

GIDALARDA KATI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON TEKNİĞİ İLE FLAVOR ANALİZİ

ANALYSIS OF FLAVORS IN FOODS USING SOLID-PHASE MICROEXTRACTION (SPME) TECHNIQUE

Zehra AYHAN, Ayşegül DÖŞ

Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Hatay

ÖZET: Katı faz mikroekstraksiyon, gıdalarda ve özellikle içeceklerde uçucu flavor profilinin belirlenmesinde son yıllarda popülerite kazanan basit, hızlı, ekonomik ve çözümsüz bir ekstraksiyon yöntemi olup örnek hazırlama, ekstrakte etme, konsantrasyon hale getirme gibi birçok işlemi tek bir basamağa indirgeyen çok yönlü bir tekniktir. Bu teknik, SPME fiber üzerine uçucu ve yarı uçucu maddelerin adsorpsiyonu ve bu maddelerin gaz kromatografisi (GC) enjeksiyon portuna yerleştirilen SPME fiberden termal olarak GC kolonuna desorpsiyonu ilkesine dayanmaktadır. Bu makalede, SPME'nin tanımlanması, çalışma prensibi, SPME performansını etkileyen koşullar, diğer ekstraksiyon tekniklerine avantajları, gıdalarda uçucu ve yarı uçucuların belirlenmesindeki uygulamaları ve diğer uygulama alanları değerlendirilmiştir.

ABSTRACT: Solid-phase microextraction (SPME) is a simple, fast, economic and solvent-free sample preparation technique that has been used to measure the volatile flavor profiles of foods and beverages and integrates sampling, extraction, concentration and sample introduction to gas chromatography (GC). This technique is based on the principle of adsorption of volatiles on SPME fiber and thermal desorption of these volatiles from the fiber to gas chromatography (GC). In this paper, description of SPME, its principles, conditions which affect its performance, advantages of SPME over the other extraction techniques and applications of SPME in determining food volatiles and semi-volatiles and the other application areas were reviewed.

GİRİŞ

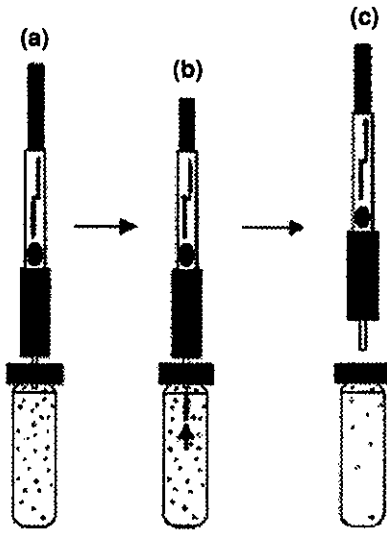
Çeşitli maddelerden oluşan aroma, gıdalarda duyu özellikleri belirleyen önemli bir kalite ölçütüdür. Gıdalardaki aroma maddeleri yaygın olarak gaz kromatografisi kullanılarak analiz edilmektedir (CHIN ve ark., 1996). Genellikle gıda ürünlerinde uçucu aroma maddeleri iz miktarlarda bulunur ve GC öncesi ürünün ekstraksiyonu, saflaştırılması ve konsantrasyon edilmesi gibi birçok aşamayı gerektiren geleneksel izolasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bunların başında distilasyon-ekstraksiyon, moleküler distilasyon, çözgen ekstraksiyonu, dinamik headspace ve statik headspace gibi çok aşamalı, zahmetli, komplike aparat gerektiren, zaman alan ve toksik etki yapan çözgenleri içeren yöntemler gelmektedir. Bu uygulamalar sırasında meydana gelen kayıplar örnek hazırlama işlemi analizlerin hata kaynağı haline getirmiş ve diğer analitik prosedürlerle entegrasyonunu engellemiştir (CHIN ve ark., 1996; JOU ve HARPER, 1998; MARIACA ve BOSSET, 1997).

Son yıllarda geleneksel örnek hazırlama metodlarına alternatif olarak geliştirilen katı faz mikroekstraksiyon tekniğinin kullanımı yaygınlaşmıştır. Katı faz mikroekstraksiyon tekniği örnek hazırlama, ekstrakte etme ve konsantrasyon gibi bir çok işlemi tek bir basamağa indirgeyen, yeni, hızlı, basit, ekonomik ve solvent gerektirmeyen ve ekstraksiyon yöntemidir (ZHANG ve ark., 1994; PINHO ve ark., 2001). SPME metodu ayrıca komplike aparat kullanımını da gerektirmemektedir. İzolasyon esnasında uçucu ve yarı uçucu bileşimlerin dilüsyonuna yol açmadan GC'nin enjeksiyon blokuna yerleştirilerek uçucu bileşimlerin tanımlanması sağlanmaktadır (JIA ve ark., 1998; CHIN ve ark., 1996; STEFFEN ve PAWLISZYN, 1996; YANG ve PEPPARD, 1994; ARTHUR ve KILLIAM, 1990; AYHAN ve ark., 2001).

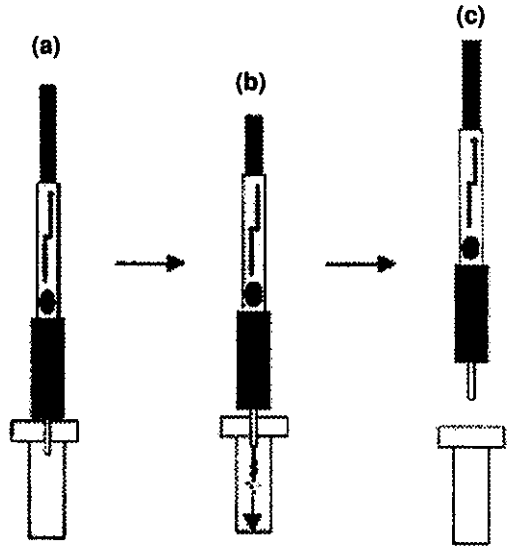
SPME özellikle flavor bileşimlerinin analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Geleneksel örnek hazırlama metodları örnekteki bileşimleri tamamen uzaklaştırmayı hedef alırken, SPME tekniğinde prensip olarak aroma bileşimleri örnek matrisi, örneğin üzerindeki tepeler boşluğu ve SPME fiber arasında dağılım esasına bağlı olarak ayrılmaktadır. Bu dağılım ısıtma sıcaklığı, ısıtma süresi, örnek hacmi ve

konsantrasyonuna bağlı olarak gerçekleşmektedir (YANG ve PEPPARD, 1994). SPME fiber istenen bileşiği doğrudan ekstrakte ettiği için ön konsantre etme aşaması gerektirmemektedir (ZHANG ve PAWLISZYN, 1993).

Bir SPME ünitesi; bir enjektör (holder), katı faz (dolgu materyali) ile kaplı bir fiber ve fiber üzerinde hidrofobik veya hidrofilik karakterde destek materyalinden (fiber coating) meydana gelir. SPME fiber üzerine adsorbe olan uçucu maddeler, GC enjeksiyon blokuna yerleştirilen SPME fiberden termal olarak GC kolonuna ayrılmaktadır (JIA ve ark., 1998; ZHANG ve ark., 1994; ZHANG ve PAWLISZYN, 1993; ARTHUR ve ark., 1992; GANDINI ve RIGUZZI, 1997; SONG ve ark., 1998). SPME ekstraksiyonu katı gıdalarda genellikle örnek üzerindeki tepe boşluğundan, sıvı gıdalarda ise fiber, doğrudan örneğe daldırılarak veya tepe boşluğundan gerçekleştirilebilmektedir (CHIN ve ark., 1996). SPME'de ekstraksiyon ve desorpsiyon işlemleri Şekil 1 ve 2'de görüldüğü gibi gerçekleşir (SUPELCO, 2001).



Şekil 1. SPME'de ekstraksiyon işlemi (a) SPME enjektörü vial içerisine septum delinerek daldırılır (b) SPME fiber, örnek içine veya tepeboşluğuna bırakılır (adsorpsiyon) (c) Fiber, enjektör içine çekilir ve vialden ayrılır.



Şekil 2. SPME'de desorpsiyon işlemi (a) SPME enjektörü GC enjeksiyon portuna yerleştirilir (b) Fiber, GC enjeksiyon portuna çıkarılır (desorpsiyon) (c) Fiber, enjektör içine çekilir ve enjektör GC'den ayrılır.

SPME metodunda hassasiyet limitleri diğer örnek hazırlama tekniklerine kıyasla daha fazladır. Kullanılan fiberin ömrü kullanım koşullarına bağlı olmakla birlikte 100 defadan fazla olabilmektedir. Ekstraksiyon dengesine 2-30 dakika süresince ulaşabildiğinden hızlı bir teknik olarak kabul edilmektedir (SUPELCO, 1998). Ekstraksiyon işleminin tek aşamalı olmasından dolayı genellikle bir çok bileşenin kaybolması engellenebilmektedir. Analiz edilecek bileşen için uygun bir sabit faz seçilebildiği için uygun fiber kullanımı analizin seçiciliğini artırmaktadır (STEFFEN ve PAWLISZYN, 1996).

SPME'nin bir avantajı da GC cihazına çok kolay yerleştirilebilmesidir (ZHANG ve PAWLISZYN, 1993). SPME değişik fonksiyonel gruplara sahip aroma bileşiklerini tanımlama kapasitesine sahiptir. Fiber temizleme, örnek toplama ve desorpsiyon yaklaşık 6 dakika zaman almaktadır GC/MS ile birlikte çalışıldığı zaman toplam analiz süresi yaklaşık 10 dakika sürmektedir (SONG ve ark., 1998). SPME metodu sadece ekstraksiyon aşamasında değil, kromatografik ayrılma etkinliğini artıran enjeksiyon aşamasında da çözgfen kullanımını gerektirmemektedir (ZHANG ve ark., 1994).

SPME ile ekstraksiyon işlemini ısıtma sıcaklığı, ısıtma süresi, örnek hacmi gibi deneysel koşullar oldukça fazla etkilemektedir. Fiber tarafından adsorbe edilen bileşik miktarı; sabit faz kalınlığına, bileşiğin dağılım sabitine ve enjeksiyon blokunun sıcaklığına bağlıdır. Dağılım sabiti ise genellikle bileşiğin molekül ağırlığı ve kaynama noktası ile artmaktadır (YANG ve PEPPARD, 1994).

SPME PERFORMANSINI ETKİLEYEN KOŞULLAR

1. Ekstraksiyon Koşulları

1.1. Ekstraksiyon Süresi ve Sıcaklığı

Ekstraksiyon sıcaklığının ve süresinin SPME fiber ile headspace arasında oluşacak aroma dengesine etkisini belirlemek için adsorbsiyon-zaman profili belirlenir. Adsorbsiyon-zaman profili, ekstraksiyon süresinin bir fonksiyonu olarak toplam pik alanının izlenmesiyle belirlenir. Dengenin oluştuğu sıcaklık ve süre daha sonraki ekstraksiyonlarda kullanılır (ARTHUR ve KILLIAM, 1990; PROSEN ve ZUPANCIC-KRALJ, 1999).

Ekstraksiyon süresi, örnek ile SPME fiber arasındaki dengenin kurulmasında kritik bir öneme sahiptir. Ekstraksiyon genellikle 15-20 dakika sürebildiği gibi 30 saniyeden daha az bir süre de alabilmektedir. SPME headspace ekstraksiyonu genellikle SPME daldırma ekstraksiyonuna göre daha kısa sürmektedir. Ekstraksiyon süresi, bileşiğin moleküler büyüklüğüne, fiber tipine, ekstraksiyon tipine ve örnek konsantrasyonuna bağlıdır (PROSEN ve ZUPANCIC-KRALJ, 1999; SUPELCO, 2001).

Örnek sıcaklığı doğru sonuç elde etmek için önemlidir. İyi bir sonuç alabilmek için ekstraksiyon süresi boyunca sabit sıcaklık kullanmak gerekmektedir. Isı uygulaması bileşiğin örnekten uzaklaştırılmasına, hassasiyetinin artmasına ve ekstraksiyon süresini kısaltmasına yardımcı olmaktadır. Daldırma tip ekstraksiyonda genellikle ısı uygulanmasına gidilmemekle birlikte, uçucu olmayan veya yüksek kaynama noktasına sahip yarı uçucu bileşikler için denge süresini kısaltmak amacıyla düşük miktarda ısı uygulanabilmektedir (SUPELCO, 2001).

1.2. Örnek Hacmi

SPME fiber üzerinde adsorbe olan bileşiklerin miktarı örneğin başlangıç konsantrasyonuna olduğu kadar örnek hacmine de bağlıdır. Örnek miktarının tepeboşluğuna oranı 1:1 sabit tutulmak koşuluyla, artan örnek hacmi SPME fiber üzerine adsorpsiyonu başlangıçta hızla arttırmakta ve daha sonra sabitlenmektedir (YANG ve PEPPARD, 1994).

1.3. Çalkalama/Karıştırma

Ekstraksiyon süresinin kısaltılması ve deney doğruluğunun artırılması için uygulanır. Headspace ekstraksiyonlarında karıştırma uygulanabildiği gibi daldırma yöntemi ile ekstraksiyonda özellikle yarı uçucu bileşiklerin analizinde karıştırma çok önemlidir. Sabit bir karıştırma ile analiz süresi kısaltmakta ve doğruluk payı artmaktadır. Karıştırma genellikle manyetik mikro balık kullanımı ile sağlanmakta olup, titreşim veya ses dalgaları da örneği çalkalamada kullanılabilir. Karıştırma hızının bütün örneklerde sabit tutulması gerekmektedir (PROSEN ve ZUPANCIC-KRALJ, 1999).

1.4. pH Ayarlaması ve Tuz ilavesi

pH ayarlaması ve tuz ilavesi (NaCl veya NaSO₄) bileşiklerin örnekteki çözünürlüğünü değiştirerek ekstraksiyon etkinliğini arttırmaktadır. Genellikle ekstrakte edilecek bileşiklerin bulunduğu örneğin pH'sı düştükçe fiber üzerine adsorbe olan ekstrakt miktarında azalma gözlenmiştir (STEFFEN ve PAWLISZYN, 1996). %25-30 oranında NaCl ilavesi örnekteki iyonik güçleri arttırarak bileşiklerin çözünürlüğünü azaltmaktadır. Tuz ilvesi çoğunlukla sudaki polar bileşiklerin analizlerine yardımcı olmaktadır (ZHANG ve ark., 1994; PROSEN ve ZUPANCIC-KRALJ, 1999; SUPELCO, 2001). Tuz ilavesi ile ekstrakte edilecek bileşiklerin suda çözünürlüğü azaltılmakta ve böylece tepeboşluğuna geçen ve dolayısıyla fiber üzerinde adsorbe olan bileşiklerin miktarında artış olmaktadır (STEFFEN ve PAWLISZYN, 1996; ARTHUR ve ark., 1992a). Etil butirat, linalol, trietil sitrat ve hekzenol gibi maddelerin SPME fiber üzerine adsorpsiyonu artan tuz oranı ile artarken, limonen gibi apolar yapıdaki maddelerin adsorpsiyonunda azalma tespit edilmiştir (YANG ve PEPPARD, 1994).

2. Fiber Tipi

Katı faz mikroekstraksiyonda kullanılan fiber tipi, ekstraksiyonu istenen bileşiğin analizi için çok büyük öneme sahiptir. Gıda maddelerinde uçucuların ekstraksiyonlarında ekstrakte edilmek istenen bileşiğe göre fi-

ber tipi belirlenmekle birlikte, yapılan çalışmalarda en uygun fiber deneme yöntemi ile bulunmaktadır. Fiber tiplerinden polidimetilsiloksan (PDMS) kaplı fiber apolar özellikteki hidrokarbonlar için, polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) kaplı fiber polar uçucular için, karboksen/polidimetilsiloksan (Karboksen/PDMS) kaplı fiber gazlar ve düşük molekül ağırlıklı bileşikler için, karbovaks/divinilbenzen/polidimetilsiloksan (CW/DVB/PDMS) kaplı fiber asitler için, poliakrilat (PA) ve karbovaks kaplı fiber fenoller ve karboksilik asitler gibi polar uçucular için kullanılmaktadır (ZHANG ve ark., 1994; SUPELCO, 2001).

3. Ekstraksiyon Yöntemi

3.1. Headspace Yöntemi

Headspace hacminin küçük olması ekstraksiyon hassasiyetini arttırmaktadır. Sıvı faz sabit tutulduğunda, SPME adsorpsiyonu artan headspace hacmi ile azalmaktadır. Çoğunlukla headspace hacminin vialin %30-50'si arasında tutulması önerilmektedir. Headspace ne kadar küçükse fiber daha hızlı ve daha fazla örneği ekstrakte etmekte ve daha etkin sonuç alınmaktadır. Ancak yüksek konsantrasyonlu örneklerde headspace hacmi artmaktadır. Headspace hacminin ve vial büyüklüğünün sabit tutulması oldukça önemli olup fiberin aynı derinlikte tutulması ekstraksiyon verimliliğini arttırmaktadır. Eğer örnek matrisi protein içeriyorsa, headspace öncesi proteinlerin ayrılması önerilmektedir (YANG ve PEPPARD, 1994; SUPELCO, 2001).

3.2. Daldırma Yöntemi

Daldırma yönteminde ekstraksiyon hassasiyeti örneğin vial içinde %80 oranında doldurulması ile artmaktadır. Tavsiye edilen örnek hacmi 1-5 ml arasında değişmektedir. Daldırma yöntem ile ekstraksiyonda su bazlı düşük konsantrasyonlu örnek matrislerinde en iyi çalışılmaktadır. Şeker, protein ve artikul içeren örneklerde daldırma metodu kullanıldığı zaman desorpsiyon öncesi fiberin su ile temizlenmesi önerilmektedir (SUPELCO, 2001).

4. Desorpsiyon Koşulları

4.1. Desorpsiyon Sıcaklığı ve Süresi

SPME fiber üzerinde adsorbe olan aroma maddeleri GC enjeksiyon blokuna yerleştirilen fiber üzerinden GC kolonuna önceden belirlenen desorpsiyon (enjeksiyon) sıcaklığı ve süresinde ayrıştırılır. Desorpsiyon sıcaklığı genellikle 150-200°C'ler arasındadır. Optimal desorpsiyon sıcaklığı yaklaşık olarak uçuculuğu en zor olan bileşiğin kaynama noktası baz alınarak belirlenir. Desorpsiyon süresi, desorpsiyon sıcaklığına bağlıdır ve genellikle bir kaç dakikadır (PROSEN ve ZUPANCIĆ-KRALJ, 199; ZHANG ve ark., 1994).

SPME UYGULAMALARI

SPME, çevre sularındaki kirliliği analiz etmek amacıyla geliştirilmiş bir teknik olup (ARTHUR ve PAWLISZYN, 1990; ARTHUR ve ark., 1992b,c) son yıllarda gıdalarda uçucu bileşenlerin analizlerinde de önemli bir yer almaya başlamıştır (YANG ve PEPPARD, 1994). SPME, portakal suyu (JIA ve ark., 1999; AYHAN ve ark., 2001; AYHAN ve ark., 2002), elma suyu (MATICH ve ark., 1996), domates ve çilek (SONG v ark., 1998), siyah ve beyaz yer mantarı (PELUSIO ve ark., 1995), kavrulmuş kahve (BICCHI ve ark., 1997) gibi gıdalarda uçucu aroma bileşiklerinin tayininde, şerbetçiotunda esansiyel yağ asitlerinin belirlenmesinde (FIELD ve ark., 1996), içeceklerde kafein tesbitinde (HAWTHORNE ve ark., 1992), süt ve süt ürünlerinde aroma ve serbest yağ asitlerinin belirlenmesinde (TOMAINO, ve ark., 2001; PINHO ve ark., 2001; PERES ve ark., 2001; WIJESUNDERA ve ark., 1998; MARIACA ve BOSSET, 1997) ve şarapta metil izotiosiyanat (meyve ve sebzelerde hastalıklara karşı kullanılan bir fumigant) (GANDINI ve RIGUZZI, 1997) tesbitinde kullanılmıştır. Özellikle yüksek uçuculuğa sahip bileşiklerde SPME ile daha iyi sonuca ulaşabilmektedir. SPME'nin özellikle halk sağlığı açısından önemli olan rutin analizlerde kullanımı önemlidir (GANDINI ve RIGUZZI, 1997).

SPME, özellikle portakal suyu gibi meyve suyu endüstrisinde gıdanın içine herhangi bir yabancı katkının katılıp katılmadığının anlaşılmasında önemli bir yöntemdir. Aroma kompozisyonu ile ürün bütünlüğünün belirlenmesi açısından SPME endüstride önemli olduğu kadar insan sağlığının korunması açısından da önemli bir metottur (STEFFEN ve PAWLISZYN, 1996). JIA ve ark. (1998) portakal suyundaki aroma bileşiklerini 100

µm PDMS ile kaplı SPME fiber ile izole edip, GC ile analizini gerçekleştirmişlerdir. Yapılan çalışmada, portakal suyu sıcaklığı 25°C'den 80°C'ye, adsorpsiyon zamanı 5 dakikadan 40 dakikaya kadar artırılarak SPME fiber kaplama ve portakal suyu arasında uçucuların en uygun denge koşulları gözlenmiş ve deney sonucunda aroma bileşiklerinin 40°C'de 30 dakika veya 60°C'de 20 dakikada dengeye ulaştığı belirlenmiştir. Daha sonra portakal suyunda etil bütirat, oktanal, dekanal, α-pinen, limonen gibi aroma bileşiklerinin konsantrasyonları GC ile analiz edilerek tespit edilmiştir.

SPME yöntemi; meyve suyu, bitkisel yağ gibi sıvı gıdalarda daha yaygın kullanılmış olmakla birlikte peynir gibi katı gıdalarda da uygulanabilmektedir (CHIN ve ark., 1996). Yapılan çalışmalarda; süt ve peynir gibi ürünlerinde özellikle ışık kaynaklı lipit oksidasyonunun tespitinde SPME'nin mükemmel bir teknik olduğu görülmüştür. Peynir aromaları, sütteki süt enzimleri ve starter kültür bakterilerinin aktivitelerinden dolayı heterojen bir karışımı içermektedir (BAKKER ve LAW, 1994). CHIN ve ark. (1996) peynir uçuğu bileşiklerinin analizi ile ilgili bir çalışmada, PDMS ve PA fiber ile peynirde bulunan uçucu yağ asitleri ve δ-laktonlar gibi ana bileşikler ekstrakte ederek GC ile analizini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonuçları PA'nın PDMS'den daha iyi netice verdiğini göstermiştir. Bu metotla dinamik headspace yönteminin kesin sonuç eksikliği ve cihazın pahalı olması gibi dezavantajları da elimine edilmiştir.

SPME'nin yağlı gıdalarda uçucu bileşiklerin analizinde kullanımı uçucu bileşiklerin yağdaki yüksek çözünürlüğünden dolayı literatürde fazla yer almamakla beraber soya ve mısır yağındaki uçucu bileşiklerin SPME ile analizinin yapıldığı bir çalışmada SPME'nin yağın kalitesinin belirlenmesinde statik ya da dinamik headspace analizine mükemmel bir alternatif olduğu görülmüştür (STEENSON ve ark., 2002). Oksitlenmiş bitkisel yağlarda çoğunlukla doymuş ve doymamış aldehitler, alkoller, ketonlar ve furan bileşikleri mevcuttur (FRANKEL, 1985). Soya yağının oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitlerin parçalanmasıyla çeşitli uçucuların kısa zincirli ikincil oksidasyon ürünleri medana gelmektedir (ULRICH ve GROSCH, 1988). Bu uçucu bileşiklerin çoğunluğu istenmeyen aromaların ortaya çıkmasıyla soya yağının kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. STEENSON ve ark. (2002) soya yağındaki uçucu bileşiklerin polaritesine bağlı olarak değişik katı fazlarla çalışmışlardır. 100 µm PDMS, 65µm CW/DVB, 85 µm PA fiber katı fazı olarak kullanılmış ve PDMS'nin soya yağındaki bileşiklere daha hassas, yüksek termal kararlılığa sahip olduğu gözlenmiştir. Bu metotla proses koşullarının, antioksidan, ambalaj, bitkisel yağ türü, depolama süresi ve sıcaklığı gibi etmenlerin yenilebilir yağların oksidatif kalitesi ve stabilitesi üzerine etkisi gözlenmiştir (STEENSON ve ark., 2002).

Bitkisel ürün aromaları için analitik metotların gelişimi, uçucuların tanımlanması ve aroma kalitelerinin anlaşılması açısından önemlidir (WERKHOF ve BRETSCHNEIDER, 1987; BUTTERY ve ark., 1988; DIRINCK ve ark., 1989). Ticari olarak üretilmiş domates ve çilek kültürlerinde duyu kalite kayıplarına tüketici ve üreticilerin ilgisinin artmasından dolayı SONG ve ark. (1988) domates (*Lycopersicon esculentum*) ve çilek (*Fragaria x ananassa*) kültürlerindeki aroma bileşiklerinin SPME ile ekstraksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Domates 300'den fazla, çilek ise yaklaşık 200 uçucu bileşik içermektedir. Ancak bunlardan çok azı karakteristik aromayı vermektedir. PDMS, PDMS/DVB ve CW/DVB fiber kullanılarak yapılan denemelerde PDMS/DVB ve CW/DVB'nin küçük ve aldehit gibi daha polar moleküller için yüksek hassasiyete sahip olduğu, PDMS'nin büyük ve daha az polar molekülleri adsorbe ettiği görülmüştür. PDMS/DVB fiber kullanılarak, domateste yaklaşık 30 uçucu, olgunlaşmış çilekte ise 34 aroma bileşiği ekstrakte edilmiş ve GC ile tanımlanmıştır (SONG ve ark., 1988).

Headspace-SPME çok katlı ambalaj materyallerinde uçucu organik bileşiklerin belirlenmesinde de başarılı olarak kullanılmıştır (EZQUERRO ve ark. 2003a, EZQUERRO ve ark. 2003b).

Sonuç olarak; SPME sadece sıvı fazdaki organik bileşiklerin tayininde değil ayrıca katı örneklerin analizinde de kullanılan etkili bir ekstraksiyon tekniğidir. Uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin tayininde değişik tip ve kalınlıkta uygun fiber kullanımıyla analizin seçiciliği artmaktadır. Aynı örnek içinde geniş konsantrasyon aralığındaki bileşikler tespit edilebilmekte ve miktar analizi mümkün olabilmektedir.

SPME metodu, basit, ucuz, çözücü gerektirmeyen bir metot olmakla birlikte, ısıtma sıcaklığı, zamanı, örnek hacmi, konsantrasyon, örneğin homojenliği gibi deneysel koşullara oldukça hassastır. Deney koşullarının etkili bir şekilde optimizasyonunun sağlanmasıyla SPME'nin özellikle son yıllarda bir çok avantajı ile birlikte diğer geleneksel ekstraksiyon metotlarına iyi bir alternatif olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

- ARTHUR, C.L., L.M. KILLIAM. 1990. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.* 62: 2145-2148.
- ARTHUR, C.L., L.M.KILIAM, K.D. BUCHHOLZ, J. PAWLISZYN. 1992a. Automation and optimization of solid-phase microextraction. *Anal. Chem.* 64 (17): 1960-1966.
- ARTHUR, C.L., D.W. POTTER, K.D. BUCHHOLZ, S. MOTIAGH, J. PAWLISZYN. 1992b. Solid phase microextraction for direct analysis of water. *Theory andn Practice. LC/GC.* 10 (9): 651-661.
- ARTHUR, C.L., L.M. KILLIAM, S. MOTLAGH, M. LIM, D.W. POTTER, J. PAWLISZYN. 1992c. Analysis of substituted benzene compounds in groundwater using solid-phase microextraction. *Environ. Sci. Technol.* 26: 979-983.
- AYHAN, Z., H.W. YEOM, Q.H. ZHANG, D.B. MIN. 2001. Flavor, color and vitamin C retention of pulsed electric field (PEF) processed orange juice different packaging materials. *J. Agric. Food Chem.* 49 (2): 669-674.
- AYHAN, Z., Q.H. ZHANG, D.B. MIN. 2002. Effects of pulsed electric field (PEF) and storage on quality and stability of single strength orange juice. *J. Food Prot.* 65 (10): 1623-1627.
- BAKKER, J., B.A. LAW. 1994. Cheese flavors. "in, *Understanding Natural Flavors*, Ch 18, Eds J.R. Piggot and A. Paterson", Chapman and Hall, London, pp. 283-297.
- BICCHI, C.P., Q.M. PANERO, G.M. PELLEGRINO, A.C. VANNI. 1997. Chracterization of roasted coffe and coffe beverages by solid phase microextraction-gas chromatograpy and principal component analysis. *J. Agrc. Food. Chem.* 45 (12): 4680- 4686.
- BUTTERY, R.G., R. TERANISHI, L.C. LING, R.A. FLATH, D.J. STERN. 1988. Quantitative studes on orijins of fresh tomato aroma volatiles. *J. Agric. Food. chem.* 36: 1247-1250.
- CHIN, H.W., R.A. BERNHARD, M. ROSENBERG. 1996. Solid phase mikroextraction of cheese volatile compound analysis. *Food. Sci.* 61(6)X 1118-1122.
- DIRINCK, P., H. DE POOTER, N. SCHAMP. 1989. Aroma development in ripening fruits. "in, *Flavor Chemistry: Trends and Developments*, Eds R. Teranishi, R.G. Buttery, F. Shahidi", ACS Symposium Series 388. Am. Chem. Soc., Washington, DC. pp. 23-24.
- EZQUERRO, O., B. PHONS, M.T. TENA. 2003a. Direct qualtfication of volatile organic compounds in packaging materials by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 985 (1-2): 247-257.
- EZQUERRO, O., B. PONS, M.T. TENA. 2003b. Multiple headspace solid-phase microextraction for the quatitative determination of volatile organic compounds in multilayer packagings. *J. Chromatogr.* 999 (1-2): 155-164.
- FIELD, J.A., G. NICKERSON, D.D. JAMES, C. HEIDER. 1996. Determination of essential oils in hops by headspace solid-phase microextraction. *J. Agric. Food. Chem.* 44: 1768-1772.
- FRANKEL, E.N. 1985. Chemistry of autoxidation. Mechanism products and flavor significance. 'in, *Flavor Chemistry of Fats and Oils*. Eds DB Min, TH Smouse', Am. Oil Chem. Soc., Champaign, IL. pp. 1-37.
- GANDINI, N., R. RIGUZZI. 1997. Headspace solid phase microextraction analysis of methyl isothiocynate in wine. *J. Agric. Food Chem.* 45(8): 3092-3094.
- HAWTHORNE, S.B., D.J. MILLER, J. PAWLISZYN, C.L. ARTHUR. 1992. Solventless determination of caffeine in beverages using SPME with fused silica fibers. *J. Chromatogr.* 603: 185-191.
- JIA, M., Q.H. ZHANG, D.B. MIN. 1998. Optimization of solid phace microextraction analysis for headspace flavor compounds of orange juice. *J. Agric. Food Cem.* 46 (7): 2744-2747.
- JIA, M., Q.H. ZHANG, D.M. MIN. 1999. Pulsed electric field processing effects on flavor compounds and microorganisms of ornage juice. *Food Chem.* 65: 445-451.
- JOU, K.D., W.J. HARPER. 1998. Pattern recognition of swiss cheese aroma compounds by SPME/GC and an electronic nose. *Michwissenschaft.* 53 (5): 259-263.
- MARIACA, R., J.O. BOSSET, M.R. 1997. Instrumental analysis of volatile (flavour) compounds in milk and dairy products. *LAIT.* 77 (1): 13-40.
- MATICH, A.J., DD. ROWAN, N.H. BANKS. 1996. Solid phase microextraction for quatitative headspace sampling of apple volatiles. *Anal. Chem.* 68 (23): 4114-4118.
- PELUSIO, F., T. NILSSORN, L. MONTANARELLA, R. TILIO, B. LARSEN, S. FACCHETTI, J.O. MADSEN. 1995. Headspace solid phase microextraction analysis of volatile organic sulfur compounds in black and white truffle aroma. *J. Agric. Food. Chem.* 43(8): 2138-2143.
- PERES, C., C. VIALON, J.L. BERDAGUE. 2001. Solid-phase microextraction spectrometry: A new approach to the rapid characterization of cheeses. *Anal. Chem.* 73(5): 103-1036.
- PIHNO, O., I. FERREIRA, S. CASCAL, J.O. FERNANDES, M.B.P.P. OLIVEIRA, M.A. FERREIRA. 2001. Method optimization for analysis of the volatile of ewe cheese by solid-phase microextraction. *Chromatog.* 53: 390-393.

- PROSEN, H., L. ZUPANČIČ-KARLJ. 1999. Solid-phase microextraction. *Trends in Anal. Chem.* 18 (4): 272-282.
- SONG, J., L. FAN, R.M. BEAUDRY. 1988. Application of solid phase microextraction and gas chromatography/time of flight mass spectrometry for rapid analysis of flavor volatiles in tomato and strawberry fruits. *J. Agric. Food Chem.* 46: 3721-3726.
- STEENSON, D.F., J.H. LEE, D.B. MIN, 2002. Solid phase microextraction of volatile soybean and corn oil compounds. *J. Food Sci.* 67(1): 71-76.
- STEFFEN, A., J. PAWLISZYN. 1996. Analysis of flavor volatiles using headspace solid phase microextraction. *J. Food Chem.* 44: 2187-2193.
- SUPELCO, 2001. Solid phase microextraction troubleshooting guide. Bulletin 928. Bellefonte, PA.
- SUPELCO, 1998. Solid phase microextraction: Solventless sample preparation for monitoring flavor compounds by capillary gas chromatography. Bulletin 869A. Bellefonte, PA.
- TOMAINO, R.M., J.D. PARKER, D.K. LARICK. 2001. Analysis of free fatty acids in whey products by solid-phase microextraction. *J. Agric. Food Chem.* 49(8): 3993-3998.
- ULRICH, F., W. GROSHCH. 1988. Identification of the most intense odor compounds formed during autoxidation of methyl linolenate at room temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 65(8): 1313-1317.
- WERKHOFF, P., W. BRETSCHNEIDER. 1987. Dynamic headspace gas chromatography: Concentration of volatile components after thermal desorption by intermediate cryofocusing in a cold trap. *J. Chromatogr.* 405: 87-98.
- WIJESUNDERA, C., L. DRURY, T. WALSH. 1998. Determination of free fatty acids and lactones in cheese by solid phase microextraction (SPME). *Aust. J. Dairy Tech.* 53 (2): 140.
- YANG, X., T. PEPPARD. 1994. Solid phase microextraction for flavor analysis. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1925-1930.
- ZHANG, Z., M.J. YANG, J. PAWLISZYN. 1994. Solid-phase microextraction. *Anal. Chem.* 66 (17): 844-852.
- ZHANG, Z., J. PAWLISZYN. 1993. Headspace-solid phase microextraction. *Anal. Chem.* 65: 1853-1860.