Şekil 2.1'de Vinil klorür standart çözeltilerinin ve piyasada satılan ticari bir ürüne ait solventin analizine yer verilmektedir. Ürünün testi geçebilmesi için etanolde çözünen vinil klorürün peak alanı vinil klorür standart çözeltisinin (bu örnek için 0.05 ug/mL) peak alanını geçmemesi gerekmektedir. Örnekten elde edilen çözeltide vinil klorür dedekte edilmemiştir.

Metal esaslı ambalajlar açısından değerlendirilen bir başka ürün epiklorohid-



Şekil 2.1. Vinil Klorür Analizi



Şekil 2.2. Shimadzu GC-2010 Plus Gaz Kromatografi Sistemi

rindir. Epiklorohidrin, epoksi reçine ürünler de dahil olmak üzere birçok malzemenin üretiminde paslanmayı önlemek, solvent ve kimyasal dayanıklılığını artırmak, sertliği arttırmak vb. amaçlarla kullanılan kimyasal bir ara üründür. Konserve ürünler gibi steril veya pastörize ürünleri uzun süre saklamak için kullanılan metal bazlı ambalajlarda epiklorohidrin analizi uygulanmakta, test çözeltisindeki epiklorohidrine ait peak alanı değerinin izin verilen maksimum değerdeki epiklorohidrin standart çözeltisinin üzerinde olmadığı teyid edilmektedir.

Plastik esaslı malzemelerde kullanılan polikarbonat mükemmel mekanik ve ısı dayanım özel-



likleri gösteren saydam bir plastik malzemedir. Bu malzeme biberonlar, kürdanlar, plastik tabak, çatal-bıçak ve bardaklar gibi gıda ile temas eden birçok maddede kullanılmaktadır. Bu nedenle de gıda güvenliği kapsamında organik madde kalıntıları açısından özellikle incelenmektedir.

Polikarbonat analizlerinde, polikarbonat bileşiklerinin çözünmesi sonrasında ortaya çıkan trietilamin ve tribütülamın ekstrakte edilmektedir. Bu bileşiklerin ölçümü FTD dedektörlü Gaz Kromatografisi ile yapılmaktadır.

Gıdyla temas eden plastik esaslı maddelerde test edilen bir başka bileşik ise viniliden klorürdür. Viniliden klorür poliviniliden klorürün bir monomeridir ve bu maddenin ağıza uzun süreli teması karaciğer ve böbrek üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Vinilidenin PVC bazlı ürünlerde ortaya çıkabilme ihtimali nedeniyle bileşiğin test edilmesi gerekli görülmektedir. Bileşiğin analizinde GC-FID ve headspace yöntemine başvurulmaktadır.

Ant Teknik Hakkında

Ant Teknik, kuruluş yılı olan 1999'dan bu yana Kalite Kontrol ve Ar-Ge laboratuvarlarına yönelik satış, servis ve yedek parça temini; validasyon, aplikasyon ve eğitim hizmetleri sunuyor; anahar teslim laboratuvar projeleri gerçekleştiriyor. İstanbul, Ankara, İzmir, Adana ve Bakü'deki ofisleri; 90'ın üzerinde çalışanı ve bölge bayileriyle gıda, ilaç, çevre ve kimya gibi birçok farklı alanda yenilikçi analitik çözümler sunuyor.

Konularında dünyanın en saygın üreticileri arasında yer alan Shimadzu Corporation, JeioTech, Rudolph Research, Fungilab ve Hitachi gibi firmaların Türkiye'de temsilcisi olan Ant Teknik; ayrıca Restek, GLSciences, Hellma, PSS ve AccuStandard gibi dünyaca tanınan üreticilerden kromatografi ve spektroskopi sarf malzemeleri de tedarik ediyor.

Firmanın ürünleri ve hizmetleri ile ilgili daha ayrıntılı bilgi için www.antteknik.com adresini ziyaret edebilirsiniz.