

GAZ KROMATOGRAFİSİNDE FARKLI POLARİTEDE İKİ KAPİLER KOLON KULLANILARAK ÇEŞİTLİ YAĞLARDAKİ YAĞ ASİTLERİNİN CİS-TRANS İZOMERLERİNİN ANALİZİ

ANALYSIS OF FATTY ACID CIS-TRANS ISOMERS IN DIFFERENT OILS AND FATS BY USING CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY WITH DIFFERENT POLARITY COLUMNS

Harun DIRAMAN, Yaşar HIŞIL

Tarım ve Köylüleri Bakanlığı Zeytinlik Araştırma Enstitüsü, Bornava, İzmir
Ege Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü Bornava, İzmir

ÖZET: Kromatografik yöntemler sayesinde belirli bir karışım, en mükemmel bir şekilde bileşenlerine ayrılabilir. Son yıllarda gaz kromatografisinde yüksek ayırma gücüne sahip olmalarından dolayı kapiler kolon kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu çalışmada gaz kromatografisinde farklı polaritede iki kapiler (J&W DB-23 ve HP-5) kolon kullanılarak çeşitli yağlarda (tereyağı, palm-olein yağı, rafine mısır özü yağı, naturel zeytinyağı, susam yağı, rafine ayçiçek yağı) yağ asitlerinin cis-trans izomerleri incelenmiştir. Yağlardaki trans yağ asitleri düzeylerinin tıp dünyası tarafından kalp rahatsızlıklarına ilişkin bir risk faktörü olarak önem arzettiği bilinmektedir. Diyetlerdeki trans yağ asitlerinin kandaki HDL kolesterolü düşürürken LDL kolesterolü arttırdığı çeşitli klinik araştırmalar ile gösterilmiştir. Kromatografik analizlerin tamamı aynı şartlar altında DB-23 ve HP-5 kapiler kolonlar kullanılarak HP-6890 - GC cihazında yapılmıştır. Analiz edilen bütün yağ örneklerinde sadece DB-23 kolonu ile trans yağ asitleri tespit edilebilmiştir. HP-5 kolonu trans yağ asitleri ve linoleik ve linolenik asit gibi asitleri izomerlerini ayıramamıştır. Her iki kolondan elde edilen kromatogramlardan, DB-23 kolonunun HP-5 kolonundan daha iyi ayırdığı anlaşılmaktadır. Analiz edilen tereyağı örneklerinde trans yağ asitleri değişim sınırları sırası ile $C_{14:1}$ t 0.67 - 0.91, $C_{16:1}$ t 0.29 - 0.37; $C_{18:1}$ t (elaidik asit olarak) %0.65 - 1.64; ($C_{18:2}$ t + $C_{18:3}$ t) toplam değerleri ise %0.14-0.28 arasında bulunmuştur. Bitkisel sıvı yağ örneklerinde ise bu değerler - miristik asidin trans değeri hariç - sırası ile %0.005-0.03, %0.009 - 0.05 (elaidik asit), %0.08-0.34 olmuştur. Araştırma örneklerinde en yüksek elaidik asit değeri de tereyağında %1.64 olarak belirlenmiştir.

ABSTRACT: The components known mixture are perfectly separated by means of chromatographical methods into their sub-components. Recently the using of capillary columns in gas chromatography (GC) have been widely increased due to the power of separation. In this study, cis-trans isomers of fatty acids in various oils and fats (refined corn oil, natural olive oils, natural sesame oil refined sunflower oil, butters) were analyzed by means of two different capillary columns (J&W DB-23 and HP-5) in gas chromatography (HP-6890 GC). It is known that the levels of trans-fatty acids in oils are of importance as a risk factor with reference to cardiovascular diseases on the part of the medical world. Dietary trans fatty acids have been shown to increase plasma LDL cholesterol by means of various clinical investigations while decreasing plasma HDL cholesterol levels. HP-5 column could not separated trans fatty acids and some cis isomers of fatty acids such as the separation of linoleic acid and linolenic acid. It is clearly showed that DB-23 column has more effective and the high resolution than HP-5 column. With respect to the analysis results, levels of trans-isomers of myristoleic acid ($C_{14:1}$ t), and palmitoleic acid ($C_{16:1}$ t), elaidic acid ($C_{18:1}$ t) and total trans isomers of linoleic and linolenic acids ($C_{18:2}$ t + $C_{18:3}$ t) for butter samples were within the ranges of 0.67-0.91 %0.29-0.23%, 0.65-1.64% and 0.14-0.28% respectively. For vegetable oil samples those values except myristoleic acid ($C_{14:1}$ t), are ranged amongst 0.005 - 0.03%, 0.009 - 0.05%, %0.08 - 0.34% respectively. In addition, the highest level of elaidic acid in the analyzed oil samples was found as 1.64% in butter sample.

GİRİŞ

Kromatografide analizcinin amacı belli bir karışımı en iyi bir şekilde bileşenlerine ayırmaktır. Bunun için çeşitli kromatografik metotlar geliştirilmiştir. Gaz kromatografisinde (GC) maddelerin gerek kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılan dolgu kolonlar bazı devazantajlara sahiptirler. Bunlar doldurulmuş olduklarından taşıyıcı gaz akışı elde etmek için gerekli basınç aşırı olmakta ve uzun kolonlar ile çalışmak imkanı bulunmamaktadır. Bu durum kolonun boyunu sınırladığından ayırma (resolution) da sınırlanmaktadır. Kapiler kolonlarda ise bu sınırlama yoktur. Kolon materyali kolon iç yüzeyin ince bir film ve poröz bir tabaka halinde kaplanır. Kapiler kolon, iç merkezi açık bir boru olduğundan, taşıyıcı gaz akışını engellemez. Bu yüzden dolgu kolonlara na-

zaran çok daha uzun kapiler kolonlar kullanılabilir (ÇOLAKOĞLU VE HIŞİL, 1984). İlk defa dolgulu kolon kullanımı ile başlayan yağ asitlerinin kromatografik analizleri günümüzde kısa analiz süresi ve mükemmel ayırma tekniği nedeniyle yerini artık kapiler kolon kullanımına bırakmıştır (HIŞİL, 1994). Artık kapiler kolonların kullanımı, örneğin zeytinyağlarında resmi referans metot olarak da kabul edilmektedir (ANONYMOUS, 1996). Ayrıca bu tip kolonların kullanımı ile gıdalardaki yağ asitlerinin cis ve trans izomerlerinin tesbiti de mükemmel bir şekilde yapılabilmektedir.

Yağ asitlerinin trans formu cis formuna göre daha yüksek erime noktasına sahip olduğundan dolayı özellikle de margarin gibi ürünlerde arzulan katı tekstürün oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Ancak son yıllarda yapılan araştırmalarla, trans yağ asitlerinin (TFA) vücut metabolizmasında kalp-damar hastalıklarına sebep olan toplam LDL- kolesterol seviyesini yükseltici ve HDL-kolesterol seviyesini azaltıcı etkilerinin aynen doymuş yağ asitlerinin etkisi gibi olduğunu gösterdiğinden beslenme açısından bu yağ asitleri üzerine çalışmaya yoğunlaşmıştır (JUDD ve ark., 1994; KAVAS, 2000; DEMİRCİ, 2001). Bundan dolayı yağlarda trans yağ asitlerinin belirlenmesi üzerine çalışmalar bilim dünyasında son yıllarda büyük önem arz etmeye başlamıştır. Tereyağlarında, margarinlerde ve çeşitli bitkisel sıvı yağlarda yağ asitlerinin genel kompozisyonlarına ve ayrıca cis-trans izomerlerinin analizlerine ilişkin ülkemizde ve dünyada bir çok araştırmalar bulunmaktadır (SMITH ve ark., 1978; ERGİN, 1977; ENIG ve ark., 1983; MANSOUR, ve SINCLAIR, 1993; ÖZCAN ve AKGÜL, 1994; KAYAHAN ve TEKİN, 1994; ÖZTEKİN ve BAŞOĞLU, 1996; OYSUN ve HIŞİL, 1997; TAŞ ve ark., 1998; MEDINA - JUAREZ ve ark., 2000; TAVELLA ve ark., 2000; GÜMÜŞKESEN ve BEYAZ, 2001).

Bu çalışmada iki farklı özelliğe sahi kapiler kolon (DB - 23 ve HP - 5) kullanılarak tereyağları, palm (olein) yağı, zeytin yağı, doğal susam yağı, rafine mısır özü ve ayçiçek yağlarının yağ asitlerinin cis-trans izomer kompozisyonu belirlenmeye çalışılmış olup, elde edilen sonuçlar literatür bilgileri ile de karşılaştırılmıştır. Ayrıca bu tarz araştırmalarda hangi tip kolonun daha iyi performans gösterebileceği de ortaya konmuştur.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Farklı üretim teknikleri ile üretilmiş ve değişik yerlerden sağlanmış 3 adet tereyağı örneği ve 4 adet bitkisel yağ örneği bu çalışmada, iki farklı özellikteki kapiler kolon kullanılarak analiz edilmişlerdir. 1 no'lu örnek yoğurttan imal edilen köy tereyağı olup Eşme (Uşak)'den, 2 no'lu örnek pastörize ve kahvaltılık paket tereyağı olup İzmir'den sağlanmıştır. 3 no'lu tereyağı örneği ise ev yapımı tereyağı olup, kaynamış sütlerin kaymaklarından üretilmiştir. Ayrıca sıvı bitkisel yağ örneği olarak rafine mısır özü yağı (İzmir), Malezya'dan ithal edilmiş palm (olein) yağı ve naturel birinc initeğinde (İzmir) ve naturel sızma niteliğindeki (Altınova-Balıkesir) zeytinyağı, doğal susam yağı (Uşak-Eşme) ve rafine ayçiçek yağları (İzmir) da yine bu amaçla analiz edilmişlerdir.

Metod

Örneklerin Hazırlanması: Tereyağı örnekleri kieselgel ile ezilip, kromatografik saflıktaki hekzan ile ekstrakte edilmiştir. Hekzan fazı yağsız kuru maddeden filtre edilerek ayırdıktan sonra rotary evaporatörde buharlaştırılarak saf yağ elde edilmiştir (OYSUN ve HIŞİL, 1997). Bitkisel sıvı yağ örnekleri ise whatman-42 no'lu süzgeç kağıdı üzerine kağıdı üzerine konulan susuz sodyum sülfat'tan süzölmüş ve elde edilen yağlar analizlerde kullanılmıştır.

Yağ örneklerinin esterleştirilmesinde IUPAC, Metod 2.301 soğuk metilasyon yöntemi kullanılmış olup (ANONYMOUS, 1987), metil esterlerine dönüştürülen örneklerin yağ asitleri analizi HP 6890 model GC Gaz Kromatografisi cihazında alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve değişik özelliğe sahip iki farklı kapiler kolon (DB-23) ve (HP-5) kullanılarak analiz edilmişlerdir. Kullanılan iki farklı kapiler kolonun özellikleri şunlardır:

1. DB-23 (Bonded %50 cyanopropyl) (J & W Scientific, Folsom, CA, USA) kapiler kolon (30 m x 0.25 mm i.d x 0.250 µm)

2. HP-5 (Crosslinked %5 PH ME siloxane) (HP, USA) (30 mx 0.32 mm i.d x 0.250 µm)

GC sisteminin her iki farklı kapiler kolon için ortak olan çalışma şartları aşağıda verilmiştir.

Dedektör sıcaklığı : 250°C

Enjektör sıcaklığı	: 250°C
Enjeksiyon	: Split -model 1/100
Gaz Akış hızları	:
Taşıyıcı gaz	: Helyum 0.5 ml/dk (sabit akış modeli)
Hidrojen	: 30 ml/dk
Hava	: 300 ml/dk
Make up	: Azot, 24.5 ml/dk
Enjektör	: Hamilton 5 mikrolitrelik
Enjeksiyon hacmi	: 0.25 mikrolitre

Fırın sıcaklığı: DB-23 kolonda analiz edilen tüm sıvı ve katı yağlar için, 100-210°C arasında programlı çalışma yapılmıştır.

100°C'den başlatılan fırın sıcaklığı 175°C'ye kadar 5°C/dk artış ile devam etmiş, 175°C'den 210°C'ye kadar da 10°C/dk artış ile 210°C'ye ulaşılmış ve bu sıcaklık derecesinde 15 dk bekletilmiştir.

Fırın sıcaklığı: HP-5 kolon için analizlerde kullanılan sıvı ve katı yağ örnekleri için iki farklı fırın programı uygulanmıştır.

Tereyağlarında aşağıda verilen fırın sıcaklığı uygulanmıştır.

150°C'd 3 dk., 5°C/dk artış ile 180°C'ye ulaştırılmış, 0.5°C/dk artış ile 190°C'ye çıkılmış ve 5°C/dk artış ile 240°C'ye ulaşılarak program tamamlanmıştır.

Sıvı yağ örneklerinde ise 180°C - 240°C arasında 2°C/dk artışlı fırın programı uygulanmıştır.

Yağ asitlerinin teşhisinde, standart olarak bütirik asitten başlayıp (C 4:0) nervonik asit'e (24:1) kadar içerisinde tran yağ asitlerinin de bulunduğu 37 yağ asidinin metil esterleri karışımı (Sigma -Aldrich Chemicals 189-19) kullanılmıştır.

Yağ asitlerinin metil esterlerinin teşhisi: Yağ asitleri metil esterlerinin kromatogramları ve toplam yağ asitleri miktarları bilgisayarda HP 3365 Chemstation bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Analiz edilen örneklerin kromatogramındaki pikler, standarttaki bütün yağ asitlerinin metil esterlerinin alıkonma zamanları ile karşılaştırılarak teşhis edilmiştir. Kantitatif sonuçları % yağ asidi olarak verilmiştir.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Araştırmada HP-5 ve DB-23 kapiler kolonlarda analiz edilen tereyağı örneklerine ait yağ asitlerinin dağılımları Çizelge 1'de toplu olarak verilmiştir.

Araştırmada analiz edilen tereyağ örneklerinde, kullanılan kolon

Çizelge 1. Araştırmada Kullanılan İki Farklı Kapiler Kolonda Analiz Edilen Tereyağlarına Ait Yağ Asitleri Bileşenleri (Toplam Yağ Asitleri İçerisinde % olarak)

Yağ Asitleri	EŞME	EŞME	PAKET	PAKET	EV	EV
	(KÖY) DB-23	(KÖY) HP-5	DB-23	HP-5	DB-23	HP-5
4:0	9.94	-	0.57	-	0.56	-
6:0	0.86	0.47	0.73	0.65	0.63	0.52
8:0	0.63	0.49	0.65	0.56	0.55	0.41
10:0	1.56	1.34	1.85	1.65	1.59	1.10
10:1	0.19	0.14	0.14	0.15	0.13	0.09
12:0	2.17	1.99	2.57	2.36	2.23	1.60
14:0	8.95	9.47	10.36	9.73	9.24	7.48
14:1	0.91	-	0.80	-	0.67	-
trans						
14:1	0.35	0.91	0.32	0.76	0.33	0.55
15:0	1.23	1.27	1.16	1.13	1.04	0.93
16:0	28.13	27.80	33.05	33.17	29.61	28.93
16:1	0.29	-	0.30	-	0.37	-
trans						
16:1	1.62	1.90	1.43	1.46	1.31	1.29
17:0	0.71	0.80	0.65	0.75	0.58	0.75
17:1	0.51	0.54	0.29	0.30	0.32	0.30
18:0	11.24	11.30	11.99	13.24	14.20	16.76
18:1						
trans	0.65	-	1.39	-	1.64	-
18:1	31.21	30.48	23.71	26.12	26.30	27.87
18:2	0.76	-	0.73	-	0.77	-
trans						
18:2	1.87	2.17**	2.38	2.74**	2.72	2.93**
18:3	0.22		0.28		0.14	
trans						
18:3	0.30		0.23		0.28	

** 18:2+18:3 toplam olarak

tiplerine bakılmaksızın major yağ asitleri miktarlarının değişim genişliğinin ve dağılımlarının sırası ile uzun zincirli yağ asitleri olan palmitik asit (%33.17-27.80), oleik asit (%30.98 - 23.71) stearik asit (%16.76-11.24) ve miristik asit (%10.36-7.48) olduğu ve bunu da azalan miktar sırasına göre yine uzun zincirli yağ asitlerinden linoleik (%2.72-1.95), laurik asit (%.257-1.60), penadekanoik asit (%1.04 - 1.27) ve kısa zincirli yağ asitlerinde kaprik asit (%1.85-1.10)'in izlediği tesbit edilmiştir (Çizelge 1). Tereyağlarında bulunan araştırma sonuçları, genel yağ asitleri bakımından dağılım itibarı ile ERGİN (1977)'nin sonuçlarına ve PADLEY ve ark. (1986)'nın bildirmine uygun ve benzer bulunmuştur. Tereyağlarında yağ asitleri kompozisyonu üzerine yemler ve hayvanların yemleme şekli, mevsimler, hayvanın türü, yöre gibi önemli faktörler etki etmektedir. Tereyağlarında 15 temel yağ asidinin var olduğu bildirilmektedir (PADLEY ve ark., 1986). Aynı zamanda depolamanın da tereyağlarının yağ asitlerinin bileşimi üzerinde etkisinin de olduğu ERGİN (1977) tarafından ifade edilmektedir.

Tereyağı örneklerinde belirlenen trans yağ asitleri (TFA) oranları değişimi, C_{14:1} t için %0.67-0.91, C_{16:1} t için %0.29-0.37, elaidik asit'te (C_{18:1} t) %0.65-1.64, linolelaidik asit (C_{18:2} t) için %0.73-0.77 ve C_{18:3} t için ise %0.14-0.28 olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Tereyağı örneklerinin toplam TFA düzeyleri %2.83 - 3.60 arasında değişmiştir. Ayrıca araştırmada kullanılan DB-23 ve HP-5 kapiler kolonlarından, sadece DB-23 kolonu ile tereyağlarında yağ asitlerinin trans izomerleri tesbit edilebilmiştir. ENIG ve ark. (1983) tereyağlarında (C_{18:1} trans) değerini %3.1-3.8 olarak bulmuşlardır. PADLEY ve ark. (1986) tarafından tereyağlarında toplam TFA oranlarının değişimin %4-8 arasında olduğu bildirilmektedir. MANSOUR ve SINCLAIR (1993), Avustralya tereyağlarında elaidik asit düzeylerini %3.09-3.36, linolelaidik asit (C_{18:2} t) için %0.38 - 0.90 ve C_{18:3} t için ise %0.11 olarak bulmuşlardır. Türkiye orijinli tereyağlarında ise OYSUN ve HIŞIL (1997) tarafından yapılan bir araştırmada toplam TFA değerleri değişimi %5.8-16.72 olarak bulunmuştur. Ayrıca bu araştırmacılar elaidik asit oranlarının değişimini de %0 ile 11.80 olarak vermektedirler. TAVELLA ve ark. (2000) Arjantin kökenli tereyağında elaidik asit düzeyinin %4.63 olarak bulmuştur. Bu çalışmada analiz edilen araştırma örneklerinin TFA değerleri, ilgili literatürlerin değerlerine dahil olmakla birlikte genel olarak onlardan düşük olduğu görülmektedir. Bu duruma sütün mevsim ve tereyağın işlenme şartları etki yapmış olabilir. Tabiatte pek yaygın olarak bulunmayan elaidik asidin özellikle de süt yağlarında, bihidrojenizasyon yolu ile oluştuğu bilinmektedir (GUNSTONE, 1986). Ayrıca, tereyağlarının TFA düzeyleri, ülkemizde tüketimi yaygın olmasından dolayı, margarinler ile de karşılaştırılmıştır. Çünkü TFA esas olarak margarin üretimindeki hirojenizasyon işlemi esnasında ortaya çıkmaktadır (GUNSTONE, 1986). KAYAHAN ve TEKİN (1994) Türkiye'de üretilmiş margarinlerde elaidik asit olarak trans yağ asitleri oranının %0.0-34.52 arasında bulmuşlardır. Margarinlerde aynı değer değişimi TAŞ ve ark. (1998) tarafından HP-1 kolonu kullanılarak %1.40-24.34 arasında bulunmuştur ÖZTEKİN ve BAŞOĞLU (1998) araştırmalarında DB-23 kapiler kolonu kullanmalarına rağmen margarinlerde TFA tesbit edememişlerdir. Araştırmada kullanılan tereyağı örneklerinin margarinlerin çok altında bir trans yağ asidi oranına sahip olduğu açıkça görülmektedir (Çizelge 1).

Araştırmada HP-5 ve DB-23 kapiler kolonlarda analiz edilen çeşitli bitkisel sıvı yağ örneklerine ait yağ asitlerinin cins-trans izomerleri dağılımları Çizelge 2'de toplu olarak gösterilmiştir.

Araştırmada analiz edilen bitkisel sıvı yağ örneklerinin genel yağ asitleri oranları her yağ çeşidinin kendi özel niteliklerine göre farklılık göstermiştir Palm (olein), mısır özü, susam yağı, ayçiçek ve zeytinyağında gerek DB-23 ve gerekse HP-5 kolonlarında elde edilen sonuçlar PADLEY ve ark. (1986) bildirimlerine, Türk Gıda Kodeksi Zeytin ve Prina Yağı (ANONYMOUS, 1998) tebliğine, TAVELLA ve ark. (2000) Arjantin kökenli ayçiçek ve mısır özü yağlarındaki sonuçlara ve Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yağlar (ANONYMOUS, 2001) tebliğlerinde belirtilen kriterlere uygun olduğu görülmüştür. GC yöntemi, yağlara yapabilecek taşış ve hileleri ortaya koymada kullanılabilir (HIŞIL, 1994). Ayrıca susam yağında ÖZCAN ve AKGÜL (1994) ve zeytin yağı ve ayçiçek yağında ÖZTEKİN ve BAŞOĞLU (1998) tarafından bulunan değerler sonuçlarımıza benzerlik göstermiştir.

Araştırmada analiz edilen bitkisel sıvı yağ örneklerinde belirlenen trans yağ asitleri oranları değişimi, C_{16:1} t için %0.005-0.04, elaidik asit'te (C_{18:1} t) %0.009-0.05, linolelaidik asit (C_{18:2} t) için %0.04-0.23 ve C_{18:3} t için ise %0.03 - 0.11 olarak bulunmuştur. Bitkisel sıvı yağ örneklerinin toplam trans yağ asidi düzeyleri %0.12-0.41 arasında değişmiştir. En yüksek toplam trans yağ asitleri izomer miktarı palm (olein) yağı ve en yüksek elaidik asit düzeyi de mısır özü yağı örneklerinde bulunmuştur (Çizelge 2). Ayrıca araştırmada kullanılan DB-23 ve HP-5 kapiler kolonlarından, tereyağlarında da olduğu gibi (Çizelge 1), sadece DB-23

Çizelge 2. Araştırmada Kullanılan İki Farklı Kapiler Kolonda Analiz Edilen Bazı Bitkisel Yağlara Ait Yağ Asitleri Bileşenleri (Toplam Yağ Asitleri İçerisinde % Olarak)

Numuneler ve Yağ Asitleri	Palm (Olein)	Palm (Olein)	Rafine Mısır Özü Yağı	Rafine Mısır Özü	Naturel Zeytin Yağı %2 Asit	Naturel Zeytin Yağı %2 Asit	Naturel Zeytin Yağı %0.7 Asit	Naturel Zeytin Yağı %0.7 Asit	Doğal Susam Yağı	Doğal Susam Yağı	Rafine Ayçiçek Yağı	Rafine Ayçiçek Yağı
Kolon	DB-23	HP-5	DB-23	HP-5	DB-23	HP-5	DB-23	HP-5	DB-23	HP-5	DB-23	HP-5
8:0	0.01	0.09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10:0	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10:1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12:0	0.17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14:0	0.88	0.70	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.06	0.06
14:1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14:1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15:0	0.04	-	0.04	iz	0.03	-	iz	-	iz	iz	iz	0.01
16:0	39.17	27.80	11.05	11.18	10.63	10.86	10.92	11.29	9.12	8.80	6.60	6.46
16:1 trans	0.16	0.17	0.09	0.12	0.78	0.75	0.63	0.72	0.11	0.13	0.12	0.14
17:0	0.09	0.09	0.04	0.05	0.10	0.12	0.16	0.15	0.08	0.08	0.05	0.04
17:1	0.02	0.03	0.07	0.09	0.16	0.15	0.20	0.22	0.04	0.05	0.03	0.04
18:0	4.49	4.80	2.12	2.84	2.98	3.17	3.42	3.07	6.28	6.30	4.21	3.96
18:1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trans (Elaidik asit)	0.04	-	0.05	-	0.009	-	0.04	-	0.02	-	0.01	-
18:1	43.49	54.91***	28.03	29.82	74.16	75.04	72.8	74.30	43.54	50.37	28.93	26.60
18:2 trans	0.23	-	0.17	-	0.04	-	0.03	-	0.05	-	0.11	-
18:2	10.25	-	56.16	54.42**	9.60	9.20**	9.93	8.92**	36.16	33.13**	58.09	61.44
18:3	0.11	-	0.11	-	0.07	-	0.09	-	0.03	-	0.03	-
trans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3	0.15	-	0.73	-	0.58	-	0.49	-	0.32	-	0.10	-
20:0	0.38	0.30	0.49	0.45	0.41	0.49	0.62	0.45	0.70	0.70	0.35	0.30
20:1	0.17	0.14	0.35	0.33	0.36	0.35	0.36	0.30	0.23	0.21	0.22	0.18

kolonu ile bitkisel sıvı yağ örneklerinde yağ asitlerinin trans izomerleri tesbit edilebilmiştir. TAVELLO ve ark. (2000), Arjantin kökenli bazı bitkisel sıvı yağların trans yağ asitleri düzeyini %0.3'den daha az olduğu gerekçesi ile tesbit edilemedi olarak bildirmişlerdir. MEDINA - JUAREZ ve ark. (2000), Meksika'da tüketilen rafine bitkisel sıvı yağlarda toplam trans yağ asitleri düzeyinin %1'den az olduğunu SP-2560 kapiler kolon kullanarak tesbit etmişlerdir. ÖZTEKİN ve BAŞOĞLU (1998) araştırmalarında DB-23 kapiler kolonunu kullanmalarına rağmen margarinlerde olduğu gibi, zeytin yağı ve ayçiçek yağlarında da TFA tesbit edememişlerdir. Rafine pamuk yağında trans asitleri düzeyi GÜMÜŞKESEN ve BEYAZ (2001) tarafından, SP-2560 kapiler kolon kullanarak C_{18:1} t için %0.09 ve C_{18:2} t için ise %0.12 olarak bulunmuştur. Araştırmada analiz edilen bitkisel sıvı yağ örneklerinin trans yağ asitleri düzeyi, literatür değerlerine benzer olarak kabul edilebilir. Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı tebliği hariç (ANONYMOUS, 1998), Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yemeklik Yağlar Tebliği'nde ayçiçek, mısır, susam, palm vs. gibi yağların rafine veya ham haline ilişkin durumlarında trans yağ asitleri düzeyine dair herhangi bir norm mevcut değildir (ANONYMOUS, 2001). Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı Tebliği'ne göre de (ANONYMOUS, 1998), naturel zeytinyağlarında trans yağ asitleri düzeyi elaidik asit için en çok %0.05 ve (Trans 18:2 + 18:3) için ise en çok yine %0.05 olmalıdır. Araştırmadaki zeytinyağı örnekleri bu bakımdan da kodeks değerlerine uygun bulunmuştur. Bitkisel sıvı yağlarda trans yağ asitleri oluşumuna yüksek sıcaklık (genellikle 200°C'nin üzerinde) ve basınç altında gerçekleşen rafinasyon şartlarının etkili olduğu bilinmektedir (GUNSTONE, 1986; GÜMÜŞKESEN ve BEYAZ, 2001).

Doğal olarak yağların yapısında yağ asitleri cis formunda bulunurken, trans yağ asitleri (TFA) miktarı çok düşük düzeydedir. Çeşitli bilimsel çalışmalarda, yağların tüketimi ile insan sağlığı arasında önemli ilişkilerin olduğu, koroner kalp ve damar hastalıklarının meydana gelmesinde doymuş yağ asitlerinin yanı sıra trans izomerlerinin de risk oluşturduğu belirlenmiştir. Yağ asitlerinin trans izomerlerinin plazmadaki trigliserit ve kolesterol seviyesini arttırdığı ve beslenmeye bağlı olarak oluşan koroner kalp ve damar hastalıklarının oluşmasında risk oluşturduğu bilinmektedir. Trans yağ asitleri HDL kolesterolü düşürürken, atorejenik etkisi olan LDL- kolesterolünü yükselterek sağlık açısından olumsuz etkisini göstermektedir (JUDD ve ark, 1994). Son yıllarda yapılan bazı araştırmalar trans yağ asitlerinin (TFA) kan kolesterolünü yükselttiğini göstermiştir.

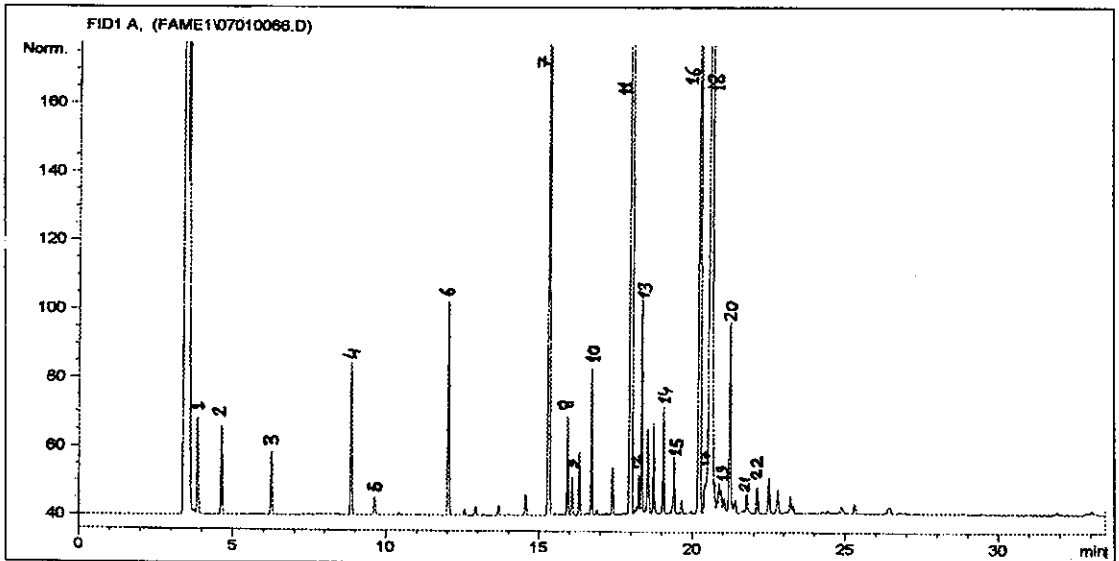
Finlandiya'da 22 bin kişi üzerinde yapılan ve 6 yıl süren bir araştırmada da trans yağ asitleri (TFA) ile kalp hastalıklarından ölüm riski arasında doğrudan bir ilişki bulunmuştur (KAVAS, 2000). Trans yağ asitlerinin tüketimi için bir sınır değer bulunmamakla birlikte kalp-damar rahatsızlıkları üzerine negatif etkisine ilişkin belirtilen durumlar sadece yüksek tüketimde görülmektedir. Normal düzeylerde tüketimde görülebilecek negatif etkinin diğer risk faktörleri ile de ilişkili olduğu belirtilmektedir (PFEUFFER, 1995). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda - Tarım Örgütü (FAO) insan tüketimi için yağların trans olarak toplam yağın %4'ünden daha azını içermesi gerektiğini ve gıda sanayiinde bunların ürünlerinde trans yağ asitlerinin düzeyinin ısrarla bu oranlara düşürülmesini teklif etmektedir.

(WHO, 1993). Günde 4 g trans yağ asidi almanın sağlık yönünden risk oluşturacak düzeyde olmadığı; ancak yağ metabolizma bozukluğu olanlar, hamileler, emzirenler ve bebeklerde trans yağ asidinin alımının azaltılması gerektiği belirtilmektedir (BRÜCHNER, 1995). Bütün bu bilgilerin ışığında bu araştırmada analiz edilen tereyağı ve bitkisel sıvı yağ örneklerinin trans yağ asitleri değerlerinin düşük düzeyde olduğunu bu konunun sürekli incelenmesi kaydı ile söylemek mümkündür.

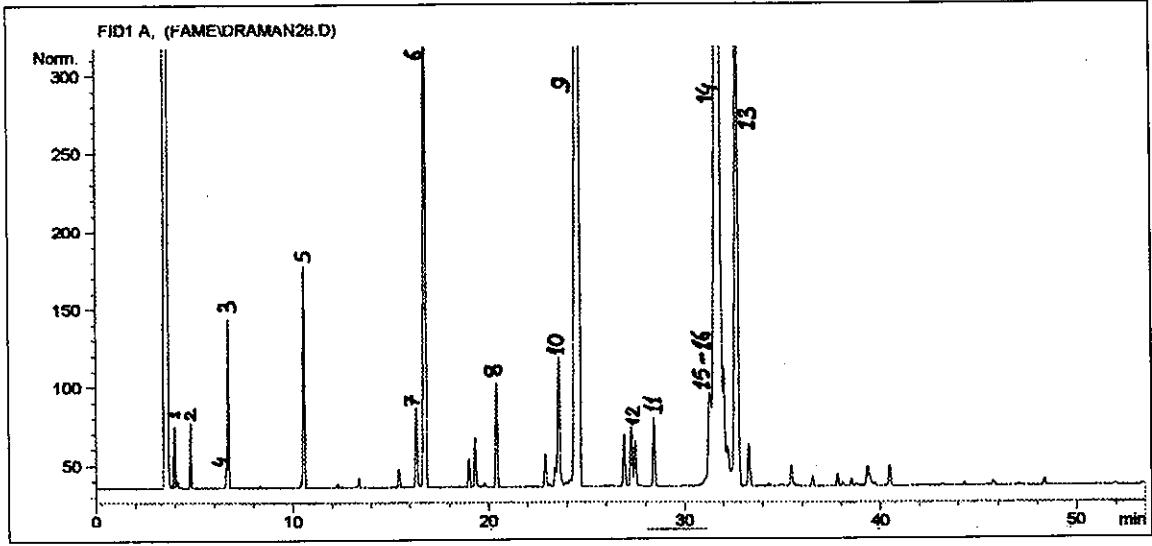
Bu araştırmada değişik özelliklerdeki yağlarda yağ asitlerinin kompozisyonunun belirlenmesinde iki farklı niteliğe sahip, DB 23 ve HP-5 kapiler kolon kullanılmıştır. DB-23 kolonu yüksek polar özelliğe sahip, yağ asitleri analizleri için uygun ve kimyasal bağlı bir kapiler kolondur. HP-5 kolonu da yağ asitlerinin analizlerinde kullanılabilen kapiler bir kolon olup, ancak apolar bir özelliğe sahiptir. Kapiler kolonlar analiz sürelerinin kısalığı, kompleks karışımların ayırılmasının ve teşhislerinin mükemmel olması ve düşük örnek kapasitesi gibi faktörlerden dolayı günümüzde gaz kromatografisi (GC) analizlerinde dolgu kolonlara göre tercih edilmektedirler (HIŞİL, 1994). Ayrıca, ÇOLAKOĞLU ve HIŞİL (1984) yapmış oldukları 25 m. uzunluk, 0.33 mm iç çaplı cam kapiler kolonda çeşitli yağların yağ asitlerini analiz etmişlerdir. Söz konusu araştırmacılar, bu çalışmada doymuş ve doymamış yağ asitlerini net bir şekilde ayırdıkları gibi, fındık ve çam fıstığı yağında cis ve trans izomerlerini gayet iyi bir şekilde tanımlamışlardır.

Bu çalışmada daha önce de belirtildiği üzere GC cihazında aynı şartlar altında, sadece yağ örneklerine göre sıcaklık programları ayarlanarak DB-23 ve HP-5 kapiler kolonlarında analizler yapılmıştır. Her iki kolonun benzer GC şartları altında katı ve sıvı yağlarda nasıl bir ayırma sahip olduğunu göstermek için analiz edilen örnekler için bazı örnek kromatogramlar Şekiller halinde verilmiştir.

Şekil 1'de DB-23 kolonunda analiz edilen tereyağı örneğine, Şekil 2'de aynı örneğin HP-5 kolonunda analiz edilmesi ile elde edilen kromatogramları gösterilmektedir. Kromatogramlar incelendiğinde DB-23 kolonu



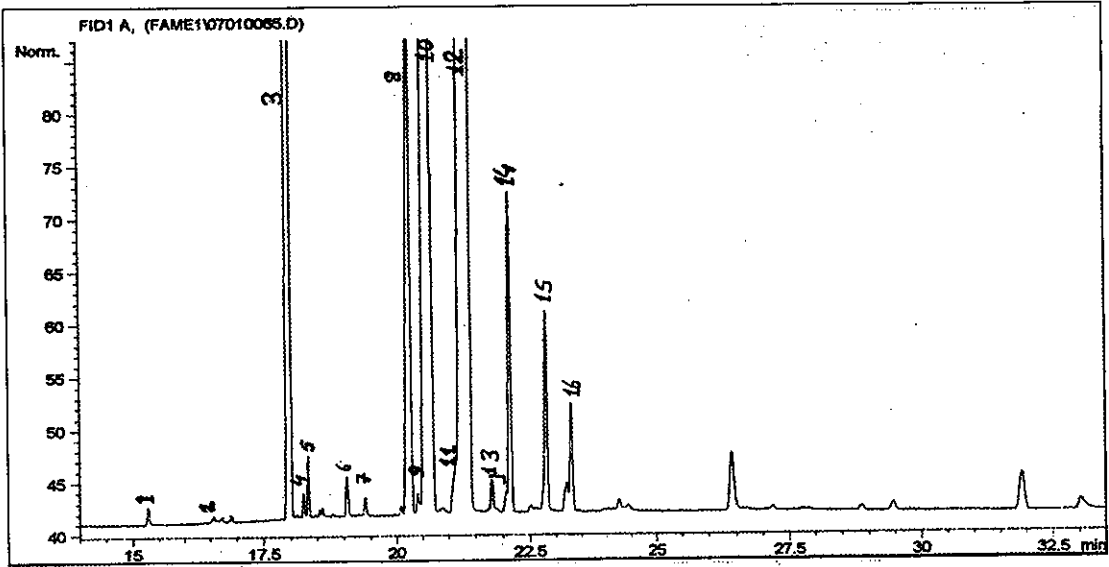
Şekil 1. DB 23 Kapiler kolonunda analiz edilen tereyağı örneğinin kromatogramı (eşme-Uşak'dan sağlanmış köy tereyağı)
 1. C_{4:0} 2. C_{6:0} 3. C_{8:0} 4. C_{10:0} 5. C_{10:1} 6. C_{12:0} 7. C_{14:0} 8. C_{14:1} t; 9. C_{14:1}, 10. C_{15:0} 11. C_{16:0} 12. C_{16:1} t; 13.
 C_{16:1} 14. C_{17:0} 15. C_{17:1} 16. C_{18:0} 17. C_{18:1} t; 18. C_{18:1} 19. C_{18:2} t; 20. C_{18:2} 21. C_{18:3} t; 22. C_{18:3}



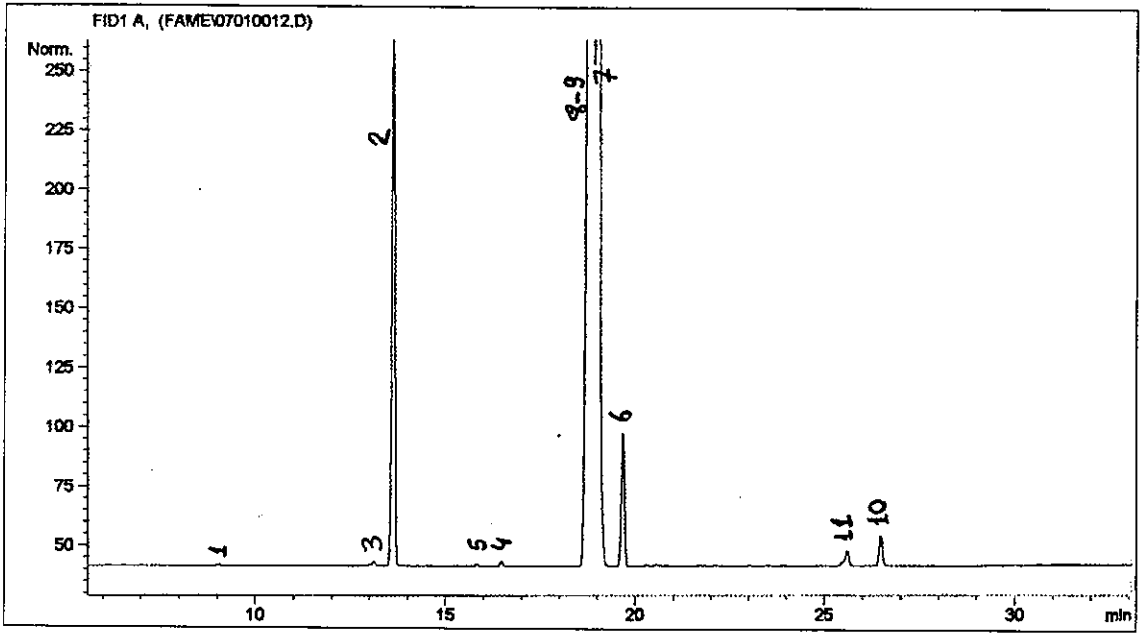
Şekil 2. HP-5 kapiler kolonunda analiz edilen tereyağı örneğinin kromatogramı (eşme-uşak'dan sağlanmış köy tereyağı)
 1. C_{6:0} 2. C_{8:0} 3. C_{10:0} 4. C_{10:1} 5. C_{12:0} 6. C_{14:0} 7. C_{14:1} 8. C_{15:0} 9. C_{16:0} 10. C_{16:1} 11. C_{17:0} 12. C_{17:1}
 13. C_{18:0} 14. C_{18:1} 15. C_{18:2} 16. C_{18:3}

ile elde edilen sonuçlarda tereyağında bütün yağ asitlerinin cis/trans izomerlerini tesbit edildiği açıkça görülmektedir (Şekil 1). DB-23 kolondan alınan bu kromatogramlar, ilgili kolonun, HP-5 kolona göre daha yüksek ayırma gücüne sahip olduğunu açık bir şekilde ortaya koymaktadır. HP-5 kolonda major yağ asitlerinin tümünün belirlenebilmesine karşın, trans yağ asitlerin yerleri ve en önemlisi olarak da linoleik ve linolenik asitlerin ayırma yapılamamıştır (Şekil 2). Bundan dolayı C_{18:2} ve C_{18:3} yağ asitleri toplam değerler olarak verilmiştir (Çizelge 1). Bu durum HP-5 kolonu için bir dezavantaj olarak kabul edilebilir. Tereyağı örneklerindeki yağ asitlerinin değerleri her iki kolon için birbirine benzer ve yakın olarak bulunmuştur (Çizelge 1).

Şekil 3'de DB-23 kolonda analiz edilen mısır özü yağı örneğine, Şekil 4'de aynı örneğin HP-5 kolonda analiz edilmesi ile elde edilen kromatogramları verilmiştir. Sıvı yağ örneklerinde de tereyağında olduğu gibi



Şekil 3. DB kapiler kolonunda analiz edilen rafine mısır özü örneğinin kromatogramı 1. C_{14:0} 2. C_{15:0} 3. C_{16:0} 4. C_{16:1}
 trans 5. C_{16:1} 6. C_{17:0} 7. C_{17:0} 8. C_{18:0} 9. C_{18:1} trans 10. C_{18:1} 11. C_{18:2} trans 12. C_{18:2} 13. C_{18:3} trans
 14. C_{18:3} 15. C_{20:0} 16. C_{20:1}



Şekil 4. HP-5 kapiler kolonunda analiz edilen rafine mısır özü örneğinin kromatogramı 1. C_{14:0} 2. C_{16:0} 3. C_{16:1} 4. C_{17:0} 5. C_{17:1} 6. C_{18:0} 7. C_{18:1} 8. C_{18:2} 9. C_{18:3} 10. C_{20:0} 11. C_{20:1}

(Çizelge 1), HP-5 kolonda major yağ asitlerinin oleik, linoleik ve linolenik asitlerin ayrımlarının tam olarak gerçekleşemediği, özellikle linolenik asidin hiç ayrılmadığı açıkça görülmektedir. Palm (olein) yağında ise adı geçen yağ asitlerinin hiç ayrılmadığı ve her üçünün toplam olarak ortaya çıktığı da görülmüştür (Şekil 3). DB-23 kolonda analiz edilen bütün yağ örneklerinde cis-trans izomer ayrımı mükemmel bir şekilde olmuştur (Şekil 3). Bitkisel sıvı yağlardaki her iki kolon vasıtası ile bulunan yağ asitleri değerleri birine yakın ve benzer olmuştur.

Bu çalışma sonuçlarına dayanarak DB-23 kolonun yağ asitleri analizlerinde HP-5 kapiler kolona göre, cis-trans izomerlerini ayırabilmesi nedeniyle, daha üstün nitelikte olduğu ifade edilebileceği gibi; HP-5 kapiler kolonun major yağ asitlerinin rutin analizlerinde kullanılabileceğini söylemek mümkündür.

KAYNAKLAR

- ANONYMOUS, 1987. Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivates, International Union of Pure and applied Chemistry, 7 th edn., Blackwell Scientific Publications, UIPAC Method 2.301.
- ANONYMOUS, 1996. Determination of Trans Unsaturated Fatty Acids by Capillary Column Gas Chromatography. COI/T. 20. Doc. no: 17.6 June 1996.
- ANONYMOUS, 1998. Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı ve Prina Yağı Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 98/7). T.C. Resmi Gazete. 25 Nisan 1998. Sayı: 23323. Ankara.
- ANONYMOUS, 2001. Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yemelik Yağlar (Tebliğ No: 2001/29). T.C. Resmi Gazete. 13 Ekim 2001. Sayı: 24552. Ankara. (Ayrıca 8.11.2001 tarihli R.G. No: 24577. Bazı Yemelik yağlara ilişkin Ek tablo yayınlandı.)
- BRÜCHNER, J. 1995. Transfetsauren: Gesundheitliche Aspekte des Verzeerhs. Milchwissenschaft. 50 (9): 525.
- ÇOLAKOĞLU, M., HIŞIL, Y., 1984. Gaz-Sıvı Kromatografisinde Cam kapiler Kolon Hazırlanması ve Yağ Asitleri analizinde Kullanılması. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi. Seri B. Gıda Mühendisliği Cilt 2 (2): 1-11.
- DEMİRCİ, M., 2001. Gıda Kimyası. Trakya Üniv. Tekirdağ Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü. 590030. Tekirdağ. 219 sayfa.
- ENIG, M.G., POLLANSCHL, L.A., SAMPUGNAJ, J., KEENEY, M., 1983. Fatty acid composition of the fat in selected food items with emphasis on trans components. JAOCS, 60 (10): 1778-1795.

- ERGİN, G., 1977. Erzurum - Kars yöresi tereyağlarında depolama sırasında oluşan serbest yağ asilerinin miktar ve spektrumu. "TÜBİTAK VI. Bilim Kongresi. TOAG - Gıda ve Fermentasyon Teknolojisi Seksiyonu, 17-21 Ekim, 1977. Ankara. "Tebliğler Kitabı Sayfa: 1-10. Ankara.
- GUNSTONE, F.D., 1986. Fatty Acid Sturcture In: Lipid Hadbook, GUNSTONE, F.D, HARWOOD, J.L. and PADYEL, F.B, Eds. Pages0 1-23. Chapman and Hall Ltd, London and New York.
- JUDD, J.T., CLEVIDENCE, B.A., MUESING, R.A., WITTES, J., SUNKIN, M.E. PODEZASY, J.J., 1994. Dietary trans fatty acids: effects on plasma lipids and ipoproteins of healty men and women. Am. J. Cli. Nutr. 29: 1-8.
- GÜMÜŞKESEN, A., BEYAZ, M., 2001. Pamuk yağının hidrojenizasyonunda işlem koşullarının trans yağ asitlerinin oluşumu ve reaksiyonun seçiciliği üzerindeki etkileri. GIDA 26 (4) 261-265.
- HIŞIL, Y., 1994. Enstrümental Gıda Analizleri - II (Gaz, İnce Tabaka, Kolon, Kağıt Kromatografileri ve Elektroforez). Ege Üniv. Mühendislik Fakültesi, Ders Kitapları Yayın No: 30. Bornova - İzmir.
- HUNDER, J.E., APPLE WHITE, T.H., 1991. Reassessment of trans fatty acid a viability in the use diet. The American Journal of Clinical Nutrition. 54: 363-369.
- KAVAS, A., 2000. Sağlıklı Yaşam İçin Doğru Beslenme. Literatür Yayınları No: 37. Literatür Yayıncılık Dağıtım, Pazarlama, Sanayi ve Tic. A.Ş. İstiklal Cad. No: 133. Kat 1-2. TR-800071 Beyoğlu, İstanbul.
- KAYAHAN, M., TEKİN, A., 1994. Türkiyede Üretilen Bazı Margarinlerdeki Trans Yağ Asitleri ve Konjuge Yağ Asitleri Miktarları Üzerine Araştırma GIDA 19 (3): 147-153.
- MANSOUR, M.P., SINCLAIR, A.J., 1993. The trans fatty acid and positional (sn -2) fatty acid composition of some Australian margarines, dairy blends and animal fats. Asia Pacific Journal of Clinic. Nutr. 2 (47): 155-163.
- TAVELLA, M., PETERSON, G., ESPECHE, M., CAVALLERO, E., CIPOLLA, L., PEREGO, L., CABALLERO, B., 2000. Trans fatty acids content of a selection of foods in Argentina. Food Chemistry. 69: 209-213.
- MEDINA - JUAREZ, L.A., GAMEZ - MEZA, N., ORTEGA - GARCIA, J, RODRIGUEZ, J.A, ANGULO - GUERRERO, O., 2000. Trans fatty acids composition and tocopherol content in vegetable oils produced in Mexico J. AOCS 77 (7): 721- 724.
- PADLEY, F.B., GUNSTONE, F.D., HARWOOD, J.L. 1986. Occurence and Charctericts of Oils and Fats. In: Lipid Hadbook, GUNSTONE, F.D., HARDWOOD, .L. and PADLEY, F.B. Eds. Pages: 49-170. Chapman and Hall Ltd, London and New York
- PFEUFFER, M., 1995. Transfetsauren: Vorkommen in der Nahrung und Gesundheitliche Bedeutung. Milchwissenschaft. 50 (12):220.
- TAŞ, G., JAVIDPOUR, I., ERGİN, G., 1998. Kahvaltılık ve yemeklik margarinlerin genel ve trans yağ asidi bileşimleri üzerine bir araştırma. DÜNYA GIDA Eylül 1998, Sayfa: 40-43.
- OYSUN, G., HIŞIL, Y., 1997. Tereyağında Trans Yağ Asitlerinin Araştırılması GIDA. 22 (5): 359-363.