

**T.C**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**  
**KİM-YL-2008-0001**

**KATIŞIKLI ZEYTİNYAĞLARINDA KATIŞTIRILAN  
YAĞ CİNSİ VE ORANININ FTIR SPEKTROSKOPİSİ VE  
KEMOMETRİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

**Tülin TAŞ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. A. Ersin KARAGÖZLER**

**AYDIN-2008**

**T.C**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Tülin TAŞ tarafından hazırlanan katışıklı zeytinyağlarında katıştırılan yağ cinsi ve oranının FTIR spektroskopisi ve kemometrik yöntemlerle belirlenmesi başlıklı tez, 21.01.2008 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Unvanı Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan: Prof. Dr. A. Ersin KARAGÖZLER	Adnan Menderes Üniversitesi	.....
Üye : Prof. Dr. Mustafa DEMİR	Adnan Menderes Üniversitesi	.....
Üye : Doç. Dr. Mustafa Zafer ÖZEL	Pamukkale Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun.....sayılı kararıyla.....tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ  
Enstitü Müdürü

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Adı Soyadı : Tülin TAŞ

İmza :

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### KATIŞIKLI ZEYTİNYAĞLARINDA KATIŞTIRILAN YAĞ CİNSİ VE ORANININ FTIR SPEKTROSKOPİSİ VE KEMOMETRİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Tülin TAŞ

Adnan Menderes Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Ersin KARAGÖZLER

Bu çalışmada, Aydın'daki yağ üretim fabrikalarından temin edilen saf zeytinyağı numuneleri ile yine benzer üretim yerlerinden alınan pamuk yağı, marketlerden temin edilen saf mısırrözü ve ayçiçeği yağı numunelerinin FTIR (Fourier Transform infrared) spektrometresinde spektrumları alınarak aradaki farklar incelenmiştir.

Daha sonra, zeytinyağı ile yukarıda bahsi geçen bitkisel yağların belirli oranlarda karışımları hazırlanmış ve her bir numune için 10 adet olmak üzere toplam 190 adet spektrum, SIMCA-P istatistik programı kullanılarak kemometrik yöntemlerden başlıca bileşen analizi modellemesi ile sınıflandırılmıştır. Saf yağlara ait infrared spektrumlardaki küçük farklara dikkat çekilmiş ve infrared spektrum ve kemometri ile saf yağların birbirinden kolayca ayrılabilirdiği gösterilmiştir. Ayrıca, başlıca bileşen analizinin zeytinyağının, diğer üç yağdan biri ve hacimce en az % 10 olmak koşulu ile, katışıklı olup olmadığını belirlemede etkin bir yöntem olduğu sergilenmiştir.

Saf yağlar ve zeytinyağına diğer yağların değişik hacim oranlarında katılmasıyla hazırlanan karışımlarda öz ağırlık, kırılma indisi, sabunlaşma sayısı, iyot sayısı ve peroksit sayısı tayinleri yapılmıştır. Katılan yağın miktarı ve ölçülen büyüklük arasında çizilen grafiklerde bu ilişkinin doğrusal olduğu gösterilmiştir. Grafiklerdeki doğruların eğimlerinin yön ve büyüklüğünden yararlanarak katışıklı zeytinyağlarında katılan yağ cinsinin belirlenmesi için gerekli koşullar tartışılmıştır.

**2008, 65 sayfa**

#### **Anahtar sözcükler:**

Zeytinyağı, tağışış, FTIR spektrometri, kemometri, başlıca bileşen analizi

**ABSTRACT**

M.Sc. Thesis

**IDENTIFICATION OF ADULTERANT OIL AND ITS RATIO IN  
ADULTERATED OLIVE OIL BY FTIR SPECTROSCOPY AND  
CHEMOMETRIC METHODS**

Tülin TAŞ

Adnan Menderes University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. A. Ersin KARAGÖZLER

In this study, the FTIR spectrums of samples of pure olive oil and cotton oil, both obtained from oil producers, and samples of corn oil and sunflower seed oil bought from local markets, were recorded and the discrepancies in the spectrums, although very small, of different oil types were specifically noted.

Additionally, olive oil samples were deliberately adulterated by adding the aforementioned vegetable oils at different volume ratios. For each mixture 10 IR spectrums were recorded, and hence, a total of 190 IR spectrums were obtained. The digitalized data of spectrums were analyzed by principal component analysis (PCA) using SIMCA-P statistical package program. It was shown that the pure oils could be neatly classified by PCA. Furthermore, PCA modeling was a very effective approach to show whether olive oil was adulterated by other vegetable oils, provided that the volume ratio of adulterant was at least 10 %.

Pure oils and olive oil-vegetable oil mixtures were then analyzed to determine their densities, refractive indices and the values of saponification, iodine and peroxide. Graphs were drawn to see the relation between the adulterant oil ratio and the magnitude of measured quantities. Relations were linear in each case, with correlation coefficients greater than 0.99. Then, the possibilities of and conditions for detecting the type of adulterant oil by examining the direction and magnitudes of the slopes of the lines were disansed.

**2008, 65 pages****Key Words:**

Olive oil, adulteration, FTIR spectrometry, chemometry, pricipal component analysis

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve bu tez çalışmam boyunca her türlü olanağı sağlayan, desteğini ve yardımını esirgemeyen, çalışmamın her anında bilgisi ve tecrübelerinden yararlandığım sevgili hocam Prof. Dr. Ersin KARAGÖZLER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, infrared spektrometresi cihazının kullanımı konusunda yardımlarından dolayı A.D.Ü Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı doktora öğrencisi Araş. Gör. Emrah GİZİROĞLU'na ,

Çalışmamın istatistik çalışmalar bölümünde büyük bir özveriyle benden yardımlarını esirgemeyen İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, öğretim elemanları Yard. Doç. Dr. Banu ÖZEN ve Yard. Doç. Dr. Figen TOKATLI'ya, yüksek lisans öğrencisi Araş. Gör. Gözde GÜRDENİZ'e

Öğrenim yıllarım boyunca maddi ve manevi her türlü yardımı içtenlikle yerine getiren çok sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 6.1 Saf zeytinyağına ait infrared spektrumu .....	31
Şekil 6.2 Saf ayçiçeği yağına ait infrared spektrumu .....	32
Şekil 6.3 Saf pamuk yağına ait infrared spektrumu .....	33
Şekil 6.4 Saf mısırözü yağına ait infrared spektrumu .....	34
Şekil 6.5 Farklı oranlarda (% 10, % 20, % 30, % 40, ve % 50) ayçiçeği yağı karıştırılmış zeytinyağı örneklerine ve saf zeytinyağına ait infrared spektrumlarının üst üste ayrıntılı gösterimi.....	35
Şekil 6.6 % 10 oranında pamuk yağı karıştırılmış zeytinyağına ait İnfrared spektrumu .....	36
Şekil 6.7 % 10 oranında mısırözü yağı karıştırılmış zeytinyağına ait İnfrared spektrumu .....	37
Şekil 7.1 Zeytinyağı, ayçiçeği yağı, mısırözü yağı ve pamuk yağı örneklerinin infrared spektrumları .....	40
Şekil 7.2 Zeytinyağı ve diğer saf yağların üst üste spektrumlarının ayrıntılı gösterimi .....	41
Şekil 7.3 Zeytinyağı ve ayçiçeği yağının PCA sınıflandırma modeli .....	42
Şekil 7.4 Zeytinyağı ve pamuk yağının sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli .....	43
Şekil 7.5 Mısırözü yağı ve zeytinyağı örneklerinin sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli .....	44
Şekil 7.6 Saf zeytinyağı örnekleri ile farklı oranlarda ayçiçeği yağı katıştırılmış zeytinyağı örneklerinin sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli .....	45

Şekil 7.7 Zeytinyağı ve pamuk yağı katıştırılmış zeytinyağı örneklerinin sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli .....	46
Şekil 7.8 Mısırözü katıştırılmış zeytinyağı ve saf zeytinyağı örneklerinin Sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli .....	47
Şekil 7.9 Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık öz ağırlık kalibrasyon grafiği.....	48
Şekil 7.10 Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık kırılma indisi kalibrasyon grafiği.....	49
Şekil 7.11 Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık sabunlaşma sayısı kalibrasyon grafiği .....	50
Şekil 7.12 Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık iyot sayısı kalibrasyon grafiği .....	51
Şekil 7.13 Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık peroksit sayısı kalibrasyon grafiği .....	52
Şekil 7.14 Zeytinyağının diğer üç yağla oluşturduğu karışımların, katıştırılan yağın miktarıyla değişen sabunlaşma, iyot ve peroksit sayılarının değişim eğim aralıklarının örtüşme deseni .....	55



**TABLolar DİZİNİ**

Tablo 3.1 Beklenen iyot sayısına göre alınacak numune miktarı .....	13
Tablo 3.2 Beklenen peroksit sayısına göre alınacak numune miktarı.....	14
Tablo 5.1 Deneylerde kullanılan kimyasallar .....	25
Tablo 5.2 Deneylerde kullanılan cihazlar .....	26
Tablo 6.1 Saf yağların ve katışıklı yağların klasik analiz sonuçları.....	38
Tablo 7.1 Zeytinyağının pamuk, ayçiçeği ve mısırözü yağlarıyla oluşturulan karışımlarının kalibrasyon grafiklerinin doğru denklemi, korrelasyon katsayısı, n=5 ve % 5 bağıl standart sapma varsayılarak hesaplanan mutlak standart sapma ile kalibrasyon doğrusu eğim değerinin % 95 güven aralığı .....	53

**EKLER DİZİNİ**

Ek 1 Zeytinyağına diğer yağların (mısırözü, pamuk ve ayçiçeği yağı) farklı oranlarda (% 20, % 30, % 40, % 50) karıştırılmasıyla elde edilen karışımların infrared spektrumları.....	60
---	----

## İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY SAYFASI .....	i
İNTİHAL BEYAN SAYFASI .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
TABLolar DİZİNİ .....	vii
EKLER DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. KURAMSAL TEMELLER .....	3
2.1. Zeytinyağının Sınıflandırılması ve Tanımlanması .....	3
2.1.1. Naturel Zeytinyağları .....	3
2.1.2. Rafine Zeytinyağı .....	4
2.1.3. Riviera Zeytinyağı .....	4
2.2. Zeytinyağı Bileşenleri .....	4
2.2.1. Major Bileşenler .....	4
2.2.2. Minör Bileşenler .....	5
2.3. Zeytinyağı ve İnsan Sağlığı .....	6
3. ZEYTİNYAĞI ANALİZLERİ VE ZEYTİNYAĞI TAĞŞIŞININ BELİRLENMESİ YÖNTEMLERİ .....	8
3.1. Türk Standartları Enstitüsü'ne Göre Zeytinyağında Yapılan Analizler..	8
3.1.1. Fiziksel Analizler .....	8
3.1.1.1. Özgül Ağırlık Tayini .....	8
3.1.1.2. Kırılma İndisi .....	9
3.1.2. Kimyasal Analizler .....	10
3.1.2.1. Sabunlaşma Sayısı Tayini .....	11
3.1.2.2. İyot Sayısı Tayini .....	12
3.1.2.3. Peroksit Sayısı .....	14
3.2. Konu İle İlgili Çalışmalar .....	15
3.2.1. İnfrared Spektroskopisi Kullanılarak Yapılan Çalışmalar .....	16
3.2.2. Kromatografik metotlar Kullanılarak Yapılan Çalışmalar .....	19

3.2.3. Florimetrik Metotlarla Yapılan Çalışmalar .....	20
3.2.4. Kütle Spektrometresiyle Yapılan Çalışmalar .....	21
4. KEMOMETRİ-FAKTÖRİYEL METOTLAR .....	22
4.1. Başlıca Bileşen Analizi .....	22
5. METERYAL VE YÖNTEM .....	25
5.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar .....	25
5.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar.....	26
5.3. İşlemler .....	26
5.3.1. Yağ Örneklerinin Hazırlanması .....	26
5.3.2. İnfrared Spektrofotometresi İle Ölçümler .....	27
5.3.3. Klasik Analizler .....	27
5.3.3.1. Fiziksel Analizler .....	27
5.3.3.2. Kimyasal Analizler .....	28
6. BULGULAR .....	30
6.1. İnfrared Spektrofotometrisi Sonuçları .....	30
6.2. Yağda Klasik Analiz Sonuçları .....	38
7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	39
7.1. FT-İnfrared Spektrofotometresi Sonuçları .....	39
7.2. Yağlara Uygulanan Klasik Analiz Sonuçları .....	48
7.2.1. Öz Ağırlık.....	48
7.2.2. Kırılma İndisi.....	40
7.2.3. Sabunlaşma Sayısı.....	50
7.2.4. İyot Sayısı.....	51
7.2.5. Peroksit Sayısı.....	52
KAYNAKLAR.....	58
EKLER .....	60
ÖZGEÇMİŞ .....	66

## 1. GİRİŞ

Pek çok gıda maddesinde olduğu gibi bazı üreticiler daha fazla kâr amacıyla, doğal veya diğer zeytinyağlarına (rafine veya riviera tipi) nispeten daha ucuz olan diğer bitkisel yağlardan değişik oranlarda katarak piyasaya sürmektedirler. Katıştırma esas olarak kâr amacıyla yapılırsa da yağın kalitesi (tadı ve aroması) bozulmakta ve ayrıca tağış edilmiş yağlar sağlık açısından problemlere neden olabilmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği uyarınca hazırlanan tebliğe göre<sup>1</sup> yemeklik zeytinyağlarındaki saflık kriterleri: yoğunluk, kırılma indisi, sabunlaşma sayısı ve iyot sayısıdır. Zeytinyağına en çok katıştırılan yağ, ayçiçeği yağıdır. Ancak, mesela kırılma indislerine bakılarak katıştırılan ayçiçeği yağının tayin edilebilen oranı en az %25 olabilmektedir.

Zeytinyağında bulunan başlıca asitler: palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asitlerdir. Zeytinyağına diğer bitkisel yağların karıştırılıp karıştırılmadığı, yağın metilasyonundan sonra gaz-sıvı kromatografi (GC) analizi ile anlaşılabilir. Yağ asitlerinin gliserin ile oluşturdukları trigliseritlerin miktarları ve kendi aralarındaki oranları ise yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlenebilmekte ve bu veriler kullanılarak zeytinyağına başka bir yağın karıştırılıp karıştırılmadığı belirlenebilmektedir (Diaz *et al.*, 2004).

Ancak, GC metilasyon gibi türevlendirme işlemleri gerektirmektedir. HPLC ise pahalı ve zaman alıcı bir yöntemdir. Bu nedenle hileli zeytinyağlarının tespitinde daha hızlı ve daha pratik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda bu amaçla öne çıkmakta olan teknik infrared spektrofotometrisidir (Christy *et al.*, 2004).

Bu çalışmada bölgesel üreticilerden ve Devlet kuruluşlarından elde edilen, niteliği belli zeytinyağları ile bunlara belli oranlarda katıştırılmış diğer bitkisel yağlarla hazırlanan sentetik karışımların FTIR spektrumları alınarak başlıca bileşen analizi yöntemi ile yağlar kemometrik olarak sınıflandırılıp, katıştırılan yağın cinsi ve oranını belirlemeye yarayacak bir yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. ZEYTİNYAĞININ TANIMI ve SINIFLANDIRILMASI<sup>1</sup>

Sadece zeytin ağacı meyvelerinden elde edilen yağlardır. Çözücü kullanılarak ekstrakte edilen veya reesterifikasyon işlemi görmüş (natürel trigliserit yapısı değiştirilmiş) yağlar ve diğer bitkisel yağlarla karışım bu tanımın dışındadır.

#### 2.1.1. Natürel Zeytinyağları

Zeytin ağacı meyvesinden doğal niteliklerinde değişikliğe neden olmayacak bir ısı ortamında, sadece yıkama, sızdırma, santrifüj ve filtrasyon işlemleri gibi mekanik veya fiziksel işlemler uygulanarak elde edilen, berrak, yeşilden sarıya değişebilen renkte, kendine özgü tat ve kokuda olan, doğal halinde gıda olarak tüketilebilen yağlardır. Natürel zeytinyağları içerdiği serbest yağ asidi miktarına bağlı olarak aşağıdaki gibi sınıflandırılır.

**Natürel Sızma Zeytinyağı:** Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 1,0 gramdan fazla olmayan yağlardır.

**Natürel Birinci Zeytinyağı:** Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 2,0 gramdan fazla olmayan yağlardır.

**Natürel İkinci Zeytinyağı:** Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 3,3 gramdan daha fazla olmayan yağlardır.

---

<sup>1</sup> “Türk Standardı TS 341” (Nisan 2004-ICS 67.200.10)

### 2.1.2. Rafine Zeytinyağı

Zeytin ham yağının doğal trigliserit yapısında değişikliğe yol açmayan metotlarla rafine edilmeleri sonucu elde edilen, sarının değişik tonlarında rengi olan, kendine özgü tat ve kokuda olan bir yağdır. Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 0,3 gramdan fazla olmamalıdır.

### 2.1.3. Riviera Zeytinyağı

Rafine Zeytinyağı ile gıda olarak doğrudan tüketilebilecek natürel zeytinyağları karışımından oluşan yeşilden sarıya değişen renkte, kendine özgü tat ve kokuda bir yağdır. Serbest yağ asitliği oleik asit cinsinden her 100 gramda 1,5 gramdan fazla olmamalıdır.

## 2.2. ZEYTİNYAĞI BİLEŞENLERİ<sup>1</sup>

### 2.2.1 Major Bileşenler

Bu bileşenler sabunlaşan maddelerdir ve zeytinyağında % 99 oranında bulunurlar. Bunlar yağ asitleri ve gliseritlerdir.

#### Yağ Asitleri

- Oleik Asit (%56 – 83)
- Linoleik Asit (% 3,5 – 20)
- Palmitik Asit (%7,5 – 20)
- Stearik Asit (% 0,5 – 5,0)
- Linolenik Asit (% 1,5'den az)

---

<sup>1</sup> Characteristics of the composition of olive oil (Anonymous, 1981)



## Gliseritler

- OOO (Oleik Asit – Oleik asit – Oleik Asit)
- POO (Palmitik Asit – Oleik Asit – Oleik Asit)
- OOL (Oleik Asit – Oleik Asit – Linoleik Asit)
- POL (Palmitik Asit – Oleik Asit – Linoleik Asit)
- SOO (Stearik Asit – Oleik Asit – Oleik Asit)

## 2.2.2. Minör Bileşenler

Bu bileşenler sabunlaşmayan bileşenlerdir ve zeytinyağında % 1 oranında bulunurlar. Bunlar.

- Alfa Tokoferol (Vitamin E) (12 – 150 mg/kg)
- Steroller (180 – 260 mg/100 g yağ) (beta-sitosterol %96, campasterol %3, stigmasterol % 1)
- Fenolik Bileşenler (30 – 500 mg/kg) (tyrisol ve hidroksityrisol)
- Hidrokarbonlar (squalen 136 – 708 mg/100 g yağ, beta-karoten 3 – 36 mg/100 g yağ)
- Triterpenik Alkoller (Siklo-artenol 255 mg/100 g zeytinyağı)
- Alifatik Alkoller (290 mg/100 g zeytinyağı)
- Fosfolipitler (40 – 135 mg/kg)
- Renk Vericiler (klorofiller 1-10 mg/kg, feofitinler 0,2 – 24 mg/kg)
- Aroma Bileşenleri (250 – 500 mg/kg)

### 2.3. ZEYTİNYAĞI ve İNSAN SAĞLIĞI<sup>1</sup>

Zeytinyağı; vücut için gerekli ancak sentez edilemeyen temel yağ asitleri ile sadece yağda çözünebilen E vitamininin kaynağıdır ve işlem görmeden doğal olarak tüketilebilen tek yağ türüdür.

Zeytinyağı kalp damar hastalıklarında temel risk faktörü olan kolesterolün, damar tıkanıklığına yol açan “LDL” bileşimini azaltmaktadır. Bunun yanında yararlı ve koruyucu olan “HDL” bileşimini değiştirmemektedir. Bu özelliği ile kalp sağlığı açısından en uygun yağdır.

Zeytinyağı sıcak veya soğuk tüketildiğinde mide asitliğini azaltması sebebiyle gastrit veya duodenal ülserlere karşı korumaktadır.

Zeytinyağı safra salgısını canlandırıcı, safra kompozisyonunu düzenleyici ve safra kesesinin boşalmasını sağlayıcı özellikleri nedeni ile safra taşı riskini azaltmaktadır ve taşların çözünmesine yardımcı olmaktadır.

Bağırsaklar tarafından en iyi emilen yağdır ve bağırsaklardan geçişi düzenleyici özelliği vardır. Tüm yağlar arasında en dengeli kimyasal pozisyona sahip olduğundan kemik mineralizasyonunun iyileşmesini sağlamaktadır ve normal kemik gelişimine yardımcı olmaktadır.

Zeytinyağında yaklaşık % 56-83 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.

<sup>1</sup> Zeytinyağı ve Sağlık (S.S. TARİŞ Zeytin ve Zeytinyağı Tarım Satış Kooperatifleri Birliği 2007)

Zeytinyağı aynı zamanda dokuların yaşlanmasını önlemekte ve yaşlanmanın beyin fonksiyonları üzerindeki yıpratıcı etkisini azaltmaktadır.

### **3. ZEYTİNYAĞI ANALİZLERİ VE ZEYTİNYAĞI TAĞŞİSİNİN BELİRLENMESİ YÖNTEMLERİ**

#### **3.1. TÜRK STANDARTLARI ENSTİTÜSÜ'NE GÖRE ZEYTİNYAĞINDA YAPILAN ANALİZLER**

##### **3.1.1. Fiziksel Analizler**

Türk Standartları Enstitüsü'ne göre zeytinyağında aşağıdaki fiziksel analizler yapılmaktadır.

Görünüş

Özgül Ağırlık

Kırılma İndisi

Uçucu Madde Tayini

Eterde Çözünmeyen Madde İle Kül Tayini

Bu analizlerden bu tez çalışmasında yer alanlar özgül ağırlık ve kırılma indisi tayinleridir.

##### **3.1.1.1. Özgül Ağırlık Tayini**

20 °C'de belirli hacimdeki yağ ağırlığının aynı sıcaklık ve hacimdeki saf suyun ağırlığına oranıdır.

##### Cihazlar

Su banyosu, 20 °C'ye ayarlanabilen,

Termometre, 0,2 °C veya daha küçük taksimatlı,

Özgül ağırlık şişesi veya piknometre, en az 25 mL hacimli.

### İşlem

Özgül ağırlık şişesi veya piknometre iyice yıkanır, kurutulur ve kapalı olarak darası alınır. Yeni kaynatılmış ve soğutulmuş damıtık su ile hava boşluğu kalmayacak şekilde doldurularak 20 °C'ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirilir, içindeki suyun 20 °C'ye gelmesi beklenir ve kılcal borunun bu sıcaklıkta tamamen dolu olmasına veya suyun hacminin belirli işarete gelmesine dikkat edilir. Özgül ağırlık şişesi veya piknometre banyodan çıkarılır, dışı ve belirli işaretin üst kısmı dikkatle kurutulur, kısa bir süre bekletilerek tartılır.

Özgül ağırlık şişesi veya piknometre boşaltılır ve kurutulur. Damıtık su yerine tayini yapılacak yağ kullanılarak aynı işlem tekrarlanır.

### Hesaplama

$$\text{Özgül ağırlık} = m/m_1$$

Burada;

$m_1$ : Suyun 20 °C'deki ağırlığı, g.

m: Aynı hacim yağın 20 °C'deki ağırlığı, g.

#### **3.1.1.2. Kırılma İndisi**

Bir ortamın kırılma indisi ışığın boşluktaki hızının bu ortamdaki hızına oranıdır. Bu oran, havadan numune ortamına giren ışık demetinin düşey düzlemle meydana getirdiği havadaki ve bu ortamdaki açılarının sinüslerinin oranı olarak ölçülür. Kırılma indisi genellikle beyaz ışıkla ölçülür ve kompensatör yardımı veya bir değiştirme tablosu ile sodyumun D çizgisine ( $\lambda=589$  nm) göre düzeltilerek belirtilir ve işaret olarak mesela " $n_D^{20}$ " kullanılır. Bu işaretle n, kırılma indisini; D, indisin sodyumun D çizgisine göre verildiğini, 20 ise ölçümün 20 °C'de yapıldığını gösterir.

### Cihaz

Refraktometre, duyarlı olarak  $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  veya  $40\text{ }^{\circ} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanabilen, sodyumun D ışığına göre taksimatlı veya butirorefraktometre.

### İşlem

İki prizma arası numune ile tamamen doldurulur. Sıcaklığın en az beş dakika süre ile değişmemesi sağlandıktan sonra kırılma indisi okunur. Okumanın yapıldığı sıcaklık standart sıcaklıktan değişik ise, aşağıdaki düzeltme yapılmalıdır.

$$n^t = n^{t_1} + (t_1 - t) F \quad (t_1, t \text{ den büyük ise})$$

$$n^t = n^{t_1} - (t_1 - t) F \quad (t_1, t' \text{ den küçük ise})$$

Burada;

t: standart sıcaklık (20 veya 40 °C)

t<sub>1</sub>: okumanın yapıldığı sıcaklık, °C

n<sup>t</sup>: standart sıcaklıktaki kırılma indisi

n<sup>t<sub>1</sub></sup>: okunan kırılma indisi

F: 20 °C civarında 0,00035, 40 °C ve yukarısında 0,00036 değerinde olan düzeltme katsayısı

### **3.1.2. Kimyasal Analizler**

Türk Standartları Enstitüsü'ne göre zeytinyağında yapılan kimyasal analizler şunlardır:

Sabunlaşma Sayısı Tayini

İyot Sayısı Tayini

Krismer Sayısı

Sabunlaşmayan Madde Tayini

Araşidik asit ve Daha Yüksek Yağ Asitleri Miktarı Tayini (Evers Deneyi)

Serbest Yağ Asitleri Tayini  
Peroksit Sayısı Tayini  
Sabun Miktarı Tayini  
Demir Miktarı Tayini  
Bakır Miktarı Tayini  
Yabancı Yağ Arama Deneyleri  
Antioksidan Deneyleri

Bu tez çalışmasında yapılan zeytinyağı kimyasal analizleri sabunlaşma sayısı, peroksit sayısı ve iyot sayısı tayinleridir.

### **3.1.2.1. Sabunlaşma Sayısı Tayini**

Sabunlaşma sayısı 1 g yağın sabunlaşması için gerekli olan potasyum hidroksitin mg olarak ağırlığıdır.

#### Cihaz

Cam balon, alkaliye dayanıklı, 200 mL'lik, ağız traşlı bir geri soğutucuya takılabilir.

#### Reaktifler

Fenolftalein çözeltisi, % 1'lik, % 95'lik (hacim/hacim) 100 mL etanolda 1 g fenolftalein çözerek hazırlanmış,

Etanollü potasyum hidroksit çözeltisi, yaklaşık 0,5 N,

Hidroklorik asit çözeltisi, 0,5 N sulu çözelti, ayarlı.

#### İşlem

2 g kadar numune 0,001 g duyarlıkta balonun içinde tartılır, üzerine tam 25 mL ayarlı potasyum hidroksit çözeltisi katılır, geri soğutucuya bağlanır, zaman zaman karıştırılmak suretiyle yavaşça kaynatılır. 60 dakika kaynatıldıktan sonra 4 veya 5

damla fenolftalein çözeltisi katılarak sıcak sabun çözeltisi hidroklorik asit çözeltisi ile titre edilir. Etanollu potasyum hidroksit çözeltisi ile bir tanık deney de yapılır.

### Hesaplama

$$\text{Sabunlaşma sayısı} = V_2 - V_1/m \times 28,05$$

Burada;

$V_1$ : numune ile yapılan deney için harcanan 0,5 N hidroklorik asit çözeltisi.

$V_2$ : tanık deney için harcanan 0,5 N hidroklorik asit çözeltisi.

$m$ : numune ağırlığı, g.

### **3.1.2.2. İyot Sayısı Tayini**

İyot sayısı yağların doymamışlık ölçüsü olup uygulamada ağırlık olarak yüz kısım yağın bağladığı iyodun ağırlığı olarak belirtilir.

### Cihazlar

Cam tartım kaşıkları,

Cam şişeler, geniş ağızlı, cam kapaklı, 300 mL,

Büret, 50 mL.

### Reaktifler

Potasyum iyodür çözeltisi, % 10'luk (ağırlık/hacim) sulu çözelti, içinde serbest iyot ve iyodat bulunmamalıdır,

Sodyum tiyosülfat çözeltisi 0,1 N ayarlı,

Buzlu asetik asit, saf, içinde etanol ve oksitlenebilen madde bulunmamalıdır,

Karbon tetraklorür, saf, içinde oksitlenebilen madde bulunmamalıdır,

Nişasta çözeltisi, % 1'lik.

Wijs reaktifi



**Tablo 3.1.** Beklenen iyot sayısına göre alınacak numune miktarı

Beklenen iyot sayısı	Alınacak numune miktarı, g
5'e kadar	3,00
5 – 20	1,00
21 – 50	0,60
51 – 100	0,30
101 – 150	0,20
151 – 200	0,15

### İşlem

Çizelge 1 de belirtilen miktardaki numune 0,001 g duyarlılıkla cam tartım kaşığı içinde tartılır ve kaşık 300 mL'lik şişeye yerleştirilir. Yağın çözünmesi için 15 mL karbon tetraklorür ve tam 25 mL Wijs reaktifi katılarak cam kapakla şişe kapatılır, yavaşça çalkalanır ve karanlık bir yere bırakılır, 1 saat beklenir. Bu sürenin sonunda 20 mL potasyum iyodür çözeltisi ve 150 mL su katılır, 0,1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile nişasta çözeltisine karşı çok kuvvetli çalkalanarak titre edilir ve mavi rengin hemen kaybolmasına kadar titrasyona devam edilir. Aynı zamanda tanık deney yapılır.

### Hesaplama

$$\text{İyot Sayısı} = V_2 - V_1 / m \times 1,269$$

Burada;

$V_2$ : Tanık deney için harcanan 0,1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi.

$V_1$ : Numune ile yapılan deney için harcanan 0,1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi.

m: numune ağırlığı, g.

### 3.1.2.3. Peroksit Sayısı

Peroksit sayısı yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının ölçüsü olup 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin miliekivalangram olarak miktarıdır.

#### Cihazlar

Cam tartım kaşığı, 3 mL,

Cam kapaklı şişeler, 250 mL.

#### Reaktifler

Kloroform, saf,

Asetik asit, buzlu,

Potasyum iyodür çözeltisi, doymuş,

Sodyum tiyosülfat çözeltisi, 0,002 N veya 0,01 N, ayarlı,

Nişasta çözeltisi.

**Tablo 3.2.** Beklenen peroksit sayısına göre alınacak numune miktarı

Beklenen Peroksit Sayısı	Alınacak Numune Miktarı, g
5'e kadar	2,0
5 – 10	1,6
11 – 15	1,4
16 – 20	1,2
21 – 30	1,0

### İşlem

Çizelge 2 de belirtilen miktarda numune 0,001 g duyarlılıkla cam tartım kaşığına tartılır ve şişelerden birisi açılarak tartım kaşığı şişe içine yerleştirilir. 10 mL kloroform katıldıktan sonra şişe hızla çalkalanarak yağ çözülür ve sıra ile 15 mL asetik asit 1 mL potasyum iyodür çözeltisi katılır. Şişe hemen kapatılarak 1 dakika çalkalanır ve 5 dakika karanlıkta tutulur. 75 mL su katıldıktan sonra serbest hale geçen iyot, nişasta çözeltisine karşı beklenen peroksit sayısı 12,5 den az ise, 0,002 N, 12,5 veya daha çok ise 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilir.

Aynı zamanda numune kalmaksızın yapılan tanık deney sonucunda serbest iyot eseri bulunmamalıdır.

### Hesaplama

Peroksit sayısı =  $V / m \times 2$  bir kg yağda miliekivalangram peroksit oksijeni olarak,

Burada;

V: titrasyonda harcanan 0,002 N veya 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi, mL.

m: numunenin ağırlığı, g.

## **3.2. LİTERATÜRDE KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR**

Zeytinyağı tağşişinin belirlenmesi yönünde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda farklı cihazlar kullanılarak doğruluğu en yüksek ve daha az zaman alıcı bir yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu konu kapsamında FTIR, HPLC, GC-MS (gaz kromotografisi-kütle spektrometrisi), lüminesans spektroskopisi gibi yöntemler kullanılmıştır.

### 3.2.1. Infrared Spektroskopisi Kullanılarak Yapılan Çalışmalar

2001'de yapılan bir çalışmada, 32 farklı saf zeytinyağı ve 7 farklı bitkisel yağ (kanola yağı, ceviz yağı, ayçiçeği yağı, soya yağı, fıstık yağı, mısır yağı ve susam yağı) örnekleri toplanmıştır. Zeytinyağı ve ayçiçeği yağı farklı oranlarda karıştırılarak (20 – 100 mL ayçiçeği yağı/1 L zeytinyağı) 17 sentetik karışım hazırlanmış ve 32 saf zeytinyağı örneği ile birlikte FTIR spektrumları alınmıştır. Çalışmanın ikinci kısmında 32 farklı zeytinyağı ve diğer bitkisel yağlar FTIR spektrumları alınarak karşılaştırılmış ve sınıflandırılmışlardır. Yağ örnekleri bir ZnSe (çinko selenyum) ATR kristaline damlatılmıştır. Bu şekilde 128 tarama yapılarak bunların ortalaması alınmış ve zemin ölçümleri her örnekte tekrarlanmıştır. Sonuçlar PLS (Partial Least Squares = kısmi en küçük kareler) kemometrik analiz yöntemi kullanılarak sınıflandırılmaya çalışılmıştır. Geliştirilen model 20 mL bitkisel yağ/1 L zeytinyağı karışımlarını % 100 doğrulukla sınıflandırabilmiştir (Tay *et al.*, 2001).

Jaswir ve arkadaşları infrared spektroskopisini ve kısmi en küçük kareler istatistiğini katı yağların tağışının belirlenmesinde kullanmıştır. Bu çalışmada domuz yağına karıştırılması muhtemel küçükbaş ve büyükbaş katı yağların varlığı ve katışma oranı FTIR ile kısmi en küçük kareler regresyonu kullanılarak belirlenmiştir (Jaswir *et al.*, 2003).

2004'de Avusturya'da yapılan bir başka çalışmada, Avusturya kabak çekirdeği yağı örnekleri (80 adet) eksperler tarafından duyuşal olarak sınıflandırıldıktan sonra aynı yağ örneklerinin UV-VİS (ultraviyole görünür bölge), NIR (yakın infrared ) ve FTIR spektrumları elde edilmiş; korelasyon analizi, başlıca bileşen analizi ve lineer diskriminant analizi yöntemleri kullanılarak yağlar sınıflandırıldığında, duyuşal sınıflandırma ile kemometrik sınıflandırmanın % 100 uyuştuğı gösterilmiştir (Lankmayr *et al.*, 2004).

Yine 2004'de yapılan ve yenilebilir sıvı ve katı yağların tür ve katışıklı olma durumunu belirlemek üzere FTIR, FT-NIR ve FT-RAMAN spektroskopik tekniklerinin karşılaştırıldığı bir diğer çalışmada lineer diskriminant analizi (LDA) ve kanonik varyant analizi (CVA) kemometrik teknikleri kullanılmıştır. Bu çalışmada, FTIR spektroskopisinin % 98 sınıflandırma doğruluğu ile bu üçünden en iyi metot olduğu gösterilmiştir (Yang *et al.*, 2004).

Aynı yıl içerisinde Japonya'da yapılan bir çalışmada soya yağı, ayçiçeği yağı, mısır yağı, ceviz yağı ve fındık yağı ile karıştırılan zeytinyağının sınıflandırılması ve tağışış oranının belirlenmesi için yeni bir prosedür geliştirilmiştir. Çalışma, farklı yağların farklı miktarlarıyla karıştırılmış zeytinyağının yakın infrared spektrumu verilerinin kemometrik analizine dayanmaktadır. Yapılan deneysel çalışmada 4 mm'lik quartz küvetler kullanılmıştır ve bunlara ilk olarak saf zeytinyağı olmak üzere değışen gravimetrik oranlarda karışımlar hazırlanarak doldurulmuştur. Bu şekilde 525 karışım hazırlanmıştır. Bu karışımların 12000 – 4000  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında ölçümleri yapılmıştır. Spektrum verileri kullanılarak PCA (principle component analysis=başlıca bileşen analizi) ve PLS modelleri oluşturulmuştur. Bu modellerle mısır yağının, ayçiçeği yağının, soya yağının, ceviz yağının ve fındık yağının zeytinyağındaki karışım oranları  $\% \pm 0,57$ ,  $\% \pm 1,32$ ,  $\% \pm 0,96$ ,  $\% \pm 0,56$  ve  $\% \pm 0,57$  kütle/kütle hata sınırıyla tahmin edilebilmiştir. Böylece tağışış edilmiş bir zeytinyağı örneğinin niteliğı ve niceliğı hakkında neredeyse % 100 tahmin edilebilir sonuçlar verebilen modeller geliştirilmiştir (Christy *et al.*, 2004).

2005'de infrared spektroskopisi tekniğinin başka bir teknikle kıyaslanması amacıyla yapılan bir çalışmada rafine yağlar sodyum karbodiimid içeren metanol ile karıştırılıp vorteksleendiğinde serbest yağ asit tuzlarını içeren metanol fazın,  $\text{CaF}_2$  (kalsiyum florür) akış hücresi kullanılarak FTIR spektrumları alınmıştır. FTIR analizinin, titrasyon ile tayini kıyasla daha duyarlı ve daha doğru olduğu gösterilmiştir (Al-Alawi *et al.*, 2005).

Yine 2005’de tağşış belirleme amacıyla yapılan bir diğler çalışmada mısır, fındık, soya ve ayçiçeği yağlarının zeytinyağına katılmasıyla hazırlanan toplam 280 adet katışıklı yağ numunesi hazırlanarak katıştırılan her bir yağ için 70’er adet NIR spektrumu alınmıştır. 70 spektrumdan 50’si kalibrasyon, 20’si ise tahmin seti olarak kullanılmıştır. PLS kalibrasyon modelleri ile katıştırılan yağların kantitasyonu yapılabilmıştir. Spektrumun değişik bölgeleri dikkate alınarak yağ numunelerini farklılandırma ve katışık miktarını belirlemede kullanılabilir büyüklükler seçilerek 4 farklı PLS modeli uygulamasıyla katışık tür ve miktarının büyük bir kesinlikle belirlenebileceği gösterilmiştir (Kasemsumran *et al.*, 2005).

Tegou ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, zeytinyağı ve diğler yenilebilir yağlarla ilgili IR spektroskopisi uygulamaları yapılmıştır. Öncelikle diğler yağlarla karıştırılmış zeytinyağı analizi için iki tip zeytinyağı ve 4 çeşit yenilebilir yağ (ayçiçeği yağı, soya yağı, susam ve mısır yağı) satın alınmıştır. Zeytinyağı ve diğler bitkisel yağların karıştırılmasıyla toplam hacimleri 10 mL olan karışımlar hazırlanmıştır. Karışımlar % 2 – 90 v/v arasındaki oranlarda hazırlanmıştır. Bu örneklerin infrared spektrometresiyle ölümleri yapılmıştır. Örnekler yaklaşık 2  $\mu$ L miktarda iki KBr (potasyum bromür) diskinin arasına yerleştirilmiştir. Her bir örnek için çift spektrum alınmış ve bu spektrumlar  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  dalga sayıları arasında kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda zeytinyağı ve farklı oranlarda ayçiçeği yağı karıştırılmış zeytinyağı örneklerinin infrared spektrumlarında  $3009 \text{ cm}^{-1}$  sayısındaki görülen pikte değişiklik kaydedilmiştir.  $3006 - 3009 \text{ cm}^{-1}$  dalga sayıları arasındaki farklı bileşimdeki yağların pik yükseklikleri frekansa karşı grafiğe geçirilerek her yağ için bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Böylece zeytinyağına karıştırılan yağ eğer ayçiçeği yağı veya soya yağı olursa % 9 oranına kadar bunun tespit edilebileceği, eğer karıştırılan yağ mısır yağı veya susam yağı ise bu tespit edilebilir oranın % 6 olduğu bulunmuştur (Tegou *et al.*, 2006).

### 3.2.2. Kromatografik Metotlar Kullanılarak Yapılan Çalışmalar

1996'da kabul gören bir çalışmada 2 ayrı zeytin türünden elde edilen toplam 120 zeytinyağı örneği standart metoda uygun olarak sıvı kromatografiyle analizlenmiştir. Başlıca bileşen analizi ve kanonik diskriminant analizi kullanılarak yapılan kemometrik analizler ile 2 türe ait zeytinyağları yeter bir doğrulukla birbirinden ayrılabilmiştir. Her tür grup içinde bitkinin bulunduğu coğrafi bölge itibariyle de saptama yapılabilmektedir (Stefanoudaki *et al.*, 1996).

Farklı bitkisel yağları tanımlayabilmek ve varsa katışıklığı göstermek amaçlı 2004 yılında yapılan bir çalışmada ters faz mikrokolon HPLC, UV detektörle kullanıldığı çalışmada farklı yağların kromatogramlarına bakılarak yağlarda katışık olup olmadığının belirlenebileceği ileri sürülmüştür (V.I. Daineka ve L. A. Daineka, 2004).

Kromatografi yöntemleriyle tağışışın tayin edilmesine dayanan bir diğer çalışmada 7 farklı bölgeden toplanan 12 farklı sızma zeytinyağı örneğinin serbest asitlik, peroksit sayısı ve UV spektrofotometrik indis gibi kalitatif parametreleri tayin edilmiş ve ayrıca major bileşenleri (yağ asitleri, triaçilgliserol) ve minör bileşenleri (klorofiler, karotenoidler, tokoferoller ve fenolik bileşikler) bakımından yağlar analizlenmiştir. Başlıca bileşen analizi birinci bileşen olarak trigliseritleri ikinci bileşen olarak minör polar bileşikleri dikkate alarak uygulandığında yağın trigliserit bileşiminin diğer yağlardan farklılandırımda önemli olabileceği gösterilmiştir (Cerretani *et al.*, 2005).

2007 yılında yapılan ve GC-MS tekniğinin kullanıldığı bir çalışmada, Ayçiçeği yağı, mısır yağı fıstık yağı ve Hindistan cevizi yağı ile tağışış edilen sızma zeytinyağlarında GC-MS ile sadece lipit fraksiyonu tayin edilerek katışık tür ve miktarının bulunabileceğini öne süren bir çalışmada, kullanılan kemometrik yöntemlerle adım adım bir yaklaşımla zeytinyağının tağışışli olup olmadığı, sonra katışık türü ve daha sonra da katışığın miktarı bulunmuştur. Kalitatif analiz SIMCA ve KNN (K Nearest Neighbour = K en yakın komşu) teknikleriyle yapılmıştır. Yağın tağışışli olup olmadığına ilişkin doğru tahmin yüzdesi % 91, katışıtırlan yağın cinsini belirlemede ise % 88 olarak saptanmıştır. Kantitatif analiz için ise kısmi en küçük kareler regresyonu kullanılmıştır (Capote *et al.*, 2007).

### 3.2.3. Florimetrik Metotlarla Yapılan Çalışmalar

2003 yılında yapılan ve ticari olarak temin edilebilen bitkisel yağları karakterize etmek ve birbirinden farklılandırmak için toplam lüminesans tekniğinin kullanıldığı bir çalışmada, toplam lüminesans tekniğinin yağları karakterize etmede kullanılabileceği, ayrıca termal ve fotooksidasyonun etkilerinin gösterilebileceği ileri sürülmüştür. Ancak, farklı orijin ve üreticilerden gelen yağları ayırabilmek için daha fazla sayıda örnek ve kemometrik teknikler kullanılarak çalışma yapılması gerektiği belirtilmiştir (Romaniuk *et al.*, 2003).

Yine spektroflorimetrik tekniğın kullanıldığı, 2004'de kabul gören başka bir çalışmada, sızma zeytinyağının işlem görmemiş ve rafine fındık yağı ile hazırlanan karışımaları spektroflorimetrik olarak incelenmiştir. Spektrum belli dalga boyları aralıklarında çeşitli bölgelere ayrılmış, bu bölgelerdeki saf veya karışım halindeki yağların sinyal standart sapmaları ANOVA metodu ile değerlendirilerek farklılandırma sürecinde dikkate alınabilecek en etkili değışkenler saptanmış; adımlı diskriminant analizi ile numuneler % 100 doğrulukla sınıflandırılabilmiştir (Sayago *et al.*, 2004).



2005’de floresans spektroskopisi kullanılarak yapılan bir başka çalışmada sızma zeytinyağına prina yağının katılmasıyla hazırlanan katışıklı sızma zeytinyağının floresans spektrumları alındıktan sonra, öncelikle PCA ve paralel faktör analizi uygulanmış daha sonra Hotelling  $T^2$  ve Q istatistiği uygulanarak tağış tespit edilmiştir. Tağış olmuş ve olmamış numuneleri birbirinden ayırmak için lineer diskriminant analizinin ve kısmi en küçük kareler (PLS) regresyonunun daha uygun olduğu gösterilmiştir. Katışık düzeyi PLS ile belirlenmiştir (Guimet *et al.*, 2005).

### 3.2.4. Kütle Spektrometresiyle Yapılan Çalışmalar

Kütle spektroskopisinin farklı bir uygulaması olan ve 2002’de kabul gören bir çalışmada, yağ numunelerinin “headspace” üreticisinde elde edilen uçucu bileşenlerin kütle spektrometresinde elde edilen sonuçları, daha klasik olan kromatografik ve spektroskopik sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Lineer diskriminant analizi uygulandığında 3 farklı zeytinyağı örneğinin % 100 doğrulukla birbirinden ayrılabilceği gösterilmiştir. Numune hazırlama aşaması içermemesi nedeniyle yaklaşımın çok basit olduğu bu ve klasik metotla sınıflandırma doğruluğunun % 100 olmasına karşılık bilinmeyen numuneler için yağın sınıfının tahmininin klasik yöntemlerle % 98, “headspace”- kütle spektrometri tekniği ile % 100 olduğu gösterilmiştir (Lorenzo *et al.*, 2002).

## 4. KEMOMETRİ - FAKTÖRİYEL METOTLAR

Faktöriyel metotlarda çok boyutlu uzaydaki orijinal veri seti bir çizgi, düzlem veya üç boyutlu koordinat sistemine indirgenir (verinin projeksiyonu). Günümüzde veri projeksiyonunda kullanılan yöntemlerinden başlıcaları: Başlıca bileşen analizi (PCA=Principle Component Analysis), faktör analizi (FA) ve tekli değer dekompozisyonu (SVD=Singular Value Decomposition)'dur. Bu çalışmadaki verinin değerlendirilmesinde ana bileşen analizinden yararlanıldığı için bu yöntemden kısaca bahsedilecektir.

### 4.1. BAŞLICA BİLEŞEN ANALİZİ

Başlıca bileşen analizinde veri indirgenmesinde esas,  $X_1, X_2, \dots, X_p$  gibi p adet değişkeni alarak bunlar arasında birbiriyle ilişkili olmayan ana bileşenler (PC's=principle components) oluşturmaktır. Bu ana bileşenler aynı zamanda özvektör (eigen vector) olarak isimlendirilir. Elde edilen PC'ler, varyasyonu en büyük olandan en küçüğe doğru sıralanır. Özdeğerlerin (eigen value) ihmal edilemeyecek kadar büyük olanları, veri setini yeterli bir doğrulukla tanımlar. Böylece, veri setini tanımlayan başlangıçtaki p adet değişken yerine sayıca çok daha az ana bileşen elde edilmiş olur.

p adet X değişkenine ait veri seti aşağıdaki tabloda gösterilen veri matrisi şeklinde dizilsin.

Değişken \ Numune	$X_1$	$X_2$	...	$X_p$
1	$X_{11}$	$X_{12}$	...	$X_{1p}$
2	$X_{21}$	$X_{22}$	...	$X_{2p}$
.	...	...	...	...
.	...	...	...	...
.	...	...	...	...
n	$X_{n1}$	$X_{n2}$	...	$X_{np}$

Bu veri setine karşılık gelen kare şekline bir kovaryans veya korelasyon matrisi aşağıdaki eşitlikten hesaplanır.

$$Cov(X_j, X_k) = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_j)(X_{ik} - \bar{X}_k)}{(n-1)}$$

Burada  $X_j$

$$\bar{X}_j = \frac{\sum_{i=1}^n X_{ij}}{n}$$

ve  $j, k = 1, 2, \dots, p$ 'dir.

Bu durumda birincil ana bileşen ( $PC_1$ ), orijinal  $X_1, X_2, \dots, X_p$  değişkenlerinin lineer kombinasyonudur.

$$PC_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + a_{13}X_3 + \dots + a_{1p}X_p = \sum_{j=1}^p a_{1j}X_j$$

Burada  $a_{11}, a_{12}, \dots, a_{1p}$ , birinci ana bileşen ( $PC_1$ ) için orijinal  $p$  değerlerinden kaynaklanan katsayılar olup bunlar için aşağıdaki koşul gereklidir.

$$a_{11}^2 + a_{12}^2 + a_{13}^2 + \dots + a_{1p}^2 = 1$$

Benzer şekilde, ikinci ve üçüncü ana bileşenler için

$$PC_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + a_{23}X_3 + \dots + a_{2p}X_p \text{ ve}$$

$PC_3 = a_{31}X_1 + a_{32}X_2 + a_{33}X_3 + \dots + a_{3p}X_p$  yazılabilir. Bunlar için de

$$a_{21}^2 + a_{22}^2 + a_{23}^2 + \dots + a_{2p}^2 = 1$$

$$a_{31}^2 + a_{32}^2 + a_{33}^2 + \dots + a_{3p}^2 = 1$$

koşulları geçerlidir. Prensip olarak p değişken sayısı kadar ana bileşen elde edilecektir.

Özvektörlere, yani ana bileşenlere ait şu kurallar geçerlidir.

- 1- Özvektörler sadece kare matriste bulunur.
- 2- Tüm kare matrisler özvektör içermeyebilir. Ancak, korrelasyon matrisi p değişken sayısı kadar özvektörü mutlaka içerecektir.
- 3- Bir Özvektörün uzunluğu değil, yönü önemlidir.
- 4- Özdeğer ve özvektörler daima çiftler halinde bulunur.

Orijinal verideki değişkenliği (varyasyonu) temsil edecek sayıda ana bileşenin seçimi önemli olmaktadır. Bu seçim için çeşitli kriterler önerilmektedir. Mesela Kaiser kriterine göre özdeğeri  $\geq 1$  olan PC'ler dikkate alınır. Bir başka kritere göre ise toplam varyasyonun en az %90'ını sağlayan sayıdaki ana bileşen sayısı yeterlidir. Üçüncü yöntemde özdeğerler, ana bileşen sayısına karşı grafiğe geçirilerek bir yamaç eğim grafiği (scree plot) hazırlanır. Grafikte eğimin sabitlendiği veya çok küçüldüğü noktaya karşılık gelen öz değerlerden daha büyük özdeğere sahip olan ana bileşenler dikkate alınır.

## 5. MATERYAL VE YÖNTEM

### 5.1. DENEYSEL ÇALIŞMALARDA KULLANILAN KİMYASALLAR

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar tablo 5.1’de belirtilmiştir.

**Tablo 5.1.** Deneyslerde kullanılan kimyasallar

<b>Kimyasal</b>	<b>Firma</b>	<b>Katalog No</b>
Potasyum iyodür	Riedel-deHaen	03124
Sodyum tiyosülfat	Merck	1.06516
Buzlu asetik asit	Riedel-deHaen	27225
Karbon tetraklorür	Merck	K19197921
Nişasta	Carlo Erba	417587
Wijs reaktifi	Riedel-deHaen	35071
Fenolftalein	Riedel-deHaen	33518
Etanol	Riedel-deHaen	32221
KOH	Riedel-deHaen	06009
HCl	Merck	1.00317
Kloroform	Riedel-deHaen	24216

## 5.2. DENEYSEL ÇALIŞMALARDA KULLANILAN CİHAZLAR

Deneyisel çalışmalarda kullanılan cihazlar tablo 5.2’de belirtilmiştir.

**Tablo 5.2.** Deneylerde kullanılan cihazlar

<b>Cihaz</b>	<b>Marka, model</b>
Infrared spektrofotometresi	Varian, FTS 800
Analitik terazi	Sartorius, GC1603S-OCE
Etüv	Nüve, FN 400
Manyetik Karıştırıcı	Isolab
Su banyosu	Nüve, BM 402
Mikropipet takımı (2 – 20 $\mu$ L; 100 – 1000 $\mu$ L)	Biohit

## 5.3. İŞLEMLER

### 5.3.1. Yağ Örneklerinin Hazırlanması

Bu çalışmanın ilk bölümünde Infrared spektrofotometresi ile yapılacak olan ölçümler için örnekler hazırlanmıştır. Bu bölümde, vial’ler (kapaklı özel şişeler) kullanılarak toplam hacimleri 5 mL olan saf yağ numuneleri (zeytinyağı, pamuk yağı, ayçiçeği yağı, mısırözü yağı) ve zeytinyağına diğer yağlar karıştırılarak %10, %20, %30, %40 ve %50 (v/v) oranlarında sentetik karışımlar hazırlanmıştır.

Viskozitesi oldukça yüksek olan saf veya karışım haldeki yağlardan belli ve küçük hacimleri örneklemek için bu yağları seyreltmek gerekmiştir. Bu amaçla saf yağ veya yağ karışımlarının 5’er mL hacimlerine, infrared spektrofotometresinde ilgilenen dalga boyları arasında absorbans piki vermeyen 5’er mL karbon tetraklorür eklenmiştir.

Klasik yağ analizleri için yine zeytinyağıyla diğer saf yağların (pamuk yağı, ayçiçeği yağı, mısırözü yağı) karıştırılmasıyla %10, %20, %30, %40, %50 (v/v) oranlarında toplam hacimleri 50 mL olan karışımlar hazırlanmıştır.

Bu karışımlar ve saf yağ örnekleri deneysel çalışmalar boyunca kahverengi numune şişelerinde, karanlıkta ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

### **5.3.2. Infrared Spektrofotometresi ile Ölçümler**

Infrared spektrofotometresiyle ölçümlerde, potasyum bromürden hazırlanan peletler kullanılmıştır. Her örnek için ayrı pelet hazırlandı ve bu pelet cihaza yerleştirilerek zemin ölçümleri yapıldı ve pelet tekrar dışarı alınarak her örnekten 2 µL damlatılarak varian FTS 800 infrared spektrofotometresiyle, tarama sayısı 32'ye ayarlanarak ölçümler yapılmıştır. Ölçüm sonuçları bilgisayar aracılığı ile varian yazılım programı ile alındı. Bu işlemler her örnek için 10 kez tekrarlanarak her örnek için 10 farklı spektrum elde edilmiştir.

Elde edilen bu spektrumların karşılaştırılması yapıldı ve spektrumların verileri kullanılarak kemometrik analiz yöntemlerinden başlıca bileşen analizi yardımıyla yağlar sınıflandırılmaya çalışılmıştır.

### **5.3.3. Klasik Analizler**

#### **5.3.3.1. Fiziksel Analizler**

##### **Yağların Özgül Ağırlık Tayini**

25 mL hacimli piknometre yıkanıp kurutulup darası alındı. İçine kaynatılmış ve soğutulmuş saf su ile hava boşluğu kalmayacak şekilde doldurularak 20 °C'ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirilmiştir. Burada sıcaklığı 20 °C'ye gelene kadar bekletildikten sonra çıkartılarak kısa bir süre kuruması beklendi ve tartıldı. Piknometre boşaltılıp kurutulmuştur ve aynı işlemler yağ örnekleri için tekrarlanmıştır.

Özgül ağırlık değerleri 20 °C'deki suyun kütlesi aynı sıcaklıktaki yağ örneklerinin kütlelerine oranı hesaplanarak bulunmuştur.

### **Kırılma İndisi Tayini**

Refraktometredeki iki prizma arası yağ örnekleri ile tamamen dolduruldu ve sıcaklığın en az 5 dakika değişmemesi sağlanarak kırılma indisleri okunmuştur.

### **5.3.3.2. Kimyasal Analizler**

#### **Yağların Sabunlaşma Sayısı**

Yaklaşık 2 g örnek 0,001 g duyarlılıkta cam balon içinde tartılmıştır. Üzerine 25 mL etanollu potasyum hidroksit çözeltisi eklenerek cam balon geri soğutucuya bağlanmıştır ve manyetik karıştırıcı ısıtıcı kullanılarak zaman zaman karıştırılmak suretiyle 1 saat boyunca kaynatılmıştır. Daha sonra oluşan sıcak sabun çözeltisi 4 – 5 damla fenolftalein çözeltisine karşı 0,5 N hidroklorik asit çözeltisi ile titre edilmiştir ve bu işlem her örnek için tekrarlanmıştır.

Potasyum hidroksit çözeltisi ile bir tanık deney yapılmıştır. Tüm örneklerin sabunlaşma sayısı harcanan hidroklorik asit çözeltisi hacminden hesaplanmıştır.

#### **İyot Sayısı Tayini**

Saf zeytinyağı iyot sayısının 51 – 100 arasında olacağı belirlenerek<sup>1</sup> tablo 3.1'de bu değere karşılık gelen 0,3 g yağ örneği 0,001 g duyarlılıkta 250mL'lik erlende tartılmıştır. Yağın çözünmesi için içine 15 mL karbon tetraklorür ve 25 mL Wijs reaktifi eklenerek kapakla kapatıldı ve karanlık bir ortamda 1 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda erlen içine 20 mL doymuş potasyum iyodür çözeltisi ve 150 mL saf su eklenmiştir. 0,1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile nişasta çözeltisine karşı titre edilmiştir ve mavi renk kaybolana kadar titrasyona devam edilmiştir.



Bu işlem her yağ örneği için tekrarlanmıştır. Aynı zamanda tanık deney yapılmıştır. Bütün örneklerin iyot sayıları harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisinin hacmi kullanılarak hesaplanmıştır.

### **Yağların Peroksit Sayısı Tayini**

Saf zeytinyağının peroksit sayısı 20 olarak beklendiği için<sup>1</sup> tablo 3.2’de buna karşılık gelen 1,2 g miktarında yağ 0,001 g duyarlılıkta 250 mL erlen içinde tartılmıştır. Erlenin içine 10 mL kloroform eklenerek şişe hızla çalkalanarak yağın çözünmesi sağlandı ve sıra ile 15 mL asetik asit ve 1 mL potasyum iyodür çözeltisi eklenmiştir. Erlen hemen kapatılarak bir dakika çalkalandı ve daha sonra 5 dakika karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Daha sonra serbest hale geçen iyot nişasta çözeltisine karşı 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir.

Aynı zamanda tanık deney yapılmıştır ve olması gerektiği gibi serbest iyot eseri bulunmamıştır. Her örneğin peroksit sayısı harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisi hacmi kullanılarak hesaplanmıştır.

---

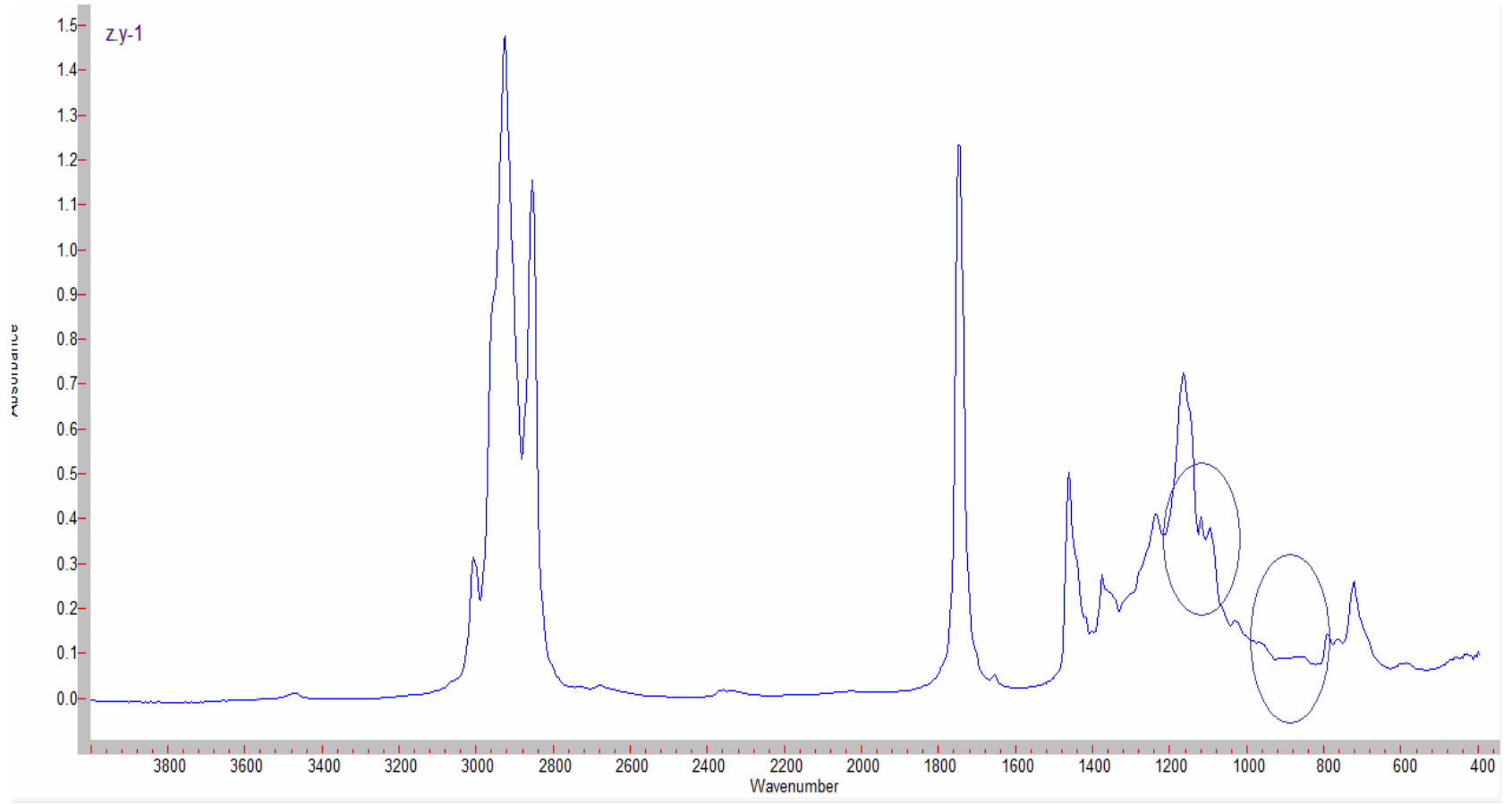
<sup>1</sup> “Türk Gıda Kodeksi – Yemeklik Zeytinyağı ve Yemeklik Prina Yağı Tebliği (Resmi Gazete 01.12.2000 - 24247)

## 6. BULGULAR

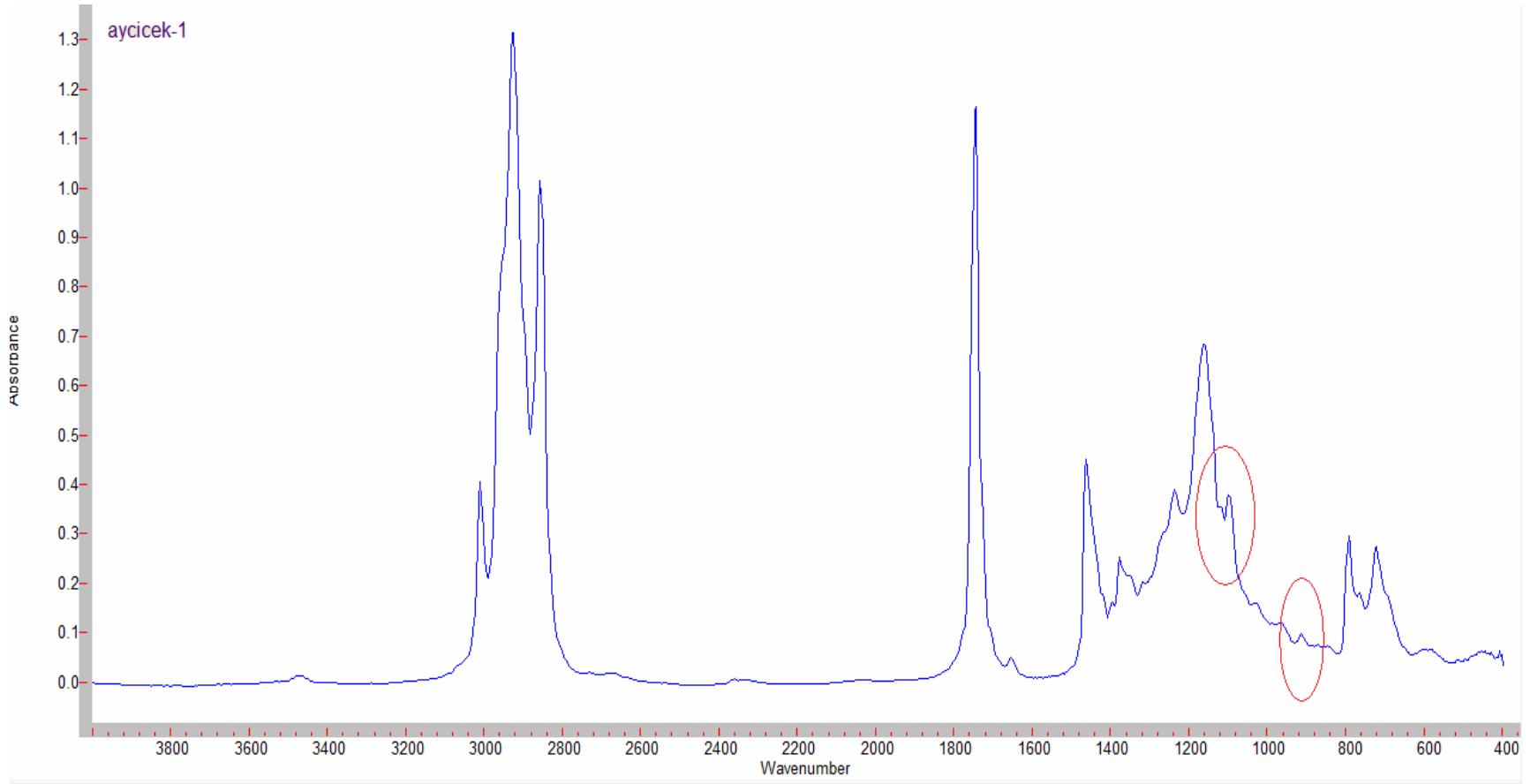
### 6.1. INFRARED SPEKTROFOTOMETRİSİ SONUÇLARI

Dört farklı yağ örneği (zeytinyağı, pamuk yağı, ayçiçeği yağı ve mısırözü yağı) ve zeytinyağına diğer yağların farklı oranlarda (%10, %20, %30, %40 ve %50 v/v) katılmasıyla hazırlanmış sentetik karışımlarının bölüm 5.3.2’de (sayfa 25) anlatıldığı gibi FTIR spektrofotometresi ile spektrumları alınmıştır. Böylece, her bir saf yağın (4 adet) ve zeytinyağına diğer 3 yağın farklı oranlarda katılmasıyla (15 adet) toplam 19 adet örnek hazırlanmış olmuştur. İstatistiksel çalışmalarda kullanılmak üzere her bir örnek için 10 kez spektrum alınarak toplam 190 adet spektrum elde edilmiştir.

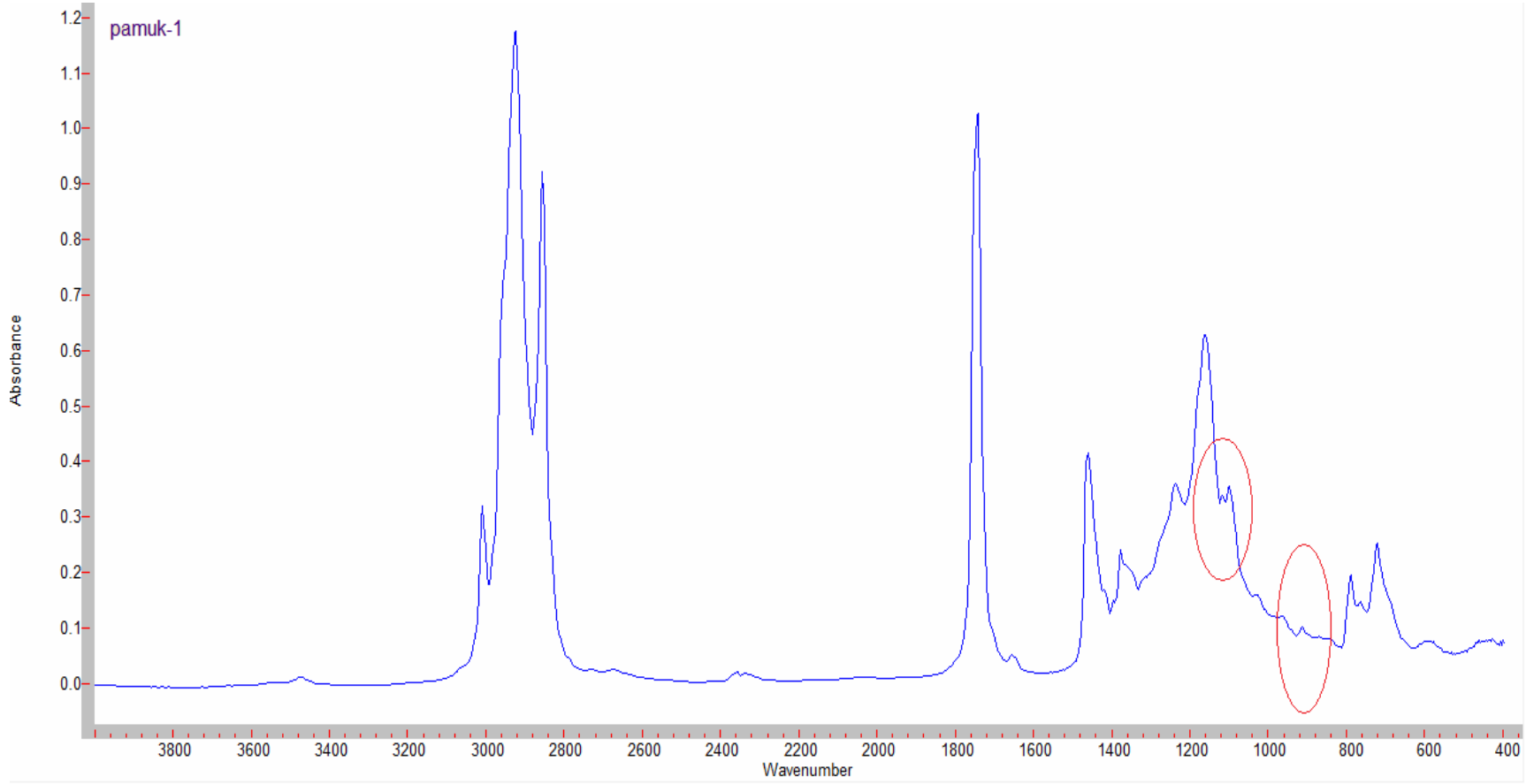
Saf yağlara ait spektrumlar (4 adet) ile diğer yağların zeytinyağına %10 (v/v) katıldığı numunelerin (2 adet) spektrumları ve zeytinyağına farklı oranlarda (% 10, % 20, % 30, % 40 ve % 50 (v/v)) ayçiçeği yağı karıştırılmasıyla oluşturulan sentetik karışımların IR spektrumlarının üst üste ayrıntılı gösterimi şekil 6.1 - 6.7 arasında gösterilmiştir. Diğer yağlarla (pamuk ve mısırözü yağı) oluşturulan sentetik karışımların farklı oranlarına ait IR spektrumları EK’te verilmiştir. Saf zeytinyağının spektrumundan olan farkları göstermek üzere spektrumlar üzerinde bazı işaretlemeler yapılmıştır. Farklılıkların en çok gözlemlendiği bölge, parmak izi bölgesidir.



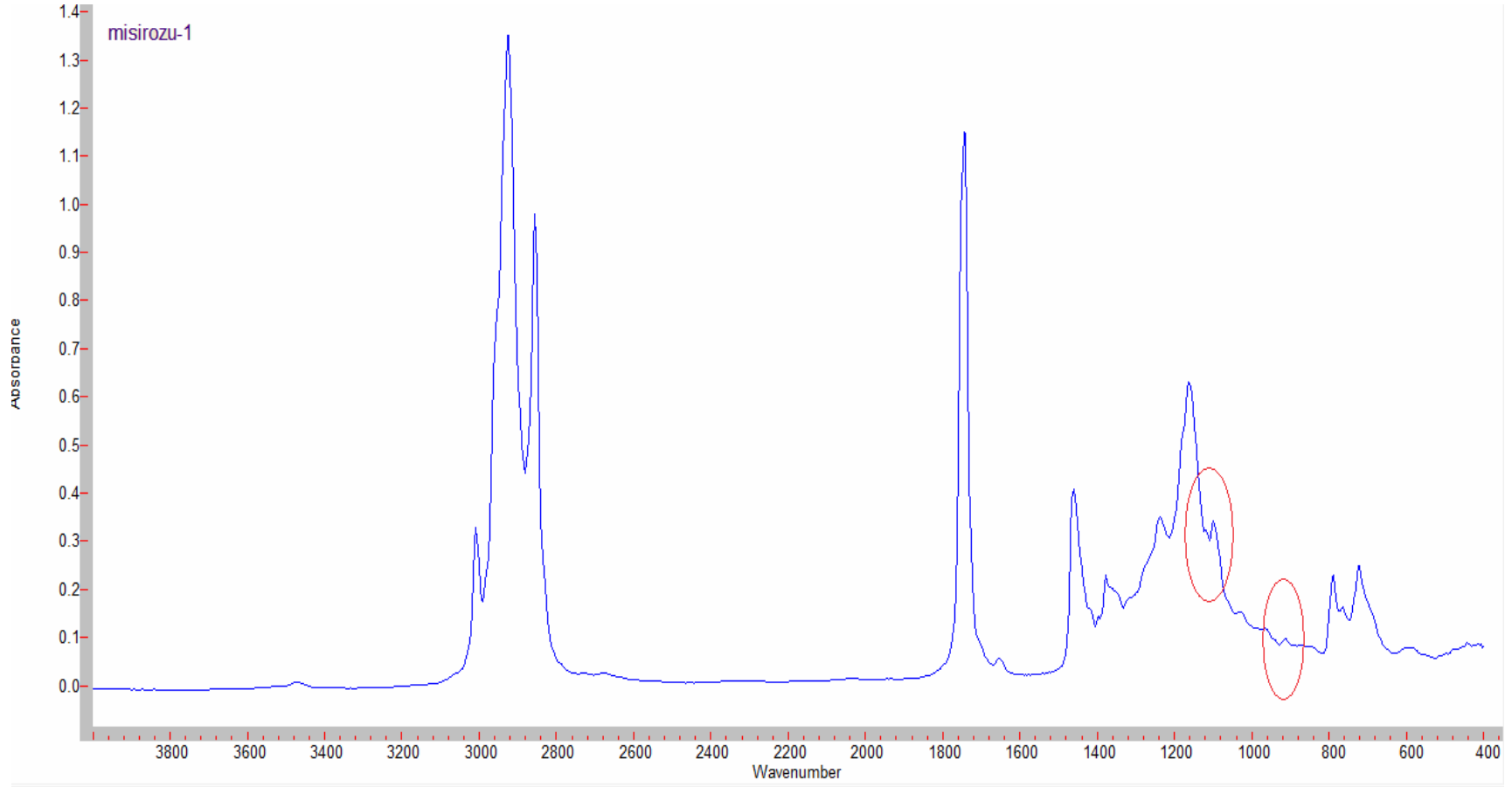
Şekil 6.1. Saf zeytinyağına ait infrared spektrumu



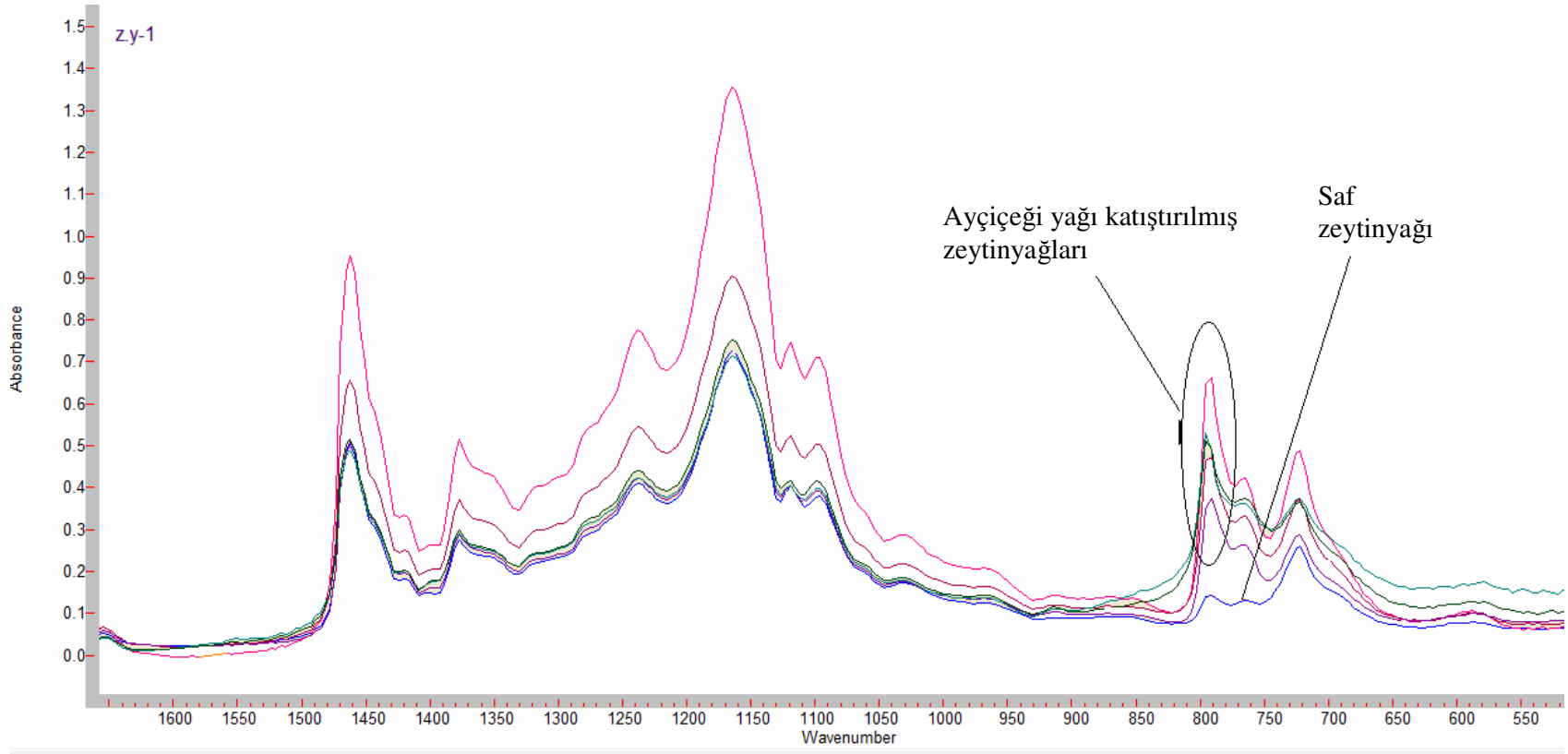
Şekil 6.2. Saf ayçiçeği yağına ait infrared spektrumu



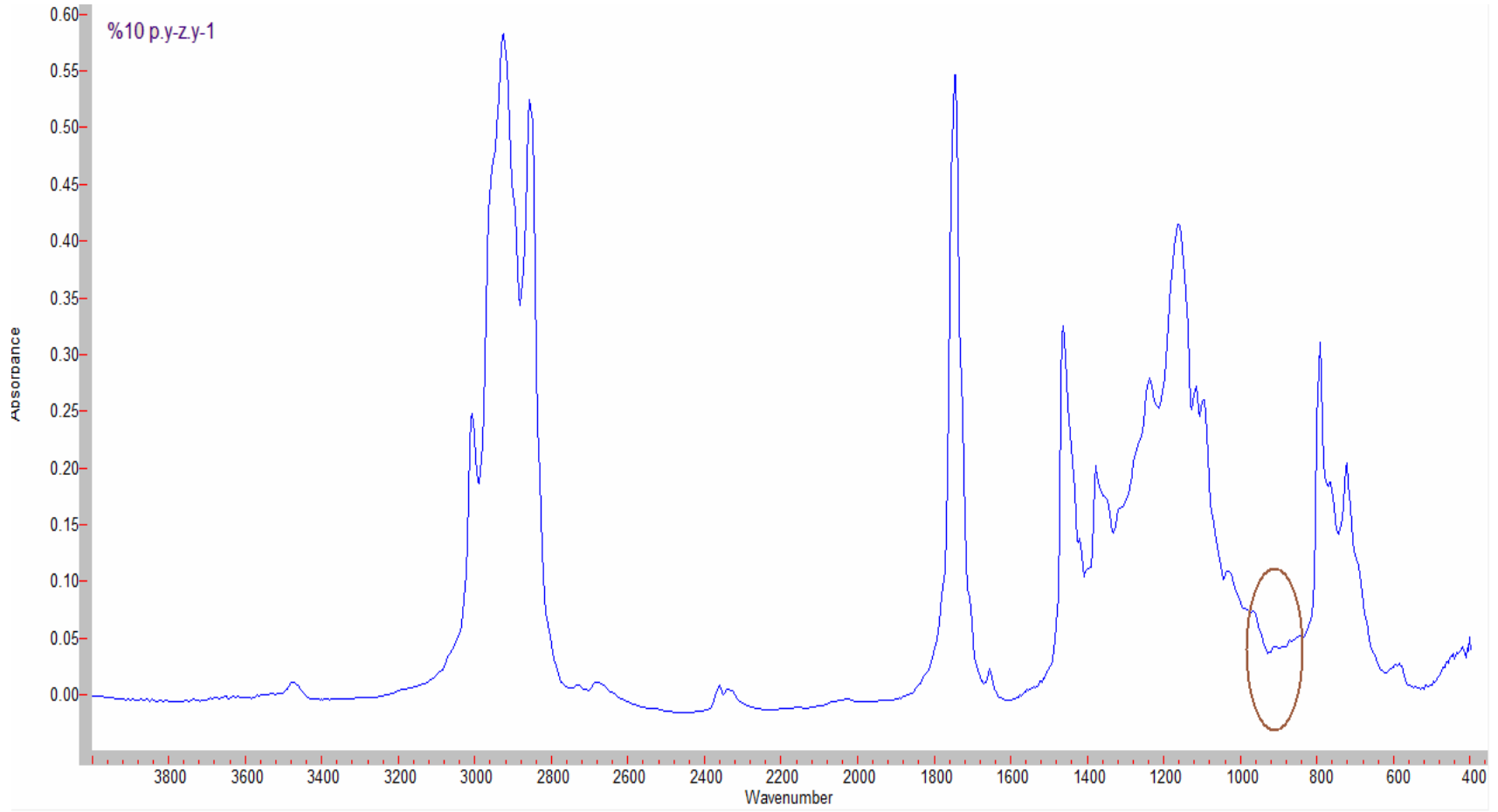
Şekil 6.3. Saf pamuk yağına ait infrared spektrumu



Şekil 6.4. Saf mısırözü yağına ait infrared spektrumu

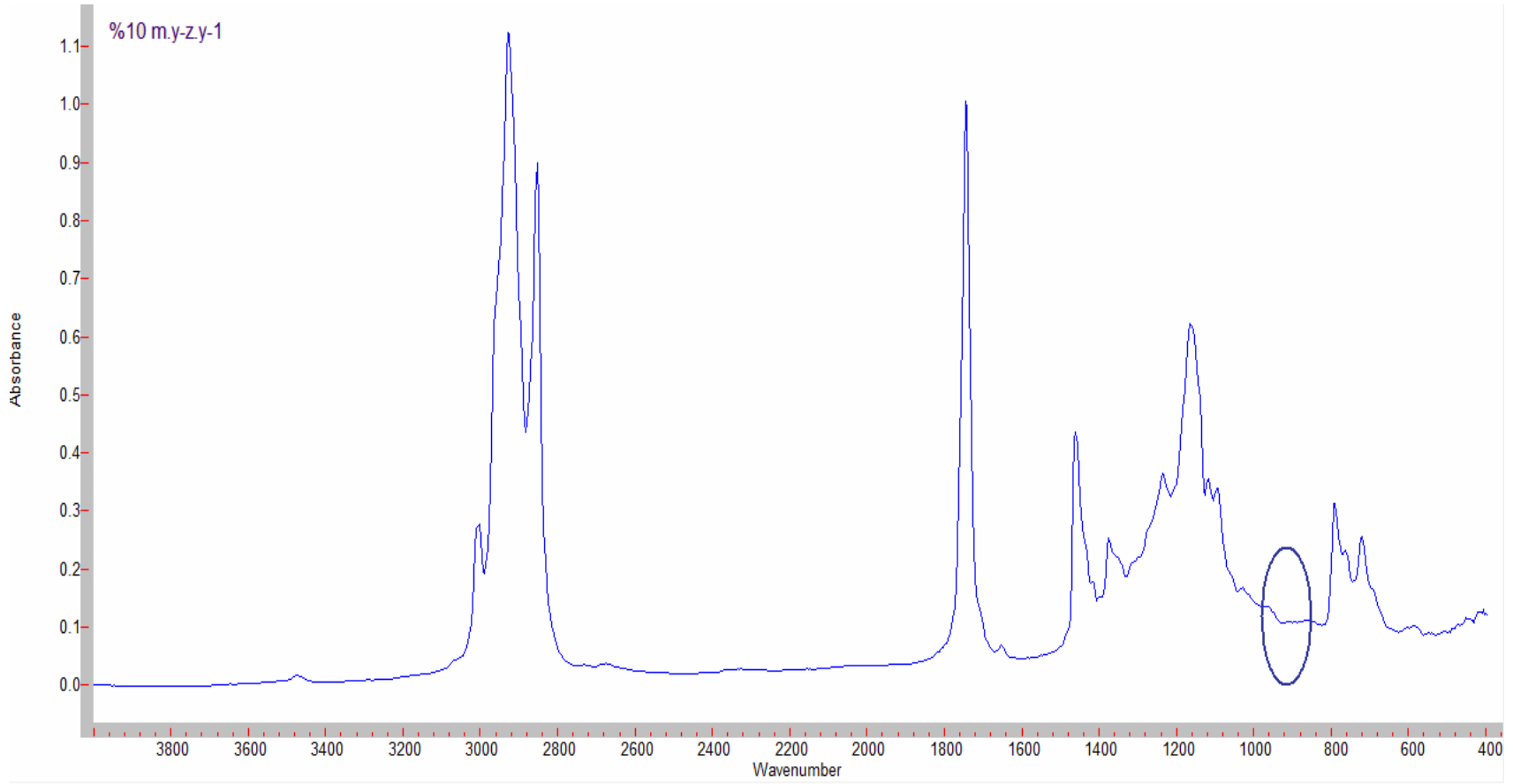


**Şekil 6.5.** Farklı oranlarda (%10, % 20, % 30, % 40 ve % 50) ayçiçeği yağı karıştırılmış zeytinyağı örneklerine ve saf zeytinyağına ait infrared spektrumlarının üst üste ayrıntılı gösterimi



Şekil 6.6. % 10 oranında pamuk yağı karıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu





**Şekil 6.7.** % 10 oranında mısırözü yağı karıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu

## 6.2. YAĞDA KLASİK ANALİZ SONUÇLARI

Saf yağların (zeytinyağı, ayçiçeği yağı, mısırözü yağı ve pamuk yağı) ve zeytinyağına diğer 3 yağın farklı oranlarda karıştırılması ile oluşturulan sentetik karışımların deneysel olarak bulunmuş olan özgül ağırlıkları, kırılma indisleri, sabunlaşma, iyot ve peroksit sayıları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir. Her bir örnek için yapılan analizler iki kez tekrarlanmıştır, aşağıdaki tablodaki değerler bu iki deneysel sonucun ortalamasıdır.

**Tablo 7.1.** Saf ve karışık yağlarda yapılan klasik analiz sonuçları.

Yağ Örneği	Özgül ağırlık (g/mL)	Kırılma İndisi	Sabunlaşma Sayısı	İyot Sayısı	Peroksit Sayısı
Zeytinyağı	0,9428	1,4640	184,4	91,4	18,0
Ayçiçeği yağı	0,8852	1,4700	178,8	96,0	9,5
Pamuk yağı	0,9187	1,4680	187,2	99,0	8,7
Mısırözü yağı	0,9257	1,4690	186,5	97,3	6,7
Ayçiçeği/Zeytinyağı %10 v/v	0,9343	1,4650	184,0	92,2	17,2
Ayçiçeği/Zeytinyağı %20 v/v	0,9247	1,4657	183,2	92,8	16,0
Ayçiçeği/Zeytinyağı %30 v/v	0,9121	1,4665	182,5	93,5	14,1
Ayçiçeği/Zeytinyağı %40 v/v	0,9025	1,4674	181,6	94,3	12,9
Ayçiçeği/Zeytinyağı %50 v/v	0,8965	1,4680	180,9	95,2	11,8
Mısırözü/Zeytinyağı %10 v/v	0,9389	1,4646	184,7	92,0	16,1
Mısırözü/Zeytinyağı %20 v/v	0,9345	1,4651	185,0	92,9	14,7
Mısırözü/Zeytinyağı %30 v/v	0,9322	1,4660	185,4	93,8	13,1
Mısırözü/Zeytinyağı %40 v/v	0,9288	1,4667	185,9	94,9	11,8
Mısırözü/Zeytinyağı %50 v/v	0,9260	1,4673	186,2	96,0	10,4
Pamuk/Zeytinyağı %10 v/v	0,9366	1,4647	184,8	92,3	17,0
Pamuk/Zeytinyağı %20 v/v	0,9330	1,4652	185,3	93,4	16,1
Pamuk/Zeytinyağı %30 v/v	0,9279	1,4660	185,7	95,3	14,9
Pamuk/Zeytinyağı %40 v/v	0,9241	1,4665	186,2	96,4	13,4
Pamuk/Zeytinyağı %40 v/v	0,9210	1,4670	186,6	97,5	12,1

## 7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

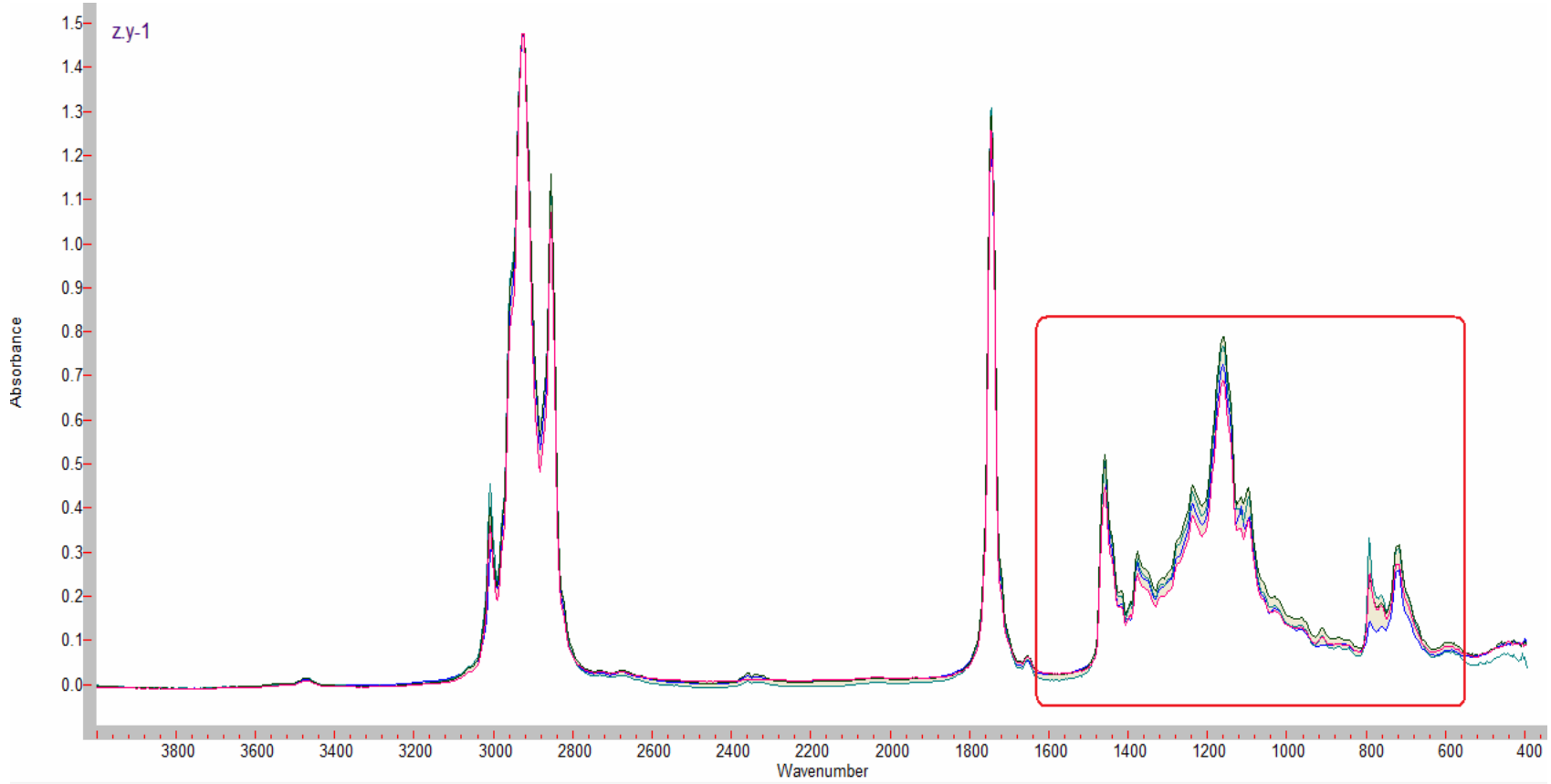
### 7.1. FT-INFRARED SPEKTROFOTOMETRİSİ SONUÇLARI

Bir önceki Bulgular bölümünde ve EK'te verilen tüm spektrumlarda, spektrumlar arasındaki farklılıklar işaretlenmiştir. Saf zeytinyağının spektrumuyla diğer saf ve katışıklı yağların spektrumları arasında iki bölgede farklılıklar gözlenmektedir.

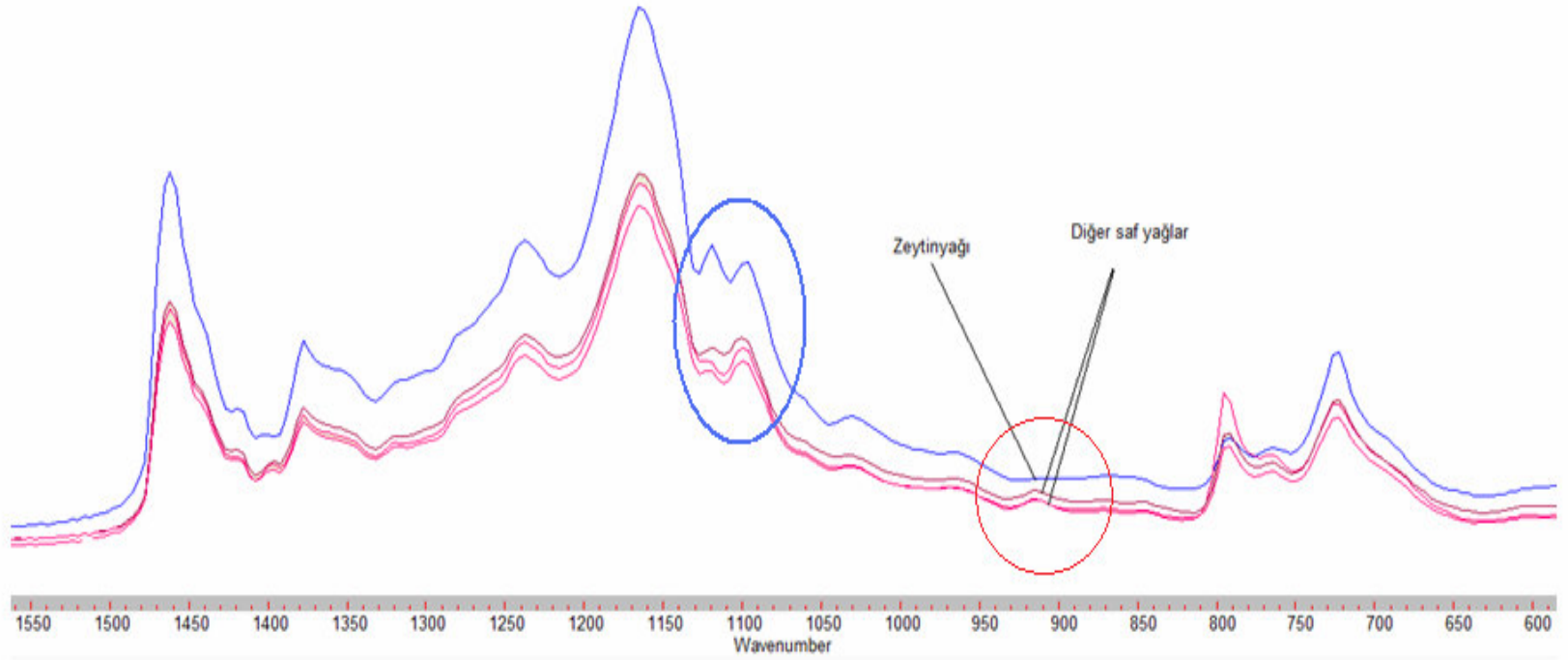
- 1- 1100  $\text{cm}^{-1}$  civarında zeytinyağında çok küçük de olsa 2 tane absorban pik gözlenirken, diğer saf yağlarda bu bölgedeki pik sayısı bir tanedir.
- 2- Zeytinyağında 900  $\text{cm}^{-1}$  civarında bir pik yok iken katışıklı yağlarda bu frekansta küçük bir pik ortaya çıkmakta ve bu pikin şiddeti, katışık oranının artmasıyla yükselmektedir.

1400 – 900  $\text{cm}^{-1}$  frekansları arasındaki absorban farklılıkları yağların yapılarında bulunan C–O–C bağı gerilmeleri ve C–H bağı eğilmelerinden kaynaklanmaktadır. Bu bölgede gözlenen farklılıkları, yağların yapısında farklı oranlarda bulunan yağ asitleri ve triaçilgliseroller'in neden olduğu farklılıklar olarak açıklamak mümkündür.

Saf yağların 1100  $\text{cm}^{-1}$  ve 900  $\text{cm}^{-1}$  frekanslarında yukarıda değinilen farklılıklarını göstermek üzere 4 adet saf yağa ait spektrum şekil 7.1'de üst üste, bu spektrumların 1550 – 600  $\text{cm}^{-1}$  aralığı ayrıntılı olarak şekil 7.2'de görülmektedir.

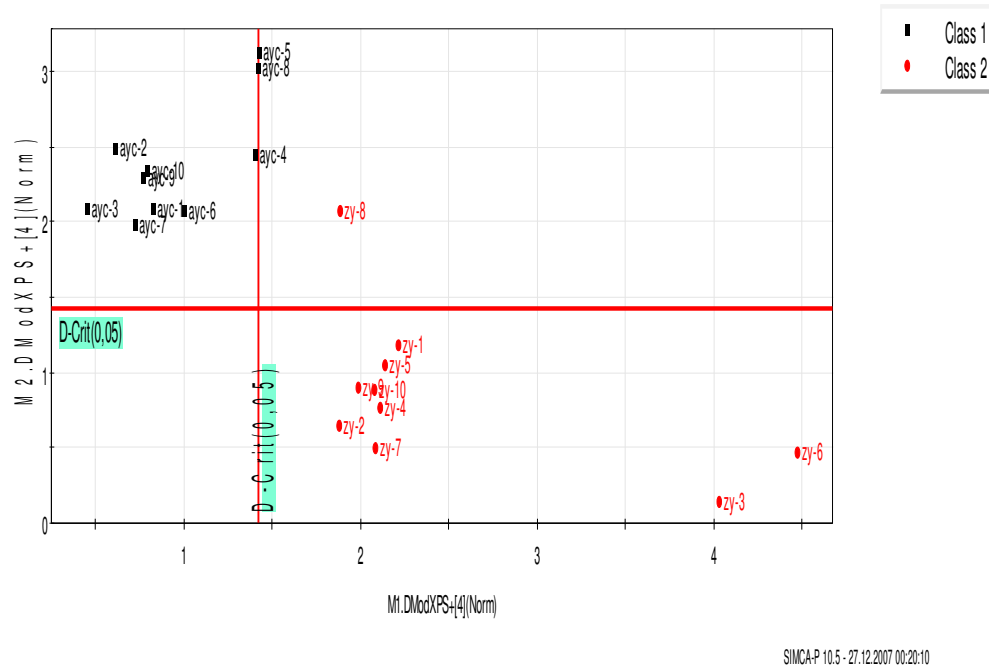


Şekil 7.1. Z eytinyağı, ayçiçeği yağı, mısırözü yağı ve pamuk yağı örneklerinin infrared spektrumları (üst üste yerleştirilmiş şekilde)



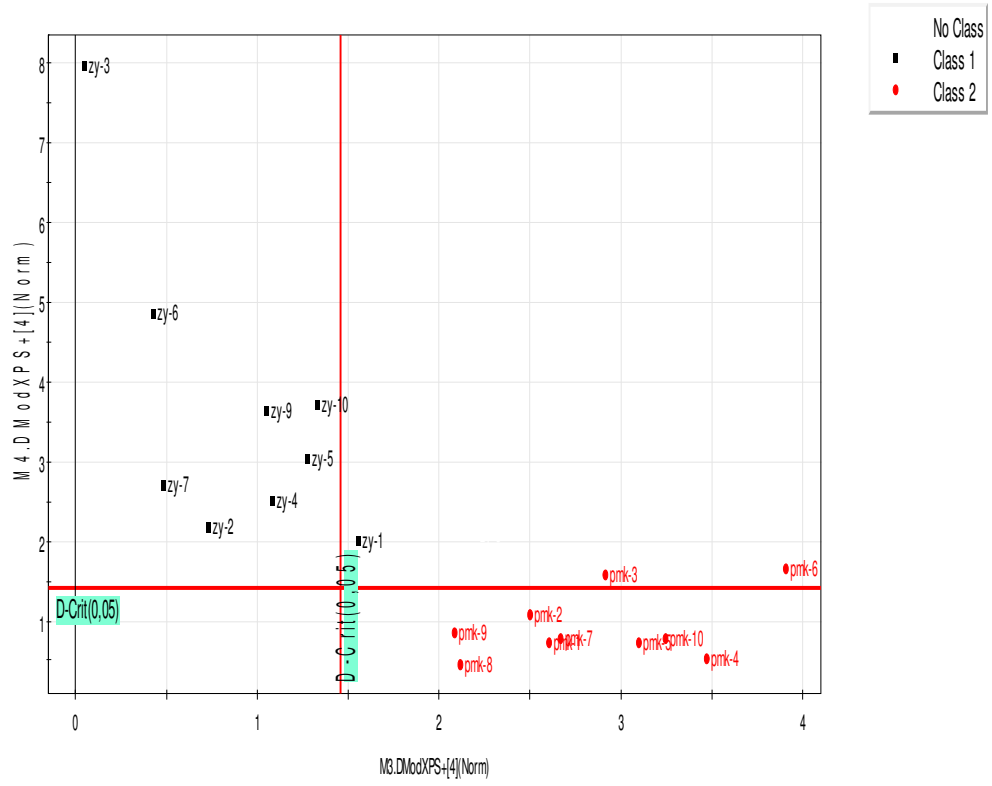
Şekil 7.2. Zeytinyağı ve diğer saf yağların üst üste spektrumlarının ayrıntılı gösterimi

Yukarıdaki spektrumlarda gösterilmeye çalışılan farklar o kadar küçüktür ki, bu farkları görsel olarak dikkate alarak yağların cinsini ayırmak, katışıklı yağlarda katışık oranını kestirmek mümkün olmamaktadır. Kaldı ki bu gibi farklar, yağın üretildiği bitkinin yetiştiği coğrafi bölgeden ve yağın üretim teknolojisinden de kaynaklanabilmektedir. Bu nedenle, spektrumun sadece  $110\text{ cm}^{-1}$  ve  $900\text{ cm}^{-1}$  bölgelerinde değil, spektrumun tümünde piklerin konumunu, şiddetini ve piklerin birbirine göre bağıl şiddetini dikkate alarak spektrumları, dolayısıyla spektrumları veren yağları farklılandırmaya olanak verecek istatistik modellere ihtiyaç vardır. Bu amaçla SIMCA-P istatistik programı kullanılarak yağ örnekleri sınıflandırılmaya çalışılmıştır. Aşağıdaki şekillerde (Şekil 7.3 – 7.5) zeytinyağı ve diğer yağların sınıflandırılması için geliştirilen PCA modelleri gösterilmektedir.



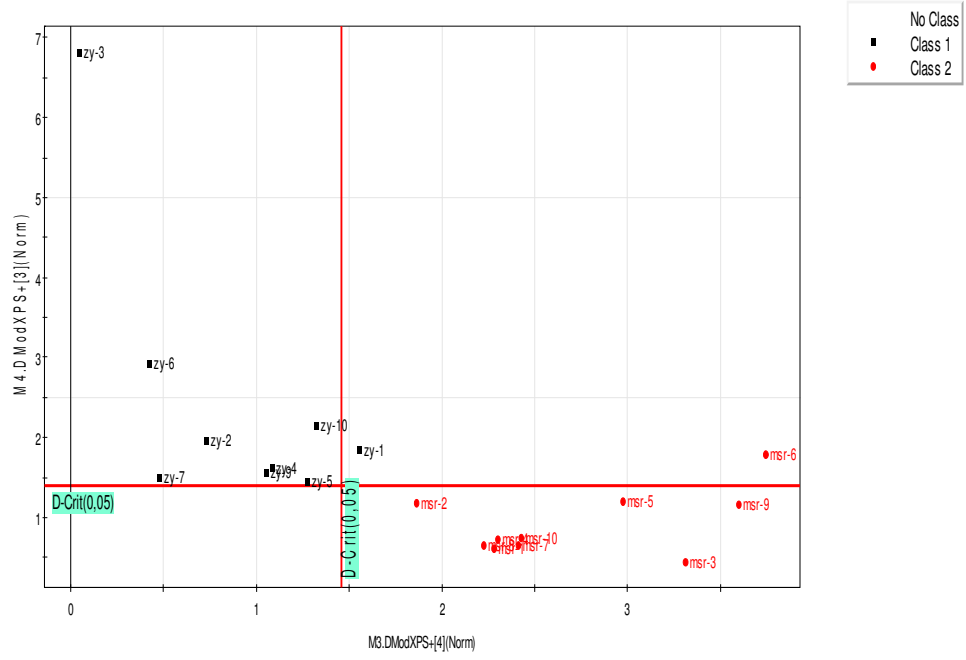
**Şekil 7.3** Zeytinyağı ve ayçiçeği yağının PCA sınıflandırma modeli (Class 1: ayçiçeği yağ örnekleri, class 2: zeytinyağı örnekleri)

Şekil 7.3’de yatay eksen ayçiçeği yağına olan uzaklığı, dikey eksen ise zeytinyağına olan uzaklığı göstermektedir. Görüldüğü gibi bu model iki farklı saf yağ sınıflandırabilmiştir.



SIMCA-P 10.5 - 27.12.2007 00:28:09

Şekil 7.4 Zeytinyağı pamuk yağının sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli (class 1: saf zeytinyağı örnekleri, class 2: saf pamuk yağı örnekleri)



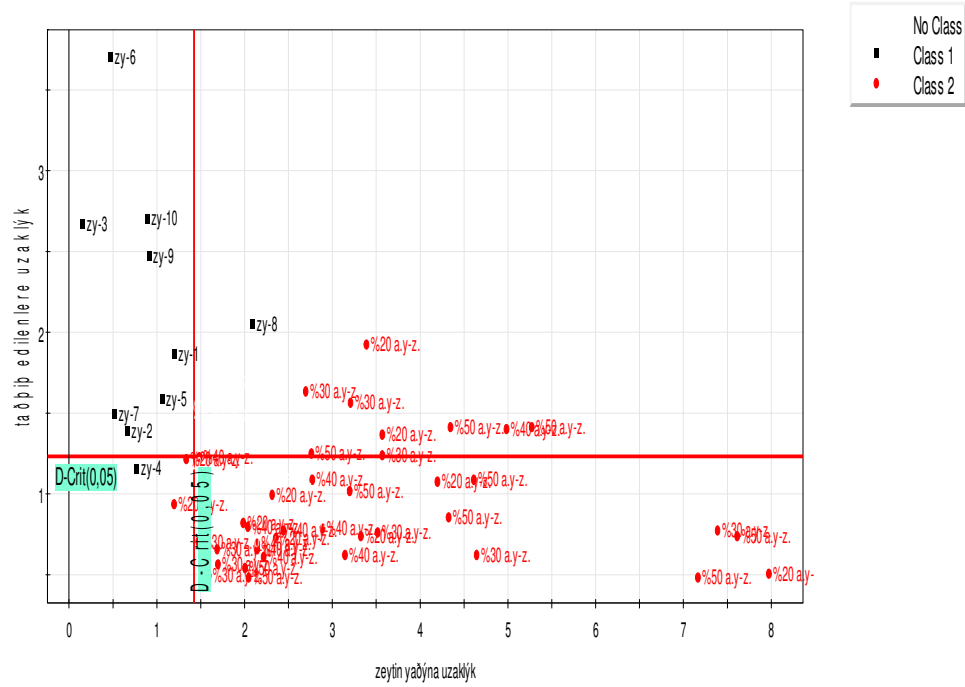
SIMCA-P 10.5 - 27.12.2007 00:24:21

**Şekil 7.5.** Mısır özü yağı ve zeytinyağı örneklerinin sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli (class 1: zeytinyağı örnekleri, class 2: mısırözü yağı örnekleri)

Yukarıdaki iki şekilden de görülebildiği gibi PCA modeliyle hem pamuk yağı, hem mısırözü yağını zeytinyağından ayrılabilmiştir.

Zeytinyağı verileri ve diğer yağların zeytinyağına belli oranlarda katılmasıyla oluşturulan sentetik karışımların sınıflandırılabilmesi için yine SIMCA-P programı kullanılarak PCA modelleri geliştirilmiştir. Bu modeller aşağıda zeytinyağına katıştırılan her bir yağ için ayrı ayrı gösterilmiştir (Şekil 7.6 – 7.8)

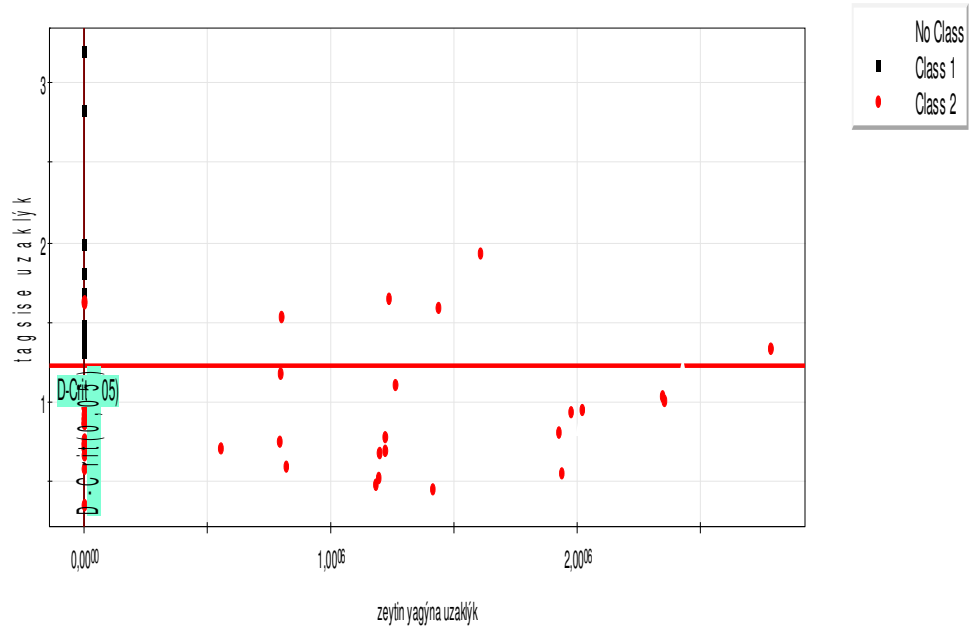




SIMCA-P 10.5 - 24.12.2007 13:13:32

**Şekil 7.6.** Saf zeytinyağı örnekleri ile farklı oranlarda ayçiçeği yağı katıştırılmış zeytinyağı örneklerinin sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli (class 1: saf zeytinyağı örnekleri, class 2: ayçiçeği yağı katışıklı zeytinyağı örnekleri)

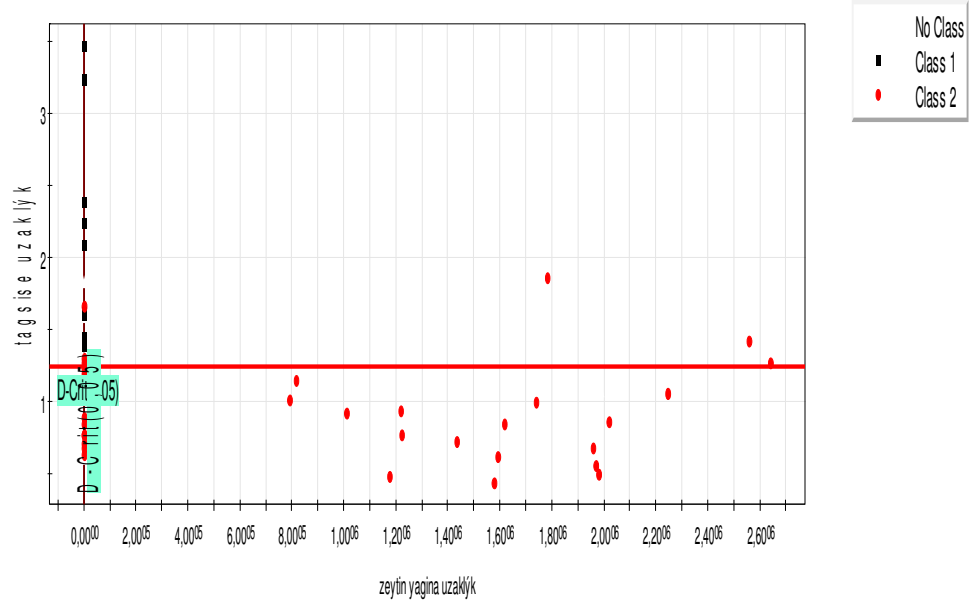
Şekilde 7.6'de, yatay eksen saf zeytinyağına olan uzaklığı, düşey eksen ise tağış edilmiş zeytinyağına olan uzaklığı göstermektedir. Aynı örneğe ait verilerin varyasyonundan dolayı özellikle katışıklı zeytinyağı örnekleri modelde büyük bir alana yayılmışlardır. Bunun sebebi olarak infrared spektrofotometresiyle yapılan ölçümlerde numune hazırlama bölümündeki sistematik hatalar gösterilebilir. Öte yandan, yukarıdaki şekilde %10 oranında tağış edilmiş zeytinyağı örnekleri modelde gösterilmemiştir. Çünkü, saf zeytinyağı ile sadece %10 katışıklı yağı bu modele göre birbirinden ayırmanın mümkün olmadığı görülmüştür. Başka bir ifadeyle, bu modelle en az % 20 oranındaki katışık zeytinyağı örneklerinin ayrımı yapılabilmektedir.



SIMCA-P 10.5 - 27.12.2007 00:04:34

**Şekil 7.7.** Zeytinyağı ve pamuk yağı katıştırılmış zeytinyağı örneklerinin sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli (class 1: zeytinyağı örnekleri, class 2: pamuk yağı katıştırılmış zeytinyağı örnekleri)

Şekil 7.7'deki modele göre yine ayçiçeği yağıyla tağsiş edilen zeytinyağı örneklerindeki gibi % 10 oranındaki pamuk yağı-zeytinyağı karışımı örnekleri saf zeytinyağından güvenli bir şekilde ayrılmamıştır. Fakat diğer ve daha yüksek derişim oranlarındaki karışımların zeytinyağından ayrılabilirdiği görülmektedir.



**Şekil 7.8.** Mısırözü katıştırılmış zeytinyağı örnekleri ve saf zeytinyağı örneklerinin sınıflandırılmasını gösteren PCA modeli ( class1: zeytinyağı, class 2: mısırözü yağı katıştırılmış zeytinyağı örnekleri)

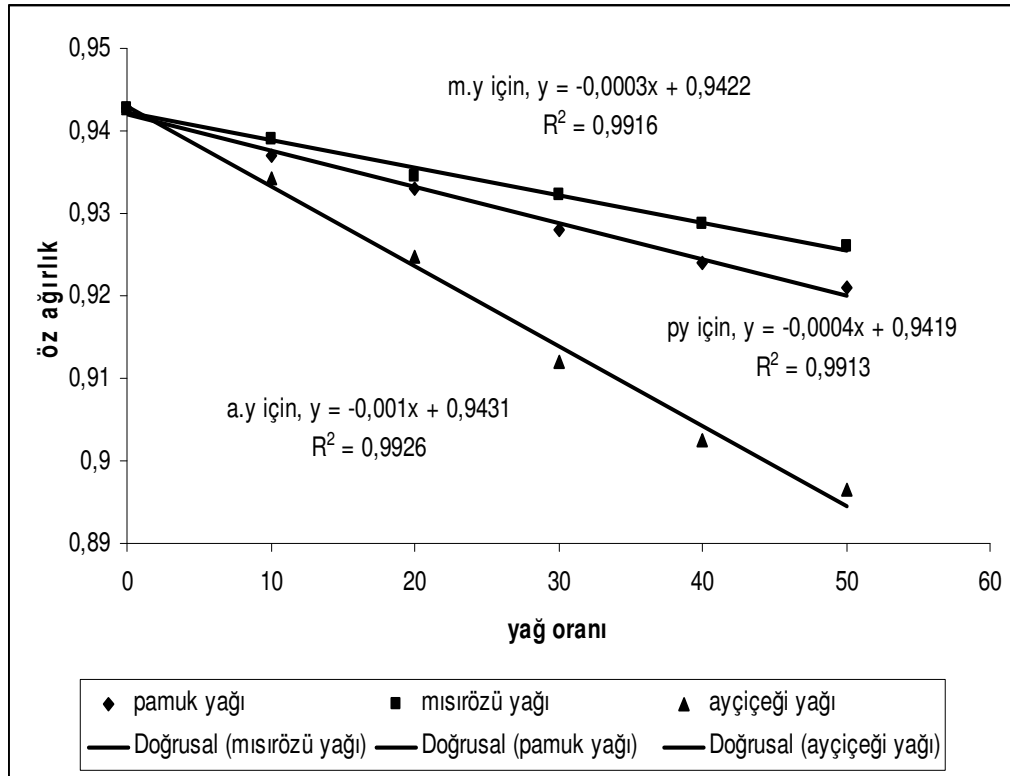
Şekil 7.6, 7.7, ve 7.8'ye göre saf zeytinyağı örnekleri ile % 10'dan daha fazla oranda diğer bitkisel yağların karıştırıldığı zeytinyağı örnekleri birbirinden ayrılabilmiştir. Bu modeller zeytinyağına % 10'dan daha fazla oranda karıştırılan farklı bir bitkisel yağın bu teknik kullanılarak belirlenebileceğini göstermiştir.

## 7.2. YAĞLARA UYGULANAN KLASİK ANALİZ SONUÇLARI

Zeytinyağındaki taşışın belirlenebilmesi için zeytinyağı ve diğer yağlarla belli oranlarda hazırlanan sentetik karışımların kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları kullanılarak zeytinyağına katıştırılan her farklı yağ için farklı bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu grafikler aynı yatay eksen ve dikey eksen çizilerek gösterilmektedir. Bu şekilde gösterimin sebebi her yağa ait taşış oranıyla değişen deneysel verinin farklılığın doğru eğimlerine bakılarak belirlemeye çalışmaktır.

### 7.2.1. Özgül Ağırlık

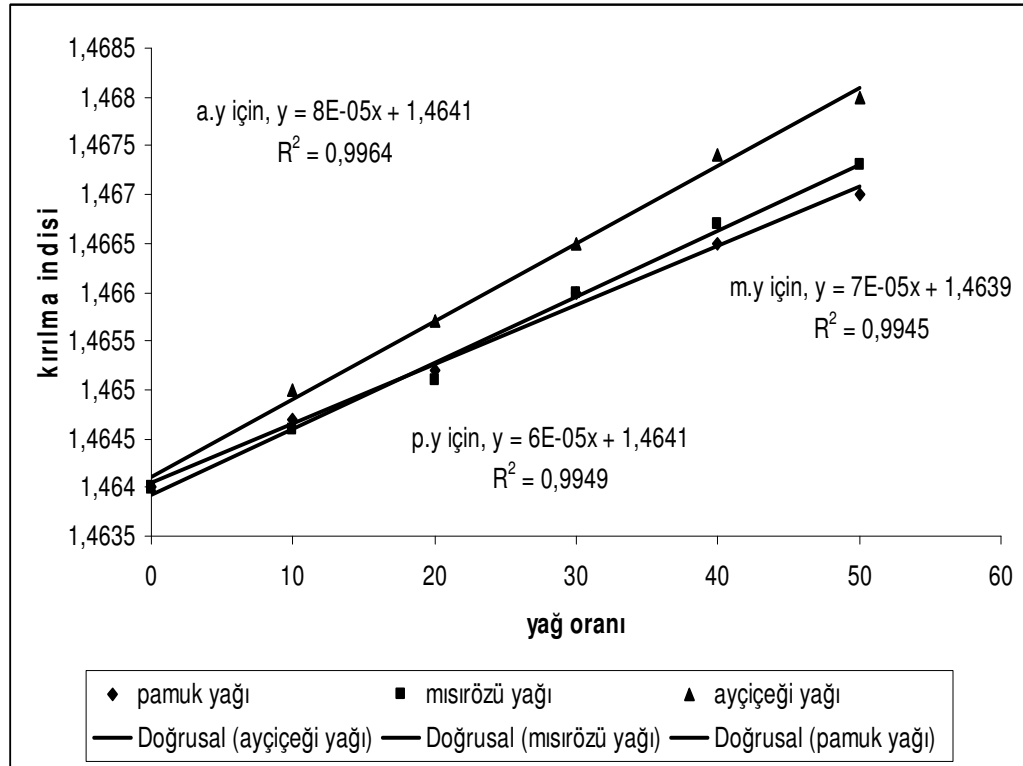
Zeytinyağına katıştırılan ayçiçeği yağı oranına karşılık oluşturulan sentetik karışımın özgül ağırlığı grafiğe geçirilerek aşağıdaki kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur.



Şekil 7.9. Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık özgül ağırlık değişim grafiği

### 7.2.2. Kırılma İndisi

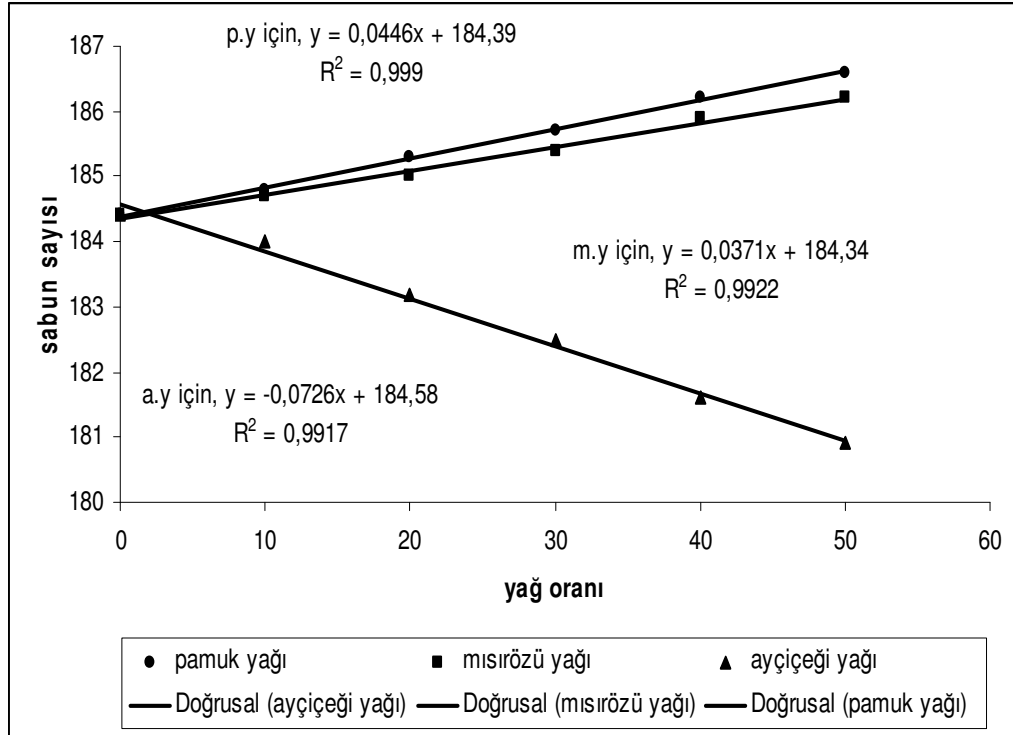
Zeytinyağına karıştırılan pamuk, mısırözü ve ayçiçeği yağı oranlarına karşılık bu sentetik karışımların kırılma indisleri grafiğe geçirilerek aşağıdaki şekil elde edilmiştir.



**Şekil 7.10.** Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık kırılma indisindeki değişim grafiği

### 7.2.3. Sabunlaşma Sayısı

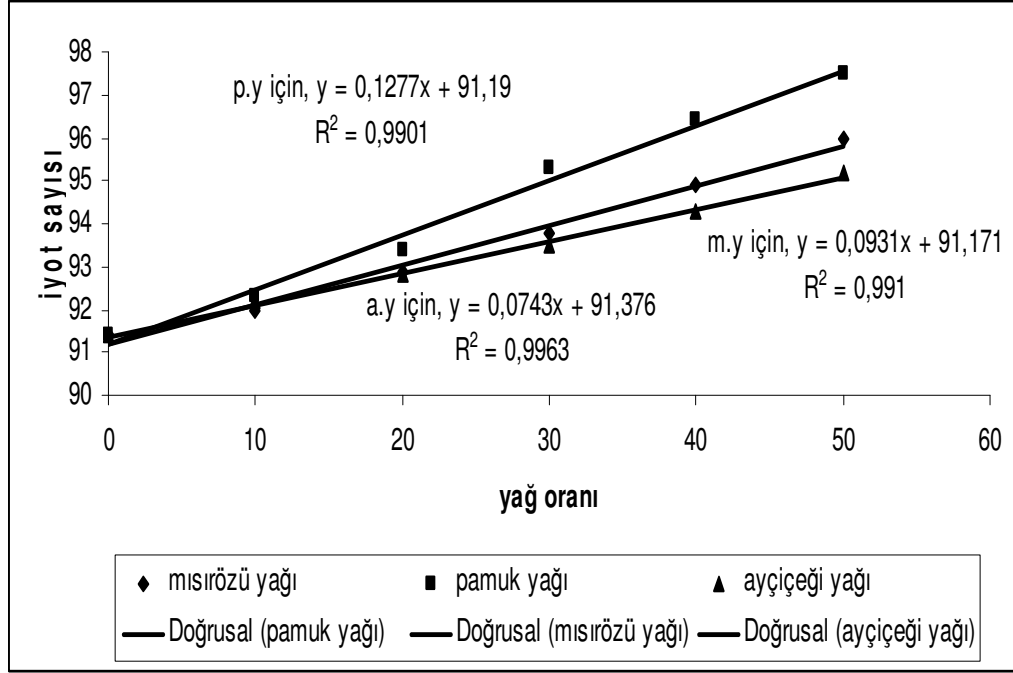
Saf zeytinyağı ve zeytinyağıyla mısırözü, ayçiçeği ve pamuk yağının karıştırılmasıyla oluşturulan sentetik karışımların sabunlaşma sayıları tayin edilerek bu değerler her farklı yağ için karışma oranlarına karşılık grafiğe geçirilmiş ve aşağıdaki şekil elde edilmiştir.



Şekil 7.11. Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık sabunlaşma sayısındaki değişim grafiği

### 7.2.4. İyot Sayısı

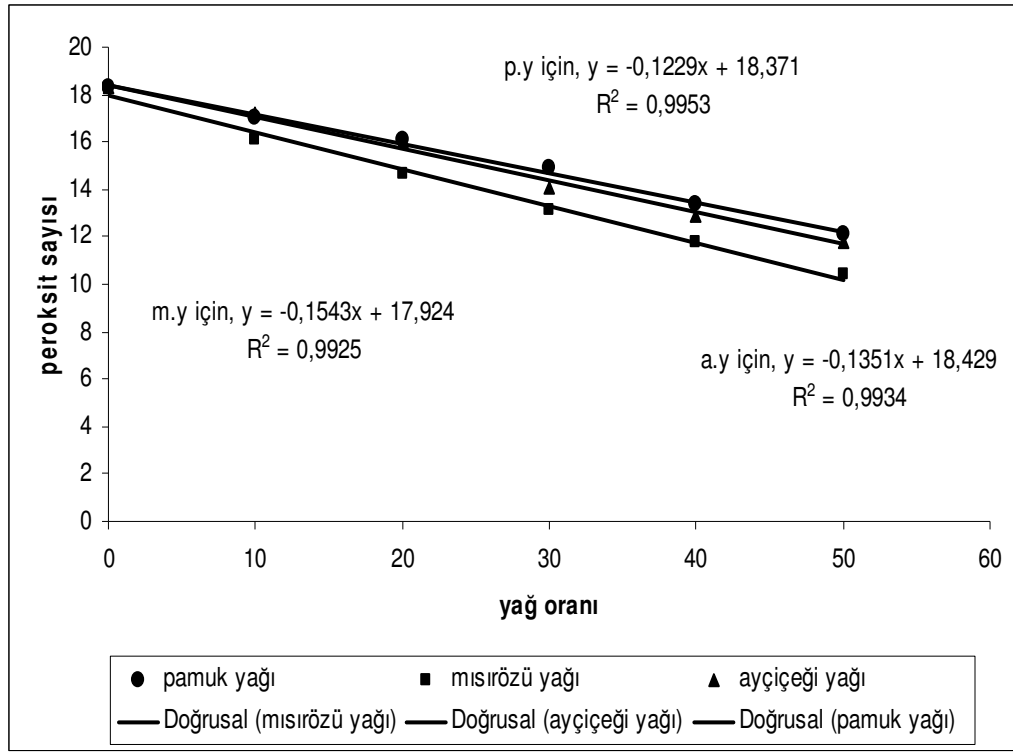
Zeytinyağı ve hazırlanan sentetik karışımların iyot sayıları birleşme oranına karşılık grafiğe geçirilerek aşağıdaki şekil edilmiştir.



Şekil 7.12. Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık iyot sayısındaki değişim grafiği

### 7.2.5. Peroksit Sayısı

Diğer bütün analiz yöntemlerindeki gibi yine peroksit sayısı değerleri de hazırlanan sentetik karışımların birleşme oranlarına karşılık grafiğe geçirilerek aşağıdaki şekil oluşturulmuştur.



**Şekil 7.13.** Zeytinyağına katıştırılan yağın oranına karşılık peroksit sayısındaki değişim grafiği

Yukarıda şekil 7.9 -7.13 ile gösterilen değişim grafiklerindeki doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları aşağıdaki tablonun 2. ve 3. sütunlarında gösterilmiştir. Tüm doğrular için korelasyon katsayıları 0,99'dan büyüktür. Bu durum, ölçülen büyüklük (mesela, iyot sayısı) ile zeytinyağına katıştırılan yağ oranı arasındaki ilişkinin doğrusallığını yüksek bir güvenilirlikle ifade etmeye olanak verir.



**Tablo 7.2.** Zeytinyağının pamuk, ayçiçeği ve mısır yağlarıyla oluşan karışımların kalibrasyon grafiklerinin doğru denklemi, korrelasyon katsayısı, n=5 ve % 5 bağlı standart sapma varsayılarak hesaplanan mutlak standart sapma ile kalibrasyon doğrusu eğim değerinin %95 güven aralığı.

Örnek	Doğru denklemi	Korrelesyon katsayısı, R <sup>2</sup>	Ölçüm sayısı *	% bağlı standart Sapma *	Standart sapma *	Doğru denkleminin eğiminin % 95 güven aralığı **,*
<b>Özgül ağırlık</b>						
Zeytinyağı-pamuk yağı	Y = - 0,0004 x + 0,9419	0,9913	5	% 5		
Zeytinyağı-ayçiçeği yağı	Y = - 0,0001 x + 0,9431	0,9926	5	% 5		
Zeytinyağı-mısırözü yağı	Y = - 0,0003 x + 0,9422	0,9916	5	% 5		
<b>Kırılma İndisi</b>						
Zeytinyağı-pamuk yağı	Y = +0,00006 x + 1,4641	0,9949	5	% 5		
Zeytinyağı-ayçiçeği yağı	Y = +0,00008 x + 1,4641	0,9964	5	% 5		
Zeytinyağı-mısırözü yağı	Y = +0,00007 x + 1,4639	0,9945	5	% 5		
<b>Sabunlaşma sayısı</b>						
Zeytinyağı-pamuk yağı	Y = +0,0446 x + 184,39	0,9990	5	% 5	0,00223	0,0418 – 0,0468
Zeytinyağı-ayçiçeği yağı	Y = - 0,0726 x + 184,58	0,9917	5	% 5	0,00363	0,0681 – 0,0771
Zeytinyağı-mısırözü yağı	Y = +0,0371 x + 184,34	0,9922	5	% 5	0,00186	0,0348 – 0,0394
<b>İyot sayısı</b>						
Zeytinyağı-pamuk yağı	Y = +0,1277 x + 91,190	0,9901	5	% 5	0,00639	0,1198 – 0,1356
Zeytinyağı-ayçiçeği yağı	Y = +0,0743 x + 91,376	0,9963	5	% 5	0,00372	0,0697 – 0,0798
Zeytinyağı-mısırözü yağı	Y = +0,0931 x + 91,171	0,9910	5	% 5	0,00466	0,0873 – 0,0989
<b>Peroksit sayısı</b>						
Zeytinyağı-pamuk yağı	Y = - 0,1229 x + 18,371	0,9953	5	% 5	0,00615	0,1153 – 0,1306
Zeytinyağı-ayçiçeği yağı	Y = - 0,1351 x + 18,429	0,9934	5	% 5	0,00676	0,1283 – 0,1419
Zeytinyağı-mısırözü yağı	Y = - 0,1543 x + 17,924	0,9925	5	% 5	0,00772	0,1466 – 1,1620

\*) Varsayılan ve böylece hesaplanan değerler.

\*\*\*) n=5 ve % 95 güven düzeyi için kritik t değeri = 2.78 alınmıştır.

Yukarıdaki tabloyu düzenlemekteki amaç klasik analiz sonuçlarına dayanarak zeytinyağına karıştırılan yağın cinsi ve miktarının saptanmasının olanaklı olup olmadığını tartışmaktır. Özgül ağırlık ve kırılma indisi için elde edilen doğruların eğimi çok küçük ve aynı zamanda birbirine çok yakındır. Bu nedenle, katışıklı olduğundan kuşkulanan zeytinyağlarının özgül ağırlık ve/veya kırılma indisi ölçülerek, katıştırılan yağın cinsi ve miktarını kestirebilmek asla olanaklı değildir.

Diğer büyüklüklere ait grafikler incelendiğinde ilginç sonuçlar ortaya çıkmaktadır:

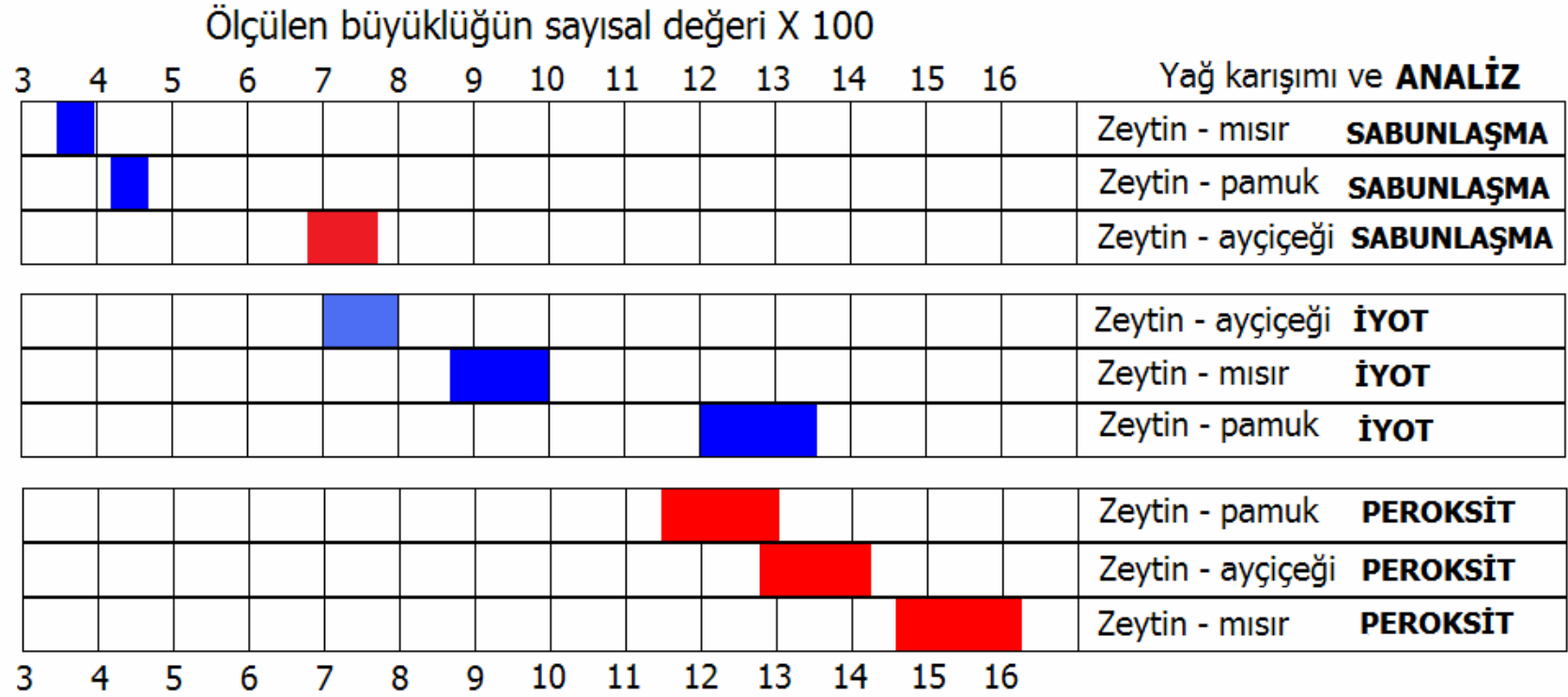
- Katıştırılan yağın cinsine bağlı olmaksızın iyot sayısı, katıştırılan yağın miktarına bağlı olarak daima artmaktadır.
- Keza, katıştırılan yağın cinsine bağlı olmaksızın peroksit sayısı, katıştırılan yağın miktarına bağlı olarak daima azalmaktadır.
- Sabunlaşma sayısı ile ilgili değişim çok ilginçtir. Zeytinyağına ayçiçeği yağı katıştırılmasıyla sabunlaşma sayısı azalmakta, diğer yağların katıştırılması ile ise artmaktadır.

Bu grafiklerin eldesinde her bir numunede değişimi izlenen büyüklük için sadece iki tayin yapıldığı için doğru denklemlerinin eğimlerinin yağları sınıflandırmada kullanılıp kullanılmayacağını tartışabilmek için aşağıdaki varsayımlar yapılmıştır.

- Tüm değerler 5 ölçümün ortalamasıdır, ve
- ölçümlerin bağıl standart sapması en fazla % 5'tir (bakınız tablonun 4. ve 5. sütunları).

Bu kabuller uyarınca hesaplanan standart sapma mutlak değerleri sütun 6'da, 4 serbestlik derecesi ve % 95 güven düzeyi için t-testi tablosundaki kritik t değeri kullanılarak hesaplanan % 95 güven aralıkları sütun 7'de gösterilmiştir.

Gerek sabunlaşma, gerek iyot ve gerekse peroksit sayısının zeytinyağına katılan pamuk, ayçiçeği veya mısır özü ile değişiminin eğim aralıkları birbiriyle hemen hemen hiç örtüşmemektedir. (şekil 7.14).



**Şekil 7.14.** Zeytinyağının diğer üç yağla oluşturduğu karışımların, karıştırılan yağın miktarıyla değişen SABUNLAŞMA, İYOT ve PEROKSİT sayılarının değişim eğim aralıklarının örtüşme deseni. SİYAH renk değişimin pozitif, GRİ renk değişimin NEGATİF yönde olduğunu göstermektedir.

Yukarıdaki şekil incelendiğinde:

- 1- Katıştırılan yağ oranı arttıkça pozitif değişme gösteren grafiklerin eğimlerindeki % 95 güven aralığını temsil eden bölgelerin asla örtüşmediği,
- 2- Negatif değişme gösterenlerin kendi aralarında ve sadece zeytinyağı-pamuk yağı ve zeytinyağı-ayçiçeği yağı örneklerinin peroksit sayılarında çok az örtüştüğü,
- 3- Zeytinyağı-pamuk yağı karışımının iyot sayısına ait bölgenin hem zeytinyağı-pamuk yağı ve hem de zeytinyağı-ayçiçeği yağının peroksit değer bölgeleriyle örtüştüğü; ancak, iyot sayısındaki değişimin eğimi pozitifken peroksit sayısı eğim değişimlerinin negatif olduğu görülmektedir.

Bu tespitler sonucunda bu üç sayıdan bazı durumlarda birindeki, bazı durumlarda ise ikisindeki değişmeği ölçerek zeytinyağına karıştırılan yağın cinsini, bu karışım için hazırlanan oran-sayısal büyüklük grafikleri yardımı ile de karıştırılan yağın oranını bulmak mümkün olabilecektir.

Karıştırılan yağın oranında değişme sağlamanın uygun yolu: önce numunenin (karışımın) (sabunlaşma, veya iyot, veya peroksit) sayılarından birini tayin etmek; sonra, bu karışımın küçük bir miktarı üzerine eşit hacimde saf zeytinyağı ekledikten sonra aynı büyüklüğü 2. kez ölçmek, daha sonra da zeytinyağı ile seyreltilmiş karışıma bir kez daha eşit hacimde saf zeytinyağı ekledikten sonra aynı sayıyı 3. kez ölçmek şeklinde olabilir. Böylece, her defasında yarı yarıya saf zeytinyağı ile seyreltilmiş karışımın ölçülen büyüklüğüne ait üç değer okunmuş olacaktır. Tabiatıyla, ölçümler 3-5 kez tekrarlanarak analizin duyarlılığı artırılmalıdır. Üç farklı seyrelme oranı için ölçülen üç değer bir doğru üzerinde olma olasılığı oldukça yüksektir. Bu üç değer ile çizilen seyrelme oranı-sayısal değer grafiğindeki noktalardan geçen doğrunun korrelasyon katsayısının  $\geq 0.99$  olması halinde işleme devam edilebilir. Bu durumda aşağıdaki olasılıklar söz konusu olacaktır.

- 1- Sabunlaşma sayısındaki değişim grafiğinin eğiminin negatif olması zeytinyağına karıştırılan yağın ayçiçeği yağı olduğunu gösterir.

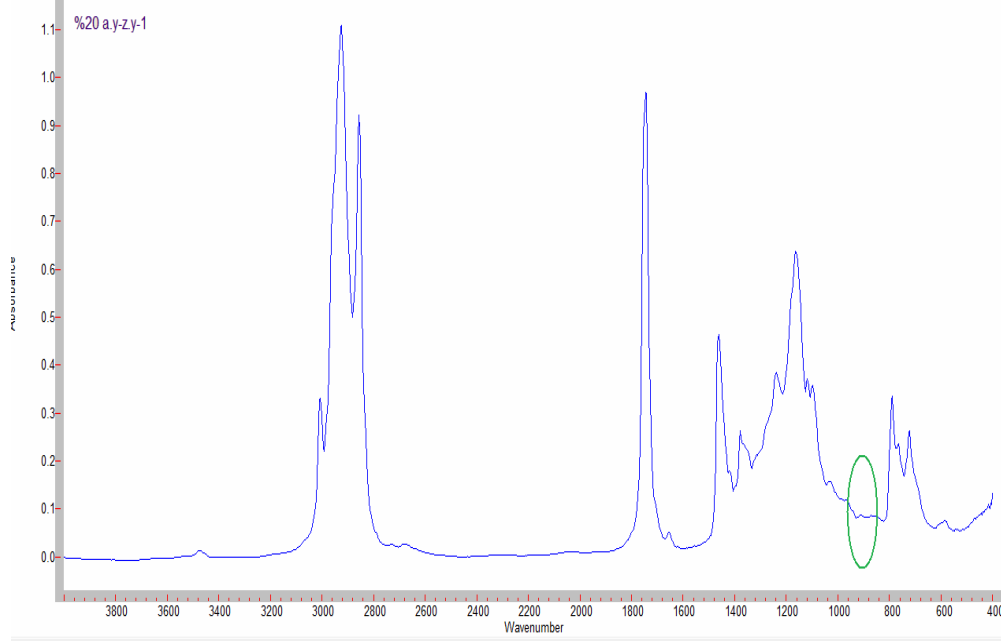
- 2- Sabunlaşma sayısındaki değişim grafiğinin eğiminin pozitif olması halinde zeytinyağına pamuk veya mısır yağından biri karıştırmış olabilir. Kesine yakın yargıya varmak için aynı karışımların iyot sayılarındaki değişim grafiklerinin eğimleri hesaplanır. Bu değişimin eğimi, sabunlaşma sayısı değişiminin eğiminden çok yüksek ve 12-13.5 aralığında karıştırmış yağın pamuk yağı, iyot sayısındaki değişimin eğimi, sabunlaşma sayısındaki değişimin eğiminden büyük olduğu halde 8.5-10 aralığında bulunuyorsa karıştırmış yağın mısırözü yağı olduğu sonucuna varılabilir.

## KAYNAKLAR

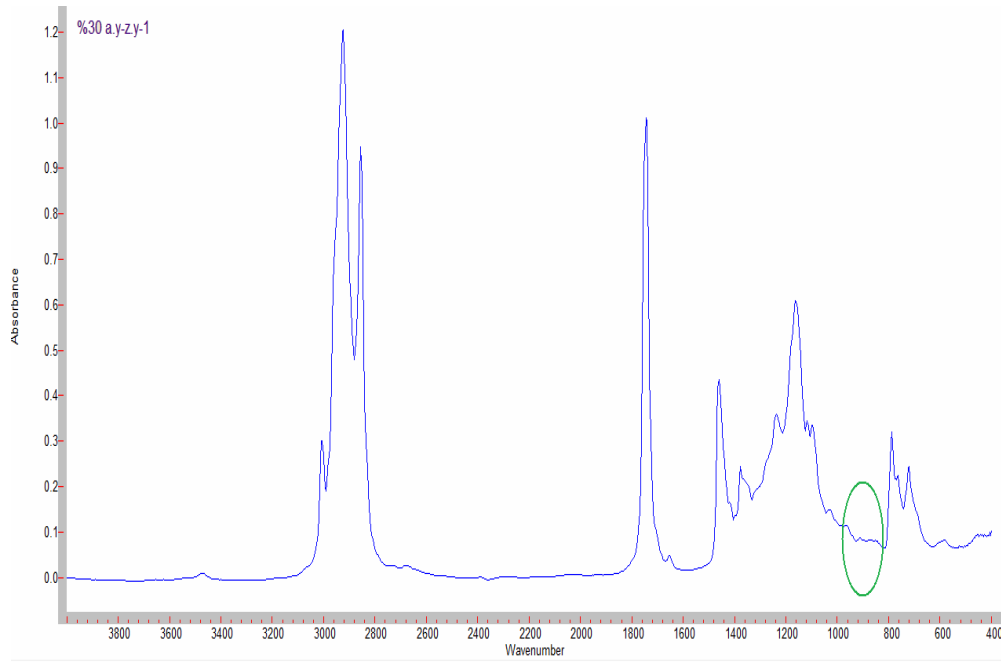
- Tay, A., Singh, R.K., Krishnan, S.S., Gore, J.P. 2001. Authentication of olive oil adulterated with vegetable oils using fourier transform infrared spectroscopy. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.**, **35**: 99-103.
- Jaswir, I., Mirghani, M.E.S., Hassan, T.H., Said, M.Z.M. 2003. Determination of lard mixture of body fats of mutton and cow by fourier transform infrared spectroscopy. **Journal Of Oleo Science**, **52**: 633-638.
- Lankmayr, E., Mocak, J., Serdt, K., Balla, B., Wenzl, T., Bandoniene, D., Gfrerer, M., Wagner, S. 2004. Chemometrical classification of pumpkin seed oils using UV – Vis, NIR and FTIR spectra. **Journal of biochemical and biophysical methods**, **61**: 95-106.
- Yang, H., Irudayaraj, J., Paradkar, M.M. 2004. Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, **93**: 25-32.
- Christy, A.A., Kasemsumran, S., Du, Y., Ozaki, Y. 2004. The detection and quantification of adulterated in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics. **The Japan Society for Analytical Chemistry**, **20**: 935-940.
- Al-Alawi, A., Van De Voort, F.R., Sedman, J. 2005. A new method for the analysis of low levels of FFA in refined edible oils. **Taylor and Francis, Inc.**, **38**: 389-403.
- Kasemsumran, S., Kang, N., Christy, A., Ozaki, Y. 2005. Partial least squares processing of near-infrared spectra for discriminaton and quantification of adulterated olive oils. **Taylor and Francis, Inc.**, **38**: 839-851.
- Vlachos, N., Skopelitis, Y., Psaroudaki, M., Konstantinidou, V., Chatzilazarou, A., Tegou, E. 2006. Applications of fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. **Analytica Chimica Acta**, **573**: 459-465.
- Stefanouadaki, E., Kotsifaki, F., Koutsaftakis, A. 1996. The potential of HPLC triglyceride profiles for the classification of cretan olive oils. **Food Chemistry**, **60** (3): 425-432.
- Deineka, V.I., Deineka, L.A. 2004. Analysis of vegetable oils by microcolumn high-performance liquid chromatography. **Journal of Analytical Chemistry**, **59** (9): 895-898.
- Cerretani, L., Bendini, A., Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., Caboni, M.F., Toschi, T.G. 2005. Preliminary characterisation of virgin olive oils obtained from different cultivars in Sardinia. **Eur Food Res Technol**, **222**: 354-361.
- Capote, F.P., Jimenez, J.R., Luque de Castro, M.D. 2007. Sequential (step-by-step) detection, identification and quantitation of extra virgin olive oil adulteration by chemometric treatment of chromatographic profiles. **Anal Bional Chem**, **388**: 1859-1865.
- Sicorska, E., Romaniuk, A., Khmelinskii, I.V., Herance, R., Bourdelande, J.L., Sikorski, M., Koziol, J. 2003. Characterization of edible oils using total luminescence spectroscopy. **Journal of Fluorescence**, **14** (1): 25-35.

- Sayago, A., Morales, M.T., Aparicio, R. 2004. Detection of hazelnut oil in virgin olive oil by a spectrofluorimetric method. **Eur Food Res Technol**, **218**: 480-483.
- Guimet, F., Ferrê, J., Boquê, R. 2005. Rapid detection of olive-pomace oil adulteration in extra virgin olive oils from the protected denomination of origin "Siurana" using excitation-emission fluorescence spectroscopy and three-way methods of analysis. **Analytica Chimica Acta**, **544**: 143-152.
- Lorenzo, I.M., Perêz Pavôn, J.L., Fernández Laespada, M.E., Pinto, C.G., Cordero, B.M., Henriques, L.R., Peres, M.F., Simoes, M.P., Lopes, P.S. 2002. Application of headspace – mass spectrometry for differentiating sources of olive oil. **Anal Bioanal Chem**, **374**: 1205-1211.
- Diaz, T. G., Meras, I. D., Casas, J. S., Franco M. F. A. 2004. Characterization of virgin olive oils according to its triglycerides and sterols composition by chemometric methods. **Food Control**, **16**: 339-347.

**Ek 1** Zeytinyağına diğer yağların (mısırözü, pamuk ve ayçiçeği yağı) farklı oranlarda (% 20, % 30, % 40 ve % 50) karıştırılmasıyla elde edilen karışımların infrared spektrumları

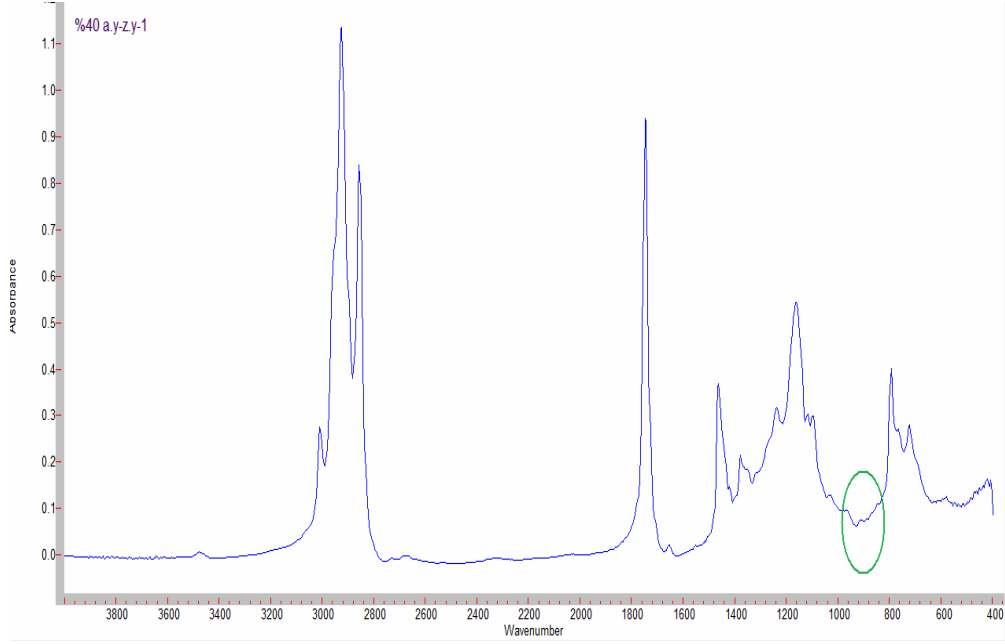


% 20 oranında ayçiçeği yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu

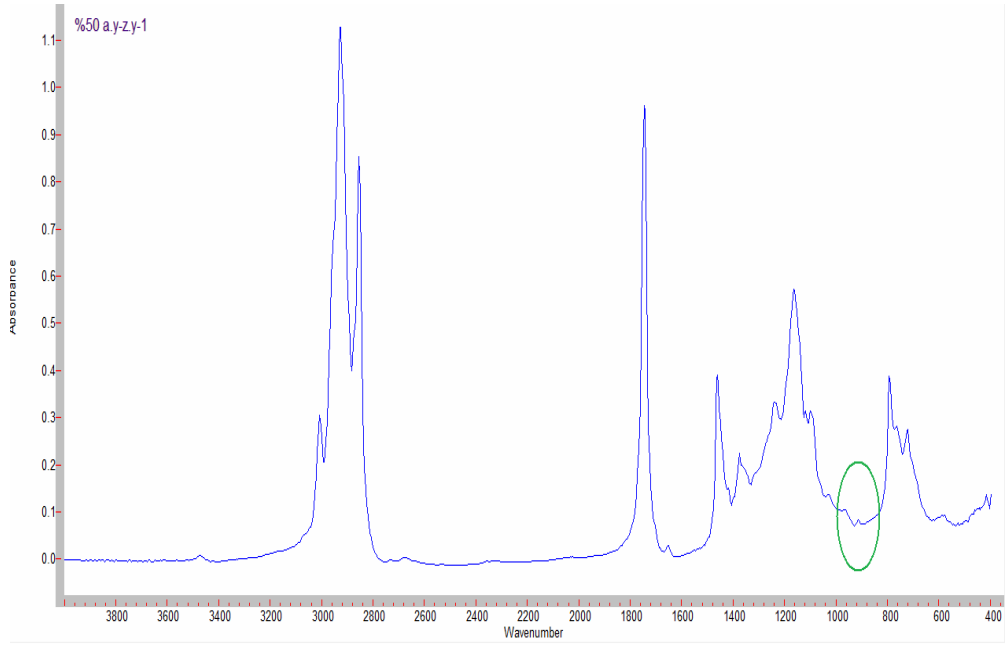


% 30 oranında ayçiçeği yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu

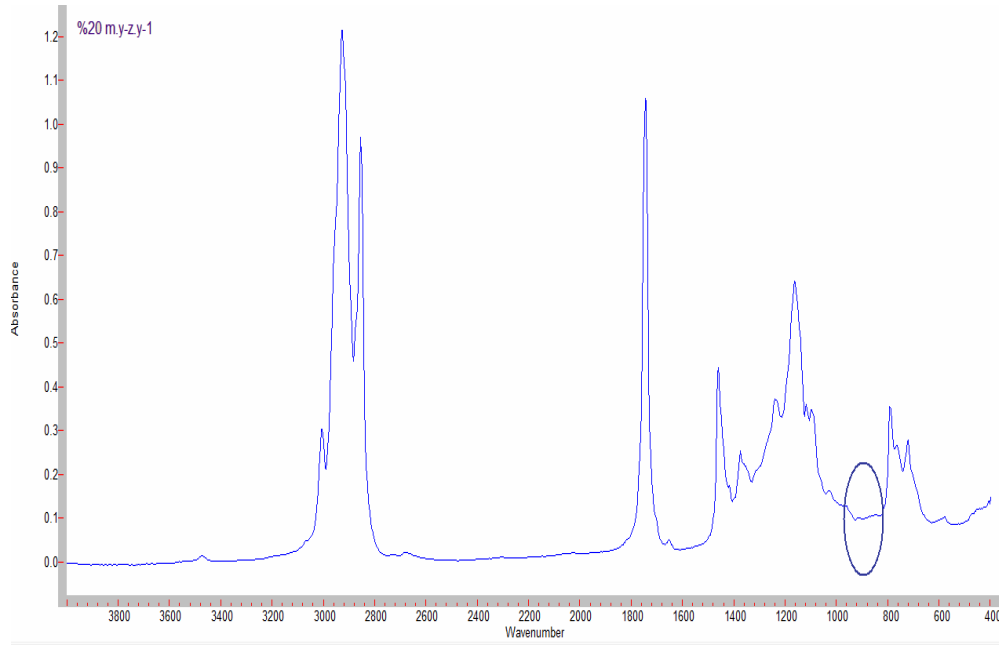




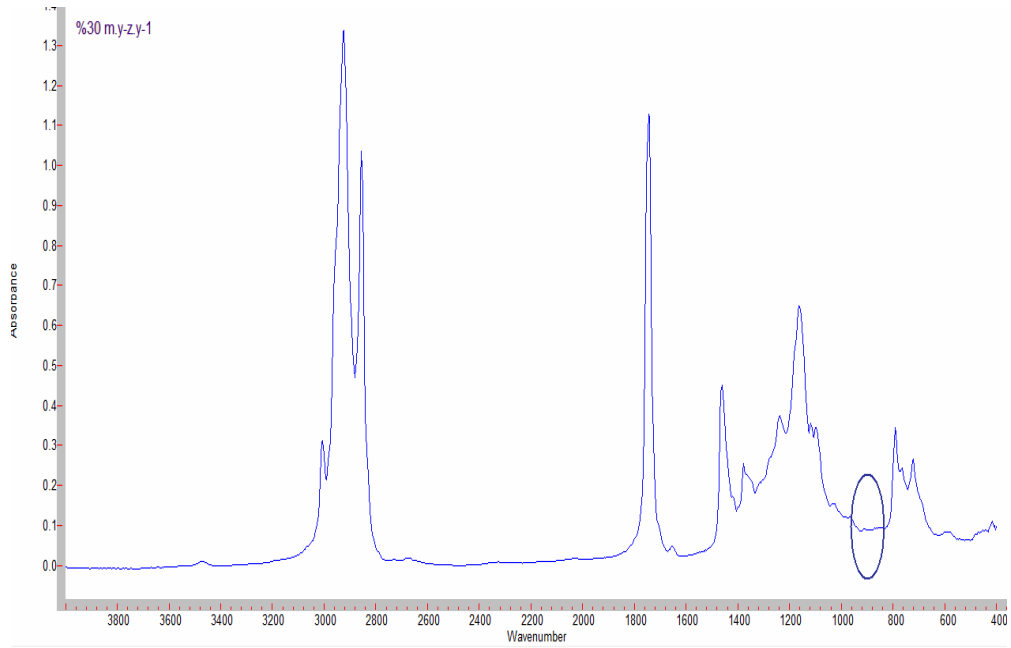
% 40 oranında ayçiçeği yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



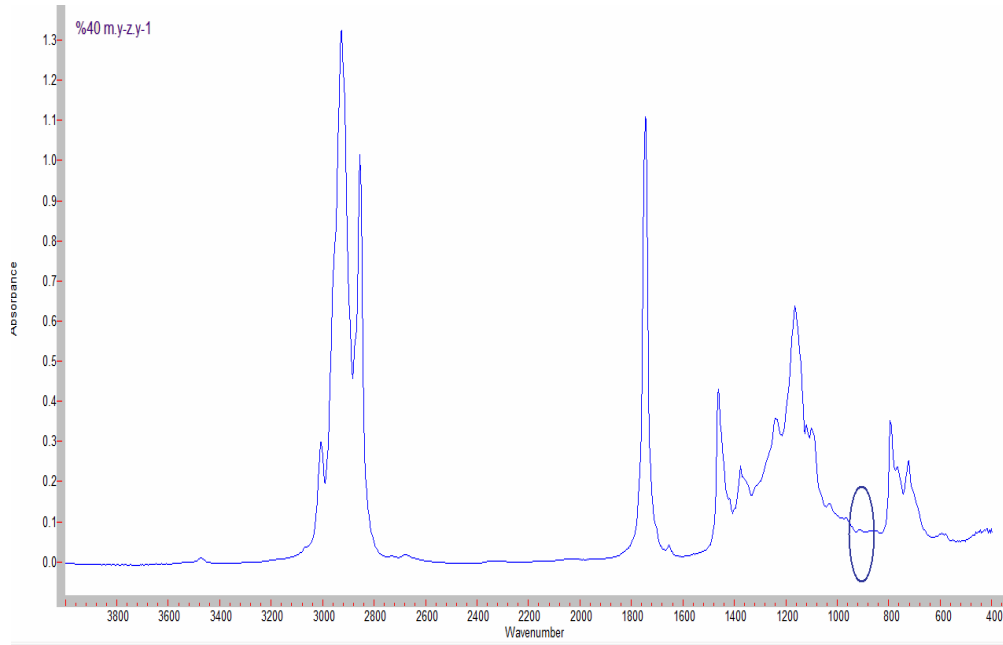
% 50 oranında ayçiçeği yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



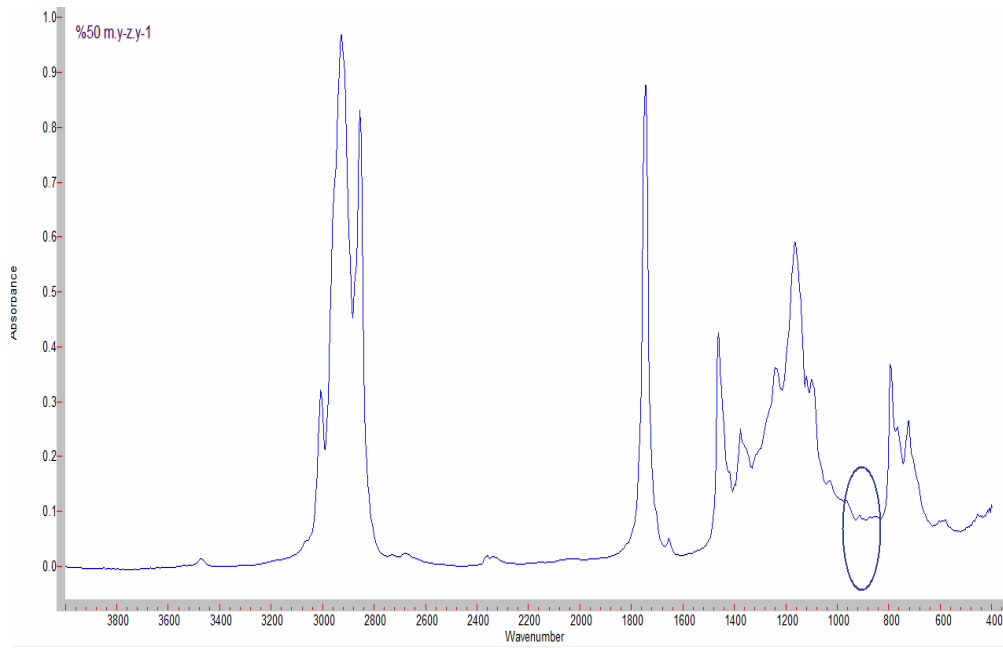
% 20 oranında pamuk yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



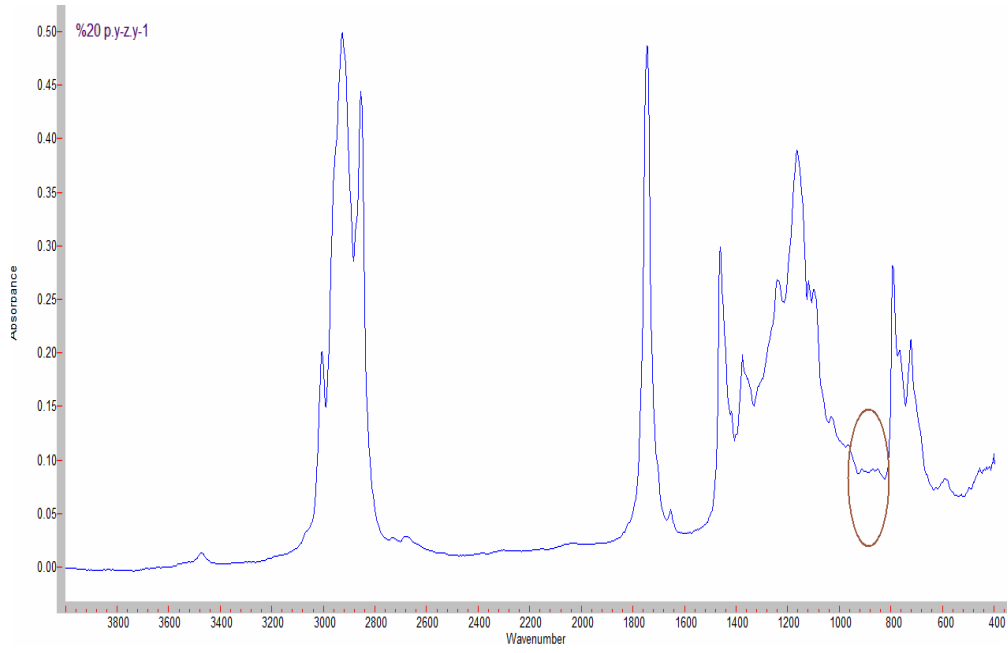
% 30 oranında pamuk yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



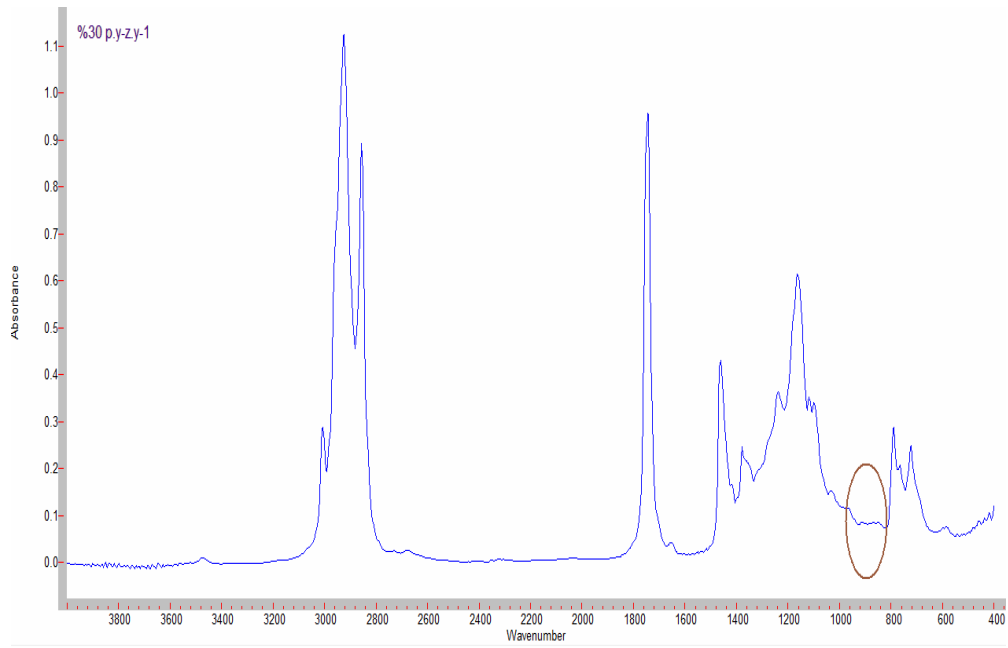
% 40 oranında pamuk yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



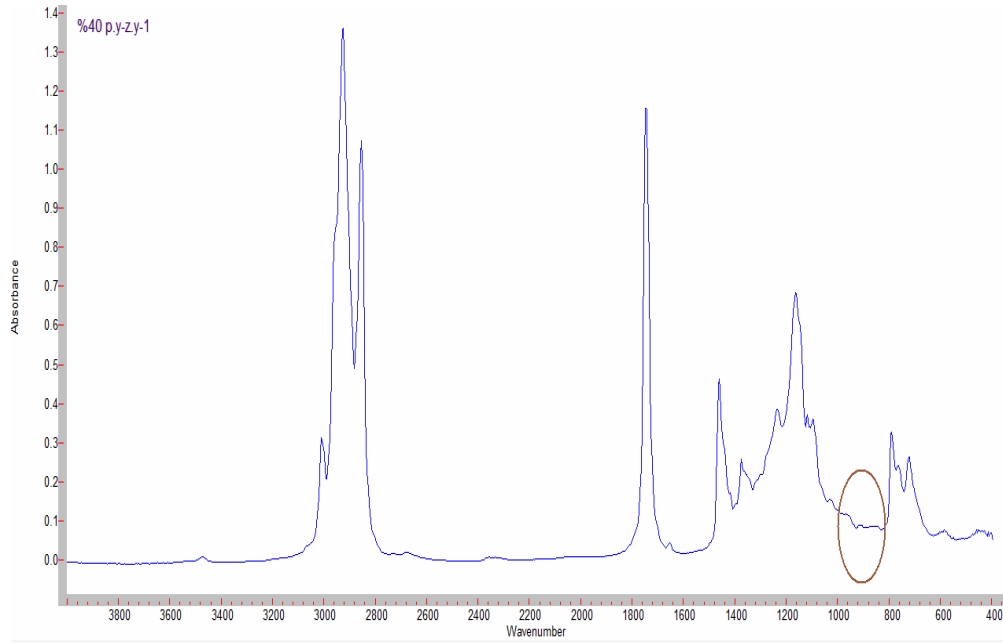
% 50 oranında pamuk yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



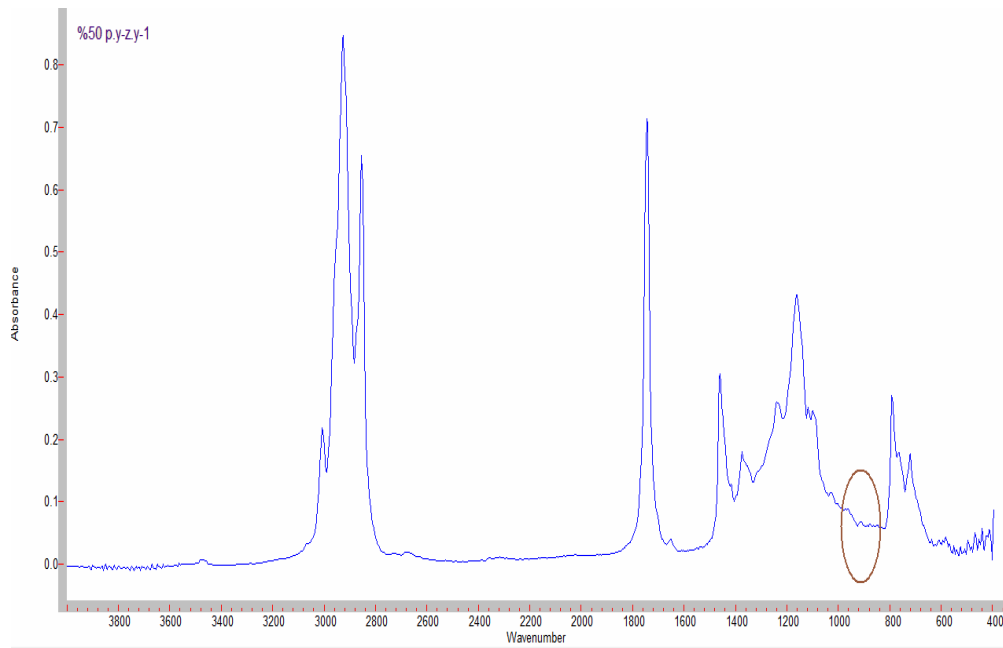
% 20 oranında mısırözü yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



% 30 oranında mısırözü yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



% 40 oranında mısırözü yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektrumu



% 50 oranında mısırözü yağı katıştırılmış zeytinyağına ait infrared spektru

**ÖZ GEÇMİŞ****KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : Tülin TAŞ  
Doğum Yeri ve Tarihi : Aydın / 13.02.1983

**EĞİTİM DURUMU**

Lisans Öğrenimi : Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat  
Fakültesi  
Kimya Bölümü  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Fen bilimleri  
Enstitüsü  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

**İLETİŞİM**

E-posta Adresi : chemisttas@hotmail.com  
Tarih : 21.01.2008