

Mısırozü Yağı ve Zeytinyağında Hekzanal Tayini

Nur ÇELİK¹, Tahir YÜCEL¹, İsa CAVIDOĞLU^{1*}

Öne Çıkanlar:

- 40°C'de her iki matris için en iyi SPME ekstraksiyon süresi 20 dk olarak belirlenmiştir.
- 50°C'de her iki matris için en iyi ekstraksiyon süresi 20 dk olarak belirlenmiştir.
- 60°C'de en iyi ekstraksiyon süresi mısırozü yağı için 40 dk, zeytinyağı için 30 dk olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler:

- Hekzanal
- Katı faz mikroekstraksiyon (SPME)
- Mısırozü yağı
- Zeytinyağı

ÖZET:

Bu çalışmada, mısırozü yağı ve zeytinyağında oksidasyon göstergesi olarak kullanılan hekzanalın Katı Faz Mikroekstraksiyon (SPME) yöntemiyle tespiti araştırılmıştır. Hekzanal ile internal standart (IS) olarak kullanılan 5-metil 2-hekzanon arasındaki doğrusal ilişkinin düzeyini belirlemek üzere, matris olarak kullanılan mısırozü yağı ve zeytinyağına farklı oranlarda hekzanal ve IS eklenerek SPME yöntemi uygulanmış ve daha sonra değişkenler arasındaki ilişki, regresyon denklemi ve korelasyon katsayılarının (R^2) belirlenmesi ile değerlendirilmiştir. Mısırozü yağı ve zeytinyağı için uygulanan koşullarda en uygun sıcaklık ve süre koşulunun belirlenmesi için R^2 değerlerine bakılmıştır. R^2 değerleri dikkate alındığında, 40°C ve 50°C sıcaklıklarda mısırozü yağı ve zeytinyağında en yüksek hekzanal ekstraksiyon etkinliğine 20 dk'da ulaşıldığı saptanmıştır. 60°C'deki ekstraksiyon sıcaklığında ise en yüksek SPME etkinliği mısırozü yağı ve zeytinyağı için sırasıyla 40 dk ve 30 dk'da saptanmıştır. Tüm sonuçlar topluca değerlendirildiğinde mısırozü yağı ve zeytinyağında hekzanal analizi için 40°C'de 20 dk ekstraksiyon süresinin en uygun koşul olduğu saptanmıştır. Çalışmada hekzanal analizinde IS olarak 5-metil 2-hekzanonun kullanılabilmesi tespit edilmiştir. Mısırozü yağı ve zeytinyağında gaz kromatografisi (GC)-SPME yöntemi ile hekzanalın belirleme limitinin 5 ppb'ye kadar düşürülebileceği saptanmıştır.

Hexanal Analysis in Corn Oil and Olive Oil

Highlights:

- The best SPME extraction time was determined as 20 min for both matrices at 40°C.
- The best extraction time was determined as 20 min for both matrices at 50°C.
- The best extraction time at 60°C was determined as 40 min for corn oil and 30 min for olive oil.

Keywords:

- Hexanal
- Solid Phase micro-extraction (SPME)
- Corn oil
- Olive oil

ABSTRACT:

In this study, the analysis of hexanal which is known as oils oxidation indicator by Solid Phase Micro-Extraction (SPME) have been investigated in corn and olive oils. In order to determine the level of linearity between hexanal and 5-methyl 2-hexanone which is used as internal standard (IS), various ratios of hexanal and IS were added to corn and olive oils, and by applying the SPME technique the relation between variables were evaluated by regression equation and correlation coefficient (R^2). In order to determine the optimum temperature and time conditions in corn and olive oils, R^2 values have been evaluated. According to the R^2 values, it was found that the highest hexanal extraction efficiency in corn and olive oils at 40°C and 50°C have been achieved in 20 min extraction. At 60°C, the highest SPME efficiency in corn oil and olive oil have been observed in 40 and 30 min, respectively. The overall evaluation of data showed that the most appropriate condition for hexanal extraction from corn and olive oils was 20 min extraction at 40 °C. In this study it was also found that 5-methyl 2-hexanone could be used as IS for hexanal analysis. Gas chromatography (GC)-SPME analysis of corn and olive oils showed that the hexanal detection limit could extend down to 5 ppb.

¹ Nur ÇELİK (Orcid ID: 0009-0004-7888-6777), Tahir YÜCEL (Orcid ID: 0000-0003-0688-9499), İsa CAVIDOĞLU (Orcid ID: 0000-0001-7896-5871), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 65080, VAN, TÜRKİYE

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: İsa CAVIDOĞLU, e-mail: isacavidoglu@yyu.edu.tr

Bu çalışma Nur ÇELİK'in Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Farklı kaynaklardan elde edilen yağlar, karbonhidrat ve proteinlerle birlikte beslenmemizde önemli bir yer tutmaktadır. Yağlar yüksek enerji kaynağı olmalarının yanında, elzem yağ asitleri ve önemli vitaminleri bünyelerinde taşımaları nedeniyle beslenmemizin vazgeçilmez öğeleri arasında yer almaktadırlar. İnsan sağlığı için gerekli olan doymamış yağ asitlerinin oksidasyona karşı duyarlı olmaları yağların kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Gıdalardaki oksidasyon reaksiyonları; ışık, nem, sıcaklık, serbest radikaller, metal iyonları ve enzimler gibi reaksiyonu başlatan unsurların varlığında gerçekleşen bir dizi tepkimelerin bütünüdür. Başlangıç, gelişme ve bitiş olmak üzere üç aşamadan oluşan bu zincir reaksiyonunun sonunda hidroperoksitler ve uçucu bileşenler ortaya çıkmaktadır. Oksidasyonun gelişme aşamasında bu zincir reaksiyonu hızlanır ve oksidasyonun birincil ürünleri olan hidroperoksitlerin oluşumu artırmaktadır. Oksidasyonun bitiş aşamasında ise serbest radikaller kendi aralarında reaksiyona girerek stabil radikaller meydana getirirler. Hidroperoksitler; hidrokarbon, aldehit, alkol ve ketonlar gibi ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşürler (Hamilton, 1995; Gunstone ve ark., 1995; Hamilton ve ark., 1997; Kayahan, 2002; Pignoli ve ark., 2009).

Doymamışlık düzeyleri, trigliserit yapıları, antioksidan ve prooksidanların varlığı yağların oksidasyonunu etkileyen başlıca etmenlerdir. Peroksit sayısı yağlarda oksidasyon düzeyinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir göstergedir. Ortaya çıkan peroksitler kararlı yapıda olup sonraki aşamalarda parçalanmıyorlar ise oksidasyonun göstergesi olarak kullanılabilirler. Yağların oksidasyonu sonucu oluşan peroksit değeri, konjuge -dien ve -trienler oksidasyonun birincil ürünlerini oluştururken, ikincil oksidasyon ürünlerini anisidin, malonaldehit (MAD) ve tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren reaktif maddeler (TBARS) oluşturmaktadır (Brunton ve ark., 2000; Ma ve ark., 2014). Yağlarda oksidasyon düzeyini ve tadın kabul edilebilirliğinin bir belirteci olarak hekzanal içeriği de kullanılmaktadır (Pignoli ve ark., 2009). Hekzanal, esas olarak linoleik asidin parçalanması sonucu oluşan 6 karbonlu doymuş bir aldehittir (Mariutti ve ark., 2009; Camiletti ve ark., 2023). Hekzanalın yağların depolanması sonucu oluşan başlıca bir bileşen olduğu belirtilirken; özellikle linoleik asitçe zengin olan yağlarda meydana gelen uçucu bir oksidasyon ürünü olarak değerlendirilmektedir (Chitsamphandhvej ve ark., 2008; Garcia-Martinez ve ark., 2009).

Uçucu bileşenlerinin tayininde yaygın bir şekilde kullanılan SPME; hassas, ucuz ve hızlı sonuç veren bir metottur. SPME; örneğin hazırlanması, ekstrakte edilmesi ve konsantre edilmesi gibi işlemleri tek bir basamağa indirgemektedir (Zhang ve ark., 1994; Vas & Vekely, 2004; Pawliszyn, 2012; Jalili ve ark., 2020). SPME bir fiber vasıtasıyla sıvı örnekteki uçucuların ekstraksiyonunu ya tepe boşluğundan ya da doğrudan sıvıya daldırarak sağlar (Roberts ve ark., 2000). Yöntemin prensibi, kontrollü sıcaklık koşullarında analiz edilecek örnek içerisindeki uçucu bileşenlerin kapaklı bir cam vialin tepesinde bulunan boşluğa alınması ve sonrasında da tepe boşluğunda asılı olan fibere absorbe olmasına dayanmaktadır. Fibere geçen uçucu bileşenler doğrudan GC cihazına enjekte edilerek nitel ve nicel analizleri yapılır. (Vas & Vekely, 2004; Arato ve ark., 2009; Pawliszyn, 2012).

SPME metodu, başta hekzanal olmak üzere aldehitlerin analizinde araştırmacılar tarafından sıkça kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2004; Javidipour ve Qian, 2008; Ma ve ark., 2014). Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılan diğer yöntemlerde genelde örnekteki uçucu bileşenlerin tamamen izolasyonu sağlanırken, SPME metodunda temel olarak uçucular; örnek, tepe boşluğu ve SPME fiberi arasındaki dağılıma bağlı olarak ayrışmaktadır. Ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, örnek hacmi ve örnek derişimi dağılıma etki eden başlıca etmenlerdir (Spietelun ve ark., 2013). Ekstraksiyon süresi, örnek matriksi ile SPME fiberi arasında denge kurulana kadar geçen süre olup kritik bir öneme sahiptir. Tepe boşluğu ekstraksiyonu, daldırarak yapılan ekstraksiyona kıyasla daha kısa sürmektedir.

Ekstraksiyon süresi; ekstraksiyon yöntemine, ekstrakte edilecek bileşenin molekül büyüklüğüne, örnek derişimine ve fiber çeşidine bağlı olarak değişmektedir (Prosen ve Zupancic-Kralj, 1999; Spietelun ve ark., 2013). Ekstraksiyon sıcaklığı, doğru ve hassas sonuç alabilmek için önemli bir parametredir. Daha doğru sonuç alınabilmesi için ekstraksiyon boyunca sabit sıcaklık uygulanması gerekmektedir. Sıcaklık uygulaması; bileşenin kısa sürede matriksten uzaklaştırılmasına, hassasiyetinin artmasına ve ekstraksiyon süresinin kısalmasına yardımcı olmaktadır (Anonim, 2001).

Farklı çeşit ve bölgelerden temin edilen natürel zeytinyağları ile ilgili yapılan bir çalışmada SPME-GC/Kütle Spektroskopisi (MS) yöntemi kullanılarak örneklerdeki mono ve seskiterpenik hidrokarbonlar tespit edilmiştir (Vichi ve ark., 2006). Contini ve Esti (2006) tarafından yapılan başka bir çalışmada, zeytinyağında SPME-GC metodu ile örneklerdeki uçucu bileşenler tespit edilmiştir. Andıç ve ark. (2011), motal peyniri örneklerinde GC-SPME yöntemi ile ester, asit, keton, alkol, aldehit, stiren, p-kresol ve m-kresol olmak üzere pek çok uçucu bileşenin varlığını tespit etmişlerdir. Baştürk (2011), farklı koşullarda muhafaza edilen ayçiçeği, fındık, soya ve zeytinyağı örneklerinin hekzanal miktarını SPME-GC metodu ile belirlemiştir. Ma ve ark. (2014), SPME-GC yöntemi ile yerfıstığı, soya ve zeytinyağı örneklerindeki hekzanal miktarını tespit etmişlerdir. Maher ve ark. (2015), konvansiyonel sprey kurutucu kullanarak hazırlanan emülsiyon ve nano-emülsiyondaki lipit oksidasyon derecesinin göstergesi olan pentanal ve hekzanal miktarını tespit etmek için SPME-GC yöntemini uygulamışlardır. Kishimoto (2021), ışık altında depolanan zeytinyağının fotooksidasyonunu değerlendirmek için oksidasyonun bir göstergesi olarak zeytinyağındaki hekzanal derişimini elektronik burun ile saptamıştır.

Bu çalışmada hekzanalın 3 fazlı divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) SPME fiberi ile ekstraksiyonu üzerinde ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin etkileri incelenmiştir. Bunun için matriks olarak belirlenen mısırozü yağı ve zeytinyağına farklı oranlarda hekzanal (0.005 ppm, 0.05 ppm, 0.5 ppm, 2.5 ppm ve 5 ppm) ve IS eklenerek (1 ppm) belirtilen parametrelerin etkinliği tespit edilmiştir. Çalışmada hekzanal ve IS arasında uygulanan ekstraksiyon süre ve sıcaklık koşullarında, doğrusallığı gösteren denklem ve iki değişken arasındaki ilişkinin düzeyini gösteren korelasyon katsayısı (R^2) saptanarak her sıcaklık ve süre parametresi için ilgili denklem ve korelasyon katsayıları değerlendirilmiş ve en uygun ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada, Van ilinde bulunan marketlerden temin edilen taze mısırozü yağı ve zeytinyağı kullanılmıştır. Araştırmada, kullanılan kimyasal maddelerin bilimsel hassasiyeti sağlayacak saflıkta ve nitelikte olması sağlanmıştır. IS olarak 5-metil 2-hekzanon (Merck, Almanya) kullanılmıştır. 10.000 ppm'lik stok çözeltiler metanolde hazırlanmış ve daha sonra bu stok çözeltilerden istenen derişimlerde hekzanal (Merck, Almanya) ve IS suda seyreltilerek hazırlanmıştır.

Metot

Bu çalışmada, mısırozü yağı ve zeytinyağına metanolde hazırlanan stok hekzanal çözeltilerinden daha önce belirlenen derişimlerde suda hazırlanan çözeltilerden (0.005 ppm, 0.05 ppm, 0.5 ppm, 2.5 ppm ve 5 ppm) hekzanal ve IS çözeltisi (1 ppm) hazırlanmıştır. Çalışmada 3 fazlı SPME fiberi (Supelco, USA) kullanılmıştır. Her bir derişimde 3 farklı sıcaklık (40, 50 ve 60°C) ve sürede (20, 30 ve 40 dk) ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Çalışmada hekzanal ve IS arasındaki ilişkinin doğrusallığını gösteren regresyon denklemi ile iki değişken arasındaki ilişkinin düzeyini gösteren R^2 değerleri belirlenmiştir. Hekzanal alanının IS alanına oranı ve hekzanal derişiminin IS derişimine oranı

bir grafikte gösterilerek her bir koşul için ilgili regresyon denklemleri ve korelasyon katsayıları saptanmıştır.

Hekzanal analizi

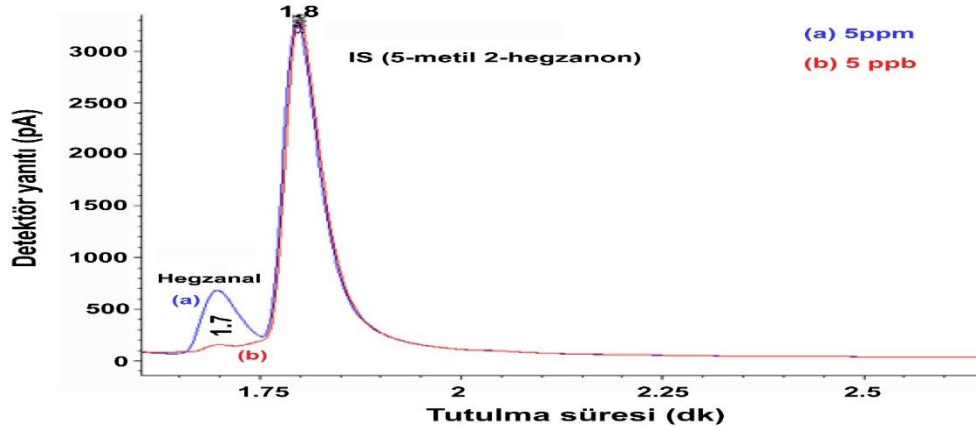
Hekzanal analizi için SPME fiberi, ekstraksiyondan önce 1 saat boyunca 250 °C'de GC (Agilent 6890N, USA) cihazının enjeksiyon bloğunda koşullandırılmıştır. 2 g yağ örneği 30 ml'lik bir cam vialde tartılmış ve örnekler belirlenen oranda hekzanal ve IS olarak bütün örnekler için sabit miktarda (1 ppm) 5-metil-2-hekzanon eklenmiştir. Vial dijital olarak sıcaklığı ayarlanabilen bir manyetik karıştırıcıda ortam sıcaklığının istenilen düzeye ulaşması için 5 dk boyunca bekletilmiştir. Sonrasında SPME fiberi vialin tepe boşluğuna yerleştirilerek daha önce belirlenen sıcaklık ve süre koşullarında hekzanalın örnekten tepe boşluğuna ve daha sonra fibere geçmesi sağlanmıştır. Ekstraksiyon sonunda SPME fiberi, absorbe olan uçucu bileşenlerin desorbe olması için Alev İyonizasyon Dedektörü (FID) ve HP-INNOWAX (30mx0.25mmx0.25µm film kalınlığı, J&W Scientific, USA) kolonu ile donatılmış GC cihazının enjeksiyon bloğuna yerleştirilmiştir. GC'de kullanılan azot, hidrojen ve kuru havanın akış hızları sırasıyla 1.5, 35 ve 350 ml/dk olarak ayarlanırken, enjektör ve dedektörün sıcaklıkları sırasıyla 250°C ve 260°C'ye ayarlanmıştır. Kolonun sıcaklığı ilk aşamada 40°C'de 5 dk ve daha sonra sırasıyla 75°C (8°C/dk) ve 220°C'ye (40°C/dk) kademeli olarak yükseltilerek, son aşamada 220°C'de 20 dk tutulmuştur. GC ile elde edilen kromatogramlardaki alanlar kullanılarak veriler değerlendirilmiştir. Bunun için hekzanalın derişiminin IS'nin derişimine oranı ile hekzanal alanının IS'nin alanına oranı bir grafiğe aktararak grafiğin regresyon denklemi ve R² değeri her bir sıcaklık ve süre için hesaplanmıştır. Böylece farklı ekstraksiyon sıcaklığı ve süreleri için elde edilen denklemlerle bilinmeyen bir yağ örneğindeki hekzanal miktarını saptamaya yarayan denklemler türetilmiştir (Javidipour ve Qian, 2008).

Veri Analizi

Verilerin analizinde; Microsoft Excel 2010 paket programı kullanılmıştır. Bu programla her bir sıcaklık ve süre koşulu için ilgili regresyon denklemleri ve R² değerleri hesaplanmıştır. R², bağımlı ve bağımsız değişken arasındaki ilişkinin derecesini ve yönünü gösteren katsayıdır. Bu katsayı, (-1) ile (+1) arasında bir değer almaktadır. Eğer; R²=1 ise iki değişken arasında pozitif tam bir ilişki vardır. Korelasyon katsayısı (R²)=-1 ise iki değişken arasında negatif tam bir ilişki vardır (Kayaalp ve Çankaya, 2008). Verilerin değerlendirilmesinde her bir sıcaklık ve süre parametresi için $y = mx + n$ gibi doğrusal regresyon denklemi türetilmiştir. Burada x bağımsız değişken olup hekzanal derişiminin IS derişimine oranı olarak ifade edilirken, y bağımlı değişken olup hekzanalın pik alanının IS pik alanına bölünmesi ile hesaplanmıştır. Böylece uygulanan sıcaklık ve sürelerde mısırozü yağı ve zeytinyağında hekzanal miktarını belirlemeye yarayan regresyon denklemleri yukarıda belirtilen parametrelerden (x ve y) yararlanılarak türetilmiştir (Javidipour ve Qian, 2008).

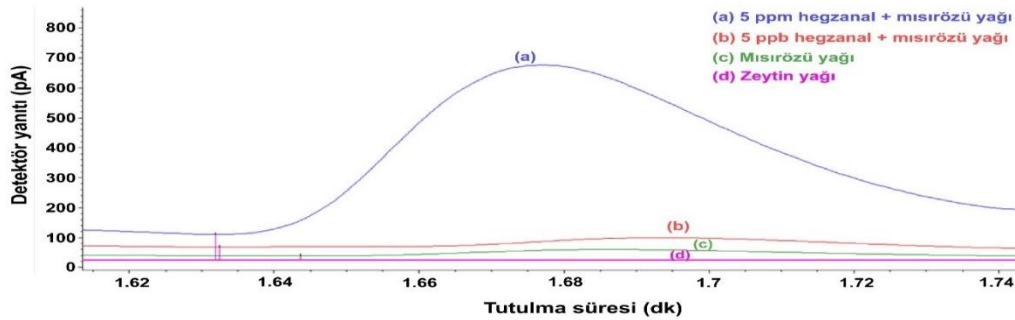
BULGULAR VE TARTIŞMA

Hekzanal ve IS Derişim/Alan ilişkisi üzerinde sıcaklık ve sürenin etkisini belirlemeden önce kromatogramdaki hekzanal ve IS'ın geliş sürelerini belirlemek üzere iki vialde iki farklı derişimde hekzanal (5 ppb ve 5 ppm) ve her iki vialde aynı derişimde IS (1 ppm) konularak örneklerin 60°C'de 40 dk ekstraksiyon koşullarında GC-SPME analizi gerçekleştirilmiştir. Her iki örneğe ait kromatogramlar, karşılaştırmayı kolaylaştırmak üzere birlikte Şekil 1'de verilmektedir. Hekzanal ve IS'nin geliş sürelerinin sırasıyla 1.7 ve 1.8 dk olduğu görülmektedir. Her iki vialde aynı derişimde IS eklendiğinde IS'nın iki farklı örnekteki pikleri aynı alan ve yükseklikte olduğu görülürken, 5 ppb ve 5 ppm derişimlerdeki hekzanalın oldukça farklı pik alanlarına sahip oldukları açıkça görülmektedir.



Şekil 1. Hekzanal (5 ppb ve 5 ppm) ve IS (1 ppm) içeren örneğin ekstraksiyonu (60°C'de 40 dk) sonucu elde edilen kromatogram

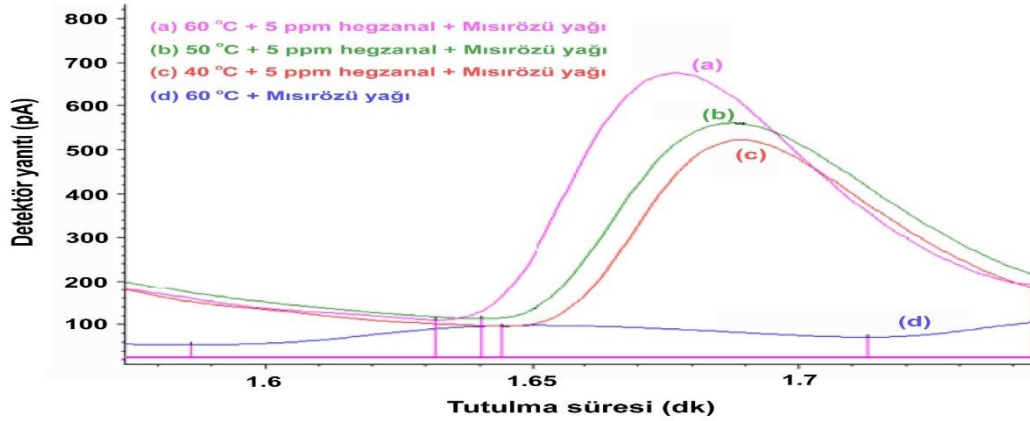
Bu aşamadan sonra matriks olarak kullanılan mısırözü yağı ve zeytinyağında doğal olarak hekzanal ve IS'in var olup olmadığını belirlemek üzere söz konusu yağlara hiç hekzanal eklemeyen ve ayrıca mısırözü yağına 5 ppb ve 5 ppm hekzanal eklenerek, 4 farklı örneğe 60°C'de 40 dk süre ile GC-SPME analizi uygulanarak elde edilen kromatogramlar birlikte Şekil 2'de verilmektedir. Elde edilen kromatogramlar incelendiğinde dışarıdan hiç hekzanal ilave edilmemiş mısırözü yağı ve zeytinyağında hekzanalın tutulma süresinin olduğu noktada herhangi bir pike rastlanmamıştır (Şekil 2-c, d). Bu durum, çalışmada kullanılan mısırözü yağı ve zeytinyağının doğal olarak hekzanal içermediklerini göstermektedir. Hekzanal içermeyen mısırözü yağı ve zeytinyağı örneklerinde hekzanal piki görülmezken, 5 ppm düzeyinde hekzanal içeren örneğin 5 ppb derişiminde hekzanal içeren örnekten çok daha büyük bir alanı kaplayan pik ortaya koyduğu görülmektedir. Şekil 2'de görüldüğü gibi bu çalışmada uygulanan en yüksek sıcaklıkta (60°C) mısırözü yağı ve zeytinyağında hekzanal oluşmadığı tespit edilmiştir



Şekil 2. Mısırözü yağı, zeytinyağı, 5 ppb ve 5 ppm hekzanal içeren mısırözü yağı örneklerinin 60°C ve 40 dk'daki GC-SPME kromatogramları

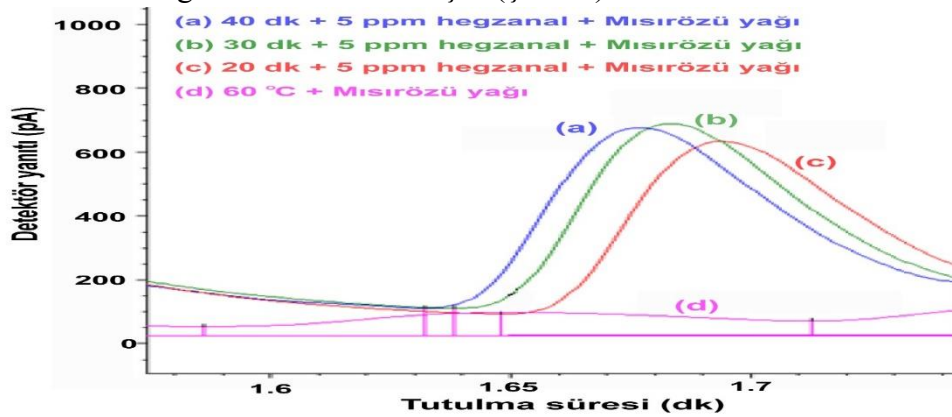
Çalışmada SPME koşullarının (sıcaklık ve süre) hekzanal ile IS'nin Alan/Derişim oranı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Farklı SPME koşullarının bu oran üzerindeki etkisine değinmeden önce ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin GC-SPME kromatogramları üzerindeki etkisi irdelenmiştir. SPME uygulamalarında uygun ekstraksiyon sıcaklığının seçimi önemli bir faktördür. Düşük sıcaklıklarda hekzanalın buharlaşarak matriksten ayrılıp, tepe boşluğundan SPME fibresine geçmesi yeterli düzeyde sağlanamazken, yüksek sıcaklıklarda doğal olarak örnekte bulunmayan hekzanalın ekstraksiyon sıcaklığının etkisi ile oluşabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Her iki durumda da örneğin gerçek hekzanal içeriği hakkında yanıltıcı bilgi edinilmektedir. Hekzanal ve IS arasındaki derişim ile alan arasındaki ilişkinin saptanmasında elde edilen hekzanal piki sadece dışarıdan eklenen hekzanal içeriğini temsil etmelidir. Sıcaklığın etkisini belirlemek üzere 5 ppm düzeyinde hekzanal

içeren örneklerle sırasıyla 40, 50 ve 60°C SPME uygulandığında Şekil 3'teki kromatogram elde edilmiştir. Sıcaklığın artmasıyla SPME fibresi tarafından daha yüksek düzeyde hekzanalın absorplandığı tespit edilirken, daha önce belirtildiği gibi 60°C'de katkısız mısırözü yağı ve zeytinyağında hekzanal oluşmadığı tespit edilmiştir. Yücel ve Cavidoğlu (2023), ayçiçeği yağında SPME-GC yöntemiyle hekzanal tayinini gerçekleştirdiği çalışmada 40 ve 50 °C'deki sıcaklıklarda hekzanal piklerinin keskin olmadığını belirlerken, 60 °C'de daha keskin ve belirgin hekzanal pikleri elde edildiğini tespit etmişlerdir. GC'den elde edilen pikin nitel ve nicel analizlerde kullanılabilmesi için mümkün olduğunca keskin ve belirgin olması gerekmektedir (Yücel ve Cavidoğlu, 2023). Yapılan bu çalışmada da 60°C'de daha keskin ve belirgin hekzanal pikleri elde edilmiştir.



Şekil 3. Mısırözü yağı ve 5 ppm hekzanal içeren mısırözü yağı örneklerinin 40, 50 ve 60°C'deki GC-SPME kromatogramları

Sürenin SPME ekstraksiyonu üzerindeki etkisini saptamak üzere derişim (5 ppm) ve sıcaklık (60°C) sabit tutularak 20, 30 ve 40 dk'lık SPME ekstraksiyonundan sonra elde edilen kromatogramlar karşılaştırılmıştır. Kromatogramda görüldüğü gibi 5 ppm düzeyindeki derişimlerde sürenin hekzanal ekstraksiyonu üzerinde belirgin bir etkisi olmamıştır (Şekil 4).



Şekil 4. 5 ppm hekzanal içeren mısırözü yağlarının 20, 30 ve 40 dk'daki GC-SPME kromatogramları

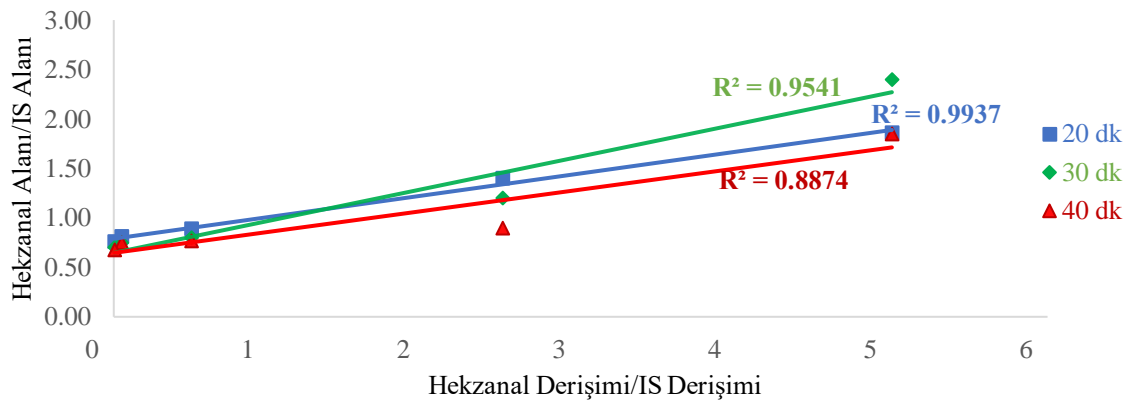
Sıcaklık ve sürenin GC-SPME kromatogramı üzerindeki etkisini ortaya koyduktan sonra 0.005, 0.05, 0.5, 2.5 ve 5 ppm hekzanal ve 1 ppm düzeyinde IS çözeltisi içeren mısırözü yağı ve zeytinyağına sırasıyla 40, 50 ve 60°C'de 20, 30 ve 40 dk süre ile uygulanan SPME koşullarında elde edilen kromatogramlardaki Hekzanal Derişimi/IS Derişimi ve Hekzanal Alan/IS Alan ilişkileri değerlendirilerek bunlara karşılık gelen regresyon denklemleri ve korelasyon katsayıları hesaplanmıştır (Çizelge 1).

Ekstraksiyon sıcaklığı 40°C ve ekstraksiyon süresi olarak sırasıyla 20, 30 ve 40 dk uygulanan mısırözü yağı örneklerine ait elde edilen korelasyon analizi Çizelge 1'de ve Şekil 5'te verilmiştir.

Çizelge 1. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstraksiyon uygulanması sonucu mısırozü ve zeytinyağı örneklerine ait regresyon denklemleri ve korelasyon katsayıları

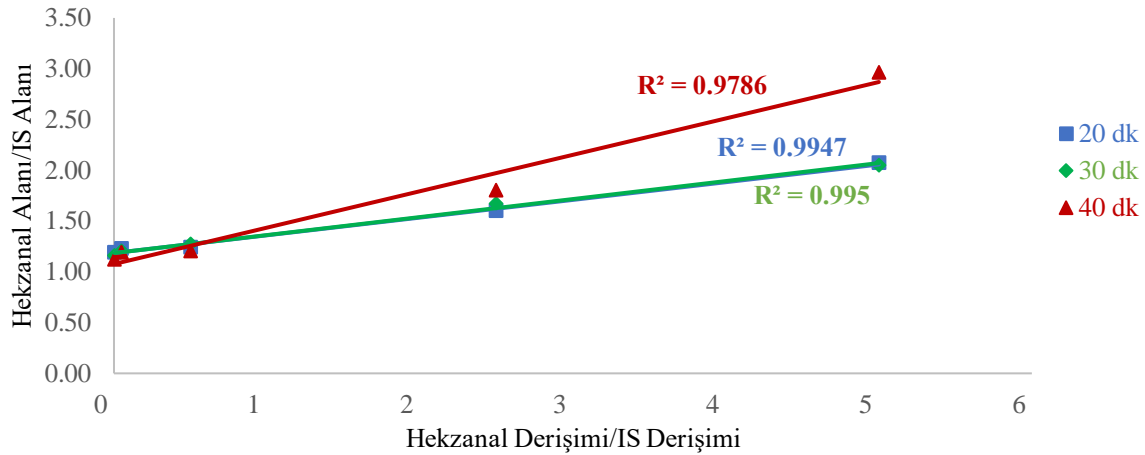
Mısırozü Yağı			Zeytinyağı		
Sıcaklık(°C)	Süre (dk)	Regresyon Denklemi (R ²)	Sıcaklık(°C)	Süre (dk)	Regresyon Denklemi (R ²)
40	20	y=0.2199x+0.7897 (R ² =0.9937)	40	20	y=0.1743x+1.1852 (R ² =0.9947)
	30	y=0.3248x+0.6468 (R ² =0.9541)		30	y=0.1773x+1.1843 (R ² =0.9950)
	40	y=0.2133x+0.6464 (R ² =0.8874)		40	y=0.3585x+1.0764 (R ² =0.9786)
50	20	y=0.1843x+0.7231 (R ² =0.9840)	50	20	y=0.0463x+1.1834 (R ² =0.9177)
	30	y=0.1887x+0.6820 (R ² =0.8386)		30	y=0.0561x+1.2376 (R ² =0.8591)
	40	y=0.1573x+0.6445 (R ² =0.9361)		40	y=0.0421x+1.1641 (R ² =0.6367)
60	20	y=0.1884x+0.6725 (R ² =0.8480)	60	20	y=0.0571x+1.2241 (R ² =0.9558)
	30	y=0.2048x+0.5601 (R ² =0.9226)		30	y=0.1489x+1.2021 (R ² =0.9786)
	40	y=0.1984x+0.6103 (R ² =0.9550)		40	y=0.1914x+1.2217 (R ² =0.9781)

40°C sıcaklıkta 20, 30 ve 40 dk süreyle ekstraksiyon uygulanan mısırozü yağı örneklerinden elde edilen grafik (Şekil 5) ve Çizelge 1'deki veriler incelendiğinde; regresyon denklemlerinin sırasıyla $y = 0.2199x + 0.7897$ ($R^2 = 0.9937$), $y = 0.3248x + 0.6468$ ($R^2 = 0.9541$) ve $y = 0.2133x + 0.6464$ ($R^2 = 0.8874$) olduğu saptanmıştır. Uçucu bileşenlerin belirlenmesinde, analizi yapılan bileşenin IS ile ilişkisi önemlidir (Javidipour ve Qian, 2008). Burada hekzanal ile IS arasındaki ilişkinin yakınlığını ortaya koyan R^2 gösterge olarak değerlendirilmiştir. R^2 değerleri göz önüne alındığında 40°C sıcaklıkta en etkili ekstraksiyon süresi 20 dk ($R^2=0.994$) olarak tespit edilmiştir. Sürenin artmasına bağlı olarak R^2 değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir.

**Şekil 5.** Mısırozü yağına 40°C'de farklı sürelerde ekstraksiyon uygulanması sonucu elde edilen regresyon grafiği

40°C sıcaklıkta ve farklı sürelerde ekstraksiyon işlemine tabi tutulan zeytinyağı örneklerinden GC'den elde edilen hekzanal ve IS alan oranları kullanılarak elde edilen korelasyon analizi Çizelge 1'de ve Şekil 6'da verilmiştir. Veriler incelendiğinde; 20 dk'lık ekstraksiyon sonucunda elde edilen regresyon denklemi $y=0.1743x+1.1852$ ($R^2=0.9947$) iken, 30 dk ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denklemi $y=0.1773x+1.1843$ ($R^2=0.9950$) olarak tespit edilmiştir. Son olarak 40 dk ekstraksiyon uygulandığında elde edilen regresyon denkleminin ise $y=0.3585x+1.0764$ ($R^2=0.9786$) olduğu görülmektedir.

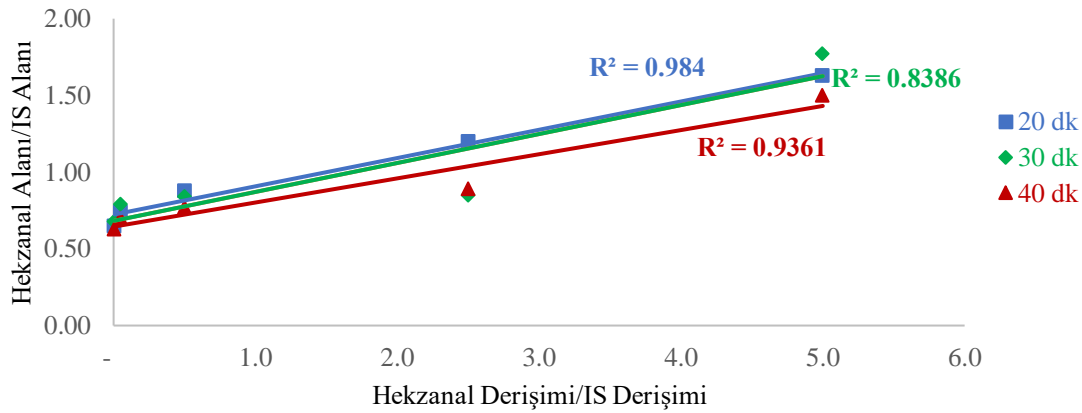
40°C sıcaklıkta 20 ve 30 dk ekstraksiyon sürelerinin R^2 değerlerinin birbirlerine oldukça yakın oldukları görülmektedir. Bu durumda zeytinyağında 40°C'de optimum ekstraksiyon süresi 30 dk olarak belirlenmesine rağmen çok sayıda örneğin söz konusu olduğu çalışmalarda zaman tasarrufu açısından 20 dk süreyle ekstraksiyon uygulanmasının hızlı sonuç verebileceği düşünülmektedir. Steenson ve ark. (2002), mısırozü yağındaki uçucu bileşenleri tespit etmek için geliştirmiş oldukları SPME-GC yönteminde ekstraksiyon sıcaklık ve süresini 35°C ve 20 dk olarak belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada da benzer bir şekilde 40°C ve 20 dk'nın üzerindeki sıcaklık ve sürelerde R^2 değerlerinde genellikle bir düşüş olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 1).



Şekil 6. Zeytinyağına 40°C'de farklı sürelerde ekstraksiyon uygulanması sonucu elde edilen regresyon grafiği

Javidipour ve ark. (2017) fındık, zeytin, soya ve ayçiçeği yağlarına mikrodalga uygulanması süresince oksidatif değişimleri inceledikleri çalışmalarında hekzanal analizi için uygulamış oldukları sıcaklık ve süre parametrelerini sırasıyla 40 °C ve 30 dk olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada, 9 dk'lık mikrodalga uygulamasından sonra örneklerin hekzanal içerikleri çarpıcı bir biçimde artarken peroksit içeriklerinde önemli oranda bir azalış görülmüştür. Bu durumu oksidasyonun birincil ürünlerinin göstergesi olan peroksitlerin, oksidasyonun ikincil ürünlerinin göstergesi olan hekzanala dönüşmesine bağlamışlardır.

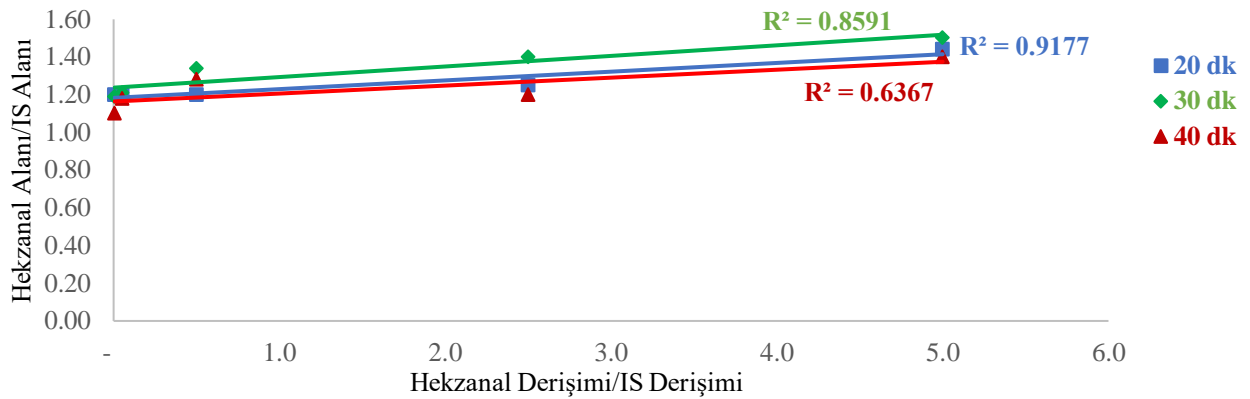
Ekstraksiyon sıcaklığı 50°C ve ekstraksiyon süresi sırasıyla 20, 30 ve 40 dk olarak uygulanan mısırozü yağı örneklerine ait korelasyon analizi Çizelge 1'de ve Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Mısırozü yağına 50°C'de farklı sürelerde ekstraksiyon uygulanması sonucu elde edilen regresyon grafiği

50°C sıcaklıkta 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon uygulanan mısırozü yağı örneklerinden elde edilen veriler (Çizelge 1 ve Şekil 7) değerlendirildiğinde; regresyon denklemlerinin sırasıyla $y=0.1843x+0.7231$ ($R^2=0.984$), $y=0.1887x+0.6820$ ($R^2=0.8386$) ve $y=0.1573x+0.6445$ ($R^2=0.9361$) olduğu görülmektedir. R^2 değerleri dikkate alındığında 50°C sıcaklıkta en etkili ekstraksiyon süresinin 20 dk olduğu tespit edilmiştir.

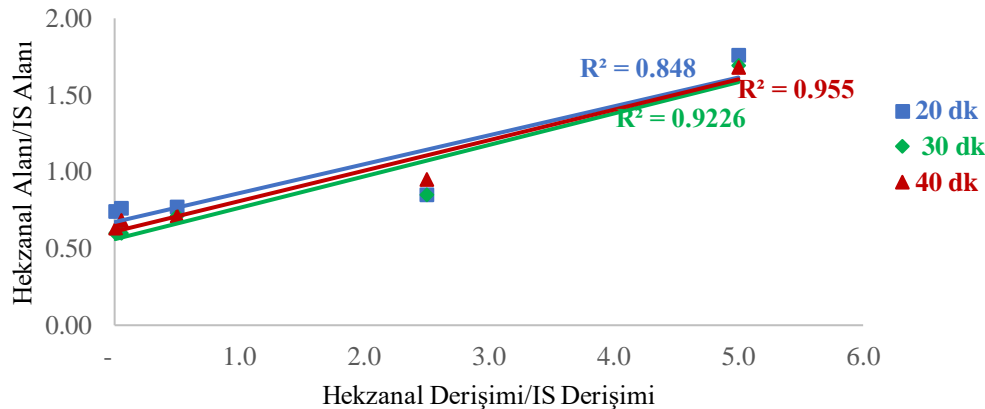
Ekstraksiyon sıcaklığı 50°C ve ekstraksiyon süresi sırasıyla 20, 30 ve 40 dk olarak uygulanan zeytinyağı örneklerine ait hekzanal ve IS arasındaki ilişkiyi veren regresyon denklemleri ve bu ilişkinin düzeyini gösteren korelasyon katsayıları Çizelge 1'de ve Şekil 8'de verilmiştir.



Şekil 8. Zeytinyağına 50°C'de farklı sürelerde ekstraksiyon uygulanması sonucu elde edilen regresyon grafiği

50°C'de 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon uygulanan zeytinyağı örneklerinden elde edilen veriler (Çizelge 1 ve Şekil 8) incelendiğinde; regresyon denkleminin 20 dk için $y=0.0463x+1.1834$ ($R^2=0.9177$), 30 dk için $y=0.0561x+1.2376$ ($R^2=0.8591$) ve 40 dk için $y=0.0421x+1.1641$ ($R^2=0.6367$) olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon süresinin artmasına bağlı olarak korelasyon katsayılarında düşüş olduğu görülmektedir. R^2 değerleri dikkate alındığında 50°C sıcaklıkta en etkili ekstraksiyon süresi 20 dk olarak tespit edilmiştir.

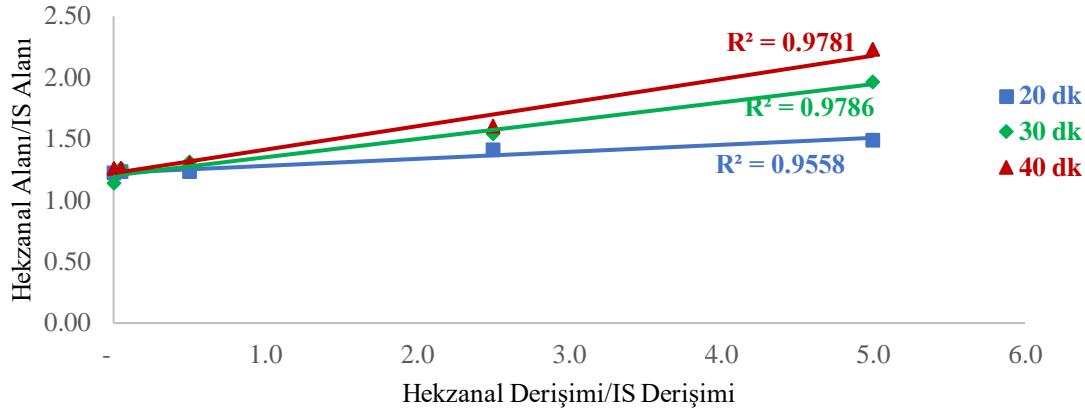
60°C'de ve 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyona tabi tutulan mısırözü yağı örneklerine ait korelasyon analizi Çizelge 1'de ve Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 9. Mısırözü yağına 50°C'de farklı sürelerde ekstraksiyon uygulanması sonucu elde edilen regresyon grafiği

60°C sıcaklıkta 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon uygulanan mısırözü yağı örneklerinden elde edilen veriler (Çizelge 1 ve Şekil 9) incelendiğinde; regresyon denkleminin 20 dk için $y=0.1884x+0.6725$ ($R^2=0.848$), 30 dk için $y=0.2048x+0.5601$ ($R^2=0.9226$) ve 40 dk için $y=0.1984x+0.6103$ ($R^2=0.955$) olduğu saptanmıştır. Sürenin artmasıyla korelasyon katsayısı değerlerinde artış görülmektedir. R^2 dikkate alındığında mısırözü yağı için 60°C sıcaklıkta en etkili ekstraksiyon süresi 40 dk olarak tespit edilmiştir. Graciano ve ark. (2010), mısırözü yağındaki hekzanal miktarını tespit etmek için ekstraksiyon koşullarını 60°C ve 40 dk olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada da benzer bir şekilde ekstraksiyon sıcaklığı 60°C olduğunda sürenin artmasıyla hekzanal ve IS arasında daha yüksek bir korelasyon gözlemlenmiştir (Çizelge 1). Dolayısıyla 60°C'de 40 dk'lık süre uygulandığında doğrusal ilişkinin düzeyi de artmıştır.

Ekstraksiyon sıcaklığı 60°C ve ekstraksiyon süresi sırasıyla 20, 30 ve 40 dk olarak uygulanan zeytinyağı örneklerine ait hekzanal ve IS arasındaki ilişkiyi veren regresyon denklemleri ve bu ilişkinin düzeyini belirleyen korelasyon katsayıları Çizelge 1'de ve Şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. Zeytinyağına 60°C'de farklı sürelerde ekstraksiyon uygulanması sonucu elde edilen regresyon grafiği

60°C sıcaklıkta sırasıyla 20, 30 ve 40 dk ekstraksiyon uygulanan zeytinyağı örneklerinden elde edilen veriler (Çizelge 1 ve Şekil 10) değerlendirildiğinde; regresyon denklemlerinin sırasıyla $y=0.0571x+1.2241$ ($R^2=0.9558$), $y=0.1489x+1.2021$ ($R^2=0.9786$) ve $y=0.1914x+1.2217$ ($R^2=0.9781$) olduğu tespit edilmiştir. 60°C sıcaklıkta 30 ve 40 dk ekstraksiyon sürelerinin R^2 değerlerinin birbirlerine oldukça yakın oldukları görülmektedir. Bu durumda çok sayıda örneğin söz konusu olduğu çalışmalarda zaman tasarrufu açısından 30 dk süreyle ekstraksiyon uygulanmasının yeterli olabileceği düşünülmektedir. Yücel ve Cavidoğlu (2023), ayçiçeği yağında SPME-GC yöntemiyle farklı süre ve sıcaklıkların hekzanal ekstraksiyonu üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada en etkili ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin 60°C'de 20 dk olduğunu tespit etmişlerdir. Kishimoto (2021), zeytinyağından hekzanal ekstraksiyon sıcaklık ve süresini 60 °C'de 15 dk olarak belirlemiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada oksidasyon düzeyinin göstergesi olarak değerlendirilen hekzanalın mısırözü yağı ve zeytinyağında SPME yöntemi ile nitel ve nicel analizi için uygun sıcaklık ve sürenin seçimi araştırılmıştır. Mısırözü yağı ve zeytinyağına farklı oranlarda eklenen hekzanal ve sabit düzeyde eklenen IS arasında derişim ve alan ilişkisi değerlendirilerek en yüksek R^2 değerini gösteren koşullar tespit edilmiştir. Elde edilen korelasyon katsayıları göz önüne alındığında, mısırözü ve zeytinyağlarında 40°C'de ekstraksiyon için en etkili ekstraksiyon süresinin 20 dk olduğu tespit edilmiştir. 50°C'de yapılan ekstraksiyon koşullarına bakıldığında en etkili ekstraksiyon süresinin hem mısırözü yağı hem de zeytinyağı için 20 dk olduğu saptanmıştır. Ayrıca 50°C'de zeytinyağında sürenin artmasıyla beraber R^2 değerlerinde düşüş gerçekleşmiştir. 60°C'deki ekstraksiyon koşulları incelendiğinde en etkili ekstraksiyon süresinin mısırözü yağı ve zeytinyağı için sırasıyla 40 ve 30 dk olduğu saptanmıştır. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde mısırözü yağı ve zeytinyağında hekzanal analizi için 40°C'de 20 dk ekstraksiyon süresinin en uygun koşul olduğu saptanmıştır. 50°C ve 60°C'deki ekstraksiyonlarda R^2 değerleri yüksek olmasına rağmen yağ örneklerinin daha kısa süre ve daha düşük sıcaklığa maruz kalması ilkesi dikkate alındığından bu sıcaklıkların uygulanmasının tercih edilmemesi gerektiği düşünülmektedir. Hekzanalın IS ile arasındaki ilişkinin göstergesi olan R^2 değerlerine bakıldığında bu iki bileşen arasında yakın düzeyde bir ilişkinin olduğu tespit edilirken ($R^2>0.9$), IS olarak kullanılan 5-metil 2-hekzanon'un hekzanalın nicel analizi için uygun olduğu belirlenmiştir. Hekzanal'ın SPME yöntemiyle tespit edilebilir olması, yağlarda oksidatif stabilite çalışmalarında SPME yöntemi ile hekzanal tayininin iyi bir alternatif olduğu ve okside olmuş yağlarda oksidasyon düzeyinin belirlenmesinde SPME'nin hassas ve doğru sonuç verebilecek niteliğe sahip bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından desteklenmiştir (Proje No: FYL-2016-5384)

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Andiç, S., Tunçturk, Y., & Javidipour, I. (2011). Effects of frozen storage and vacuum packaging on free fatty acid and volatile composition of Turkish Motal cheese. *Food Science and Technology International*, 17, 375-394.
- Anonim, (2001). Solid phase microextraction troubleshooting guide. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/US/en/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/306/877/t101928.pdf> (Erişim tarihi: Mart 17, 2023).
- Arato, S., Ito, H., Miyashita, K., Hayakawa, K., & Itabashi, Y. (2009). A facile method for the detection of aldehydes in oxidized lipids using solid-phase microextraction fiber and gas chromatograph equipped with a septum-free injector. *Journal of Oleo Science*, 58,17-22.
- Baştürk, A. (2011). *Ağır metal iyonları, askorbil palmitat, sıcaklık ve sürenin yağların oksidatif stabilitesi üzerine etkileri* (Doktora tezi). Yök Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 282941).
- Brunton, N. P., Cronin, D. A., Monahan, F. J., & Durcan, R. (2000). A comparison of solid-phase microextraction fibers for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. *Food Chemistry*, 68: 339-345.
- Camiletti, O. F., Bergesse, A. E., Aleman, R., Riveros, C. G., & Grosso, N. R. (2023). Application of chickpea-based edible coating with chickpea husk polyphenols on the preservation of sunflower seeds. *Journal of Food Science*, doi: 10.1111/1750-3841.16489
- Chitsamphandvej, W., Phakdee, W. & Thanasan, W. (2008). A headspace solid phase microextraction methods for using to monitor hexanal and heptanal content in food samples. *Kasetsart Journal Natural Science*, 42: 206-212.
- Contini, M., & Esti, M. (2006). Effect of the matrix volatile composition in the headspace solid-phase microextraction analysis of extra virgin olive oil. *Food Chemistry*, 94, 143-150.
- Garcia-Martinez, M. C., Marquez-Ruiz, G., Fontecha, J., & Gordon, M. H. (2009). Volatile oxidation compounds in a conjugated linoleic acid-rich oil. *Food Chemistry*, 113: 926-931.
- Graciano-Verdugo, A. Z., Soto-Valdez, H., Peralta, E., Cruz-Zárate, P., Islas-Rubio, A. R., Sánchez-Valdez, S., Sánchez-Escalante, A., González-Méndez, N., & González-Ríos, H. (2010). Migration of a-tocopherol from LDPE films to corn oil and its effect. on the oxidative stability. *Food Research International*, 43, 1073-1078.
- Gunstone, F. D., Harwood, J. L., & Padley, F.B. (1995). *The lipid handbook*. London: Chapman & Hall.
- Hamilton, R.J. (1995). *Developments in oils and fats*. New York: Springer.
- Hamilton, R. J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F. B., & Pierce, H. (1997). Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chemistry*, 60: 193-199.
- Jalili, V., Barkhordari, A., & Ghiasvand, A. (2020). A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. *Microchemical Journal*, 152, 104319.
- Javidipour, I., Erinç, H., Baştürk, A. & Tekin, A. (2017). Oxidative changes in hazelnut, olive, soybean, and sunflower oils during microwave heating. *International Journal of Food Properties*, 20, 1582-1592.

- 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*. Adana: Ç.Ü. Ziraat Fak., Yay. No: 258.
- Kayahan, M. (2002). *Yağ kimyası*, Ankara: ODTÜ Yayıncılık.
- Kishimoto N. (2021). Evaluation of photooxidation of olive oil by determining the concentration of hexanal as an oxidative marker using an electronic nose. *Chemical Engineering Transactions*, 85, 181-186.
- Lee, Y. C., Oh, S. W., Chang, J., & Kim, I. H. (2004). Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. *Food Chemistry*, 84, 1-6.
- 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.
- Maher, P.G., Roos, Y.H., Kilcawley, K.N., Auty, M.A.E., & Fenelon, M.A. (2015). Levels of pentanal and hexanal in spray dried nanoemulsions. *LWT-Food Science and Technology*, 63, 1069-1075.
- Mariutti, 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.
- Pawliszyn, J. (2012). *Theory of solid phase microextraction*. In J. Pawliszyn (Eds), *Handbook of Solid Phase Microextraction* (pp. 13-59). Amsterdam, Holland: Elsevier Press.
- 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., & Zupancic-Karlj, L. (1999). Solid phase microextraction. *Trends in analytical chemistry*, 18 (4), 272-282.
- Roberts, D. D., Pollien, P., & Milo, C. (2000). Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48(6), 2430-2437.
- 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.
- Stenson, D. F., Lee, J. H., & Min, D. B. (2002). Solid phase microextraction of volatile soybean oil and corn oil compounds. *Food Chemistry and Toxicology*, 67, 71-76.
- 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.
- Vichi, S., Guadayol, J. M., Caixach, J., López-Tamames, E., & Buxaderas, S. (2006). Monoterpene and sesquiterpene hydrocarbons of virgin olive oil by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1125 (1), 117-23.
- Yücel, T. & Cavidoğlu, İ. (2023). Katı faz mikroekstraksiyon-gaz kromatografisi metodu ile malonaldehit ve hekzanal tayini. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* , DOI: 10.53433/yyufbed.1215854
- Zhang, Z., Yang, M. J., & Pawliszyn, J. (1994). Solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 66, (17): 844 -852.