

**ZEYTİNYAĞI VE PİRİNA YAĞINDAKİ BAP KİRLİLİĞİNİN HPLC
İLE TESPİTİ**

**Pamukkale Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı**


Demirhan ÇITAK

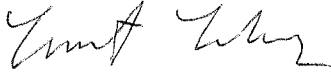
Danışman: Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL

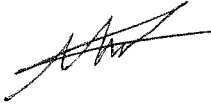
**Temmuz, 2006
DENİZLİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Demirhan ÇITAK tarafından Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL yönetiminde hazırlanan “Zeytinyağı ve Pirina Yağındaki BaP Kirliliğinin HPLC ile Tespiti” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Latif ELÇİ
Jüri Başkanı


Yard. Doç. Dr. Yusuf YILMAZ
Jüri Üyesi


Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL
Jüri Üyesi (Danışman)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun
.../.../..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet Ali SARIGÖL
Müdür

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza

: 

Öğrenci Adı Soyadı : Demirhan ÇITAK

TEŐEKKÖRLER

Çalıőmalarım süresince büyük ilgi ve anlayıőını gördüğüm, bilgi ve desteği ile beni bu çalıőmaya yönlendiren tez danıőmanım Sayın Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL'e ve yardımlarından dolayı Arő. Gör. Hatice Ardaę AKDOğAN'a sonsuz saygı ve teőekkürlerimi sunarım.

Tüm yaőamım boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme de sonsuz saygı ve teőekkürlerimi sunarım.

ÖZET**ZEYTİNYAĞI VE PİRİNA YAĞINDAKİ BAP KİRLİLİĞİNİN
HPLC İLE TESPİTİ**

Çıtak, Demirhan
Yüksek Lisans Tezi, Kimya ABD
Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL

Temmuz 2006, 68 Sayfa

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) atmosferde, su kaynaklarında ve gıdalarda yaygın bir biçimde bulunurlar. PAH'lar yakıtların tam yanmamasından meydana gelirler. PAH emisyonu çevreye yaydığı kanserojen etkilerden dolayı dikkat çekmektedir. Benzo(a)piren (BaP) en tehlikeli olanıdır. Bitkisel yağlar bazı PAH'ları içerirler. Ege Bölgesi'nden toplanan zeytin yağlarında BaP miktarları hızlı bir katı faz ekstraksiyondan (SPE) sonra HPLC ile belirlendi. Aydın bölgesinden toplanan yağlarda ortalama 14.71 µg/kg BaP bulunurken, İzmir bölgesinden toplanan yağlarda bu değer olarak 9.73 µg/kg bulundu. En fazla BaP miktarı Aydın'dan toplanan pirina yağında (57.8 µg/kg) belirlendi. Sadece üç tane zeytinyağında BaP tespit edilmedi. Zeytinyağında bulunan yüksek miktarda BaP çevre koşullarından karışmış olabilir.

Anahtar Kelimeler: Zeytinyağı, Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, Benzo(a)piren, Katı faz ekstraksiyonu, HPLC

Prof. Dr. Latif ELÇİ
Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL
Yrd. Doç. Dr. Yusuf YILMAZ

ABSTRACT**DETERMINATION OF BAP IN OLIVE OIL AND POMACE OLIVE OIL**

Çıtak, Demirhan
M. Sc. Thesis in Chemistry
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL

July 2006, 68 Pages

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are widely distributed in the atmosphere, water sources and foods. The major source of PAH is the incomplete combustion of hydrocarbons. Concerns about emissions of PAH to the environment arise because of their carcinogenic effects. Benzo(a)pyrene (BaP) is the most toxic one. Vegetable oils may contain some PAH. A rapid solid phase extraction (SPE) method followed by HPLC determination set up for BaP in olive oil samples collected in Aegean region. Average BaP determination was found from Aydın and İzmir regions respectively, 14.71 and 9.73 µg/kg. The highest BaP concentration was found in the pomace olive oil from Aydın (57.8 µg/kg). Only three olive oil samples did not contain any BaP. The high BaP concentration found in olive oil could be due to the contaminants in the environment.

Keywords: Olive oil, Polycyclic aromatic hydrocarbons, Benzo(a)pyrene, Solid phase extraction, HPLC

Prof. Dr. Latif ELÇİ
Assoc. Prof. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL
Assist. Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| Yüksek Lisans Tez Onay Formu | I |
| Bilimsel Etik | II |
| Teşekkür | III |
| Özet | IV |
| Abstract | V |
| İçindekiler | VI |
| Şekiller Dizini | VII |
| Tablolar Dizini | IX |
| Kısaltmalar ve Simgeler Dizini | X |
| | |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. ZEYTİNYAĞI HAKKINDA GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1. Zeytinyağının İnsan Sağlığı ve Beslenmesindeki Önemi..... | 3 |
| 2.2. Zeytinyağı Üretim Sistemleri | 4 |
| 2.3. Zeytinyağının Elde Edilmesinde Uygulanan İşlemler | 5 |
| 2.3.1. Yaprak ayırma ve yıkama | 12 |
| 2.3.2. Kırma-ezme işlemi | 12 |
| 2.3.3. Yoğurma (Malaksasyon) | 13 |
| 2.3.4. Fazların ayrılması işlemi | 13 |
| 2.4. Zeytinin Yan Ürünleri ve Bunların Değerlendirilmesi | 15 |
| 2.4.1. Karasu | 15 |
| 2.4.2. Pirina | 16 |
| 2.5. Zeytinyağları ve Prina Yağlarının Sınıflandırılması | 18 |
| 2.5.1. Zeytinyağı | 18 |
| 2.5.2. Pirina yağı | 19 |
| 2.6. Zeytinyağının Kimyasal Bileşimi | 20 |
| 2.6.1. Ana bileşenler | 20 |
| 2.6.2. İkincil bileşenler | 22 |
| 2.7. Rafinasyon Yöntemleri | 30 |
| 2.8. PAH Bileşikleri | 31 |
| 2.8.1. Bazı PAH bileşiklerinin özellikleri | 31 |
| 2.8.2. PAH bileşiklerinin kanserojen etkisi | 32 |
| 2.8.3. Gıdaların tüketilmesi yoluyla maruz kalınan PAH seviyeleri | 33 |
| 2.9. Yağlarda PAH Kontaminasyonu | 34 |

| | |
|--|----|
| 2.10. Gıda Düzenlemeleri | 39 |
| 2.11. PAH Tayininde Kullanılan Analitik Metotlar | 40 |
| 2.11.1. Katı faz ekstraksiyonu | 42 |
| 2.11.2. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve kısımları | 44 |
| 2.12. PAH'ların HPLC ile Analizleri | 50 |
| 3. MATERYAL VE METOT | 52 |
| 3.1. Materyal | 52 |
| 3.2. Kimyasallar | 52 |
| 3.3. Ekipmanlar | 52 |
| 3.4. Deneysel Çalışmalar | 53 |
| 3.4.1. HPLC' de hareketli faz metodu seçilmesi | 53 |
| 3.4.2. BaP' in geri kazanım metotları | 54 |
| 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMALAR | 56 |
| KAYNAKLAR | 64 |
| EK-1 | 67 |
| ÖZGEÇMİŞ | 68 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1 Kuru sistem ile zeytinyağı elde edilmesi | 6 |
| Şekil 2.2 Sulu sistem ile zeytinyağı elde edilmesi | 7 |
| Şekil 2.3 Kontinü santrifüjleme sistemi ile zeytinyağı elde edilmesi | 8 |
| Şekil 2.4 İki fazlı kontinü santrifüjleme sistemi ile zeytinyağı elde edilmesi | 9 |
| Şekil 2.5 Üç fazlı kontinü santrifüjleme sistemi ile zeytinyağı elde edilmesi | 10 |
| Şekil 2.6 Sinolea sistemi ile zeytinyağı elde edilmesi | 11 |
| Şekil 2.7 Trigliseritlerin lipaz ile hidrolizi | 22 |
| Şekil 2.8 Fosfolipidlerin kimyasal yapıları | 25 |
| Şekil 2.9 Bir çift bağlı doymamış yağ asidinin radikalik oksidasyonu | 29 |
| Şekil 2.10 Bitkisel yağlardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etki mekanizması | 29 |
| Şekil 2.11 Bir HPLC cihazının şeması | 46 |
| Şekil 3.1 Analiz çalışmalarında kullanılan HPLC sistemi | 53 |
| Şekil 3.2 Çoklu SPE manifoldu | 54 |
| Şekil 4.1 100 µg/kg'lık BaP standardı alıkonma zamanı | 57 |
| Şekil 4.2 PAH standartları karışımının HPLC kromatogramı | 57 |
| Şekil 4.3 50 µg/kg'lık BaP standardı kromatogramı | 58 |
| Şekil 4.4 PAH standartları karışımının | 59 |
| Şekil 4.5 BaP'ın 0-100 µg/kg'lık konsantrasyon aralığındaki kalibrasyon eğrisi | 59 |
| Şekil 4.6 İzmir sızma 4 nolu numunenin HPLC kromatogramı | 61 |
| Şekil 4.7. Aydın sızma 11 nolu numunenin HPLC kromatogramı | 61 |
| Şekil 4.8. Aydın prina 2 nolu numunenin HPLC kromatogramı | 62 |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Tablo 2.1 Zeytinyağlarının HPLC ve enzimatik metotla belirlenen gliserit oranları | 21 |
| Tablo 2.2 Zeytinyağının yağ asidi kompozisyonu | 23 |
| Tablo 2.3 Türk zeytinyağlarının tokoferol içeriği | 25 |
| Tablo 2.4 Zeytinyağındaki karoten değişimi | 27 |
| Tablo 2.5 Bazı önemli PAH bileşikleri ve özellikleri | 32 |
| Tablo 2.6 Bazı bitkisel yağların polisiklik aromatik hidrokarbon içerikleri | 35 |
| Tablo 2.7 Ham ve rafine edilmiş yağlarda polisiklik aromatik hidrokarbonlar | 36 |
| Tablo 3.1 HPLC’de denenen hareketli fazlar ve oranları | 54 |
| Tablo 4.1 HPLC’de denenen hareketli fazlar ve BaP’ in alıkonma zamanları | 58 |
| Tablo 4.2 İzmir’den toplanan zeytinyağ. ve pirina yağlarındaki BaP miktarları | 60 |
| Tablo 4.3 Aydın’dan toplanan zeytinyağları ve pirina yağlarındaki BaP miktarları | 60 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|------|---|
| BaP | Benzo (a) piren |
| BeP | Benzo (e) piren |
| DMF | Dimetilformamid |
| DMSO | Dimetilsülfoksit |
| FID | Alev İyonizasyon Dedektörü |
| FLD | Floresans Dedektör |
| GC | Gaz Kromatografisi |
| HPLC | Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi |
| MS | Kütle Spektrometresi |
| PAH | Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar |
| SPE | Katı Faz Estraksiyonu |
| TLC | İnce Tabaka Kromatografisi |

1. GİRİŞ

İnsanlar solunum, gıda tüketimi ve deri teması gibi çeşitli yollarla kimyasal maddelere maruz kalmaktadırlar. Kişilerin beslenme alışkanlığı, yaşam tarzı, çevre şartları ve mesleği gibi faktörler kimyasal maddelerin günlük alımını etkileyen etmenlerdir. En çok rastlanan çevresel kirleticiler Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH) dir. PAH'lar organik maddelerin parçalanma ürünleridir. Kansorejen özellikte oldukları ilk olarak 1930'lu yıllarda anlaşılmıştır. Endüstriyel prosesler ve yanma reaksiyonları sonucunda bu bileşikler oluşmakta ve çevreye yayılmaktadır. Sonuç olarak toprak, su, hava ve buna bağlı olarak gıda maddeleri bu maddelerle kirlenmektedir.

PAH bileşikleri kansorejen olmaları nedeniyle gıda analizlerinde önemle ele alınmaktadır (Cejpek vd 1998). Gıdalarda PAH varlığının başlıca nedenleri çevre kirliliği, gıda hazırlama ve pişirme yöntemleridir.

Birçok PAH bileşiği mevcut bulunmasına rağmen Benzo(a)piren (BaP) adlı bileşik en toksik olanıdır ve her ortamda bulunuşu nedeniyle indikatör olarak kabul edilen bir bileşiktir. BaP ilk kez 1933 yılında Cook tarafından kömür katranından izole edilmiştir.

Bu çalışmada Ege Bölgesi'nden toplanan zeytinyağı ve pirina yağlarındaki BaP ve bazı PAH'ların katı faz ekstraksiyonuyla (SPE) ekstrakte edilerek yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) cihazı ile kalitatif ve kantitatif olarak tayinleri yapılmıştır.

2. ZEYTİNYAĞI HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Akdeniz uygarlığının sembolü olan zeytin ağacı, tarih boyunca bu bölgede kurulan tüm uygarlıkların temelini oluşturmuştur. Zeytinin anavatanının ve gen merkezinin Güneydoğu Anadolu olduğu eskiden beri bilinmektedir. Son yıllardaki çalışmalarda Hatay, Kahramanmaraş ve Mardin şeridinde zeytin ağacının en alt türüne rastlanılmış olması bu yargıyı kesinleştirmektedir. Güneydoğu Anadolu'da ilk yerleşimini tamamlayan zeytin, batı Anadolu'ya ve oradan da Ege adaları yolu ile Yunanistan, İtalya, Fransa ve İspanya'ya kadar uzanmıştır. Sicilya yolu ile Kuzey Afrika'ya sıçrayan zeytin, Güneydoğu Anadolu'dan çıkarak Suriye ve Mısır üzerinden ilerleyen ikinci kol ile birleşmiş ve böylece Akdeniz' in tüm güney kıyılarına yayılmıştır. Bir üçüncü kol da Irak ve İran üzerinden Afganistan ve Pakistan'a kadar ilerlemiştir. XVI. yüzyılda İspanyollar tarafından güney ve kuzey Amerika'ya götürülmesi ile zeytin dünyadaki yayılışını tamamlamıştır.

Zeytin yetiştiriciliğinin ilk insanlarla birlikte başladığı kabul edilmekte ve "Zeytin bütün ağaçların ilkidir." denilmektedir. Zeytinin, insanlık tarihindeki önemine tüm kutsal kitaplarda, yaratılış ve kuruluş efsanelerinde yer verilmektedir. Arkeolojik ve jeolojik buluntular da zeytinin M.Ö. 6000 yılından beri kullanıldığını göstermektedir.

Zeytinden yağ elde edilmesinde kullanılan ilk yöntem, zeytinlerin önce ayakla ezilmesi ve sıcak su ile yağının alınması şeklinde olmuştur. Bugün için dünya üstünde bulunmuş en eski zeytinyağı tesisi, M.Ö. 6. yüzyıla aittir ve İzmir'in Urla ilçesi yakınlarındaki antik Klazomenai kentinde bulunmaktadır. Daha sonraları Romalılar zeytinin iki taş arasında ezilmesine dayanan yöntemi bulmuşlardır. İlk zamanlarda taşın dönmesi insanlar tarafından sağlanırken, daha sonra bu iş için hayvan gücünden yararlanılmıştır. Zamanla, ezilen zeytin hamurunun sıkıştırılması için Arşimet vidasının döndürülmesi ile oluşturulan basınçtan faydalanılmıştır. Mengene tabir edilen bu usul

günümüzde de halen kullanılmaktadır. XIX. Yüzyılda buharın kullanılmaya başlaması ile zeytinyağı sanayinde yeni bir döneme girilmiş ve daha yüksek basınçla daha fazla zeytin işleme olanağı doğmuştur. Bu iş için kullanılan hidrolik presler teknolojik gelişmelere paralel olarak dizel motoru ve elektrikle çalışabilecek biçimde geliştirilmiş ve zamanla günümüzde kullanılan en modern sistem olan kontinü tesislere dek gelinmiştir.

Zeytinyağı bu süreç boyunca Akdeniz insanının önemli bir gıdası olması yanı sıra, Akdeniz ticaretinin de temelini oluşturmuş ve sadece bir besin maddesi olarak değil aynı zamanda ışık kaynağı, sağlık ve güzellik iksiri olarak da kullanılmıştır.

2.1. Zeytinyağının İnsan Sağlığı ve Beslenmesindeki Önemi

Zeytinyağı; vücut için gerekli ancak sentez edilemeyen temel yağ asitleri ile yağda eriyebilen E vitamininin kaynağını oluşturması ve yüksek kalori değeri (16 mL zeytinyağı 120 kalori içermektedir) yanı sıra, meyve suyu gibi natürel tüketilebilen tek yağ olma özelliği ve kendine has renk, koku, tat ve aromasıyla insan beslenmesinde çok önemli bir konuma sahiptir.

Zeytinyağının başta kalp-damar hastalıkları olmak üzere sindirim sistemi, kemik yapısı beyin ve sinir dokuları üzerinde çok önemli fonksiyonları bulunmaktadır.

Zeytinyağı, kalp-damar hastalıklarında temel risk faktörü olan kolesterolün, damar tıkanıklığına yol açan düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) bileşenini azaltıcı rol oynarken, yararlı ve koruyucu olan yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) bileşenini değiştirmez. Bu özelliği ile kalp sağlığı açısından en uygun yağdır. Kan hücrelerinin kümeleşmesinde rol oynayan faktörlere karşı etki göstererek kan damarlarında pıhtılaşma riskini azaltır.

Zeytinyağı sıcak veya soğuk tüketildiğinde mide asitliğini azaltarak gastrit veya düodenal ülserlere karşı koruyucu bir rol oynar. Zeytinyağı safra salgısını canlandırıcı, safra kompozisyonunu düzenleyici ve safra kesesinin boşalmasını sağlayıcı özellikleri nedeni ile safra taşı riskini azaltır ve taşların erimesine yardımcı olur.

Bağırsaklar tarafından en iyi emilen yağdır ve bağırsaklardan geçişi düzenleyici özelliği vardır. Kemik mineralizasyonunun iyileşmesini sağlar ve normal kemik gelişimine yardımcı olur. Zeytinyağında yaklaşık %80 oranında bulunan oleik asit insan sütündeki en önemli yağ asididir ve doğumdan hemen sonra bebeğin sinir dokularının gelişiminin sağlanmasında temel bir işleve sahiptir. Ayrıca yeni doğmuş bebeklerde 6/1 oranında gerekli olan linoleik-linolenik asit oranı zeytinyağında optimum seviyede olduğundan, bebek bekleyen ve emziren annelerin beslenmesinde en uygun yağdır.

Zeytinyağı aynı zamanda dokuların yaşlanmasını önler ve yaşlanmanın beyin fonksiyonları üzerindeki yıpratıcı etkisini azaltır. Mükemmel kimyasal yapısı ve önemli ölçüde antioksidan (tokoferol) içermesi nedeniyle, diğer yağlara göre yüksek sıcaklıklarda bile daha dayanıklıdır.

2.2. Zeytinyağı Üretim Sistemleri

Zeytinlerin yağa ayrılarak işlenmesindeki amaç; natürel zeytinyağı üretmektir. Natürel zeytinyağı, zeytin ağacının meyvesinden sadece mekanik veya diğer fiziksel yöntemlerle elde edilen ve yağın bozulmasına neden olmayacak koşullarda, özellikle ısıya maruz kalması önlenerek, yıkama, presleme, santrifüjleme ve süzme dışında hiçbir işlem görmemiş olan yağdır.

Kalite değeri yüksek natürel zeytinyağı gerek kimyasal bileşimi, gerekse doğal yapısı açısından insan beslenmesinin temel taşlarından biridir. İnsanlık tarihini oluşturan bütün medeniyetler boyunca zeytinyağı insanların beslenmesindeki önemini muhafaza etmiş ve günümüzde de kaliteli, lezzetli bir yağ kaynağını temsil etmektedir (Karaman ve Dıraman 2005).

Zeytinyağı üretim sistemlerini iki ana gruba ayırabiliriz.

I-Klasik Sistem

II-Modern Sistem

Klasik sistemleri de kendi aralarında aşağıdaki gibi gruplamak uygundur.

- Mengeneler; Günümüzde artık kullanılmayan çok eski bir sistemdir.
- Kuru sistem dediğimiz süper presler (Şekil 2.1)

- Sulu sistem dediğimiz torbalı, hidrolik presler (Şekil 2.2)

Modern sistemler; Kontinü santrifüjleme sistemini kapsamaktadır (Şekil 2.3). Bunlar da kendi aralarında aşağıdaki şekilde gruplandırılırlar.

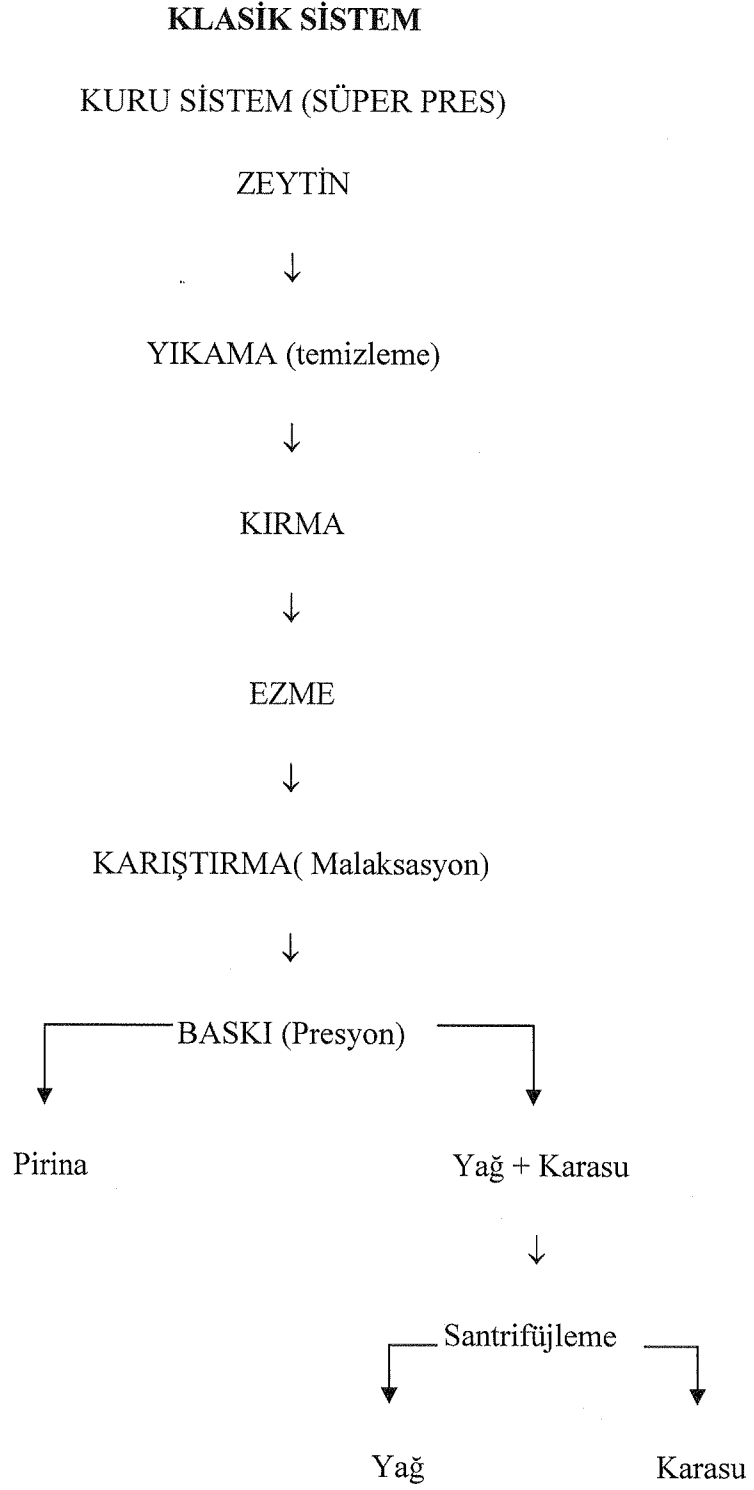
- İki fazlı kontinü santrifüjleme sistemi (Şekil 2.4)
- Üç fazlı kontinü santrifüjleme sistemi (Şekil 2.5)
- Perkolasyon sistemi
- Kombine perkolasyon ve santrifüjleme (Sinolea) sistemi (Şekil 2.6)

Ülkemizde zeytinyağı sektörünün bir bölümünü oluşturan ve yerleşim birimleri arasında dağınık bir şekilde yer almış olan klasik sistem yağhaneler, zeytinyağı üretiminde önemli ölçüde kalite ve kantite (verim) kayıplarına neden olmaktadır. Bu işletmelerde randıman düşük, üretim maliyetleri ise yüksek olmakta ve elde edilen ürün kalite standartlarına uygun olmamaktadır.

Ülkemizin diğer zeytinyağı üreticisi ülkelerle dış pazarlarda rekabet edebilmesi için zeytinyağı teknolojisinin iyileştirilip geliştirilerek modern kontinü tesislere dönüştürülmesi gerekmektedir (Karaman ve Dıraman 2005).

2.3. Zeytinyağının Elde Edilmesinde Uygulanan İşlemler

Bir tarım ürünü ne kadar iyi değerlendirilirse, üretimi o oranda artar. Diğer bitkisel yağlara oranla daha yüksek bir değer taşıyan zeytinyağı, üstün organoleptik, fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Zeytinyağının elde edilmesi aşamasında da bu üstün niteliklerin korunması gerekmektedir. İyi kaliteli zeytinyağı üretimi, zeytinin yetiştirilmesi, hasadı ve yağın elde edilmesi gibi işleme kademelerinde tekniğin öngördüğü şartlara tam olarak uymakla mümkündür. Yağın elde edilmesinde, en ilkel işleme şeklinde dahi zeytin işleninceye kadar çeşitli aşamalardan geçmektedir ve her aşamanın uzun veya kısa olması, her basamakta uyulması gereken şartlara bilerek veya bilmeyerek uyulmaması yağın kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Karaman ve Dıraman 2005).



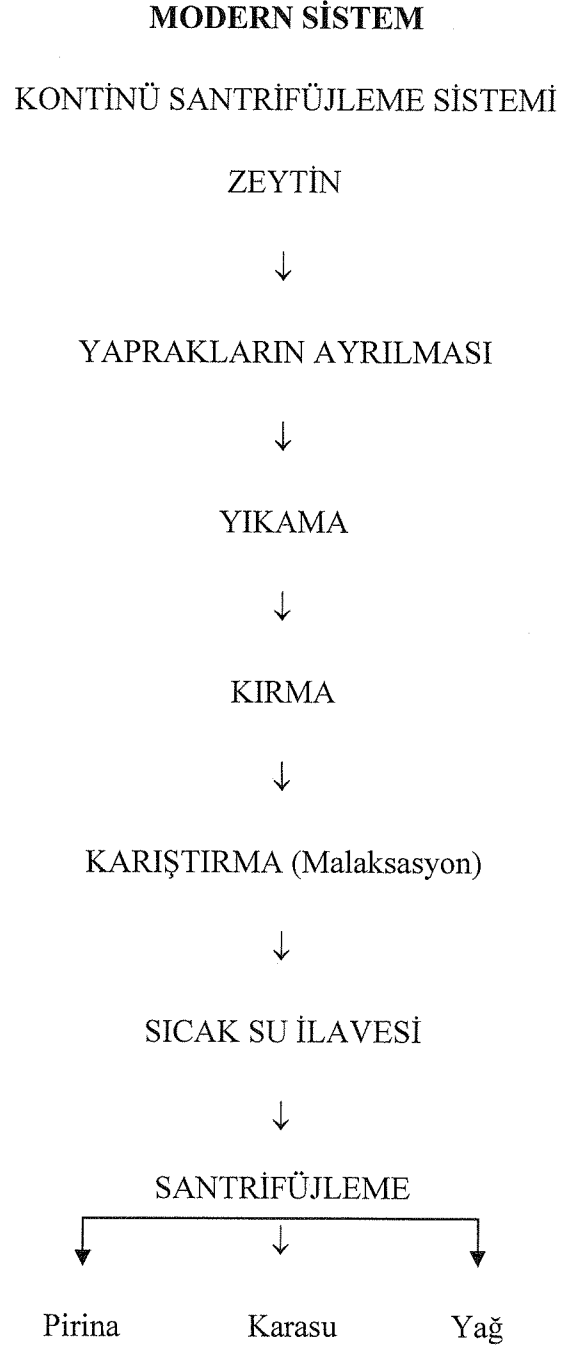
Şekil 2.1. Kuru sistem ile zeytinyağı elde edilmesi (Karaman ve Dıraman 2005).

KLASİK SİSTEM

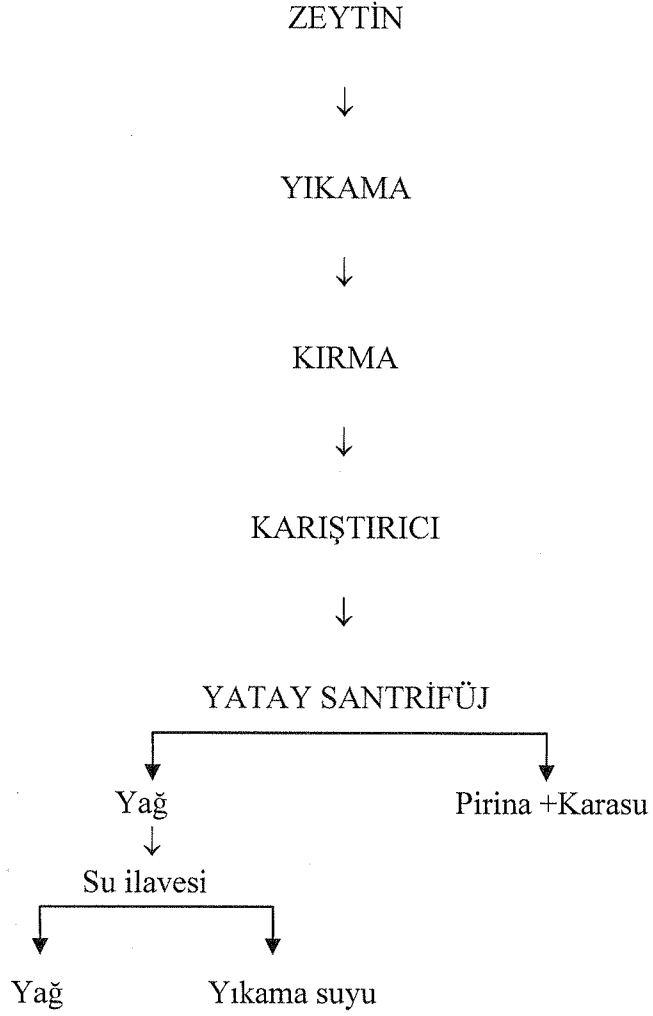
SULU SİSTEM (HİDROLİK PRES)



Şekil 2.2. Sulu sistem ile zeytinyağı elde edilmesi (Karaman ve Dıraman 2005).



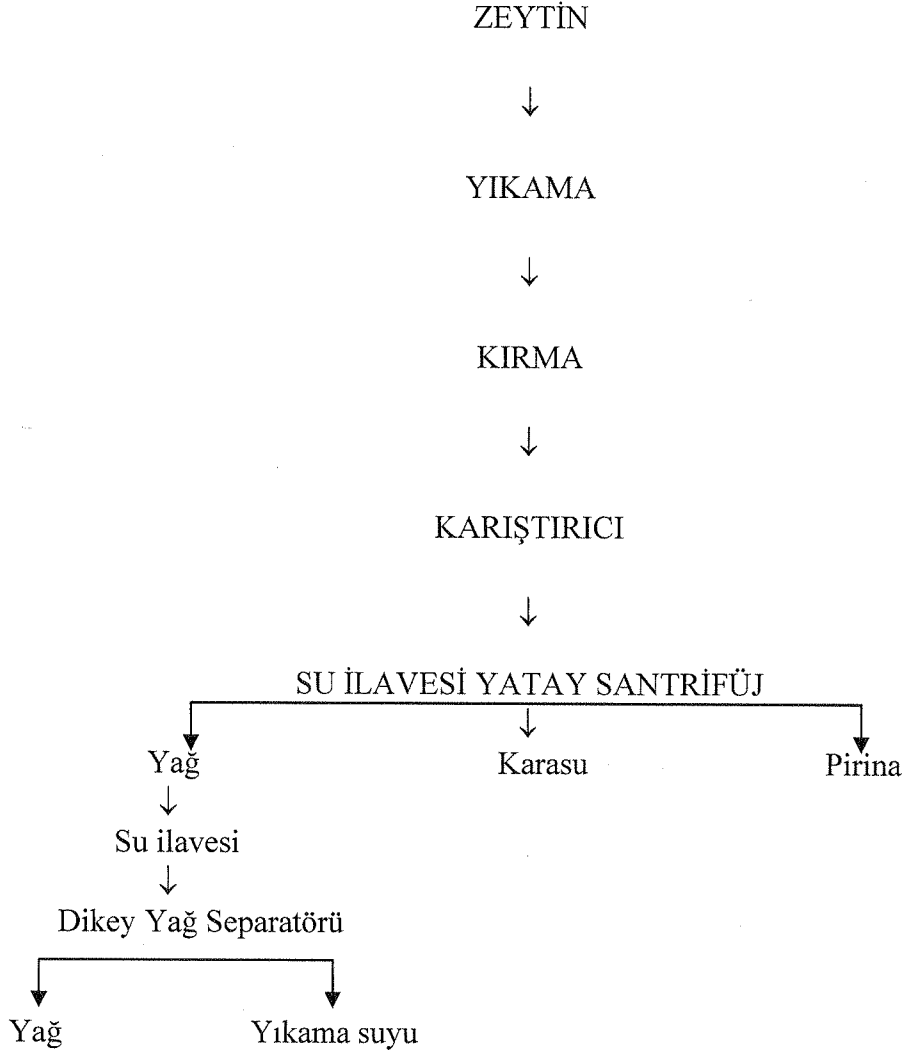
Şekil 2.3. Kontinü santrifüjleme sistemi ile zeytinyağı elde edilmesi (Karaman ve Dıraman 2005).

MODERN SİSTEM**2 FAZLI KONTİNÜ SANTRİFÜJLEME SİSTEMİ**

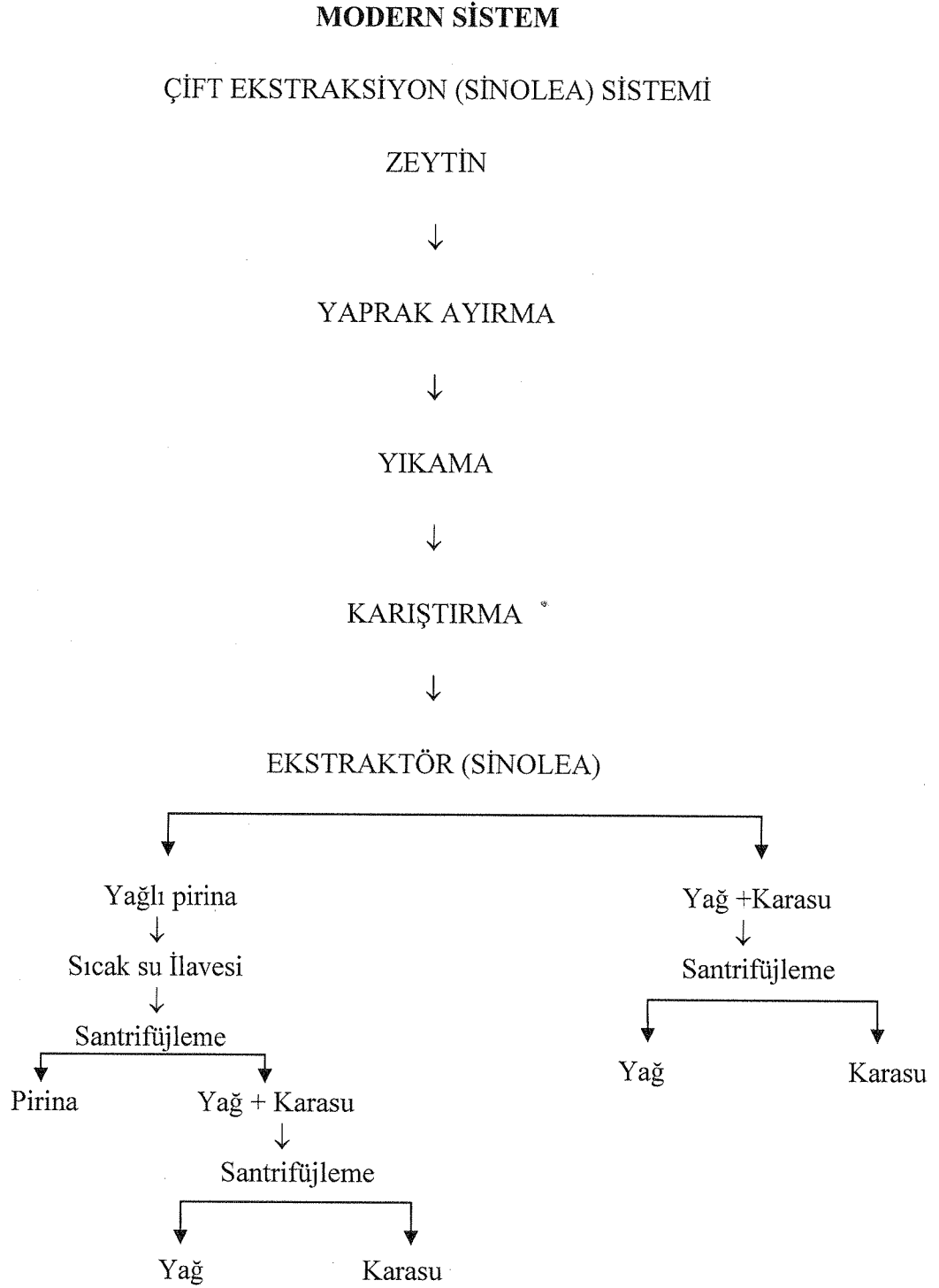
Şekil 2.4. İki fazlı kontinü santrifüjleme sistemi ile zeytinyağı elde edilmesi (Karaman ve Dıraman 2005).

MODERN SİSTEM

3 FAZLI KONTİNÜ SANTRİFÜJLEME SİSTEMİ



Şekil 2.5. Üç fazlı kontinü santrifüjleme sistemi ile zeytinyağı elde edilmesi (Karaman ve Dıraman 2005).



Şekil 2.6. Sinolea sistemi ile zeytinyağı elde edilmesi (Karaman ve Dıraman 2005).

2.3.1. Yaprak ayırma ve yıkama

Zeytinlerin fabrikada yağa işlenmesi yaprak ayırma ve yıkama işlemiyle başlar. Hasat sırasında yaprak, taş, toprak gibi yabancı maddeler zeytinlerle birlikte toplanır veya taşınır. İyi kalitede yağ elde edilmesi ve makinalarda meydana gelebilecek arızaları gidermek için zeytinlerin bu yabancı maddelerden temizlenmesi gerekmektedir.

Meydana gelebilecek kayıpları önlemek ve depolama sırasında fermantasyon olmaması için zeytin tanelerinin fabrikaya mümkün olduğunca sağlam olarak getirilmesine ve yıkama sırasında zarlarının zedelenmemesine dikkat etmek gerekmektedir. Ayrıca yıkama suyunun birkaç kez kullanılması kirliliğin bulaşmasına neden olacağından kaçınılmalıdır. Bununla birlikte yıkama işlemi zeytinlerin çok olgun olduğu hallerde yapılmayabilir. Çünkü makinaların mekanik etkisi meyve eti parçacıklarının kopmasına sebep olabilir, bu da bir ölçüde yağ kaybına neden olur (Karaman ve Dıraman 2005).

2.3.2. Kırma-ezme işlemi

Kırma işlemi hem kimyasal hem de fiziksel bakımdan önemlidir. Çünkü zeytinyağının dokulardan çıkarılması zeytinlerin kırılması ve ezilmesiyle başlar. Amaç; yağın hücre içi boşluklardan çıkarılması için meyve eti hücrelerinin parçalanmasıdır.

Kırma ve ezme işleminde iki tip değirmen kullanılmaktadır.

- I. Taş değirmenler
- II. Metal değirmenler

I. Taş değirmenler: Çok eskiden beri kullanılan bir ezme ve öğütme metodudur. Değirmen taşı kıvamlı, homojen bir hamur elde edinceye kadar zeytinleri tekrar tekrar ezer. Hamurun çok ince olmaması için taş yüzeyleri pürüzlü yapılmıştır. Aşırı ezilmiş hamur parçacıkları daha sonraki sıvı ve katı fazların ayrılmasında olumsuz etki yapmaktadırlar. Bu nedenle özellikle değirmen taşları çok ağırsa ezme işlemine 20-30 dakikadan fazla devam edilmemelidir.

II. Metal değirmenler: Yüksek hızda dönerek, zeytinleri sabit metal kafese çarptırıp kıran ve ince hamur haline dönüştüren değişik şekillerde metal kısımlardan meydana gelmiştir. Metal değirmenlerin ezme kapasiteleri yüksektir; sürekli ve otomatik çalışır. Bununla birlikte metal değirmenlerde ezme işi hızlı ve kabadır. Hücreler yeterince parçalanamaz ve hamur gereği gibi hazırlanmaz. Bunun sonucunda da daha uzun süre ve daha yüksek sıcaklık derecesinde yoğurma gerekir.

Klasik ve kontinü sistemlerde öğütme derecesi zeytinlerin kalitesine, olgunluk durumuna ve hatta iklim şartlarına göre değişiklik gösterir. Öğütme derecesinin iyi ayarlanamaması pirina ve kara sudaki yağ miktarını artırmaktadır (Karaman ve Dıraman 2005).

2.3.3. Yoğurma (Malaksasyon)

Zeytinler ezildikten sonra, özellikle metal değirmenler kullanıldığında hamurun yoğrulması gerekir. Bu işlem daha sonra katı ve sıvı fazların ayrılması için hamurun hazırlanmasında önemli bir işlemdir. Burada amaç; bir taraftan devamlı bir faz teşkil edecek şekilde yağ damlacıklarının daha büyük damlalar haline gelmesine yardım etmek, diğer taraftan yağ-su emülsiyonunu kırarak serbest yağ yüzdesini artırmaktır (Karaman ve Dıraman 2005).

2.3.4. Fazların ayrılması işlemi

Zeytin hamurundan sıvı fazları (yağ ve karasu), katı fazdan ayırmak üzere çeşitli metotlar kullanılmaktadır. Bunlar;

- I. Kuvvetli basınçla presleme
- II. Santrifujleme
- III. Perkolasyon dediğimiz yüzey gerilim farklılığına dayanan sistem
- IV. Doğal dinlendirme dediğimiz dekantasyon işlemi olarak gruplandırabiliriz.

Preslerde fazların ayrılması işleminde randıman, yığınların çapına bağlı olduğu gibi, pistonun hareket hızına, hamur yığınının yapısına, kullanılan filtre cinslerine bağlıdır. Yığının çapı arttıkça, yağlı şıranın gideceği yol uzadıkça yağın ayrılması için gerekli olan güç de o oranda artar. Sıkma işlemi ne kadar hızlı olursa, hamurda kalan yağ

miktarı o kadar fazla olur ve ayın zamanda hamur torbalarında da yıpranma meydana gelir. Eğer basınç kademeli olarak yükseltirse, basıncın etkisi ile hamurun hacmi azalır, böylece sıvı fazlar pirinadan ve torba deliklerinden çıkarak yağlı şıranın iki fazını oluşturur.

Santrifüjleme sisteminde hamura doğrudan santrifüj kuvveti uygulanır. Burada esas birbirine karışmayan sıvıların ve katı maddelerin özgül ağırlıklarının farklı olmasıdır. Yani aynı anda yağ, karasu ve pirinanın birbirinden ayrılması gerçekleşir. Bu ayırım dekantör dediğimiz yatay santrifüjlerde mümkün olmaktadır. Özellikle bu tip yatay santrifüjler (dekantör) Sinolea' da (yağ+karasu) yağın eldesinde kullanılırlar. Perkolasyon sisteminde de çok fazla olmamakla birlikte fazların ayrılması işlemi gerçekleşmektedir.

Dekantasyonla fazların birbirinden ayrılması işlemi ise çok basit bir metottur. Burada, farklı yoğunluktaki su ve yağ zaman içerisinde birbirinden ayrılmaktadır. Yağlı şıra bir kabın içersine konulduğunda daha hafif olan yağ üste çıkar. Bu tür ayırma uygun bir yöntem değildir. Çünkü yavaş bir işlem olduğu ve yağ uzun süre karasu ile temas ettiği için ve sonuçta bir bulaşma riski olduğu için yağın kalitesine olumsuz etki eder.

Klasik sistem içerisinde yer alan sulu sistemlerde pirinada kalan yağ miktarı yüksek olmaktadır. Bu miktar %8-12 arasında değişebilir. Bu sistemle yağ eldesin de sıcak su kullanıldığı için yağın kalitesinde bozulmalar olabilir. Kuru sistem dediğimiz süper presler, sulu sisteme göre biraz daha iyidir. Pirinada daha az miktarda yağ kalmaktadır. İki ve üç fazlı kontinü santrifüjleme sistemlerden 3 fazlı sistemde pirina, karasu ve yağ birbirinden ayrılmış olarak elde edilmektedir. İki fazlı sistemde ise, yağ ve sulu pirina birbirinden ayrılır. Bu sistemde karasu pirinaya hapsediliyor ve dolayısı ile rutubeti yüksek bir pirina elde edilmiş olur.

Perkolasyon (çift ekstraksiyon), diğer bir ifade ile Sinolea sistem ile zeytinyağı eldesin de mutlaka kaliteli zeytin tanelerinin kullanılması önerilir. Zeytinlerin ayırma, yıkama ve karıştırma işlemlerinden sonra elde edilen hamura çok sayıda paslanmaz çelik bıçaklar batırılıp çıkarılır ve sıvanan yağlar damla damla alınır. Ancak bu şekilde hamur içersindeki yağı tamamen almak mümkün değildir. Ardından santrifüj (dekantör veya yatay santrifüj) ile pirinada kalan yağların alınması gerekmektedir (Karaman ve

Dıraman 2005).

2.4. Zeytinin Yan Ürünleri ve Bunların Değerlendirilmesi

Zeytinlerden mekanik olarak yağ çıkarıldığı zaman iki alt ürün elde edilmektedir. Bunlar karasu ve pirinadır.

2.4.1. Karasu

Zeytinlerin yağa işlenmesinden elde edilen koyu kırmızı renkli, organik ve mineral maddeler bakımından zengin, asidik nitelikte, miktarı kullanılan yağ çıkarma sistemine bağlı olarak değişen sıvı alt üründür. Sulu sistem, kuru sistem ve sürekli sistem gibi farklı teknolojileri uygulayan fabrikalarda belirli miktarda zeytinin işlenmesi sonucu ortaya çıkan kara suyun miktarları tesbit edilmiş, sulu sistemden (%65-70) çıkan kara suyun diğer sistemlere göre daha fazla olduğu, bunu ise sürekli (%60-65) ve kuru sistemin (%45-50) izlediği gözlenmiştir.

Genel olarak yağhaneden çıkan kara su atılmadan önce yağhanenin kapasitesine ve kara suyun miktarına bağlı olarak kısa veya uzun bir süre cehennem çukuru denilen çukurlarda bekletilmektedir. Cehennem çukurları çoğu kez yağhanenin toprak seviyesi altında yapılmaktadır ve birbirleriyle dipten bağlı 2 veya 3 bölmeden meydana gelmektedir. Genellikle yağın karasudan ayrılarak yüzeyde toplanması birinci bölmede olmaktadır. Bu çukurlarda karasu, artık yağın yüzeye çıkmasına yardım eden bir fermantasyon işlemine maruz kalmaktadır. Daha sonra kara suyun çeşitli şekillerde değerlendirilebilmesi için yüzeydeki bu yağın iyice alınması gerekmektedir. Lampant yağ olarak sınıflandırılan bu düşük kaliteli yağ toplandıktan sonra yemeklik olarak tüketilebilmesi için rafine edilebilir.

Karasuyun cehennem çukurlarından akıtılması yağhanelerde halen oldukça külfetli bir işlem durumundadır. Diğer yandan da, özellikle günümüzde giderek artan çevre kirliliğine sebep olan unsurlardan birisini oluşturmaktadır. Son zamanlarda zeytinci ülkelerin bir çoğunda kirlenmeye karşı çevreyi korumak üzere sıkı kanunlar hazırlanıp kara suyun şehir kanalizasyon şebekelerine veya akarsulara akıtılması yasaklanmıştır.

Akdeniz zeytinci ülkelerin birçoğunda karasuyun tarımsal alanlara kontrollü ve sınırlı bir şekilde dağıtılmasına izin verilmektedir. Organik maddelerin bir kısmının toprağa geri verilmesini amaçlayan bu uygulama tarımsal açıdan faydalı olmaktadır. Bundan başka karasu; biyolojik olarak parçalanabilen veya belirli bir süre geçtikten sonra humusa dönüşebilen, yalnızca tabii bitkisel maddeleri içeren ve toprağa organik gübre ile mineral madde sağlayan bir meyve suyudur. Bununla birlikte bazı ülkelerde çevresel nedenlerle bu uygulamaya karşı çıkılmakta ve atık suyun tamamen arıtılması gerektiği düşünülmektedir. Halen atık suyun arıtılması için uygulanan en yaygın yöntem buharlaştırma yolu ile kara suyun konsantre edilmesi yöntemidir. Bu yöntemle suyu uçurulan karasu konsantresi bekletilerek tamamen kuruması sağlanır. Kurutularak toz haline getirilen karasu konsantresi gübre olarak değerlendirilebilir.

En ekonomik alternatif çözüm ise, düzenli olarak çalışan biyolojik arıtma sistemi bulunan tesislerde kara suyun şehir atıkları ile %0.1-0.3 oranında karıştırılarak atılmasıdır (Karaman ve Dıraman 2005).

2.4.2. Pirina

Pirina ise, zeytinler mekanik olarak yağa işlendiklerinde meydana çıkan katı alt üründür. Kara suyun aksine pirina yağhaneler için bir gelir kaynağıdır, çünkü içinde kalan yağın alınabilmesi için pirina fabrikalarına gönderilir.

Yağ çıkarma sistemine göre pirinanın içerdiği yağ oranları değişiklik göstermektedir. Örneğin, sulu sistemle elde edilen pirinada %8 oranında, kuru sistemle elde edilen pirinada %6 oranında, kontinü sistemle elde edilen pirinalarda ise %4 civarında yağ kaldığı araştırmalar sonucunda saptanmıştır. Bununla birlikte pirinanın içerdiği su miktarı da değişiklik göstermektedir. Sulu sistem ve kontinü sistemlerden elde edilen pirinanın daha rutubetli olduğu, kuru sistemle elde edilen pirinanın ise daha az rutubetli olduğu bilinmektedir. Rutubet oranı fazla olan pirinada organik maddeler kısa sürede fermente olur ve pirinada bozulmalar meydana gelir.

Zeytinden elde edilecek pirina ve yağ miktarları her ne kadar çeşit, çevre koşulları ve zeytinin işleyiş şekillerine bağlı ise de ortalama olarak 100 kg zeytinden genellikle 15-22 kg arasında zeytinyağı, 35-45 kg arasında da pirina elde edilmektedir.

Pirina fabrikaları için en önemli konu pirinadan elde edilecek olan yağın asitliğidir. Pirinada enzimler nedeniyle serbest asitlik zaman içerisinde hızla yükselmektedir. Yağ asitliğindeki bu artışı önlemek için, pirina kurutulmak üzere mümkün olan en kısa zamanda, mümkünse elde edildiği gün pirina fabrikalarına gönderilmelidir. Kurutma işlemi enzim faaliyetlerini durdurur. Bu kurutma işlemi, daha sonra pirinadan yağın çözücüye alınabilmesi için yapılması gerekli olan bir işlemdir. Pirinadan çözücü yardımıyla yağın alınmasında iki sistem kullanılmaktadır (Karaman ve Dıraman 2005).

1. Kaffesi Bach sistemi dediğimiz patlamalı sistem 2. kontinü sistemdir.

2.4.2.1. Patlamalı sistem:

Bu sistemde stok edilen pirina doğrudan alev ve duman arasından geçirilerek kurutulur. Kurutulan pirina üstten kazana atılır. Çözücü olarak genellikle hekzan kullanılmaktadır. Çözücü olarak kullanılan hekzan da alttan kazana verilerek 80 °C ye kadar ısıtılır ve yağın çözünmesi sağlanır. Daha sonra yağ içeren çözücü imbiklere alınır, yağsız kuru pirina basınçla dışarı atılır, bu sırada yüksek bir ses duyulur ki 'patlamalı' denmesinin sebebi de budur. İmbiklere alınan çözücü yağ karışımı damıtılmak suretiyle pirina yağı elde edilmiş olur (Karaman ve Dıraman 2005).

2.4.2.2. Kontinü sistem:

Kontinü sistem ise kapalı bir sistemdir. Bu sistemde pirina sıcak hava ile kurutulur, hiç ara vermeden son teknoloji kullanılarak pirina yağı elde edilir ve bu şekilde elde edilen pirina yağı diğer sisteme göre daha kalitelidir.

Pirina fabrikalarının işleme sistemleri pirina yağının kullanım yerlerine göre değişmektedir. İleri teknolojiye sahip zeytinci ülkeler pirina yağını yemeklik olarak tüketmektedirler. Ülkemizde ise pirina yağı genellikle sabun ve boya sanayinde kullanılmaktadır. Pirina yağının yemeklik olarak değerlendirilmesi için pirinanın taze olarak bekletilmeden işlenmesi gerekmektedir, eğer bu mümkün değilse kurutulmuş kapalı silolarda saklanması gerekmektedir. Pirina fabrikalarından elde edilen diğer bir alt ürün yağsız pirinadır. Yağsız pirina düşük kaliteli yakıt olarak kullanılabilir. Ayrıca yağsız pirina hayvan yemi olarak ve toprağı iyileştirmek için gübre olarak da

kullanılabilir. Yağsız pirina tarım gübresi olarak kullanıldığında genellikle fakir topraklar için değerli bir organik madde ve mineral madde kaynağını oluşturur. Eğer yağsız pirina hayvan yemi olarak değerlendirilecekse çekirdek parçacıklarının tamamen ayrılması gerekmektedir. Bunun için özel makinalar kullanılmaktadır. Çekirdek parçacıkları ise furfurol veya aktif karbon üretiminde veya yakıt olarak kullanılabilir. Zira çekirdek parçacıkları yakıt olarak kullanıldığında kalori değeri, yağsız pirinanın kalori değerinden daha yüksektir (Karaman ve Dıraman 2005).

2.5. Zeytinyağları ve Prina Yağlarının Sınıflandırılması

Bu konu başlığı altında ulusal ve uluslararası ticari standartlarda ve/veya gıda kodeksi'nde zeytinyağlarının ve pirina yağlarının isimlendirilmeleri ve tanımlanmaları kısaca anlatılacaktır.

2.5.1. Zeytinyağı

Sadece zeytin ağacı (*Olea europea*) meyvelerinden elde edilen yağlardır. Çözücü kullanılarak ekstrakte edilen veya reesterifikasyon işlemi görmüş (naturel trigliserid yapısı değiştirilmiş) yağlar ve diğer cins yağların karışımı bu tanımın dışındadır (Karaman ve Dıraman 2005).

2.5.1.1. Naturel zeytinyağları

Zeytin ağacının meyvesinden sadece mekanik veya diğer fiziksel yöntemlerle elde edilen ve yağın bozulmasına neden olmayacak koşullara, özellikle de termal koşullara maruz kalması önlenerek, yıkama, dekantasyon, santrifujleme ve filtrasyon dışında bir işlem görmemiş olan yağlardır.

I. Naturel zeytinyağları (bulunduğu haliyle tüketime uygun)

- Naturel Sızma Zeytinyağı; Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 1.0 gramdan fazla olmayan, kusursuz lezzeti olan naturel zeytinyağıdır.
- Naturel Birinci Zeytinyağı; Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 2.0 gramdan fazla olmayan yağlardır.
- Naturel İkinci Zeytinyağı; Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda

3.3 gramdan fazla olmayan yağlardır.

II. Naturel zeytinyağları (bulunduğu haliyle tüketime uygun olmayan)

- Naturel Lampant Zeytinyağı; Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 3.3 gramdan fazla olan yağlardır. Bu yağlar, rafinasyona gönderilen veya teknik amaçlar için kullanılan yağlardır.

2.5.1.2. Rafine zeytinyağı

Naturel zeytinyağlarından yağın doğal gliserid yapısında değişikliğe yol açmayan metotlarla rafine edilmesiyle elde edilen zeytinyağıdır. Rafine zeytinyağında serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 0.3 gramdan fazla olmamalıdır.

2.5.1.3. Riviera zeytinyağı

Rafine zeytinyağı ile bulunduğu haliyle tüketime uygun olan naturel zeytinyağından oluşan yağdır. Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 1.5 gramdan fazla olmamalıdır.

2.5.2. Pirina yağı

Zeytin pirinasının çözücülerle işleme tabi tutulması sonucu elde edilen yağdır. Reesterifikasyon yoluyla elde edilen yağlar ile diğer yağlarla olan karışımlar bunun dışındadır. Bu yağ aşağıdaki isimlendirmeler ve tariflere uygun olarak pazarlanmaktadır.

2.5.2.1. Ham pirina yağı

İnsan tüketimi veya teknik amaçlar için kullanılması açısından sonuçta rafine edilmesi tasarlanan pirina yağıdır.

2.5.2.2. Rafine pirina yağı

Ham pirina yağının doğal trigliserid yapısında değişikliğe yol açmayan metotlarla

rafine edilmesi sonucu elde edilen yağdır. Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 0.3 gramdan fazla olmamalıdır.

2.5.2.3. Karma pirina yağı

Doğrudan gıda olarak tüketilebilecek naturel zeytinyağı ile rafine puma yağı karışımından oluşan bir yağdır. Karma pirina yağının serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 1.5 gramdan fazla olmamalıdır. Bu karışım, hiçbir şekilde "zeytinyağı" olarak isimlendirilmemelidir (Karaman ve Dıraman 2005).

2.6. Zeytinyağının Kimyasal Bileşimi

Zeytinyağı, temel olarak trigliseridlerden (%98-99) ve minör bileşikler olarak bilinen gliserid formunda olmayan bileşiklerden (%0.5-1) meydana gelmektedir (Boskou 1996).

2.6.1. Ana bileşenler

Bitkisel yağların yaklaşık %99'unu sabunlaşabilen bileşikler oluşturur. Yağın, fiziksel, kimyasal ve metabolik özellikleri bu bileşiklerin kompozisyonuna ve miktarına bağlıdır. Trigliseridler, yağların sabunlaşan kısmının %95-99'unu oluşturmaktadır. Bu yüzden trigliseridler ana bileşikler olarak adlandırılır (Gülat 1999).

Teorik olarak, esas yağ asitleri kompozisyonu ile zeytinyağında 70'den fazla trigliserid olmalıdır. Ancak trigliserid sayısı karşılaştırıldığında daha az olduğu görülmüştür. Bunun nedeni bazı trigliseridlerin devamlı bulunmamasına ve bazılarının da ihmal edilebilecek miktarda bulunmasına bağlanmaktadır (Boskou 1996).

Zeytinyağında, tamamı doymuş yağ asitlerinden oluşan trigliseridler (PPP,SSS,PSP,SPS vb) bulunmaz. Aynı şekilde üçü de doymamış yağ asidi içeren trigliseridler (PPLn, SSLn,PSLn vb) mutlaka linolenik asit içerir. Hayvansal yağlarda trigliseridlerin 2-pozisyonunda doymuş yağ asitleri bulunur (Boskou 1996).

Bitkisel yağlarda ise 1,3-pozisyonunda doymuş yağ asitleri, 2-pozisyonunda ise

doymamış yağ asitleri bulunur. Bitkisel yağların esterleşmiş yağlar ve diğer yağlar ile tahsisinde trigliseridlerin 2-pozisyonundaki doymuş yağ asidi miktarı saptanır (Gümüşkesen 1988, Boskou 1996).

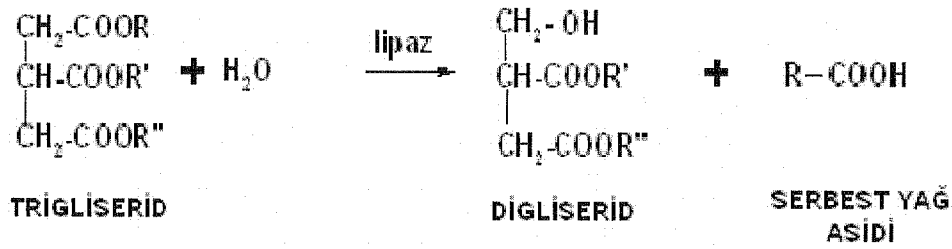
Zeytinyağında bazı trigliseridler önemli oranda bulunmaktadır. Bunlardan bazıları OOO (%40-59), POO (%12-20), OOL (%12.5-20), POL (%5.5-7) ve SOO (%3-7)'dir. LnSO, LSL, LLS, PLnL, LnPL, LnLP, SLnL, LnLS, PLnLn, LnLnLn, SLnLn, LnSLn, OSL, LPL, LnPO ve LSL trigliseridleri ise zeytinyağında bulunmaz. Tablo 2.1'de zeytinyağlarının HPLC ve enzimatik metotla belirlenen gliserid oranları gösterilmiştir (Boskou 1996). Bu incelenen zeytinyağında LnLnLn, LnLnL, LnLnO, LLLn, LOLO, LnLnP, PLLn, LnOP, PPLn, SLLn, PSL, SLS, SOLn trigliseridleri bulunmamıştır.

Tablo 2.1. Zeytinyağlarının HPLC ve enzimatik metotla belirlenen gliserid oranları (%) (Boskou 1996).

| TRİGLİSERİT | HPLC | Enzimatik |
|-------------|-------|-----------|
| LLL | 0.19 | 0.11 |
| LLO | 3.42 | 2.33 |
| LLP | - | 0.48 |
| LnOO | - | 0.42 |
| OOL | 15.90 | 16.22 |
| LLS | 7.11 | 0.11 |
| POL | - | 6.55 |
| PPL | 0.37 | 0.55 |
| SOLn | - | - |
| OOO | 39.06 | 37.44 |
| SOL | 25.52 | 21.78 |
| OOP | - | 1.51 |
| PPO | 1.95 | 3.37 |
| PPP | 0,15 | - |
| OOS | 3.48 | 5.01 |
| SOP | 0.37 | 0.49 |
| SOS | 0.15 | 0.18 |

Zeytinyağında, trigliseridlerin biyosentezinde 1-3 rasgele dağılım kuralı kabul edilir. Başlıca doymamış yağ asitleri oleik ve linoleik asit öncelikle 2-pozisyonunda esterlenir. Bu eğilim linoleik asitle daha fazladır. Tüm zeytinyağı tipleri incelendiğinde doymuş yağ asidi içeriğinin %2'yi geçmediği bulunmuştur (Boskou 1996).

Biyolojik olarak, oluşan yağ nötrdür. Meyvenin kötü durumda oluşu (kurtlu, sinek vuruklu), hatalı işleme, uzun süre uygun olmayan şartlarda depolama ya da enzimlerin etkisiyle serbest yağ asitleri meydana gelir. Şekil 2.7'de trigliseridlerin lipaz ile hidrolizi gösterilmiştir (Tibet 1998).



Şekil 2.7. Trigliseridlerin lipaz ile hidrolizi (Tibet 1998).

Monogliseridler ve digliseridler de zeytinyağında bulunan ana bileşikler arasındadır ve oranı %0.1-0.4 arasında değişmektedir (Gülat 1999).

2.6.2. İkincil bileşenler

2.6.2.1. Yağ asitleri

Zeytinyağındaki tüm yağ asitleri lineer karbon zincirlidir. Tekli doymamış yağ asidi olan oleik asit zeytinyağındaki yağ asitlerinin ana bileşenleridir. Esansiyel özellikteki çoklu doymamış yağ asitleri insan beslenmesi açısından çok önemlidir. Ancak bu yağ asitlerinin oksidasyon stabilitesi azdır (Gümüşkesen 1988, Tibet 1998).

Natürel zeytinyağında toplam 18:1 trans yağ asitleri için bulunan limit %0,05'dir. Toplam 18:2+18:3 trans yağ asitleri için limit ise %0.05'dir. Yağ asidi kompozisyonu, aynı bölgede üretilen zeytinyağlarında dahi örnekten örneğe değişmektedir. Yağ asidi kompozisyonunu enlem, iklim, çeşit ve olgunluk durumu gibi değişik faktörler etkilemektedir. Tablo 2.2'de zeytinyağının yağ asidi kompozisyonu verilmektedir

(Boskou 1996).

Tablo 2.2. Zeytinyağının yağ asidi kompozisyonu (Gaz-Sıvı komotografisi) (Boskou 1996).

| Yağ Asidi | Sembol | Limit (%) |
|---------------|--------|-----------|
| Miristik | C14:0 | 0.1-0.1 |
| Palmitik | C16:0 | 7.5-20.0 |
| Palmitoleik | C16:1 | 0.3-3.5 |
| Heptadekanoik | C17:0 | 0.0-0.5 |
| Heptadekenoik | C17:1 | 0.0-0.6 |
| Stearik | C18:0 | 0.5-5.0 |
| Oleik | C18:1 | 55.0-83.0 |
| Linoleik | C18:2 | 3.5-21.0 |
| Linolenik | C18:3 | 0.0-1.5 |
| Arashidik | C20:0 | 0.0-0.8 |
| Eikosonoik | C20:1 | - |
| Behenik | C22:0 | 0.0-0.2 |
| Lignoserik | C24:0 | 0.0-1.0 |

Tablo 2.2 incelendiğinde oranlar zeytinyağını doymuş yağ asitleri çok olan hayvansal yağlar ile doymamış yağ asitleri yüksek olan bitkisel yağlar arasında bir konuma sokmaktadır (Tibet 1998).

2.6.2.2. Tokoferoller

Bitkisel yağlarda doğal olarak bulunan tokoferoller, yağlarda stabiliteyi etkileyen, ransiditeyi geciktiren iz bileşenleridir. Ayrıca tokoferoller, yağda çözünen vitaminler içerisinde de yer alır (Nas vd 2001).

Metil grubunun, aromatik tokol halkasına bağlanış yerine ve sayısına göre tokoferoller 7 ayrı çeşitte tanımlayabiliriz. Bunlar içerisinde a,p,y,ö tokoferoller, 3 izopropenoid birimden oluşmuştur ve doymuş bir yan zincir ihtiva etmektedir (Tepe vd 2000, Nas vd 2001).

| | |
|---------------------------|----------------------------------|
| α (alfa)..... | 5,7,8-trimetil tokol (vitamin E) |
| β (beta)..... | 5,8 dimetil tokol |
| γ (gama)..... | 7,8-dimetil tokol |
| δ (delta)..... | 8-metil tokol |
| ϵ (epsilon)..... | 5-metil tokol |
| ζ (zeta)..... | 5,7-dimetil tokol |
| η (eta)..... | 7-metil tokol |

α -Tokoferoller en yüksek E vitamini aktivitesine sahiptir ve yağdaki sadece bazı oksidasyon inhibisyonlarını sağlar. Ancak gama ve delta formları daha fazla antioksidan aktiviteye sahipken, biyolojik etkinlikleri yoktur. Antioksidan aktivite $\delta > \gamma > \alpha$ şeklinde azalış gösterir. Işık ve ısı tokoferollerin aktivitesini etkileyen en önemli faktörlerdir (Ünal 1988).

Ünal bir çalışmada, Türkiye'nin 59 farklı bölgesinden aldığı natürel zeytinyağlarındaki tokoferol içeriği ve kompozisyonunu incelemiştir. Bu çalışma sonunda natürel zeytinyağlarının, alfa tokoferölü 14.60-141.60 mg/kg, beta+gama tokoferölü 3.13-31.29 mg/kg ve delta tokoferölü ise 0.5-7.0 mg/kg arasında değişen miktarlarda içerdiğini rapor etmiştir. Tablo 2.3'de Türk zeytinyağlarının tokoferol içeriği belirtilmiştir (Ünal 1988).

Zeytinin, tokoferol miktarı toplama zamanına göre değişiklik gösterir, zeytin olgunlaştıkça tokoferol miktarı artarken daha sonraki sürelerde az da olsa bir azalma görülür. Presleme ile elde edilen zeytinyağının, tokoferol miktarı presleme sayısına göre değişmektedir. Tokoferol miktarı, zeytinin hangi kısmından üretildiğine göre de farklılıklar gösterir. Zeytinin pulp kısmından elde edilen yağda 121-186 mg/kg, çekirdek kısmından elde edilen yağda ise 291 mg/kg toplam tokoferol bulunur. Pulptan elde edilen zeytinyağının, çekirdekten elde edilene göre δ -tokoferol miktarının daha az olduğu saptanmıştır (Ünal 1988).

Türk natürel zeytinyağlarında toplam tokoferol içeriği 21.89-149.77 mg/kg arasındadır. Tüm zeytinyağları analiz edildiğinde α -tokoferol içeriği diğerlerinden bir hayli fazla bulunmuştur (Ünal 1988).

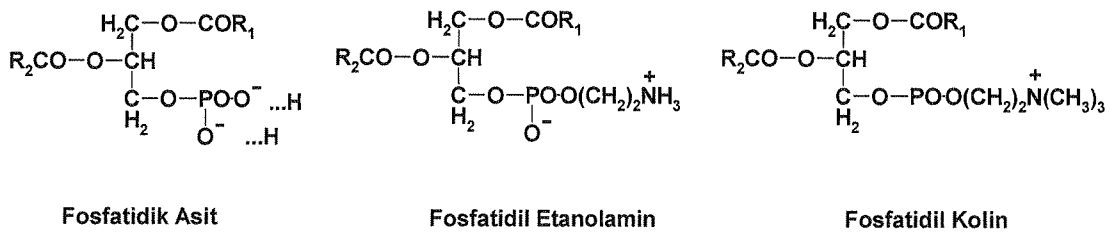
Tablo 2.3. Türk zeytinyağlarının tokoferol içeriği (Ünal 1988).

| Türkiye'nin Bölgeleri | α -tokoferol (mg/kg) | B+ γ tokoferol (mg/kg) | δ -tokoferol (mg/kg) | Toplam Tokoferol (mg/kg) |
|-----------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Aydın - Çine | 61.72 | 7.43 | 2.75 | 71.90 |
| Balıkesir - Altınova | 52.22 | 5.20 | 2.64 | 60.06 |
| Balıkesir - Edremit | 39.08 | 6.58 | 1.75 | 47.41 |
| Çanakkale - Ayvacık | 83.82 | 6.32 | 2.00 | 92.14 |
| İzmir - Bergama | 31.99 | 7.05 | 2.45 | 41.49 |
| Manisa - Akhisar | 45.73 | 10.72 | 2.73 | 59.18 |
| Muğla - Bodrum | 66.85 | 8.43 | 4.52 | 79.80 |

α -Tokoferol, serbest radikal kırıcı olarak doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu inhibe ederek antioksidant özellik gösterir. Gıda sanayinde antioksidan olarak kullanılan tokoferoller kolayca okside olabilmeye özelliğindedir. Lipid peroksitlerinin dönüşümsüz inhibisyonunda α -tokoferolün miktarı daha azalır (Ünal 1988).

2.6.2.3. Fosfolipid (Gamlar)

Fosfolipidler ham yağdaki gamsı maddelerin ana bileşenini oluşturur. Fosfolipidler tek başlarına antioksidan özellik gösteremeyen ancak fenolik bileşiklerle beraber sinerji etki gösteren bileşiklerdir. Şekil 2.8'de bazı fosfolipidlerin kimyasal yapıları gösterilmiştir (Nergiz 1989, Kaynak 2001).

**Şekil 2.8.** Fosfolipidlerin kimyasal yapıları (Kaynak 2001).

Zeytinin olgunluk derecesi, ekstraksiyon tekniği, zeytinin yetiştirildiği bölge, iklime ve çeşide bağlı olarak yağın fosfolipid miktarı değişmektedir. Bitkisel yağlar içerisinde

en az fosfolipid içeriğine sahip yağ, zeytinyağıdır. Zeytinyağının fosfolipid miktarı 40-135 mg/kg arasındadır. Zeytinin çekirdeğinden elde edilen zeytinyağlarında, meyvesinden elde edilen zeytinyağına oranla daha fazla fosfolipid bulunmaktadır. Çekirdekten elde edilen fosfolipidlerin %48.4'ü lesitin, %29.3'ü de fosfotidilinasitol'dür. Fosfolipidler tokoferoller ile sinerjik etki gösterirler. Bu etkinin sebebi fosfat gruplarından değil, azot içeren gruplardan kaynaklanmaktadır (Nergiz 1989).

2.6.2.4. Pigmentler

Natürel zeytinyağının yeşilden sarıya kadar değişen rengi zeytin çeşidine ve meyvenin olgunluk derecesine bağlıdır. Zeytinyağında doğal olarak bulunan pigmentlerin kompozisyonu ve toplam içeriği önemli kalite parametrelerindedir. Zeytinyağlarında bulunan doğal pigmentler iki gruba ayrılır. İlki klorofil ve feofitin, ikincisi ise karotenoidlerdir (Boskou 1996).

Proses kademelerinde klorofil a veya b'den Mg iyonunun ayrılması ile feofitin a veya b oluşur. Feofitinlerde Mg yerine H atomu bulunur. Bunlar zeytinyağının yeşil renginden sorumludur. Zeytinyağındaki içerikleri 1-20 ppm arasında değişmektedir. Bu değerlerin %70-80'ini feofitin oluşturur. Eğer yağ siyah zeytinden ekstrakte edildi ise bu gruptaki tek pigment feofitin kabul edilebilir (Kaynak 2001).

Yağdaki klorofil miktarı, zeytinin olgunluk safhasına bağlıdır, erken periyotlarda zeytinin hasadında klorofil hakimken zeytin hasadının sonunda (ocak-şubat), konsantrasyon birkaç ppm'e kadar azalır. Endüstriyel ekstraksiyon proseslerinin pigmentlere sert etkileri vardır. Direkt santrifügasyon yağ ürünleri klorofil açısından, klasik pres yöntemine göre %20-40 daha zengindir. Klorofiller, karotenlere göre daha dayanıklıdır (Boskou 1996).

Yüksek sıcaklıklarda klorofil Mg iyonu yanında karbometoksi grubunun da ayrılmasıyla pirofeofitin a ve b dönüşür. Klorofiller şeffaf, parlak, yeşil renkte, feofitinler ise mat kahverengimsi yeşil renktedir (Kaynak 2001).

Zeytinyağındaki asıl karotenoidler lutein (ksantofil), β -karoten, viyole ksantin ve neoksantindir. Zeytinyağında en fazla lutein bulunmaktadır. Toplama periyodunun

sonuna doğru bu karotenoid zeytinde baskın bileşen haline gelir. Çünkü olgunlaşma prosesi esnasında, klorofillerde önemli bir azalma meydana gelir. Toplam karotenoid genellikle 1-20 ppm arasında, β -karoten 0.5-4 ppm konsantrasyonda bulunur. Tablo 2.4' de zeytinyağındaki karoten değişimi belirtilmiştir (Boskou 1996).

Tablo 2.4. Zeytinyağındaki karoten değişimi (Boskou 1996).

| Çeşit | Toplam | β -karoten mg/L | Lutein mg/L | Viyoleksantin mg/L | Neoksantin mg/L |
|---------|--------|--------------------------|----------------|-----------------------|--------------------|
| Leccino | 5.6 | 1.1 | 3.5 | 0.5 | 0.5 |
| Dritta | 6.3 | 1.2 | 3.9 | 0.6 | 0.6 |
| Caroleo | 2.7 | 0.6 | 1.5 | 0.3 | 0.3 |

Klorofil a ve b ile feofitin a ve b' yi ağartılmış zeytinyağına ilave ederek aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilmişlerdir. Sonuçta klorofil ışıkla birlikte prooksidant özellik göstermiştir. Aydınlik ortamda klorofilin oksidasyonu hızlandırma sebebi fotokatalitik etkisidir. Klorofil ışıkta foto uyarıcı etki yaparak tekli oksijen oluşturmaktadır, bu ise üçlü oksijene göre 1450 kat hızla olefinik gruplarla reaksiyona girmektedir (Nergiz 1989).

Otooksidasyon katalizörleri doğrudan serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Ancak klorofil indirekt etki ile meydana gelen peroksitler de otooksidasyonu hızlandırır. Klorofil absorbladığı radyant enerjiyi kullanır ve oksijen gazını daha reaktif olan singlet oksijen formuna çevirir. Singlet oksijen daha kısa ömürlüdür ve doymamış organik bileşiklerde seçici bir biçimde bağlanarak oksidasyonu hızlandırır (Nergiz ve Ünal 1986).

2.6.2.5. Eser metaller

Farklı natürel zeytinyağlarında yapılan araştırmalar sonucunda zeytinyağında 0.50-4.16 mg/kg demir, 0.023-0.120 mg/kg bakır ve 0.00-0.025 mg/kg mangan bulunmuştur. Yağlarda bulunan bu iz metaller proses esnasında ekipmandan, depolamadan ve

taşımadaki kaplardan bulaşmış olabilir. Serbest asitliği yüksek yağlar depolama esnasında tanktan metali bünyesine alır. Ayrıca metal aktivatörü enzimlerin hidrolizi ile metaller yağa geçebilir. Genelde bu metaller yağda koordinasyon kompleksi veya inorganik asit tuzları şeklinde bulunur (Nergiz 1989, Nas vd 2001).

Yağlarda bulunan metaller, serbest radikalleri artırarak zincir reaksiyonları hızlandırır ve de indüksiyon periyodunu kısaltarak otooksidasyonu artırır. Oksidasyon ürünleri olan hidroperoksitler metallerin etkisiyle parçalanır. Sonuçta serbest radikaller oluşur. Bu olay bir zincir reaksiyonu şeklinde meydana gelir. Sonuçta yağda arzu edilmeyen tat ve koku oluşur. Birden fazla metalin bir arada bulunması katalitik aktiviteyi artırır. Metaller katalitik aktivitelerine göre Bakır > Mangan > Demir > Krom > Nikel > Çinko > Alüminyum şeklinde sıralanır (Nergiz ve Ünal 1986).

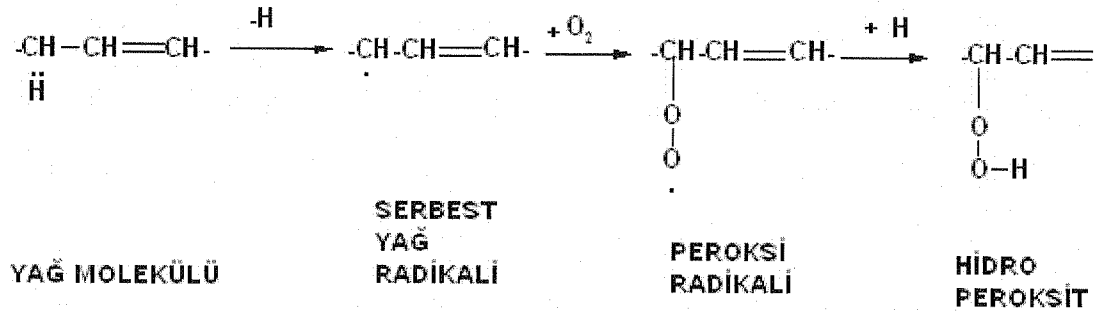
2.6.2.6. Fenolik bileşikler

Natürel zeytinyağı diğer bitkisel yağların aksine çok sayıda ve fazla miktarda fenolik maddeleri içermektedir. Natürel zeytinyağında fenolik bileşik miktarı 30-500 mg/kg arasında değişmektedir. Zeytinyağının fenolik bileşik içeriği çok değişik faktörlere bağlı bulunmaktadır. Erken hasat edilen zeytinlerden elde edilen zeytinyağındaki polifenol miktarı 850 mg/kg'a kadar yükselirken, fazla olgunlaşmış zeytinlerden elde edilen yağlarda ise 32 mg/kg gibi düşük miktarlarda polifenol bulunmaktadır (Nergiz ve Ünal 1989).

Fenolik bileşikler, natürel zeytinyağında doğal olarak bulunan antioksidan maddelerdir. Zeytinyağının diğer bitkisel yağlara göre tokoferol bakımından fakir olması fenolik bileşiklerin önemini artırır. Üretimden hemen sonra tüketilemeyen yağlar depolanır. Depolarda stabilitesini koruyabilmesi, bünyesindeki antioksidan maddelerin nicelik ve niteliğine bağlıdır (Nergiz ve Ünal 1989).

Fenolik bileşiklerin, fenol halkasındaki bağlı grupların durumuna göre stabilite etkileri farklılık arz eder. Zeytinyağındaki polifenollerin yaklaşık %50'sini tirosol ve hidroksi tirosol ile 4-hidroksi fenil asetik asitten meydana gelmektedir. Geriye kalan kısmı ise benzoik asit ve sinamik asit türevi olan fenolik asitlerden meydana gelmektedir. Fenolik asitlerin antioksidan etkileri hidroksil gruplarının sayısına bağlıdır.

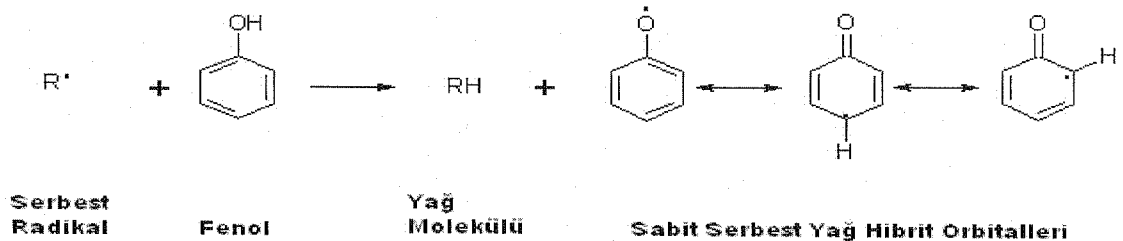
Hidroksi tirosol, tirosola göre daha kuvvetli bir antioksidandır. Şekil 2.9'da bir çift bağı doymamış yağ asidinin radikalik oksidasyonu gösterilmektedir (Nergiz ve Ünal 1989).



Şekil 2.9. Bir çift bağı doymamış yağ asidinin radikalik oksidasyonu (Nergiz ve Ünal 1989).

Bir çift bağı yağ asidinin oksidasyonu sırasında doymamış yağ asidinin α -metilenik karbon atomundan bir hidrojen atomu ayrılarak bir serbest radikal meydana gelir. Bu ise çok oynak bir molekül olup hava oksijeni ile hemen birleşip peroksi radikali oluşturur. Bu radikallerin kendileri de otooksidasyon reaksiyonlarını hızlandırır. Bu şekilde meydana gelen hidroperoksitler parçalanarak daha kısa moleküllü organik bileşiklere dönüşür. Fenolik bileşikler oksidasyonun başlangıç aşamalarında serbest radikal molekülleriyle birleşerek yağların oksidasyonunu önlemektedir. Şekil 2.10'da bitkisel yağlardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etki mekanizması gösterilmiştir (Nergiz ve Ünal 1989).

Fenolik bileşiklerden ayrılan hidrojenle kararsız serbest radikali birleşerek inaktif ürün oluşturmaktadır. Aynı zamanda yeni radikaller de bu etkileme sonucu meydana gelmektedir. Fakat bu radikallerdeki elektronlar molekül içerisinde yer değiştirdiğinden kararlı serbest hibrit radikalleri olarak kalmaktadır (Nergiz 1989).



Şekil 2.10. Bitkisel yağlardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etki mekanizması (Nergiz 1989)

2.7. Rafinasyon Yöntemleri

Zeytinyağını diğer bitkisel yağlardan ayıran en önemli özelliği natürel olarak tüketilebilmesidir. Kalitesiz hammadde ve yanlış teknolojik uygulamalar zeytinlerde, serbest asitliğin artmasına neden olur. Serbest asitliğin artması ise zeytinyağının natürel olarak tüketilebilme özelliğini azaltmaktadır. Serbest asitliğin %5'in üzerine çıkması durumunda zeytinyağının rafine edilmesi gerekir. Ülkemize kıyasla Diğer zeytinci ülkelerde rafine edilmesi gerekli (Lampant) zeytinyağı oranı çok düşüktür. Türkiye'de zeytinyağının %65'i lampant özelliktedir. Eğer serbest asitliği %3.3-4.5 olan yağları da dahil edersek bu oran %80'lere kadar yükselmektedir (Nergiz 1993, Gümüşkesen ve Yemişçiöglü 2003).

Ham bitkisel yağlarda doğrudan tüketime engel olan çok sayıda ve farklı miktarda safsızlık vardır. Bunlar fosfolipidler, sabunlaşmayan maddeler (steroller, tokoferoller, hidrokarbonlar vb), renkli maddeler (klorofil, karoten vb), serbest yağ asitleri, iz metaller, peroksitler, konjuge yağ asitleri, pestisitler, proteinler, uçucu aldehit ve ketonlar, trans yağ asitleri, hidrokarbonlar, dimerler, polimerler, kısmi gliseridlerdir. Genellikle safsızlıklar koyu renklidir ve yağın işlenmesi esnasında dumanlanma, köpüklenme veya tortulanmaya sebep olurlar. Bu nedenle yağdan uzaklaştırılması gereklidir (Nas vd 2001, Kaynak 2001).

Yağlara tüketilebilir özellik kazandırmak amacıyla uygulanan işlemler dizinine genel anlamda 'rafinasyon' denir. Rafinasyon işlemi yağın trigliserid yapısına ve tokoferollere zarar vermeyecek şekilde ve en az yağ kaybı ile yapılmalıdır. Rafinasyon işlemi yağların asitlik, renk, tat ve koku gibi kalite kriterlerini olumlu yönde etkilerken, iyileştirirken, yağın yapısal özellikleri üzerinde de bir takım değişikliklere neden olur (Nas vd 2001, Gümüşkesen ve Yemişçiöglü 2003).

Ham yağların rafinasyonunda fiziksel rafinasyon (buhar destilasyonu) ve kimyasal rafinasyon (alkali rafinasyon) olmak üzere iki yöntem uygulanmaktadır. Serbest yağ asitlerinin yağdan uzaklaştırılmasında bir alkali kullanılıyorsa, buna "kimyasal rafinasyon" denir. Alkali kullanmaksızın serbest yağ asitlerini uzaklaştırmak için buhar rafinasyonu (destilasyon) uygulanıyorsa buna ise "fiziksel rafinasyon" denir.

2.8. PAH Bileşikleri

Çevresel kontaminantlar arasında en yaygın ve en büyük grubu, Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH) olarak bilinen grup oluşturmaktadır. Bu bileşikler, organik maddelerin parçalanma ürünleridir. Potansiyel kanserojen madde oldukları ilk olarak 1930'larda anlaşılmıştır. Her türlü yanma reaksiyonu ve endüstriyel prosesler sonucu bu bileşikler oluşmakta ve çevreye yayılmaktadır. Böylece hava, su, toprak ve dolayısıyla gıda maddeleri bu maddelerce kirlenmektedir.

Çok fazla sayıda PAH bileşiği mevcut olmakla beraber, Benzo (a) piren (BaP) isimli bileşik, en toksik olarak bilinen ve her ortamda bulunuyor oluşu sebebiyle indikatör olarak kabul edilen bir bileşiktir. BaP ilk kez 1933 yılında Cook tarafından kömür katranından izole edilmiştir.

PAH' lar, mutajen ve kanserojen oluşları sebebiyle gıda analizlerinde önemle ele alınmaktadır, çünkü PAH bileşikleri insan vücuduna özellikle gıda tüketimi yoluyla alınmaktadır (Cejpek vd 1998). Gıdalarda PAH varlığının başlıca nedenleri çevre kirliliği, gıda pişirme ve hazırlama yöntemleridir. Bu konuda özellikle tütsülenmiş et ve balık ürünlerinde çok sayıda çalışma yapılmış olmasına karşın, yağlarla ilgili çalışmaların nispeten az olduğu belirtilmiştir (Hopia vd 1986).

2.8.1. Bazı PAH bileşiklerinin özellikleri

İki veya daha fazla birleşik benzen halkasından oluşan (genellikle 3-7 adet) PAH'lar hidrofobik bileşiklerdir. Elektrokimyasal stabilitelerinin yüksek oluşu ve suda çözünürlüklerinin düşük oluşu sebebiyle çevredeki kalıcılıkları yüksektir. Molekül ağırlığı arttıkça hidrofobik özellikleri, stabiliteleri ve toksik özellikleri de artar, biyolojik parçalanma hızları azalır (Watson 2001).

Bazı önemli PAH bileşiklerine ait fiziksel ve kimyasal özellikler Tablo 2.5'te verilmiştir. Ayrıca Ek 1'de bu bileşiklerin kimyasal yapıları verilmiştir.

Tablo 2.5. Bazı önemli PAH bileşikleri ve özellikleri

| Bileşik | Molekül Ağırlığı (g/mol) | Erime Noktası, (°C) | Kaynama Noktası, (°C) | Kanserojen Aktivite |
|--------------------------|--------------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| Naphthalene | 128.19 | 81 | 218 | 0 |
| Biphenyl | 154.21 | 71 | 255 | 0 |
| Acenaphthylene | 152.21 | 93 | 270 | 0 |
| Acenaphthene | 154.21 | 96 | 279 | 0 |
| Fluorene | 166.23 | 117 | 294 | 0 |
| Phenanthrene | 178.24 | 101 | 338 | 0 |
| Anthracene | 178.24 | 216 | 340 | 0 |
| Fluoranthene | 202.26 | 111 | 383 | 0 |
| Pyrene | 202.26 | 156 | 393 | 0 |
| Benzo(a)fluorene | 216.29 | 190 | 407 | 0 |
| Benzo(ghi)fluorant | 226.28 | - | 432 | 0 |
| Benzo(a)anthracene | 228.30 | 162 | 435 | + |
| Triphenylene | 228.30 | 199 | 439 | 0 |
| Chrysene | 228.30 | 256 | 441 | + |
| Naphthacene | 228.30 | 257 | 450 | 0 |
| Benzo(b)fluoranthene | 252.32 | 168 | 481 | ++ |
| Benzo(e)pyrene | 252.32 | 179 | 493 | 0/+ |
| Benzo(a)pyrene | 252.32 | 177 | 496 | ++ |
| Perylene | 252.32 | 278 | - | 0 |
| Indeno(1,2,3 -cd)-pyrene | 276.34 | - | - | + |
| Dibenzo(a,h)anthracene | 278.36 | 270 | - | + |
| Benzo(g,h,i)-perylene | 276.34 | 278 | - | + |
| Coronene | 300.36 | 439 | 525 | 0/+ |
| Dibenzo(a,e)-pyrene | 302.38 | 234 | - | - |

2.8.2. PAH bileşiklerinin kanserojen etkisi

PAH' ların toksikolojik metabolizması genel olarak şu şekilde açıklanmaktadır; ilk aşama sitokrom P-450 enzim sisteminin bir iso-enzimi olan P-448 ile PAH bileşiklerinin oksidasyonudur. Oksidasyon ürünü olarak epoksitler, fenoller, kinonlar ve dihidrodioller oluşur. İkinci aşamada ise epoksitler,epoksit hidrolaz enzimi ile transdiollere dönüşür. Üçüncü aşama ise P-448 enzim sistemi ile ikinci epoksidasyondur. Bu reaksiyon sonunda dihidrodiol epoksit oluşur ve son olarak DNA ile reaksiyon başlar (Szentpaly 1984)

BaP'in metabolik aktivite göstermesinde en az iki farklı enzim sistemi etki

etmektedir; (1) BaP'ı 7,8-epoksi-benzo (a) pyrene'e çeviren mikrozomal monooksijenaz sistemi (2) epoksit yapıyı, trans-7,8-dihidroksibenzo (a) pyrene'e çeviren epoksit hidrataz sistemi.

Bu son oluşan yapı, mikrozomal mono-oksijenaz enzim sistemi ile etkileşir ve karsinojen etkiye sahip en son ürün olan 7,8-dihidroksi, 9, 10-epoksi-7,8,9,10 - tetrahidrobenzo (a) piren oluşur. PAH bileşiklerinin oksidasyonunda rol oynadığı bilinen diğer bazı enzim grupları ise şöyledir; glutathion-s-epoksit transferazlar, glukoronik asit transferazlar, sülfatazlar, vb.

PAH bileşiklerinin kanserojen etkisi birbirinden farklıdır. Test hayvanlarına uygulanan testlerde en çok kullanılan bileşik BaP'dir. BaP'nin kanserojen etkisi, 9 farklı hayvan türünde denenmiş ve hepsinde kanserli hücrelerin oluştuğu görülmüştür. Örneğin 1962 yılında Pylev, 1964 yılında Saffiotti tarafından yapılan çalışmalarda, BaP verilen farelerin bronşlarında tümör oluşumu görülmüştür. Tümör oluşumunda uygulanan doz faktörü önemlidir. Doz-etki ilişkisine örnek verecek olursak; 0.05, 0.1, 0.5 ve 1 mg BaP içeren zeytin yağların, farelere deri altına tek dozda verilmesi sonucu, sırasıyla 1/7, 4/31, 9/17, 64/69 tümör vakası görülmüştür. Yine 1970 yılında Yanysheva tarafından yapılan denemede uygulanan dozlar toplamda 25, 2.5, 0.5 ve 0.1 mg olup, bronşlarda tümör oluşum oranları; 42.5, 30.7, 15.6 ve 0% olmuştur (Griciute 1979).

2.8.3. Gıdaların tüketilmesi yoluyla maruz kalınan PAH seviyeleri

PAH bileşikleri, mutajenik ve kanserojen oluşları sebebiyle gıda analizlerinde önemle ele alınmaktadır. İnsanların bu maddelere maruz kalmasında en muhtemel etkenin, soluduğumuz hava veya içtiğimiz sudan ziyade gıda maddelerinin tüketimi olduğu belirtilmiştir (Cejpek vd 1998). Gıdalardan alınan günlük toplam miktarın 1.6-16 µg olduğu tahmin edilmektedir (Hopia vd 1986).

Gıdalarda PAH kirliliğine sebep olan başlıca faktörler;

- Gıdaların hava, toprak, su kirliliği yoluyla kontaminasyonu
- Gıda pişirme ve hazırlama yöntemleri (tütsüleme, kızartma, mangal usulü)
- Petrol bazlı gıda katkı maddeleri ve ambalaj materyali yoluyla kontaminasyon
- Gıda maddelerinin PAH içeren çözücülerle muamele edilmesi

İngiltere'de 1983 yılında, insan vücudunun diyet yoluyla PAH kontaminasyonuna ne derecede maruz kaldığı konusunda yapılan bir çalışmada, gıdalardan günlük alınan miktarın kişi başına 3.70 µg, sadece BaP için 0.25 µg olduğu belirlenmiştir. Hollanda'da yapılan aynı türden bir çalışmada, günlük alımın kişi başına 5-17 µg olduğu, İtalya'da yapılan bir çalışmada ise ortalama günlük alımın kişi başına 3 µg olduğu belirtilmiştir. Tüm bu çalışmalarda hububat ürünlerinin ve yağların toplam alımın üçte birini oluşturduğu ifade edilmiştir (Watson 2001).

Yunanistan'da endüstriyel bölgelerde yetişen sebzelerin tüketilmesi yoluyla vücuda PAH bileşiklerinin alımının kişi başına günde 1.60-4.50 µg olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan sebzeler yıkandıktan veya soyulduktan sonra (ör; havuç) doğrudan tüketilebilen türden sebzelerdir. Kabuk soyma, yıkama gibi işlemler PAH bileşiklerinin giderilmesinde faydalı olmaktadır (Watson 2001).

İspanya'da ortaya çıkan zeytinyağı skandalı üzerine Gıda Bilimsel Komitesi, pirina yağlarının BaP seviyeleri konusunda bir rapor yayınlamıştır. Bu raporda, yağ örneklerinde tespit edilen en yüksek değer dikkate alındığında ve ortalama tüketimin 15-50 µg olduğu kabul edildiğinde, kontamine olmuş yağlardan insan vücudunun PAH bileşiklerini absorpsiyonu 0.50-1.50 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak kabul edilmiş ve bu değerlerin birkaç defada toksik etki yaratmayacak ölçüde düşük değerler olduğu belirtilmiştir. Fakat yine de bu şekilde kirli yağların düzenli olarak diyet yoluyla alımından kaçınılması gerektiği, çünkü bunların kanserojen maddeler olduğu vurgulanmıştır.

2.9. Yağlarda PAH Kontaminasyonu

Hidrokarbonlar, bitkisel yağların sabunlaşmayan maddeler kısmındaki polaritesi en düşük bileşiklerdir. Bu bileşiklerin varlığı ilk kez 1940'larda, çeşitli bitkisel yağların deodorizasyon destilatlarında büyük miktarda terpenik hidrokarbonlara ve bunlara eşlik eden daha az miktarda n-alkanlara rastlamasıyla tespit edilmiştir. Birkaç yıl içinde pirinç yağının özellikle squalene ve az miktarda n-alkanlardan oluştuğu bulunmuştur. Ayrıca düşük miktarlarda diğer hidrokarbonlar da (n-alkenler, terpenik bileşikler, stiren dahil olmak üzere düşük molekül ağırlıklı aromatikler, yine özellikle düşük molekül ağırlıklı PAH'lar) tespit edilmiştir (Moreda vd 2001).

Bitkisel yağlar, çeşitli yağ hammaddelerinin farklı işlenmesiyle oluşan heterojen bir gıda grubudur. Bitkisel yağların PAH bileşiklerince kontaminasyonuna yol açabilecek faktörler şöyledir;

- Kontamine olmuş topraktan bitki bünyesine geçiş
- Hava kirliliği sebebiyle bitkinin kontaminasyonu
- Yağlı tohumların, ekstraksiyon öncesi doğrudan dumanla kurutulması (ör; ayçiçek yağı, soya yağı, palm yağı, üzüm çekirdeği yağı ve kakao yağı)
- Yağlı tohumların ekstraksiyonunda kullanılan çözücülerden kaynaklanabilecek kirlilik
- Yağların muhafazasında kullanılan dönüşümlü polietilen şişelerden difüzyon sonucu oluşabilecek, yağlı tohumların taşınmasında muhafazasında kullanılan çuvalların liflerinin yumuşatılması amacıyla kullanılan mineral yağlardan, yine ekstraksiyon ekipmanlarının bakımı amacıyla kullanılan yağlardan kaynaklanabilecek kirlilik (Larsson vd 1987).

Bitkisel yağlardaki PAH bileşiklerinin seviyesi, genel olarak 100 µg/kg' dan düşüktür ve düşük molekül ağırlıklı olanların miktarı daha fazladır. Tablo 2.6'de, farklı bitkisel yağlarda tespit edilen bazı PAH bileşikleri ve miktarları verilmiştir (Moreda vd 2001).

Tablo 2.6. Bazı bitkisel yağların polisiklik aromatik hidrokarbon içerikleri, (µ g/kg) (Moreda vd 2001)

| | Ayçiçek yağı | Keten tohumu yağı | Buğdayözü yağı | Zeytin | Mısırözü yağı | Susam yağı |
|---------------------------|--------------|-------------------|----------------|--------|---------------|------------|
| Phenanthrene | 3.7 | 41.4 | 69.4 | 39.3 | 0.9 | 18.2 |
| Anthracene | 0.3 | 4.0 | 4.4 | 2.2 | 0.1 | 0.2 |
| Fluoranthene | 3.1 | 9.9 | 18.2 | 8.5 | 2.4 | 1.2 |
| Pyrene | 2.2 | 6.3 | 13.2 | 12.9 | 2.5 | 1.2 |
| Benz (a) anthracene | 0.8 | 2.2 | 2.4 | 9.0 | 1.3 | <0.1 |
| Chrysene | 1.5 | 5.9 | 5.6 | 4.6 | 2.5 | 0.6 |
| Benzo (b) fluoranthene | 1.6 | 2.5 | 6.4 | 2.4 | 2.5 | 0.1 |
| Benzo (k) fluoranthene | | | | | | |
| Benzo (a) pyrene | 0.7 | 0.9 | 1.3 | 0.7 | 1.3 | n.d |
| Dibenz (a,h) anthracene | <0.1 | <0.1 | n.d | n.d | 0.1 | n.d |
| Benzo (g,h,i) perylene | 0.5 | 0.8 | 0.4 | 0.2 | 0.7 | n.d |
| Indeno (1,2,3-c,d) pyrene | 0.5 | 0.7 | 0.3 | 0.3 | 0.7 | n.d |

Rafinasyon, işlem koşullarına bağlı olarak, PAH bileşiklerinin giderilmesini sağlar. Düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin giderilmesi yüksek molekül ağırlıklılara göre daha kolaydır. Bu konuda yapılan bir çalışmada rafinasyon işleminin PAH niceliğini ne şekilde etkilediği araştırılmış ve sonuçlar Tablo 2.7’de verilmiştir. Rafinasyon işlemi en çok fluoranthene ve pyrene içeriğinde düşüş sağlarken, chrysene ve benz (a) anthracene miktarında daha az oranda bir düşüş görülmüştür. Özellikle 5-6 halkalı bileşiklerde kayda değer oranda düşüş sağlayabilmek için rafinasyon işleminde aktifleştirilmiş karbon uygulaması gereklidir (Dennis vd 1991).

Tablo 2.7. Ham ve Rafine edilmiş yağlarda polisiklik aromatik hidrokarbonlar, (μ g/kg) (Dennis vd 1991).

| | kolza | | Soya | | Mısır | | Balık | | Diğer |
|---------------------------|-------|--------|------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|
| | ham | rafine | ham | rafine | ham | rafine | ham | rafine | rafine |
| Örnek sayısı | 12 | 24 | 10 | 19 | 3 | 3 | 10 | 15 | 26 |
| Fluoranthene | 8 | 1.59 | 14.9 | 4.09 | 47.0 | 8.12 | 7.48 | 2.24 | 3.0 |
| Pyrene | 13.1 | 2.78 | 20.2 | 5.06 | 10.8 | 10.6 | 12.4 | 3.40 | 5.31 |
| Benz (a) anthracene | 2.86 | 1.24 | 5.53 | 3.39 | 0.76 | 2.01 | 0.93 | 0.66 | 1.94 |
| Chrysene | 2.89 | 1.40 | 8.19 | 3.60 | 1.19 | 2.20 | 1.34 | 1.24 | 2.61 |
| Benzo (e) pyrene | 2.15 | 1.62 | 2.18 | 2.39 | 0.79 | 1.44 | 0.77 | 0.89 | 1.83 |
| Benzo (b) fluoranthene | 2.83 | 2.36 | 2.12 | 3.06 | 0.74 | 2.16 | 0.99 | 0.81 | 2.58 |
| Benzo (k) fluoranthene | 1.36 | 1.13 | 0.62 | 1.12 | 0.28 | 0.97 | 0.44 | 0.36 | 1.12 |
| Benzo (a) pyrene | 2.46 | 1.83 | 1.13 | 2.18 | 0.75 | 1.54 | 0.54 | 0.37 | 1.91 |
| Dibenz (a,h) anthracene | 2.20 | 2.17 | 1.0 | 1.79 | 2.01 | 1.57 | 0.94 | 0.91 | 2.08 |
| Benzo (g,h,i) perylene | 0.22 | 0.22 | 0.16 | 0.22 | 0.13 | 0.14 | 0.11 | 0.26 | 0.23 |
| Indeno (1,2,3-c,d) pyrene | 1.77 | 1.97 | 0.90 | 1.51 | 0.65 | 1.25 | 0.41 | 0.35 | 1.54 |

Bitkisel yağlardaki PAH bileşikleri, aktif karbon veya buhar destilasyon uygulamalarıyla önemli ölçüde giderilebilmektedir. Ham bitkisel yağlardan PAH bileşiklerinin arındırılması için aktif karbonla filtrasyon ve/veya buhar destilasyon yöntemlerinin uygulanmasına ilişkin çalışmalar yapılmış, örneğin ham kakao yağında mevcut 1923 μ g/kg olan PAH konsantrasyonu bu işlemler uygulandıktan sonra 13 μ g/kg’a düşmüştür (Pupin ve Toledo 1996).

Bu ilişki dikkate alındığında soğuk preslenmiş naturel yağları tüketen insanların bu maddelere daha çok maruz kalabileceği söylenebilir (Cejpek vd 1998). Son mamuldeki PAH konsantrasyonu düşük olmasına rağmen, tüketim miktarının fazla oluşu sebebiyle bitkisel yağlar ve margarinler önemli bir PAH kaynağı haline gelmişlerdir (Hopia vd

1986).

Bitkisel yağlarda PAH varlığı ilk kez 1960 yılında tespit edilmiştir. İlk tespit edilen PAH bileşikleri pyrene, benzo (e) pyrene ve BaP'dir. Rafine edilmiş zeytinyağı örneklerinde phenanthrene, pyrene, fluoranthene, benz (a) anthracene, chrysene ve perylene tespit edilmiştir (Howard ve Fazio 1980).

Bitkisel yağlardaki PAH kirliliğinin, yapılan yağ ekstraksiyonunda kullanılan organik çözücülerden kaynaklanabileceği düşünülerek, Howard tarafından bir çalışma yürütülmüş, 15 adet ticari hekzan örneği yağ ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Dokuz adet yağ örneğinin kanserojen olan bileşikler hariç diğer polisiklikleri içerdiği görülmüştür. Fakat çözücü ekstraksiyonuna tabi tutulmamış ham yağ örneklerinde BaP tespit edilmesi, yağlardaki kontaminasyon sebebinin, kullanılan çözücülerden ziyade, bitkinin daha tarlada bu bileşiklerce kontamine olduğunu göstermiştir (Howard ve Fazio 1980).

Almanya'da tarafından yapılan bir araştırmada hem rafine hem de ham yağlarda PAH bileşiklerinin varlığı incelenmiştir. Denemelerde kullanılan ham kolza yağı, ayçiçek yağı, palm yağı, yerfıstığı yağı, pamukyağı, soya yağı ve kakao yağı örnekleri içinde en yüksek BaP kirliliği, dumanla kurutulmuş kakao yağında tespit edilirken (43.7 μ g/kg) ayçiçek yağında 10.6 μ g/kg, palm yağında 4.1 μ g/kg BaP tespit edilmiştir. Yine aynı araştırmacılar, çözücü olarak kullanılan hekzanın kontaminasyon kaynağı olmadığını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada rafine kakao yağlarında 0.9-29 μ g/kg BaP tespit edilmiş ve rafinasyon işlemlerinde aktif karbon ve deodorizasyon işlemlerinin PAH içeriğinin azaltılmasında oldukça etkili yöntemler olduğu belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada katı ve sıvı yağlar incelenmiş, margarinlerde ve kakao yağlarında 3-18 μ g/kg BaP olmak üzere toplam 20-100 μ g/kg karsinojenik PAH bileşikleri tespit edilmiştir. Tereyağında ise bu bileşiklerin hiçbirine rastlanmamıştır. Araştırmacı tarafından belirtildiğine göre aktif karbon uygulaması sonucu bu değerler 2-4 μ g/kg'a kadar düşürülebilmektedir (Howard ve Fazio 1980).

İsveç'te yapılan bir çalışmada, ham bitkisel yağlardan PAH bileşiklerinin giderilmesinde rafinasyon işleminin etkinliği üzerine çalışma yapılmış, ham ve

deodorize edilmiş yağların (kakao, soya ve kolza) toplam PAH nicelikleri incelenmiştir. Kakao yağında 20-34 $\mu\text{g/kg}$ BaP, 2600-3700 $\mu\text{g/kg}$ toplam PAH tespit edilirken, deodorize edilmiş kakao yağlarında 0.1-0.3 $\mu\text{g/kg}$ BaP ve 2-59 $\mu\text{g/kg}$ toplam PAH tespit edilmiştir. Ham soya yağında 0.4-1.2 $\mu\text{g/kg}$ BaP ve 33-56 $\mu\text{g/kg}$ toplam PAH tespit edilirken deodorize edilmiş soya yağlarında 0.3-1.1 $\mu\text{g/kg}$ BaP, 5-17 $\mu\text{g/kg}$ toplam PAH tespit edilmiştir. Ham kolza yağındaki BaP ve toplam PAH miktarı sırasıyla 0.6-2.1 $\mu\text{g/kg}$ ve 43-61 $\mu\text{g/kg}$ iken deodorize edilmiş kolza yağlarında 0.3-1.3 $\mu\text{g/kg}$ BaP, 5-12 $\mu\text{g/kg}$ PAH tespit edilmiştir (Larsson vd 1987).

Finlandiya'da yapılan diğer bir çalışmada bitkisel yağlardan, margarin ve tereyağından oluşan toplam 23 örnekte PAH taraması yapılmış, tereyağında ortalama 2.4 $\mu\text{g/kg}$, % 20 bitkisel yağ karışımı tereyağlarında 4 $\mu\text{g/kg}$, kızartma ve fırınlanmış ürünlerde kullanılan margarinlerde 32 $\mu\text{g/kg}$, yumuşak margarinlerde 12 $\mu\text{g/kg}$, bitkisel yağlarda 23 $\mu\text{g/kg}$ ortalama PAH tespit edilmiştir. Bu çalışmada da rafine edilmiş yağların PAH içerikleri daha düşük bulunmuştur (Hopia vd 1986).

2001 yılında İspanya, İngiltere ve İrlanda'daki gıda otoritelerince İspanya üretimi pirina yağlarının toplatılmasıyla PAH kontaminasyonu ile ilgili ilk olay meydana gelmiştir. İlk olarak Çek Cumhuriyeti'ne ihraç edilen pirina yağlarında yüksek oranda BaP varlığı tespit edilmiştir. Hatta bazı yağlarda, kabul edilebilir düzeyden 80 kat daha yüksek oranda kontaminasyon tespit edilmiştir. Bu olaydan sonra zeytinyağı üretici ülkelerden biri olarak Türkiye'ye, yurt dışındaki bir çok yayın organından, zeytinyağı ve pirina yağlarının BaP içeriklerinin ne olduğu ve olması gerektiği konusunda bilgi ve veri talep edilen mesajlar gelmiştir. Ayrıca İspanya'da ortaya çıkarılan "zeytinyağı skandalının" Türkiye'ye de uzandığını gösteren haberler gazetelerde yayınlanmıştır. Türkiye'nin son 4 yılda İspanya'dan pirina yağı ithalatı yaptığı ve sadece geçen yıl ki rakamın 600 ton olduğu belirtilmiştir.

Yağlarda PAH kontaminasyonunun araştırıldığı bazı çalışmalarda zeytinyağı örnekleri de incelenmiştir. Örneğin; Speer vd (1990) tarafından yapılan çalışmada 28 adet naturel bitkisel yağ örneğinin analizi yapılmış, genel olarak diğer yağlarda tespit edilen PAH kontaminasyonu çok düşükken zeytinyağlarında yüksek miktarlarda kirlilik

tespit edilmiştir (53-105.6 μ g/kg).

Menichini vd (1991) tarafından yapılan bir çalışmada, İtalya'da en çok tüketilen 6 adet zeytinyağı ve 7 adet naturel zeytinyağı örneğinde 28 adet PAH bileşiği aranmıştır. Üç-dört halkalı olanlar çevrede en çok bulunan bileşiklerdir (ör; phenanthrene) ve bütün örneklerde 40 μ g/kg'a kadar tespit edilmiştir. Kanserojen olan PAH bileşikleri ise tespit edilmemiştir (tespit limiti, 3 μ g/kg). Tespit edilen PAH bileşiklerinin, bu yağların tüketilmesi yoluyla insan vücuduna alımının yıllık ortalama 0.56 mg olduğu varsayılmıştır.

2.10. Gıda Düzenlemeleri

Bitkisel yağlarda PAH bileşiklerinin varlığına dair belirlenmiş resmi bir limit mevcut değilse de birçok ülkede başta BaP olmak üzere bazı bileşiklere ait sınır değerleri belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi'nde katı ve sıvı yağlarda PAH bileşiklerini temsilen BaP için maksimum 0.01 mg/kg sınır değeri belirlenmiştir. Yine, Almanya'da uygulanan gıda düzenlemelerine göre rafine yağlarda düşük molekül ağırlıklı PAH' lar (Light PAHs) (phenanthrene, anthracene, pyrene, benzo (a) anthracene, chrysene, triphenylene, fluoranthene) için müsaade edilen limit 25 μ g/kg iken, yüksek molekül ağırlıklı PAH'ların (Heavy PAHs) (benzo (a) pyrene, benzo (e) pyrene, benzo (a)fluoranthene, perylene, indeno (1,2,3-c,d) pyrene, dibenzo (ah,ac) anthracene, benzo (bjk)fluoranthene, benzo (ghi) perylene) toplam miktan 5 μ g/kg'dan fazla olmamalıdır (Speer vd 1990).

Zeytinyağlarında PAH bileşikleri ile ilgili Avrupa Birliği'nce yayınlanmış herhangi bir spesifikasyon mevcut olmamakla birlikte, Avrupa Birliği'nce yayınlanan resmi gazetede belirtildiği üzere, Gıda Bilimsel Komitesi, PAH bileşikleri ile ilgili risklerin açığa kavuşturulması ile ilgili çalışmalarını halen yürütürken, üye ülkeler, belli bir koordinasyon içinde bu kontaminantların gıda maddelerindeki oluşumu ile ilgili verileri toplamaktadır.

Uluslararası Zeytinyağı Konseyi, 8 Kasım 2001 tarihinde zeytinyağı ve pirina yağlarında PAH bileşiklerinin tespiti konusunda toplantı düzenlemiş ve RES-4/85-IV/01 nolu kararına göre rafine edilmiş pirina yağlarında BaP, benzo (e) pyrene, benzo (a)

anthracene, benzo (b) fluoranthene, benzo (k) fluoranthene, dibenz (a,h) anthracene, benzo (g,h,i) perylene, indeno (1,2,3-c,d) pyrene isimli her hidrokarbon için belirlenen maksimum seviye 2 $\mu\text{g/kg}$ 'dır. Ayrıca bu bileşiklerin miktarı toplamda 5 $\mu\text{g/kg}$ 'ı geçmemelidir.

2.11. PAH Tayininde Kullanılan Analitik Metotlar

PAH bileşiklerinin tayininde en büyük sorun, analiz örneklerinin karmaşık yapıda oluşu ve aynı ortamda bulunan, gerek fiziksel gerekse kimyasal yünden PAH bileşiklerine çok benzeyen girişim yapan maddelerin , tekrar tekrar yapılan ekstraksiyon ve saflaştırma işlemlerine rağmen tamamen izole edilememesidir.

Diğer eser miktardaki maddelerin analizlerinde olduğu gibi, yağlarda PAH bileşiklerinin tespitinde, her bir PAH bileşiğinin çok düşük seviyelerde bulunuyor oluşu, ekstraksiyon ve temizleme işlemlerinin oldukça karmaşık oluşu, iyi bir kromatografik ayırımın gerekliliği ve miktar tespitinde yüksek duyarlılık gerektirmesi gibi faktörler nedeniyle zorluklar yaşanabilmektedir. PAH bileşiklerinin ekstraksiyonunda ve temizlenmesinde çeşitli metotlar uygulanmaktadır. PAH bileşiklerinin izolasyonunda, genellikle sikloheksan: dimetilformamid (DMF) (90:10) çözeltisiyle sıvı-sıvı partiyon yöntemi kullanılır.

Hopia vd (1986) tarafından yapılan çalışmada sıvı-sıvı ekstraksiyon öncesi sikloheksanda çözünmüş yağ çözeltisi, metanol-su (4:1) ile ekstrakte edilir. PAH'ları diğer organik bileşiklerden ayırabilmek için ekstraktın temizlenmesi gerekir ve bu da adsorbant olarak silikajelin kullanıldığı kolon kromatografisi tekniği ile yapılır (Hopia vd 1986 , Pupin vd 1996).

Speer vd (1990) tarafından yürütülen bir çalışmada ise kolon kromatografisi tekniğinden sonra "Moleküler Eleme Kromatografisi" uygulamasıyla saflaştırma işlemi yapılır. Ekstraktların temizlenmesinde Florosil veya XAD-2 adsorbantının kullanıldığı diğer kolon kromatografisi teknikleri de uygulanmaktadır.

Moreda vd (2001) tarafından yapılan çalışmada paket kolonların kullanımı yerine katı faz ekstraksiyonu silikajel kartuşların kullanımı ile temizleme işlemi oldukça

basitleştirilmiştir. Menichini tarafından uygulanan yöntemde ise pentan ile çözülmüş yağ örnekleri Dimetilsülfoksit (DMSO) ekstrakte edilmiş ve ince tabaka kromatografisi (TLC) tekniği ile ayırım gerçekleştirilmiştir. Yağlardan PAH bileşiklerinin izolasyonunda kullanılan diğer yöntemlerden biri de kafein: formik asit ile kompleks oluşturmaktır. Daha sonra sodyum klorür çözeltisi ile kompleks kırılır ve PAH bileşikleri yeniden ekstrakte edilir. Temizleme işlemi silikajel kolon kromatografi veya silikajel-SPE kartuşlarıyla yapılır. Sıvı-sıvı partiyon tekniği ile ekstraksiyonun ardından XAD-2 ile paketlenmiş kolon kromatografi veya silikajel-SPE kartuşları ile temizleme yöntemi, kafein-formik asitle kompleks oluşturma metoduna kıyasla tekrarlanabilirliği ve geri kazanımı daha yüksek bir yöntemdir (Moreda vd 2001).

PAH fraksiyonunun HPLC ile izolasyonunda, PAH bileşikleri ile girişim yapan nötral yağların ve tokoferollerin elimine edilmesini sağlayan elektron yakalayıcı sabit fazlar (örneğin; tetrakloro fitalimi dopropil-modifiye silika) kullanılabilir. Çözücü ekstraksiyonuna alternatif bir metod olarak SFE tekniği de kullanılmaktadır. PAH bileşiklerinin miktarının tespit edilmesinde genellikle ters faz HPLC/FLD kombinasyonu kullanılmaktadır. Bazı araştırmacılar ise UV dedektörle 254 nm dalga boyunda kantitatif analiz yapmışlardır. Aynı zamanda %100 dimetilpolisiloksan kapiler kolon ve GC/FID cihazıyla da bu bileşiklerin analizi yapılmaktadır. Bu yöntemde seçicilik zayıftır ve kimyasallardan kaynaklanabilecek kontaminasyonun önlenmesi için bazı önlemler alınmalıdır. Bu sebeple bitkisel yağlarda PAH bileşiklerinin tespitinde ve değerlendirilmesinde gerekli seçiciliği sağlayabilen GC/MS sistemler tercih edilmektedir. On-line HPLC-GC-MS sistemler, yüksek seçicilik ve hassasiyette tek bir aşamada PAH bileşiklerinin tayinine olanak sağlamaktadır (Moreda vd 2001).

Uluslararası Zeytinyağı Konseyi'nin RES-4/85-IV/01 nolu raporunda belirtildiği üzere, PAH bileşiklerinin tayininde tavsiye edilen metot, Ters Faz- Sıvı Kromatografi tekniğinin kullanıldığı ISO 15302:1998 no'lu standart metottur. Yine aynı raporda, PAH tayini için standart metottan farklı bir analitik metot kullanılacaksa, bu metodun geçerli kılınması ve en azından aşağıdaki kriterleri karşılaması gerektiği belirtilmiştir; uygun bir çözücü içinde bulunan örnek elüasyonları, katı faz kullanımı ile saflaştırılmalıdır. Ekstrakt konsantrasyon edilmelidir. HPLC/FLD kullanımı ile miktar tayini eğer uygulanabiliyorsa; doğrulama yapılmalıdır.

2.11.1. Katı faz ekstraksiyonu

Katı Faz Ekstraksiyonu, İngilizce olarak “Solid Phase Extraction” kelimelerinin baş harfleri olan “SPE” olarak ifade edilir. Tanım olarak SPE, katı faz üzerinde, tutulma yoluyla analitlerin çözeltilerden saflaştırılması ve ön deriştirme için örnek hazırlanması ve enstrümantal analizler için uygun bir çözücü ile analize hazırlanması metodudur.

SPE dört adımda gerçekleşmiştir. Bunlar;

I. Şartlandırma Basamağı: İlk olarak katı faz sorbenti hazırlanır. Bu aşamada paketlenmiş materyalden çözücü, baştan sona geçerek, sorbentin fonksiyonel gruplarının çözünmesi sağlanır. Kolon içindeki hava uzaklaştırılır ve boşluklar çözücü ile doldurulur. Tipik hazırlama çözücüsü metanoldür. Ardından su veya sulu tampon çözeltisi kullanılır. Metanol ve ardından geçen su veya sulu tampon çözelti yolu ile kolonun aktive edilmesi, sulu örneklerin tutunma mekanizmalarının uygun çalışmasını sağlamak içindir.

Bu aşamada, ayrıca sorbentin kurumasına izin verilmemelidir. Kuruma durumunda tutunma mekanizması etkili çalışmaz ve analitin geri (tekrar) kazanımı düşük olur. Eğer gerekli olursa, hazırlık boyunca sorbentin temizlenme basamağı da ilave edilebilir. Temizleme basamağı metanol ile ıslama aşamasından sonra kalabilecek kirliliklere karşı ayırıcı çözücünün kolon boyunca hareketidir. Bu basamak, metanol ve sulu tamponun ardından konulan örnek ilavesine hazırlıktır.

II. Ahkoyma Basamağı: Daha sonra analiti içeren örnek, kolona ilave edilir, 1 mL'ye kadar örnekler, yerçekimi, pompalama, vakum yolu veya otomatik sistemlerle kolona yerleştirilir. En önemli mekanizma örnek ilave edilirken, kolon üzerinde analitin tutunmasıdır.

Bu basamakta analit, sorbent üzerinde konsantre edilir. Bunun yanında bazı matriks bileşenleri tutunabileceği gibi, bazıları da tutunmadan geçer. Paket üzerinde uygun bileşenlerin alıkonumunu arttırmak ve ayırmak için veya istenmeyen bileşenlerin çöktürülmesi için tuz konsantrasyonu ve örnek çözeltilinin organik çözücü ile bileşiminin pH'sı ayarlanmalıdır. Örnek çözeltilisini ekstraksiyon cihazından vakum ya da pozitif

basınç yapılarak yavaşça geçirilir. Akış derecesi alıkonma oranını etkiler.

III. Yıkama Basamağı: Eğer ilgili bileşenler paket üzerinde muhafaza edilirse istenmeyen veya aynı çözeltili kullanıldığında muhafaza edilmeyen materyaller yıkanıp temizlenir. İlgili bileşenler ve saf olmayan maddelerin bulunduğu SPE paketlerinin üzerinden örnek geçtiği zaman safsızlıklar çalkalama yoluyla yüksek oranda hareket ettirilir. Kolonun çalkalanması analiti muhafaza etmek içindir. Bu çalkalama ile analit muhafaza edilirken, kolonun çatlaklar şeklindeki boşluklarından matriks ayrılır. Yıkama sırasında kullanılan çözeltiler örnek matriksinden daha güçlü, fakat ilgili bileşenlerden daha zayıf polariteye sahip olmalıdır.

IV. Çözerek Alma Basamağı: Uygun bir çözücü ile analitin sorbentten ayrılması sağlanır. Uygun çözücü, analiti iyi ayırmalı ve analit-sorbent etkileşimine sebep olmamalıdır. Ayrıca, ayırıcı çözücü az da olsa kolonda tutunmuş diğer maddelerin ayrımı için de uygun olmalıdır.

SPE için kullanılan sorbentler; disklerde, kartuşlarda ve şırıngalarda olmak üzere üç temel şekilde paketlenir. Diskler, 4-90 mm arasında farklı yarı çaplarda kullanılabilir. En popüler ekstraksiyon disklerinden biri Empore ekstraksiyon diskidir. Bu disk politetrafloretillen fibrillerinden oluşan inert bir matriks içine yerleştirilir. Diskin en büyük avantajı büyük hacimli örnekler için yüksek akış oranı sağlayan geniş yüzey alanına sahip olması ve hızlı kütle transferidir. Kartuşlar, 100 mg'dan 1 g'a kadar değişen miktarlarda sorbent içerir. Şırıngalar ise farklı hacimlerde ve farklı kütlelerde paketlenmiş malzemeler şeklinde kullanılır. Bunlar 1-25 mL hacimli olup paket ağırlıkları 50 mg ile 10 g arasındadır. Halen SPE'de en çok kullanılan sorbent şeklidir. Katı faz ekstraksiyonunda ayrılma ve izolasyon dört temel mekanizmaya sahiptir. Bunlar; ters faz, normal faz, iyon değişimi ve adsorpsiyon.

I. Ters Faz

(Polar sıvı faz, apolar değiştirilmiş katı faz) Hidrofobik etkileşimler

- Apolar-Apolar etkileşimleri
- Van der Waals veya dispersiyon (dağılma) kuvvetleri

II. Normal Faz

(Apolar sıvı faz, polar değiştirilmiş katı faz) Hidrofilik etkileşimler

- Polar-polar etkileşimleri
- Hidrojen bağı
- II-II etkileşimleri
- Dipol-dipol etkileşimleri
- Dipol-indüklenmiş dipol etkileşimleri

III-İyon Değişimi

Bileşiklerdeki yüklenmiş grubun yüzeyindeki yüklü gruba elektrostatik çekimidir.

IV-Adsorpsiyon

(Değişime uğramamış materyalle, bileşiklerin etkileşimi). Kullanılan katı faza göre hidrofobik ve hidrofilik etkileşimler görülebilir.

2.11.2. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve kısımları

HPLC, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography) ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)'nin kısaltması olarak kullanılmaktadır. Yüksek hızda ve basınçta gerçekleştirilen ayırmaların yapıldığı sıvı kromatografi sistemlerine Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi denir. HPLC ismi, preparatif amaçla halen kullanılan temel yöntemlerden daha yeni isimleri ayırt etmek için kullanılmaktadır.

Başlangıçta basınç, modern sıvı kromatografisinin temel kriteri olarak düşünülmekteydi ve bu nedenle "Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi" olarak adlandırılmaktaydı. Ancak bu günümüzde geçersiz kabul edilmektedir. Çünkü yüksek performans yalnız basıncın değil birçok faktörün birleşmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu faktörler;

- Dar bir dağılım aralığında çok küçük partiküllerin kullanılması,
- Homojen gözenek boyutu ve dağılımı,
- Yüksek basınçta kalan paketleme,
- Düşük hacimli örnek enjektörleri,
- Duyarlı, düşük hacimli dedektörler
- İyi pompalama sistemi kullanımı,

olarak sıralanabilir.

HPLC bütün analitik ayırma teknikleri arasında, bir milyar dolara yaklaşan yıllık satışıyla, en yaygın kullanılanıdır. Yöntemin bu kadar yaygın olmasının sebepleri, duyarlı ve doğru, kantitatif tayinlere kolaylıkla uygulanabilir olması, uçucu olmayan türlerin veya sıcaklıkta kolayca bozulabilen türlerin ayrılmasına uygun olması ve hepsinden de önemlisi sanayinin bir çok dalının ve halkın birinci derece ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliğidir. Bu gibi maddelere örnek olarak; amino asitler, proteinler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar, antibiyotikler, metal organik türler ve çeşitli inorganik bileşikler sayılabilir.

Sıvı kromatografisinin geliştiği ilk yıllarda, bilim adamları, kolon veriminin dolguda kullanılan taneciklerinin boyutunun azaltılmasıyla önemli ölçüde artacağını fark ettiler. Ancak, tanecik çapı 3-10 µm kadar küçük olan dolgu maddelerinin üretim teknolojisinin gelişmesi ve kullanılması 1960'lı yılların son dönemine kadar başarısız oldu. Bu teknoloji, klasik yer çekimi-akışlı sıvı kromatografisinin basit cam kolonlardaki durumunun aksine, yüksek basınçta çalışan, gelişmiş cihazlara ihtiyaç göstermektedir. Yüksek hızda gerçekleştirilen ayırmaların yapıldığı bu sıvı kromatografi sistemlerinde, yeni tip kolon maddelerinin bulunması ve yüksek hareketli faz hızları kullanılmasıyla, ayırmalar kısa zamanda gerçekleştirilebilmekte, kolonlar defalarca kullanılabilir. HPLC, geleneksel kolon kromatografisinden daha büyük seçicilik ve çözünürlük sunmaktadır (Skoog vd 1998).

HPLC'nin diğer klasik tekniklere göre kıyaslaması yapıldığında:

- Küçük boyutlu paslanmaz çelik boruların kullanılması,
- Partikül boyutları çok küçük (3.5-10 µm) matrislerin kullanılması,
- Yüksek iç basınç ve kontrollü akış hızı sağlanabilmesi,
- Örnek gereksinimlerinin az olması,
- Sürekli akış dedektörleriyle küçük miktarların tayinine olanak sağlanması,
- Otomasyona müsait olması,
- Hızlı analiz imkanı ve yüksek ayırma gücüne sahip olması nedeniyle çok yönlü uygulamalara daha açık olduğu görülmektedir.

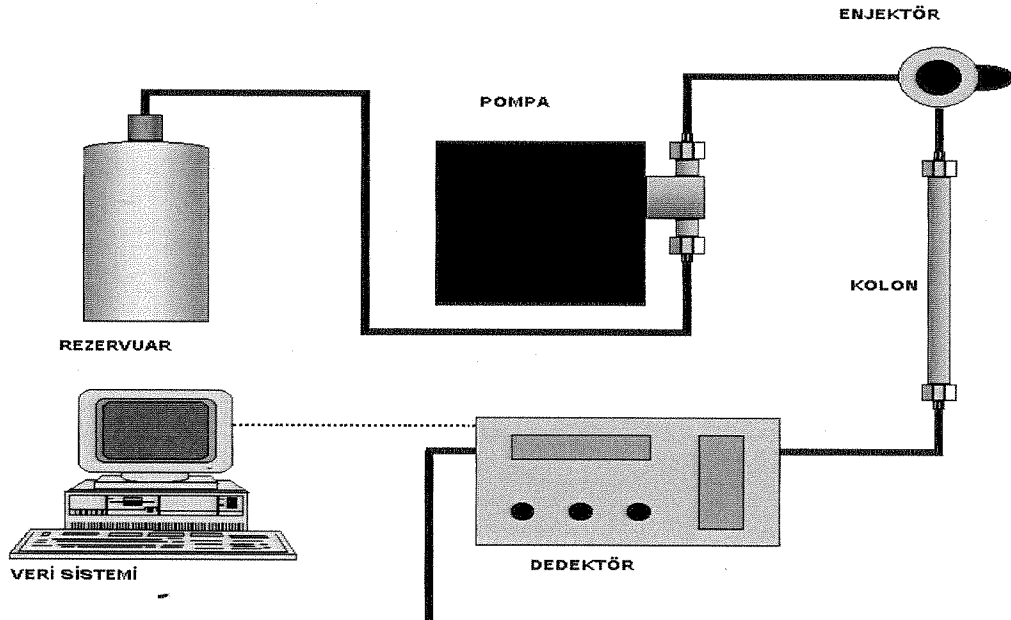
Kromatografik prosesler durgun ve hareketli faz arasında kütle transferini kapsayan

ayırma teknikleri olarak tanımlanır. HPLC; bir karışımdaki bileşenlerin ayrılmasında sıvı hareketli fazı kullanır. Bu bileşenler (veya analitler) ilk olarak çözünürleştirilirler ve daha sonra yüksek basınç altında kromatografi kolonundan geçmeye zorlanırlar. Kromatografik bir kolonun ayırma gücü; kolon boyu ve uzunluk başına teorik plaka sayısı ile artmaktadır. Ancak kolon uzunluğunun artması pik yayılmasına sebep olmaktadır. Bir HPLC şeması Şekil 2.11 gösterilmektedir.

Teorik plaka sayısı ise durgun fazın partikül büyüklüğüne bağlıdır. Durgun fazın küçük partikül boyutuna sahip olması ayırma gücünü iyileştirmektedir. Ancak partikül boyu küçüldükçe, hareketli fazın akışına direnç büyür. Bu ise kolonda geri basınç oluşturur ve durgun fazın matriks yapısına zarar verir. Böylece elüent akışı ve ayırma gücü azalır. Son yıllarda kolon kromatografi teknolojisindeki gelişme ile yüksek basınçlara dayanıklı kolon dolgu maddeleri ve yüksek basınç altında çalışabilen sistemler geliştirilmiştir.

2.13.3.1. Hareketli faz hazneleri ve çözücü muamele sistemleri

Modern bir HPLC cihazında bir veya çok cam veya paslanmaz çelik kaplar bulunur. Bunların her biri 500 mL' den daha fazla çözücü alabilecek kapasiteye sahiptir.



Şekil 2.11. Bir HPLC cihazının şeması

HPLC sisteminde kullanılan tüm çözücüler çok saf olmalıdır. Hareketli faz, örnek ve durgun faz arasındaki etkileşimlerin ayarlanabilmesi için değiştirilmektedir. Hareketli faz tipleri; izokratik ve gradiyent olmak üzere iki formda uygulanabilir.

İzokratik elüsyonda; bileşenler sabit hareketli faz kompozisyonu ile elüe edilirler. Tüm bileşenler kolonda aynı anda, farklı hızda göç ederler. Bu tip elüsyon basit ve ucuzdur, fakat bazı bileşiklerin ayrılması ve elüsyonu açısından etkin olmayabilir.

Gradiyent elüsyonda; farklı bileşenler organik çözücü şiddetinin değiştirilmesiyle elüe edilebilirler. Farklı çözücülerin bir gradiyent program çerçevesinde farklı oranlarda karıştırılması ile gerçekleştirilen sıralı elüsyondur. İzokratik elüsyonla karşılaştırıldığında, ayırma gücünün arttığı ve daha etkin bir ayırmaya ulaşıldığı görülür.

Politipik hareketli faz; karışık tip kromatografilerde tercih edilebilir. Aynı kolonu kullanarak bir çok kromatografik teknik için kullanılabilir. Bu kolonlar kovalent olarak hidrofilik organik tabakaya bağlanan rijit makroporöz veya afinite kromatografileri bu sistemde uygulanabilir. Hareketli fazın değiştirilmesi ile ayırma tipide değiştirilmektedir.

2.13.3.2. Pompalar

Bir HPLC pompalama sistemi için gerekli şartlar oldukça sıkıdır ve şunları içermelidir;

- 400 atm'ye kadar basınç üretimi,
- Puls içermeyen basınç çıkışı,
- 0-10 mL/dakika aralığında akış hızları,
- %95 veya daha iyi bir bağıl tekrarlanabilirlikle akış kontrolü,
- Korozyona dayanıklı parçalar.

HPLC analizlerinde kullanılan bir çok tip pompa mevcuttur. Bunlar;

- Emme-basma piston pompalar,
- Şırınga tipi veya sürgülü pompalar,
- Sabit basınç veya pnömatik pompalandır.

Emme basma piston pompalar şimdi pek çok pompa sisteminin esasını teşkil eder. Çoğu iki pistonu sahiptir. Biri emiş yaparken diğeri basma yapacak şekilde 180° faz farkıyla çalışırlar. Ticari olarak satılan HPLC sistemlerinin yaklaşık %90'unda kullanılan pistonlu pompalar, genellikle motor kontrollü bir pistonun ileri ve geri hareketiyle çözücünün pompalandığı küçük bir silindirden meydana gelmiştir. Bu düzenleme darbesiz çıkış sağlar, fakat mekanik olarak daha kompleksdir. Buna alternatif konfigürasyon, hızlı tekrar dolum darbeleri tek başlıklı modeldir. Bu pompa dolarken negatif kaymalı bir çıkış verir. Negatif kayma, pompa ile enjektör arasında darbe yok edici cihaz takılarak en aza indirilir.

Teşhis için bir bileşiğin en önemli kromatografik parametresi onun alıkonma zamanı ve kapasite faktörüdür. Bu yüzden standart ve örnek kromatogramlarının alınması sırasında sabit bir hareketli faz akışı esastır. Başka bir ifadeyle, pompa sistemi uygun kromatogram elde edilmesi için yüksek standardı korumalıdır.

2.13.3.3. Enjeksiyon sistemi

İlk ve en basit numune verme düzeneği, sızdırmayan septumlardan şırınga ile enjeksiyon sistemiydi. Bu amaçla 100 atm basınca kadar dayanıklı mikro şırıngalar kullanılır. Akış durdurma enjeksiyonunda, çözücü akışı bir an için durdurulur, kolonun başındaki bağlantı çıkartılır ve numune doğrudan kolon dolgusunun başına enjekte edilir. Bağlantı tekrar kurulduktan sonra sisteme tekrar basınç uygulanır. Bu tekniğin avantajı basitliğidir. Ne yazık ki, şırınga ile enjeksiyonun tekrarlanabilirliği nadiren %2-3'den daha iyidir ve çoğu zaman önemli ölçüde kötüdür.

İdeal enjektör, örneğin kolonun başına çözücü akışına zarar vermeden verebilmelidir. Teorik olarak bunu gerçekleştirebilecek ideal metot, çözücü akışını durdurmaksızın kromatografik materyal yatağının baş kısmına örneği verebilmelidir. Bu septum enjektörü kullanılarak başarılabilir, yüksek basınç altında sızıntı problemi bu enjektörün kullanımını sınırlamaktadır.

2.13.3.4. Kolonlar

HPLC kolonları, genellikle paslanmaz çelik borulardan imal edilir. Düşük basınçlı

(<600 psi) sistemlerde ise, et kalınlığı fazla olan cam borularda kullanılabilir. Kolonların uzunluğu 10-30 cm ve iç çapı 4-10 mm civarındadır. Kolon dolgu maddelerinin parçacık boyutu 5-10 µm kadardır. Bu tip kolonların metresinde 40000-60000 kadar tabaka bulunur. Son yıllarda uzunluğu 3-7.5 cm ve iç çapı 1-4.6 mm olan yüksek performanslı mikro kolonlarda imal edilmeye başlanmıştır. Bu kolonların dolgu maddelerinin parçacık boyutları 3-5 µm ve tabaka sayısı 100000 tabaka/m'ye kadar çıkmaktadır. Bu mikro kolonlar ile çok az miktarda çözücü ile hızlı bir şekilde ayırma yapılabilir. Sıvı kromatografisinde kullanılan çözücülerin saflıkları çok yüksek olduğu, pahalı olduğu ve çözücüler kullanıldıktan sonra atıldığı için mikro kolon kullanımı çok önemli bir üstünlüktür (Skoog vd 1998).

Birçok çalışmada sıcaklığının hassas bir şekilde kontrol edilmesine ihtiyaç duyulmaz ve oda sıcaklığında çalışılır. Bazı durumlarda ise kolon sıcaklığı derecenin onda biri mertebesinde sabit tutulduğu zaman daha iyi kromatogramlar elde edilebilir. Modern cihazların birçoğunda, kolon sıcaklığı oda sıcaklığından 150°C'a kadar onda bir derece mertebesinde kontrol etmek için, kolon ısıtıcıları bulunur. Kolonlar, hassas sıcaklık kontrollü sabit sıcaklık banyosundan beslenen su ceketleriyle de donatılabilir (Skoog vd 1998).

Kolon dolgu maddeleri; HPLC sabit fazı kolon içindeki katı destek materyalidir. Kolon dolgu maddeleri silika ve alümina esaslıdır. Kolon dolgu maddeleri gözenekli, küresel, düzensiz, peliküller ve mikro tiplerinde olmaktadır. Peliküller tipte, inert bir cam taneciğin üzerinde 1-2 µm kalınlıkta gözenekli silika tabaka içeren dolgu maddesi sıvanmıştır.

Dolgu maddesinin seçiminde tanecik biçimi, büyüklüğü, tanecik büyüklüğünün dağılımı, gözenek hacmi ve yüzey alanı gibi özellikler rol oynar. Yüzey Alanı; örneğin alıkonma hacmi ve tutulma kapasitesi dolgu maddesinin yüzey alanı ile doğru orantılıdır. Dolgu maddesinin yüzey alanı 15-600 m/g arasında değişir. Küçük tanecikler nispi olarak büyük yüzey alanına sahiptir. Gözenek Hacmi: Gözenekli bir dolgu maddesinde örnek moleküllerinin tanecik merkezine ulaşması ve sonra geriye dönmesi için (25 µm+25 µm=50 µm) ideal difüzyon uzaklığı olmalıdır. Peliküller dolgu maddelerinde difüzyon uzaklığı (2 µm+2 µm=5 µm)'dir. Bu nedenle kolon verimi yüksek olmaktadır. Kısa difüzyon mesafesi tabaka sayısını artırmakta ve nisbi alıkonma

süresini kısaltmaktadır.

Silika (SiO₂); Tanecik büyüklüğü 5-30 µm, yüzey alanı 350-600 m²/g, gözenek büyüklüğü 50-100 °A'dur. Silika, yüzeyindeki (-OH) grubundaki alternatif hidrojenden ötürü biraz asidiktir (pH=4). Su ile yıkanarak asitlik giderilir. Silikanın üç farklı tipi bulunmaktadır. Tamamen poroz silika, pelliküler silika ve mikro silikadır. Mikro silika ile poroz ve pelliküler silikaya nazaran daha keskin pikler elde edilmektedir.

2.13.3.5. Dedektörler

HPLC için ideal dedektör, geniş konsantrasyon aralığında yüksek duyarlılığa, düşük gürültü seviyesine ve bilinen seçiciliğe sahip olmalı ve kromatografik rezolüsyona kötü etki yapmaksızın kolon akıntısındaki bileşenlere duyarlı olmalıdır. Böyle bir dedektör sıcaklık ve basınçtaki değişimlere duyarsız olmalıdır. Dedektör sistemleri uygunluklarına göre 4 gruba ayrılabilir:

- Maddenin bazı tabii özelliklerinin, teşhisin esasına teşkil ettiği; maddeye özel dedektörler (absorbans, fluoresans, elektrokimyasal, iletkenlik dedektörleri gibi).
- Kolonda ayrılan maddelerin varlığını, hareketli fazın kütle özelliğine dönüştüren, kütle özellikli dedektörler (refraktif indeks dedektörü).
- Maddenin teşhisinden önce evaporasyonla hareketli fazın uzaklaştırdığı desolvasyon (çözünürlüğü ortadan kaldıran) dedektörleri (hareket eden tel dedektörü, modifiye FID dedektörü, kütle dedektörü-evaporatif analizör).
- Kimyasal reaksiyon içeren türevlendirme dedektörü.

HPLC'de en çok kullanılan dedektörler; absorbans, fluoresans, refraktif indeks dedektörleridir.

2.12. PAH'ların HPLC ile Analizleri

Yirmiden fazla PAH analizi HPLC ile gerçekleştirilebilir. 5 halkalı (BaP, BeP, BkF ve perylene) fraksiyonunu da HPLC ile ayırmak mümkündür. Fluoresans ve UV absorbans dedektörleri PAH'ların analizinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Fluoreans dedektörler daha seçici ve duyarlıdır.

Apolar, kimyasal bağlı sabit fazlar, (C18) PAH'ların analizinde kullanılabilir. Gradyent elüsyon tekniğiyle PAH'ları birbirinden çok iyi bir şekilde ayırmak mümkündür. Çeşitli firmalar tarafından PAH'ları iyice ayıran kolonlar geliştirilmiştir.

Gıdadaki PAH'ların analizinde tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için örneğin hazırlanması ve iyice temizlenmesi gerekmektedir. Su örneklerinde temizleme çok kolay olmasına rağmen diğer gıda örneklerin kompleks matriks sebebiyle biraz zordur.

Gıdadaki dokuların ve hücre yapılarının parçalanması ve yağ asitleri esterlerini sabunlaştırmak için, örnek etanolik veya metanolik KOH ile kaynatılır. PAH'lar apolar (n-hekzan) bir çözücü ile ekstrakte edilir.

Sıvı-sıvı partisyon kromatografisiyle DMSO'ya transfer edilir. Suyu seyreltikten sonra n-hekzan ile ekstrakte edilir. Ekstrakt silika veya alümina kolon kromatografisiyle temizlenir. Kolondan alınan n-hekzan'da %2'lik dietileter fraksiyonları HPLC veya GC ile analiz edilir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmamızda kullanılan zeytinyağı örnekleri, Ege bölgesi Aydın ve İzmir illerinden toplanmıştır. Bu çalışmada 24'ü naturel zeytinyağı, 2'si riviera, 4'ü pirina yağı olmak üzere toplam 30 örnek deneysel olarak incelenmiştir.

3.2. Kimyasallar

Analizlerde; HPLC saflıkta hekzan (Merck,1027619), asetonitril (Gen-Kim, A0134.2021), diklorometan (Riedel-de Haen, 34856) çözeltileri, BaP (Sigma Aldrich, B1760-16), pyrene (Merck, S31757), fluorene (Merck, S18646), chrysene (Merck, S4169690), naphthalene (Merck, S02039), acenaphthene (Merck, S147705), anthracene (Merck, S32114), phenanthrene (Fluka chemika, 77470), benzo(b)fluoranthene (Fluka chemika, 12495), benzo(a)anthracene (Fluka chemika, 12090), benzo(a)fluorene (Fluka chemika, 12490), dibenzo(a,h)anthracene (Fluka chemika, 33530), dibenzo(a,c)anthracene (Fluka chemika, 33528), fluoranthene (Fluka chemika, 46530) PAH standartları kullanıldı.

3.3. Ekipmanlar

Her deneysel çalışma öncesinde kullanılacak tüm cam malzemeler hekzan ile temizlenmiştir. Araştırmada HPLC analizleri aşağıda Şekil 3.1 de gösterilen Thermo Separation Products HPLC sistemi (Spectra System SCM 1000 çözelti haznesi, 250 x 4.60 mm Phenomenex C-18 kolon, Phenomenex TS 430 HPLC kolon ısıtıcısı, Spectra System UV 1000 dedektör, 5000 psi P1500 Spectra System pompa, 25 µL enjeksiyon portu) kullanılarak gerçekleştirildi. Ayrıca ön saflaştırma ve zenginleştirme

basamaklarında C-18 (Supelco Park Bellefonte, PA 16823-0048 ABD) kartuşları kullanıldı. HPLC’ de hareketli faz olarak asetonitril ve ultra saf su kullanıldı. Hareketli faz olarak farklı gradiyent ve izokratik elüsyonlar kullanıldı. Hareketli faz akış hızı 0.4 mL/dakika optimum değeri bulundu. Her ölçüm 254 nm dalga boyunda yapıldı.



Şekil 3.1. Analiz çalışmalarında kullanılan HPLC sistemi

3.4. Deneysel Çalışmalar

Deneysel çalışmalarımız iki basamakta gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. HPLC’de hareketli faz metodu seçilmesi

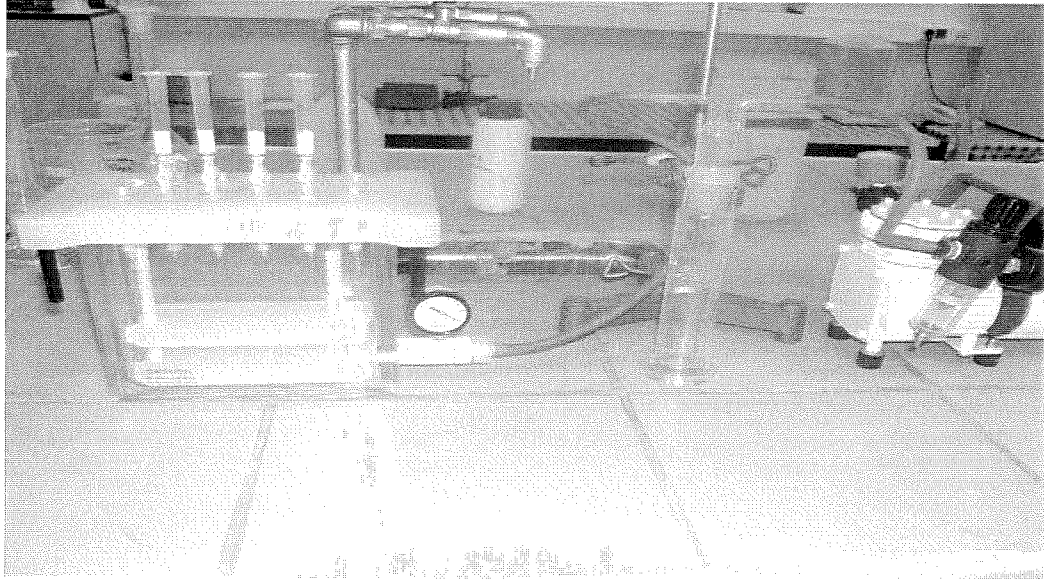
BaP’in kalitatif ve kantitatif tayini için HPLC’de metot oluşturulmuştur. Bu metotta hareketli faz çözücülerini ve oranları değiştirilerek 50 mg/kg BaP standardı enjekte edildi. Tablo 3.1’de çalışılan hareketli fazlar ve oranları görülmektedir.

Tablo 3.1. HPLC’de denenen hareketli fazlar ve oranları

| Hareketli Fazlar ve Oranları |
|--|
| %100 asetonitril |
| asetonitril-su (70:30, v/v) |
| asetonitril-su (75:25, v/v) |
| diklorometan–asetonitril (50:50, v/v) |
| İlk 5 dakika asetonitril-su (60:40, v/v) +%100 asetonitril |

3.4.2. BaP’in geri kazanım metotları

BaP’ in zeytinyağı örneklerinden geri kazanmada farklı katı faz ekstraksiyon metodları çalışılarak en iyisi belirlendi. Bu çalışmalarda Şekil 3.2’de gösterilen SPE manifold’u kullanıldı. Numuneler 3 tekrarlı yapıldı ve büyük hatalı sonuçlar elde edildiğinde 3 tekrarlı hale gelinceye kadar çalışmalara devam edildi. Sonuçlar ortalama değerler olarak verildi.

**Şekil 3.2.** Çoklu SPE manifoldu

-Birinci Metot; (Moret 2002)

İki buçuk gram zeytinyağı alındı hekzan ile 5 mL’ye seyreltildi. Önce 10mL

diklorometan, daha sonra 10 mL hekzan ile şartlandırılmış silika kartuşa 1 mL üstteki karışımdan ilave edilerek, 15 mL hekzan-diklorometan (70:30, v/v) karışımı ile elüe edildi ve elüent akış oranı yaklaşık 1 mL/dakika olarak seçildi. Daha sonra çözücü, açık havada uçurulup 1 mL hekzanda çözülerek HPLC'ye enjekte edildi.

-İkinci Metot; Yeni Metot

Önce 10 mL diklorometan daha sonra 10 mL hekzan ile şartlandırılmış silika kartuşa 0.25 mL zeytinyağı ilave edildi, 15 mL hekzan–diklorometan (70:30, v/v) karışımı ile elüe edildi. Elüent akış oranı yaklaşık 1 mL/dakika seçildi. Daha sonra çözücü, açık havada uçurulup 1 mL hekzanda çözülerek HPLC'ye enjekte edildi.

-Üçüncü Metot:

İki buçuk gram zeytinyağı alındı hekzan ile 5 mL'ye seyreltildi. Önce 10mL diklorometan, daha sonra 10mL hekzan ile şartlandırılmış C-18 kartuşa 1 mL üstteki karışımdan ilave edilerek, 15 mL hekzan-diklorometan (70:30) karışımı ile elüe edildi ve elüent akış oranı yaklaşık 1 mL/dakika olarak seçildi. Daha sonra çözücü, açık havada uçurulup 1 mL hekzanda çözülerek HPLC'ye enjekte edildi.

-Dördüncü Metot:

Önce 10 mL diklorometan daha sonra 10 mL hekzan ile şartlandırılmış C-18 kartuşa 0.25 mL zeytinyağı ilave edilerek, 15 mL hekzan–diklorometan (70:30) karışımı ile elüe edildi. Elüent akış oranı yaklaşık 1 mL/dakika seçildi. Daha sonra çözücü, açık havada uçurulup 1 mL hekzanda çözülerek HPLC'ye enjekte edildi.

-Beşinci Metot

150 µL zeytinyağı alındı hekzan ile 5 mL'ye seyreltildi. Daha sonra 5 ml diklorometan, 5 mL hekzan ile şartlandırılmış C-18 kartuşa hekzan ile seyreltilmiş zeytinyağından 1 mL ilave edilerek, 10 ml hekzan–diklorometan (70:30) karışımı ile elüe edildi. Elüent akış oranı 1 mL/dakika seçildi. Çözücü açık havada uçurulup 200 µL asetonitrilde çözülerek HPLC'ye enjekte edildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

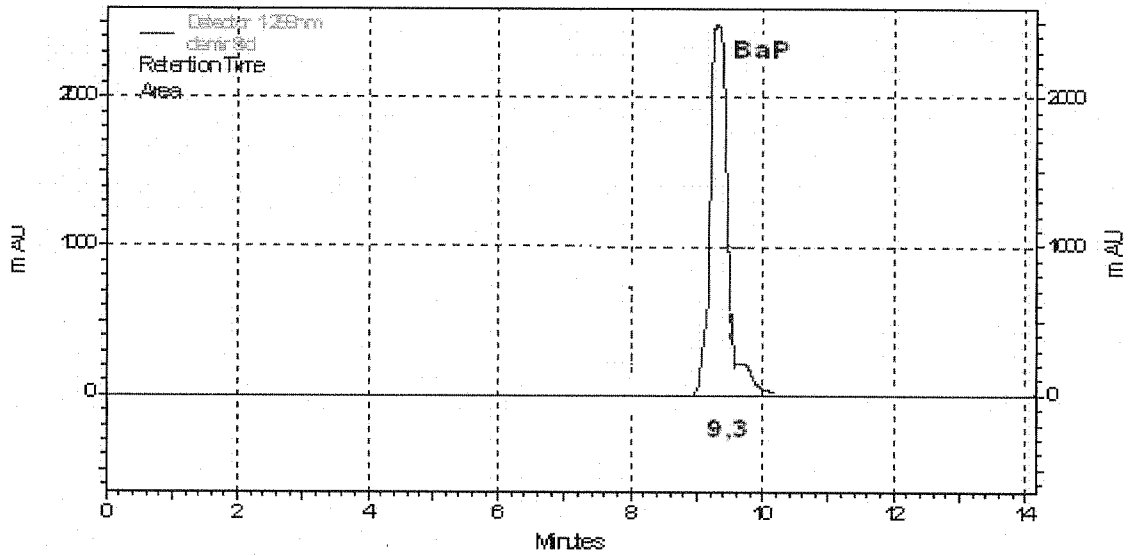
Araştırma sonuçlarını vermeden önce, PAH analizleri ile ilgili birkaç noktaya değinirsek, Cejpek vd (1998) göre yağlardaki PAH kirliliği değerlendirilmesinde bazı sınırlayıcı etkenler mevcuttur. Örneğin numunelerdeki PAH kirliliğinin raporlama limitine yakın ya da daha düşük değerlerde olması, sonuçların belirsizliğini arttırmaktadır. Yine diğer bir problem, farklı laboratuvarlarda elde edilen sonuçların karşılaştırabilirliğinin zor oluşudur. PAH kirliliği farklı yollarla ifade edilebilmektedir. Örneğin;

- Herbir hidrokarbon
- Sadece BaP
- Toplam PAH
- Farklı hidrokarbon grupları
- BaP'nin toksik eşdeğeri

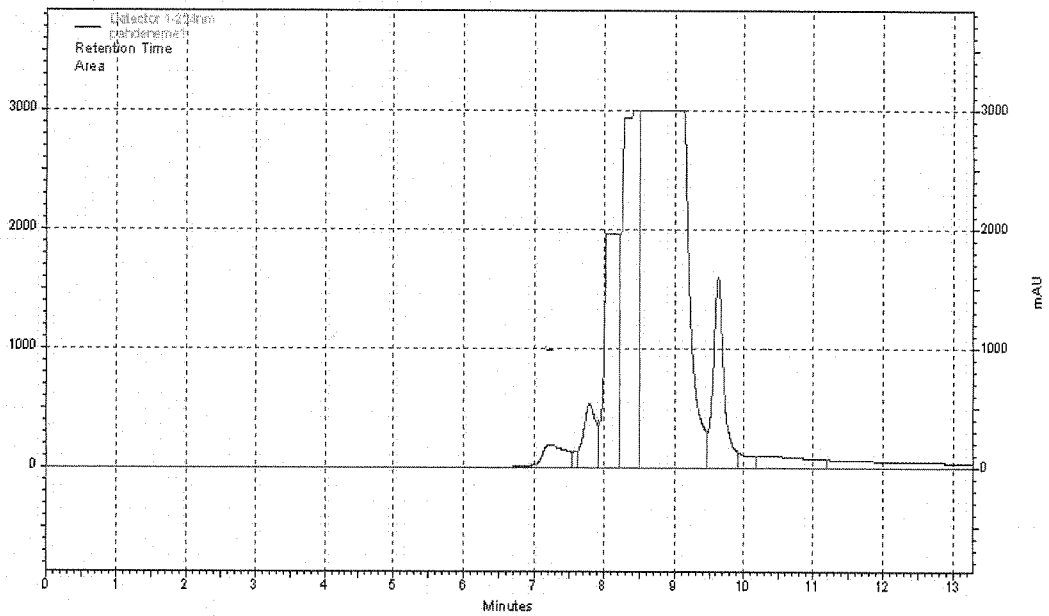
Ayrıca bu bileşiklerin fotooksidatif reaksiyonlar sonucu bozunduğu ve ekstraksiyon işlemleri sırasında bu noktaya dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Cejpek vd 1995).

Literatür çalışmalarında gözlemlenen PAH'lar incelendiğinde, gıda maddelerinde en çok rastlanan ve en toksik PAH BaP'dir. Çalışmalarımızda öncelikle BaP üzerine yoğunlaştık ve BaP'in alıkonma zamanını erken görebilmek ve gereksiz zaman ve çözücü kaybını önlemek için Tablo 4.1'deki hareketli faz programları kullanıldı. Tablo 4.1'deki sonuçlara göre hareketli faz olarak diklorometan-asetonitril (50:50) hareketli fazı seçildi. BaP 9.30 dakikada gözlemlendi (Şekil 4.1). Fakat zeytinyağı örnekleri HPLC'ye enjekte ettiğimizde BaP pikinden başka ona yakın alıkonma zamanlarında diğer piklerde tespit edildi. Bu piklerin diğer PAH pikleri olabileceğinden yola çıkarak 13 farklı PAH standardı HPLC'ye enjekte edildi. Bunun sonucunda ilk 10 dakika

içerisinde bazı PAH bileşiklerinin karıştığı görüldü (Şekil 4.2). Sonuç olarak, eğer numunemizde sadece BaP varsa, yukarıda belirlediğimiz kısa alıkonma zamanlı HPLC tekniğini kullanabiliriz. Aksine, ortamda birden fazla PAH varsa ve bunlarından istenen PAH diğer piklerle girişim yapıyorsa uygun bir izokratik veya gradiyent elüsyon kullanılmalıdır.



Şekil 4.1. 100 µg/kg'lık BaP standardı alıkonma zamanı



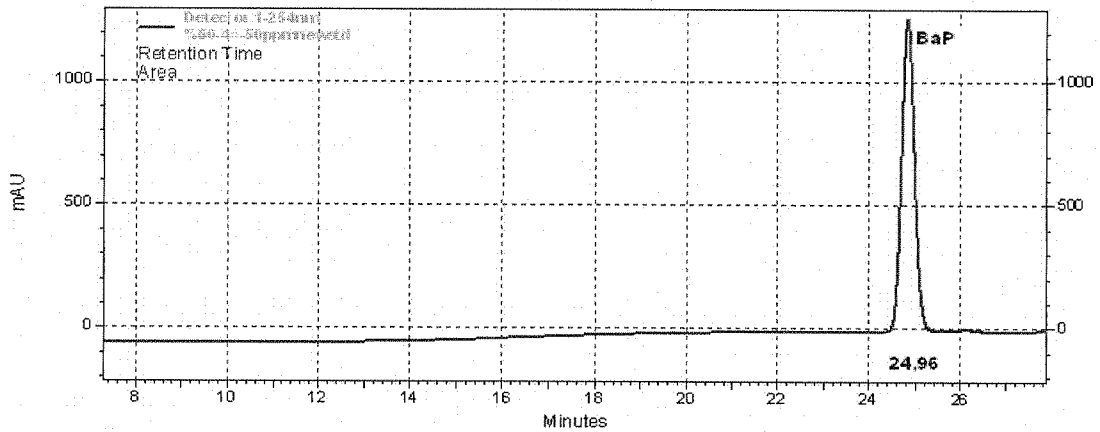
Şekil 4.2. PAH standartları karışımının HPLC kromatogramı

Tablo 4.1'de seçilen hareketli faz karışımında, BaP'in alıkonma zamanları verilmiştir. Bu metodlar ile 13 PAH içeren karışımın için en uygun gradiyent elüsyon

ilk 5 dakika asetonitril-su (60:40) karışımı sonra asetonitril ile sağlandı, daha sonraki analizlerde bu gradiyent elüsyon ile çalışmalar yapıldı. Şekil 4.3’de bu şartlarda BaP’ in HPLC kromatogramı verilmiştir. PAH standartları karışımı diklorometan-asetonitril (50:50) hareketli fazlarında pikler örtüştüğü için hareketli faz değiştirildi.

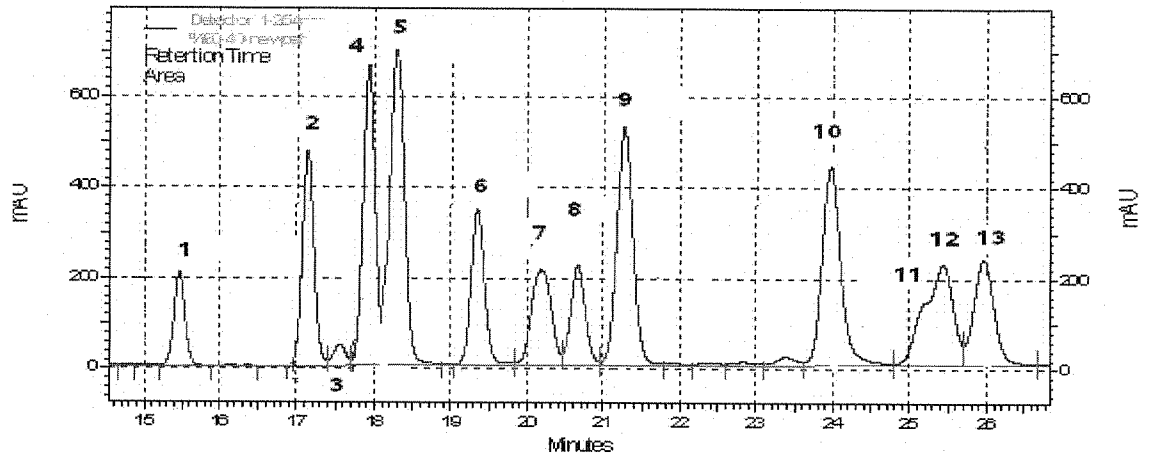
Tablo 4.1. HPLC’de denenen hareketli fazlar ve BaP’ in alıkonma zamanları

| Hareketli Fazlar ve Oranları | RT (dakika) |
|--|-------------|
| %100 asetonitril | 15.30 |
| asetonitril-su (70:30, v/v) | 41.15 |
| asetonitril-su (75:25, v/v) | 33.19 |
| diklorometan-asetonitril (50:50, v/v) | 9.30 |
| İlk 5 dakika asetonitril-su (60:40, v/v) +%100 asetonitril | 24.96 |

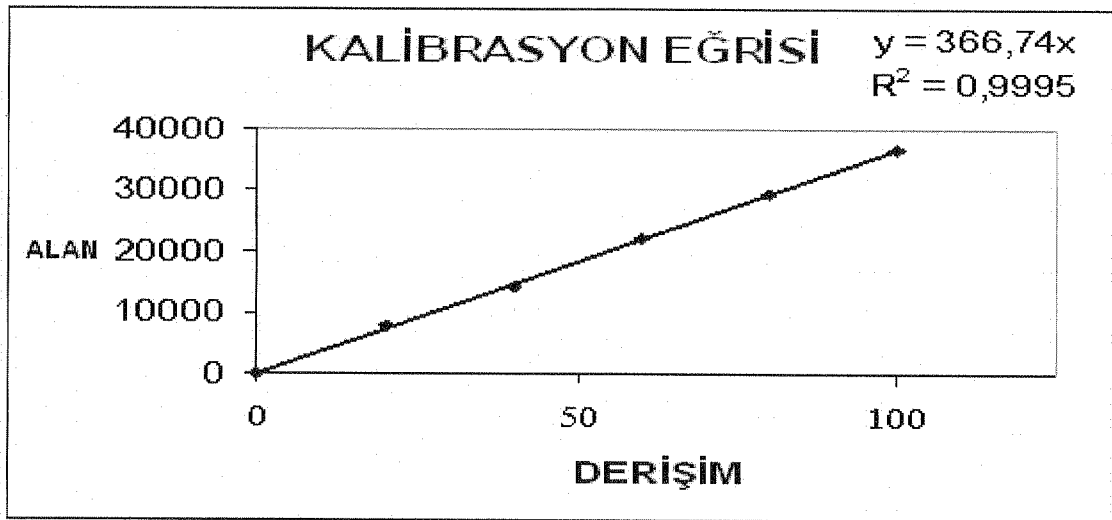


Şekil 4.3. 50 µg/kg’lık BaP standardı kromatogramı

Şekil 4.4’de 13 PAH pikinde gözlemlenebildiği gradiyent elüsyonun kullanıldığı HPLC kromatogramı verilmektedir. Bu kromatogramda BaP 25.96 dakikada elüe edildi ve tüm zeytinyağı analizlerinde bu gradiyent elüsyon kullanıldı. Biliyoruz ki bu programda diğer PAH’lar örtüşmemektedir. Şekil 4.5’de BaP’in 0-100 µg/kg’lık konsantrasyon aralığındaki kalibrasyon eğrisi verilmektedir.



Şekil 4.4. PAH standartları karışımının HPLC kromatogramı (1- Naphthalene, 2- Fluorane, 3- Acenaphthene, 4- Phenanthrene, 5- Anthracene, 6- Fluoranthene, 7- Pyrene, 8- Benzo(b)fluoranthene, 9- Chrysen, 10- Benzo (k) fluoranthene, 11- Dibenz (a,h) anthracene, 12- Dibenz (a,c) anthracene, 13- Benzo(a)pyrene)



Şekil 4.5. BaP'in 0-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'lık konsantrasyon aralığındaki kalibrasyon eğrisi

Uluslararası Zeytinyağı Konseyi, zeytinyağı ve pirina yağlarında BaP için maksimum seviye $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ olması gerektiğini belirtmiştir. Türk Gıda Kodeksinde ise katı ve sıvı yağlarda BaP için maksimum $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ sınır değer olarak belirlenmiştir. Aşağıda Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'te Ege Bölgesinden toplanan zeytinyağlarında bulunan BaP kirliliği verilmektedir. Sonuçlar gösteriyor ki, ister İzmir'den isterse Aydın'dan toplanmış sızma zeytinyağlarında, BaP içeriği gıda kodeksindeki limitlerden genellikle daha yüksektir.

Tablo 4.2. İzmir'den (Tire) toplanan zeytinyağları ve pirina yağlarındaki BaP miktarları ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

| Numune adı | BaP miktarı ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* |
|-----------------|--|
| İzmir Sızma 1 | 16.6 \pm 0.5 |
| İzmir Sızma 2 | 13.7 \pm 0.7 |
| İzmir Sızma 3 | 2.6 \pm 0.2 |
| * İzmir Sızma 4 | 19.2 \pm 0.6 |
| İzmir Sızma 5 | 16.9 \pm 0.9 |
| İzmir Sızma 6 | 14.7 \pm 0.3 |
| İzmir Sızma 7 | - |
| İzmir Sızma 8 | 3.9 \pm 0.3 |
| İzmir Sızma 9 | - |
| İzmir Pirina 1 | 42.5 \pm 1.7 |
| İzmir Pirina 2 | 45.3 \pm 1.3 |

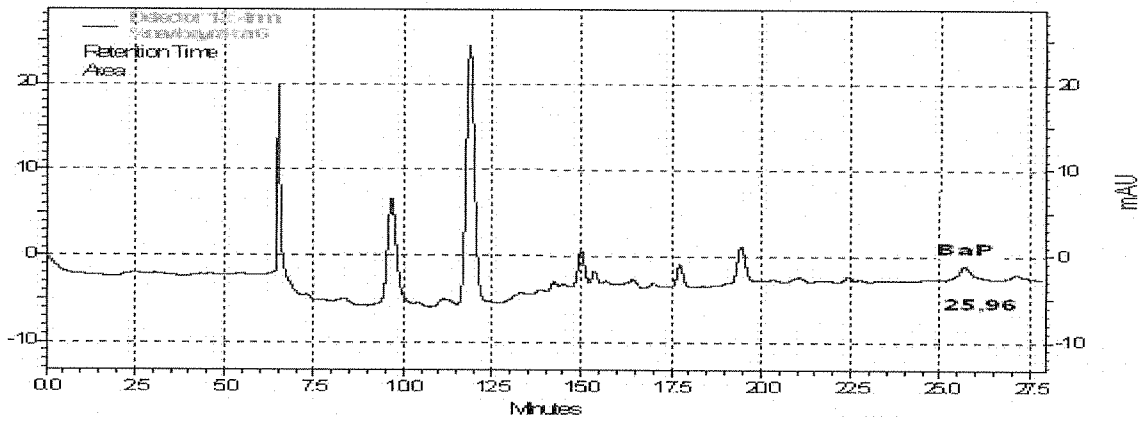
Tablo 4.3. Aydın'dan toplanan zeytinyağları ve pirina yağlarındaki BaP miktarları ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

| Numune adı | BaP miktarı ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* |
|-----------------|--|
| Aydın Riviera 1 | 3.0 \pm 0.3 |
| Aydın Riviera 2 | 13.7 \pm 0.5 |
| Aydın Sızma 1 | 36.1 \pm 1.1 |
| Aydın Sızma 2 | 12.9 \pm 0.6 |
| Aydın Sızma 3 | 7.1 \pm 0.4 |
| Aydın Sızma 4 | 6.8 \pm 0.2 |
| Aydın Sızma 5 | 27.9 \pm 1.4 |
| Aydın Sızma 6 | 13.6 \pm 0.4 |
| Aydın Sızma 7 | 3.0 \pm 0.2 |
| Aydın Sızma 8 | 17.0 \pm 0.8 |
| Aydın Sızma 9 | 18.6 \pm 0.5 |
| Aydın Sızma 10 | 14.2 \pm 0.6 |
| Aydın Sızma 11 | 16.9 \pm 0.7 |
| Aydın Sızma 12 | 5.7 \pm 0.5 |
| Aydın Sızma 13 | 6.6 \pm 0.2 |
| Aydın Sızma 14 | 34.3 \pm 1.7 |
| Aydın Sızma 15 | - |
| Aydın Pirina 1 | 33.1 \pm 1.9 |
| Aydın Pirina 2 | 57.8 \pm 2.3 |

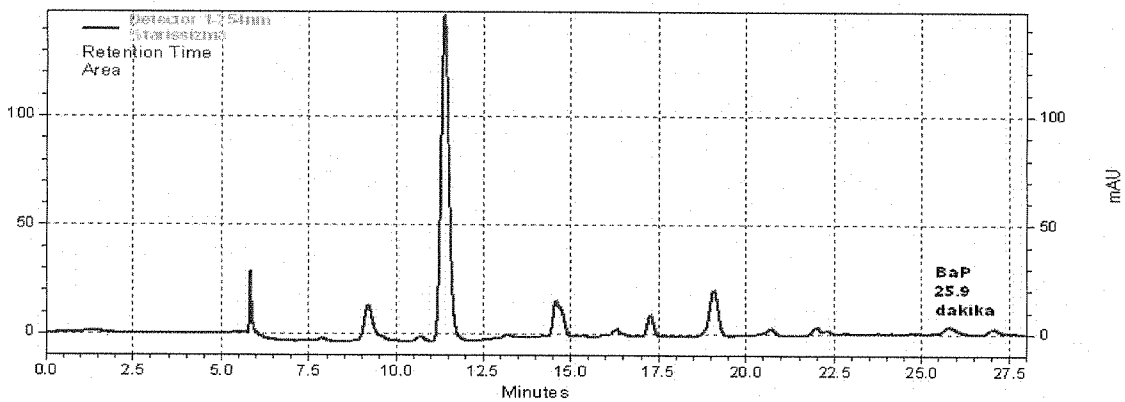
* Ortalama ve standart sapma değerleri (n=3)

Tablo 4.2 İzmir bölgesinden toplam 9 adet sızma yağ örneğinin sadece 3 tanesinde BaP miktarları Türk gıda kodeksinin limitlerinin altında bulunmuştur. Bu yağlarda en yüksek BaP oranı 19.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ile İzmir sızma 4 numunesinde bulunmuştur. İki prina yağında ise 42.5 ve 45.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BaP gözlenmiştir.

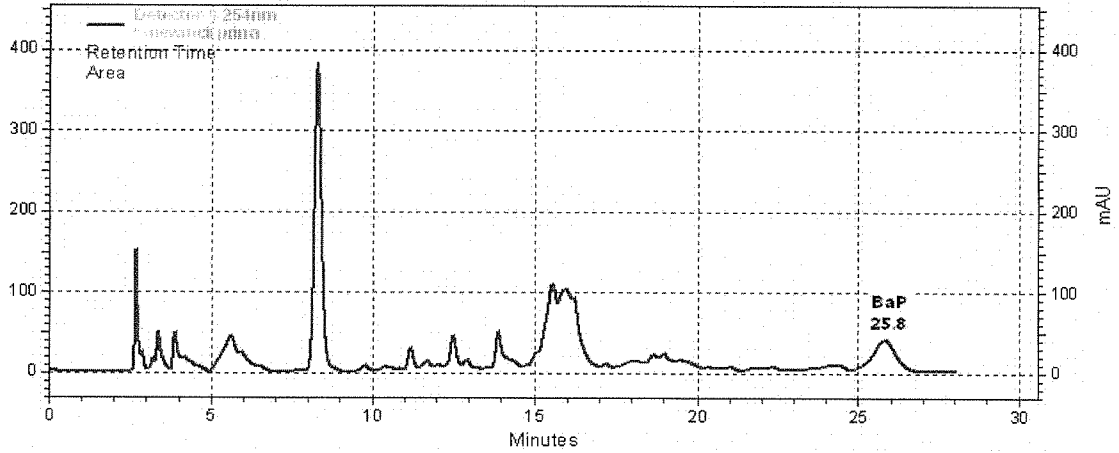
Tablo 4.3'de ise Aydın bölgesinin iki adet Riviera zeytin yağının birinde BaP limitlerin üzerinde bulundu. 15 adet sızma yağın beşi dışında BaP miktarları Türk gıda kodeksinin üzerinde bulunmuştur. Aydın Sızma 15 nolu numunede BaP tespit edilemezken, en yüksek BaP kirliliği 36.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ile Aydın sızma 1 numunesinde gözlenmiştir. Aydın bölgesinden toplanan sızma yağlarda ortalama 14.71 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BaP bulunurken, İzmir bölgesinden toplanan sızma yağlarda bu değer olarak 9.73 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bulundu. Aydın bölgesinin prina yağlarında 33.1 ve 57.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ile oldukça yüksek bulundu. Aşağıda Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8 de sırasıyla, İzmir sızma 4, Aydın sızma 11 ve Aydın prina 2 numunelerinin HPLC kromatogramları ve BaP pikleri işaretlenmiştir.



Şekil 4.6. İzmir sızma 4 nolu numunenin HPLC kromatogramı



Şekil 4.7. Aydın sızma 11 nolu numunenin HPLC kromatogramı



Şekil 4.8. Aydın pirina 2 nolu numunenin HPLC kromatogramı

Brezilya'da yapılan bir çalışmada, marketlerde satışı yapılan 40 çeşit zeytinyağı örneğinde, kanserojen PAH bileşikleri arasında en çok bilinen ve indikatör olarak kabul edilen BaP bileşiğinin varlığına bakılmıştır. Hemen hemen bütün örneklerde 164 $\mu\text{g/kg}$ 'a kadar BaP tespit edilmiştir. Avrupa ülkelerinden ithal edilen zeytinyağlarında BaP miktarı düşük bulunmuştur (0-1.2 $\mu\text{g/kg}$). Yine Avrupa'dan ithal edilen fakat Brezilya'da paketlenen ve soya yağı veya mısırözü yağı ile karıştırılmış zeytinyağı örneklerinde sırasıyla 0.9-9.7 $\mu\text{g/kg}$ ile 2.2-9.2 $\mu\text{g/kg}$ BaP tespit edilmiştir (Pupin ve Toledo 1996).

Genel bir sınıflandırma yapılamasa da İzmir bölgesinden toplanan yağlarda BaP miktarı Aydın bölgesinden toplananlara göre biraz daha düşük bulundu. Sonuçlar gösteriyor ki zeytinyağlarında BaP sınırları maksimumu değerlere yakın veya biraz da üstünde. Sadece 3 örnekte BaP tespit edilemedi. Pirina yağlarının tamamında 10 $\mu\text{g/kg}$ sınır değer aşılmış ve en yüksek değer 57.8 $\mu\text{g/kg}$ ile Aydın pirina 2 numunesinde bulunmuştur.

Sonuç olarak, Ege bölgesinden toplanan zeytinyağlarında BaP kirliliği 11 örnekte sınırların altında gözlenmiştir ve diğerleri Türk Gıda Kodeksi'nin maksimum 10 $\mu\text{g/L}$ sınır değerini aşmıştır. Pirina yağlarında ise 4 örnekte sınır aşılmıştır. Sonuçlar gösteriyor ki PAH'lar bir şekilde zeytinyağına karışıyor. Sızma yağlarında da genellikle limitlerin üzerinde BaP içeriklerinin bulunması çevre (otoyol kenarı, endüstri bölgesi) faktörlerinin de BaP kirliliğinde etkin olabileceğini göstermektedir.

Katı ve sıvı yağlarda toksik ve kanserojen olan BaP ve diğer PAH'lar incelenmeli ve bulunan değerlerin nereden gelebilecekleri araştırılmalıdır. Bazen marketlerde zeytinyağı isminde pirina yağları piyasaya sürülebilmektedir, bazen de zeytinyağı diğer yağlarla karıştırılarak piyasaya sürülmektedir. Bunlar basit analizlerle tespit edilebilir ve edilmelidir. Çünkü halkımız bu detayları bilmeden bu tür yağları marketlerden veya pazarlardan zeytinyağı adı altında alıp tüketebilmektedir ve bunları ne tür toksik kimyasallar içerebileceklerini bilmeden tüketmektedirler. Bu tür analizler rutin olarak bu tür tesislerde yapıldıktan sonra piyasaya sürülmelidir.

KAYNAKLAR

- Boskou, D. (1996) Olive Oil Composition, Olive Oil Chemistry and Technology, *Aristotle University Thessaloniki*, Greece, s. 53-79.
- Cejpek, K., Hajslova, J., Jehlickova, Z. and Merhaut J., (1995) Simplified Extraction and Cleanup Procedure for the Determination of PAHs in Fatty and Protein-Rich Matrices, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 61 (1): 65-80
- Cejpek, K., Hajslova, J., Kocourek, V., Tomaniova, M. and Cmolik, J., (1998) Changes in PAH Levels During Production of Rapeseed Oil, *Food Addi.Contam.*, 15(5): 563-574
- Dennis, M.J., Massey, R.C., Cripps, G., Venn, L., Howarth, N., and Lee, G., (1991), Factors Affecting the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Content of Cereals, Fats and Other Food Products, *Food Addi.Contam.*, 8(4): 517-30
- Griciute, L., (1979) Environmental Carcinogen Selected Methods of Analysis, Vol.3 Chapter 1-Carcinogenicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Editor H. Egan, *IARC Pub* No:29, Lyon
- Gülat, Ö., (1999) Türk Natürel Zeytinyağlarının Stigmasta -3,5-dien Niceliklerini Tespiti ve Natürel Zeytinyağına Katılan Rafine Zeytinyağının Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar., Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 2-21.
- Gümüşkesen, A., (1988) Deodorizasyon Şartlarının Pamuk Yağının Özelliklerine Etkileri, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 5-19.
- Gümüşkesen, A., ve Yemişçioğlu, F., (2003) Bitkisel Yağ Teknolojisi, *Ege Üniversitesi Basımevi*, İzmir, s. 65-102.
- Hopia, A., Pyysalo and H., and Wickström, K., (1986) Margarines, Butter and Vegetable Oils as a Source of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *JAOCS*, 63(7): 889-893
- Howard, J.W., and Fazio, T., (1980) Review of Polycyclicaromatic Hydrocarbons in Foods, *J. Assoc. Offic Anal. Chem.*, 63(5): 1077-1104
- Karaman, T., ve Dıraman, H., (2005) Zeytinyağı Teknolojisi Kursu *Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, İzmir, s. 3-13, 31-36
- Kaynak, G., (2001) Yağ Rafinasyonu Ağartma Ünitesindeki Yağın Bazı Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, s. 12-14

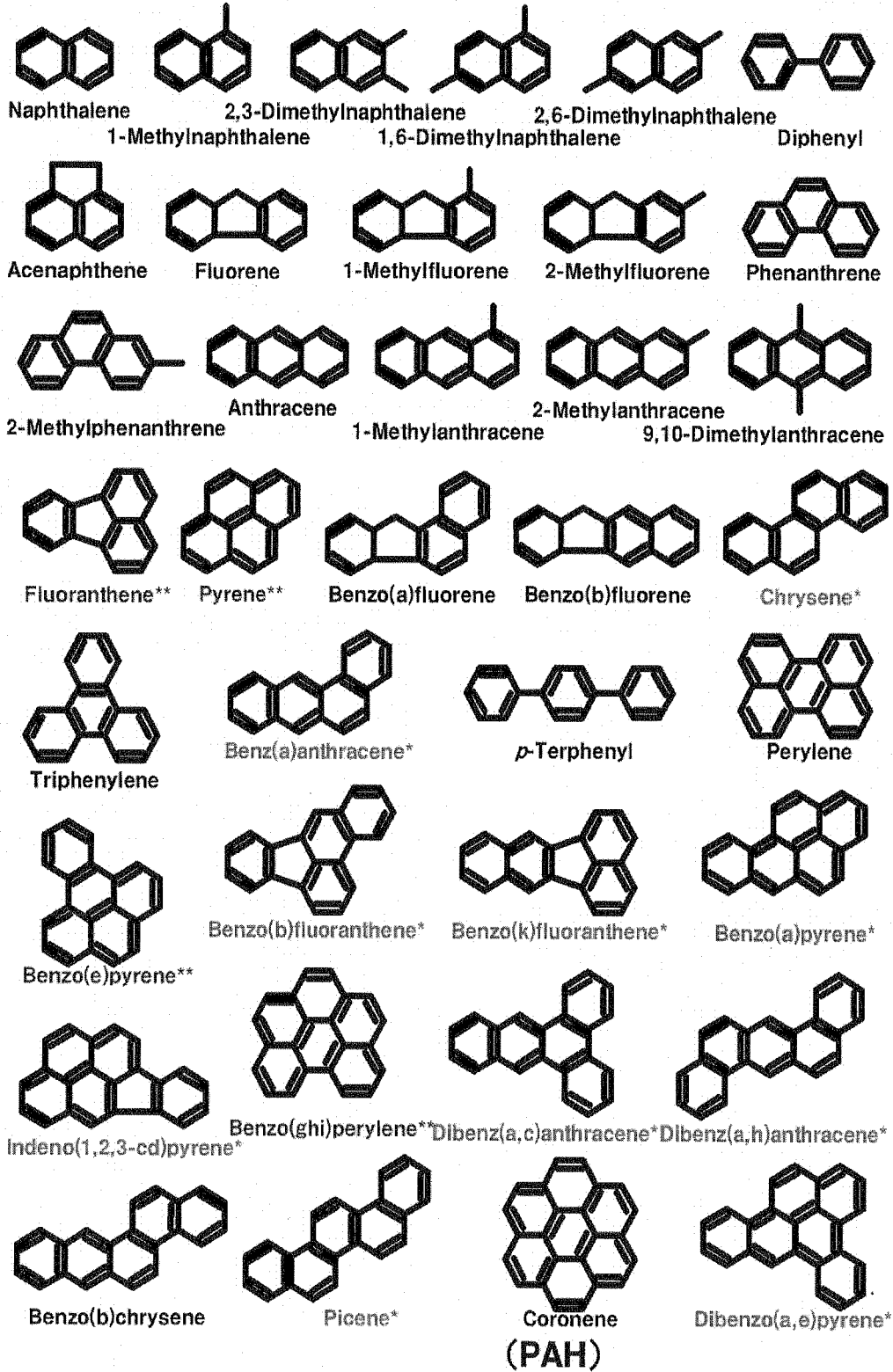
- Larsson, B.K., Eriksson, A., Cervenka, M., (1987) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Crude and Deodorized Vegetable Oils, *JAOCs*, 64(3): 365-370
- Menichini, E., Bocca, A., Merli, F., Ianni, D. and Monfredini, F., (1991) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Olive Oils on the Italian Markets, *Food Addi.Contam.* 8(3): 363-9
- Moreda, W., Perez-Camino, M.C., Cert, A., (2001) Gas and Liquid Chromatography of Hydrocarbons in Edible Vegetable Oils, *J. Chrom. A.*, 936: 159-171
- Moret, S., Conte, L.S., (2002) A Rapid Method for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Determination in Vegetable Oils, *J. Sep. Sci.*, 25(1-2): 96-100
- Nas, s., Gökalp, H., ve Ünsal, M., (2001) Bitkisel Yağ Teknolojisi, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Basımevi*, Denizli, s. 13, 118-151, 258-309
- Nergiz, C., ve Ünal, K., (1986) Lipitlerin Bozulması Üzerine Metallerin Etkisi, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 4(1): 89-96
- Nergiz, C., ve Ünal, K., (1989) Natürel Zeytinyağlarında Bulunan Fenolik Bileşikler ve Stabiliteye Olan Etkileri, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 7(2): 119-125
- Nergiz, C., (1989) Zeytinden Yağ Elde Etme Sistemlerinin Natürel Zeytinyağındaki Stabilitate ile İlgili Bileşiklerin Nicelik ve Niteliklerine Etkisi, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 5-19
- Nergiz, C., (1993) Rafinasyon İşleminin Natürel Zeytinyağıdaki Fenolik Bileşikler ile Tokoferol Miktarına Olan Etkisi, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 11(1): 37-44
- Pupin, A.M., Toledo, M.C., (1996) Benzo(a)pyren'in Olive Oils on the Brazilian Market, *Food Chem.*, 55(2): 185-188
- Skoog, D.A., West, D.M., and Holler, F.J., (1998) Analitik Kimya Temelleri, Cilt-1, *Bilim Yayıncılık*, Ankara, s. 725-730
- Speer, K., Steeg, E., Horstmann, P., Kühn, T., and Montag, A., (1990) Determination and Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Native Vegetable Oils, Smoked Fish Products, Mussels and Oysters and Bream from the River Elbe, *J. High Resolut. Chrom.*, 13: 104-111
- Szentpaly, L., (1984) Carcinogenesis by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Multilinear Regression on New Type PMO Indices, *J Am. Chem Soc.*, 106(20): 6021-6028
- Tibet, Ü., (1998) Zeytinyağında Uygulanan Kalite ve Saflık Kriterleri ile Uygulanan Analizler, *Gıda Dergisi*, 9: 50-53
- Tepe, Ş., Alparslan, M. Şimşek, O., (2000) Farklı Rafinasyon Tekniklerinin Ayçiçeği

Yağının Tokoferol Miktar ve Kompozisyonları Üzerine Etkilerinin HPLC ile Belirlenmesi, *Gıda ve Teknoloji Dergisi*, 3: 33-36

Ünal K., (1988) Tocopherols In Turkish Olive Oils, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 6(9): 131-135

Watson, D.H., (2001) Food Chemical Safety, Volume 1 ,Contaminants, *CRS Press*, s. 172-174

EK-1

PAH' ların Açık
Formüller

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Demirhan
Soyadı : ÇITAK
Doğum Yeri : TOKAT
Doğum Tarihi : 01/01/79
Mezuniyet : Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü,
 Mart,2003
Yabancı Dil : İyi derecede İngilizce

İş Tecrübesi

Güneş Tekstil : Vardiya Amirliği (9 Nisan-13 Temmuz 2003)
 Beyazköşe Tabldot : Sorumlu Müdürlük (3 Mayıs 2004-6 Temmuz 2006)

Projeler

| Proje adı | Destekleyen kurum | Yıl |
|--|-------------------|------|
| Zeytinyağları ve pirina yağlarına karışan kanserojen bir poliaromatik hidrokarbon olan benzo(a)piren' in incelenmesi | PAÜ-BAP | 2004 |

Bildiriler

D. Çıtak, H. A. Akdoğan, M. Z. Özel, Poster, Zeytin yağı ve prina yağındaki BaP kirliliğinin HPLC ile tespiti, XIX. Ulusal Kimya Kongresi, Kuşadası, Aydın, 30 Eylül-4 Ekim 2005,