

ZEYTİN YAĞLARINDA ATOMİK ABSORBSİYON SPEKTROMETRESİ İLE YAPILAN BAZI METAL ANALİZLERİ VE SORUNLAR*

APPLICATION OF ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY IN OLIVE OIL ANALYSIS OF TRACE METALS

Yasemin ŞAHAN¹, Anıl ÇETİNOĞLU², Fikri BAŞOĞLU¹, Şeref GÜÇER³

¹Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa

²TÜBİTAK Test ve Analiz Laboratuvarı, Bursa

³Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Bursa

ÖZET: Zeytin yağında bulunan metaller ya hammaddeden doğrudan ya da işleme ve depolama sırasında etkileşmelerden kaynaklanmaktadır. Bu metaller demir ve bakır ppm(mg/kg) düzeylerinde olsa bile otooksidasyon reaksiyonlarını hızlandırarak yağların bozulmasına neden olmaktadır. Otooksidasyon yağlarda peroksit, aldehit, keton ve serbest yağ asitleri gibi bileşiklerin oluşumuna ve yağın kalite parametrelerinin düşmesine neden olmaktadır. Ayrıca bu bileşiklerin sindirim sisteminde hasarlara neden olduğu ve kanser oluşumunda da önem taşıdığı bildirilmektedir. Bu nedenle bazı metal iyonlarının bitkisel yağlardaki varlıklarının ve miktarlarının izlenerek kontrol edilmesi hem ürün kayıplarının azaltılması hem de insan sağlığındaki olumsuz sonuçların önlenmesi açısından son derece önem arz etmektedir.

Çalışmamızda zeytin yağındaki bakır ve demir düzeyleri Atomik Absorbsiyon Spektrometresi(AAS) ölçümleri yapılarak, kuru yakma ve ekstraksiyon metodları kullanılarak karşılaştırılmaktadır. Ölçümlerin doğruluğu, kesinliği vb. analitik parametreler, matriksin oluşturabileceği sorunlar açısından incelenmektedir. Ulusal pazardan alınan değişik marka ve özellikteki ürünler için bu metal kaynakları araştırılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Zeytin yağı, demir, bakır

ABSTRACT: The metals in olive oil result from raw material or production and storage. These metals, iron and copper, accelerate the oxidation reactions at concentrations of a few ppm(mg/kg), which are involved in rancidity processes. Autooxidation causes increase of quality parameters of oil and forming of peroxides, aldehydes, ketones and acids. On the other hand it's reported that these compounds may develop pathological effects on the digestive system and cause cancer. For this reason, presence and quantities of some metal ions should be controled. So it can be prevented loss of product and negative effect on human health.

In our research copper and iron levels in olive oil are compared by using Atomic absorption spectrometer(AAS) measurements and dry ashing and extractions methods. Rightness and accuracy of the measurements are examined as problems of matrixs. These metal sources are investigated in products of different brands and quantities which are taken from national market.

Key Words: Olive oil, iron, copper

GİRİŞ

Zeytin yağlarının metal içeriği üç faktöre bağlıdır. Bunlar, zeytinin yetiştiği ortam, işleme ve depomla koşullarıdır(Garrido et al., 1994; Karadjova et al., 1998; Castilla et al., 1999; Yousef and Rahman, 2003). Demir ve bakır gibi bazı metallerin µg/g konsantrasyonlarda bile oksidasyon reaksiyonlarını hızlandırarak acılaşımaya neden olmaktadır(Thomaidis and Georgio, 2000; Tapiera et al., 2001). Yağlardaki otooksidasyon sonucunda peroksitler, aldehitler, ketonlar ve serbest asitler gibi oksidatif bileşikler oluşmaktadır. Bu bileşikler diğer gıda komponentleriyle (proteinler, pigmentler v.b.) reaksiyona girerek sindirim sistemi hasarları, atherosklerozis,

* Türkiye 8. Gıda Kongresinde sunulmuştur.

¹ E-posta: ysahan76@hotmail.com

alerjik hastalıklar ve bazı kanser türlerinin oluşumunda etkili olmaktadır(Castillo et al., 1999; Mc Grath et al., 1996; Yanishlieva and Marinova, 2001). Ayrıca serbest demir doymamış yağ asitleriyle direkt reaksiyona girmekte ve lipid hidroperoksitlerinin alkol ve/veya peroksit radikallerine dönüşmesine ve hücre bütünlüğünün bozulmasıyla hücrenin ölmesine neden olduğu belirtilmiştir(Schaich, 1992; Smith, 1992; Gerlach et al., 1994; McCord, 1998). Demir bu etkisi ile nörodejeneratif bozukluklara da(Parkinson ve Alzheimer hastalıkları) neden olduğu ifade edilmektedir(Dexter et al., 1991; Jenner, 1991; Conner et al., 1992).

Zeytin yağı kaliteli hammadde ve gelişmiş teknoloji uygulandığında, rafine edilmeksizin doğal olarak tüketilebilen tek yağ olmakla birlikte serbest asitliği %5'in üzerine çıktığında rafine edilmesi gerekmektedir(Başoğlu, 2002). Dolayısı ile zeytin yağının üretim koşulları onun kalitesini belirlemektedir. Nergiz ve Ünal (1990)'da yeni(sürekli dekantör ve sinolea) ve eski(klasik pres ve sürekli pres) sistemle üretilen zeytin yağlarının Fe ve Cu düzeylerini araştırmışlar ve eski sistemle üretilen yağlarda daha yüksek oranda bu metallerle rastlamışlardır. Ayrıca Ünal ve ark. (1989), rafinasyon işlemi sonucunda ham yağ örneklerindeki demir ve bakır niceliklerinde büyük miktarlarda azalma olduğunu saptamışlardır. Bu nedenle zeytin yağlarında bulunan metallerin izlenmesi ve kontrol edilmesi çok önemlidir.

Zeytin yağlarındaki metal düzeylerinin belirlenmesinde bir çok spektrofotometrik yöntem kullanılmakla birlikte atomik absorpsiyon spektrometresi(AAS), duyarlı sonuçlar vermesi ve kullanım kolaylığı nedeniyle en fazla kullanılan yöntemlerden biridir(Garrido et al., 1994; Castilla et al., 1999; Onyeike and Acheru, 2002). Ancak sonuçların kalitesi bakımından en önemli basamağı örnek hazırlama oluşturmaktadır. Bitkisel yağlarda genellikle yakma, ekstraksiyon ve dilüsyon olmak üzere üç örnek hazırlama metodu kullanılmaktadır(Karadžova et al., 1998; Castilla et al., 1999; Batı and Cesur, 2002). Yağların AAS ile analize hazırlanmasında yağ yakma yöntemi, bulaşma ve patlama riski nedeniyle kullanılmamaktadır. Kuru yakma işlemi ise uzun süre gereksinimine rağmen, uçucu metal hariç sıklıkla kullanılmaktadır. (Elson et al., 1979; Huang and Jiang, 2001). Bu amaçla yağ yüksek sıcaklıkla yakıldıktan sonra kül asit içinde çözündürülmekte ve asitin bir kısmı uçurulduktan sonra sulu faza alınarak AAS'de okuma yapılmaktadır. İkinci yöntemde ise yağ, nitrik yada hidroklorik asit içinde ekstrakte edilerek analiz hazırlanmaktadır. Dilüsyon yönteminde ise yağ örnekleri metil- izobütül- keton(MIBK), tetrahidrofur, 1,4- dioksan gibi çözümler içinde çözündürülerek analiz edilmektedir(Batı and Cesur, 2002).

Bu çalışmamızda, değişik bölgelerden alınmış sızma ve rafine zeytin yağlarının Fe ve Cu düzeyleri araştırılmıştır. Bu amaçla girişim, kayıp ve kirlenme konuları göz önüne alınarak örnek hazırlama metodlarından kuru yakma ve ekstraksiyon yöntemleri uygulanmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Zeytin yağ örnekleri sızma ve riviera olmak üzere iki farklı kalitede alınmıştır. Sızma zeytin yağları yerel üreticilerden(10 adet) ve piyasadaki farklı markalardan(7 adet), riviera yağlar ise farklı markalardan(11 adet) temin edilmiştir. Yerel üreticilerden alınan sızma zeytin yağlarının 2'si Aydın, 3'ü Ayvalık, 2'si Gaziantep'ten, diğer numunelerin tamamı Bursa'daki farklı market ve pazarlardan alınarak cam kavonoz içinde laboratuvara getirilmiştir. Örneklere kuru yakma(Garrido et al., 1994; Onyeike and Acheru, 2002) ve HCl ile ekstraksiyon(Anonim, 1975; Kowalewska et al., 2003) işlemleri uygulanmıştır. Ayrıca %verim için standart katma işlemi yapılmıştır.

2.2 Kullanılan Cihazlar

Zeytin yağlarındaki demir ve bakır analizleri için; Shimadzu marka AA-6701 model double beam D₂ zemin düzeltmeli alev atomlaştırıcı atomik absorpsiyon spektrometresi kullanılmıştır. Bu metaller için optimize edilen ölçüm koşulları Çizelge 1'de özetlenmiştir.

AAS ölçümlerinde gerekli çözümlerin hazırlanmasında kullanılan saf su Milli-Q (Millipore) deiyonize sistemi kullanılarak hazırlanmıştır. Standart çözelti olarak Cu(Merck 1.19786) ve Fe(Merck 1.19781) kullanılmıştır.

Çizelge 1. Alevli AAS'de uygulanan işlem koşulları

Metal	Dalga boyu (nm)	Slit aralığı (nm)	Lamba akımı (mA)	Alev yüksekliği (mm)	Taşıyıcı gaz ve hızı (L/dak)
Fe	248.3	0.5	12	7	Hava- asetilen 2.2
Cu	324.8	0.5	6	7	Hava- asetilen 1.8

3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Farklı örnek hazırlama yöntemleri kullanılarak hazırlanan sızma ve riviera zeytin yağlarındaki ortalama Fe ve Cu miktarları ve değişim aralıkları en azdan en fazlaya doğru Çizelge 2 ve 3'de görülmektedir.

Çizelge 2. Zeytin yağ örneklerinin demir düzeyleri(mg/kg, n=4)

Yağ cinsi	Örnek adedi (n)	Kuru yakma		Ekstraksiyon	
		Ortalama	Değişim aralığı	Ortalama	Değişim aralığı
Sızma	17	1.88 ± 3.26	0.69- 6.16	0.29 ± 0.02	0.12- 0.81
Riviera	11	1.52 ± 1.17	0.65- 3.24	0.20 ± 0.01	0.07- 0.78

Anonymous 1999'a göre sızma zeytin yağlarında maksimum 5.0 mg/kg demir ve 0.4 mg/kg bakır, rafine edilmiş yağlarda ise 2.5 mg/kg demir ve 0.1 mg/kg bakır bulunmasına izin verilmiştir.

Çizelge 3. Zeytin yağ örneklerinin bakır düzeyleri(mg/kg, n=4)

Yağ cinsi	Örnek adedi (n)	Kuru Yakma		Ekstraksiyon	
		Ortalama	Değişim aralığı	Ortalama	Değişim aralığı
Sızma	17	0.04 ± 0.01	0.03- 0.08	0.11 ± 0.01	0.02- 0.25
Riviera	11	0.05 ± 0.01	0.03- 0.06	0.10 ± 0.01	0.05- 0.18

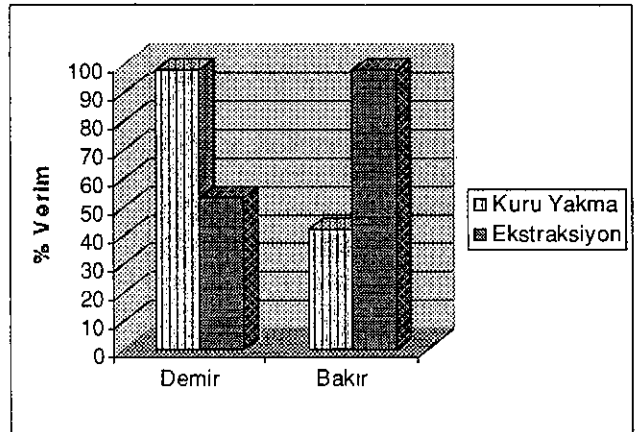
Zeytin yağ örneklerindeki demir düzeyleri incelendiğinde, sızma zeytin yağlarında iki (6.16 mg/kg ve 5.13 mg/kg) ve riviera yağlardaki üç(3.24, 2.27 ve 2.95 mg/kg) numune dışındaki tüm yağlar belirtilen limit değerlerinin altında yer almıştır.

Zeytin yağlarının bakır düzeylerine bakıldığında, sızma zeytin yağ örneklerinin tamamının, riviera yağlarının ise iki örnek hariç(0.16 ve 0.18 mg/kg) limit değerlerin altında kaldığı saptanmıştır. Bu olumlu sonuçların son yıllarda zeytin yağ üretimindeki ve depolama koşullarındaki gelişmelerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Zeytin yağlarındaki Fe ve Cu düzeylerinin belirlenmesi amacıyla uygulanan örnek hazırlama işlemleri % verim açısından karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar Şekil 1'de gösterilmiştir.

Demir tayininde % verim değerleri karşılaştırıldığında uygun örnek hazırlama yönteminin kuru yakma olduğu gözlenmiştir. Ekstraksiyon yöntemi kullanıldığında ise bağlı olan demirin ekstraksiyon ile alınamaması nedeniyle yaklaşık %50'lik bir kayıp gözlenmektedir.

Bakır tayininde ise bunun tam tersi bir durumla karşılaşılmış ve uygun yöntem olarak ekstraksiyon metodu saptanmıştır. Bakırın uç-



Şekil 1. Örnek hazırlama yöntemlerinin % verim açısından değerlendirilmesi

cu özellik gösteren bileşiklerinin bulunması yada fiziksel olarak taşınması nedeniyle kuru yakma yönteminin kullanılmasının ölçüm sonuçlarında hatalara neden olacağı belirlenmiştir.

4. SONUÇ

Zeytin yağlarının metal düzeylerinin saptanmasında, belirlenecek metale uygun bir örnek hazırlama yönteminin kullanılması gerektiği, aksi takdirde kayıplar nedeniyle hatalı sonuçlar alınabileceği gözlenmektedir. Çalışmamız genel olarak gıda örnekleri için verilen bulguların zeytin yağları içinde geçerli olduğunu göstermektedir. Teknoloji alanında yapılan analizlerde, kalite kontrol parametrelerinin güvenilirliği ölçüsünde anlamlı yorumlar yapılabileceği de açıkça görülmektedir.

Son yıllarda zeytin yağ üretiminde eski (pres yöntemi) yöntemlerin yerini sürekli sistemlerin alması, üretim ve depolama sürecindeki alet ve ekipmanların paslanmaz çelikten yapılması ve dolayısıyla yağlarla metal bulaşıklığının önlenmesi nedeniyle zeytin yağlarındaki Fe ve Cu düzeyleri belirtilen limitlerin altında gözlemlendiği düşünülmektedir. Bu durum gerek analitik gerekse de kirlenmeden kaynaklanabilecek tedbirlerin alındığı kanatını güçlendirmiştir.

KAYNAKLAR

- Anonim 1975. Yemeklik bitkisel yağlar ve muayene metotları. Türk Standartları 894.
- Anonymous 1999. Edible fats and oils. Codex Standard 19.
- Başoğlu, F. 2002. Yemeklik yağ teknolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları No:91. 251s.
- Bati, B., Cesur, H. 2002. Determination of copper in edible oils by atomic absorption spectrometry after lead piperazinedithiocarbamate solid-phase extraction and potassium cyanide back- extraction. *Analytical Sciences*. Vol 18, 1273- 1274.
- Castilla, J.R., Jimenez, M.S., Ebdon, L. 1999. Semiquantitative simultaneous determination of metals in olive oil using direct emulsion nebulization. *J. Anal. At. Spectrum*. 14, 1515- 1518.
- Conner, S.L., Gustafson, J.R., Sexton, G., Becker, N., Artaud-Wild, S., Conner, W.E. 1992. The diet habit survey: a new method of dietary assesment that relates to plazma cholestrol changes. *J.Am.Dietetic Assoc*. 92, 41-47.
- Dexter, D.T., Carayon, A., Javoy-Agid, F., Agid, Y., Wells, F.R., Daniel, S.E., Lees, A.J., Jenner, P. and Marsden, C.D. 1991. Alterations in the levels of iron, ferritin and other trace metals in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain* 114, pp. 1953-1975.
- Eilson, C. M., Hynes, D.L., MacNeil, P.A. 1979. Trace metal content of rapeseed meals, oils and seeds. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 56, 998-999.
- Garrido, M.D., Frias, I., Diaz, C., Hardisson, A. 1994. Concentrations of metals in vegetable edible oils. *Food Chemistry*. 50; 237-243.
- Gerlach, M., Ben-Shacher, D., Riederer, P., Youdim, M.B. 1994. Altered brain metabolism of iron as a cause of neurodegenerative diseases? *J. Neurochem*. 63, 793-807.
- Huang, S. J., Jiang, S.J. 2001. Determination of Zn, Cd and Pb in vegetable oil by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. *J.Anal. At. Spectrom*. 16, 664-668
- Jenner, P. 1991. Oxidative stress as a cause of Parkinson's disease. *Acta Neurol. Scand*. 136, pp. 6-15.
- Karadjova, I., Zachariadis, G., Boskon, G., Stratis, J. 1998. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of aluminium, cadmium, chromium, copper, iron, manganese, nickel and lead in olive oil. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. Vol 13, 201-204.
- Kowalewska, Z., Sraçoğlu, S., Çelik, G., Çetinoğlu, A., İzgi, B., Güçer, Ş. 2003. Some application of separation/ enrichment and fractionation techniques for trace elements determination in vegetable oils.
- McCord, J.M. 1998. Iron, free radicals, and oxidative injury. *Seminars Hematol*. 35, pp. 5-12.
- Mc Grath, L. T., Brennan, G.M., Donnelly, J.P., Johnston, G.D., Hayes, J.R., Mc Veigh, G.E. 1996. Effect of dietary fish oil supplementation on peroxidation of serum lipids in patients with non- insulin dependent diabetes mellitus atherosclerosis. *121(2): 275-283*.
- Nergiz, C., Ünal, K. 1990. The influence of the extraction systems on the content of iron and copper of virgin olive oil. *Riv. Ital. Sost. Grasse*. 67:413-418.
- Onyeike, E.N., Acheru, G.N. 2002. Chemical composition of selected Nigerian oil seeds and physicochemical properties of the oil extracts. *Food Chemistry*. 77, 431- 437.

- Schaich, K.M. 1992. Metals and lipid oxidation. *Lipids* 27, pp. 209–218.
- Smith, C., Mitchinson, M.J., Aruoma, O.I. and Halliwell, B. 1992. Stimulation of lipid peroxidation and hydroxyl-radical generation by the contents of human atherosclerotic lesions. *Biochem. J.* 286, pp. 901–905.
- Tapiero, H., Gate, L., Tew, K.D. 2001. Iron: deficiency and requirements. *Biomedecine and Pharmacotherapy*, 55(6), 324-332.
- Thomaidis, N.S., Georgiou, C.A. 2000. Edible oil analysis by flow injection. *Laboratory Automation and Information Management*. Vol 34(2), 101- 114.
- Ünal, K., Nergiz, C., Katmer, E. 1989. Bazı bitkisel yağların rafinasyonu sırasında demir ve bakır niceliklerindeki değişimler. Bursa I. Uluslar arası Gıda Sempozyumu. 4-6 Nisan 1989.139-144.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E.M. 2001. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 103, 752-767.
- Yousef, A. H., Rahman, A. 2003. Determination of trace metals in cottonseed oil and hydrogenated cottonseed. *Food Chemistry*. Vol 13(2), 161-163.