

* Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 1919B011903893 proje numarası ile desteklenmektedir. Çalışma sonucunda elde edilen deneysel bulgular kullanılarak hazırlanan makale "TALANTA" isimli dergide hakem incelemesindedir.*

* Katkılarından dolayı Prof. Dr. Sema BAĞDAT' a teşekkür ederiz.

ESANSİYEL YAĞ NEDİR, NASIL ELDE EDİLİR VE NE AMAÇLA KULLANILIR?

Aromatik yağlar, doymamış ve doymuş hidrokarbonlar, fenoller, alkoller, aldehitler ve terpenler dahil doğal kompleks karışımlar olarak tanımlanır. Bu yağlar, oda sıcaklığında ve atmosfer basıncında yeterince yüksek buhar basıncına sahip uçucu moleküller tarafından güçlü bir koku ve tat ile karakterize edilir. Ek olarak, uçucu yağın bu karakteristik özellikleri, türetildiği aromatik bitkilerle doğrudan ilişkilidir. Uçucu yağlar, aromatik katkı maddeleri olarak gıda, eczacılık ve kozmetik endüstrisinde yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Öte yandan, bu hoş kokulu reaktifler yüzyıllardır tamamlayıcı ve alternatif terapilerde de kullanılmaktadır [1-5].

Antimikrobiyal, antioksidan, antihistaminik, antiinflamatuvar, antifungal ve antikanser gibi çok çeşitli biyoaktivitelere rağmen, uçucu yağlar ısı, nem ve oksijene oldukça duyarlıdır. Bahsedilen parametreler, yağ matrisindeki elementlerin katalitik özellikleriyle polimerizasyon ve oksidasyon reaksiyonlarına yol açmıştır. Böylece uçucu yağlar kalite, tazelik ve benzersizliğini kaybetmiştir. Çeşitli endüstrilerde ve sağlıktaki çok çeşitli antropojenik uygulamalar göz önüne alındığında, uçucu yağların organik ve inorganik kirleticilerinin varlığı yüksek doğruluk ve hassasiyetle izlenmelidir.

Eser element miktar tayini, hidrofobik matris nedeniyle yağ numunelerinde sıklıkla sorunlu bir sorun olmuştur. Küçük miktarlarda analit ve karmaşık organik matris, analiz için numune hazırlama adımı kritik hale getirir. Literatürde, ıslak / kuru kütleme, asit ekstraksiyonu ve analitin bir kenetleme maddesiyle yağ matrisi için sulu faz aktarılmasına dayanan çeşitli numune hazırlama prosedürleri vardır. Bu iyi yapılandırılmış matris eleme prosedürleri oldukça etkili görülebilir, ancak tehlikeli reaktiflerin aşırı kullanımı, analit kaybı veya kontaminasyon olasılığı ve patlama riskleri uygulamaları kısıtlar.



MATERYAL VE METOD

3.1 Al-Flr Sorbentinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Bu çalışmada, Cr, Ni, Cu, Pb, Mn ve Cd elementlerinin çeşitli esansiyel yağ örneklerinden ayrılması ve önderiştirilmesi amacıyla Floresein ile modifiye edilmiş Alüminyum Oksit (Al-Flr) sorbenti kullanıldı ve bu analitlerin tayinleri ICP-OES ile gerçekleştirildi.

3.2 Hedeflenen Önderiştirme Yöntemi

Cr, Ni, Cu, Pb, Mn ve Cd elementlerinin yağ bazlı örneklerden ayrılma ve önderiştirme yönteminin geliştirilmesi sırasında, elementlerin Al-Flr üzerine sorpsiyonu ve elüsyonu için çeşitli parametrelerin etkisi incelenmiştir. Sorpsiyon adımında, örnek hacmi (mL) ve analit sorbent yüzeyine tutunması için gerekli süre (s); elüsyon adımında ise elüsyon için kullanılacak elüent cinsi, sorbent-elüent çözeltisinin teması için gerekli süre (s) parametreleri batch metodu kullanılarak belirlenmiştir. Sorpsiyon ve elüsyon işlemlerine ait deneysel işlemler detaylı olarak aşağıda belirtilmiştir.

• Sorpsiyon Üzerine Süre Etkisinin İncelenmesi

• Analitin kantitatif olarak sorbent yüzeyine tutunması için gerekli sürenin belirlenmesi amacıyla, n-hekzan ile hazırlanmış Al-Flr ile çeşitli sürelerde vorteks kullanılarak muamele edilmiştir. Süre sonunda, süzöntü atılarak, yüzeyde tutunmadan kalan analit n-hekzan ile yıkanarak uzaklaştırıldı ve sorbent üzerine HNO₃ çözeltisi eklenip 60 s süre ile vorteks kullanılarak elüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ayrılan elüent içindeki analit derişimi ICP-OES ile belirlenmiştir.

• Elüent Çözeltisinin Seçimi

Analit iyonlarının sorbent yüzeyinden elüsyonu için, sorbent üzerine L hacimli çeşitli asit ve kompleksleştirici reaktif içeren çözeltier (CH₃COOH, HCl, HNO₃) eklendi ve vorteks uygulandı. İşlem sonunda süzöntüye geçen analit derişimi ICP-OES ile belirlenmiştir. En yüksek elüsyon veriminin elde edildiği çözelti, elüsyon çözeltisi olarak seçilmiştir.

• Elüsyon Üzerine Süre Etkisinin İncelenmesi

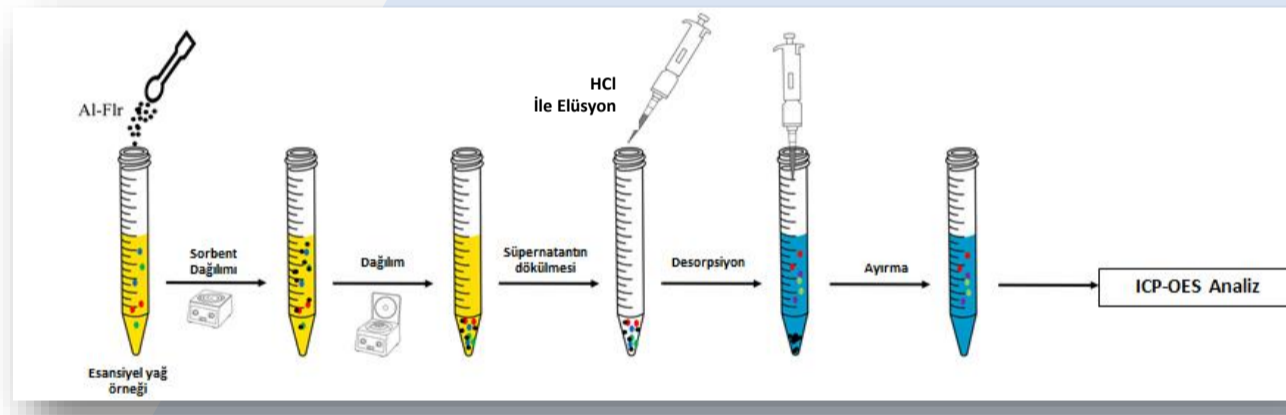
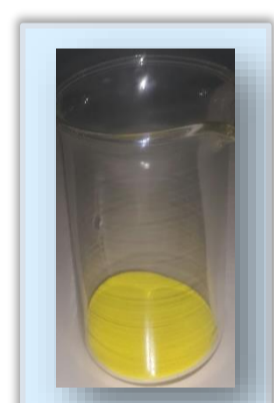
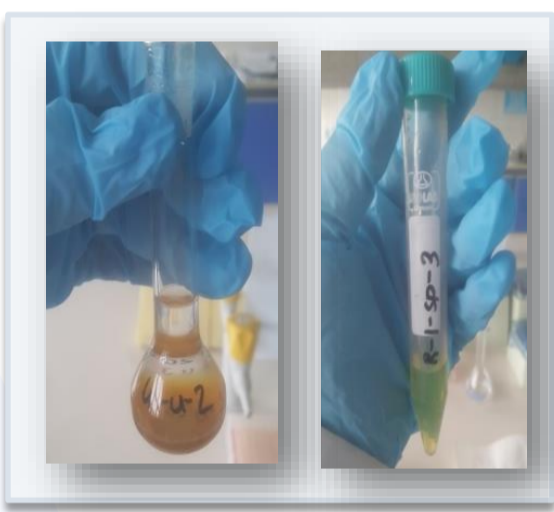
• Elüsyon işleminin kantitatif olarak gerçekleşeceği en kısa sürenin belirlenmesi için yapılan çalışmada, sorbent üzerine, bir önceki adımda seçilen elüent çözeltisi eklenerek çeşitli sürelerde muamele edilmiştir. İşlem sonunda süzöntüye geçen analit derişimi ICP-OES ile belirlenmiş ve en yüksek verimin elde edildiği çalışma süresi, elüsyon işlemlerinde kullanılmıştır.

• Örnek Hacim Çalışması

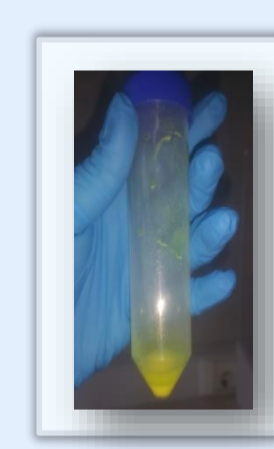
• Sorbentin yüzey özelliklerini kaybetmeden analiti gerçekleştirilebilecek en yüksek örnek hacminin belirlenmesi amacıyla, sabit miktarda analit içeren, çeşitli hacimlerde standart n-hekzan çözeltisi Al-Flr ile sorpsiyon için uygun sürede muamele edilmiştir. Süre sonunda, süzöntü atılarak, yüzeyde tutunmadan kalan analit n-hekzan ile yıkanarak uzaklaştırılmış ve elüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ayrılan elüent içindeki analit derişimi ICP-OES ile belirlendi ve kantitatif sorpsiyonun gerçekleştirildiği en yüksek örnek hacmi seçilmiştir.

Gerçek Örnek Analizleri

Cr, Ni, Cu, Pb, Mn ve Cd elementlerinin ayrılması ve önderiştirilmesi amacıyla geliştirilen yöntemin uygulanabilirliği, çörek otu ve nane yağı örneklerinin analizi ile test edilmiştir.



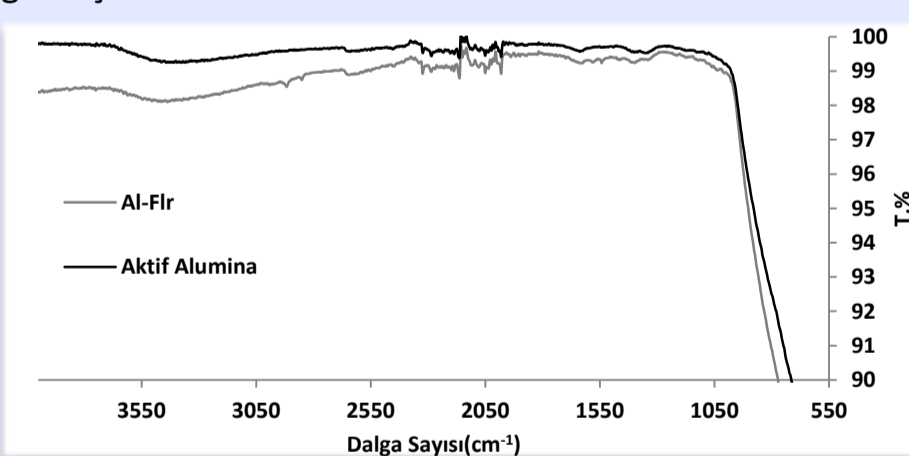
DENEYSEL BULGULAR



4.1 Sorbentin Karakterizasyonu

Sentezlenen modifiye Al-Flr sorbentinin karakterizasyonu FT-IR spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir.

Al-Flr ve aktif alümina için elde edilen FT-IR spektrumları incelendiğinde, Al-Flr sorbentine ait spektrumda 2917 ve 2850 cm⁻¹ dalga sayılarında görülen C-H titreşimlerine ait yeni pikler, modifikasyonu desteklemektedir. Ek olarak, 1700 cm⁻¹ ve 1624 cm⁻¹deki dalga sayıları, floresein yapısında bulunan karboksilik asidin (C=O) esnemesine ve aromatik (C=C) gerilmesine ait olduğu düşünülmektedir.

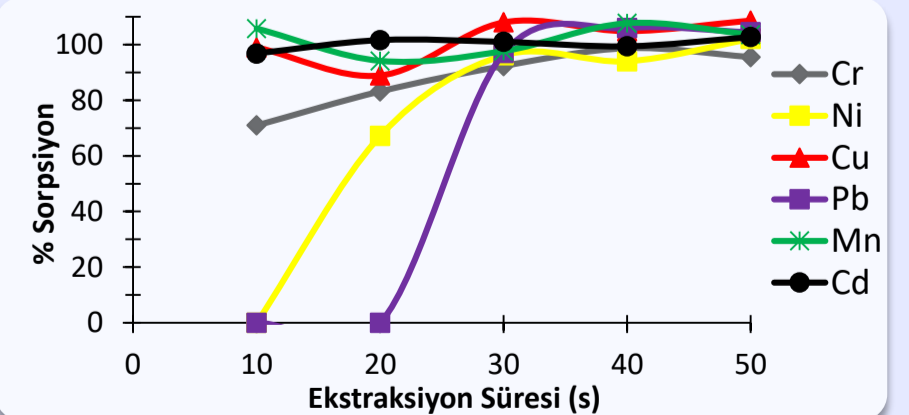


Alümina ve Al-Flr sorbentine ait FT-IR spektrumu

Elde edilen FT-IR spektrumları sayesinde, aktif alüminanın, floresein kullanılarak başarılı bir şekilde modifiye edildiğine karar verilmiştir.

4.2 Sorpsiyon Üzerine Süre Etkisinin İncelenmesi

Bilinen miktarda analit içeren 5 mL n-hekzan çözeltisi belirli sürelerde sorbent ile muamele edilmiştir. Daha sonra, örnek çözeltisi atılmış ve tutunmadan kalan analit n-hekzan ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Al-Flr üzerinde tutunan analit iyonları HNO₃ çözeltisi kullanılarak 60 s süre ile vortekslenerek elüe edilmiştir. Elüent içerisindeki Cr, Ni, Cu, Pb, Mn ve Cd elementlerinin tayini ICP-OES ile belirlenmiştir.



Hedef analit iyonlarının sorpsiyonu üzerinde süre etkisi

Söz konusu elementler için eş zamanlı ayırma ve tayininin hedeflendiği çalışmamızda 40 s ekstraksiyon süresinin uygun olduğuna karar verilmiştir.

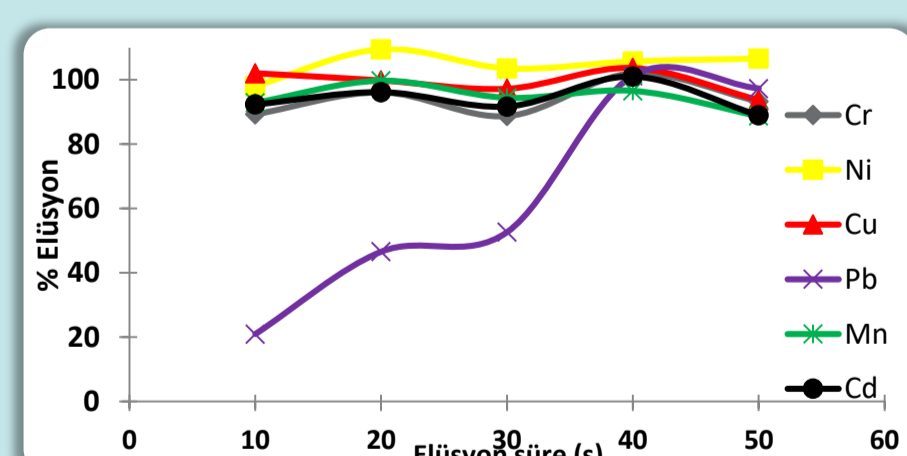
4.3 Elüent Çözeltisinin Seçimi

Analit iyonlarının Al-Flr sorbenti yüzeyinden elüsyonu için belirli miktarda analit içeren n-hekzan çözeltisi 60 s boyunca sorbent ile muamele edilmiştir. Tutunmadan kalan analit, n-hekzan ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Al-Flr üzerinde tutunan analit iyonları 5 mL hacimli belirli derişime sahip asit çözeltieri CH₃COOH, HCl, HNO₃, 60 s süre ile vorteks kullanılarak elüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda süzöntüye geçen analit derişimi ICP-OES ile belirlenmiştir.

En yüksek kantitatif elüsyon verimi HCl çözeltisi ile elde edilmiş ve bu çözeltinin elüent olarak kullanımına karar verilmiştir.

4.4 Elüsyon Üzerine Süre Etkisinin İncelenmesi

Elüsyon işleminin kantitatif olarak gerçekleşebileceği en kısa sürenin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, analit iyonu yüklenmiş sorbent üzerine, 5 mL 0.5 M HCl çözeltisi eklenerek belirli sürelerde sorbent ile muamele edilmiştir. İşlem sonunda süzöntüye geçen analit derişimi ICP-OES ile belirlenmiş ve en yüksek elüsyon veriminin elde edildiği çalışma süresi, uygun elüsyon süresi olarak belirlenmiştir.



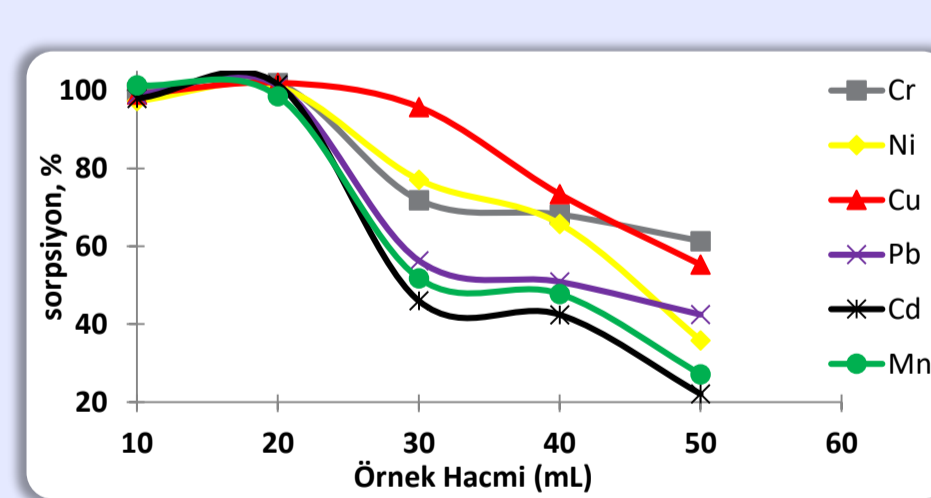
Hedef analit iyonlarının elüsyonunda süre etkisi

Deneysel sonuçlar incelendiğinde, söz konusu elementler için en yüksek elüsyon veriminin, söz konusu elementler için eş zamanlı ayırma ve tayininin hedeflendiği çalışmamız için 40 s elüsyon süresinin uygun olduğuna karar verilmiştir.



4.5 Uygun Örnek Hacminin Belirlenmesi

Sorbentin yüzey özelliklerini kaybetmesine neden olmadan, kantitatif ayırma ve önderiştirme yapılabilecek en yüksek örnek hacminin belirlenmesi amacıyla, belirli hacimlerde standart n-hekzan çözeltisi Al-Flr ile sorpsiyon için uygun sürede muamele edilmiştir. Süre sonunda, yüzeyde tutunmadan kalan analit n-hekzan ile yıkanarak uzaklaştırılmış ve elüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elüent içindeki analit derişimi ICP-OES ile belirlenerek, en yüksek sorpsiyon veriminin gerçekleştirildiği örnek hacmi seçilmiştir.



Örnek hacminin sorpsiyon üzerindeki etkisi

Deneysel sonuçlar incelendiğinde, söz konusu elementler için en yüksek sorpsiyon veriminin gerçekleştirildiği örnek hacminin 20 mL olduğuna karar verilmiştir.



4.7 Gerçek Örnek Analizleri

Cr, Ni, Cu, Pb, Mn ve Cd elementlerinin ayrılması ve önderiştirilmesi amacıyla geliştirilen yöntem uygulanabilirliği, optimum koşullarda, çörek otu yağı ve nane yağı örneklerine uygulanmıştır. Elde edilen analiz sonuçları Tablo 1' de verilmiştir.

Analit	Eklenen (μg kg ⁻¹)	Çörek Otu Yağı		Nane Yağı	
		Bulunan (μg kg ⁻¹)	%Geri Kazanım	Bulunan (μg kg ⁻¹)	%Geri Kazanım
Mn	0.0	43.8±1.7	-	5.9±0.3	-
	37.5	82.8±2.8	104.3	44.7±0.2	103.5
Cu	0.0	15.5±4.4	-	43.6±0.6	-
	37.5	49.8±3.1	91.5	79.0±0.2	94.2
Ni	0.0	LOD	-	LOD	-
	37.5	34.3±0.7	91.5	39.1±0.2	104.2
Cr	0.0	4.7±0.4	-	15.6±0.4	-
	37.5	42.7±2.6	101.2	51.5±0.2	95.8
Cd	0.0	3.7±0.3	-	19.9±1.9	-
	37.5	41.3±1.0	100.3	56.5±0.2	97.6
Pb	0.0	LOD	-	LOD	-
	37.5	38.9±0.8	103.6	37.4±0.2	99.7

Çörek otu yağı örneğinin analizi sonucunda, bilinen miktarda metal iyonu katılmış örneklerdeki geri kazanımların %91,5-104,3 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Nane yağı örneğinin analizi sonucunda, bilinen miktarda metal iyonu katılmış örneklerdeki geri kazanımların %94,2-104,2 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Görüldüğü gibi, çok farklı kaynaklardan elde edilmiş ve farklı organik bileşenler içeren doğal yağ örneklerinde de geliştirilen yöntemin % 91.5-104.3 geri kazanım aralığında uygulandığı görülmektedir. Kesinlik değerlerine bakıldığında oldukça tatmin edici bir aralıktadır. Dolayısıyla, önerilen yöntem yağ bazlı numune ve standartlarda yüksek doğruluk ve kesinlikle analize izin vermektedir. Bu proje ile yağ bazlı örneklerde Cr, Ni, Cu, Pb, Mn ve Cd tayini için doğru, kesin, seçimli, hızlı ve birlikte tayine imkan veren bir ayırma ve önderiştirme yöntemi geliştirilmiştir.

KAYNAKÇA

- [1] J. Richter, I. Schellenberg, Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (2007) 2207-2217. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-1045-6>
- [2] M. Moghaddam, L. Mehdi Zadeh, Chemistry of Essential Oils and Factors Influencing Their Constituents, *Soft Chemistry and Food Fermentation*, in: A. M. Grumezescu, A. M. Holban (Eds.), *Soft Chemistry and Food Fermentation*, Academic Press, London, 2017, pp. 379-419.
- [3] B. Ali, N. A. Al-Wabel, S. Shams, A. Ahamed, S. A. Khan, F. Anwar, Essential oils used in aromatherapy: A systemic review, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5 (2015) 601-611. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>
- [4] M. M. Won, E. J. Cha, O. K. Yoon, N. S. Kim, K. Kim, D. S. Lee, Use of headspace mulberry paper bag micro solid phase extraction for characterization of volatile aromas of essential oils from Bulgarian rose and Provence lavender, *Analytica Chimica Acta* 631 (2009) 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.10.013>
- [5] N. F. S. Morsy, Chemical Structure, Quality Indices and Bioactivity of Essential Oil Constituents, in: H. El-Shemy (Eds.), *Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants*, InTechOpen, London, 2017, pp. 175-206.
- [6] F. Tokay, S. Bağdat, Spectrometric determination of iron and copper in vegetable oils after separation with Schiff base impregnated silica gel column: A simple approach for eliminating the high organic matrix, *International Journal of Food Science and Technology* 50 (2015) 2694-2699. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12948>
- [7] F. Tokay, S. Bağdat, Preconcentration and Determination of Metal Ions Using Fluorescein-Modified Silica Gel and Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry, *Analytical Letters* 51 (2018) 119-132. <https://doi.org/10.1080/00032719.2016.1269779>