

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**KATI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON-GAZ KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİ  
İLE MALONALDEHİT VE HEGZANAL TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: TAHİR YÜCEL  
DANIŞMAN: Prof. Dr. İSA CAVİDOĞLU

VAN - 2016

T:C  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**KATI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON-GAZ KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİ  
İLE MALONALDEHİT VE HEGZANAL TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: TAHİR YÜCEL

VAN - 2016

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. İsa CAVIDOĞLU danışmanlığında, Tahir YÜCEL tarafından sunulan “**Katı Faz Mikroekstraksiyon-Gaz Kromatografisi Yöntemi ile Malonaldehit ve Hegzanal Tayini**” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 08.../02/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İsa CAVIDOĞLU

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Barış YALINKILIÇ

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Ayhan BAŞTÜRK

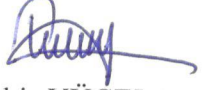
İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 12.02.2016 tarih ve 2016/8-I sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza:  
Prof. Dr. Suat SENSOY  
Enstitü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Tahir YÜCEL

## ÖZET

### KATI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON-GAZ KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİ İLE MALONALDEHİT VE HEGZANAL TAYİNİ

YÜCEL, Tahir

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsa CAVİDOĞLU

Şubat 2016, 44 Sayfa

Bu çalışmada, Matriks (hava matriksi ve ayçiçeği yağı matriksi), ekstraksiyon sıcaklığı (40, 50 ve 60 °C) ve ekstraksiyon süresinin (20, 30 ve 40 dakika) hegzanalın (HEG) ve malonaldehitin (MAD) Katı Faz Mikroekstraksiyon (SPME) fiberi tarafından ekstraksiyonu üzerinde etkileri araştırılmıştır. HEG ve MAD'ın nicel analizi için Internal Standart (IS) olarak 5-Metil 2-hegzanon (0.5 ppm) kullanılmıştır. HEG ve MAD'ın IS ile aralarındaki doğrusal ilişkinin düzeyini belirlemek üzere matriks olarak kullanılan hava ve ayçiçeği yağına farklı oranlarda HEG ve MAD (5 ppb, 10 ppb, 50 ppb, 100 ppb, 0.5 ppm, 1 ppm, 5 ppm ve 10 ppm) ve IS (0.5 ppm) eklenerek, SPME tekniği uygulamak suretiyle değişkenler arasındaki ilişki, regresyon denklemi ( $y=ax+b$ ) ve değişkenler ( $x=$  Derişim HEG veya MAD/Derişim IS;  $y=$  HEG veya MAD Alan/IS Alan) arasındaki kolerasyon katsayılarının ( $R^2$ ) belirlenmesi ile değerlendirilmiştir. HEG ve MAD hava matriksinde IS ile iyi bir korelasyon göstermiştir. MAD'ın oldukça reaktif ve polar olmasından dolayı yağ matriksinde MAD ile IS arasındaki  $R^2$  değeri ( $0.015 < R^2 < 0.606$ ) bu iki değişken arasındaki doğrusal ilişkinin MAD'ın nicel analizine olanak sağlayacak düzeyde olmadığını göstermiştir. Yağ matriksinde HEG ile IS arasındaki  $R^2$  değeri dikkate alındığında HEG'in analizinde en uygun ekstraksiyon koşulunun 60 °C ve 20 dakika olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, basit, hızlı, duyarlı ve çözücü gerektirmeyen bir yöntem olan SPME'nin, HEG'in hem hava hem de yağ matriksinde tespitinde kullanılabilirken, MAD'ın yağ matriksinde tespit edilebilmesi için SPME yöntemi ile saptanabileceği türevlerine dönüştürülmesi gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Katı faz mikroekstraksiyon, Matriks, Hegzanal, Malonaldehit, Ekstraksiyon



## ABSTRACT

### DETERMINATION OF MALONALDEHYDE AND HEXANAL BY SOLID PHASE MICROEXTRACTION-GAS CHROMATOGRAPHY METHOD

YUCEL, Tahir

M. Sc. Thesis, Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. İsa CAVIDOĞLU

February 2016, 44 Pages

In this study, the effects of matrix (air matrix and sunflower oil matrix), extraction temperature (40, 50 and 60 °C) and extraction time (20, 30 and 40 minutes) on extraction of hexanal (HEG) and malonaldehyde (MAD) by Solid Phase Micro-extraction fiber (SPME) were investigated. 5-Methyl 2-hexanone (0.5 ppm) was used as Internal Standard (IS) for quantification of HEG and MAD. In order to determine the level of linearity between HEG and MAD with IS, various ratios of HEG and MAD (5 ppb, 10 ppb, 50 ppb, 100 ppb, 0.5 ppb, 1 ppm, 5 ppm and 10 ppm) and IS (0.5 ppm) were added to sunflower oil samples and empty vials, and by applying the SPME technique the relation between variables ( $x = \text{Concentration of HEG or MAD/Concentration of IS}$ ,  $y = \text{Area of HEG or MAD/Area of IS}$ ) were evaluated by regression equation ( $y=ax+b$ ) and correlation coefficient ( $R^2$ ). Both HEG and MAD demonstrate a good correlation with IS in the air matrix, but because of the high reactivity and polarity of MAD, the correlation between MAD and IS was not sufficient ( $0.015 < R^2 < 0.606$ ) to explain the linearity between MAD and IS in the sunflower oil and consequently using 5-methyl 2-hexanone as IS for quantification of MAD in sunflower oil. By evaluation the  $R^2$  values between HEG and IS, it was found that the most appropriate condition for extraction of HEG was 60 °C and 20 minutes.

As a result, SPME which is a simple, fast, sensitive and solvent-free technique can be used in determination of HEG in both air and sunflower oil matrix, while for determination of MAD in sunflower, it must be derivatized to analysis by SPME.

**Key words:** Solid phase micro-extraction, Matrix, Hexanal, Malonaldehyde, Extraction





## ÖN SÖZ

Yüksek Lisans eğitimim süresince tez çalışmamın başından sonuna kadar ilgi ve desteğini esirgemeyen, bu tez çalışmasında konu seçimi ve analizler sırasında yardımda bulunan değerli ve saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. İsa CAVİDOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Analizlerim sırasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen başta Yrd. Doç. Dr. Emre BAKKALBAŞI ve Yrd. Doç. Dr. Ayhan BAŞTÜRK olmak üzere tüm Gıda Mühendisliği Bölümü Hocalarıma, manevi desteklerinden dolayı aileme, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarından dolayı Nazan KUTLU'ya teşekkürlerimi sunarım.

2016

Tahir YÜCEL



## İÇİNDEKİLER

|   | Sayfa |
|---|-------|
| ÖZET .....  | i     |
| ABSTRACT .....  | iii   |
| ÖN SÖZ.....   | v     |
| İÇİNDEKİLER.....  | vii   |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....   | ix    |
| ÇİZELGELER LİSTESİ .....  | xi    |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....   | xiii  |
| 1. GİRİŞ.....   | 1     |
| 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ .....  | 12    |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....  | 16    |
| 3.1. Materyal .....   | 16    |
| 3.2. Yöntem.....  | 16    |
| 3.2.1. Hegzanal ve Malonaldehit Analizi .....   | 16    |
| 3.3. Veri Analizi.....  | 17    |
| 4. BULGULAR .....   | 18    |
| 4.1. Örnek Matriksinin SPME'nin Performansı Üzerine Etkisi.....   | 19    |
| 4.2. Hava Ortamında (boş vial) Farklı Süre ve Sıcaklıklarda Malonaldehit ve Hegzanalın İnternal Standart ile İlişkisi.....          | 21    |
| 4.2.1. 40 °C de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular..... | 21    |
| 4.2.2. 50 °C de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular..... | 24    |
| 4.2.3. 60 °C de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular..... | 26    |
| 4.3. Ayçiçek Yağında Farklı Süre ve Sıcaklıklarda Malonaldehit ve Hegzanalın İnternal Standart ile İlişkisi .....                   | 27    |
| 4.3.1. 40 °C de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular..... | 29    |
| 4.3.2. 50 °C de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular..... | 31    |
| 4.3.3 60 °C de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular.....  | 33    |
| 5- TARTIŞMA VE SONUÇ .....  | 37    |
| KAYNAKLAR .....   | 40    |

|               |                    |
|---------------|--------------------|
| ÖZGEÇMİŞ..... | <b>Sayfa</b><br>43 |
|---------------|--------------------|

## ŞEKİLLER LİSTESİ

| Şekil       | Sayfa   |
|-------------|---|
| Şekil 1.1.  | Doymamış yağ asitlerinden MAD oluşum basamakları..... 4   |
| Şekil 4.1.  | İki farklı derişimde HEG ve MAD ile 0.5 ppm IS ilave edilen örneğe 40°C'de 30 dk ekstraksiyondan sonra edilen GC kromatogramı..... 18 |
| Şekil 4.2.  | 0.5 ppm HEG, IS ve MAD ilave edilmiş hava ve yağ matrikslerinde 40 °C ve 30 dk ekstraksiyon sonrasına ait GC kromatogramı..... 19     |
| Şekil 4.3.  | Hava ve yağ matrikslerine 100 ppb MAD ilave edilerek 50 °C'de 30 dk ekstraksiyon sonucu elde edilen GC kromatogramı.....20            |
| Şekil 4.4.  | Hava ortamında 40 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 22                              |
| Şekil 4.5.  | Hava ortamında 40 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 23                              |
| Şekil 4.6.  | 40 °C'de 30 dk'da farklı derişimlere (100, 10 ve 5 ppb) ait GC kromatogramı.....23  |
| Şekil 4.7.  | Hava ortamında 50 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 25                              |
| Şekil 4.8.  | Hava ortamında 50 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 25                              |
| Şekil 4.9.  | Hava ortamında 60 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 26                              |
| Şekil 4.10. | Hava ortamında 60 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 27                              |
| Şekil 4.11. | 60 °C ve 40 dk ekstraksiyon sonucu kontrol örneği ve dışarıdan HEG, MAD, ve IS ilave edilmiş örneklere ait GC kromatogramı..... 28    |
| Şekil 4.12. | Ayçiçeği yağında 40 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 30                            |
| Şekil 4.13. | Ayçiçeği yağında 40 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 31                            |
| Şekil 4.14. | Ayçiçeği yağında 50 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 32                            |
| Şekil 4.15. | 100 ppb HEG ilave edilmiş ayçiçek yağında 50° C'de 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon sonrası elde edilen GC kromatogramı..... 32           |
| Şekil 4.16. | Ayçiçeği yağında 50 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 33                            |
| Şekil 4.17. | Ayçiçeği yağında 60 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi..... 34                            |

| <b>Şekil</b> |  | <b>Sayfa</b> |
|--------------|--|--------------|
| Şekil 4.18   | Ayçiçeği yağında 60 °C'de farklı sürelerde MAD ve IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.....             | 35           |
| Şekil 4.19   | 100 ppb HEG ilave edilmiş yağda 30 dk'da 40, 50, ve 60 °C'de ekstraksiyon sonrası elde edilen GC kromatogramı..... | 36           |

## ÇİZELGELER LİSTESİ

| Çizelge      |   | Sayfa |
|--------------|---|-------|
| Çizelge 3.1. | Kullanılacak gaz kromatografisi cihazının HEG ve MAD tayini için çalışma koşulları.....   | 17    |
| Çizelge 4.1. | 40 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince havada yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları..... | 21    |
| Çizelge 4.2. | 50 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince havada yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları..... | 24    |
| Çizelge 4.3. | 60 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince havada yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları..... | 26    |
| Çizelge 4.4. | 40 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince yağda yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları.....  | 29    |
| Çizelge 4.5. | 50 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince yağda yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları.....  | 31    |
| Çizelge 4.6. | 60 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince yağda yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları.....  | 34    |





## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklama

|                |                                    |
|----------------|------------------------------------|
| °C             | Santigrat derece                   |
| cm             | Santimetre                         |
| dk             | Dakika                             |
| kcal           | Kilokalori                         |
| kg             | Kilogram                           |
| ml             | Mililitre                          |
| µm             | Mikrometre                         |
| nm             | Nanometre                          |
| pH             | Hidrojen kuvveti                   |
| pKa            | Asitlik sabitinin eksi logaritması |
| ppb            | Milyarda bir kısım                 |
| ppm            | Milyonda bir kısım                 |
| R <sup>2</sup> | Kolerasyon katsayısı               |

### Kısaltmalar

### Açıklama

|       |   |
|-------|---|
| CAR   | Karboksen                               |
| CW    | Karbovaks                               |
| DVB   | Divinilbenzen                           |
| DNA   | Deoksiribo nükleik asit                 |
| FID   | Alev iyonazisyon dedektörü              |
| GC    | Gaz kromatografisi                      |
| GC-MS | Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi |
| HEG   | Hegzanal                                |
| HPLC  | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi |
| HS    | Headspace (tepe boşluğu)                |

|              |                                      |
|--------------|--------------------------------------|
| <b>IS</b>    | İnternel standart                    |
| <b>MAD</b>   | Malonaldehit                         |
| <b>PA</b>    | Poliakrilat                          |
| <b>PEG</b>   | Polietilen glikol                    |
| <b>PDMS</b>  | Polidimetilsiloksan                  |
| <b>SPME</b>  | Katı faz mikroekstraksiyon           |
| <b>TBARS</b> | Tüyobarbütirik asit reaktif maddeler |

## 1. GİRİŞ

Otooksidasyon ve fotooksidasyon gibi farklı kimyasal mekanizmalar oksijen çeşidine bağlı olarak işleme ve depolama süresince gıdalardaki oksidasyondan sorumludurlar. Atmosferik triplet ve singlet oksijen olmak üzere iki çeşit oksijen gıda ile reaksiyona girerek oksidasyona neden olmaktadır. Gıdalardaki oksidasyon; ısı ve ışık gibi bir enerji kaynağı, yağ asidi bileşimi, oksijen çeşidi, metal, pigment, fosfolipid, antioksidan vb. minör bileşenler gibi etmenlere bağlıdır (Choe ve Min, 2006).

Gıdalardaki otooksidasyon süreci; bu unsurların varlığında oksijen tarafından meydana gelen kompleks bir olaydır. Başlangıç, gelişme ve sonlanma gibi üç aşamadan oluşan bu süreçte hidroperoksitler ve uçucu bileşenler meydana gelir. Otooksidasyon için radikal formdaki yağ asitleri veya açilgliserol gerekmektedir. Normalde yağ asitleri veya açilgliseroller singlet durumdadır. Yağ asitlerinin triplet oksijen ile tepkimeye girmesi istenmeyen bir durumdur. Başlangıç aşamasında yağ asidindeki hidrojen atomu uzaklaşarak alkil radikalleri oluşmaktadır. Yağ asidinden hidrojeni uzaklaştırmak için gerekli olan enerji hidrojenin moleküldeki konumuna bağlıdır. Özellikle iki çift bağ arasındaki karbona bağlı olan hidrojen başta olmak üzere çift bağa komşu hidrojen kolay bir şekilde ayrılabilir. Alkil radikal, triplet oksijen ile tepkimeye girer başka reaktif radikal olan peroksi radikalini oluşturur. Peroksi radikali diğer lipid moleküllerinden bir hidrojen ayırır ve hidrojen ile reaksiyona girerek hidroperoksit ve diğer alkil radikalini oluşturur. Bu radikaller oksidasyon reaksiyonunu katalizler ve bundan dolayı otooksidasyon, serbest radikal zincir reaksiyonu olarak adlandırılır. Peroksi radikal ve hidroperoksit oluşum hızı oksijen varlığına ve sıcaklığa bağlıdır. Radikaller birbiriyle reaksiyona girdiğinde radikal olmayan bileşikler oluşur ve reaksiyon durur. Birincil oksidasyon ürünleri olan hidroperoksitler oda sıcaklığında ve metal bulunmaması durumunda kısmen kararlıdır. Ancak, metal varlığında veya yüksek sıcaklıklarda hidroperoksitler, kolaylıkla alkoksi radikallerine ayrışır ve daha sonra aldehitler, ketonlar, asitler, esterler, alkoller ve kısa zincirli hidrokarbonlara dönüşürler. Hidroperoksit parçalanmasındaki en muhtemel yol oksijen ve oksijen bağı arasındaki homolitik ayrılımdır ve bunun sonucunda alkoksi ve hidroksi radikalleri oluşur. Oksijen-oksijen bağını parçalamak için gerekli olan aktivasyon enerjisi oksijen-hidrojen bağına göre 46 kcal/mol daha azdır. Daha sonra alkoksi radikaller karbon-

karbon bağı arasında homolitik  $\beta$ -parçalanması ile doymuş ve doymamış alkil radikallere dönüşür. Hidroksi radikali ilavesi veya hidrojen transferi ile elektron düzenlemesinden sonra oluşan nihai ikincil oksidasyon ürünlerin çoğu düşük molekül ağırlıklı aldehitler, ketonlar, alkoller ve kısa zincirli hidrokarbonlardır (Mariutti ve ark., 2009; Pignoli ve ark., 2009; Mildner-Szkudlarz ve ark., 2002; Choe ve Min, 2006).

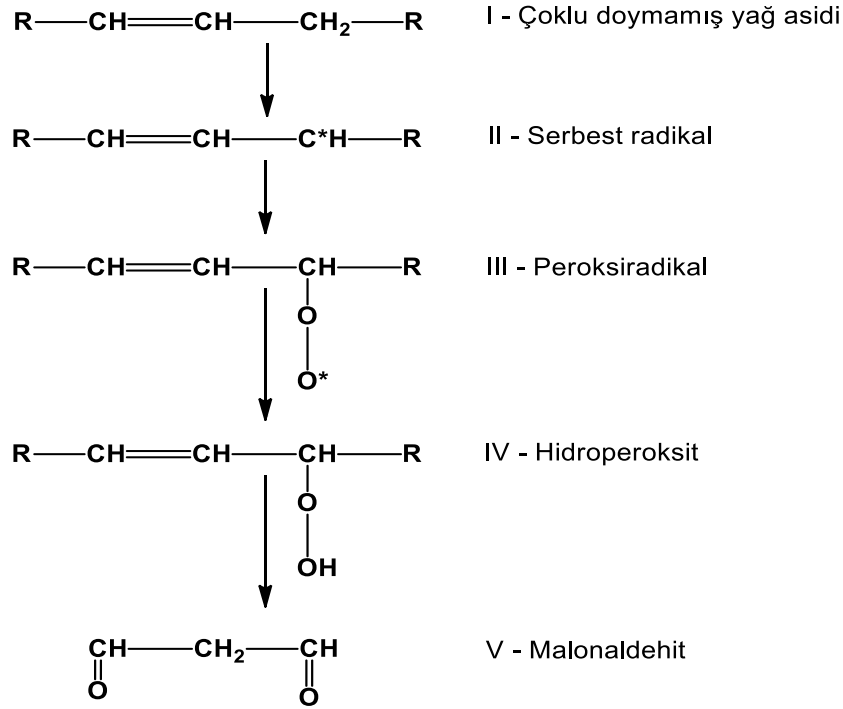
Hidroperoksitlerin parçalanması geniş ölçekte aldehit oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Oluşan bu aldehitler gıdada hoşta gitmeyen tat ve kokuların oluşmasından sorumludurlar. HEG, MAD, pentanal, propanal ve 4-hidroksi nonenal en çok oluşan aldehitlerdir. HEG, n-6 çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan bir bileşendir. Propanal ise, n-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşmaktadır. Omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin oksidasyonu ile HEG ve propanal gibi pek çok uçucu parçalanma ürünleri oluşmaktadır. HEG ve propanal, gıdalarda daha çok lipid oksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadırlar. HEG ve propanal çift bağ içermemelerinden dolayı doymamış aldehitlere göre oksidatif olarak daha stabildirler. Özellikle HEG oksidatif stabilitenin ve tadın kabul edilebilirliğinin bir belirteci olarak ve ayrıca gıdalardaki lipid oksidasyonunun düzeyini belirlemek üzere kullanılmaktadır (Pignoli ve ark., 2009; Mariutti ve ark., 2009).

Yağların oksidatif stabiliteilerinin belirlenmesinin dışında aldehitlerin canlı organizmalarda da oksidatif stresin göstergesi olarak değerlendirilip değerlendirilemeyecekleri araştırılmaktadır. Organizmada aldehitler, serbest radikaller ile hücre lipidlerinin reaksiyona girmesi ile oluşurlar. Aldehitlerin varlığı serbest radikallerin aracılık ettiği reaksiyonların bir göstergesidir. Aldehit derişimindeki artış oksidatif stresin olduğunu göstermektedir. Kanseri hastalarının kanında yüksek oranda aldehit bulunmuştur ve aldehitler kanserin bir belirteci olarak değerlendirilmektedir. Göğüs kanseri olan hastaların kanında akrolein ve formaldehit tespit edilmiştir. Tümörlü transgenik farelerin kanında yüksek oranlarda formaldehit ve asetaldehit saptanmıştır. Kanseri hastaların kan örneklerindeki HEG, heptanal ve MAD seviyesi kontrol grubundakilerden çarpıcı biçimde yüksek bulunmuştur. Kanseri hastalarının nefesinde ve akciğer kanseri hastalarının kanında yüksek oranda HEG ve heptanal tespit edilmiştir. Oksidatif stresin göstergesi olarak kabul edilen yüksek seviyelerdeki aldehit kanserin teşhisinde bir ölçüt olarak gösterilmektedir (Li ve ark., 2005).

C<sub>1</sub> ve C<sub>3</sub> pozisyonlarında karbonil grubuna sahip üç karbonlu bir dialdehit olan MAD, üç ve daha çok çift bağa sahip olan çoklu doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu ile oluşan hidroperoksitlerden türemektedir (Mariutti ve ark., 2009). MAD'ın yüksek reaksiyon yeteneği sayesinde protein ve DNA gibi makromoleküllerle reaksiyona girmektedir. MAD'ın biyolojik makromoleküller ile reaksiyona girebilmesi ve kanser gibi hastalıklarla muhtemel ilişkili olduğundan dolayı tıp ve biyoloji bilimlerinde geniş bir çalışma alanı bulmaktadır. MAD'ın pKa (asitlik sabitinin eksi logaritması) değeri 4.5 olup erime noktası yaklaşık 72 °C'dir. MAD'ın oldukça düşük pKa değeri onun yapısı ile açıklanabilmektedir. Temel olarak bu bileşen için gözlemlenen düşük pKa değerini açıklamak için MAD bir di-aldehit veya bir viniljenik karboksilik asit olarak gösterilebilir. Bir α, β doymamış karbonil grubuna sahip yapısından dolayı MAD asidik koşullarda 245 nm'de veya bazik koşullarda 267 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenebilmektedir (Giera ve ark., 2012).

MAD ayrıca lipid oksidasyonunun ve özellikle et ve et ürünleri gibi çeşitli gıdalardaki acılaştırmanın bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Lipid oksidasyonu et ve balık ürünlerinde lipit içeriği çok düşük olduğu durumlarda bile tat, koku, lezzet, tekstür ve görünümde bozulmalara neden olan kalite kaybı nedenidir. Elverişsiz depolama koşulları altında uzun depolama sürecinde ransit kokular oluşabilmektedir. Bu kokular doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucu gelişmektedir. Meydana gelen bu ürünler arasında özellikle MAD başta olmak üzere aldehitler etteki ransit tat oluşumundan sorumludurlar (Fan, 2002; Shin ve Jung, 2009; Shin, 2009; Ruan ve ark., 2014).

MAD oluşum mekanizması Şekil 1.1.'de gösterilmektedir. Reaktif bileşenlerin hedefi çoklu doymamış yağ asitlerinin çift bağ karbonudur. Bu çift bağ karbon-hidrojen bağı zayıflatarak hidrojenin radikal tarafından kolay bir şekilde ayrılmasını sağlar. Bundan dolayı herhangi bir serbest radikal lipitten hidrojeni uzaklaştırarak başka serbest radikaller oluşur. Oluşan serbest radikalın oksidasyona maruz kalmasıyla peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali diğer doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek hidroperoksitleri ve diğer serbest radikalleri oluşturur. Bu süreç bir zincir reaksiyonu şeklinde devam edebilir. Lipit hidroperoksitleri kararsızdırlar ve MAD ve 4-hidroksi-2-nonenal gibi ürünlere dönüşürler.



Şekil 1.1. Doymamış yağ asitlerinden MAD oluşum basamakları (Grotto, 2009).

Gıdalardaki oksidasyon durumunu tespit etmek için peroksit, anisidin, konjuge-dien ve -trien, toplam oksidasyon ve 2-tiyobarbütirik asit reaktif maddeler (TBARS) değerleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunların arasında TBARS değeri diğer yöntemlere göre kısmen kolay ve hızlı bir yöntemdir. Ancak TBARS değeri spesifik ve duyarlı bir analiz olmadığı için geniş ölçekte tartışılmaktadır. TBARS analizinde diğer oksidasyon ürünleri veya lipid oksidasyonu ile ilişkili olmayan bileşenler tiyobarbütirik asit ile reaksiyona girebildiklerinden dolayı lipid oksidasyonunun düzeyi olması gereken değerden daha fazla çıkmaktadır. HEG yağların oksidasyonu sonucu oluşan esas uçucu bileşenlerden biridir. Lipit oksidasyon sürecini ve pişmiş gıdalardaki istenmeyen lezzet bileşenlerinin oluşumunu gözlemlemek için son zamanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. HEG gıdalarda çim kokusu niteliğinde algılanan istenmeyen bir koku olarak tanımlanır. HEG'in sudaki koku eşik değeri 4.5 µg/kg'dır (Panseri ve ark., 2011; Brunton ve ark., 2000; Ma ve ark., 2014).

Günümüzde analitik ve ayırma yöntemleri pratik olarak gazlardan biyolojik makro moleküllere kadar her çeşit kompleks karışımı ayırabilmektedir. Genel olarak, analiz yöntemleri örnek alma (örneğin toplanması), örnek hazırlama, ayırma, saptama

ve data analizi gibi işlemleri içermektedir. Yapılan araştırmalarda analiz süresinin önemli bir bölümünü örnek toplama ve örnek hazırlamaya ayırmak gerekmektedir. Enstrümantal cihazların örnek matrisinden doğrudan analiz yapamamasından dolayı bu süre gereklidir. Günümüzde çözücü kullanılarak yapılan örnek hazırlama işlemleri (sıvı-sıvı ekstraksiyon teknikleri) zaman alıcı, yoğun emek ve çok aşamalı işlemleri gerektirmektedir. Ancak analiz aşamalarının artması, hata ve kayıplara neden olur. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminde yüksek oranda çözücü kullanılmasını gerektirmektedir. Atık çözücülerin imhası analiz maliyetini arttırmakla beraber çevreyi kirletmekte ve laboratuvarında çalışanlar için sağlık riskleri teşkil etmektedir. Katı faz ekstraksiyon kartuşu kullanmak klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminin yol açtığı kısıtlamaları azaltmaktadır. Kartuş kullanılarak uygulanan katı faz ekstraksiyonunda daha az çözücüye ihtiyaç vardır ancak sıvı-sıvı ekstraksiyonda olduğu gibi yine zaman alıcı ve çok aşamalı işlemleri gerektirmekte ve yoğunlaştırma aşamasında uçucu bileşenlerde kayıp söz konusu olmaktadır (Vas ve Vekely, 2004).

Son zamanlarda örnek hazırlamada yeni bir yöntem olan SPME uygulanmaktadır. SPME, sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve katı faz ekstraksiyonunun dezavantajlarını gidermek üzere Pawliszyn ve meslektaşları tarafından icat edilmiştir. SPME; örnekleme, ekstraksiyon ve yoğunlaştırma gibi bir çok adımı çözücü gerektirmeden tek bir aşamada birleştirmektedir. Örnek içindeki analitler doğrudan fibre ile ekstrakte edilip yoğunlaşması sağlanmaktadır. Bu yöntem, örnek hazırlamada zamandan ve atıkların bertaraf edilmesi maliyetinden tasarruf sağlamaktadır. SPME rutin olarak Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (GC/MS) ile kombine bir şekilde kullanılmaktadır. Özellikle çevresel, biyolojik ve gıda örneklerindeki uçucu ve yarı uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu ve tanımlanması için bu kombinasyon kullanılabilir. SPME ayrıca uçuculuğu zayıf olan ve GC veya GC/MS'ten etkilenerek termal olarak bozulan bileşenleri analiz etmek için Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile kombine olarak kullanılmaktadır (Vas ve Vekely, 2004; Pawliszyn, 2000).

SPME basit bir düzenekten oluşmaktadır. Modifiye edilmiş bir şırınga görünümündedir. SPME bir fibre taşıyıcı ve 1-2 cm uzunluğunda içeri çekilebilir bir düzenekten oluşmaktadır. SPME fibresi, polidimetilsiloksan (PDMS), polidimetilsiloksan-divinbenzen (PDMS-DVB), poliakrilat (PA), karboksen-

polidimetilsiloksan (CAR-PDMS), karbovaks-divinilbenzen (CW-DVB) DVB-PDMS-CAR gibi ince bir polimer film ile kaplanmıştı (Vas ve Vekely, 2004).

SPME'nin, tepe boşluğundan veya çözeltiyeye doğrudan daldırmak üzere iki uygulaması vardır. Tepe boşluğu yönteminde su veya katı örnek bir vialde konur. Isıtılıp ve karıştırılan örnekteki uçucu bileşenler örneğin tepe boşluğunda asılı bulunan fibreye geçmeleri sağlanır. Fibreye geçen uçucu bileşenler bir sonraki aşamada GC'ye doğrudan aktarılabilir ve bileşenler fibre üzerine adsorbe veya içine absorbe olur (Shin ve Lim, 2011). Her iki yöntemde de SPME iğnesi uygun bir şekilde içe yerleştirilir, daha sonra fibreyi koruyan iğne geri çekilir ve böylece fibre ortama maruz bırakılır. Fibrenin üzerindeki polimer kaplama sünger gibi absorpsiyon/adsorpsiyon işlemi ile analitleri konsantre eder. SPME ekstraksiyon kinetiği; fibrenin çeşidi ve özellikleri (kalınlığı ve uzunluğu), örneğin miktarı, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi gibi parametrelere bağlıdır. Bundan sonraki aşamada fibre üzerindeki bileşenlerin GC, GC/MS veya HPLC ile nitel ve nicel analizi gerçekleştirilir (Vas ve Vekely, 2004).

SPME'de fibre önceden belirlenmiş olan bir süre boyunca örneğe maruz bırakılmaktadır. Fibre örneğe maruz bırakıldığı anda bileşenlerin örnekten fibreye aktarımı başlar. Eğer belirlenen süre yeterli ise fibre kaplama ile örnek arasında bir denge oluşmaktadır. Denge koşullarına ulaşıldığında fibreyi örneğe maruz bırakmak daha fazla bileşen ekstrakte edilmesini sağlamaz. Denge koşulları şu şekilde tanımlanabilir:

$$n = \frac{K_{fs} V_f V_s C_o}{K_{fs} + V_s} \quad (1.1)$$

$n$  = Fibre tarafından ekstrakte edilen mol sayısı

$K_{fs}$  = Fibre kaplama/örnek matriksi dağılım dengesi katsayısı

$V_f$  = Fibre kaplamanın hacmi,  $V_s$  = Örnek hacmi

$C_o$  = Bileşenin örnek içindeki başlangıç derişimi

Bu eşitlik, örnek içindeki bileşenin başlangıç derişimi ile fibre tarafından absorbe edilen miktar arasında doğrusal bir ilişki olduğunu göstermektedir (Zang ve ark. 1994).



Fibre kaplamanın çeşidi, ekstraksiyon yöntemi, ekstraksiyon süre ve sıcaklığı, fibre kaplamanın kalınlığı, örnek hacmi, karıştırma, tuz ve pH SPME performansını etkileyen başlıca etmenlerdir.

Ticari olarak bulunan fibre kaplamalar PDMS, DVB, PA, CAR, CW ve polietilen glikol (PEG) gibi çeşitli kalınlık ve kombinasyonda bulunmaktadır. PDMS/DVB, PDMS/CAR ve CW/DVB gibi polar/nonpolar kombinasyonlar da bulunmaktadır. Fibre kaplama seçiminde dikkat edilmesi gereken temel prensip, polar fibrele polar bileşenler, polar olmayan fibrele ise polar olmayan bileşenlerin analizinde tercih edilmesidir. Bu prensibe göre PA gibi fibrele fenoller, pestisitler ve herbisitler gibi polar bileşenlerin analizinde kullanılırken PDMS/DVB, PDMS/CAR ve CW/DVB gibi daha yüksek polariteye sahip fibrele alkoller, aminler eterler gibi polaritesi oldukça yüksek olan bileşenlerin analizinde kullanılır. Aynı şekilde PDMS gibi polar olmayan fibrele benzen, toluen, etilbenzen, ksilen veya polisiklik aromatik hidrokarbon gibi polar olmayan bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999).

Ekstraksiyon yöntemi SPME'nin performansını etkileyen önemli bir parametredir. SPME, gaz veya saflığı yüksek olan sıvılardaki bileşenleri ekstrakte etmek için doğrudan daldırarak yapılabilmektedir. Bu durumda bileşenler örnekten fibreye doğrudan geçiş yapabilmektedir. Sıvı veya katı örneklerin tepe boşluğundan ekstraksiyonu kullanılan diğer bir yöntemidir (HS-SPME). Bu yöntemde analizi yapılacak bileşenler örneğin tepe boşluğuna doğru buharlaştırılarak bu tepe boşluğunda ekstraksiyonu sağlanmaktadır. Ekstraksiyonu yapılacak bileşenin uçuculuğu ve bileşenin örnek matriksindeki afinitesi ve matriks bileşimine bağlı olarak ekstraksiyon yöntemine karar verilmektedir. Tepe boşluğundan ekstraksiyon genellikle uçucu bileşenler için ve katı matriksindeki bileşenleri ekstrakte etmek ve küçük partikül veya yağ ile kontamine olmuş suların analizinde kullanılmadığıdır. Tepe boşluğu ekstraksiyonu fibrenin kontaminasyonunu ve örnekteki yüksek molekül ağırlıklı bileşenlerden dolayı fibrenin zarar görme riskini azaltır (Spietelun ve ark., 2013).

Ekstraksiyon süre ve sıcaklığı işlemin etkinliğini belirleyen temel parametrelerdir. Sıcaklık, ekstraksiyon üzerine iki yönlü etki etmektedir. Sıcaklığın artışı fazlar arasındaki kütle transferini artırırken aynı zamanda dağılım katsayısını da düşürmektedir. Bundan dolayı sıcaklık değişimi en çok tepe boşluğu ekstraksiyonu

teknğinde uygulanmaktadır. Çünkü sıcaklık artışı ile beraber bileşenlerin örnekten tepe boşluğuna aktarımını hızlanmaktadır (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999; Pawlisyn, 2000).

Ekstraksiyon süresi; sıcaklık, bileşenin dağılım katsayısı ve karıştırma gibi bir kaç faktöre bağlı olarak değişmektedir. Dengeye ulaşıldığında bileşenin maksimum sorbsiyona ulaşıldığı anlamına gelmektedir. Dengeye ulaşmak için gereken süre genellikle uzundur ve şiddetli karıştırma ile bu süre kısaltılabilir. Karıştırma doğrudan ekstraksiyon yönteminde önemli bir parametredir (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999).

Ekstraksiyon etkinliği sorbent hacmine bağlı olarak değişmektedir. Fibre üzerine adsorbe olan bileşen miktarı sorbent kaplamanın kalınlığı ile orantılıdır. Daha kalın bir kaplama ince olandan daha fazla miktarda bileşen tutmaktadır. Ama dengeye ulaşmak için gereken süre kalınlık artmasına bağlı olarak daha fazladır. Kalın kaplamalar genellikle uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. İnce kaplamalar yüksek molekül ağırlıklı bileşenler ve polar olmayan bileşenlerin analizinde geri kazanımı daha iyi olduğundan dolayı daha fazla tercih edilmektedir (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999).

Örnek hacmi SPME'nin verimliliğine etki eden önemli bir parametredir. Ekstraksiyonla örnek bileşimi değişmediği yani örnekteki bileşen miktarı % 1'den daha fazla değişmediğini varsaydığımızda, SPME üzerinde ekstrakte olan bileşen miktarı sadece partiyon katsayısı ve sorbent hacmine bağlıdır. Uygun bir örnek hacmi seçerek örnek bileşiminin sabit tutulmasını sağlamak kalibrasyonu basitleştirir. (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999).

Tepe boşluğu ekstraksiyonunda bileşenler örnek, tepe boşluğu ve SPME fibresi olmak üzere üç faz arasında bölünmektedir. Bu durumda ekstraksiyon etkinliği ayrıca tepe boşluğundaki nötr gazın hacmine de bağlıdır. Tepe boşluğunun hacmi bu fazdaki bileşenlerin aşırı seyrelmesini önlemek için mümkün olduğunca küçük olmalıdır (Spietelun ve ark., 2013; Pawlisyn, 2000).

Karıştırma, sistemdeki kütle transferini arttırarak ekstraksiyon süresini kısaltmaktadır. Teflon kaplı manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırma uygulanabilir. Örneği içeren vial vorteks karıştırıcıda karıştırılabilir veya örneği karıştırmak için ultrasonik ses dalgaları kullanılabilir. Ultrasonik karıştırma daha çok etkili olmaktadır.

Çünkü çok kısa bir ekstraksiyon süresi sağlamaktadır. Ancak bu karıştırma ile örnek ısınmaktadır. Bundan dolayı bu yöntem termal olarak stabil olmayan örneklere uygulanamamaktadır. Dikkat edilmesi gereken bir diğer husus manyetik karıştırıcı çubuğun kendisi kontaminasyon kaynağı olabilmektedir (Spietelun ve ark., 2013).

Örneğe küçük miktarlarda tuz ilavesi solüsyonun iyonik gücünü arttırdığından dolayı ekstraksiyonun verimliliğini etkilemektedir. Organik bileşenler daha az çözülebilir olmakta ve partiyon katsayıları artmaktadır. Ancak ekstraksiyon verimliliği üzerine tuzun ayrıntılı etkisi örneğin içindeki tuz ve bileşenlerin derişimine bağlıdır. Sodyum klorür ve sodyum sülfat genellikle bu amaçlar için kullanılan tuzlardır. Ancak tuz ilavesi örneğin kontaminasyon riskini büyük ölçüde arttırmaktadır. Ayrıca doğrudan daldırma yöntemi uygulandığında, fibre mekanik hasara daha çok maruz kalmaktadır (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999).

Örneğin pH'sı özellikle dissosiyasyon olmamış formda bulunması gereken fenoller ve aminler gibi zayıf asidik ve bazik bileşenler olduğu durumda önemlidir. Ayrıca örneğin pH'sı fibrenin mekanik gücünü etkileyen önemli bir parametredir. Çünkü bazı fibrelere güçlü asidik ve bazik ortamlara karşı dirençleri zayıftır (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999; Pawlisyn, 2000).

Bileşenlerin doğal yapılarıyla fibreye karşı düşük afinite gösterdiği durumlarda SPME'nin etkinliğini arttırmanın iyi bir yolu hedef bileşenleri türevlerine dönüştürmektir. Bileşenin türevi farklı bir kimyasal yapı ve özelliğe sahiptir. Böylece bu türevler SPME'nin fibresine daha iyi bir afinite sağlamaktadır. Türevleştirme ekstraksiyonun çeşitli basamaklarında gerçekleştirilebilir. Örneklemeden önce, bileşenler SPME fibre üzerinde adsorbe olduktan sonra veya bileşenlerin desorpsiyonu kromatografik kolonda gerçekleştiği sırada türevleştirme gerçekleştirilebilmektedir. (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999; Pawlisyn, 2000).

SPME'ye en uygun türevlendirme çeşidi bileşenlerin dönüşümünün fibre kaplama üzerinde gerçekleştirilmesidir. Böylece örnekte gerçekleştirilen türevlendirme sırasında meydana gelmesi kaçınılmaz olan yan reaksiyonların oluşması engellenir (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999).

Yapılan nicel çalışmaların çoğunda daha hassas ve doğru sonuç elde etmek için kalibrasyon eğrisinin hazırlanması gerekmektedir. Kalibrasyon eğrisi, bir enstrüman çıkışında ölçülen sinyalin analitin derişimi ile ilişkisinin doğru bir şekilde saptanması

amacıyla yapılan işlem olarak tanımlanabilir. Enstrümandan çıkan sinyalin kalibrasyonu yapılmadan örnekten alınan verilerle derişim bağıntısı elde edilemez. Kalibrasyon eğrisi metodu, standart ilavesi metodu ve iç standart yöntemi nicel analizler için uygulanan başlıca yöntemlerdir.

Kalibrasyon eğrisi yöntemi; bir örnekteki bilinmeyen bir maddeyi derişimi bilinen bir seri standart ile karşılaştırarak örnekteki bilinmeyen maddenin derişimini belirlemek için kullanılan genel bir yöntemdir. Kalibrasyon eğrisi enstrümantal sinyalin analit derişimi ile nasıl değiştiğini gösteren bir grafikdir.

IS; örnek, şahit ve kalibrasyon standartlarına sabit miktarda eklenen kimyasal bir maddedir. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında derişimin bir fonksiyonu olarak aranan bileşenin sinyali (alan) ile IS'ın sinyalinden yararlanılmaktadır. IS, aranan bileşeni sinyal açısından temsil etme özelliğine sahip olmakla birlikte, doğal olarak matrikste bulunmamalıdır. Bileşenlerin nicel analizinde Standart Ekleme, uygulanan başlıca yöntemler arasında yer almaktadır (Skoog ve ark., 1997).

Standart Ekleme yönteminde nicel analizi yapılmak istenen maddenin saf standardından farklı derişimleri hazırlanır ve her bir derişim için sabit miktarda IS eklenerek ilgili cihaz ile analizi gerçekleştirilir. Sonuç olarak, aranan maddenin derişimi ve yanıtı (alanı) ile IS'ın derişim ve yanıtı değerlerinden yararlanarak hedef bileşen ile IS arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren denklem ( $y=ax+b$ ;  $x=\text{Hedef Madde Derişim/IS Derişimi}$ ,  $y=\text{Hedef Madde Alanı/IS Alanı}$ ) ve bu iki değişken arasındaki doğrusal ilişkinin düzeyini gösteren  $R^2$  değerleri elde edilir.  $R^2$  değerinin 1'e yakın olması hedef bileşenin nicel analizinde IS'ın kullanılabilirliğini gösterir. İki değişken arasındaki regresyon denklemi kullanılarak herhangi bir örnekteki aranan bileşenin nicel analizi gerçekleştirilebilir. (Giuffrida ve ark., 2005; Javidipour ve Qian, 2008).

Arbitrary birim (arb. unit), bir maddenin miktarının veya yoğunluğunun daha önceden belirlenmiş referans bir ölçüm ile oransal miktarını gösteren göreceli bir ölçüm birimidir. Referans alınan madde ile ölçülecek madde arasındaki oran boyutsuz bir büyüklüktür. Referans alınan ölçüm genellikle yerel laboratuvarlar tarafından tanımlanmıştır. Bu yüzden arbitrary biriminin önceden nasıl tanımlandığı bilinmeden, farklı laboratuvarlar tarafından ölçülen değerleri karşılaştırmak mümkün değildir. Arbitrary birim benzer koşullarda ölçülmüş çoklu değerleri karşılaştırmak için kullanılır Andiç ve ark. (2010), Türk tulum peynirlerindeki her bir uçucu bileşenin miktarını

belirlemek için GC'den elde edilen her bir uçucu bileşenin pik alanı/IS olarak kullanılan 5-metil 3-hegzanonun pik alanına oranlayarak bu oranı arbitrary birim olarak kullanmışlardır. Ayrıca doğru orantı yapılarak örnek içindeki maddelerin derişimi belirlenebilmektedir. Bunun için konsantrasyonu belli olan IS örneğe ilave edilir. Daha sonra aranan maddenin pik alanı ile IS'nin pik alanı doğru orantı ile karşılaştırılarak ilgili maddenin derişimi belirlenebilir.

Bu çalışmada, yağların oksidasyon düzeyinin göstergesi olarak değerlendirilen HEG ve MAD'ın, son yıllarda sıkça uygulanan SPME yöntemi ile saptanması araştırılmıştır. Çalışmada, 2 farklı ortam olarak ayçiçeği yağına ve herhangi bir matriks olmadan bir ortama (boş vial) farklı oranlarda HEG ve MAD konularak IS (5-metil 2-hegzanon) varlığında 3 fazlı SPME fibrenin bu bileşenleri ekstarkte etme etkinliği araştırılmıştır. Böylece 3 fazlı SPME fibresi ve GC ile farklı sıcaklık ve süre koşullarında HEG ve MAD'ın tespit edilebileceği düzeyler araştırılırken, aynı zamanda bu iki bileşenin IS olarak kullanılan 5-metil 2-hegzanon ile ilişkilerini gösteren denklem ve ilişki katsayıları hesaplamıştır.

## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Mauritti ve ark. (2009), yapmış oldukları bir çalışmada -18 °C de 90 gün boyunca depolanmış çiğ ve kızartılmış tavuk köftelerindeki HEG, pentanal ve MAD oluşumunu DVB/CAR/PDMS fibre kullanarak SPME ile analiz etmişlerdir. Tekrarlanabilir sonuçlar elde edebilmek için ekstraksiyon koşullarını optimize etmişlerdir. Değişik parametreler arasında bağlantı kurulmuş ve bu parametreler geleneksel TBARS testi ile karşılaştırılmıştır. Çiğ örneklerin Pearson korelasyonu 0.93 ten 0.99 kadar değişen oranlarda bütün parametreler arasında önemli bulunmuştur. Ancak kızarmış örneklerde HEG ile pentanal arasında 0.98 lik bir korelasyon bulunmuştur.

Fujioka ve Shibamoto (2005), antioksidan aktivitesi için HS-SPME tekniğini kullanarak modifiye edilmiş bir MAD analizi geliştirmişlerdir. Doğal bileşenlerin antioksidan aktivitesi Fenton reaksiyonu ile oksitlenen balık yağındaki MAD oluşumunun yüzde inhibisyonu şeklinde belirlenmiştir. MAD oluşumunu, % 86.1 ile en çok sesamol, bunu takiben % 84.4 öjenol, % 80.7 kapsaisin % 45.3 etilvanilin ve % 31.6 vanilinin inhibe ettiği belirtilmiştir.

Fan (2002),  $\gamma$ -ışınına maruz kalmış elma suyundaki MAD miktarını GC-MS kullanarak tespit etmiştir ve bu yöntemi TBARS testi ile karşılaştırmıştır. GC-MS ile kıyaslandığında TBARS testi ile ölçülen MAD miktarı daha yüksek bulunmuştur. 5 °C'de depolama boyunca ışınlanmış meyve suyundaki MAD içeriğinin hızlı bir şekilde düştüğü GC-MS yöntemi ile saptanırken, TBARS testi uygulandığında MAD içeriğindeki azalmanın daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Ma ve ark. (2014), yemeklik yağlarda lipid oksidasyonu sonucu oluşan aldehitlerin oksidasyonun indikatörü olarak kullanılabileceğini SPME-GC yöntemi ile araştırmışlardır. Ticari olarak bulunan beş fibrenin ekstraksiyon etkinliği araştırılırken, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı ile desorpsiyon süre ve sıcaklığı optimize edilmiştir. En iyi sonuç 85  $\mu$ m CAR/PDMS ile 50 °C'de ve 15 dk ekstraksiyonun uygulandığı koşullarda alınmıştır. Optimize edilmiş koşullarda bütün yemeklik yağlardaki 7 aldehit arasında en yüksek oranda HEG bulunmuştur. Geliştirilen yöntem yarfıstığı, soya ve zeytin yağı örneklerindeki HEG'i tespit etmek için başarılı bir şekilde uygulanırken, SPME-GC ve TBARS yöntemi ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Brunton ve ark. (2000), pişmiş hindi örneklerindeki HEG'in miktarını ölçmek için HS-SPME yöntemini kullanmışlardır. Sırasıyla; 75, 65 ve 65 µm kalınlığındaki CAR/PDMS, PDMS/DVB ve CW/DVB fibreler doğrusallık, saptama limiti ve tekrarlanabilirlik yönünden karşılaştırılmıştır. Tekrarlanabilirlik ve doğrusallık yönünden üç fibre içinden PDMS/DVB en etkili olmuştur. Ancak HEG'i 2 ng/g saptama limiti ile CAR/PDMS en duyarlı bulunmuştur. 2-metil pentanalı IS olarak kullanmakla örneklerdeki HEG ve pentanal ölçümü daha doğru bir şekilde yapılmıştır. Taze ve pişirilmiş hindi örneklerinde SPME/GC ile belirlenen HEG ve pentanal miktarları arasında yüksek bir korelasyon bulunmuştur.

Panseri ve ark. (2011), 4 °C'de depolanmış tereyağındaki HEG'in ekstraksiyonu ve analizi için GC-MS ile kombine edilmiş HS-SPME kullanarak bir yöntem geliştirmişlerdir. Tereyağında mevsime bağlı olarak HEG içeriğindeki değişimi ve ekstraksiyon sıcaklığının tereyağındaki başlangıç HEG miktarı üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Doğrusallık, tekrarlanabilirlik ve hassasiyet gibi analitik parametreler yöntemin kullanılabilir olduğunu göstermiştir. Uygulama için CAR/PDMS fibre ile 4 °C'de 180 dk boyunca ekstraksiyon yapılmıştır. Bütün depolama süresi boyunca farklı periyotlardaki örneklerin HEG içeriği ve farklı mevsimlerde elde edilen tereyağlarındaki HEG içeriği analiz edilmiştir. Raf ömrünün sonuna doğru olan örneklerde ve Ağustosta üretilen örneklerde en yüksek HEG miktarı tespit edilmiştir.

Pignoli ve ark. (2009), yapmış oldukları çalışmada doymuş aldehitlerin lipid oksidasyon göstergesi olarak uygunluğunu araştırmışlardır. Bunun için HS-SPME-GC kombinasyonu ile çalışmışlardır. Elde etmiş oldukları sonuçları yaygın olarak kullanılan TBARS yöntemi ile karşılaştırmışlardır. TBARS, propanal ve HEG derişimindeki zamana bağlı değişimi sodyum fosfat tamponu ile yıkanmış hindi göğsü etinden oluşan bir model içinde belirlemişlerdir. Analiz süresi boyunca meydana gelen oksidasyonu durdurmak için etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), troloks ve propil gallattan oluşan bir antioksidan karışımı analizden hemen önce eklenmiştir. Antioksidan ilavesinden sonra 8 saat fazladan yapılan depolama süresince TBARS ve propanal derişimlerinde bir artış gözlenmezken HEG'de beklenmedik bir düşüş gözlemlenmiştir. Aldehitlerin örnek ile etkileşime girip girmediğini belirlemek için hem sodyum fosfat tamponuna (kontrol) hem de örneğe HEG ve propanal ilave edilerek derişimindeki değişim 24 saat boyunca gözlemlenmiştir. Fosfat tamponunda hem HEG hem de propanal

derişimlerinde zamanla bir azalma olmamıştır. Ancak örnekteki propanal ve HEG derişimlerinde zamana bağlı olarak belirgin düzeyde bir düşüş gözlemlenmiştir. Aldehit derişimindeki bu düşüşten dolayı TBARS'ın hindi göğsü etindeki oksidatif parçalanmanın göstergesi olarak daha hassas ve doğru bir parametre olduğu saptanmıştır.

Llatas ve ark. (2005), HS-SPME-GC yöntemini kullanarak sıvı bebek mamalarındaki ikincil oksidasyon ürünü olan HEG ve pentanı belirlemek için yeni bir yöntem geliştirip doğrulamışlardır. Bunun için fibre konumu, denge ve ekstraksiyon süresi gibi SPME koşullarını belirlemişlerdir. Doğrusallık, hassasiyet ve saptama limiti gibi analitik parametreler geliştirilen yöntemin kullanılabilirliğini göstermiştir. Geliştirilen bu yöntemle dört ve yedi ay depolanmış süt ve tahıl bazlı sıvı bebek mamaları ve toz bebek mamalarındaki HEG ve pentanal analiz edilmiştir. Toz bebek mamalarındaki HEG içeriği sıvı bebek mamalarındakinden daha yüksek bulunmuştur. Toz bebek mamalarında pentan bulunmamıştır.

Shin (2009), kandaki MAD'ı belirlemek için basit ve hassas bir HS-SPME-GC-MS yöntemi geliştirmiştir. IS olarak aseton-d<sub>6</sub> kullanılmıştır. Kandaki MAD ve IS 50 °C de 40 dk boyunca 2,2,2-trifloroetilhidrazin (TFEH) ile bir vialde reaksiyona tabi tutulmuş ve aynı anda oluşan türevler buharlaştırılıp, PDMS-DVB fibreye adsorbe edilmiştir. Daha sonra GC-MS'te 240 °C'de 1 dk'lık süre ile bileşenlerin desorbsiyonu gerçekleştirilmiştir. Belirlenen koşullarda yöntemin saptama limiti 0.4 µg/L olarak saptanmıştır. Normal insan kanındaki ortalama MAD derişimi 187.9 µg/L olarak ölçülmüştür.

Shin ve Jung (2009), yapmış oldukları benzer bir çalışmada pentaflorofenilhidrazin ile türevlendirip daha sonra HS-GC-MS kullanarak insan idrarındaki MAD'ı analiz etmek için hassas bir yöntem geliştirmişlerdir.

Iglesias ve ark. (2007), balık yağı emülsiyonlarında oksidasyon süresince oluşan uçucu bileşenleri belirlemek için HS-SPME yöntemini kullanmışlardır. Üç farklı SPME fibresini hassasiyet ve tekrarlanabilirlik açısından karşılaştırmışlardır. Emülsiyonda bulunan uçucuları analiz etmek için en uygun fibrenin CAR-PDMS olduğu saptanmıştır. Örnek miktarı, ekstraksiyon süre ve sıcaklığı ve karıştırma gibi CAR-PDMS'in ekstraksiyon işlemini etkileyen faktörleri bir faktöryel dizayn ile araştırmışlardır. 0.5 g örneği 60 °C'de ve 30 dk boyunca ekstraksiyon uyguladıklarında en iyi sonucu elde



etmişlerdir. GC-MS ile kombine bir şekilde kullanılan HS-SPME yöntemi ile süt ve mayonez gibi balık yağı ile zenginleştirilmiş gıdalarda oksidasyon sonucu oluşan uçucuların kalitatif ve kantitatif analizi gerçekleştirilmiştir.

Sanches-Silva ve ark. (2004), patates cipslerinde depolama süresince oluşan HEG'i saptamak için SPME-GC ve HPLC olmak üzere iki farklı yöntemi karşılaştırmışlardır. Bu yöntemler doğrusallık, tekrarlanabilirlik ve saptama limiti açısından karşılaştırılmıştır. SPME-GC yönteminin (saptama limiti = 1 ng/ml) HPLC yönteminden (saptama limiti = 9 ng/ml) daha hassas olduğu sonucuna varılmıştır.

Fang ve Qian (2005), şaraptaki kükürtlü bileşenlerin nicel analizini yapmak için hassas bir SPME-GC tekniği geliştirmişlerdir. Bu çalışmada üç IS kullanılarak aynı anda yedi kükürtlü bileşenin nicel analizini gerçekleştirmişlerdir. Sentetik şarap kullanarak hazırlanmış oldukları kalibrasyon eğrilerinin  $R^2$  değerleri bütün hedef kükürtlü bileşenler için 0.99'dan daha büyük çıkmıştır. Çoğu kükürtlü bileşen için saptama limiti 0.5 ppb ve altında bulunmuştur. Geliştirmiş oldukları bu yöntem ile piyasada bulunan bir kaç şarap örneğindeki kükürtlü bileşenleri analiz etmişlerdir.

Javidipour ve Qian (2008), peynir altı suyu konsantresi tozu sulu çözeltisindeki HEG'in nicel analizinde IS olarak kullanılan 2-metil-3-heptanon varlığında, farklı HEG derişimleriyle hazırlanan karışımlarının GC-SPME yöntemiyle analizi sonucu elde edilen verilerin bu iki bileşen arasındaki doğrusal ilişkinin  $y=0.3937x$  regresyon denklemiyle açıklanabileceğini ( $R^2=0.99$ ) ve HEG'in en düşük tespit edilme sınırının 1.6 ppb olduğu saptanmıştır.

Andiç ve ark (2010), vakum ambalajlı ve dondurulmuş Motal peyniri örneklerinin uçucu bileşenleri içeriklerini SPME-GC yöntemi ile belirleyerek, Motal peynirinde 16 ester, 10 asit, 6 keton, 4 alkol, 3 aldehit, stiren, p-kresol ve m-kresol varlığını saptamışlardır.

Ocak ve ark. (2015), çiğ ve pastörize farklı sütlerle ürettikleri otlu peynirlerinin SPME-GC profilinde 8 ester, 5 keton, 6 aldehit, 9 asit, 6 alkol ve 14 hidrokarbon bileşenin varlığını saptamışlardır.

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

Bu çalışmada, HEG ve MAD içermeyen ayçiçeği yağı kullanılmıştır. Ayçiçeği yağı oksidatif stabilite çalışmalarında sıkça kullanılan bir yağ olduğundan dolayı bu çalışmada kullanılmıştır. Araştırmada, bilimsel hassasiyeti sağlayacak saflıkta ve nitelikte HEG (Merck, Germany) ve MAD (Acros Organics, New Jersey, USA) kullanılmıştır. IS olarak 5-metil 2-hegzanon (Merck, Germany) kullanılmıştır.

#### **3.2. Yöntem**

Bu çalışmada HEG ve MAD'ın nicel analizi için IS olarak kullanılan 5-metil 2-hegzanon ile ilişkilerini gösteren denklemi ve ilişkinin düzeyini belirlemek üzere, ayçiçeği yağına ve boş vialle, metanolde hazırlanan stok HEG ve MAD çözeltilerinden daha önce belirlenen derişimlerde (5 ppb, 10 ppb, 50 ppb, 100 ppb, 500ppb, 1 ppm, 5 ppm ve 10 ppm) sulu çözeltileri hazırlanarak, yağ örneğine ve boş vialle konulmuştur. Çalışmada 3 faz DVB/CAR/PDMS (Supelco Co., Bellefonte, PA, USA) SPME fibresi kullanılarak her bir derişimde 3 farklı sıcaklık ve süre uygulandığında SPME fibresinin yapısına alabileceği HEG ve MAD miktarları saptanmıştır. Çalışmada analiz parametreleri olarak 2 örnek matriksi (ayçiçeği yağı ve boş vial) 1 fibre çeşidi (3 faz), 3 sıcaklık (40, 50 ve 60 °C), 3 süre (20, 30 ve 40 dk) ve 8 farklı derişime 2 tekerrürlü SPME ekstraksiyonu uygulanmıştır.

##### **3.2.1. Hegzanal ve malonaldehit analizi**

HEG ve MAD tayini için uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılan 3 faz SPME fibresi, ekstraksiyondan önce 1 saat süreyle 250 °C'de GC'nin enjeksiyon bloğunda şartlandırıldı. Ekstraksiyon işlemi için 2 g örnek 30 ml'lik vialle tartıldı ve örneklere daha önce belirlenen oranda HEG ve MAD ve IS olarak bütün örnekler için sabit miktarda 0.5 ppm düzeyinde 5-metil-2-hegzanon eklendikten sonra vialin kapağı kapatıldı. Ekstraksiyon işlemi uygulanacak örnekler hazırlanıp vialle konulduktan sonra 5 dk süre ile daha önce belirlenen sıcaklığa ayarlı dijital manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı ve ortam sıcaklığının istenilen düzeye ulaşması sağlandı. Daha

sonra SPME fibresi vialin tepe boşluğuna bırakılarak istenilen sıcaklık ve süreyle HEG ve MAD'ın tepe boşluğuna ve oradan da SPME fibresine geçmesi sağlandı. Ekstraksiyon süresinin sonunda SPME fibresi koşulları Çizelge 3.1.'de verilmekte olan FID ile donatılmış Agilent 6890 model GC cihazına doğrudan enjekte edildi. GC ile elde edilen alanlar kullanılarak veriler değerlendirildi. Bunun için MAD'ın derişiminin IS'nin derişimine oranı ile MAD'ın alanının IS'nin alanına oranı bir grafiğe aktararak grafiğin regresyon denklemi ve  $R^2$  değeri her sıcaklık ve süre için hesaplandı. Aynı şekilde HEG ve IS arasındaki ilişki de bu şekilde belirlendi. Böylece farklı ekstraksiyon sıcaklığı ve süreleri için elde edilen denklemlerle bilinmeyen bir yağ örneğindeki HEG ve MAD miktarlarını saptamaya yarayan denklemler türetilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan gaz kromatografisi cihazının HEG ve MAD tayini için çalışma koşulları

| Cihaz       | Çalışma Koşulları  |
|-------------|--|
| Alet        | : Agilent 6890N model  |
| Dedektör    | : FID  |
| Kolon       | : J&W Scientific, HP-INNOWAX-30mX0.25mmX0.25µm               |
| Gazlar      | : He: 40 ml/dk. H <sub>2</sub> : 40 ml/dk., Hava: 450 ml/dk. |
| Sıcaklıklar | : Enjektör:200°C, Kolon: İzotermal 140°C Dedektör: 260°C     |
| Split       | : Splitless  |

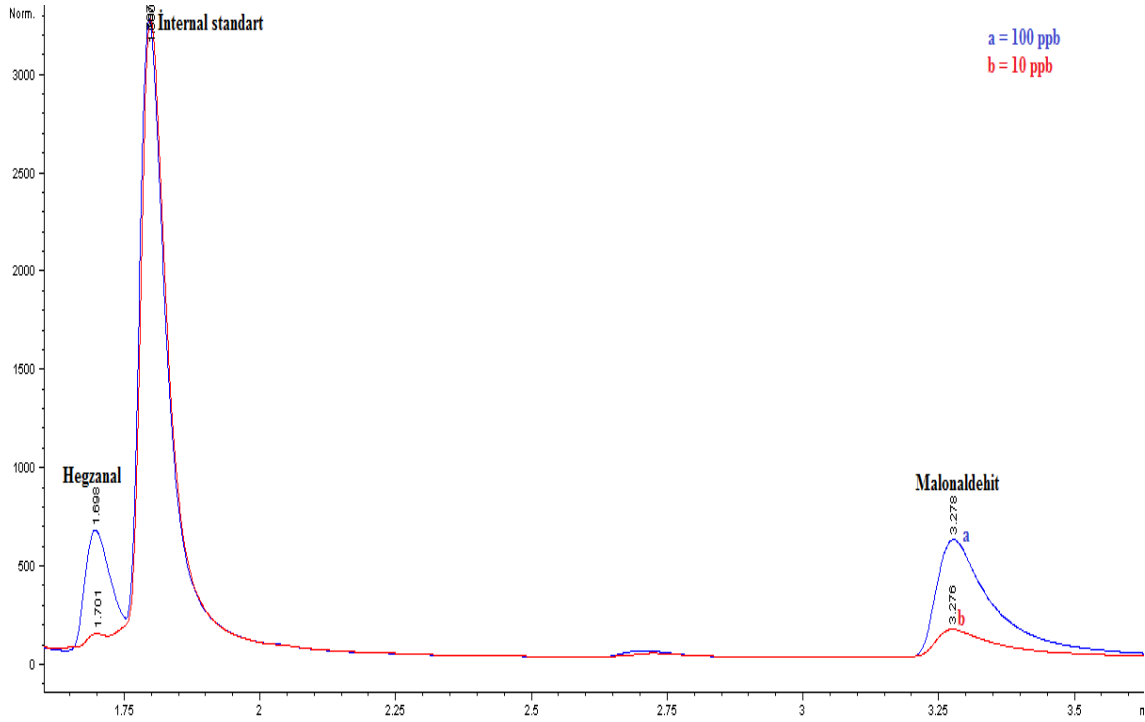
### 3.3. Veri Analizi

Verilerin analizinde; regresyon denklemleri ve  $R^2$  değerlerini hesaplamak üzere, Microsoft Excel 2007 programı uygulanmıştır.  $R^2$ , bağımsız ve bağımsız değişken arasındaki ilişkinin derecesini ve yönünü belirten katsayıdır. Bu katsayı, (-1) ile (+1) arasında bir değer alır. Eğer;  $R^2 = 1$  ise iki değişken arasında pozitif tam bir ilişki vardır. Bu.  $R^2 = -1$  ise iki değişken arasında negatif tam bir ilişki vardır. (Kayaalp ve Çankaya, 2008). Verilerin değerlendirilmesi ile değişkenler ( $x=$  Derişim HEG veya MAD/Derişim IS;  $y=$  HEG veya MAD Alan/IS Alan) arasındaki doğrusal ilişkiyi belirlemek üzere her bir koşul için regresyon denklemleri elde edildi. Bu denklemlerden yararlanarak herhangi bir ayçiçeği yağı örneğinde belirli düzeyde IS eklenerek, SPME yöntemi uygulandığında elde edilen IS piki alanı ve derişimi ile örnekteki HEG veya MAD alanı kullanılarak regresyon denkleminde örnekteki HEG veya MAD derişimi hesaplanabilir (Javidipour ve Qian, 2008).

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmada oksidasyonunun göstergesi olarak değerlendirilen HEG ve MAD'ı SPME ile ekstrakte ederken ortamın (boş vial ve ayçiçeği yağı), sıcaklığın (40, 50 ve 60 °C) ve sürenin (20, 30 ve 40 dk) SPME performansı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Belirlenen parametrelerin SPME performansı üzerine olan etkisini araştırmadan önce HEG, MAD ve IS'nin geliş sürelerini belirlemek için iki farklı vial kullanılmıştır. Birinci vialde 100 ppb HEG, 100 ppb MAD ve 0.5 ppm IS ilave edilirken; ikinci vialde 10 ppb HEG, 10 ppb MAD ve yine 0.5 ppm IS ilave edilmiştir. 40 °C'de 30 dk ekstraksiyondan sonra GC'de yapılan analiz sonucunda Şekil 4.1.'deki kromatogramlar elde edilmiştir.



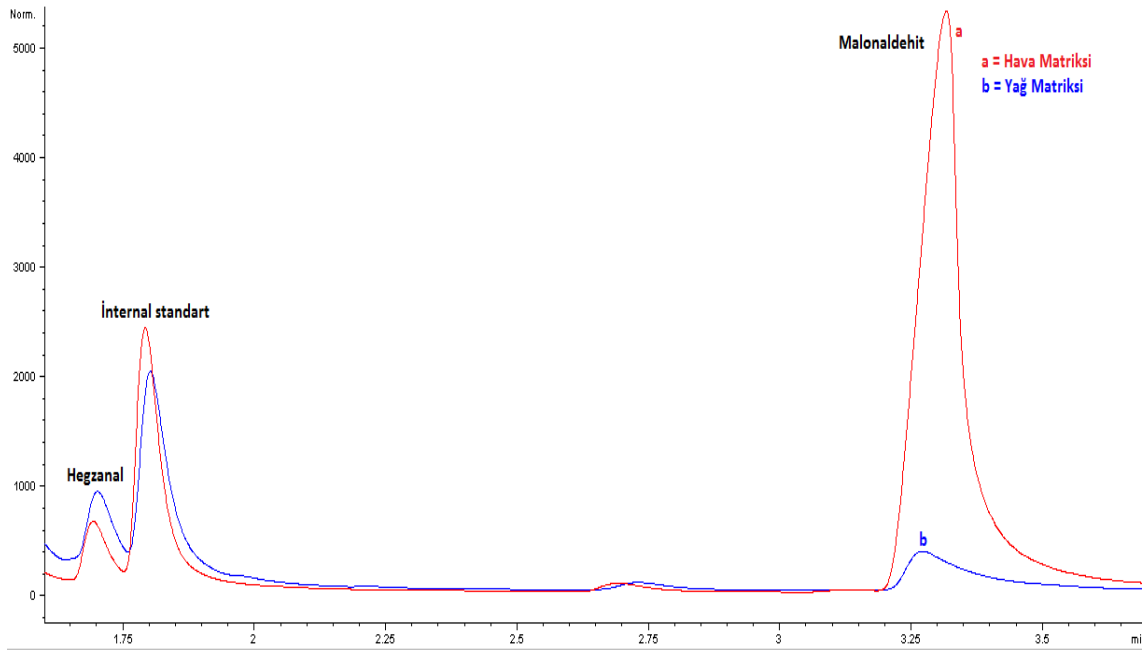
Şekil 4.1. İki farklı derişimde HEG ve MAD ile 0.5 ppm IS ilave edilen örneğe 40 °C'de 30 dk ekstraksiyondan sonra elde edilen GC kromatogramı.

Kromatogramda görüldüğü üzere HEG, IS ve MAD'ın geliş süreleri sırasıyla, 1.7, 1.8 ve 3.3 dk olarak belirlenmiştir. Kromatograma bakıldığında IS sabit miktarda ilave edildiği için her iki pik de aynı yükseklikte olduğu görülmektedir. HEG ve MAD'ın derişimlerinin artması ile ilgili piklerin alanında da artış saptanmıştır.

#### 4.1. Örnek Matrisinin SPME'nin Performansı Üzerine Etkisi

Analiz edilecek örnek matrisinin bileşimi SPME'nin performansını etkileyen önemli bir parametredir. Ekstraksiyon sabit sıcaklıkta denge koşulları altında gerçekleştirildiğinde, fibre/örnek matrisinin dağılım katsayısı matris bileşimine bağlı olarak değiştiğinden dolayı kalibrasyon eğrisinin eğimi de değişir. Örneğin iyonik gücü, örnek içindeki madde/organik çözücü yüzdesi ve analiz edilecek bileşen ile reaksiyona girebilecek bileşenlerin yüzdesi gibi pek çok faktör matris etkisini meydana getirir (Ezquerro ve ark., 2003).

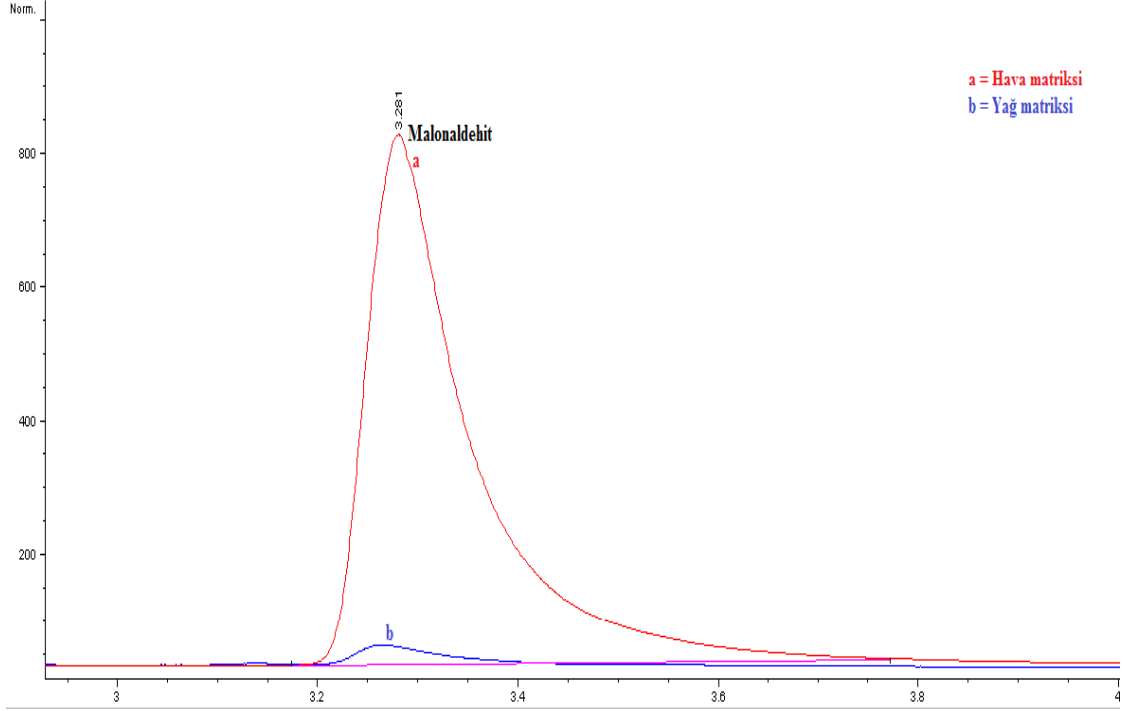
Matris etkisini araştırmak amacıyla hiç bir madde konulmadan boş vial ve ayçiçeği yağı matris olarak seçilmiştir. Bu iki ortamda belirlenen derişimlerde farklı süre ve sıcaklıklarda SPME'nin performansı araştırılmıştır. Belirlenen örnek matrislerine 0.5 ppm HEG, IS ve MAD konulmuştur. 40 °C'de 30 dk ekstraksiyondan sonra GC'de Şekil 4.2.'de görülen kromatogram elde edilmiştir.



Şekil 4.2. 0.5 ppm HEG, IS ve MAD ilave edilmiş hava ve yağ matrislerinde 40 °C ve 30 dk ekstraksiyon sonrasına ait GC kromatogramı.

Şekil 4.2.'deki kromatograma bakıldığında her iki ortamda da IS ve HEG'in pikleri birbirine benzerken, yağ örneğinde MAD'ın pikinde çarpıcı biçimde bir düşüş olduğu görülmektedir. Hava ortamında (boş vialde) MAD'a ait pikin alanı keskin ve belirgin iken, yağ ortamında MAD'ın piki HEG ve IS'ye ait piklerden çok daha düşük

olduğu saptanmıştır. Bu durum, yağ ortamında bulunan MAD'ın 3 faz SPME fibresi tarafından hava ortamı ile karşılaştırıldığında aynı düzeyde ekstrakte edilmediğini ortaya koymaktadır. Benzer bir durum, hava ve yağ matrislerine 100 ppb MAD eklenerek 50 °C'de 30 dk boyunca yapılan ekstraksiyonda da görülmektedir (Şekil 4.3.)



Şekil 4.3. Hava ve yağ matrislerine 100 ppb MAD ilave edilerek 50 °C'de 30 dk ekstraksiyon sonucu elde edilen GC kromatogramı.

MAD'a ait pikin Şekil 4.2. ve 4.3.'te hava ve yağ matrisinde benzer davranış göstermemesinin nedeni MAD'ın oldukça reaktif ve polar bir bileşen olmasından dolayıdır. Bu yüzden yapılan çalışmaların çoğunda öncelikle MAD'ın stabil türevleri oluşturulmuştur. Daha sonra oluşan bu türevler GC ve HPLC gibi kromatografi teknikleri ile analiz edilmiştir. Fujioka ve Shibamoto (2005), antioksidan aktivite ölçümü için geliştirmiş oldukları bir çalışmada MAD tayininde türevlendirme yapmışlardır. Bunun için MAD'ı N-metil hidrazin ile reaksiyona tabi tutmuşlardır. Oluşan 1-metilpirazol türevini SPME ile ekstrakte edip, GC ile MAD miktarını saptamışlardır. Fan (2002), elma suyundaki MAD miktarını belirlemek için MAD'ı pentaflorofenil hidrazin ile türevlendirmiştir. Yine aynı şekilde Shin (2009), insan kanındaki MAD miktarını belirlemek için 2,2,2-trifloroetilhidrazin ile MAD'ı 50 °C'de 40 dk boyunca türevlendirmiştir.

## 4.2. Hava Ortamında (Boş Vial) Farklı Süre ve Sıcaklıklarda Malonaldehit ve Hegzanalın İnternal Standart ile İlişkisi

Son yıllarda aldehitler; kanser ve astım gibi bazı hastalıkların teşhisinde gösterge olarak kullanılmaktadır. Ayrıca aldehitler oksidatif stresin de bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. MAD ve HEG başta olmak üzere aldehitlerin, hem insan nefesinde hem de bulunduğumuz atmosferdeki miktarını tespit etmek için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Oksidatif strese maruz kalmış insanların kan, idrar ve nefesinde oksidatif stresin şiddetine bağlı olarak yüksek miktarda aldehit tespit edilmiştir. İnsan nefesi, kan ve idrar matrikslerine göre daha basit bir matriks olduğu için vücutta oluşan aldehitlerin araştırılmasında daha çok kullanılmaktadır (Larstad ve ark., 2001; Fuchs ve ark., 20010). Yapılan bu çalışmalardan yola çıkarak hava matriksine benzerliğinden dolayı boş vial seçilmiştir.

Bu amaçla 30 ml'lik vial önceden belirlenen derişimlerde (10 ppm, 5 ppm, 1 ppm, 0.5 ppm, 100 ppb, 50 ppb, 10 ppb ve 5 ppb) MAD ve HEG ilave edilerek, IS ile olan ilişkilerini incelemek üzere 0.5 ppm 5-metil 2-hegzanon ilave edildi. 40, 50 ve 60 °C'de ve 20, 30 ve 40 dk boyunca SPME ekstraksiyonu gerçekleştirildi.

### 4.2.1. 40 °C'de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular

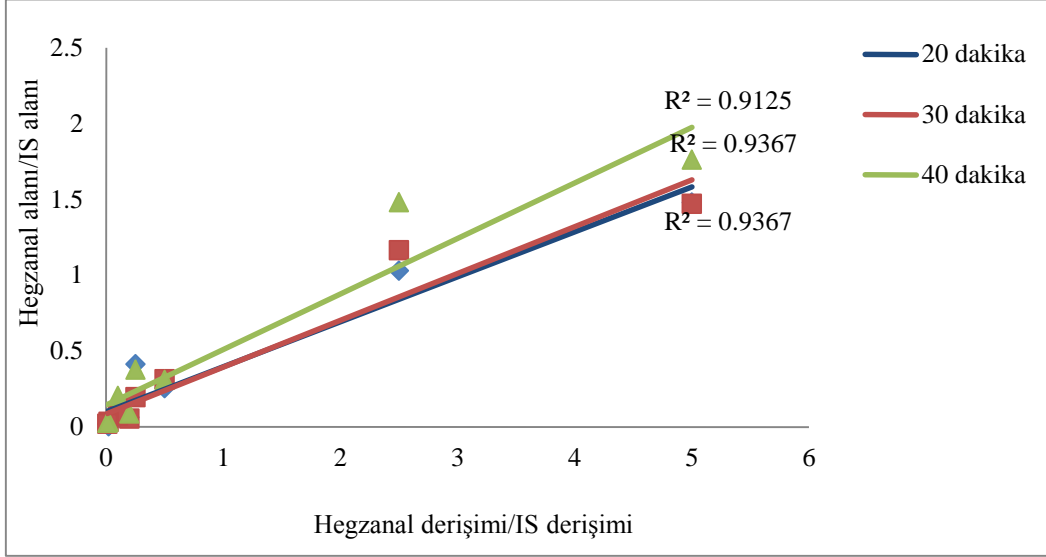
40 °C ekstraksiyon sıcaklığı ve 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon süresi uygulanan örneklere ait alanlar ve derişimler oranı Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. 40 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince havada yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları

| Derişim Oranı<br>HEG/IS veya MAD/IS | ALAN (HEG/IS) |        |        | ALAN (MAD/IS) |        |        |
|-------------------------------------|---------------|--------|--------|---------------|--------|--------|
|                                     | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK  | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK  |
| 20                                  | 1.4801        | 1.4703 | 1.7628 | 6.9838        | 7.4747 | 9.2356 |
| 10                                  | 1.0305        | 1.1639 | 1.4804 | 5.0250        | 5.8007 | 8.2700 |
| 2                                   | 0.2539        | 0.3144 | 0.3101 | 1.9556        | 1.7181 | 2.0391 |
| 1                                   | 0.2015        | 0.1962 | 0.1856 | 1.4430        | 1.1688 | 1.0248 |
| 0.2                                 | 0.1016        | 0.1145 | 0.0956 | 0.0679        | 0.1451 | 0.2061 |
| 0.1                                 | 0.0713        | 0.0733 | 0.0786 | 0.0368        | 0.0934 | 0.1631 |
| 0.02                                | 0.0367        | 0.0326 | 0.0356 | 0.0256        | 0.0468 | 0.0279 |
| 0.01                                | 0.0189        | 0.0198 | 0.0271 | 0.0105        | 0.0064 | 0.0081 |

HEG: Hegzanal, MAD: Malonaldehit, IS: İnternal standart

20, 30 ve 40 dk boyunca 40 °C ekstraksiyon uygulandığında HEG ile IS arasındaki doğrusal ilişkinin yakınlığını gösteren  $R^2$  değerleri Şekil 4.4.'de gösterilmektedir.

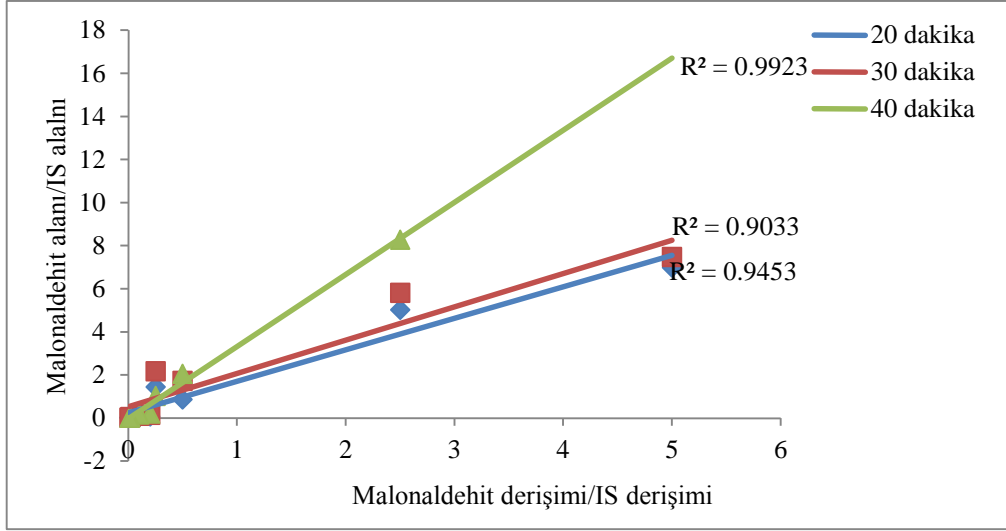


Şekil 4.4. Hava ortamında 40 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

20 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.296x + 0.098$  ve  $R^2$  değeri 0.936 olarak bulunmuştur. 30 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.308x + 0.084$  ve  $R^2$  değeri 0.936 olarak saptanırken, ekstraksiyon süresi 40 dk olduğunda regresyon denklemi  $y = 0.366x + 0.142$  ve  $R^2$  değeri 0.912 bulunmuştur.  $R^2$  değeri değişkenler arasındaki doğrusal ilişkinin düzeyini göstermektedir.  $R^2$  değeri dikkate alındığında 40 °C için en uygun süre 20 veya 30 dk olduğu görülmektedir. 40 dk ekstraksiyon uygulandığında ise iki değişken arasındaki  $R^2$  değerinin azaldığı görülmektedir.

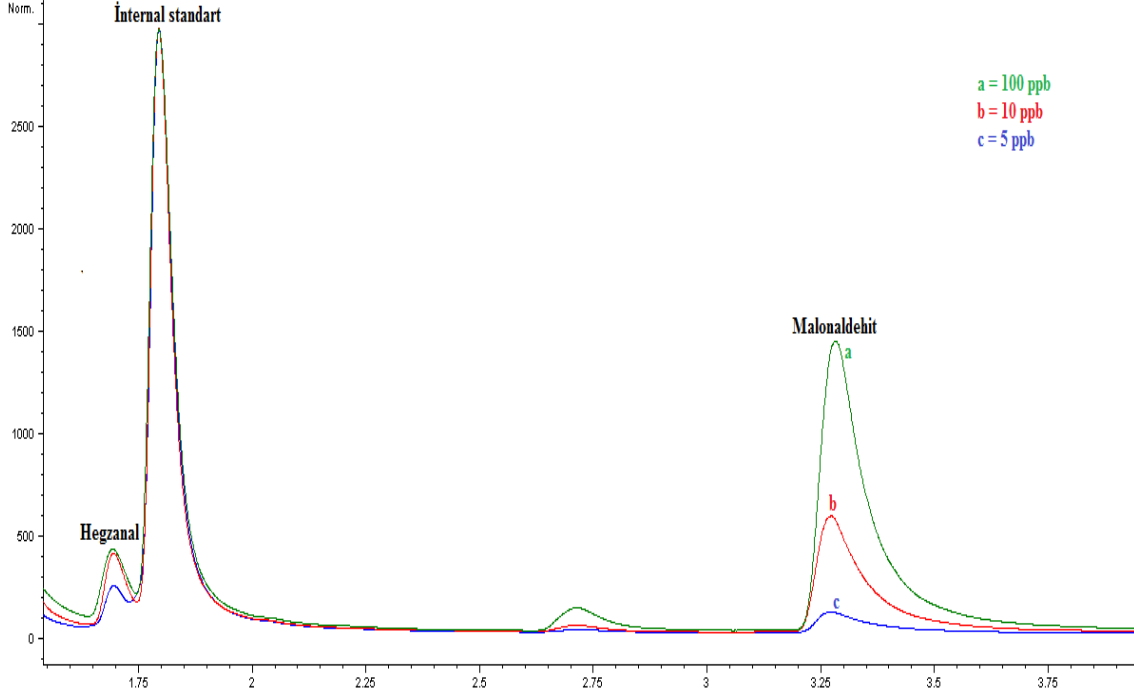
40 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca yapılan ekstraksiyon koşullarında MAD ve IS arasındaki ilişki Şekil 4.5.'te gösterilmiştir. 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon uygulanmış örneklere ait regresyon denklemleri ve  $R^2$  değerleri sırasıyla,  $y = 1.464x + 0.233$  ( $R^2 = 0.945$ ),  $y = 1.543x + 0.526$  ( $R^2 = 0.903$ ) ve  $y = 3.346x - 0.034$  ( $R^2 = 0.992$ ) olarak tespit edilmiştir.  $R^2$  değerleri dikkate alındığında en iyi ekstraksiyon süresinin 40 dk olduğu görülmektedir.





Şekil 4.5. Hava ortamında 40 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

100, 10 ve 5 ppb düzeylerinde HEG ve MAD ile 0.5 ppm IS ilave edilerek 40 °C'de 30 dk boyunca yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen kromatogramlar Şekil 4.6.'da gösterilmektedir.



Şekil 4.6. 40 °C'de 30 dk'da farklı derişimlere (100, 10 ve 5 ppb) ait kromatogram.

MAD ve HEG'in derişiminin azalmasına doğru orantılı olarak piketlerin alanları da azalmaktadır (Şekil 4.6.). Üç farklı derişim için de aynı miktarda IS kullanıldığı için

pikin özelliklerinde herhangi bir değişiklik meydana gelmemiştir. GC'den elde edilen piklerin nicel analizde kullanılabilmesi için mümkün olduğunca keskin ve belirgin olmaları gerekmektedir. 100 ppb düzeyinde elde edilen pikin daha belirgin ve keskin olduğu görülmektedir. Piklerin keskinliğinin derişimin azalmasına paralel olarak azaldığı görülmektedir. 5 ppb düzeyinin altındaki derişimlere karşılık gelen pikleri GC tespit edebilse dahi keskin ve belirgin olamaması alan hesaplamasında kesin ve tekrarlanabilir sonuç veremeyeceğinden veri analizinde kullanımı doğru bir yaklaşım olmayacağı düşünülmektedir.

#### 4.2.2. 50 °C'de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular

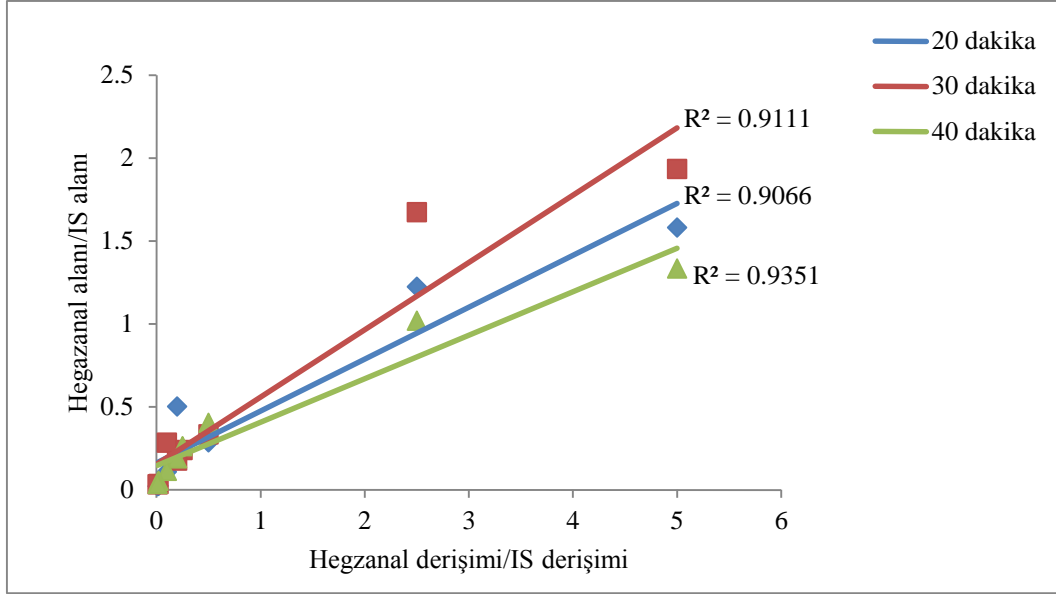
Ekstraksiyon sıcaklığı 50 °C ve ekstraksiyon süresi 20, 30 ve 40 dk olarak uygulanan örneklere ait alanlar ve derişimler oranı Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. 50 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince havada yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları

| Derişim Oranı<br>HEG/IS veya MAD/IS | ALAN (HEG/IS) |        |        | ALAN (MAD/IS) |         |         |
|-------------------------------------|---------------|--------|--------|---------------|---------|---------|
|                                     | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK  | 20 DK         | 30 DK   | 40 DK   |
| 20                                  | 1.5813        | 1.9342 | 1.3333 | 14.5197       | 27.2897 | 19.3410 |
| 10                                  | 1.2235        | 1.6729 | 1.0191 | 9.9023        | 19.3725 | 15.4825 |
| 2                                   | 0.2847        | 0.3344 | 0.4027 | 4.7092        | 5.1928  | 5.7433  |
| 1                                   | 0.2345        | 0.2383 | 0.2619 | 2.9379        | 3.4732  | 3.0484  |
| 0.2                                 | 0.1805        | 0.1752 | 0.1890 | 0.2968        | 0.3511  | 0.8677  |
| 0.1                                 | 0.1080        | 0.0983 | 0.1135 | 0.2844        | 0.3352  | 0.4635  |
| 0.02                                | 0.0331        | 0.0356 | 0.0533 | 0.0717        | 0.0858  | 0.0830  |
| 0.01                                | 0.0219        | 0.0322 | 0.0350 | 0.0168        | 0.0173  | 0.0752  |

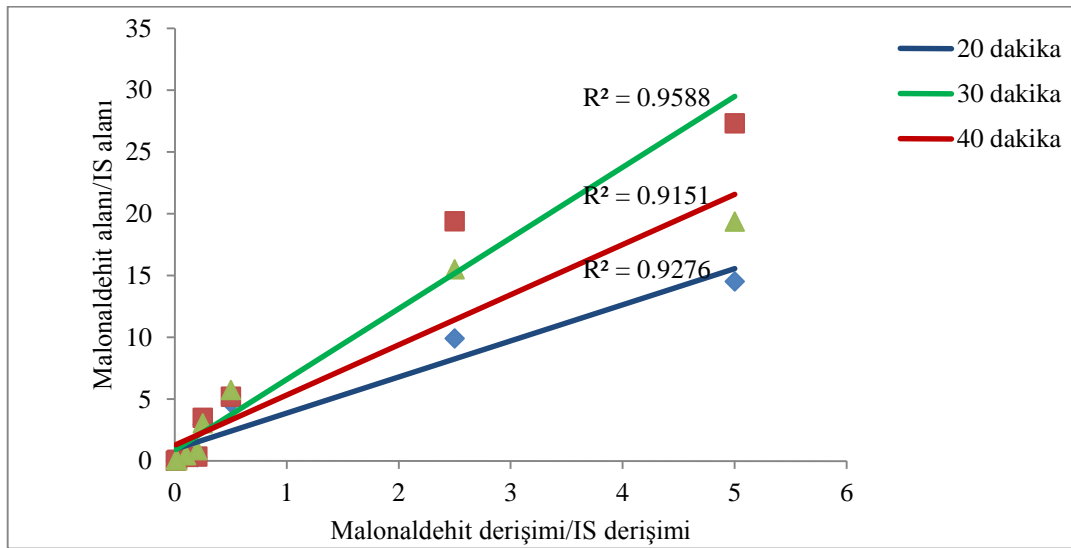
HEG: Hegzanal, MAD: Malonaldehit, IS: İnternal standart

20, 30 ve 40 dk boyunca 50 °C'de ekstraksiyon uygulandığında HEG ile IS arasındaki doğrusal ilişkinin yakınlığını gösteren  $R^2$  değerleri Şekil 4.7.'de gösterilmektedir. 20 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.312x + 0.961$ ,  $R^2 = 0.906$  olarak hesaplanmıştır. 30 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.405x + 0.152$ ,  $R^2 = 0,911$  iken; ekstraksiyon süresi 40 dk olduğunda regresyon denklemi  $y = 0.262x + 0.144$  ve  $R^2 = 0.935$  olarak saptanmıştır. 50 °C'de HEG ve IS arasındaki  $R^2$  değerlerine bakıldığında en iyi ekstraksiyon süresi sırasıyla, 40, 30 ve 20 dk olduğu görülmektedir. 50 °C'de yapılan ekstraksiyonda sürenin artmasına bağlı olarak HEG ve IS arasındaki ilişki düzeyi ( $R^2$ ) de artış göstermiştir.



Şekil 4.7. Hava ortamında 50 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

50 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca yapılan ekstraksiyon koşullarında MAD ve IS arasındaki ilişki Şekil 4.8.'de gösterilmiştir. 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon uygulanmış örneklere ait regresyon denklemleri ve  $R^2$  değerleri sırasıyla,  $y = 2.919x + 0.961$  ( $R^2 = 0.927$ ),  $y = 5.723x + 0.876$  ( $R^2 = 0.958$ ) ve  $y = 4.058x + 1.279$  ( $R^2 = 0.915$ ) olarak tespit edilmiştir.  $R^2$  değerleri dikkate alındığında en iyi ekstraksiyon süresinin 30 dk olduğu görülmektedir.



Şekil 4.8. Hava ortamında 50 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

#### 4.2.3. 60 °C'de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular

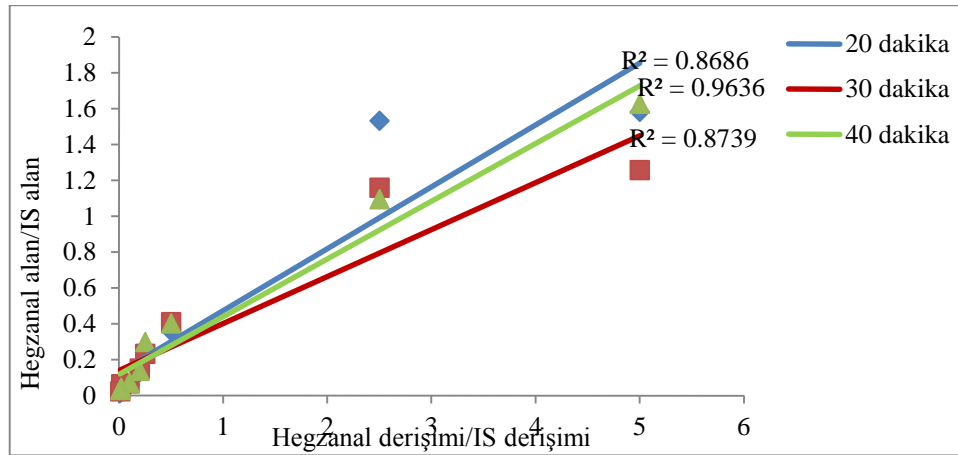
Ekstraksiyon sıcaklığı 60 °C ve ekstraksiyon süresi 20, 30 ve 40 dk uygulanan örneklere ait alanlar ve derişimler oranı Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. 60 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince havada yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları

| Derişim Oranı<br>HEG/IS veya MAD/IS | ALAN (HEG/IS) |        |         | ALAN (MAD/IS) |         |         |
|-------------------------------------|---------------|--------|---------|---------------|---------|---------|
|                                     | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK   | 20 DK         | 30 DK   | 40 DK   |
| 20                                  | 1.5826        | 1.2564 | 19.6553 | 17.0221       | 18.9738 | 19.3410 |
| 10                                  | 1.5324        | 1.1591 | 15.2545 | 15.7317       | 18.0629 | 15.4825 |
| 2                                   | 0.3582        | 0.4096 | 4.6814  | 4.8619        | 3.4552  | 5.7433  |
| 1                                   | 0.2437        | 0.2312 | 3.2397  | 3.0096        | 2.7415  | 3.0484  |
| 0.2                                 | 0.1293        | 0.1494 | 0.8631  | 1.1327        | 0.9358  | 0.8677  |
| 0.1                                 | 0.0689        | 0.0680 | 0.3881  | 0.6570        | 0.3383  | 0.4635  |
| 0.02                                | 0.0622        | 0.0628 | 0.0796  | 0.1459        | 0.2116  | 0.0830  |
| 0.01                                | 0.0136        | 0.0234 | 0.0424  | 0.1412        | 0.0304  | 0.0752  |

HEG: Hegzanal, MAD: Malonaldehit, IS: İnternal standart

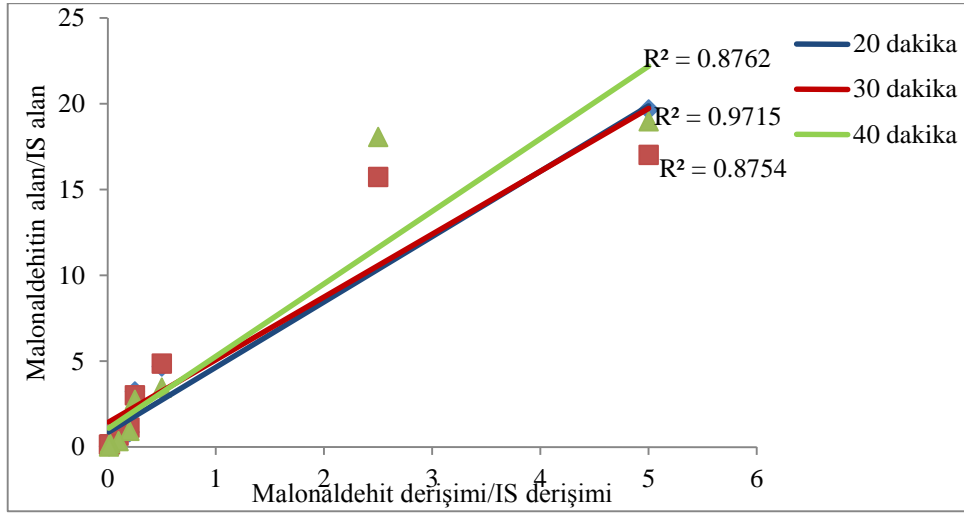
60 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca yapılan ekstraksiyon koşullarında HEG ve IS arasındaki ilişki Şekil 4.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Hava ortamında 60 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

20, 30 ve 40 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında belirlenen regresyon denklemleri ve R<sup>2</sup> değerleri sırasıyla,  $y = 0.345x + 0.127$  ( $R^2 = 0.868$ ),  $y = 0.262x + 0.138$  ( $R^2 = 0.873$ ) ve  $y = 0.322x + 0.117$  ( $R^2 = 0.963$ ) olarak bulunmuştur. 60 °C'de HEG ve IS arasındaki R<sup>2</sup> değerine bakıldığında en iyi ekstraksiyon süresi 40 dk olarak belirlenmiştir. Sürenin artmasıyla beraber R<sup>2</sup> değerlerinin de arttığı tespit edilmiştir.

60 °C'de 20, 30 ve 40 dk süre ile yapılan ekstraksiyon koşullarında MAD ve IS arasındaki ilişki Şekil 4.10.'da gösterilmiştir.

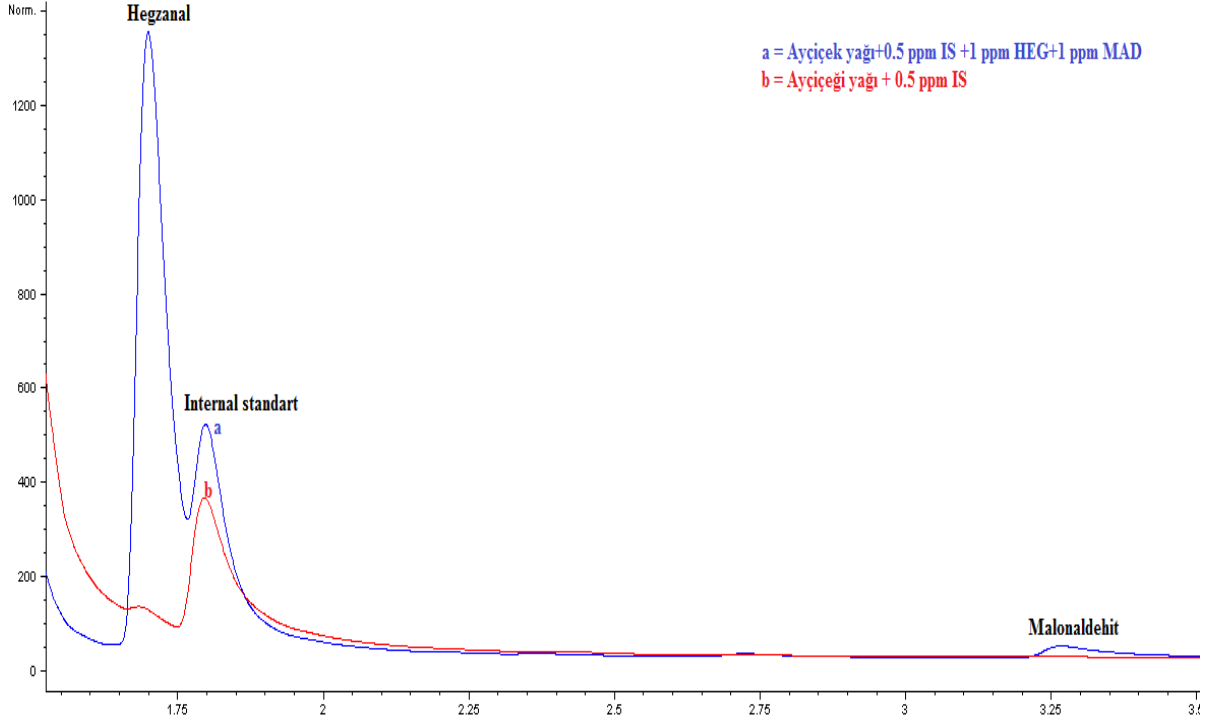


Şekil 4.10. Hava ortamında 60 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

20 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 3.809x + 0.827$ ,  $R^2 = 0.971$  olarak bulunmuştur. 30 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 3.664x + 1.407$ ,  $R^2 = 0.875$  saptanırken; ekstraksiyon süresi 40 dk olduğunda regresyon denklemi  $y = 4.224x + 1.063$  ve  $R^2 = 0.876$  olarak belirlenmiştir. 60 °C'de MAD ve IS arasındaki  $R^2$  değerlerine bakıldığında en iyi ekstraksiyon süresinin 20 dk olduğu görülmektedir.

#### 4.3. Ayçiçeği Yağında Farklı Süre ve Sıcaklıklarda Malonaldehit ve Hegzanalın İnternal Standart ile İlişkisi

SPME'nin ayçiçeği yağı matrisindeki performansı araştırılmadan önce ayçiçeği yağının HEG ve MAD içerip içermediği araştırılmıştır. Diğer bir deyişle ayçiçeği yağının içerisinde dışarıdan eklenen HEG ve MAD dışında bozulmadan dolayı HEG ve MAD oluşup oluşmadığı araştırılmıştır. Bunun için bir vialde 2 g yağ ve 0.5 ppm IS; diğer bir vialde 2 g yağ, 0.5 ppm IS, 1ppm HEG ve 1 ppm MAD ilave edilmiştir. 60 °C'de 40 dk boyunca ekstraksiyon yapıldıktan sonra Şekil 4.11.'deki kromatogram elde edilmiştir.



Şekil 4.11. 60 °C ve 40 dk ekstraksiyon sonucu kontrol örneği ve dışarıdan HEG, MAD ve IS ilave edilmiş örneklere ait GC kromatogramı.

Şekil 4.11. incelendiğinde kontrol örneğinde HEG ve MAD'ın geliş sürelerinin olduğu yerde keskin ve belirgin herhangi bir pik tespit edilmemiştir. Bu da seçilen matriksin HEG ve MAD içermediğini göstermektedir. SPME ekstraksiyonu sırasında sıcaklığın ve sürenin etkisiyle aranan madde miktarında artışın meydana gelmemesi dikkat edilmesi gereken başlıca husustur. Başka bir deyişle sıcaklık ve süreye bağlı olarak matrikste aranan bileşenin oluşmamasını sağlayacak düzeyde sıcaklık ve süre uygulanmalıdır. Bu çalışmada belirlenen sıcaklık (40, 50 ve 60 °C) ve süreler (20, 30 ve 40 dk) dikkate alındığına kontrol örneğinde azami sıcaklık ve sürelerde bile HEG ve MAD bulgusuna rastlanmamıştır (Şekil 4.11).

Sonraki aşamada ayçiçeği yağında çeşitli sıcaklık ve sürelerde SPME'nin performansı araştırılmıştır. Bu amaçla 30 ml'lik vialde 2 g ayçiçeği yağı konuldu. Daha önce metanolde hazırlanan standart çözeltilerden (10000 ppm) kaynatılmış ve soğutulmuş saf su ile bu çalışmada uygulanması planlanan derişimlere (10 ppm, 5 ppm, 1 ppm, 0.5 ppm, 100 ppb, 50 ppb, 10 ppb ve 5 ppb) seyreltilerek MAD ve HEG çözeltileri yağ matriksine ilave edildi. IS ile olan ilişkilerini incelemek amacıyla 0.5 ppm 5-metil 2-hekzanon ilave edildi. 40, 50, 60 °C'de ve 20, 30, 40 dk boyunca SPME

ekstraksiyonu gerçekleştirilirken, bu farklı süre ve sıcaklıklarda HEG ve MAD'ın IS ile olan ilişkilerini gösteren denklemler türetilmiştir.

#### 4.3.1. 40 °C'de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular

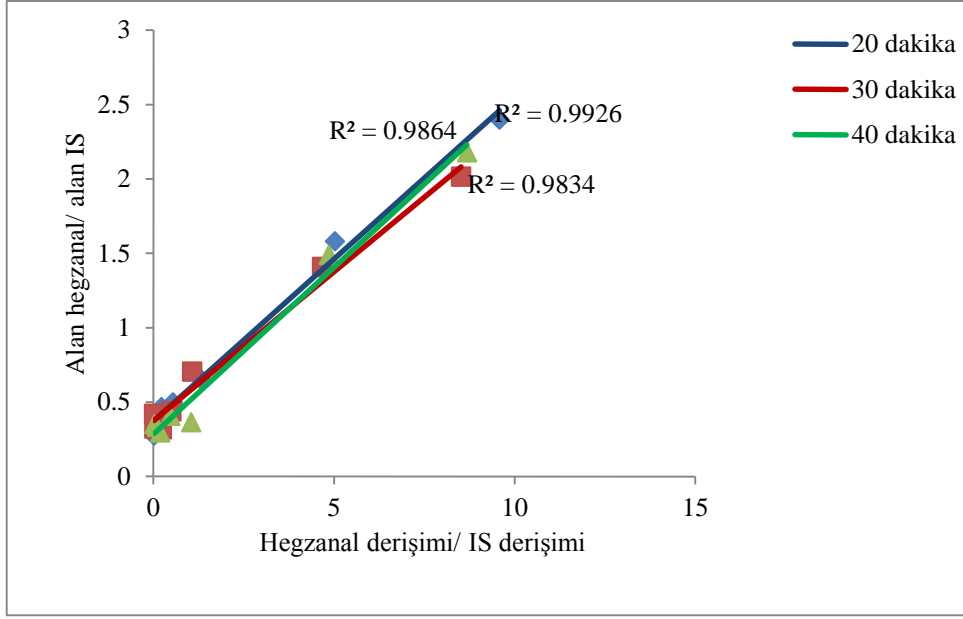
Ekstraksiyon sıcaklığı 40 °C ve ekstraksiyon süresi 20, 30 ve 40 dk uygulanan örneklere ait alanlar ve derişimler oranı Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. 40 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince yağda yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları

| Derişim Oranı<br>HEG/IS veya MAD/IS | ALAN (HEG/IS) |        |        | ALAN (MAD/IS) |        |        |
|-------------------------------------|---------------|--------|--------|---------------|--------|--------|
|                                     | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK  | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK  |
| 20                                  | 2.3979        | 2.0147 | 0.0485 | 0.0576        | 0.0641 | 9.2356 |
| 10                                  | 1.5806        | 1.4094 | 0.0432 | 0.0329        | 0.0512 | 8.2700 |
| 2                                   | 0.6622        | 0.7048 | 0.1646 | 0.1500        | 0.0608 | 2.0391 |
| 1                                   | 0.4975        | 0.4367 | 0.1570 | 0.2733        | 0.0931 | 1.0248 |
| 0.2                                 | 0.4655        | 0.4056 | 0.0060 | 0.0526        | 0.0507 | 0.2061 |
| 0.1                                 | 0.3845        | 0.3852 | 0.0301 | 0.0167        | 0.0177 | 0.1631 |
| 0.02                                | 0.3801        | 0.3223 | 0.0069 | 0.0216        | 0.0373 | 0.0279 |
| 0.01                                | 0.2748        | 0.2982 | 0.0990 | 0.0255        | 0.0362 | 0.0081 |

HEG: Hegzanal, MAD: Malonaldehit, IS: İnternal standard

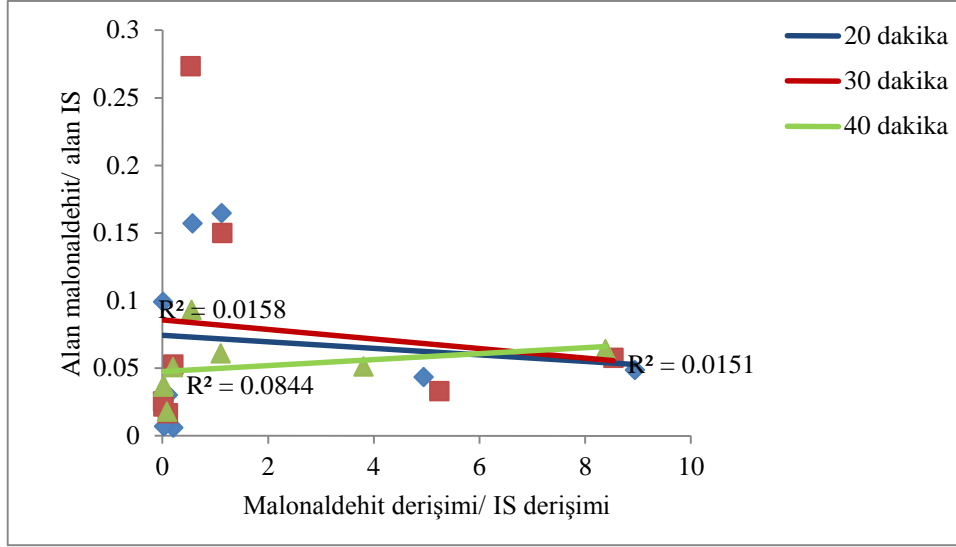
40 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında HEG'in IS ile olan ilişkisi Şekil 4.12.'de verilmiştir. 40 °C'de 20 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.217x + 0.373$  ( $R^2 = 0.992$ ) olarak bulunmuştur. 30 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.200x + 0.373$  ( $R^2 = 0,983$ ) olarak tespit edilirken; ekstraksiyon süresi 40 dk olduğunda regresyon denklemi  $y = 0.224x + 0.284$  ( $R^2 = 0,986$ ) olarak saptanmıştır.  $R^2$  değerleri incelendiğinde 40°C için en uygun süre sırasıyla, 20, 40 ve 30 dk olduğu görülmektedir.



Şekil 4.12. Ayçiçeği yağında 40 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

40 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında MAD'ın IS ile olan ilişkisini gösteren R<sup>2</sup> değeri Şekil 4.13.'te gösterilmiştir. 40 °C'de 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemleri ve R<sup>2</sup> değeri sırasıyla;  $y = 0.200x + 0.0174$  (R<sup>2</sup> = 0.015),  $y = 0.003x + 0.085$  (R<sup>2</sup> = 0.015) ve  $y = 0.002x - 0.047$  (R<sup>2</sup> = 0.084) olarak tespit edilmiştir R<sup>2</sup> değeri dikkate alındığında 40 °C'de üç farklı sürede de MAD ve IS arasında doğrusal bir ilişki bulunamamıştır. Bunun nedeni MAD'ın oldukça reaktif ve polar olmasından kaynaklanmaktadır. MAD'ın bu özelliğinden dolayı türevlendirilmesi gerekmektedir. Literatür bilgilerine bakıldığında yapılan çalışmaların çoğunda MAD önce türevlerine dönüştürülmüş daha sonra SPME-GC uygulanarak tespit edilmiştir. Umano ve ark. (1988), sığır yağı ve mısırözü yağındaki MAD'ı tespit etmek için metilhidrazin kullanarak 1-metilpirazole türevlendirmişlerdir. Benzer bir çalışmada Fujioka ve Shibamoto (2005), okside olmuş yağlarda MAD'ı 1-metilpirazole dönüştürerek SPME-GC'de miktarını tespit etmişlerdir. Ruan ve ark. (2014), etteki MAD miktarını tespit etmek için MAD'ı pentaflorofenilhidrazin ile türevlendirmişlerdir.





Şekil 4.13. Ayçiçeği yağında 40 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

#### 4.3.2. 50 °C'de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular

Ekstraksiyon sıcaklığı 50 °C ve ekstraksiyon süresi 20, 30 ve 40 dk uygulanan örneklere ait alanlar ve derişimler oranı Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

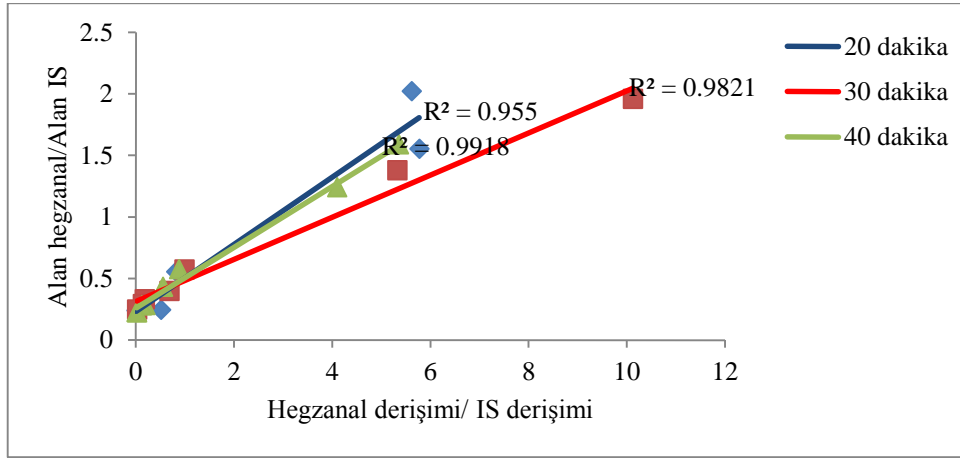
Çizelge 4.5. 50 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince yağda yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları

| Derişim Oranı<br>HEG/IS veya MAD/IS | ALAN (HEG/IS) |        |        | ALAN (MAD/IS) |         |        |
|-------------------------------------|---------------|--------|--------|---------------|---------|--------|
|                                     | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK  | 20 DK         | 30 DK   | 40 DK  |
| 20                                  | 2.0216        | 1.9590 | 1.5893 | 0.0655        | 0.0935  | 0.1036 |
| 10                                  | 1.5529        | 1.3779 | 1.2412 | 0.0733        | 0.0885  | 0.0819 |
| 2                                   | 0.5530        | 0.5716 | 0.5751 | 0.0554        | 0.0692  | 0.0968 |
| 1                                   | 0.3654        | 0.3963 | 0.4300 | 0.0212        | 0.0409  | 0.1550 |
| 0.2                                 | 0.2922        | 0.3300 | 0.2839 | 0.0242        | 0.0574  | 0.0533 |
| 0.1                                 | 0.2689        | 0.2898 | 0.2810 | 0.0173        | 0.0328  | 0.0321 |
| 0.02                                | 0.2295        | 0.2474 | 0.2426 | 0.0486        | 0.0599  | 0.0476 |
| 0.01                                | 0.2145        | 0.2217 | 0.2265 | 0.0111        | 0.01871 | 0.0174 |

HEG: Hegzanal, MAD: Malonaldehit, IS: İnternal standart

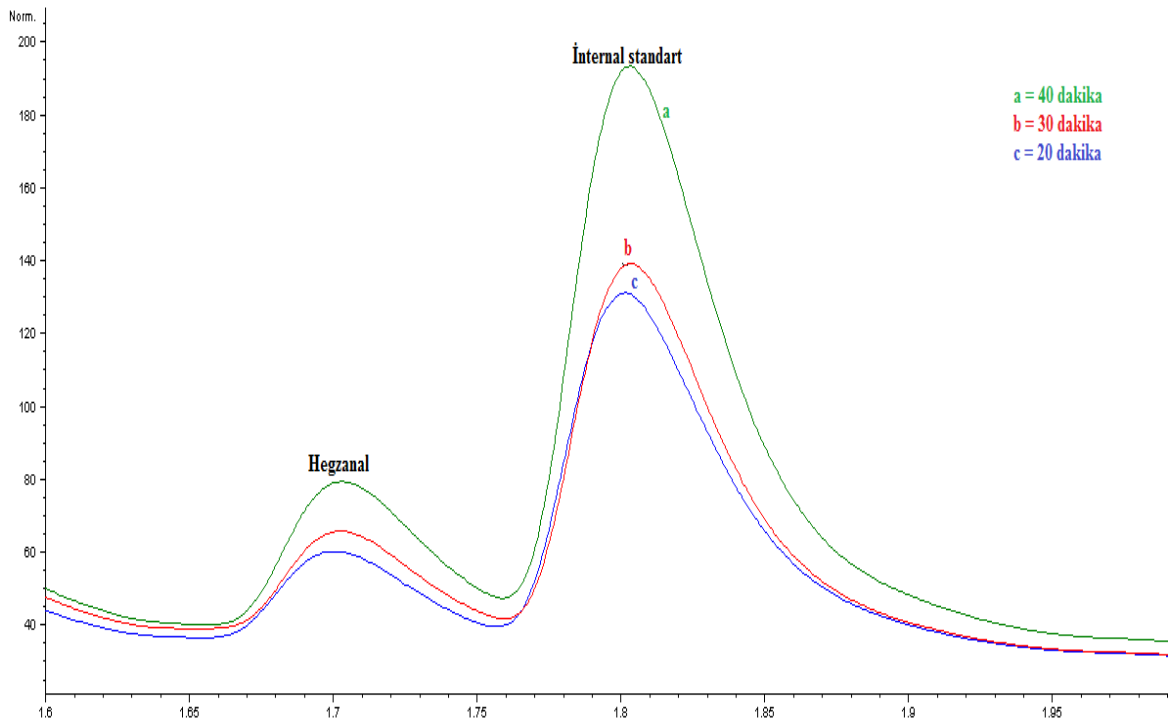
50 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında HEG ve IS arasındaki ilişki Şekil 4.14.'te verilmiştir. 20 dk'lık bir ekstraksiyonla elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.272x + 0.231$  ( $R^2 = 0.955$ ) olarak tespit edilmiştir. 30 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.171x + 0.311$  ( $R^2 = 0.982$ ) olarak bulunurken; ekstraksiyon süresi 40 dk olduğunda regresyon denklemi  $y = 0.247x + 0.258$  ( $R^2 = 0.991$ ) olarak saptanmıştır.  $R^2$  değerleri

incelendiğinde 50 °C için en uygun ekstraksiyon süresi 40 dk olduğu görülmektedir. Sürenin artmasına bağlı olarak  $R^2$  değerlerinde artış gözlenmiştir.



Şekil 4.14. Ayçiçeği yağında 50 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

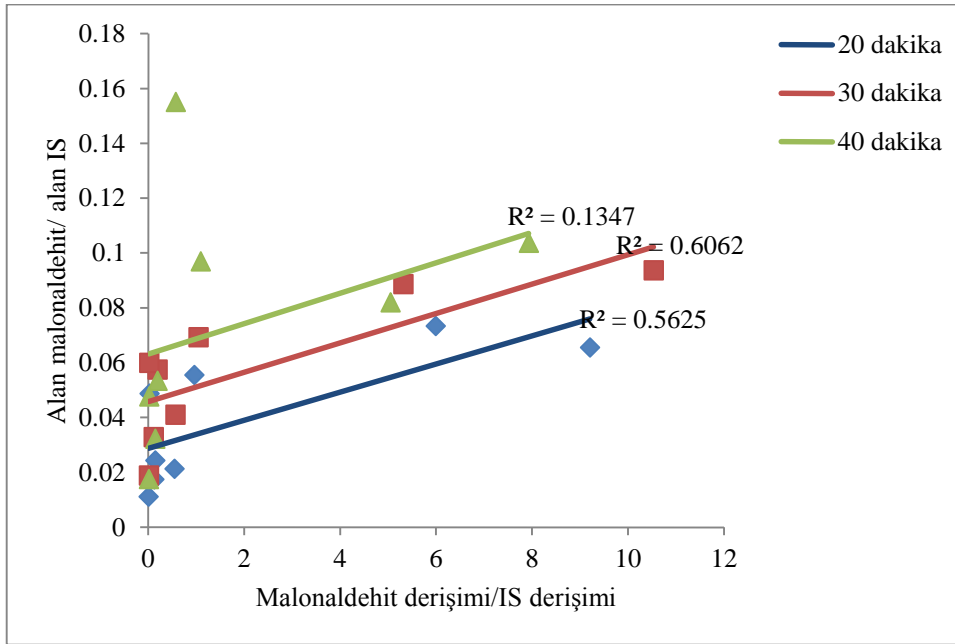
100 ppb HEG ve 0.5 ppm IS ilave edilmiş ayçiçeği yağına 50 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca yapılan ekstraksiyon sonucunda GC'den elde edilen kromatogram Şekil 4.15.'te gösterilmektedir.



Şekil 4.15. 100 ppb HEG ilave edilmiş ayçiçeği yağında 50° C'de 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon sonrası elde edilen GC kromatogramı.

50 °C'de yapılan ekstraksiyonda sürenin artmasına bağlı olarak pik alanlarında artış gözlemlenmiştir.  $R^2$  değerleri göz önünde bulundurulduğunda bu sıcaklık için en uygun süre 40 dk olduğu görülmektedir

50 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında MAD'ın IS ile olan ilişkisi Şekil 4.16.'da gösterilmiştir. 20, 30 ve 40 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemleri sırasıyla,  $y = 0.005x + 0.028$  ( $R^2 = 0.562$ ),  $y = 0.005x + 0.048$  ( $R^2 = 0.606$ ) ve  $y = 0.005x + 0.063$  ( $R^2 = 0.134$ ) olarak tespit edilmiştir.  $R^2$  değerlerine bakıldığında 50 °C'de en yüksek korelasyon 30 dk'da elde edilmiştir. Ancak bulunan bu değer MAD ve IS arasındaki doğrusal ilişkiyi göstermek için yeterli değildir. Başka bir deyimle MAD ile IS arasındaki doğrusal ilişkinin bu düzeyde olması nedeniyle MAD'ın nicel analizinde doğru sonuç vermemesine yol açmaktadır.



Şekil 4.16. Ayçiçeği yağında 50 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

#### 4.3.3 60 °C'de farklı sürelerde malonaldehit ve hegzanalın internal standart ile derişim ve alan ilişkisini gösteren bulgular

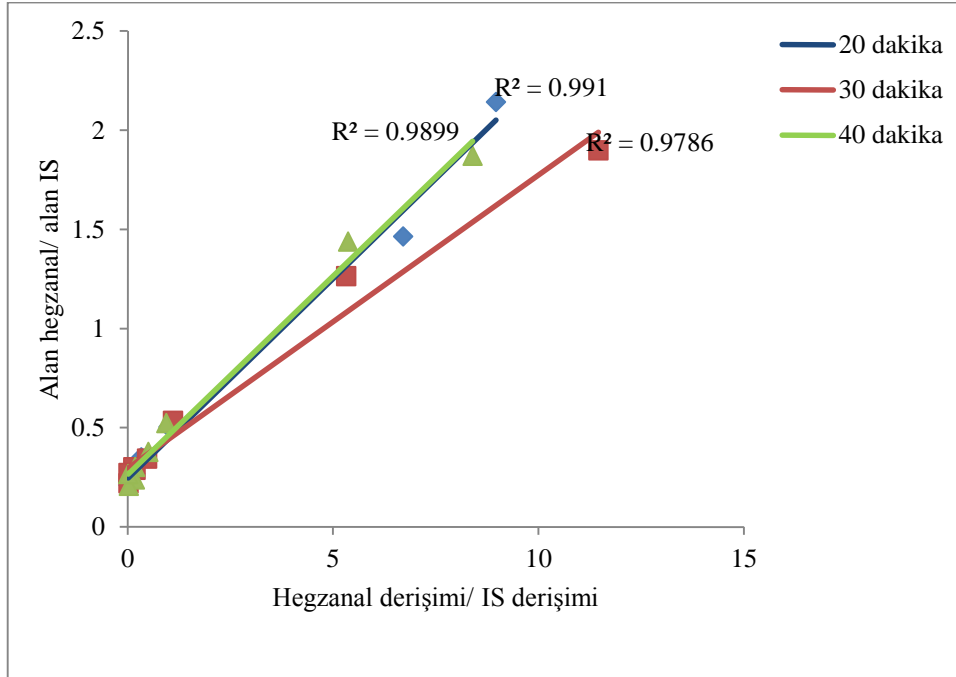
Ekstraksiyon sıcaklığı 60 °C ve ekstraksiyon süresi 20, 30 ve 40 dk uygulanan örneklere ait alanlar ve derişimler oranı Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. 60 °C'de 20, 30 ve 40 dk süresince yağda yapılan ekstraksiyon sonucu HEG ve MAD'ın derişim ve alanlarının IS ile oranları

| Derişim Oranı<br>HEG/IS veya MAD/IS | ALAN (HEG/IS) |        |        | ALAN (MAD/IS) |        |        |
|-------------------------------------|---------------|--------|--------|---------------|--------|--------|
|                                     | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK  | 20 DK         | 30 DK  | 40 DK  |
| 20                                  | 2.1411        | 1.8981 | 1.8712 | 0.1241        | 0.1814 | 0.2441 |
| 10                                  | 1.4637        | 1.2633 | 1.4387 | 0.0617        | 0.1072 | 0.1483 |
| 2                                   | 0.5037        | 0.5352 | 0.5239 | 0.1207        | 0.2916 | 0.0770 |
| 1                                   | 0.3499        | 0.3448 | 0.3781 | 0.0649        | 0.1624 | 0.3577 |
| 0.2                                 | 0.2965        | 0.2869 | 0.3025 | 0.0160        | 0.1421 | 0.2061 |
| 0.1                                 | 0.2803        | 0.2546 | 0.2393 | 0.0489        | 0.0398 | 0.0562 |
| 0.02                                | 0.2110        | 0.2192 | 0.2070 | 0.0276        | 0.0489 | 0.0178 |
| 0.01                                | 0.2014        | 0.2056 | 0.2003 | 0.0235        | 0.0614 | 0.0298 |

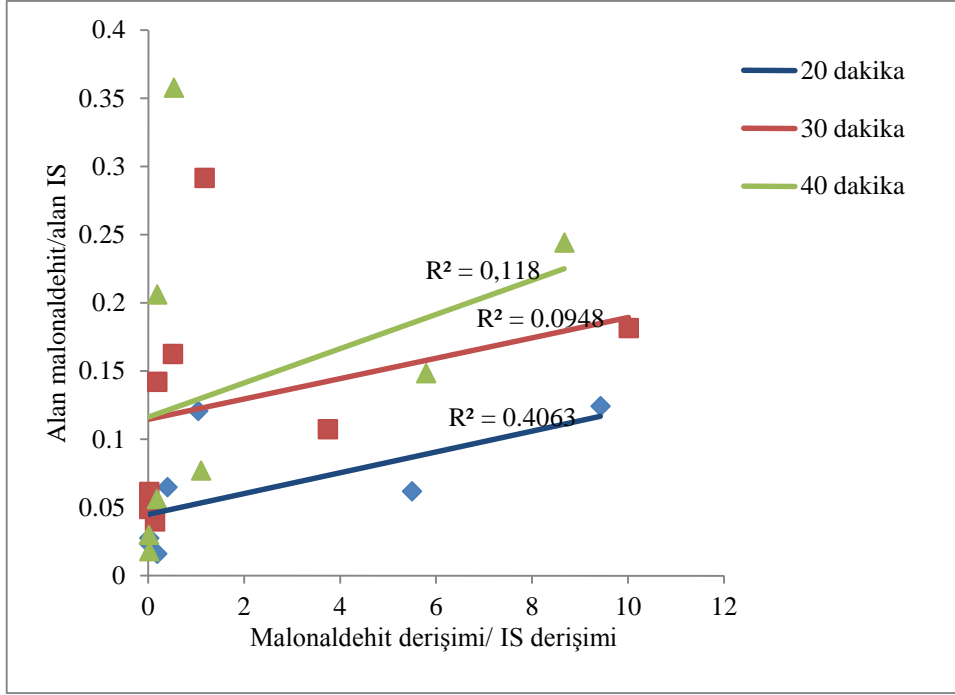
HEG: Hegzanal, MAD: Malonaldehit, IS: İnternal standard

20 dk'da ekstraksiyon sonucu elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.201x + 0.244$  ( $R^2 = 0.991$ ) olarak bulunurken; 30 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi  $y = 0.147x + 0.294$  ( $R^2 = 0.978$ ) olarak tespit edilmiştir. Ekstraksiyon süresi 40 dk olduğunda ise regresyon denklemi  $y = 0.200x + 0.263$  ( $R^2 = 0.989$ ) olarak saptanmıştır.  $R^2$  değerleri incelendiğinde 60 °C için en uygun ekstraksiyon süresinin 20 dk olduğu görülmektedir.



Şekil 4.17. Ayçiçeği yağında 60 °C'de farklı sürelerde HEG ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

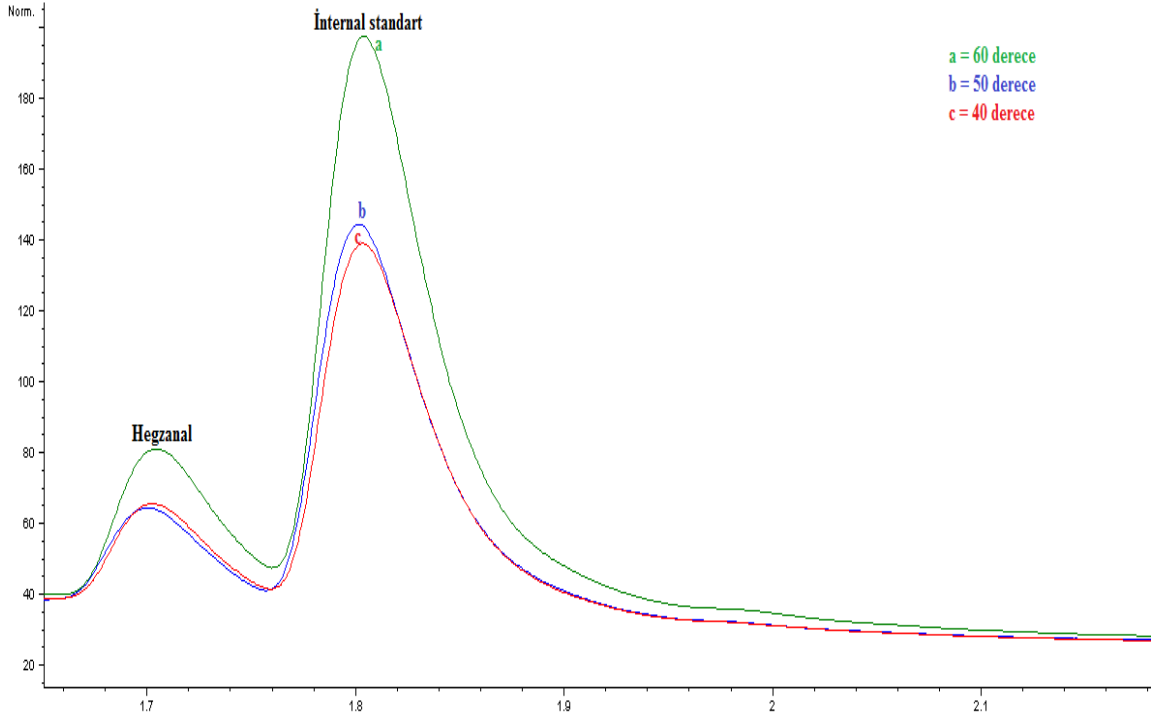
60 °C'de 20, 30 ve 40 dk boyunca ekstraksiyon uygulandığında MAD ve IS arasındaki ilişki Şekil 4.18.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.18. Ayçiçeği yağında 60 °C'de farklı sürelerde MAD ile IS arasındaki derişim ve alan oranları ilişkisi.

20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon sonucu elde edilen regresyon denklemleri sırasıyla;  $y = 0.007x + 0.045$  ( $R^2 = 0.406$ ),  $y = 0.007x + 0.118$  ( $R^2 = 0.094$ ) ve  $y = 0.012x + 0.116$  ( $R^2 = 0.118$ ) olarak saptanmıştır.  $R^2$  değerleri dikkate alındığında 60 °C'de en yüksek korelasyon 20 dk'lık ekstraksiyonda bulunmuştur. Ancak bulunan bu değer MAD ve IS arasındaki doğrusal ilişkiyi göstermek için yeterli değildir.

Ayçiçeği yağına 100 ppb HEG ve 0.5 ppm IS ilave edilerek 30 dk boyunca 40, 50 ve 60 °C'de yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen kromatogram Şekil 4.19.'da gösterilmiştir. Sıcaklık 40 ve 50 °C olduğunda piklerin özellikleri benzer davranış gösterirken, 60 °C'de daha keskin ve belirgin bir pik elde edilmiştir. GC'den elde edilen piklerin nicel analizde kullanılabilmesi için mümkün olduğunca keskin ve belirgin olması gerekmektedir. Keskin piklerin elde edilmesi ile bileşenler arasındaki ilişkiyi tespit etmek mümkündür. Ayçiçeği yağında kullanılan sıcaklık değerleri göz önünde bulundurulduğunda uygulanması gereken en uygun sıcaklık 60 °C olduğu tespit edilmiştir. 60 °C'de uygulanan srelere bakıldığında en uygun süre 20 dk ( $R^2 = 0.991$ ) olduğu saptanmıştır. Iglesias ve ark. (2007), balık yağı ile zenginleştirilmiş süt ve mayonezlerdeki oksidasyon sonucu oluşan bileşenleri tespit etmek için geliştirmiş oldukları yöntemde 60 °C'de 30 dk boyunca ekstraksiyon işlemi uygulamışlardır.



Şekil 4.19. 100 ppb HEG ilave edilmiş ayçiçeği yağında 30 dk'da 40, 50 ve 60 °C'de ekstraksiyon sonrası elde edilen kromatogram.

## 5- TARTIŞMA VE SONUÇ

Lipit oksidasyonu yağ içeriği bakımından zengin olan gıdalarda kalite kaybının oluşmasında başlıca etmendir. Gıdaların raf ömrünün belirlenmesinde oksidasyon düzeyinin belirlenmesi önemli bir faktördür. Lipid oksidasyonu ile ilişkili olan diğer sorunlar lezzet, renk ve tekstürde meydana gelen bozulmalardır. Oksidasyon; doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen ile tepkimeye girdiği karmaşık bir olaydır. Bu reaksiyonun sonucu oluşan birincil ürünler hidroperoksitlerdir. Hidroperoksitler renksizdir ve stabil değildir. Hidroperoksitlerin parçalanması sonucu alkanlar, alkenler, aldehitler ve ketonlar gibi ikincil oksidasyon ürünleri oluşur. Oluşan ikincil oksidasyon ürünleri arasında aldehitler, en önemli parçalanma ürünleri olarak değerlendirilmektedir. Çünkü aldehitler düşük eşik değerine sahip olduğundan, istenmeyen lezzet ve kokuların gelişmesine neden olurlar (Ross ve Smith, 2006).

Gıdalardaki oksidasyon durumunu tespit etmek için peroksit, anisidin, konjugedien, konjugetrien, toplam oksidasyon ve TBARS değerleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunların arasında TBARS değeri diğer yöntemlere göre kısmen kolay ve hızlı bir yöntemdir. Ancak TBARS yöntemi örnekteki oksidasyon düzeyini olması gereken değerden daha yüksek gösterdiğinden dolayı spesifik ve duyarlı bir yöntem değildir. (Brunton ve ark., 2000; Ma ve ark., 2014).

TBARS yöntemi spesifik ve hassas olmadığından dolayı oksidasyon düzeyini belirlemek için HEG ve MAD gibi uçucu bileşenlerin analizi son zamanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Oksidasyon süresince oluşan uçucu bileşenleri analiz etmek için pek çok analitik yöntem kullanılmaktadır. Bunların arasında SPME son zamanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. SPME örnekleme, ekstraksiyon ve yoğunlaştırma gibi bir çok adımı çözücü gerektirmeden tek bir aşamada birleştirmektedir. Örnek içindeki bileşenler doğrudan fibre üzerinde ekstrakte edilip yoğunlaşması sağlanmaktadır. Bu yöntem, örnek hazırlamada zamandan ve atıkların bertaraf edilmesi maliyetinden tasarruf sağlamaktadır. SPME rutin olarak GC ve GC/MS ile kombine bir şekilde kullanılmaktadır. (Vas ve Vekely, 2004; Pawliszyn, 2000 Ross ve Smith, 2006).

Fibre kaplamanın çeşidi, ekstraksiyon yöntemi, ekstraksiyon süre ve sıcaklığı, fibre kaplamanın kalınlığı, örnek hacmi, karıştırma, tuz ve pH SPME performansını

etkileyen başlıca etmenlerdir. Bu çalışma kapsamında örnek matrisi, sıcaklık ve sürenin SPME performansı üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Matriks etkisini araştırmak amacıyla hava matriksi olarak hiç bir madde konulmadan boş vial ve ayçiçeği yağı matriks olarak seçilmiştir. HEG ve MAD'ın IS ile olan ilişkisi  $R^2$  değerleri karşılaştırılarak her iki matrikste de araştırılmıştır. Hava matriksinde 40 °C sıcaklık uygulandığında en iyi sonuç HEG için 20 veya 30 dk'lık ( $R^2 = 0.936$ ) ekstraksiyon süresinde saptanırken, MAD için en yakın ilişki 40 dk'da ( $R^2 = 0.992$ ) elde edilmiştir. Sıcaklık 50°C olarak seçildiğinde HEG ve MAD için en iyi sonuç sırasıyla, 40 ( $R^2=0.935$ ) ve 30 ( $R^2=0.958$ ) dk'lık ekstraksiyon sürelerinde bulunmuştur. 60 °C en yakın ilişki HEG için 40 ( $R^2 =0.963$ ) ve MAD için 20 ( $R^2 = 0.971$ ) dk ekstraksiyon süresinde saptanmıştır.

Yağ matriksinde yapılan ekstraksiyonda HEG ve IS arasında doğrusal bir ilişki saptanırken, MAD ve IS arasındaki ilişki düşük çıkmıştır. MAD ve IS arasındaki en yüksek  $R^2$  değeri ( $R^2 = 0.606$ ) 50 °C'de 30 dk'lık ekstraksiyonda görülmüştür. Ancak bu değer MAD ve IS arasındaki doğrusal ilişkiyi açıklamak için yeterli değildir. MAD'ın düşük korelasyon göstermesinin nedeni oldukça reaktif ve polar bir bileşen olmasından dolayıdır. Bu yüzden yapılan çalışmaların çoğunda öncelikle MAD'ın stabil türevleri oluşturulmuştur. Daha sonra oluşan bu türevler GC ve HPLC gibi kromatografi teknikleri ile analiz edilmiştir. Fujioka ve Shibamoto (2005), antioksidan aktivite ölçümü için geliştirmiş oldukları bir çalışmada MAD tayininde türevlendirme yapmışlardır. Bunun için MAD'ı N-metil hidrazin ile reaksiyona tabi tutmuşlardır. Oluşan 1-metilpirazol türevini SPME ile ekstrakte edip, GC ile MAD miktarını saptamışlardır. Fan (2002), elma suyundaki MAD miktarını belirlemek için MAD'ı pentaflorofenil hidrazin ile türevlendirmiştir. Yine aynı şekilde Shin (2009), insan kanındaki MAD miktarını belirlemek için 2,2,2-trifloroetilhidrazin ile MAD'ı 50 °C'de 40 dk boyunca türevlendirmiştir.

HEG ve IS arasında yakın bir ilişki saptanmıştır ( $0.955 < R^2 < 0.992$ ). Sıcaklık 60 °C uygulandığında oluşan pikler diğer sıcaklıklara göre daha keskin ve belirgin olduğu görülmüştür. Bundan dolayı en uygun ekstraksiyon sıcaklığı 60 °C ve en uygun süre 20 dk ( $R^2 = 0.991$ ) olarak saptanmıştır. Ekstraksiyon süre ve sıcaklığı prosesin etkinliğini belirleyen temel parametrelerdir. Sıcaklığın ekstraksiyon üzerine iki yönlü etkisi vardır. Sıcaklığın artışı fazlar arasındaki kütle transferini arttırırken aynı zamanda



dağılım katsayısını da düşürmektedir. Bundan dolayı sıcaklık değişimi en çok tepe boşluğu ekstraksiyonu tekniğinde uygulanmaktadır. Çünkü sıcaklık artışı ile beraber bileşenlerin örnekten tepe boşluğuna transferi hızlanmaktadır. (Spietelun ve ark., 2013; Prosen ve Kralj, 1999; Pawlisyn, 2000).

Sonuç olarak, 3 fazlı SPME'nin doğrudan ayçiçeği yağından MAD'ın ekstraksiyonu ve GC analizi için uygun olmadığı tespit edilmiştir. 3 faz SPME'nin HEG'in ekstraksiyonu ve nicel analizi için uygulanabileceği ve  $R^2$  değerine bakıldığında HEG'in yağda tespit edilebileceği en uygun koşulun  $60\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 20 dk ( $R^2 = 0.991$ ) olduğu saptanmıştır. Bu koşullarda elde edilen  $y = 0.201x + 0.244$  ( $x = \text{HEG derişimi/IS derişimi}$ ,  $y = \text{HEG alanı/IS alanı}$ ) denklemi ile herhangi bir ayçiçeği yağına IS olarak 5-metil 2-hegzanon (0.5 ppm) ilave edilerek içeriğindeki HEG tespit edilebilecektir.

#### 4. KAYNAKLAR

- Andiç, S., Tuncturk, Y., Javidipour, I., 2010. Effects of frozen storage and vakuüm packaging on free fatty acid and volatile composition of Turkish Motal cheese. *Food Science and Technology International*, **4**: 375-394.
- Brunton, N. P., Cronin, D.A., Monahan, F.J., Durcan, R., 2000. A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. *Food Chemistry*, **68**: 399-345.
- Choe, E., Min, D.B., 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **5**:169-186.
- Ezquerro, O., Pons, B., Tena, M.T., 2003. Evaluation of multiple solid-phase microextraction as a technique to remove matrix effect in packaging analysis for determination of volatile organic compounds. *Journal of Chromatography A*, **1020**: 189-197.
- Fan, X., 2002. Measurement of malonaldehyde in apple juice using GC-MS and a comparison to the thiobarbituric acid assay. *Food Chemistry*, **77**: 353-359.
- Fang, Y., Qian, C., 2005. Sensitive quantification of sulfur compounds in vine by headspace solid-phase microextraction technique. *Journal of Chromatography A*, **1080**: 177-185.
- Fujioka, K., Shibamoto, T., 2005. Improved malonaldehyde assay using headspace solid-phase microextraction and its application to measurement of the antioxidant activity of phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 4708-4713.
- Fuchs, P., Loeseken, C., Schubert, J. K., Miekisch, W., 2010. Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer. *International Journal of Cancer*, **126**: 2663-2670.
- Giera, M., Lingeman, H., Niessen, W. M. A., 2012. Recent advancement in the LC- and GC-based analysis of Malondialdehyde (MDA): a brief overview. *Chromatographia*, **75**: 433-440.
- Giuffrida, F., Golay, P.A., Destailats, F., Hug, B., Dionisi, F., 2005. Accurate determination of hexanal in beef boullions by headspace solid-phase microextraction gas-chromatography mass-spectrometry. *European Journal Lipid Science Technology*, **107**: 792-798.

- Grotto, D., Maria, L. S., Valentini, J., Paniz, C., Garcia, G. S. S. C., 2009. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Química Nova*, **32**: 169-174.
- Iglesias, J., Lois, S., Medina, I., 2007. Development of a solid-phase microextraction method for determination of volatile oxidation compounds in fish oil emulsions. *Journal of Chromatography A*, **1163**: 277-287.
- Javidipour, I., Qian, M. C., 2008. Volatile component change in whey protein concentrate during storage investigated by headspace solid-phase microextraction gas chromatography. *Dairy Science and Technology*, **88**: 95-104.
- Kayaalp, G. T., Çankaya, S., 2008. *İstatistik*. 5. baskı. Ç.Ü. Ziraat Fak., Yay. No: 258, Adana. 112.
- Lastard, M., Ljungkvist, G., Olin, A. C, Toren, K., 2001. Determination of malondialdehyde in breath condensate by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, **766**: 107-114.
- Li, N., Deng, C., Yin, X., Yao, N., Shen, X., Zhang, X., 2005. Gas chromatography-mass spectrometric analysis of hexanal and heptanal in human blood by headspace single-drop microextraction with droplet derivatization. *Analytical Biochemistry*, **342**: 138-326.
- Llatas, G.G., Lagarda, M.J., Romero, F., Abellan, P., Farre, R., 2005. A headspace solid-phase microextraction method of use in monitoring hexanal and pentane during: Application to liquid infant foods and powdered infant formulas. *Food Chemistry*, **101**: 1078-1086.
- Ma, C., Ji, J., Tan, C., Chen, D., Luo, F., Wang, Y., Chen, X., 2014. Headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography for the analysis of aldehydes in edible oils. *Talanta*, **120**: 94-99.
- Mauritti, L. R. B., Nogueira, G. C., Bragagnolo, N., 2009. Solid phase microextraction-gas chromatography for evaluation of secondary lipid oxidation product during long-term storage. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **20**: 1849-1855.
- Mildner-Szkudlarz, S., Jelén, H. H., Zawirsa-Wojtasiak, R., Wasowicz, E., 2003. Application of headspace-solid phase microextraction and multivariate analysis for oils differentiation. *Food Chemistry*, **83**: 515-522.

- Ocak, E., Javidipour, I. Tunçturk, Y., 2015. Volatile compounds of Van Herby cheeses produced with raw and pasteurized milks from different species. *Journal of Food Science and Technology*, **52**: 4315-4327.
- Panseri, S., Soncin, S., Chiesa, L.M., Biondi, P.A., 2011. A headspace solid-phase microextraction gas-chromatographic mass-spectrometric method (HS-SPME-GC/MS) to quantify hexanal in butter during storage as marker of lipid oxidation. *Food Chemistry*, **127**: 886-889.
- Pawliszyn, J., 2000. Theory of Solid Phase Microextraction. *Journal of Chromatographic Science*, **38**: 270-278.
- Pignoli, G., Bou, R., Rodriguez-Estrada, M. T., Decker, E. A., 2009. Suitability of saturated aldehydes as lipid oxidation markers in washed turkey meat. *Meat Science*, **83**: 412-416.
- Prosen, H., Kralj, L.Z., 1999. Solid-phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*, **18**: 272-282.
- Ross, C.F., Smith, D.M., 2006. Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **5**:18-25.
- Ruan, E. D., Aalhus, J., Juárez, M., 2014. A rapid, sensitive and solvent-less method for determination of malonaldehyde in meat by stir bar sorptive extraction coupled thermal desorption in situ derivatization. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, **28**: 2723-2728.
- Sanches-Silva, A., Rodriguez-Bernaldo de Quiros, A., Lopez-Hernandez, J., Paseiro-Losada, P., 2004. Determination of hexanal as indicator of the lipidic oxidation state in potato crisps using gas chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1046**: 75-81.
- Shin, H. S., 2009. Determination of malondialdehyde in human blood by headspace-solid phase micro-extraction gas chromatography-mass spectrometry after derivatization with 2,2,2-trifluoroethylhydrazine. *Journal of Chromatography B*, **877**: 3707-3711.
- Shin, H. S., Lim, H. H., 2011. Simple determination of formaldehyde in fermented foods by HS-SPME-GC/MS. *International Journal of Food Science and Technology*, **47**: 350-356.

- Shin, H. S., Jung, D. G., 2009. Sensitive analysis of malondialdehyde in human urine by derivatization with pentafluorophenylhydrazine then headspace GC-MS. *Chromatographia*, **70**: 899-903.
- Spietelun, A., Kloskowski, A., Chrzanowski, W., Namiesnik, J., 2013. Understanding solid-phase microextraction: key factors influencing the extraction process and trends in improving the technique. *Chemical Reviews*, **113**: 1667-1685.
- Skoog, F.J., Holler, F.J., Nieman, T.A., 1997. *Principles of Instrumental Analysis*. 5th edition. Saunders College Publishing, New York.
- Umano, K., Dennis, K.J., Shibamoto, T., 1988. Analysis of free malondialdehyde in photoirradiated corn oil and beef fat via a pyrazole derivative. *Lipids*, **23**: 811-814.
- Vas, G., Vékely, K., 2004. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, **39**: 233-254.
- Zang, Z., Yang, M.J., Pawliszyn, J., 1994. Solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, **66**: 844-852.

## ÖZGEÇMİŞ

Tahir YÜCEL 1988 yılında Adıyaman'ın Kahta ilçesine bağlı Koçtepe Köyünde doğdu. İlk öğretimini Kahta ilçesinde tamamladı. Ortaöğretimini 2007 yılında İstanbul'da tamamladıktan sonra aynı yıl içinde Çukurova Üniversitesi'nde Gıda Mühendisliği Bölümünü okumaya hak kazandı ve 2012 yılında lisans eğitimini tamamladı. 2014 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi'ne Öğretim Görevlisi Yetiştirme Programı kapsamında Araştırma Görevlisi olarak atandı. Tahir YÜCEL halen aynı üniversitede Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.