



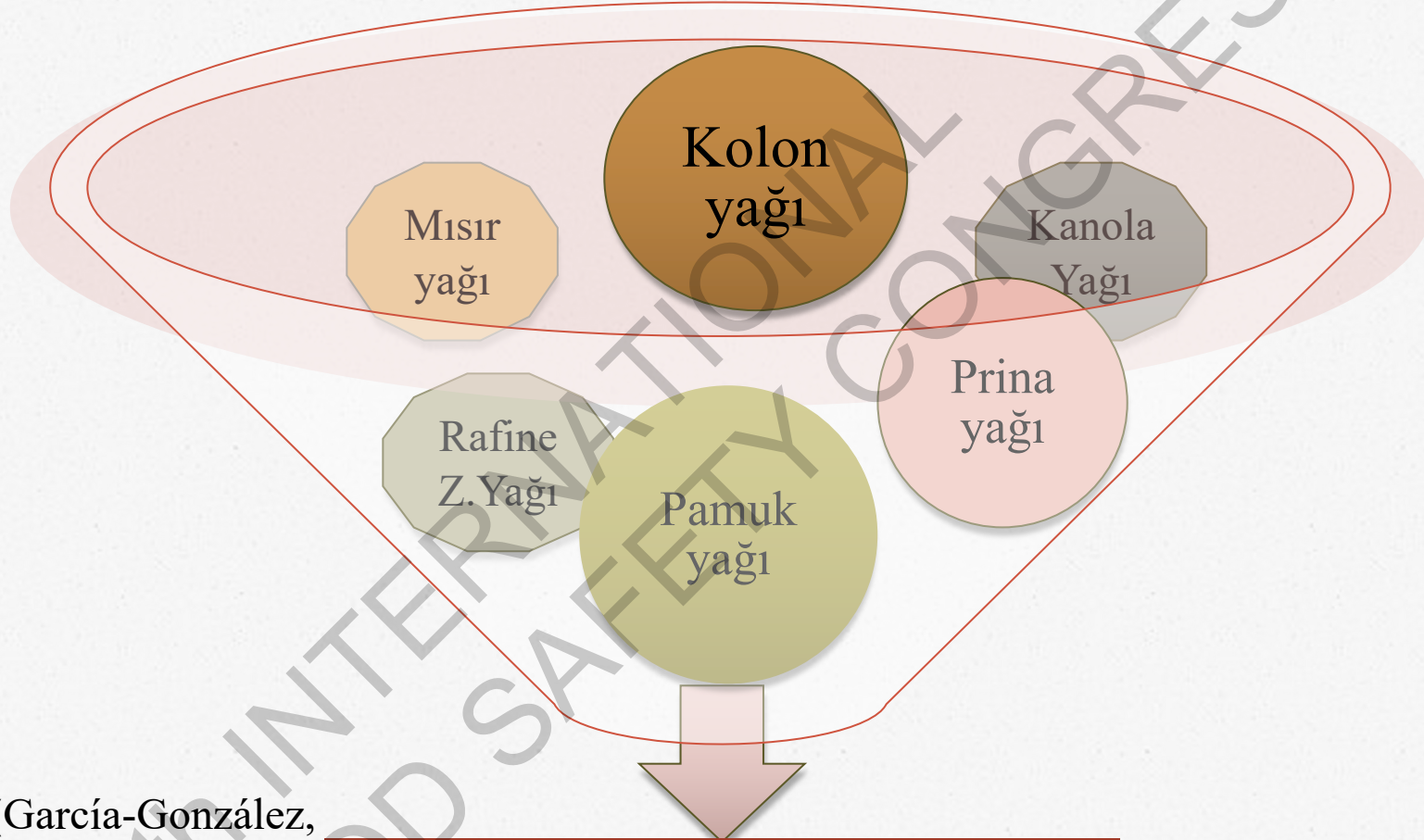
**EGE BÖLGESİ NATÜREL SIZMA
ZEYTİNYAĞLARININ ETİL ALKOL VE ETİL
ESTER DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ
ZEYTİNYAĞINDA TAKLİT VE TAĞŞIŞ**

UMMUHAN TİBET

ÜLKEMİZDE SON 10 ÜRETİM SEZONUNDA ELDE EDİLEN VE 2021-2022 ÜRETİM SEZONUNDA ELDE EDİLMESİ TAHMİN EDİLEN SON 11 YILLIK ZEYTİN VE ZEYTİNYAĞI MİKTARI TESPİT VE TAHMİN SONUÇLARI

YIL	AĞAÇ SAYISI		Ağaç Başına Zeytin Danesi (Kg)	Elde Edilecek Zeytin (Ton)	Yemekliğe Ayrılacak Zeytin (Ton)	Yağlığa Ayrılacak Zeytin (Ton)	Elde Edilecek Zeytinyağı (Ton)	1 Kg. Zeytinyağı için Zeytin Danesi (Kg)
	Meyve Veren	Meyve Vermeyen						
2011-2012	123.375.338	38.231.803	11,7	1.446.117	534.376	903.353	191.106	4,73
2012-2013	131.263.255	32.381.751	11	1.438.481	455.030	983.450	201.196	4,89
2013-2014	136.750.764	29.395.806	7,6	1.033.384	410.162	623.223	130.001	4,79
2014-2015	140.545.527	24.009.611	9,6	1.352.152	438.833	913.319	189.482	4,82
2015-2016	145.321.360	22.526.267	7,6	1.108.188	397.025	711.133	143.115	4,97
2016-2017	144.384.666	26.895.736	11	1.535.055	432.976	1.102.080	177.365	6,20
2017-2018	151.347.628	26.583.103	13,4	2.031.244	455.772	1.593.698	287.041	5,60
2018-2019	151.069.434	26.774.532	9,9	1.500.467	426.995	1.073.472	193.614	5,50
2019-2020	153.168.156	27.717.636	10,0	1.482.500	414.085	1.068.415	214.595	4,93
2020-2021	159.352.393	29.397.654	8,3	1.316.850	360.046	956.804	177.981	5,4
2021-2022	164.586.585	27.696.636	10,6	1.738.680	506.754	1.231.925	235.727	5,2

ZEYTİNYAĞI VE TAĞŞIŞ????



(García-González, Aparicio-Ruiz ve Aparicio, 2009).

Taklit ve Tağşış

ULUSLARARASI MEVZUAT

Codex Alimentarius - STANDARD FOR OO AND POO -CXS 33-1981

Uluslararası Zeytin Konseyi Ticari Standartı
COI/T.15/NC No 3/Rev. 18 - June 2022

Avrupa Birliđi Tebliği -Reg (EEC) 2568/91

ULUSAL MEVZUAT

TGK-Zeytinyağı ve Prina Yağı Tebliği

Tebliğ No:2017/26

TS 341- Zeytinyağı Standartı- Rev.Tarihi.2011

NATÜREL ZEYTİNYAĞININ KALİTE SINIFLARI



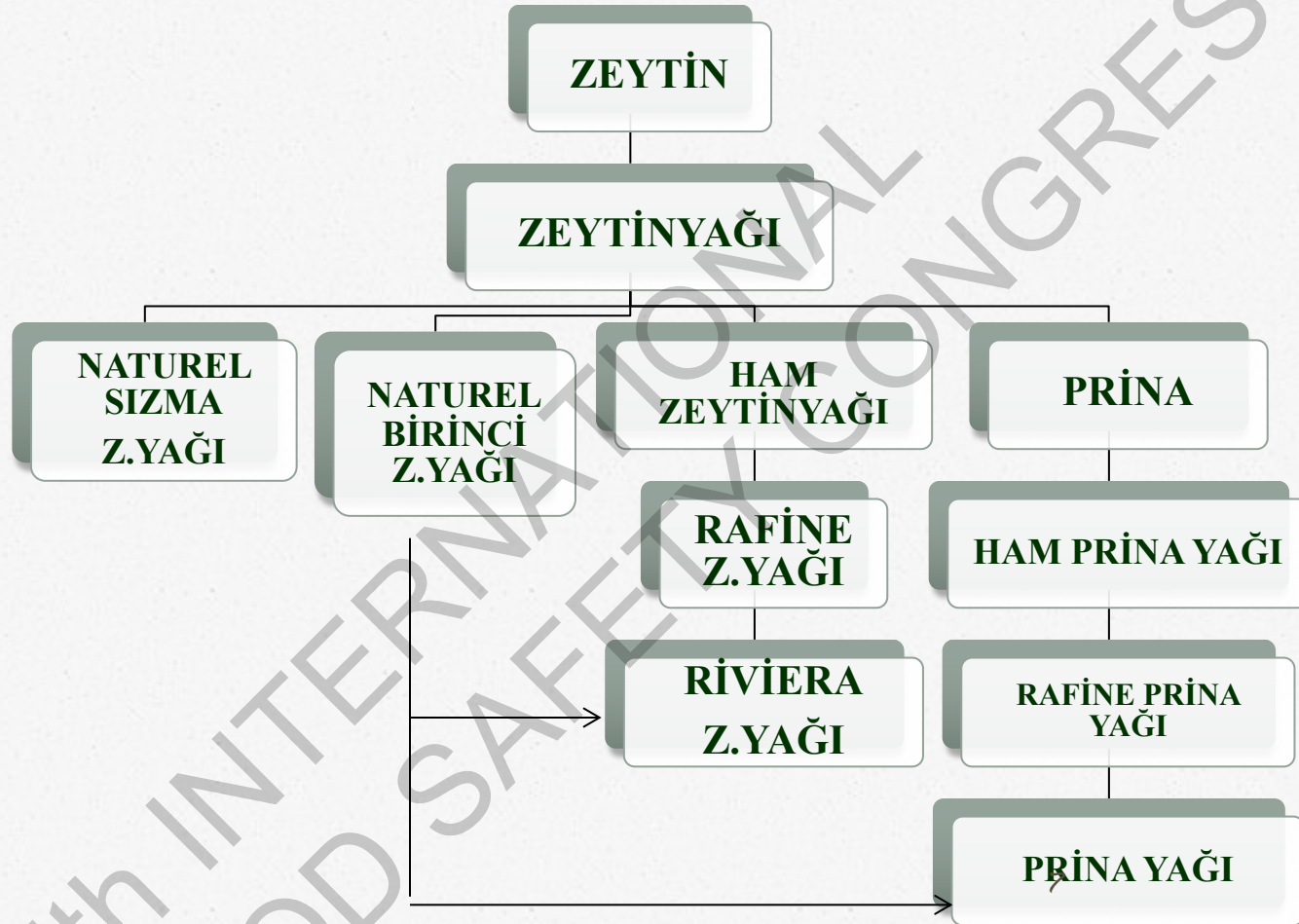
**NATÜREL
ZEYTİNYAĞI**

**NATÜREL
SIZMA Z.YAĞI
FFA<0,8**

**NATÜREL
BİRİNCİ Z.YAĞI
FFA<2,0**

**HAM Z.YAĞI
FFA>2,0**

ZEYTİNYAĞININ KALİTE SINIFLARI



NATUREL SIZMA ZEYTİN YAĞI

Naturel Sızma Zeytinyağı; ideal hasat zamanında, sağlam danelerden sadece fiziksel işlem sonucu elde edilen kimyasal özellikleri sınıfına uygun olan, asla kusur içermeyen, zeytin meyvemsiliği, acılık ve yakıcılık özelliği gösteren ve serbest yağ asitliği 0,8'i geçmeyen zeytinyağıdır.



**NATUREL SIZMA ZEYTİN YAĞI
MEYVE SUYUDUR.**

ZEYTİNYAĞI VE TAĞŞIŞ???

Amaç	Alt amaç	Paradigma
Tağşış	Zeytinyağına daha ucuz bir yağ karıştırılması	Riviera zeytinyağında fındık yağı tespiti
	Natürel Zeytinyağına rafine z.yağı karıştırılması	Natürel zeytinyağında tohum yağı tespiti
	Kaliteli bir zeytinyağına düşük kalitede z.yağı karıştırılması	Natürel sızma zeytinyağında kolon yağı tespiti
Coğrafi İşaretleme	Hatalı Etiketleme	Farklı bölge zeytinyağının coğrafi işaretli zeytinyağında tespiti
Tarımsal Sistem	İzlenebilirlik	Coğrafi işaretli ürünlerin özellikleri
	Organik veya konvensiyonel	Organik zeytinyağına konvensiyonel yağların ilavesi
Varyeteler	Çeşitli varyeteler	Belirli varyetede üretilen natürel sızma zeytinyağında çeşitli varyetelerin bulunması

ULUSAL VE ULUSLARARASI MEVZUATA GÖRE;

**Kalite
Kriterleri**

**Saflık Kriterleri
Kimyasal Analizler**

**Kimyasal
Analizler**

**Duyusal
Analiz**

**Prina Yağı
karışımı**

**Bitkisel
yağ
Karışımı**

**Düşük
kaliteli
zeytinyağı
karışımı**

**SAFLIK
KRİTERLERİ**

**KİMYASAL
ANALİZLER**

Yağ Asitleri Kompozisyonu

Trans Yağ Asitleri

Sterol Kompozisyonu

Alkil Esterler

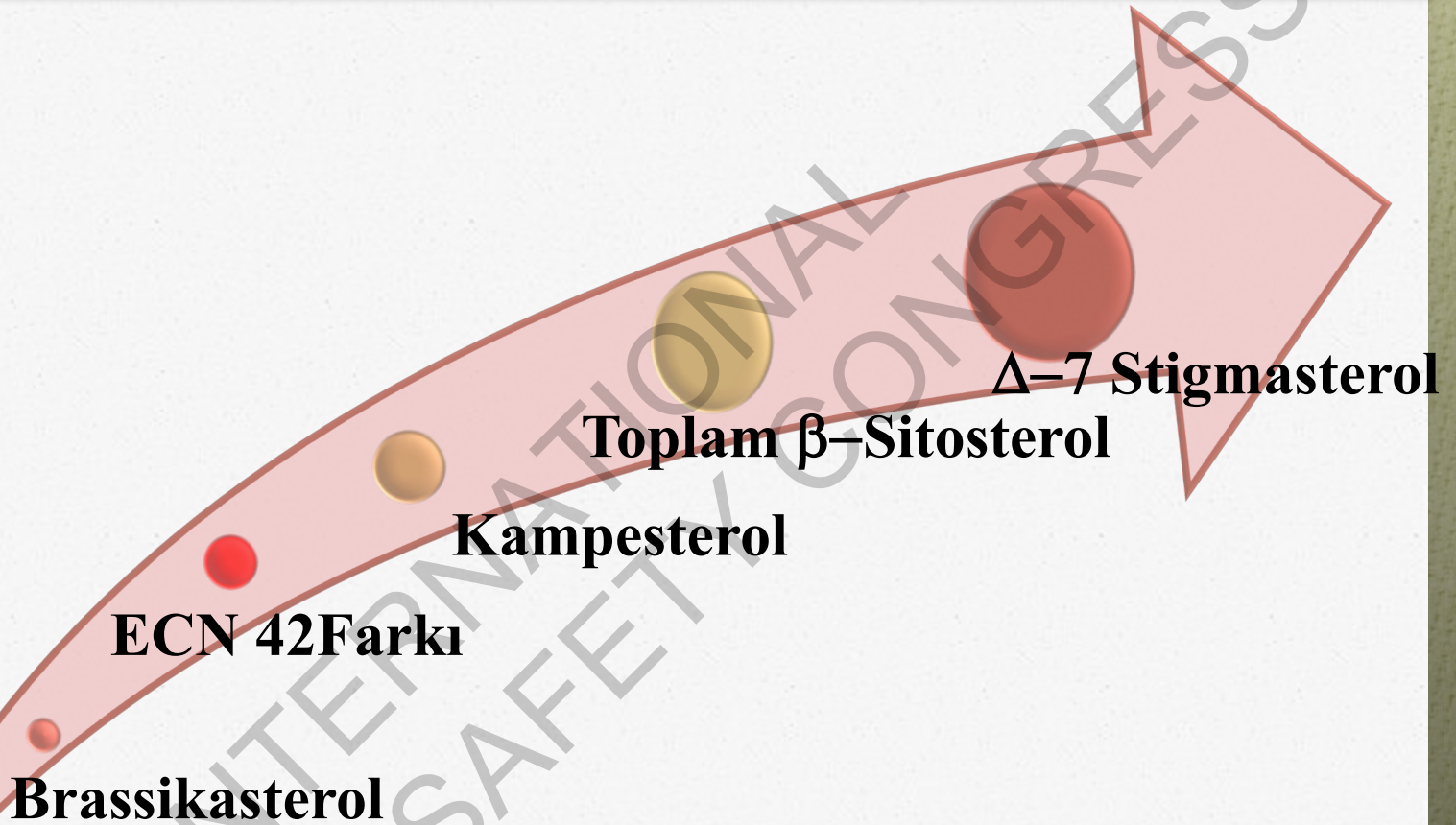
Mumsu Maddeler

ECN 42 Farkı

Stigmastadien

2-Gliseril monopalmitat

BİTKİSEL YAĞLARIN TESPİTİ



PRİNA YAĞININ TESPİTİ

Alifatik Alkoller

Eritrodiol ve Uvaol

Mumsu Maddeler

NEDEN FAEE LİMİTİ COI STANDARDA EKLENDİ?

✓ Duyusal kusurlu veya düşük kaliteli zeytinyağının olumsuz özelliklerini gizlemek için düşük sıcaklıkta nötrleştirme ve/veya düşük sıcaklıkta koku giderme gibi yasa dışı uygulamalara tabi tutulabilmektedir. Ama bu tağşişin saptanması oldukça zordur.

✓ Bu işlemler sonucunda oluşan bileşiklerden yağ asidi alkil esterlerinin (FAAE) bu tağşişi tespit etmek amacıyla, miktarının belirlenmesi önerilmiştir.

KOLON YAĞININ TESPİTİ

$$\sum \text{FAME} + \sum \text{FAEE} \leq 75 \text{ mg/kg}$$

$$\begin{aligned} &75 \text{ mg/kg} \\ &\leq \sum \text{FAME} + \sum \text{FAEE} \\ &\leq 150 \text{ mg/kg} \\ &\text{ise} \\ &\sum \text{FAEE} / \sum \text{FAME} \leq \\ &1.5 \text{ mg/kg} \end{aligned}$$

$$\text{FAEE} \leq 35 \text{ mg/kg}$$

COI/T.15/NC No 3 Rev.4 2009- TGK 2010/35

COI/T.15/NC No 3 Rev
11 2016-TGK 2017/26

KOLON YAĞININ TESPİTİ

Tagışış	Kolon yağı karıştırılması
Teknik	Gaz kromatografi
Uygulanabilirlik	Evrenseldir, ancak belki de herhangi bir fermentasyon sürecinden geçmiş zeytinlerden gelen natürel zeytinyağları ile sınırlıdır.
Resmi metod	Var. COI/T.20/Doc.28 Rev.2, TGK Zeytinyağı ve Prina Yağı Analiz Metodları Tebliğı Ek 4
Analiz süresi	Numune hazırlama:60dk, GC: 27 dk Değerlendirme: 6dk
Avantajı	Natürel sızma zeytinyağında bazı koku giderilmiş yağların varlığı tespit edilir.
Dezavantajı	Kötü kalitede zeytin ve uygun olmayan zeytin sıkım işlemi sırasında da YAEE oluşması ve aynı zamanda bir kalite kriteri olarak değerlendirilmesi
Referanslar	IOC 2010 Perez-Camino ve Ark.(2008), Aparicio ve Ark. (2009), Gomez-Coca ve Ark.(2016)

YAĞ ASİDİ ETİL ESTERLERİ NASIL OLUŞUR?



NATUREL SIZMA ZEYTİNYAĞI



Şeker fermentasyonu veya pektin degradasyonu ile

(C_{16} ve C_{18} serbest yağ asitleri ile düşük karbonlu Alkol-ler CH_3OH ve C_2H_5OH gibi)

Metil Esterler ve Etil Esterler
(FAMEs)

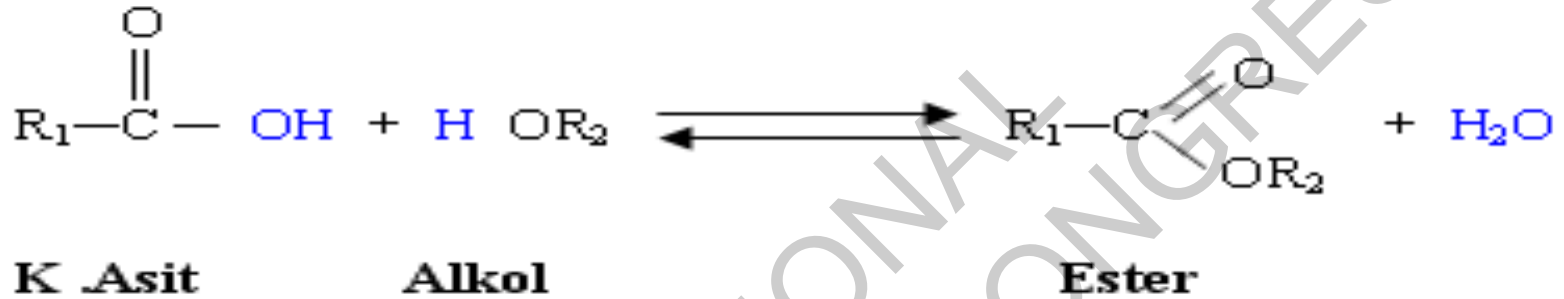
Amacımız: Kaliteli zeytinyağı üretmek için etil esteri azaltmak

ETANOL VE YAĞ ASİDİ ETİL ESTERLERİ

Natürel zeytinyağında etanolün yaygın olarak bulunması, zeytin meyvesinde doğal olarak bulunan ve zeytinin olgunlaşma periyodunda sentezlenen, hasattan sonra da depolanma aşamasında oluşan etanolün, zeytin sıkım işlemi sırasında yağa geçtiği hipotezini doğrulanmaktadır.



YAĞ ASİDİ ETİL ESTERLERİ(FAEE)



Şekil No:1 Esterleşme reaksiyonu [32].

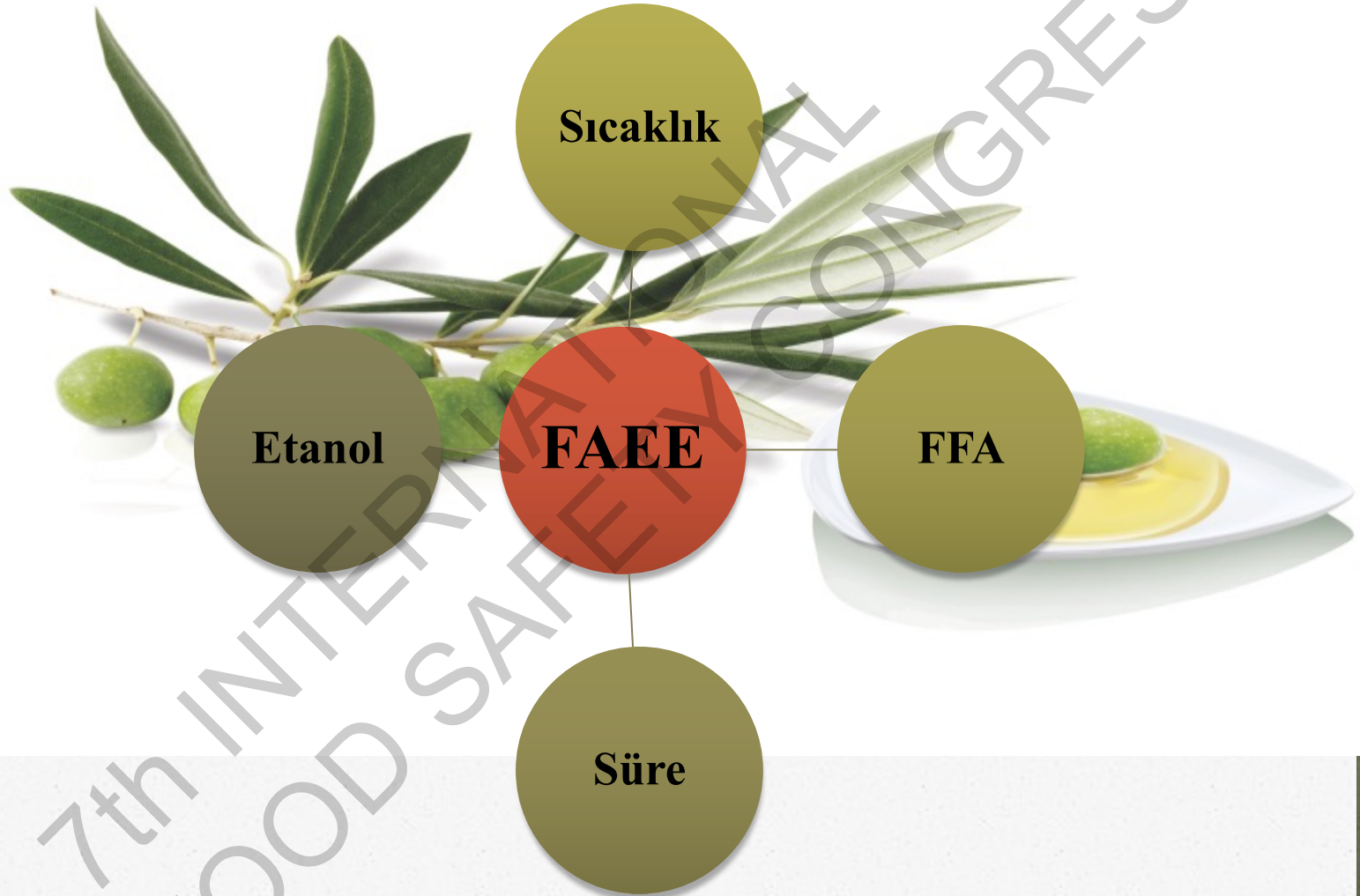
✓ Pektin metilesteraz endojen enzimatik aktivitesi sonucu oluşan metanol ve bozunan zeytinlerde fermantasyon sonucu oluşan etanol, büyük ölçüde trigliseritlerden yağ asitleri ile transesterifikasyon yoluyla esterlenir. Mekanik olarak çıkarılan yağa bu şekilde aktarılırlar. Bozunan zeytinlerde yüksek miktarda metil ve etil ester varlığı teyit edilmektedir.

YAĞ ASİDİ ETİL ESTERLERİ(FAEE)

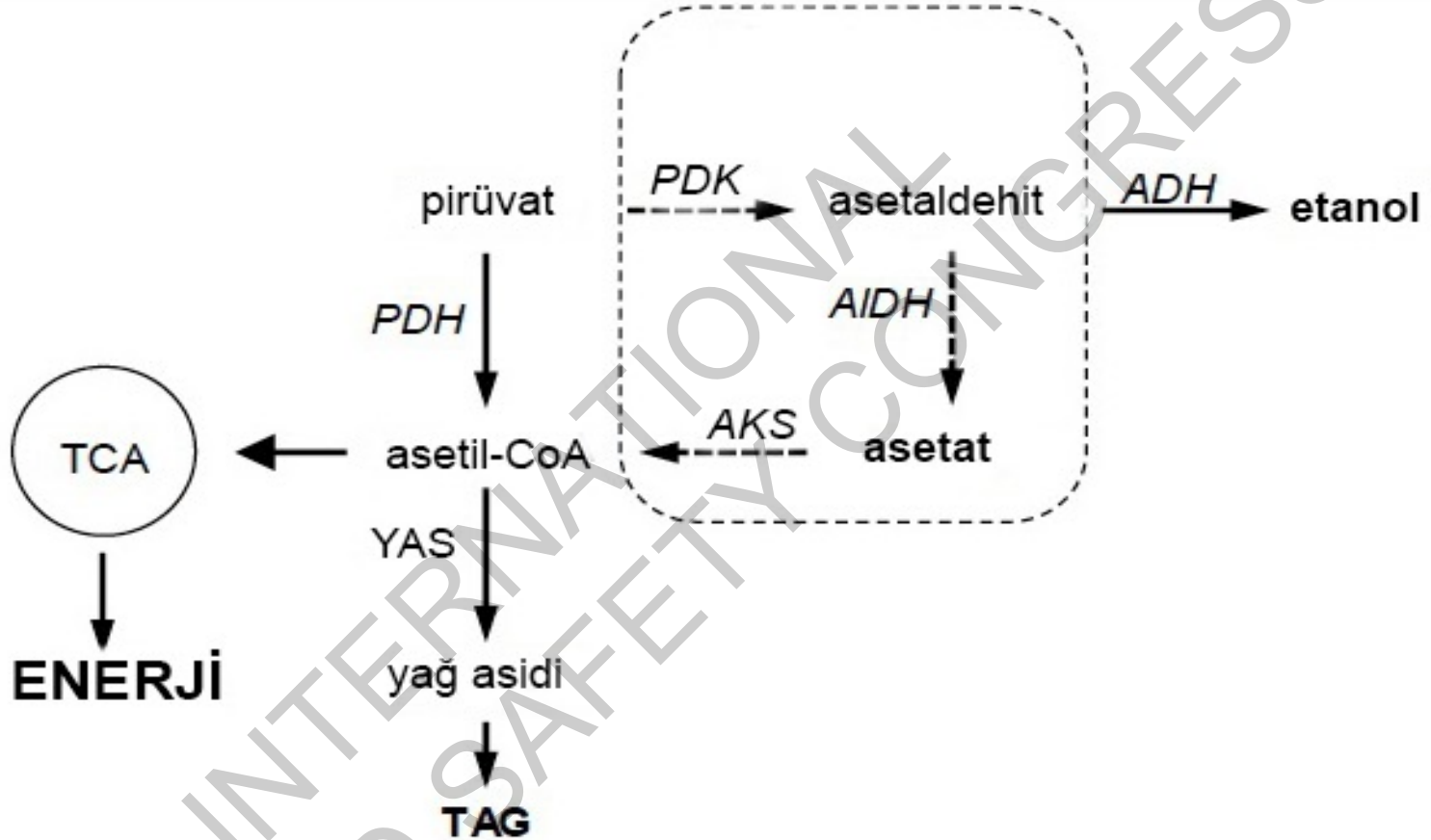
✓ Serbest yağ asitlerinin (FFA) düşük moleküllü alkollerle (örn., metanol veya etanol) esterleştirilmesi, asidik bir ortamda gerçekleşen ve belirli enzimlerin varlığıyla katalize edilen tipik ve iyi bilinen ikinci dereceden bir reaksiyondur. Bu reaksiyon, hem FFA ve alkole hem de sıcaklığa büyük ölçüde bağlıdır.

✓ Sıkılmadan günler önce depolanan zeytin danelerinde, trigliseritlerin lipolizlenmesiyle oluşan serbest yağ asitleri ve mikro organizmaların etkisiyle oluşan alkollerin reaksiyona girmesi ile yağ asitleri alkil esterleri oluşur [6, 19].

YAĞ ASİDİ ETİL ESTERLERİ NASIL OLUŞUR?



ETANOL OLUŞUMU



Şekil 1 Yağ asidi biyosentezi öncüsü Asetil koenzim A üretiminde biyokimyasal mekanizma [26](Pirüvat dekarboksilaz PDK, Alkol dehidrogenaz ADH, Triaçilgliserol TAG, Pirüvatdehidrogenaz PDH, Trikarboksilik asit TAC, Asetilkoenzim sentezi AKS, Aldehitdehidrogenaz ALDH, Yağ asidi sentezi YAS.)

ETANOLUN OLUŞUMUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

✓ Zeytin Çeşidi

✓ Zeytin Olgunluęu

✓ Hasattan sonra bekleme süresi ve kabın özellikleri

✓ Zeytin sıkım tesisinin çalışma koşulları

✓ Zeytinyağının filtre edilip edilmemesi

✓ Zeytinyağının depolama süreci

ZEYTİNİN VARYETESİ VE ETİL ALKOL

Zeytin meyvesindeki etanol miktarı zeytinin çeşidine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, Hojiblanca çeşidinde etanolün, 6 mg/kg ile 58 mg/kg arasında değiştiği, Picual'de 0.56 mg/kg ile 2.90 mg/kg arasında ve Arbequina'da 1.5mg/kg ile 11.5mg/kg arasında değiştiği görülmüştür.



Zeytin Çeşidi	Etanol mg/kg
---------------	--------------

Picual	3.4±1.7 c ^a
--------	------------------------

Hojiblanca	26.1± 10.2 ^a
------------	-------------------------

Arbequina	5.7 ±1.9 ^b
-----------	-----------------------

Tezin Amacı

•Ülkemizde üretilen natürel sızma zeytinyağlarında hem kalite kriteri ve hem de saflık kriteri olarak büyük önem arz eden etil ester miktarları ve etil ester oluşumuna kaynak olan EtOH miktarlarını araştırarak bölge ve çeşit bazında veri elde etmektir.

Tezin

Önemi

- Ulusal ve uluslararası mevzuatlara göre, yağ asitleri etil esterleri hem kalite kriteri hem de saflık kriteridir [46]. Bu sebeple, etil ester miktarının yasal limitlerin üstünde bulunması hem kalite problemi hem de saflık problemi olarak değerlendirilmektedir. Natürel zeytinyağlarında etil ester miktarının oluşumunu ve etil ester için kaynak görevi yapan EtOH miktarının bölgelerimize ve ana varyetelere göre miktarının tespiti çok önemlidir.

DENEME PLANI

İki hasat döneminde, Ege Bölgesin de yetişen 5 farklı varyete ye ait Natürel Zeytinyağlar

Numunesi aynı bölge ve aynı fabrikadan 2 yıl alınarak yıllar itibariyle FAEE ve EtOH miktarının değişimi

Kalite kriterleri incelenip, duyuusal özellikler, FAEE ve EtOH miktarlarının arasındaki ilişki

36 numunenin iki paralel analiz sonuçları SPSS 25 ve XLSTAT Programı ile değerlendirilmektedir.

MATERYAL VE METOD

Serbest yağ asitliği (% oleic asit) TGK Tebliğ No:53/2014

Peroksit değeri (meq O₂/kg yağ) TGK Tebliğ No:53/2014
Ek:2
Ek:3

Ultraviyole ışığında özgül soğurma (K₂₃₂ ,K₂₇₀ ,ΔK) TGK
Tebliğ No:53/2014 Ek:8

Yağ asitleri etil ve metil esterleri (FAEE ve FAME)TGK Tebliğ No:53/2014 Ek:6

Natürel z.yağlarında Etil alkol ve metil alkol miktarı COI/
T.20/ Doc. No 36 June 2021

Digliseridler COI/T.20/Doc.No.32 2013

Duyusal Değerlendirme COI/T.20/Doc.No15 Rev.18

Yağ Asitleri KompozisyonuTGK Tebliğ No:53/2014 Ek:8-A,B

Numunelerin toplanması

- 2020/21 hasat dönemi 18
- 2021/22 hasat dönemi 18
- Toplam 36 numune

Kimyasal, Fiziksel ve Duyusal Testlerin yapılması

- FFA -EtOH, MeOH
- Peroksit -YAK
- UV'de Ö. Ab. -Digliseridler
- FAEE -Duyusal Değerlendirme

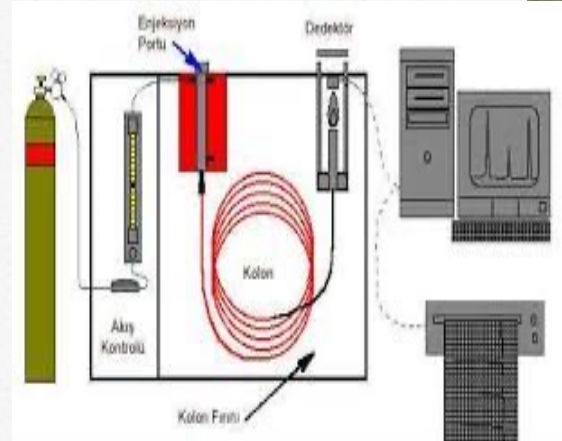
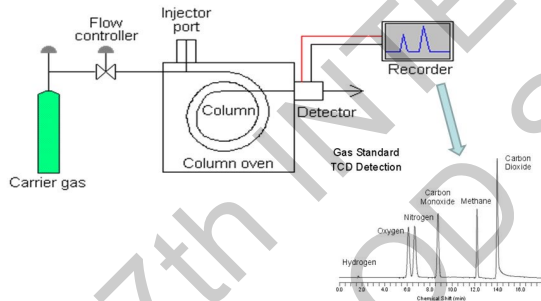
Sonuçların istatistiksel Değerlendirilmesi

- iki yönlü varyans analizi (Faktör 1=bölge, Faktör 2 = çeşit) kullanılarak SPSS ve XLSTAT programı



KİMYASAL ANALİZLER

Gaz kromatografi cihazı



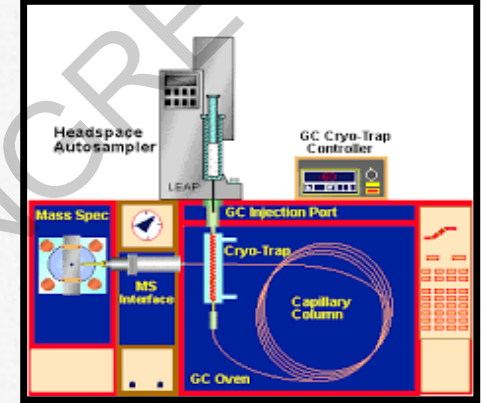
ANALİZ SONUÇLARI

KUZEY EGE 2020-2021 HASAT YILI NATUREL SIZMA ZEYTİNYAĞLARI

BÖLGE	İl	İlçe	Zeytinin Çeşidi	Sıra No	Numune Kodu	Serbest Yağ Asitliği % (Oleik asit)	Peroksit Sayısı (meqvalan grO/kg)	Ultraviole ışığında Özgül Soğurma				
								K ₂₃₂	K ₂₇₀	ΔK		
KUZEY EGE	Balıkesir	Ayvalık	Ayvalık Çeşidi	1	1-CMRT-20	a)	0,65	9,1	1,94	0,133	-0,002	
						b)	0,66	9,2	1,96	0,134	-0,002	
		Gömeç		2	2-NRM-20	a)	0,60	5,3	1,81	0,118	-0,001	
						b)	0,59	5,2	1,81	0,118	-0,001	
		Ayvalık		3	3-DNZ-20	a)	0,60	11,1	2,23	0,130	-0,001	
						b)	0,60	11,1	2,24	0,130	-0,001	
		Edremit		4	4-SMR-20	a)	0,48	9,7	2,11	0,111	-0,001	
						b)	0,49	9,9	2,10	0,112	-0,001	
		Çanakkale		Ezine	5	5-YGN-20	a)	0,65	8,5	1,91	0,147	-0,002
							b)	0,66	8,4	1,88	0,129	-0,002

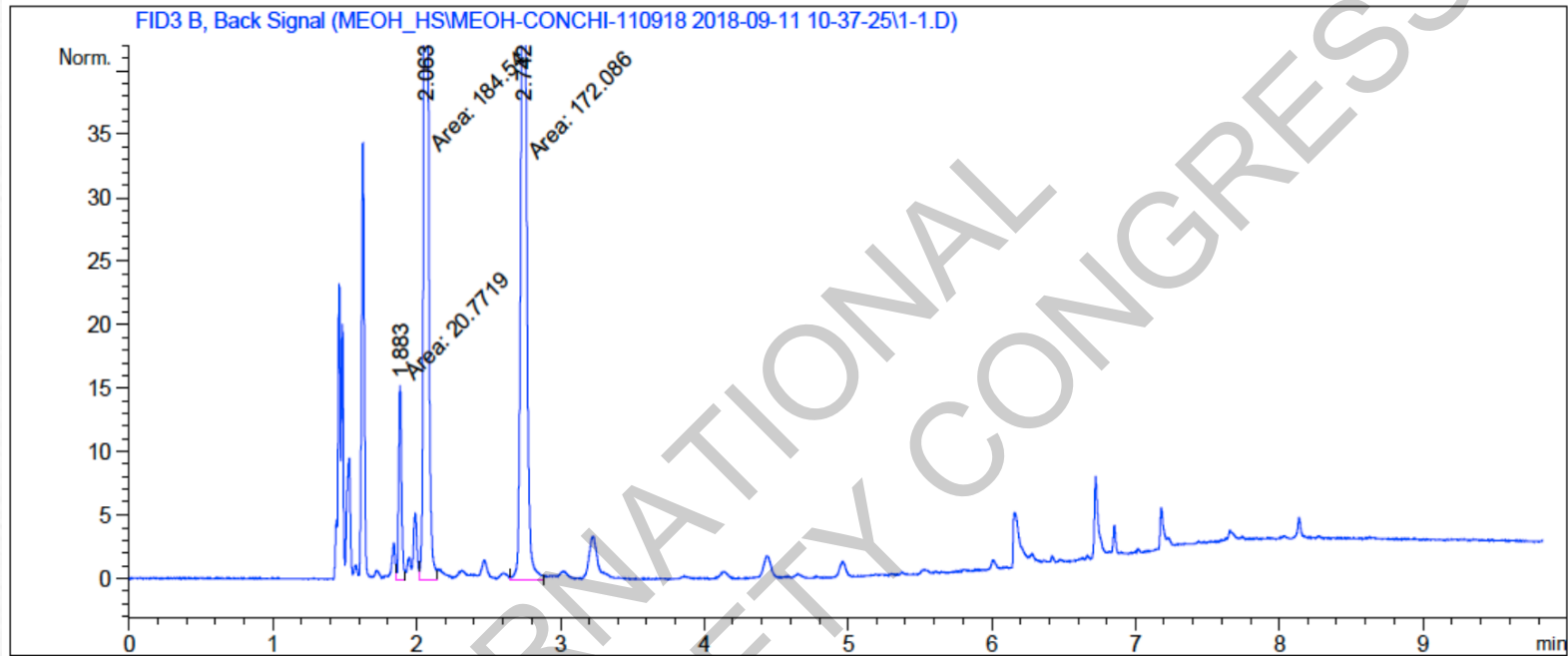
METİL ALKOL VE ETİL ALKOL ANALİZİ

Temiz bir cam vial içine yaklaşık 3 g zeytinyağı tartılmaktadır. 300 mg iç standart eklenip, şişe kapağı alüminyum hermetik olarak sıkılarak kapatılmaktadır.



Vial kuru ısıtma sisteminde 110°C 'de 60 dk ısıtılmaktadır. Gaz ve sıvı fazı dengeye geldiğinde (1dk), 500 μL bir termostat kontrollü headspace şırınga kullanılarak aynı sıcaklıkta kromatografi cihazına enjekte edilmektedir. (Kaynak:IOC)

METİL ALKOL VE ETİL ALKOL ANALİZİ



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	1.883	MF	0.0226	20.77192	15.34637	5.50399
2	2.063	FM	0.0309	184.54012	99.41720	48.89806
3	2.742	FM	0.0422	172.08560	67.97603	45.59795
Totals :				377.39764	182.73960	

EtOH-MeOH ANALİZ SONUÇLARI

	ppm MeOH muestra	ppm EtOH
1-1 (2020-2021)	6,62	1,57
1-2 (2020-2021)	8,93	1,09
1-3 (2020-2021)	8,73	5,43
1-4 (2020-2021)	6,44	0,46
1-5 (2020-2021)	13,03	14,64
1-6 (2020-2021)	5,80	1,47
1-7 (2020-2021)	3,16	0,98
1-8 (2020-2021)	3,92	0,57
1-9 (2020-2021)	4,33	3,05
1-10 (2020-2021)	2,90	1,65
1-11 (2020-2021)	7,61	2,34
1-12 (2020-2021)	2,56	1,66
1-13 (2020-2021)	3,70	0,30
1-14 (2020-2021)	4,00	3,01
1-15 (2020-2021)	4,97	2,15
1-16 (2020-2021)	4,65	0,65
1-17 (2020-2021)	12,26	3,76
1-18 (2020-2021)	6,61	6,65

	ppm MeOH muestra	ppm EtOH
2-1 (2021-2022)	4,30	0,86
2-2 (2021-2022)	4,95	1,10
2-3 (2021-2022)	5,59	2,43
2-4 (2021-2022)	3,76	1,37
2-5 (2021-2022)	9,69	12,24
2-6 (2021-2022)	7,68	1,87
2-7 (2021-2022)	1,81	7,26
2-8 (2021-2022)	3,90	5,89
2-9 (2021-2022)	3,50	3,66
2-10 (2021-2022)	1,87	0,49
2-11 (2021-2022)	5,39	2,26
2-12 (2021-2022)	3,30	2,32
2-13 (2021-2022)	3,42	1,12
2-14 (2021-2022)	4,62	3,92
2-15 (2021-2022)	4,08	0,51
2-16 (2021-2022)	4,84	0,36
2-17 (2021-2022)	10,31	2,41
2-18 (2021-2022)	5,80	2,92

SONUÇ

- ✓ FAEE natürel sızma zeytinyağının kalite kriteridir
- ✓ FAEE natürel sızma zeytinyağında tağşiş olarak katılan kolon zeytinyağının saptanmasında kullanılan tek kriterdir.
- ✓ FAEE, kısa zincirli metanol ve etanol gibi alkoller ile C16 ve C18 gibi serbest yağ asitlerinin esterleşmesi ile oluşmaktadır.
- ✓ FAEE ile don vuruğu zeytin, kızışma, şarabımsı-sirkemsi, çamurlu tortu, küf gibi duyusal kusurlar arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir.
- ✓ **FAEE oluşumunun önlenmesi için etil alkol sentezi en aza indirgenmelidir.**

KAYNAKLAR

1. Huang, C.L., Sumpio, B.E. (2007). Olive oil the Mediterranean diet and cardiovascular health. *Journal of the American College of Surgeons*, September 2008, 207(3):407-416.
2. Perez-Jimenez, F., Ruano, J., Perez-Martinez, P., Lopez-Segura, F., Lopez-Miranda, J. (2007). The influence of olive oil on human health; not a question of fat alone. *Molecular Nutrition, Food Research*, Oct2007, Vol. 51 Issue 10, p1199-1208, 10p.
3. Covas, M.I. (2007). Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacological Research Rev* 55 (2007) 175-186.
4. Covas, M.I., Konstantinidou, V., Fito, M. (2009). Olive oil and cardiovascular health. *Journal of Cardiovasc Pharmacol* 2009;54:477-482.
5. Lanzon, A., Albi, T., Cert, A., Gracian, J. (1994). The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining. *Journal of the American Oil Chemists* 1994 Springer.
6. Perona, J.S., Batham, K.L. (2013) Chapter 18 Olive Oil as a functional Food 18:678-703.
7. Garcia, J.M., Sella, S., Perez-Camino, M.C. (1996). Influence of fruit ripening on olive oil quality ACS Publications.
8. Gomez-Coca, R.B., Moreda, W., Perez-Camino, M.C. (2012). Fatty acid alkyl esters presence in olive oil vs. Organoleptic assessment. *Food Chemistry* 2012 Elsevier

KAYNAKLAR

1. 8. Gomez-Coca, R.B., Moreda, W., Perez-Camino, M.C. (2012). Fatty acid alkyl esters presence in olive oil vs. Organoleptic assessment. *Food Chemistry 2012-Elsevier*.
2. Morales, M.T., Aparicio-Ruiz, R., Aparicio, R. (2013). Chromatographic methodologies: compounds for olive oil odour issues. *Handbook of olive oil 2013-Springer*.
3. TGK Zeytinyağı ve Prina Yağı Tebliği. *Tebliğ No 2010/35 (2010)*.
4. International Olive Council Trade Standard applying to olive oils and olive pomace oils. *COI/T.15/NC No 3/Rev. 6 (2011)*.
5. Bendini, A., Cerretani, L., Salvador, M.D., Fregapane, G., Lercker, G. (2009). Stability of the sensory quality of virgin olive oil during storage: an overview. *Italian Journal of Food Science. 2009, Vol. 21 Issue 4, p389-406. 18p.*
6. Biedermann, M., Bongartz, A., Mariani, C., Grob, K. (2008). Fatty acid methyl and ethyl esters as well as wax esters for evaluating the quality of olive oils. *European Food Research Technology; Nov2008, Vol. 228 Issue 1, p65-74, 10p,*
7. Gómez-Coca, R.B., Fernandes, G.D., Pérez-Camino, M.del C., Moreda, W. (2016) Fatty acid ethyl esters (FAEE) in extra virgin olive oil: A case study of a quality parameter. *Food Science and Technology, 66, 378–383.*



TEŞEKKÜRLER.....