



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONJUGE LİNOLEİK ASİDİN KROMATOGRAFİK TAYİNİNİN İNCELENMESİ

Ayşe Gökçen SARAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Temmuz -2010
KONYA
Her Hakk› Sakl›d›r

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Ayşe Gökçen SARAÇ

17.08.2010

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KONJUGE LİNOLEİK ASİDİN KROMATOGRAFİK TAYİNİNİN İNCELENMESİ

Ayşe Gökçen SARAÇ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dal›

Danışman: Prof.Dr. Hüseyin KARA

2010, 188 Sayfa

Jüri
Prof.Dr. Hüseyin KARA

Son y›llarda hastal›klar›n önlenmesi ve tedavi edilmesi maksad›yla fonksiyonel besinler ve doğal sağlık ürünleri daha fazla tüketilmeye başlanmıştır. Fonksiyonel besinler; besleyici özellikleri dışında vücudumuza fizyolojik yararlar sağlayan ve kronik hastal›k riskini azaltabilen besinler olarak tan›mlanmaktad›r. Bu fonksiyonel bileşiklerden birisi de son y›llarda büyük ilgi gören, insan sağlığı için çok önemli etkileri bulunan konjuge linoleik asit (CLA) izomerleridir.

CLA; esansiyel bir yağ asidi olan ve 18 karbon atomu ile iki çift bağ içeren linoleik asidin (C18:2, c-9,c-12) (omega-6) konjuge olmuş çok sayıdaki pozisyonel ve geometrik izomerlerinin karışımı için kullanılan ortak bir terimdir. CLA'nın çift bağları cis yada trans formunda bulunmaktadır. Bu bağların cis ya da trans formunda bulunması, bileşiğin biyolojik olarak farklı aktiflik göstermesine neden olmaktad›r. CLA'nın 28 adet farklı izomerinin bulunduğu bilinmesine karşın, şimdiye kadar bunlardan yaln›zca c-9, t-11 ve t-10, c-12 izomerlerinin biyolojik olarak özellikleri tespit edilebilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Bu çalışmada; insan metabolizması üzerinde bağışıklık sistemini güçlendirme, kanser oluşumunu azaltma veya yok etmeye, kemik ve kıkırdak sağlığını iyileştirme, yüksek kolesterolü ve damar tıkanıklığını engelleyerek kalp hastalıklarından koruma ve obeziteyi engelleme gibi pek çok faydas› olduğu belirtilen Konjuge Linoleik Asitin (CLA) çeşitli yenilebilir yağlardaki miktarlarının ve izomer yüzdelerinin, önemli bir teknik olan gaz kromatografi teknikleri ile (GC-FID & GC-MS) tespit edilmesi için deneysel parametrelerin optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Standartlarda ve literatürde yer alan baz› metotlar incelenerek ön denemeler gerçekleştirilmiş, 4 farkl› CLA izomeri (c-9 t-11, t-10c-12, c-9 c-11 ve t-9 t-11) ile hazırlanan standart karışım kullanılarak GC-FID & GC-MS sistemlerinde tarafımızdan geliştirilmiş olan HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 metotlar› uygulanmış, akış hızı ve hareketli faz türü gibi deney parametreleri optimize edilmiştir.

Optimizasyon çalışmaları tamamlanan bu metotlar kullanılarak, CLA`in çeşitli yağ örneklerindeki izomerlerinin bağıl yüzdeleri tespit edilmiştir. İki farklı hareketli faz kullanılarak gerçekleştirilen tereyağı analizlerinden elde edilen veriler incelendiğinde; oluşturulan bu metotlar ile yağ numunelerinde, sağlık üzerine pek çok olumsuzluğu kanıtlanmış olan trans yağ asitleri dâhil olmak üzere, doymuş ve doymamış tüm yağ asitlerinin ve CLA izomerlerinin ayrımında başarılı sonuçlar sağlanabildiği görülmüştür. Elde edilen veriler; tereyağı numunesinin toplamda %1 düzeyinde CLA izomeri içermekte olduğunu ve toplam CLA'nın %80'nini 9-cis, 11-trans, %4'ünü 9-trans, 11-cis, %3'ünü 10-trans, 12-cis, %3'ünü 9-cis,11-cis, %10'unu 9-trans,11-trans izomerinin oluşturduğunu göstermektedir.

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarla; canl›lar aç›s›ndan oldukça büyük bir öneme sahip CLA`in kalitatif ve kantitatif tayini için uygulanabilirliği kolay metotlar geliştirilmiş ve bu metodlarla etkili bir yöntem olan GC-FID & GC-MS teknikleri kullanılarak yenilebilir yağlarda bulunan CLA izomer çeşitlerinin tespit edilmesi sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yağ, yağ asidi, CLA, GC, GC-MS, Optimizasyon.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF CONJUGATED LINOLEIC ACID

Ayşe Gökçen SARAÇ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

Advisor: Prof.Dr. Hüseyin KARA

2010, 188

Jury
Advisor Prof.Dr. Hüseyin KARA

In recent years, the purpose of prevention of disease and treatment of functional foods and natural health products are being began to consume more. Functional foods are defined as foods our body physiological benefits and they can reduce the risk of chronic diseases outside nutritional properties. One of these functional compounds conjugated linoleic acid (CLA) isomers, are of great impact in recent years, are important implications for human health.

CLA is an essential fatty acid and the common term used for 18 of carbon atoms with two double bonds that contain the mixture of conjugated numerous positional and geometric isomers of linoleic acid (C18: 2, c-9, C-12) (omega-6). Double bonds of CLA are in cis or trans form. Due to cis or trans form of these bounds, the compound demonstrate different biological activity. Although it is known as 28 pieces of different isomers in CLA, so far only c-9, t-11 and t-10, c-12 isomers of the biological properties could be identified.

In this study, optimization studies of the experimental parameters were carried out to identify the percentage and the amount of conjugated linoleic acid (CLA) isomers having benefits on human metabolism such as strengthening the immune system, reduction or destroyed cancer, improvement the bones and cartilage health,

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

prevention heart disease by preventing high cholesterol and vascular congestion and protection obesity in a variety of edible oils by using gas chromatography technique (GC-FID & GC-MS).

Some methods are examined in the Standards and literature and the pre-experiments were evaluated, four different CLA isomers (c-9 t-11, T-10C-12, c-9 c-11 and t-9 t-11) were prepared with the standard mixture using the GC -FID & GC-MS system HKARA-10, Metot-2 and Metot-3 methods, were developed by us, were applied and some experimental parameters were optimized.

The relative percentage of CLA isomers in the various oil samples were determined by using these methods which were completed the optimization studies. Two different mobile phases were used in butter analyzes and when obtained datas were examined, by using these methods in the oil samples, successful results were achieved on the separation of all fatty acids and CLA isomers, including trans fatty acids that a lot of negativity proven on health, saturated and unsaturated. The obtained datas show that butter sample contains CLA isomers 1% level in total and this are seperated into 80% 9-cis, 11-trans, 4% 9-trans, 11-cis , 3%, 10-trans, 12-cis, 3% 9-cis,11-cis and 10% 9-trans, 11-trans isomer.

By means of the part of the experiments in this study, applicability of the easy methods for qualitative and quantitative determination of the CLA that have a huge importance in terms of lives have been developed and determining various CLA isomer types in the edible oils was provided by using effective GC-FID & GC-MS techniques.

Keywords: Oil, Fatty Acid, CLA, GC, GC-MS, Optimization.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Hüseyin KARA danışmanlığında hazırlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Tez süresince yap›lan deneysel çalışmaların tamamı; Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) kapsamında sağlanan destekler ile gerçekleştirilmiştir.

Deneysel çalışmalar; S.Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Araştırma Labratuvarı`nda yürütülmüştür.

Yüksek Lisans çalışması olarak sunduğum bu çalışmanın hazırlanmasında, kaynak araştırmasında her türlü bilgi ve önerileriyle yol gösteren danışman hocam Say›n Prof. Dr. Hüseyin KARA beyefendiye sonsuz sayg› ve şükranlarımı sunar›m.

Tez süresince çalışmalarımı izleyen, fikirleri ve tecrübesi ile çalışmamı yönlendiren, her zaman desteğini benden esirgemeyen değerli hocam Sayın Arş. Gör. Hamide Filiz AYYILDIZ'a ve Say›n Arş. Gör. Fatma Nur ARSLAN'a sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunar›m.

Çalışmalarım süresince emeği geçen ve deneyler sırasındaki yardımlarından dolayı doktora öğrencisi Uzman Mustafa TOPKAFA'ya, analitik araştırma ekibinden Say›n Yrd. Doç. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI, Arş. Gör. Fatih DURMAZ, Arş. Gör. Orhan GEZİCİ ve yüksek lisans öğrencisi İsmail TARHAN'a teşekkürlerimi sunar›m.

Ayrıca tez çalışmalarım süresince manevi anlamda her zaman yanımda olan, sevgi ve şefkatlerini esirgemeyen sevgili anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Ayşe Gökçen SARAÇ
KONYA-2010

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **I**

ABSTRACT ..... **III**

ÖNSÖZ ..... **V**

İÇİNDEKİLER ..... **VI**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **X**

TABLOLAR LİSTESİ ..... **XIII**

SİMGELER ..... **XIV**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Yağlar ve Özellikleri 2

1.1.1. Yağın Kimyasal Kompozisyonu 3

1.1.1.1. Ana bileşen – trigliseridler 3

1.1.1.2. Minör bileşenler 4

1.2. Yağ Asitleri 6

1.2.1. Yağ asitlerinin genel yapısı 6

1.2.2. Yağ asitlerinin sınıflandırılması 7

1.2.3. Yağ asitlerinin fiziksel özellikleri 9

1.2.4. Trans yağ asitlerinin yapısı ve oluşumu 10

1.3. Konjuge Linoleik Asit 11

1.3.1. Konjuge linoleik asit oluşumu 12

1.3.2. Konjuge linoleik asit (CLA) kaynaklar› 13

1.3.3. CLA n›n biyosentezi 15

1.3.4. Rumende biyohidrojenasyon 16

1.3.5. CLA'in fizyolojik etkileri 18

1.3.6. G›dalarda CLA analizi 19

1.4. Kaynak Araştırması 20

1.4.1. Literatür özetleri 20

1.4.2. Çalışmanın Amacı 27

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2. KROMATOGRAFİ 29

2.1. Kromatografi Metotlar›n›n S›n›fland›r›lmas› 29
2.1.1.Sabit faz›n yap›s›na göre 30
2.1.1.1. Adsorpsiyon kromatografisi 30
2.1.1.2. Dağılma kromatografisi 31
2.1.1.3. İyon değiştirme kromatografisi 31
2.1.1.4. Sterik seçiçi kromatografisi 32
2.1.2. Hareketli faz›n yap›s›na göre 32
2.2. Kromatografide Kullan›lan Terimler 33
2.2.1. Kromatogram 33
2.2.2. Çözünenlerin Göç H›zlar› 34
2.2.2.1. Kromatografideki partisyon oranlar› 34
2.2.2.2. Tutulma süresi: 34
2.2.2.3. Kapasite faktörü (çözünenin göç h›z›) 35
2.2.2.4. Seçicilik katsayısı (bağıl göç hızları) 35
2.2.3. Kolon Verimliliği 35
2.2.4. Kolon Verimliliğini Etkileyen Değişkenler 35
2.2.4.1. Tabaka yüksekliği 35
2.2.4.2. Hareketli faz akış hızının etkisi 36
2.2.4.3. Bant genişlemesinin teorisi 37
2.2.4.4. Kolonun ay›rma gücü (Rezolüsyon) 38
2.2.4.5. Kapasite ve seçicilik faktörlerinin Ay›rma gücüne etkisi 39
2.2.4.6. Genel elüsyon problemi 40
2.3. Kromatografinin Uygulamalar› 41
2.3.1. Kalitatif Analiz 41
2.3.2. Kantitatif Analiz 41
2.3.2.1. Pik yüksekliğine dayalı analizler 42
2.3.2.2. Pik alan›na dayal› analizler 42
2.3.2.3. Standartlarla kalibrasyon 42
2.3.2.4. İç-Standart metodu 43
2.4. Gaz Kromatografisi 43
2.4.1. Gaz-s›v› kromatografi 44

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2.4.1.1. Al›konma hacimleri 44
2.4.1.2. V_g ile K arasındaki ilişki 44
2.4.1.3. Hareketli faz akış hızının etkisi 44
2.4.2. Gaz-kat› kromatografi 45
2.4.2.1. Moleküler elek 45
2.4.2.2. Gözenekli polimerler 45
2.4.3. Gaz kromatografi cihaz› 46
2.4.3.1 Taşıyıcı gaz 46
2.4.3.2. Numune enjeksiyon sistemi 46
2.4.3.3. Kolon f›r›n 47
2.4.3.4. Dedeksiyon Sistemleri 47
2.4.4. Gaz Kromatografisinde Kolonlar ve Durgun Fazlar 49
2.4.4.1. Aç›k borusal kolonlar 49
2.4.4.2. Dolgulu kolonlar 50
2.4.4.3. Durgun Faz 50
2.4.5. Gaz kromatografi ile spektroskopik yöntemlerin birlikte kullan›m› 52
2.5. Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometri (GC/MS) 52
2.5.1. Kütle spektrometresinin bölümleri 53
2.5.1.1. İyon kaynakları 54

3. MATERYAL VE METOT 60

3.1. Kullan›lan Kimyasal Maddeler 60
3.2. Kullan›lan Cihazlar 60
3.3. Deneysel K›s›m 60
3.3.1. Kromatografik analizler için yağ numunelerinin hazırlanması 61
3.3.2. CLA analizi için metot parametrelerinin optimizasyonu 62
3.3.3. Yağ numunelerinde CLA miktarlarının ve izomer türlerinin tespiti 69
3.3.4. Kromatografik değerlendirmeler ve istatistiksel hesaplamalar 69

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 73

4.1. CLA Analizi İçin Metot Parametrelerinin Optimizasyonu: 75

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.1. HKARA-10 için Metod Parametrelerinin Optimizasyonu (GC/FID ve GC/MS) 75
4.1.1.1. He taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler 75
4.1.1.2. He taşıyıcı gazı ile GC/MS Sisteminde gerçekleştirilen analizler 82
4.1.1.3. H_2 taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler 88
4.1.2. Metot-2 için Metod Parametrelerinin Optimizasyonu (GC/FID ve GC/MS) 94
4.1.2.1. He taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler ... 94
4.1.2.2. He taşıyıcı gazı ile GC/MS Sisteminde gerçekleştirilen analizler ... 99
4.1.2.3. H_2 taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler... 104
4.1.3. Metot-3 için Metod Parametrelerinin Optimizasyonu (GC/FID ve GC/MS) 109
4.1.3.1. He taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler .. 109
4.1.3.2. He taşıyıcı gazı ile GC/MS Sisteminde gerçekleştirilen analizler .. 114
4.1.3.3. H_2 taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler . 119
4.2. Yağ Numunelerinde CLA Miktarlarının ve İzomer Türlerinin Tespiti 125
4.2.1. Tereyağı Analizleri (GC/FID & GC/MS Sistemi):..... 125
4.2.2. Margarin Analizleri (GC/FID) 135
4.3. İstatistiksel Hesaplamalar 143
4.3.1. GC/ FID Sistemi; HKARA-10 Metodu; He & H_2 Hareketli Faz›..... 143
4.3.2. GC/ FID Sistemi; HKARA-20 Metodu; He & H_2 Hareketli Faz›..... 148
4.3.1. GC/ FID Sistemi; HKARA-30 Metodu; He & H_2 Hareketli Faz›..... 153

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 158

KAYNAKLAR 160

ÖZGEÇMİŞ 168

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 1. Yağın Temel Bileşenleri 2
Şekil 1. 2. Basit Ve Karışık Trigliserit Yap›lar 4
Şekil 1. 3. Doymuş, Tekli Doymamış Ve Çoklu Doymamış Yağ Asitleri 7
Şekil 1. 4. Yağ Asitlerinin Doymuşluk Derecelerine Göre S›n›fland›r›lmas› 8
Şekil 1. 5 (A) Linoleik Asit, C18:2, (B) CLA 10t,12c İzomeri, (C) CLA 9c,11t İzomeri 11
Şekil 1. 6. Linoleik Ve Konjüge Linoleik Asidin Kimyasal Yap›lar› 21
Şekil 1. 7. (A) Linoleik Asit, C18:2, (B)CLA 10t,12c İzomeri, (C) CLA 9c,11t İzomeri 22
Şekil 1.8. 18 Karbonlu Doymamış Yağ Asitlerinin Rumende Biyohidrojenasyonu 23
Şekil 2.1. Tabaka Yüksekliği Tanımı 36
Şekil 2.2.Hareketli Faz Akış Hızının Tabaka Yüksekliğine Etkisi 37
Şekil 2.3. Normal Bir Dağılım Eğrisinde, Alanın Σ Değerlerine Göre Ayrılması. 38
Şekil 2.4. Karışımda Bulunan A Ve B Maddeleri Piklerinin % 2,5'lik Kısımları 39
Şekil 2.5. R_s = 0,80 Olmas› Halinde A Ve B Piklerinin Yaklaşık Görünüşü. 39
Şekil 2.6. Kromatografide Genel Elüsyon Problemi 40
Şekil 2.7. Bir Gaz Kromatografi Cihazının Şeması 46
Şekil 2.8. Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrenin Bölümleri 53
Şekil 2.9. Dekanolün (A) Sert Ve (B) Yumuşak Bir Kaynakla Alınmış Kütle Spektrumlar› 55
Şekil 2.10. Etil Benzenin Kütle Spektrumu. 58
Şekil 2.11. Metilen Klorürün Elektron İmpakt Kütle Spektrumlan 59
Şekil 2.12. 1-Pentanol'ün Elektron İmpakt Kütle Spektrumlan. 59
Şekil 4.1. HKARA-10 Metodu İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID Sistemi He) 75
Şekil 4.2. 9-Cis,11-Trans CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (HKARA-10 Met. GC/FID He) 77
Şekil 4.3. 10-Trans,12-Cis CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA -10 Met. GC/FID He) 77
Şekil 4.4. 9-Cis, 11-Cis CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (HKARA -10 Metodu- GC/FID He) 78
Şekil 4.5. HKARA -10 Metodu 1 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID He) 79
Şekil 4.6. HKARA -10 Metodu İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/MS Sistemi He) 82
Şekil 4.7. 9-Cis, 11-Trans CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu GC/MS He) 83
Şekil 4.8. 10-Trans, 12-Cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (HKARA -10 MetoduGC/MS He) 83
Şekil 4.9. 9-Cis, 11-Cis CLA Standartı Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (HKARA -10 Metodu- GC/MS He) 84
Şekil 4.10. HKARA -10 Metodu 1 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/MS He) 85
Şekil 4.11. HKARA -10 Metodu İçin Farklı Akış Hızı Analizleri(GC/FID Sistemi H_2) 88
Şekil 4.12. Farkl› Hareketli Fazlar›n HETP Değerlerinin Karşılaştırılması 89
Şekil 4.13. 9-Cis, 11-Trans CLA Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (HKARA -10 Metodu GC/FID H_2) 90
Şekil 4.14. 10-Trans,12-Cis CLA Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (HKARA -10 Met.GC/FID H_2) 91
Şekil 4.15. 9-Cis, 11-Cis CLA Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (HKARA -10 Metodu GC/FID H_2) 91
Şekil 4.16. HKARA -10 Metodu 1 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID H_2) 92
Şekil 4.17. Metot-2 İçin Farklı Akış H›z› Analizleri (GC/FID He) 94

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.18. 9-Cis, 11-Trans CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2 - GC/FID He) 95
Şekil 4.19. 10-Trans, 12-Cis CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2- GC/FID He) 95
Şekil 4.20. 9-Cis, 11-Cis CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2- GC/FID He) 96
Şekil 4.21. Metot-2 1 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID He) 97
Şekil 4.22. Metot-2 İçin Farklı Akış H›z› Analizleri (GC/MS He) 99
Şekil 4.23. 9-Cis, 11-Trans CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/MS He) 100
Şekil 4.24. 10-Trans, 12-Cis CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/MS He) 100
Şekil 4.25. 9-Cis, 11-Cis CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/MS He) 101
Şekil 4.26. Metot-2 1 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/MS He) 101
Şekil 4. 27. Metot-2 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID H_2) 104
Şekil 4.28. 9-Cis, 11-Trans CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/FID H_2) 105
Şekil 4.29. 10-Trans, 12-Cis CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/FID H_2) 105
Şekil 4.30. 9-Cis, 11-Cis CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/FID H_2) 106
Şekil 4.31. Metot-2 0.7 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID H_2) 107
Şekil 4.32. Metot-3 Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID Sistemi He) 109
Şekil 4.33. 9-Cis, 11-Trans CLA İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID He) 110
Şekil 4.34. 10-Trans, 12-Cis CLA için Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID He) 110
Şekil 4.35. 9-Cis, 11-Cis CLA için Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID He) 111
Şekil 4.36. Metot-3 0.7 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID He) 111
Şekil 4.37. Metot-3 İçin Farklı Akış Hız› Analizleri (GC/MS Sistemi He) 114
Şekil 4.38. 9-Cis, 11-Trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/MS He) 115
Şekil 4.39. 10-Trans, 12-Cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/MS He) 115
Şekil 4.40. 9-Cis, 11-Cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/MS He) 116
Şekil 4.41. Metot-3 0.5 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/MS He) 117
Şekil 4.42. Metot-3 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID Sistemi H_2) 119
Şekil 4.43. 9-Cis, 11-Trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID H_2) 120
Şekil 4.44. 10-Trans, 12-Cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID H_2) 120
Şekil 4.45. 9-Cis, 11-Cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP Ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID H_2) 121
Şekil 4.46. Metot-3 0.5 ml/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID H_2) 122
Şekil 4.47. Hkara-10 Metodu Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2) 127
Şekil 4.48. Metot-2 Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2) 128
Şekil 4.49. Metot-3 Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2) 129
Şekil 4.50. Hkara-10 Metodu Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID He) 130
Şekil 4.51. Metot-2 Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogram›(GC/FID He) 131
Şekil4. 52. Metot-3 Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID He) 132
Şekil 4.53. Hkara-10 Metodu Margarin Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2) 136
Şekil 4.54. Metot-2 Margarin Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogram›(GC/FID H_2) 137
Şekil 4.55. Metot-3 Margarin Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2) 138
Şekil 4.56. Hkara-10 Metodu Margarin Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID He) 139
Şekil 4.57. Metot-2 Margarin Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID He) 140
Şekil 4.58. Metot-3 Margarin Yağ Asit Kompozisyonu Ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID He) 141
Şekil 4.59. Hkara-10 Metodu CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karş Pik Alanının Değişimi (GC/FID He) 145
Şekil 4.60. Hkara-10 Metodu CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karş Pik Alanının Değişimi (GC/FID H_2) 146

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.61. Hkara-10 Metodu CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi (GC/FID He) 147
Şekil 4.62. Hkara-10 Metodu CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi (GC/FID H_2)..... 147
Şekil 4.63. Metot-2 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID He)..... 150
Şekil 4.64 Metot-2 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID H_2) 151
Şekil 4.65. Metot-2 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID He)..... 152
Şekil 4.66. Metot-2 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi (GC/FID H_2) 152
Şekil 4.67. Metot-3 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID He)..... 155
Şekil 4.68. Metot-3 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID H_2) 156
Şekil 4.69. Metot-3 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID He)..... 157
Şekil 4.70. Metot-3 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID H_e) 157

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. 1. Bazı Gıdaların CLA İçerikleri 24
Tablo 2.1. Kolon Kromatografisi Metotlar›n›n S›n›fland›r›lmas› 30
Tablo 2. 2. Gaz-Sıvı Kromatografi İçin Bazı Yaygın Durgun Fazlar 51
Tablo 2.3. Moleküler Kütle Spektroskopide Kullanılan İyon Kaynakları 54
Tablo 3. 1. Analizler İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler 60
Tablo 3.2. HKARA-10 Metodu İçin Deneysel Parametreler 63
Tablo 3.3. HKARA-10 Metodu İçin Optimizasyon Parametreleri 64
Tablo 3.4. HKARA-20 Metodu İçin Deneysel Parametreler 65
Tablo 3.5. HKARA-20 Metodu İçin Optimizasyon Parametreleri 66
Tablo 3.6. HKARA-30 Metodu İçin Deneysel Parametreler 67
Tablo 3.7. HKARA-30 Metodu İçin Optimizasyon Parametreler 68
Tablo 4.1. CLA İzomerlerinin Geometrik Ve Pozisyonel Yapılarına Göre Çıkış Sıralaması 74
Tablo 4.2. HKARA-10 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları 81
Tablo 4.3. HKARA-10 İçin Farklı Akış Hız› Analizleri Kromatografik Hesaplamalar› 87
Tablo 4.4. HKARA-10 İçin Farklı Akış Hp›z› Analizleri Kromatografik Hesaplamalar› 93
Tablo 4.5. HKARA-20 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları 98
Tablo 4.6. HKARA-20 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları 103
Tablo 4.7. HKARA-20 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları 108
Tablo 4.8. HKARA-30 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamalar› 113
Tablo 4.9. HKARA-30 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları 118
Tablo 4.10. HKARA-30 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları 123
Tablo 4.11. HKARA-10, HKARA-20 Ve HKARA-30 Metodu Hareketli Faz Karşılaştırma Analizleri İçin Kromatografik Hesaplamalar 124
Tablo 4.12. GC/FID Sisteminde HKARA-10, HKARA-20 Ve HKARA-30 Metodu İle Gerçekleştirilen Tereyağı Analiz Sonuçları 134
Tablo 4.13. GC/FID Sisteminde HKARA-10, HKARA-20 Ve HKARA-30 İle Margarin Analiz Sonuçları 142
Tablo 4.14. GC/FID Sisteminde HKARA-10 Metodu İle Margarin Yağı Analiz Sonuçları 144
Tablo 4.15. GC/FID Sisteminde HKARA-20 Metodu İle Margarin Yağı Analiz Sonuçları 149
Tablo 4.16. Gc/FID Sisteminde HKARA-30 Metodu İle Margarin Yağı Analiz Sonuçlar› 154

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

SİMGELER

Simgeler

α **:** Seçicilik katsay›s›

$\mathbf{C_M}$ **:** Çözünenin hareketli fazdaki konsantrasyonu

$\mathbf{C_S}$ **:** Çözünenin durgun fazdaki konsantrasyonu

H : Tabaka yüksekliği

K : Dağılma katsayısı

k' : Kapasite faktörü

L : Kolon uzunluğu

N : Teorik tabaka say›s›

$\mathbf{R_S}$ **:**Ay›rma gücü

$\mathbf{t_M}$ **:**Hareketli faz›n tutulma süresi

$\mathbf{t_R}$ **:**Tutulma süresi

u : Hareketli faz moleküllerinin ortalama doğrusal hızı

v : Çözünenin ortalama göç h›z›

W : Pik genişliği

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

1. GİRİŞ

İnsanların gerek zihinsel gerekse fiziksel fonksiyonlar›n› yerine getirebilmesi, onların beslenme durumuyla yakından ilgilidir. Sağlıklı yaşama, büyüme, gelişme, zihinsel ve bedensel fonksiyonlarının sürekliliği ancak yeterli ve dengeli beslenme ile sağlanabilir (Çelik, S. ve Demirel, M. , 2004).

G›dalar›n temel fonksiyonlar›, organizman›n metabolik aktivitesi için gerekli olan protein, enerji, vitamin ve mineraller gibi mikro ve makro besin unsurlar›n› sağlamakla birlikte, sağlık açısından olumlu etkileri olan omega-3 yağ asitleri, konjuge linoleik asit, beta karotenler, likopen, resveratol, polifenoller, selenyum, askorbikasit, metilaminoetanol ve alfa lipoikasit gibi birçok bileşiği de içermektedirler.

Bu nedenle fonksiyonel besinler ve doğal sağlık ürünleri daha fazla tüketilmeye başlamıştır. Fonksiyonel besinler, besleyici özellikleri dışında vücudumuza fizyolojik yararlar sağlayan ve kronik hastalık riskini azaltabilen besinlere denilmektedir (Corino, C. ve ark., 2007)

Bu fonksiyonel bileşiklerden birisi de, son yıllarda büyük ilgi gören ve gerek deney hayvanları gerekse insanlar üzerinde yürütülen çalışmalar sonucu, insan sağPlığı üzerine çok önemli etkileri bulunan ve özellikle ruminant hayvanlardan elde edilen ürünlerde bulunan konjuge linoleik asit (CLA) izomerleridir.

CLA, esansiyel bir n-6 yağ asidi olan linoleik asidin (*c*9,*c*12 C18:2) 28 farkl› pozisyonel ve geometrik izomerleri için kullanılan bir terimdir. Çift bağlar, karbon zincirinde 7,9; 8,10; 9,11; 10,12 ya da 11,13 pozisyonlar›nda ve farkl› *cis-trans* konfigürasyonlar›nda (*cis/cis; trans/trans; cis/trans* ya da *trans/cis*) bulunur. Bu pozisyonel ve geometrik izomerizasyon bileşiklere farklı biyolojik özellikler kazand›r›r. G›dalarda en çok 9c, 11t ve 10t, 12c izomerleri bulunur. Bu izomerler CLA'in biyolojik aktif izomerleridir. Hayvanlar üzerinde yapılmış çalışmalara göre, 9c, 11t izomerinin anti-kansorejen etki gösterdiği ve 10t, 12c izomerinin ise kas miktarını arttırdığı gözlenmiştir. Biyolojik etkinliğe sahip bu izomerler toplam CLA izomerlerinin %80-90'ını oluşturur (Fritsche J, Steinhart H., 1998)

Süt, peynir, yoğurt, tereyağı, sığır eti gibi ürünler başlıca CLA kaynaklarıdır. Özellikle kuzu eti CLA bak›m›ndan en zengin kaynaklardan biridir. Hayvansal

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

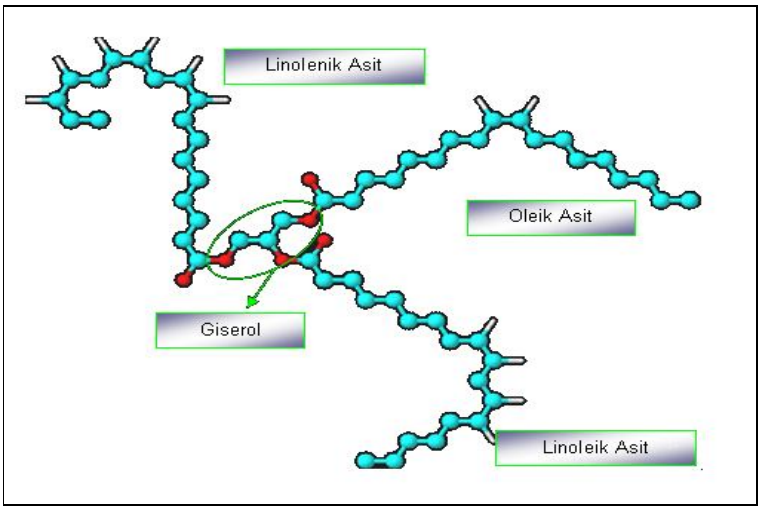
gıdaların yanı sıra bazı sebzeler de düşük miktarlarda CLA içermektedirler. Bunun yanında bazı sıvı yağ türlerinde de az miktarda CLA bulunmaktadır.

Yapılan birçok çalışmada CLA izomerleri gaz kromatografisi tekniği ile ayrılmaya çalışılmış fakat bu izomerlerin polaritelerinin ve kaynama noktalarının birbirine çok yakın olmasından dolayı verimli bir şekilde birbirlerinden ayrılamamışlardır. Yapılacak olan optimizasyon çalışmaları ile bu izomerler birbirinden verimli bir şekilde ayrılabilirler.

1.1. Yağlar ve Özellikleri

Yağlar, çift karbon sayılı (4-24) doymuş ve/veya doymamış yağ asitlerinin gliserin ile yaptıkları triesterlerdir. Saf yağın bileşiminde C, H, O elementleri bulunur. Bu bileşikler suda çözünmediği halde pek çok organik çözücüde çözünürler. Sudan daha düşük yoğunluğa sahiptirler.

Tabii yağlar, kaynaklara göre bitkisel ve hayvansal olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Süt yağı, vücut yağı hayvansal kökenli, tohum yağı (zeytin, hindistan cevizi, mısır, susam, fıstık) bitkisel kökenli yağdır. Tabii yağlar fiziksel özelliklerine göre kat›, yar›-kat›, s›v› olarak s›n›fland›r›l›rlar. Yağlar, teknik özelliklerine göre, kuruyan yağlar (iyot indisi 130'un altında olanlar), yarı kuruyan yağlar (iyot indisi 90-130), kurumayan yağlar (iyot inidisi 902 n›n alt›nda olanlar) olmak üzere üç gruba ayrılırlar. İyot indisi doymamışlık özelliğinin bir belirtisidir. Kuruma yağın oksijen tutma kabiliyetidir.



Şekil 1. 1. Yağın temel Bileşenleri

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Yağların;

- Yoğun bir kalori kaynağı olması
- Enerji ihtiyacını karşılama,
- Yağda eriyen vitaminleri taşıma gibi hayati fonksiyonlara sahip olduklar› bilinmektedir. Gliserin ve serbest yağ asitlerine kolayca parçalanabilir bir özelliktedir. Bütün yenilebilen yağlar aynı iskelete sahiptirler. Farklı yağlardaki R1, R2, R3 köklerindeki karbon sayısı, çift bağ miktar farkl› olabilir.

Yağlar, yağlı tohumlardan; kabuk ayırma, presleme, çözücü ekstraksiyonu ve ay›rma metotlar› ile yap›l›r. Bu yağların içinde yabancı maddeler bulunur. Bunun için bu yağlara HAM YAĞLAR denir. Ham yağ içinde bulunan yabancı maddelerin miktar› ve cinsi;

- Bitkilerin yetiştirilme koşullarına
- Toprak yapısına ve iklim şartlarına
- Depolama şartlarına
- Tohuma uygulanan işlemlere
- Yağ alma esnasındaki parametrelere bağlıdır.

Yağlar, çok geniş ve karmaşık bir grup olan lipidlerin büyük kısmını oluştururlar. Yağın %95-99' unu trigliseridler, %1-5'ini de mono ve digliseridler, fosfatidler, serbest yağ asitleri, steroller, yağda çözünen vitaminler ve diğer maddeler oluştururlar (Gürcan Ü., 2001).

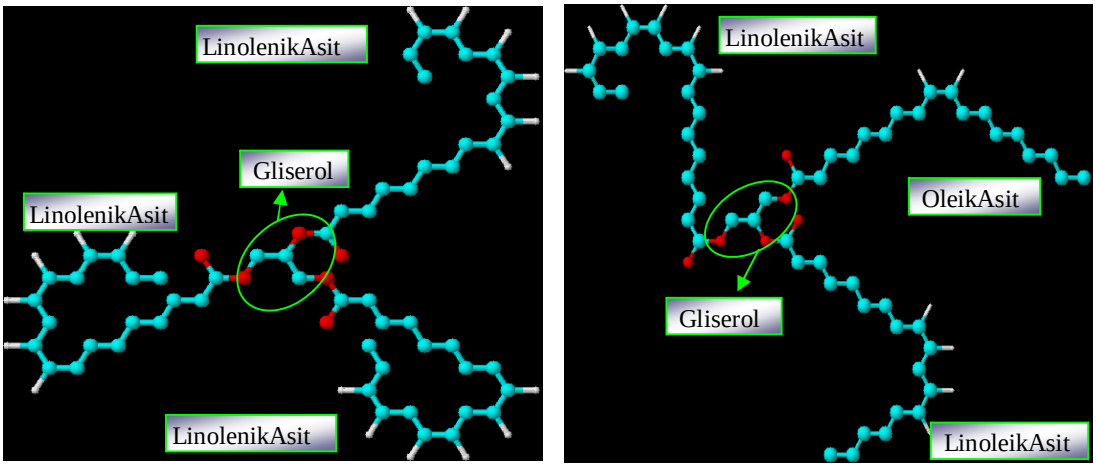
1.1.1. Yağın Kimyasal Kompozisyonu

G›da olarak kullanılan katı ve sıvı yağların ağırlığının %95'ten fazlasını trigliseridler oluşturur. Diğer %5'lik kısmı da minör bileşikler olarak adlandırılan mono ve digliseridler, serbest yağ asitleri, fosfatidler, steroller, yağ asitleri, yağda çözünen vitaminler ve diğer maddeler bulunur.

1.1.1.1. Ana bileşen – trigliseridler

Bu trigliseridler gliserol ve üç yağ asidinin esterleşmesi ile oluşmuştur. Trigliseridler yapılarındaki yağ asitlerinin kompozisyonuna göre ikiye ayrılırlar. Trigliseridin yapısındaki yağ asitlerinin üçü de ayn› ise '' basit triglisereid'' olarak isimlendirilir. Eğer iki veya üç farklı yağ asidinden oluşuyorsa bu tip trigliseridlere '' karışık trigliserid'' denir. Her iki trigliserid formülü aşağıda sembolize edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

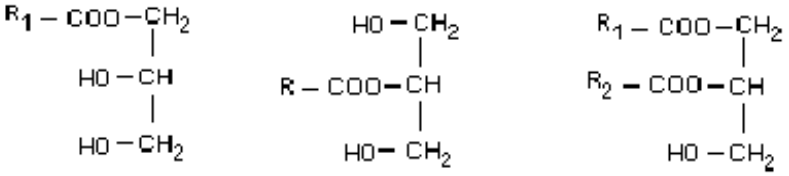


Basit Trigliserid Karışık Trigliserid

Şekil 1. 2. Basit ve Karışık Trigliserit Yapılar

1.1.1.2. Minör bileşenler

Mono ve digliseridler;



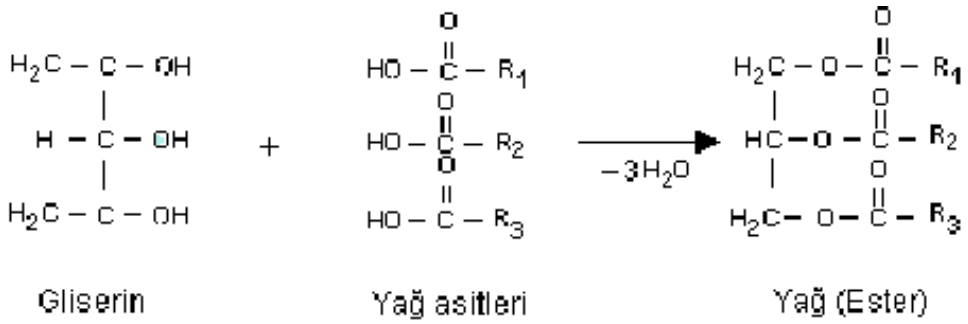
Mono ve digliseridler yağ asitleri ile gliserolün oluşturduğu mono ve diesterlerdir. Mono ve digliseridler "emülsifler" olarak önem arz eden bileşiklerdir. Bu amaçla g›dalarda yayg›n olarak kullan›lmaktad›r. Mono ve digilseridler, gliserol ile trigliseridlerin reaksiyon ortam›nda yağ asidi değişimi yoluyla veya gliserol ile yağ asitlerinin esterifikasyon ile ticari ölçekte üretilmektedir. Sindirim sisteminde tirgliseridlerin normal parçalanmas› ile mono ve diglisreidler meydan gelmektedir. Hayvansal ve bitkisel yağlarda ise çok az miktarda doğal olarak oluşurlar (Gürcan Ü., 2001).

Endüstriyel ölçekte haz›rlanan mono ve digliseridler, gliserolle esterfikasyon yoluyla hazırlanan mono, di, trigiliseridlerin karışımı halindedir.Bunlar serbest

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

gliserol de içerebilen g›da emülsiflerin önemli bir s›n›f›d›r. Dondurma, f›st›k ezmeleri ve diğer alanlarda kullanılırlar. Monogliseridlerin hazırlanmasında diğer bir yöntem de transestefikasyondur.

Aşağıda gliserol ile yağ asitlerinin esterifikasyon reaksiyonlarının genel şeması verilmiştir.



Serbest yağ asitleri;

Yağ içersinde gliserol ile esterleşmemiş halde bulunan yağ asitleridir. Rafine edilmemiş bazı yağlarda serbest yağ asitleri normalden birkaç kat daha fazla bulunabilir. Bu yağ asitlerinin seviyesi rafinasyon işleminde azaltılır. Gıda olarak kullanılan rafine katı ve sıvı yağlar genellikle çok az düzeyde serbest yağ asidi içerirler.

Fosfatidler;

Fosfatidler, poihidrik alkol (genellikle) gliserol içeren bileşiklerdir. Yapılarında gliserole ilaveten, yağ asitleri, fosforik asit ve nitrojen içeren bir bileşik bulunur. Yemeklik yağlarda genel olarak bulunan fosfatid, lesitin ve sefalindir.

Steroller;

Steroller, steroid alkoller olarak da tarif edilirler. Steroller, steroid iskeletine ilaveten 8-10 karbonlu bir yan zincir ve bir alkol grubu içeren bileşiklerdir. Yağlarda serbest halde, yağ asidi esterleri olarak glukosidler olarak bulunurlar ve birçok katı ve sıvı yağın sabunlaşmayan maddelerinin büyük bir kısmını teşkil ederler. Bitkisel steroller bir bütün olarak fitosteroller olarak bilinen bir karışımdan ibarettir.

Yağ alkolleri (Wax);

Yemeklik yağların büyük bir kısmında uzun zincirli yağ alkollerinin önemi çok azdır. Bazı bitkisel sıvı yağlarda yağ asitleri ile yağ alkollerinin esterleri olan mumlar çok az miktarda bulunur. Ancak bazı morina yağlarında çok daha fazla mum

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

içeriğine rastlanmıştır. Bunlar kara hayvanı yağlarında veya bitkisel sıvı yağlarda büyük bir öneme sahip değildir.

Tokoferoller;

Tokoferoller, pek çok bitkisel yağda doğal olarak bulunan önemli izobileşenlerdir. Bunlar bitkisel yağların oksidatif stabiliteleri yönünden yardımcı olan başlıca tabi antioksidanlar olarak kabul edilmektedir. Ayrıca yağda çözünen vitamin E 'nin kaynağıdırlar.

1.2. Yağ Asitleri

1.2.1. Yağ asitlerinin genel yapısı

Karbon ve hidrojen atomlarından oluşan, değişik boyda alkil zincirleri ve yağ asitlerinin asit fonksiyonunu tayin eden bikarboksil grubu (-CO-OH) ile karakterize edilen ve doğal olarak oluşan birçok yağ asidi vardır.

Yağ asitleri, zincirlerinin uzunluğuna göre ayr›lma yan›nda, karbon gruplar› aras›nda basit (-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-) ya da çift bağlar (-CH_2-CH=CH-CH_2-) içerip içermediği bakarak, doymuş ya da doymamış olarak da ayrılır. Öte yandan, bir yağ asidi tek bir çift (tek doymamış) ya da birçok çift bağ (çok doymamış) da içerebilir (Gürcan Ü., 2001).

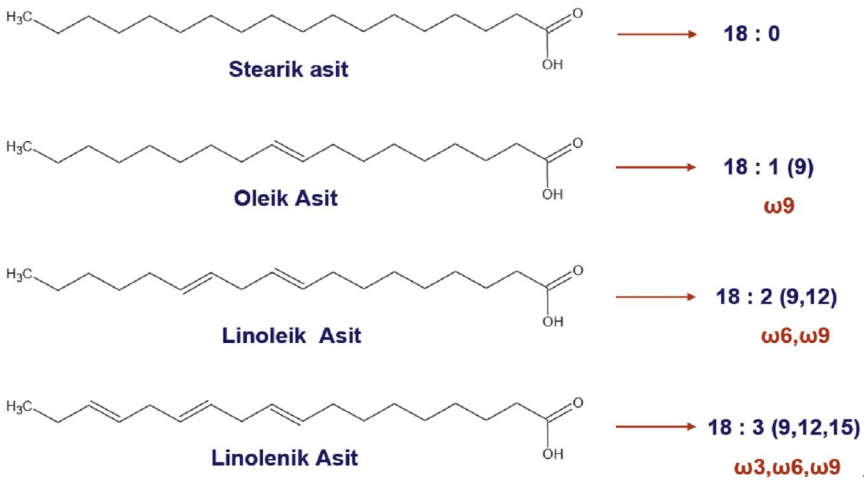
En yaygın olarak bulunan yağ asitleri;

- Doymuşlar arasında palmitik asit (16:0)* ve stearik asit (18:0)*

- Tekli doymamışlar arasında oleik asit (18:1) ve palmitoleik asit (16:1)

-Çoklu doymamışlar arasında linoleik asit (18:2), linolenik asit (18:3), araşidonik asit (20:4), ekosapentanoik asit (20:5) ve dekosaheksanoik asit (22:6) ancak doğada en fazla oluşan çoklu doymamış yağ asidi linoleik asittir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 1. 3. Doymuş, Tekli Doymamış ve Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

Çift bağlar, yağı daha akıcı yapar ve erime noktasını düşürür. Tereyağı, bazı margarinler, tarla kuşu ve domuz yağları gibi katı yağlar, esas olarak doymuş yağ asitleri içerir. Buna karşılık, zeytinyağı ve tohum yağları gibi sıvı yağlar ise esas olarak doymamış yağ asitleri içerir.

Trigliseridler, yağ asitlerinin gliserol ile oluşturduğu ester formundaki bileşiklerdir. Yağarlın genel olarak her 100 gr'ını yağ asitleri oluşturur. Diğer %5'lik kısım gliserolden oluşmaktadır.

Yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerinin hemen hemen tamamı, yağ asitlerinin yağdaki oranı ve çeşitleri tarafından etkilenmektedir. Yağ asitlerinin gliserolün aktif grupları üzerindeki pozisyonu önemlidir. Yağ asitlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki farklılıklar yağların elde edildiği bitki ve hayvanın fizyolojik ihtiyaçlar›n›n sonucunda ortaya ç›kmaktad›r.

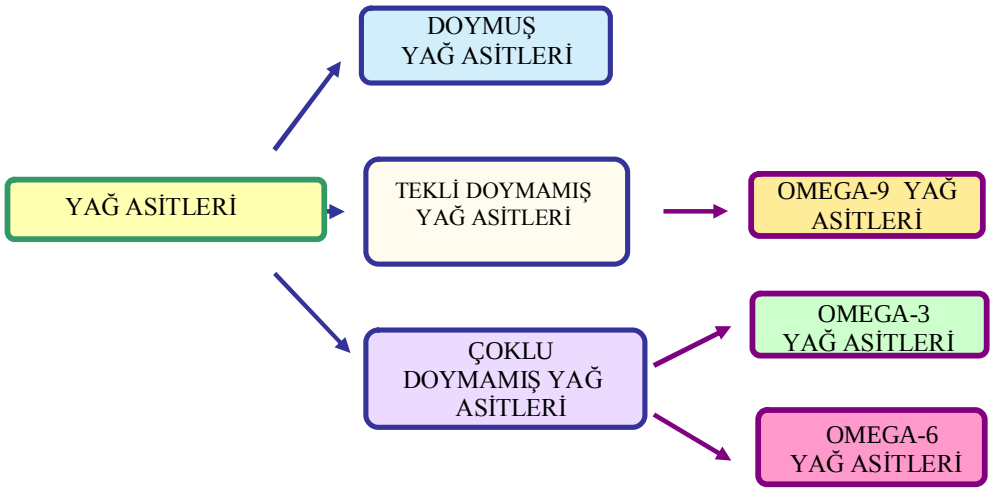
1.2.2. Yağ asitlerinin sınıflandırılması

Hayvansal organizmada ancak bir tek çift bağlı yağ asitleri sentezlenebilmektedir. Birden fazla doymamış bağa sahip olan linoleik, alfa-linolenik ve araşidonik asitler hayvansal organizmada sentez edilemez ve mutlaka dışarıdan alınması gereklidir. İşte organizmada sentezlenemeyen ve besinlerle birlikte alınması gerekli olan linoleik, linolenik, araşidonik asitlere ''esansiyel yağ asitleri'' denir. Bu yağ asitlerinin organizmaya yeterli miktarlarda alınamaması

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

soncunda büyüme durur, dermatisis oluşur. Böbreklerde harabiyet ve hematüri (kan işeme) görülür. Esansiyel yağ asitleri verilirse bu belirtiler kaybolur.

Linoleik asit mısır yağı, yer fıstığı, pamuk yağı ve soya yağı gibi tohum yağlarında, linolenik asit ise bunların dışında keten tohumu yağında bulunmaktadır. Araşidonik asit ise aynı kaynaklarda, ancak yer fıstığı yağında daha fazla miktarda bulunmaktad›r.



Şekil 1. 4. Yağ Asitlerinin Doymuşluk Derecelerine Göre Sınıflandırılması

Doymuş yağ asitleri

Doymuş yağ asitleri dallanmamış karbon zinciri ihtiva eder. Dallanmış zincirli yağ asitleri gıda olarak kullanılan yağlarda son derece az bulunur. (koyun eti ve tereyağında %1 kadardır)

10 karbondan daha az karbonlu yağ asitleri sıvı, daha fazla karbonlular katıdır. Hidrofobik karakterli çözücülerde, hidrofobiklik ve s›cakl›k yükseldikçe çözünebilirlikleri artar, oysa hidrofilik çözücülerde yağ asidi zinciri uzadıkça çözünebilirlik azalır. Metabolizmada az güçlükle oksitlenip parçalanmasına karşın, oda sıcaklığında oksidasyona dirençlidirler.

Doymamış Yağ Asitleri

Karbon zinciri üzerinde çeşitli konumlarda C-C bir veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitleri “doymamış yağ asitleri” olarak isimlendirilir. Yağ asitleri bir çift

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

bağ içerdikleri zaman tekli doymamış veya monenoik olarak adlandırılırlar. Birden fazla çift bağ içeren yağ asitleri çoklu doymamış veya polioneik olarak adland›r›l›r.

Yağ asitlerinin adlandırılması için Cenova sisteminde yağ asidi zincirinde karbon zincirinin sonundan itibaren numaraland›r›l›r. Bu sistemde karboksil grubunun karbonu bir numara olarak dikkate al›n›r ve düzenlemeler buna göre yap›l›r.

Çift bağların varlığından dolayı doymamış yağ asitleri doymuş yağ asitlerinden kimyasal olarak daha reaktiftir. Bu reaktivite zincirindeki çift bağ sayısına göre artmaktad›r.

Doymamış yağ asitleri için kullanılan terminolojik diğer bir isimlendirme "Omega" veya "n-" terimleri molekülün sonundaki metile göre yağ asidindeki kapalı çift bağın pozisyonunu ifade eder. Örneğin oleik asitte son metile göre çift bağ dokuzuncu karbondad›r. Bu nedenle oleik asit bir omega -9 veya n-9 yağ asidi olarak isimlendirilir. Pek çok balık yağlarında eikosapentaenoik asit, bir omega-3 yağ asidi olarak isimlendirilir. Alfa – linoleik asit ise, tabii bitkisel yağlarda bulunur ve bir omega -3 yağ asididir. Kara hayvanları, bitki ve deniz hayvanlarının yağlarına göre daha az doymamış yağ asitleri içerirler. Birkaç istisna hariç tabii yağlar sadece cis-formunda bulunurlar.

Tüm doymamış yağ asitleri kuvvetli oksidasyon, polimerizasyon ve katılma gösterirler. Bu yüzden gıdanın ele geçirilmesi ve depolanması esnasında değişmeye uğrarlar. Oksidatif bozunma terimi hava O_2 ile etkilenme olduğundan kullanılır. Ayrıca yağların sertleşebilmelerinin karşılaştırılması için çift bağlara hidrojen ve halojen kat›labilir.

1.2.3. Yağ asitlerinin fiziksel özellikleri

Yağ asitlerinin hem fiziksel hem de fizyolojik özellikleri karbon zincirinin uzunluğuna ve moleküldeki çift bağların sayısına (yağ asidinin doymamışlık derecesine) bağlıdır.

Karbon sayısı düşük olan (10'a kadar) yağ asitleri adi ısıda sıvı ve uçucudur. Daha fazla say›da karbona sahip olanlar (12:0 ve daha büyük zincirli doymuş asitleri) vücut sıcaklığında katıdır. Bunların erime noktaları molekül ağırlığının artması ile yükselir. Bilinen bütün doymamış yağ asitleri oda ısısında sıvıdır. Çift bağ sayısı

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

arttıkça daha düşük derecelerde de sıvı kalabilir. Örneğin 18:2 doymamış yağ asitleri 0º C de sıvıdır. Doymamış yağ asitleri taşıdıkları çift bağlar sayesinde yüksek reaksiyon yeteneğine sahiptirler.

2-4 karbonlu yağ asitleri asetik, propiyonik ve bütirik asitler her oranda su ile karışımlarına karşılık, karbon sayısı arttıkça suyla karışma yetenekleri azalır. Karbon sayısı 10'dan fazla olanlar, doymuş yağ asitleri suda hiç erimezler.

Pratikte doğal açilgliseroller kendilerinin fonksiyonel rollerine uyacak şekilde biçimlenmiş yağ asidi karışımlarını içerirler. Örneğin bütün çevresel ısılarda sıvı olması gereken membran lipidleri depo lipidlerden daha fazla doymamış yağ asidi içerirler. Soğukta karşılaşılan dokularda, mesela kutuplarda yaşayan veya kış uykusuna yatan hayvanlarda veya hayvanlar›n ekstremitelerinde bulunan lipidler daha fazla doymamıştır.

Yani soğuk bölgelerde yaşayan canlıların membran lipidlerinde daha çok doymamış yağ asitleri bulunmasına karşın sıcak bölgelerde yaşayan canlıların membran lipidlerinde doymamış yağ asitleri bulunur. Doymuş yağ asitleri oranı fazla olan gliseridler ise kat›d›r.

Doğal olarak bulunan uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin hemen hemen hepsi cis konfigürasyonundadır. Ancak, doymamış yağ asitlerinde çift bağın yerinin değismesiyle izomerler türerse de daha çok görünen izomer şekli, çift bağın etrafındaki dizilişe bağlı olarak ortaya çıkan cis ve trans izomerlerdir. Örneğin oleik asidin erime noktas› 13˚C ve cis şeklindedir. Oleik asit nitrit asitle muamele edilirse trans şekli olan elaidik asit meydana gelir. Bunun ise erime noktas› 45º C dir.

1.2.4. Trans yağ asitlerinin yapısı ve oluşumu

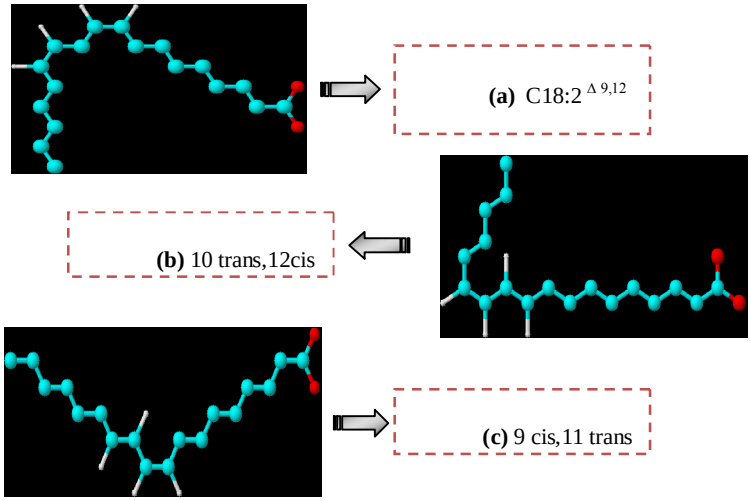
Trans yağ asitleri, trans konfigürasyonda en az bir çift bağa sahiptir. Bu asitlerde çift bağ açısı cis izomerlere göre daha küçük, açil zinciri daha doğrusaldır. Dolay›s›yla, erime noktas› ve termodinamik stabilitesi daha yüksek olan farkl› fiziksel özellikte sert bir molekül ortaya çıkmaktadır. Trans yağ asitleri, ruminal aktiviteden dolayı süt kaynaklı yağlarda, ayrıca hidrojenasyonla oluşmaktadır. Hidrojenasyon işlemleri süresince, doymamış yağ asitlerinin trans izomerleri meydana gelmektedir. Çeşitli bilimsel çalışmalarda, trans izomerlerin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir.Bu bileşikler, doymuş yağ

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

asitleri gibi LDL kolestrol miktarını artırırken HDL kolosterol miktarını düşürür ve kalp hastal›klar› riskini yükseltir.

1.3. Konjuge Linoleik Asit

Konjuge linoleik asit, yağ asidi zincirinde farklı karbon pozisyonlarında iki konjuge doymamış çift bağa sahip yağ asididir. 3 esansiyel yağ asidinden biri olan linoleik asitin bir grup pozisyonunu ve geometrik izomerini temsil etmektedir. Linoleik asitin bir veya her iki çift bağının yeri reaksiyonlarla değiştiğinde konjuge linoleik asit oluşmaktadır (Turuni, M. E. ve Martin, J. C., 2001).



Şekil 1. 5 (a) Linoleik Asit, C18:2, (b) CLA 10t,12c izomeri, (c) CLA 9c,11t izomeri

Konjuge linoleik aside ilgi, ilk kez 1979 yılında pişirilmiş sığır etinde antikarsinojenik ve antimutajenik etkilerinin keşfiyle başlamış. Daha sonra bu etkilerine ek olarak vücut yağı birikimini azaltıcı etkisi, antidiabetik etkileri, arteriosklerozis riskini azalt›c›, kemik mineralizasyonunu art›r›c› ve immun sistemini kuvvetlendirici etkilerinin keşfine ek olarak, son zamanlarda fonksiyonel g›da üretiminde rol oynar (Watkins, B. A. ve Li, Y., 2002)

Bauman ver arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalarda 28 tane CLA izomeri tespit edilmiş ve bu 28 CLA izomeri arasında c-9, t-11 ve t-11, c-12 izomerlerinin biyolojik aktiviteleri test edilmiştir. Besinlerde CLA izomeri çoğunlukla cis-9 ve trans-11 oktadekanoik asit şeklinde bulunmakta ve CLA izomerlerinin %75-80 ini

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

oluşturmaktadır. Bu izomer linoleik asitin biyohidrojenasyonunda ara madde olarak oluşur. Bitkisel yağlarda CLA izomerinin izolasyonu, sentezi ve CLA izomerlerinin karışımını oluşturmak oldukça zor ve pahalı prosedürlerdir. Yapılan araştırmalar CLA izomerlerinin karışımı şeklinde olup c-9, t-11 CLA ve t-10, c-12 CLA izomerleri bu karışımda yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir (yaklaşık %85-90). Konjuge linoleik asit c-9, t-11 CLA rumenik asit veya c-9, t-11 oktadekadienoik asit olarak ta bilinmektedir. t-10, c-12CLA, t-10, c-12 oktadekadienoik asit olarak isimlendirilir (Watkins, B. A. ve Li, Y., 2002; Christie, W. W., 2003; Bak›r, N., 2005).

1.3.1. Konjuge linoleik asit oluşumu

Linoleik asitten - konjuge linoleik asit (CLA) oluşumu esas olarak mikrobiyal enzimatik reaksiyonlar ile gerçekleşmektedir. Linoleik asit içeren bitkileri yiyen dana, koyun gibi geviş getiren hayvanların sindirim sistemlerinde bulunan rumen (işkembe) mikroorganizmaları (*Butyrivibrio fibrisolvens*) taraf›ndan linoleik asidin biyohidrojenasyonu sonucunda CLA oluşur. Bu reaksiyonlarda isomeraz enzimi etkinliğini gösterir. Rumen (işkembe) mikroorganizmaları tarafından gerçekleştirilen indirgenme reaksiyonlar›nda öncelikle linoleik asit cis-9, trans-11 CLA izomerine, sonras›nda vasenik (t11-18:1) aside ve en sonunda stearik aside dönüştürülmektedir. Bu reaksiyonlar dolay›s›yla, bu hayvanların süt yağı ve et yağlarında cis ve trans CLA izomerleri görülmektedir. Ayr›ca et ve süt ürünleri gibi g›dalara uygulanan ›s›l işlemler esnasında da CLA oluşmaktadır (Turuni, M. E. and Martin, J. C., 2001; Watkins, B. A. and Li, Y., 2002; Christie, W. W., 2003).

CLA izomerleri gıdaların besin değerlerini arttırmak üzere ticari amaçlarla da üretilmekte ve çeşitli gıda maddelerinin zenginleştirilmesi için kullanılmaktadır. Endüstriyel CLA karışımı elde edebilmek için uygulanan en yaygın yöntemlerden biri aspir, mısırözü, ayçiçek gibi linoleik asitçe zengin yağların veya direkt linoleik asidin alkali izomerizasyonudur. İnsanlar ise; vücutları tarafından üretilemeyen CLA ihtiyaçlarını sığır ve koyun eti ile süt ürünlerinden saglamaktadırlar (Turuni, M. E. and Martin, J. C., 2001; Bak›r, N., 2005; Ercoskun, H., ve ark., 2005).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

1.3.2. Konjuge linoleik asit (CLA) kaynaklar›

CLA et ve süt ürünlerinde oldukça zengindir. Süt ürünlerinde bulunan CLA konsantrasyonu işlenmemiş sütteki CLA konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Kırmızı etin CLA konsantrasyonu ise kanatl› ve bal›k eti ile kıyaslandığında oldukça yüksek düzeydedir. CLA süt, peynir gibi süt ve süt ürünlerinde ve sığır eti, kuzu eti, dana eti gibi işkembeli hayvanların etlerinde doğal olarak bulunur (Mir, Z., ve ark. 1999).

Peynirde bulunan CLA 3,6–8,0 mg/g yağ arasında değişirken, sütte ise 3,4–6,4 mg/g yağ arasında değişen oranlarda CLA miktarı tespit edildiği bildirilmektedir (Willet, J.,1987). Geviş getiren hayvanların etlerinde bulunan CLA miktarı, türlere, doku ve diyete bağlı olarak 2,7– 5,6mg/g yağ arasında farklılık gösterdiği belirtilmektedir (Çelik, S. ve Demirel, M., 2004).

Tereyağında ise ortalama olarak 720 mg/100g (yaş ağırlık) CLA bulunduğu bildirilmektedir (Corino, C., ve ark., 2007). Amerikan Tarım Bakanlığı'nın (USDA) yaptırdığı besin tüketim araştırmasına (Noli, C., Carta ve ark, 2007). göre; et tüketenler 221 mg CLA/gün, et tüketmeyenler 102mg/gün oran›nda diyetten CLA sağlamaktadırlar. Amerikan Tarım Bakanlığı'nın (USDA) yaptırdığı besin tüketim araştırmasına göre; et tüketenler 221 mg CLA/gün, et tüketmeyenler 102mg/gün oran›nda diyetten CLA sağlamaktadırlar (Luna, P., Juárez, M. and Fuente, M. A., 2006).

Ritzenthaler ve ark.'n›n besin duplikasyonu yöntemi ile kaydettiğine göre ise; diyetle CLA al›m›n›n erkeklerde 212 mg/gün, bayanlarda ise 151 mg/gün düzeyinde gerçekleştiği belirtilmektedir. Bunun %60'ının süt ürünlerinden, %37'sinin ise et ürünlerinden kaynaklanmakta olduğu ve rumenik asit olarak adlandırılan cis-9, trans-11 izomerinin diyetle alımın %90'ından fazlasını oluşturduğunun hesaplandığı bildirilmektedir. CLA izomerlerinin relatif değerleri; ticari olarak üretilenlerde, ~%41 cis-9, trans-11; %44 trans-10, cis-12 , %7 trans-9, trans-12`dir (Adlof, R. O., 2003).

CLA izomerleri ve gıdalarda (işkembeli hayvan etlerinde) ~%80 cis-9, trans-11; %10 trans-10, cis-12 CLA izomeri olarak farklılık göstermekte olduğu bildirilmektedir. Vejeteryan olmayan bireylerde serum CLA konsantrasyonun 20-70

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

µmol arasında bulunduğu bunun %80'inin cis-9, trans-11 ; %10'unun ise trans-10, cis-12 CLA izomerinden oluştuğu belirtilmektedir (Kelly GS. 2001).

İlk olarak 1987 yılında Pariza ve arkadaşları saf CLA izomerlerinin farelerin vücut kompozisyonunu regüle ettiğini göstermişler (Wahle KW ve 2004) ve bu etkilerin birçok hayvan grubunda da görüldüğü belirtilmektedir (Mir, Z ve ark., 1999). Bununla beraber insanlarda henüz CLA'nın yağlılığı regüle edici rolünün tutarlı bir şekilde gösterilemediği bildirilmektedir. Bundan dolay›, Brown ve ark. hangi CLA izomerinin insan adipositlerinin trigliserit içeriğini azalttığını ve farklılaşma program›n› modüle ettiğini öncül insan adiposit modelini kullanarak belirlemeyi planlamıştır (Terpstra AH. 2004).

Obez bireylerde, trans-10, cis-12 CLA izomeri ile 3,4g/gün ve 12 haftal›k bir CLA suplementasyonun sonucuna bakıldığında, CLA izomer karışımı içeren grubda plasebo grubuna göre insülin rezistansı gelişmiştir (Khosla P, Fungwe TV. 2001). Bu bulgu çeşitli fare çalışmalarındaki diyet trans-10, cis-12 CLA izomeri ile indüklenen hiperinsülinemi**,** insülin direnci ve lipodistrofi (Banni S. 2002; Jiang J, Wolk A, Vessby B. 1999) ile paralel görünmektedir.

Yukarıdaki çalışmalarda bulunanların aksine, CLA izomer karışımının kemirgenlerde insülin direncini tersine çevirebileceği ile ilgili kanıtlar bulunduğu belirtilmektedir (Ritzenthaler KL. Ve ark., 2001; Fritsche J, Steinhart H. 1998) ve bunun tip II diyabetli kişilerde olumlu metabolik değişiklikler yaratabileceğinin düşünüldüğü bildirilmektedir (Wang, M. L., 2007). Bu çelişkili sonuçların sebebi; cis-9, trans-11 ve trans-10, cis-12 CLA izomerlerinin farkl› etkileri, farkl› miktarlarda CLA kullan›m›, CLA izomer kompozisyonu oranlar›n›n yüzde olarak farkl› olmas›, türler ve deneyin deneklerinin metabolik durumu olarak gözüktüğü belirtilmektedir. Bütün olarak bakıldığında farklı CLA izomerlerinin vücut kompozisyonunu ve insülin duyarlılığını etkileme kabiliyetleri sonuçsuz göründüğü belirtilmekte, gelecekte yapılacak saf CLA izomerlerinin normal, aşırı kilolu ve şişman bireylerde kullanıldığı klinik çalışmalarla bu konudaki tutarsızlıklara ihtiyaç olan bilginin sağlanması önerilmektedir (Terpstra AH. 2004).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

1.3.3. CLA n›n biyosentezi

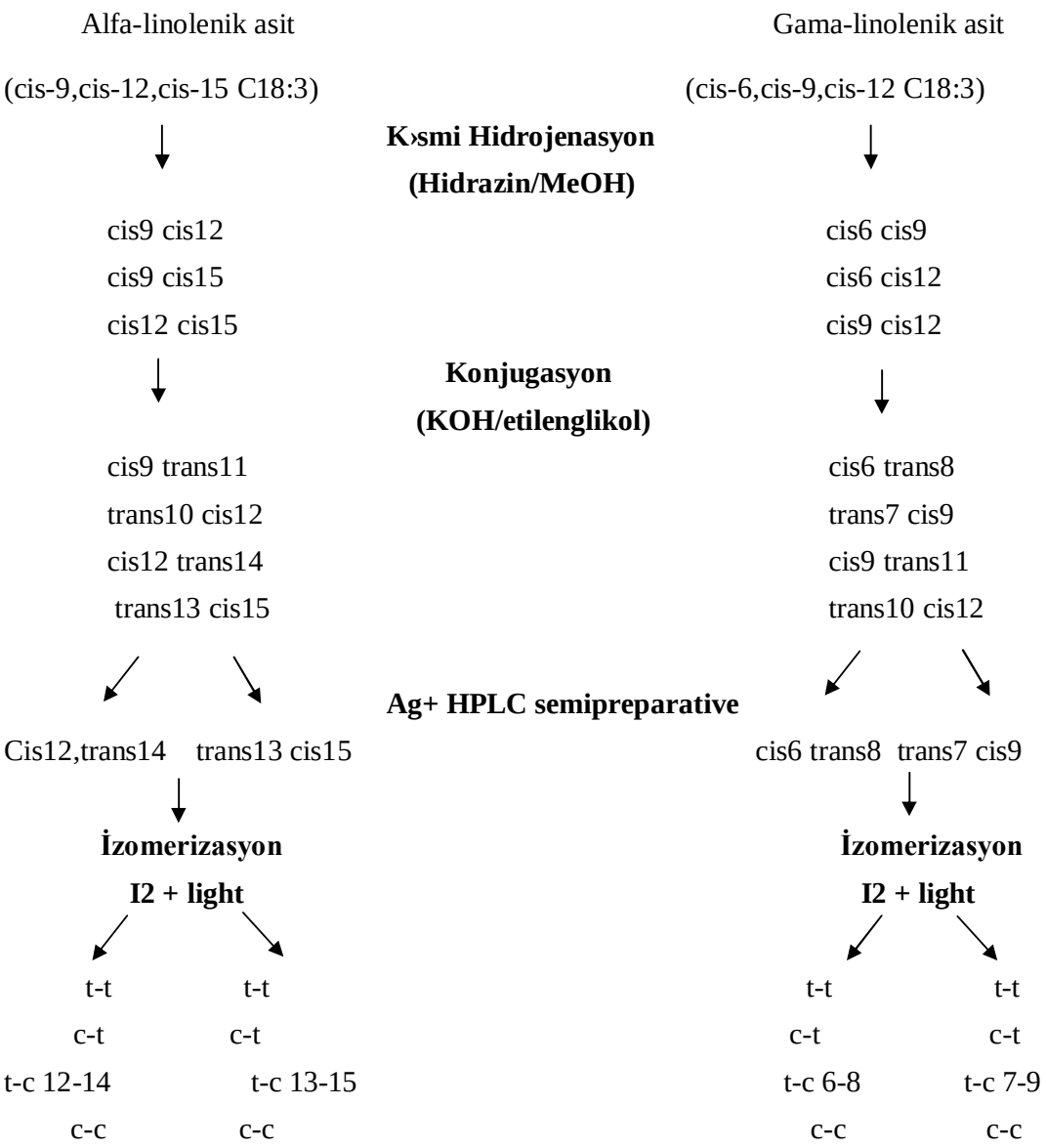
CLA karışım halde bulunur. Linoleik asitin geometrik izomerleri cis-cis / trans-trans/cis-trans/trans-cis şeklindedir. İzomerlerinden ikisi; cis-9 trans-11 (Rumenik asit), trans-10,cis-12 nin biyolojik etkileri vard›r. Trans-10, cis-12 izomeri süt yağında önemli bir inhibitördür.%50-50 orandaki karışımda bulunan Rumenik asit (RA) ve trans-10 cis-12 nin sağlığa olumsuz etkileri yoktur. Cis-9, cis-11 ve trans-9,trans-11 gibi diğer izomerler, tümör oluşumunu engeller denilir fakat kanıtı hala çok sınırlıdır.

Hücrenin enerji mekanizmas›nda rol alan anahtar enzimlerin aktivitesini de mitokondrial kardiolipin yap›s›na giren cis-11 ve trans-13 olumsuz etkilemektedir. CLA izomerleri, geviş getirenlerden elde edilen yiyeceklerde doğal bulunur, çoklu doymamış yağ asitlerinin biyolojik hidrojenasyonunun (rumen bakterileri taraf›ndan oluşturulan) ortalarında meydana gelir. Rumenin yetersiz biyohidrojenasyonunun ürünü olan trans vaccenik asit (trans11 C18:1) memeli dokular›nda RA'ya dönüştürülebilir. Primer olarak RA içeren süt ve biyolojik materyallere karşılık sentez yoluyla hazırlanan CLA karışımları (Linoleik asit veya yağlardaki zengin yağ asitlerinin alkali izomerlerinden meydana gelen) örneğin aspir yağı, benzer oranlarda cis-9, trans-11 ve trans-10, cis-12 ile minör miktardaki cis-cis ve trans-trans izomerlerini içerir. Pek çok ticari CLA karışımları genellikle sade 4 majör pozisyondaki izomerleri içerir. Trans-8, cis-10/cis-9, trans-11/trans-10, cis-12/cis-11, trans-13. Piyasada çok az say›da saf izomeri vard›r. Cis-9,trans-11/ trans-10,cis-12/ cis-9,cis-11/ cis-11,trans-13/ trans-9,trans-11.

Rumende doymamış yağ asitlerinin biyohidrojenasyonundan birinci derecede bakteriler sorumlu olup protozoalar çok az düzeyde etkilidir.

CLA (cis-9, trans-11 CLA izomeri) taraf›ndan rumende, linoleik asitin biyohidrojenasyonuyla oluşturulmaktadır. CLA'n›n rumende ve endojen olarak dokularda olmak üzere iki farklı yerden orijin aldığı kabul edilmektedir. t-11 oktadekenoik asite metabolize edilmektedir.t-11 oktadekenoik asit,stearoil-KoA desaturaz taraf›ndan c-9,t-11 CLA ya tekrar dönüştürülmektedir**.**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



1.3.4. Rumende biyohidrojenasyon

Biyohidrojenasyon; doymamış yağ asitlerinin izomerizasyonla doymuş yağ aitlerine dönüşümünü ve Rumen bakterileri tarafından doymamış yağ asitlerinin hidrojenasyonunu içine alan genel bir terimdir.

Doymamış yağ asitlerinin biyohidrojenasyonu birkaç biyokimyasal aşamayı içermektedir. Araştırmalar tek bir Rumen bakteri türünün tüm biyohidrojenasyon olayını katalizlemediğini göstermektedir. Bunun için grup A ve grup B bakterilerinin bu olaylar zincirinde rol oynadığını gösterir. Grup A bakterileri linoleik asiti en büyük

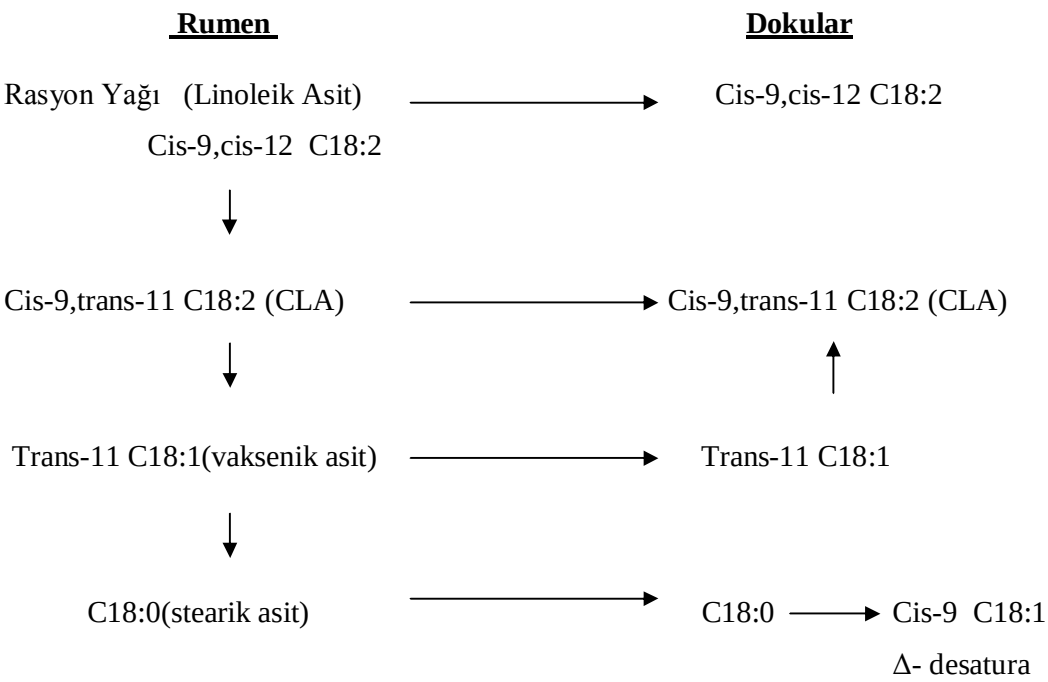
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

son ürün olan alfa linolenik asite hidrojenize etmekten sorumlu iken, Grup B bakterileri trans-11 C18:1'i son ürün olan stearik asitin ana substratlar›ndan biri olarak kullanmaktad›r.

Cis-9, cis-12 çift bağ sisitemini içeren yağ asitlerinin biyohidrojenasyonu s›ras›nda cis-12 çift bağının izomerizsyonu başlangıç aşamasını temsil etmektedir. İkinci reaksiyon ise cis-9, trans-11 CLA'n›n trans-11 C18:1 'e dönüşümüdür. Trans-11 monoenin hidrojenasyonu oldukça yavaş gerçekleşmekte ve böylece konsantrasyonu artmaktad›r. Bu yüzden trans-11 C18:1 deki azalma, doymamış C18 yağ asitlerinin biyohidrojenasyonunda sınırlayıcı faktör olarak görülmektedir.

Linolenik asitin biyohidrojenasyonu, linoleik asitin biyohidrojenasyonuna benzer şekilde indirgenme reaksiyonlarını izleyen izomerizasyonla başlamakta ve stearik asitin oluşumuyla son bulmaktadır.

Linoleik asitin biyohidrojenasyon basamaklar›;



Bu biyohidrojenasyon basamaklar›na göre; cis-9, cis-12 çift bağ sistemini içeren yağ asitlerinin biyohidrojenasyonu sırasında cis-12 çift bağının izomerizasyonu başlangıç aşamasını temsil etmektedir. 2.reaksiyon ise cis-9, trans-11 CLA n›n trans-11 C18:1'e dönüşümüdür. Reaksiyon yavaştır ve konsantrasyon yüksektir. Biyohidrojenasyondaki sondan bir önceki ara ürünler rumende birikmekte ve böylece

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

emilim için çok daha yararl› olmaktad›r. Linolenik asitin biyohidrojenasyonu ise linoleik asite benzemekte ve stearik asitle son bulmaktad›r.

1.3.5. CLA'in fizyolojik etkileri

Yapılan birçok araştırmada CLA'in sağlık üzerine pek çok olumlu etkisi olduğu beyan edilmiştir. CLA'in bu çok çeşitli faydaları, izomerlerinin her birinin ya da bir kaç›n›n ayr› veya ortak etkilerinden kaynaklanmaktad›r. CLA'in insan metabolizması üzerindeki muhtemel faydaları, bağışıklık sistemini güçlendirme, kanser oluşumunu azaltma veya elimine etme, kemik ve kıkırdak sağlığını iyileştirme, yüksek kolesterolü ve damar tıkanıklığını engelleyerek kalp hastal›klar›ndan koruma ve obeziteyi engelleme olarak özetlenebilir (Ercoskun, H. ve ark., 2005; Kung, F. C. and Yang, M. C., 2006).

İnsanların günlük CLA alımı cinsiyete ve diyete bağlı olarak 0,3-1,5 g arasında değişiklik göstermektedir. 70 kilodaki bir insan için 3,5 g/gün CLA tüketiminin sağlığa olumlu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Willet, J., 1987) CLA`in sağlık üzerine etkileri ile ilgili pek çok ülkede birçok çalışma yürütülmüş ve bu çalışmaların çok büyük bir kısmı deney hayvanlar› üzerinde klinik olarak test edilmiştir (Turuni, M. E. and Martin, J. C., 2001; Ercoskun, H. ve ark., 2005).

CLA`in sağlık üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalara bakılacak olursa, CLA`in sağlık açısından önemi daha iyi kavranabilir;

❄ ***Anti-kanserojen etkisi:*** CLA'in kanser gelişiminin birçok evresinde anti kanserojen etki gösterdiği, kimyasal olarak oluşan tümör gelişimini engelleyerek kanser hücrelerinin büyümesini durdurduğu belirlenmiştir. Kanserin değişik evrelerinde CLA izomerlerinin etkisi, tümörün özelliği ve pozisyonu itibari ile farklılık göstermektedir. %1 ve daha düşük CLA düzeylerinin kanseri inhibe edebilme etkinliği bulunmaktadır. % 0.1 oranındaki CLA miktarı bile bazı durumlarda tümör gelişimini engelleyebilmektedir (Turuni, M. E. and Martin, J. C., 2001; Fuente, M. A. ve ark., 2006).

❄ ***Bağ›s›kl›k sistemine etkisi:*** CLA'in bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. %5 oranında CLA içeren bir beslenme şeklinin hastalıkla ya da diyetle oluşabilecek aşırı kilo kaybını da engelleme etkisi bulunmaktad›r. Yap›lan

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

çalışmalarda ayrıca CLA'in antialerjik özellik gösterdiği de tespit edilmiştir (Collomb, M. Ve ark., 2006; Cook, M. E. ve ark., 2003).

❄ ***Kalp ve damar hastal›klar› üzerindeki etkisi:*** Tüketilen besinlerde doymuş yağ miktar›n›n fazla olmas› kalp ve damar hastal›klar›na yakalanma riskini arttırmaktadır. Hayvanlarla yapılan çalışmalarda CLA'in bu hastalıkların oluşum riskini azalttığı görülmüştür. CLA trigliserit düzeyini ve kötü kolesterolü düşürmekte, iyi kolesterolü ise artt›rmaktad›r (Bak›r, N., 2005).

CLA kanın akışkanlığını arttırarak kanın kalp tarafından kolayca pompalanmasına yardımcı olmaktadır. Bu şekilde damar tıkanıklığı ya da damarlara yağ birikimi belirli bir düzeyde önlenebilmektedir. Ayrıca CLA antioksidant özelliğe sahip bir yağ asididir. CLA'in arterlerde (kanı, kalpten diğer dokulara taşıyan kan damarı, atardamar) bağ dokusu oluşumunu ve lipit depolanmasını azalttığı da gözlenmiştir (Turuni, M. E. and Martin, J. C., 2001).

❄ ***Anti-diyabetik etkisi:*** Yap›lan çalışmalar kilo fazlalığı sorununun çözümünde CLA'in etkili olabileceğini göstermiştir. CLA düzenli bir şekilde tüketildiğinde karın çevresinde biriken yağları azaltmaktadır. CLA'in insülin hassasiyetini arttırarak anti diyabetik etkisinin olduğu farelerle yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Choi, J. S. and Song, J., 2005).

❄ ***Vücut kompozisyonuna etkisi:*** CLA vücuttaki yağ depolarını azaltan ve yağsız kas kütlesini arttıran bir maddedir. CLA'in yağ hücrelerinden yağın çıkısını ve kas hücrelerine yağ, glikoz ve diğer besinlerin girişini arttırdığı belirlenmiştir. Kas hücresi içine giren bu besinler kasların çalışması durumunda yakılarak kasları beslemekte ve kasların büyümesini sağlamaktadır. Bu nedenle, özellikle vücut gelişimi yapan sporcular CLA'i takviye besin maddesi olarak kullanmaktad›r (Bak›r, N., 2005; Turuni, M. E. and Martin, J. C., 2001; Keim, N. L., 2003).

1.3.6. G›dalarda CLA analizi

Gıdalardaki yağ asidi analizi yardımı ile CLA analizi yapılmaktadır. CLA' yı ay›rmak ve karakterize etmek için çok çeşitli enstrümanlar kullanılır. En yaygın analiz yöntemi, yağ asidi metil esterlerinin oluşturulması ve Gaz Kromatografisinde (GC) analiz edilmesidir. Yağ asidi metil esterlerinin oluşumu için asit veya alkali

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

katalizörler kullan›labilir (Ayd›n, R. 2005; Aksoy, A. ve ark., 2000; Choi, S.H. ve ark., 2006; Mir, Z. ve ark., 2000).

Uzunluğu 30 m den 100 m ye kadar olan polar kapiler kolona sahip , alev iyonize dedektörü bulunan gaz kromatogramlar› CLA analizi için kullan›lmaktadIr. CLA' n›n tüm izomerlerinin analizi için GC yeterli olmamaktad›r.

Bu sebeple Ag+HPLC kullan›m› gerekmektedir. Bunun yan› s›ra Kütle Spektrometresi(MS), "Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR)" veya Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) kullanılan diğer enstrümanlardır (Fuente, M. A. ve ark., 2006; Ayd›n, R. 2005; Aksoy, A. ve ark., 2000; Choi, S.H. ve ark., 2006).

Yayg›n olarak süt ve süt ürünlerindeki CLA miktar›n›n tespiti için GC ve HPLC yöntemi kullanılmıştır (Kung, F. C. and Yang, M. C., 2006; Willet, J., 1987; Cook, M. E ve ark., 2003).

1.4. Kaynak Araştırması

1.4.1. Literatür özetleri

İnsanların gerek zihinsel gerekse fiziksel fonksiyonlarını yerine getirebilmesi, onların beslenme durumuyla yakından ilgilidir. Sağlıklı yaşama, büyüme, gelişme, zihinsel ve bedensel fonksiyonlarının sürekliliği ancak yeterli ve dengeli beslenme ile sağlanabilir (Çelik, S. ve Demirel, M., 2004).

G›dalar›n temel fonksiyonlar›, organizman›n metabolik aktivitesi için gerekli olan protein, enerji, vitamin ve mineraller gibi mikro ve makro besin unsurlar›n› sağlamakla birlikte, sağlık açısından olumlu etkileri olan omega-3 yağ asitleri, konjuge linoleik asit, beta karotenler, likopen, resveratol, polifenoller, selenyum, askorbikasit, metilaminoetanol ve alfa lipoikasit gibi birçok bileşiği de içermektedirler (Çelebi Ş. ve Kaya A., 2008).

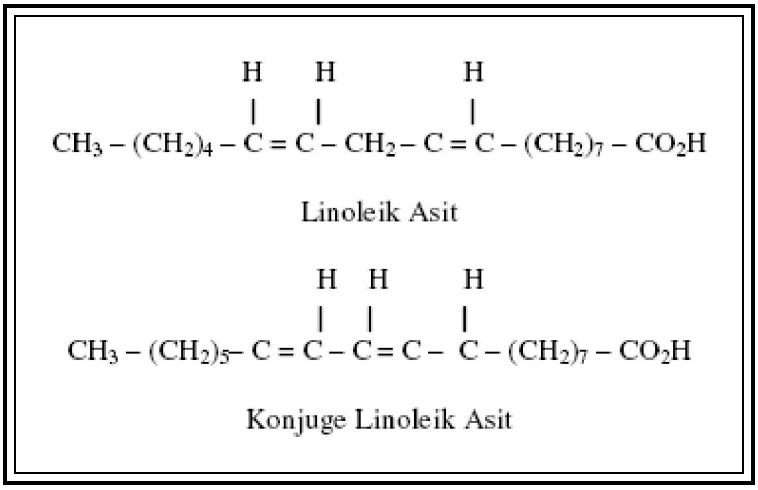
Son yıllarda bazı besinlerin doğal yollardan hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki etkinliğinin bilimsel olarak ortaya konulması sağlığımızın korunmasında beslenme desteğinin önemini artırmıştır. Bu nedenle fonksiyonel besinler ve doğal sağlık ürünleri daha fazla tüketilmeye başlamıştır. Fonksiyonel besinler, besleyici özellikleri dışında vücudumuza fizyolojik yararlar sağlayan ve kronik hastal›k riskini azaltabilen besinlere denilmektedir (Corino C. ve ark., 2007).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Bu fonksiyonel bileşiklerden birisi de, son yıllarda büyük ilgi gören ve gerek deney hayvanları gerekse insanlar üzerinde yürütülen çalışmalar sonucu, insan sağlığı üzerine çok önemli etkileri bulunan ve özellikle ruminant hayvanlardan elde edilen ürünlerde bulunan konjuge linoleik asit (CLA) izomerleridir (Noli, C. ve ark., 2007).

1980 y›llar›nda ABD'de Wisconsin Üniversitesi'nden Michael Priza ve arkadaşları hamburger etinden elde ettikleri maddenin kanser oluşumunu engellediğini bulmuşlardır. Daha sonra bu maddenin konjuge linoleik asit olduğu belirlenmiş ve kısaca CLA olarak isimlendirilmiştir [20,1]. CLA, insan ve hayvanlar için esansiyel bir yağ asidi olan linoleik asitten (18:2) oluşan, konjuge çift bağlar içeren oktadekadienoik asidin pozisyonel ve geometrik izomerlerinin oluşturduğu grubuna verilen add›r ((Corino C. ve ark., 2007; Noli, C. ve ark., 2007).

Linoleik asit, 18 karbonlu bir yağ asidi olup 9. ve 12. pozisyonlarda cis konfigürasyonunda çift bağlar bulunmaktadır. Çift bağlar bir metilen (-CH_2-) grubu ile ayr›lmaktad›r. Konjuge linoleik asit moleküllerinde ise, linoleik asitten farkl› olarak bir adet çift bağdan sonra tek bağ gelmektedir. Bu tek bağı ise yine bir çift bağ takip etmektedir (Watkins, B. A. and Li, Y., 2002). Linoleik asit ve konjuge linoleik asitlerin kimyasal yapıları aşağıdaki Şekil.1.6`da görülmektedir.



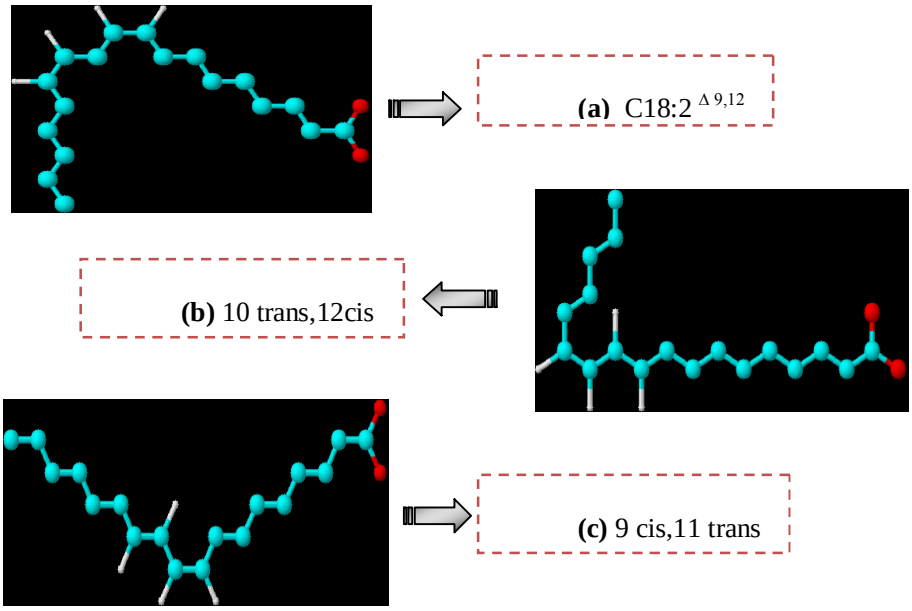
Şekil 1. 6. Linoleik ve Konjüge Linoleik Asidin Kimyasal Yap›lar›

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, konjuge linoleik asidin (6, 8), (9, 11), (10, 12), (8, 10), (7, 9), (11, 20) ve (12, 14) pozisyonlar›nda, farkl› cis ve trans

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

konfigürasyonuna sahip 28 izomeri bulunduğu belirlenmiştir. Her bir izomer farklı fonksiyonel özelliklere sahiptir (Collomb, M. Ve ark., 2006).

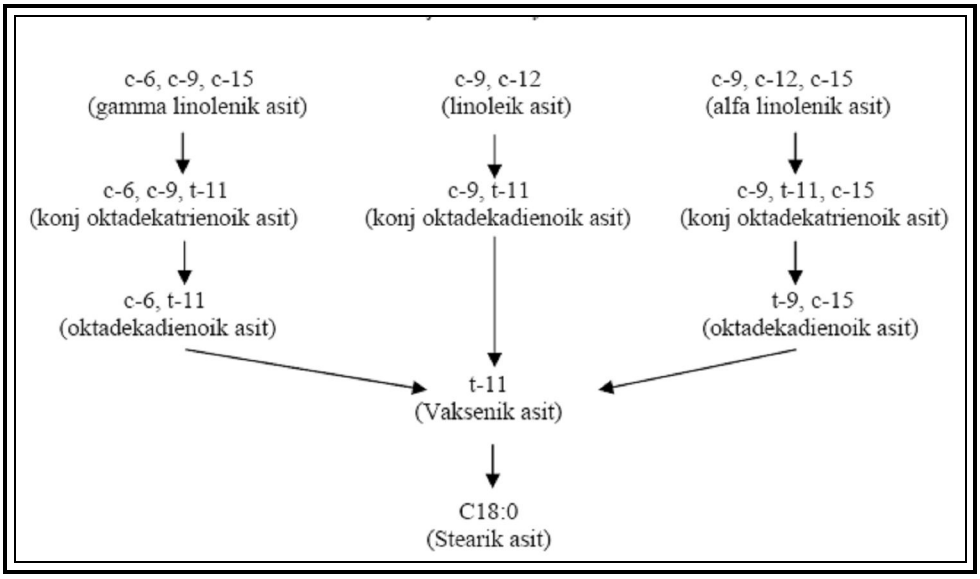
G›dalarda en çok 9c, 11t ve 10t, 12c izomerleri bulunur. Bu izomerler CLA'in biyolojik aktif izomerleridir. Hayvanlar üzerinde yapılmış çalışmalara göre, 9c, 11t izomerinin anti-kansorejen etki gösterdiği ve 10t, 12c izomerinin ise kas miktarını arttırdığı gözlenmiştir. Biyolojik etkinliğe sahip bu izomerler toplam CLA izomerlerinin %80-90'ını oluşturur (Adlof, R. O., 2003; Bak›r, N., 2005).



Şekil 1. 7. (a) Linoleik Asit, C18:2, (b)CLA 10t,12c izomeri, (c) CLA 9c,11t izomeri

CLA izomerleri linoleik ve linolenik gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin rumende Butyrivibrio fibrosolvens bakterileri taraf›ndan stearik aside (C18:0) biyohidrojenasyonlar› s›ras›nda meydana gelen ara ürünlerdir (Şekil 1.7.). Bunlar içerisinde, et ve süt ürünlerinin toplam CLA izomerlerinin s›ras›yla, %75 ve 90'n›n› oluşturan c-9, t-11 oktadekadienoik asit ayn› zamanda biyolojik olarak en aktif izomerdir (Luna, P. Ve ark., 2006; Adlof, R. O., 2003).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 1.8.18 karbonlu doymamış yağ asitlerinin rumende biyohidrojenasyonu (Kelly GS. 2001).

Bitkisel yağ asitlerinin hemen hemen tamamı cis konfügürasyona sahiptir. Bu yağ asitlerinin daha kuvvetli olan trans konfügürasyonuna getirilmeleri mikrobik faaliyet ve katalitik hidrojenasyonla olmaktad›r. Mesela, linoleik ve linolenik gibi yağ asitlerinin sadece %10'u bakteri hidrojenasyonundan kurtularak bağırsaklara geçerken, %90'ı hidrojenasyona uğrayarak trans formunda değişik bileşiklere dönüşürler (Wahle KW. Ve ark., 2004).

Rasyonla (*bir besi hayvan›n›n 24 saatlik bir periyot için enerji ihtiyac›n› sağlayan yem miktarı*) alınan yağlar rumen bakterileri tarafından iki ana dönüşüme uğratılırlar. Birinci dönüşüm ikinci basamak için gerekli olan ve mikrobiyal lipazlar taraf›ndan katalizlenen ester bağların hidrolizidir. İkinci dönüşüm ise doymamış yağ asitlerinin biyohidrojenasyonudur. Rumende meydana gelen indirgenme reaksiyonlar›yla, linoleik asit önce c-9, t-11 oktadekadienoik aside ondan sonra trans-vasenik aside (C18:1, t-11) ve daha sonra stearik aside dönüştürülmektedir. Alfa linolenik asit ise önce konjuge oktadekatrienoik (c-9, t-11, c-15) aside ikinci basamakta oktadekadienoik (t-9, c-15) aside, üçüncü basamakta trans vasenik (C18:1, t-11) aside daha sonrada stearik aside (C18:0) dönüşür (Çelebi Ş. ve Kaya A., 2008). (Şekil 1.8.)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Süt, peynir, yoğurt, tereyağı, sığır eti gibi ürünler başlıca CLA kaynaklarıdır. Özellikle kuzu eti CLA bakımından en zengin kaynaklardan biridir. 1g yağın içermiş olduğu toplam CLA içeriklerine bakıldığında, kuzu eti 5,6 mg ve sığır eti 2,9-4,3 mg CLA içermektedir. Rumeni olmayan tavuk ve domuz etleri s›ras› ile 0,9 mg/g ve 0,6 mg/g CLA içermektedir. Deniz ürünlerinden somon 0,3 mg/g, alabal›k 0,5 mg/g ve karides ise 0,6 mg/g CLA içeriğine sahiptirler. Hayvansal g›dalar›n yan› s›ra baz› sebzeler de düşük miktarlarda CLA içermektedirler. Bunun yanında bazı sıvı yağ türlerinde de az miktarda CLA bulunmaktad›r (Demirok E. ve Kolsar›c› N., 2009)

Örneğin kanola yağı 0,5 mg/g, ayçiçek yağı 0,4 mg/g, mısır 0,2 mg/g ve zeytinyağı 0,2 mg/g CLA içermektedir. Günlük olarak tüketilen besinlerde CLA içeriği 2,9-8,92 mg/1 g yağ olacak şekilde değişim göstermektedir (Ercoskun, H., Uguz, S. ve K›ralan, M., 2005). Tablo 1.1`de bazı gıdaların CLA içeriği görülmektedir.

Tablo 1.1. Bazı Gıdaların CLA İçerikleri (Turuni, M. E. and Martin, J. C., 2001; Ercoskun, H., Uguz, S. ve K›ralan, M., 2005).

G›da Maddesi	Toplam CLA (mg/g yağ)	9c, 11t izomeri (%)
Sığır kıyma	4,3	85
Sığır budu	2,9	79
Dana eti	2,7	84
Kuzu eti	5,6	92
Tavuk eti	0,9	84
Hindi eti	2,5	76
Süt	5,5	92
Tereyağı	4,7	88
Yoğurt	4,8	84
Dondurma	3,6	86
Bitkisel yağlar	0,1-0,7	38-47

CLA'nın varlığı elli yılı aşkın bir süreden beri bilinmesine rağmen, 1980'li y›llardan itibaren CLA'n›n biyolojik özelliklerinin ortaya ç›kmas›yla, hayvansal

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

ürünlerde CLA miktarını artırmaya yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalardan bazıları özetle şöyledir:

Choi ve ark. (Terpstra AH. 2004) rasyona soya yağı ilavesinin yağ dokusu CLA miktar› üzerine etkisini incelemek amac›yla koyun rasyonlar›na %5 düzeyinde soya yağı ilave ederek 12 hafta yürüttükleri araştırmada, rasyona soya ilavesinin deri altı ve kas içi yağlarında CLA miktarını önemli derecede yükselttiğini saptamışlardır.

Mir ve ark. (Khosla P, Fungwe TV. 2001) kuzu yemlerine kuru maddenin %6'sı kadar aspir yağı ilave ederek yürüttükleri bir çalışmada, aspir yağı ilavesinin tüm dokularda c-9, t-11 CLA izomerini kontrol grubuna göre %200 düzeyinde yükselttiğini bildirmişlerdir.

Mir ve ark. (Banni S. 2002) süt keçisi rasyonlar›na %0, 2, 4 ve 6 düzeylerinde linoleik ve linolenik yağ asitleri bakımından zengin kanola yağı ilave ederek yapmış oldukları araştırmada rasyona kanola yağı ilavesinin süt verimini ve süt proteini miktar›n› önemli derecede etkilemezken, süt yağındaki CLA miktarını önemli derecede etkilediğini ve grupların CLA oranlarını sırasıyla, 10,53 - 19,42 - 32,05 ve 29.46 mg/g yağ tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Gıdaların CLA içeriği birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. En önemli CLA kaynaklarından biri olan hayvanların yaşı, diyeti ve cinsi CLA içeriğini etkileyen en temel faktörlerdir. Ayrıca hayvanın yetiştiği bölge ve mevsim de CLA içeriğini etkilemektedir.

Hayvanlar›n beslendikleri yemler de oldukça önemlidir. Yüksek dağlık bölgelerden elde edilen sütlerin ve yaz mevsiminde elde edilen sütlerin CLA içeriğinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ruminant kaynaklı gıdaların yağ içeriğindeki artış da CLA miktarını arttırmaktadır. Gıdalar üretilirken kullanılan proses ve proses şartları da CLA içeriği için oldukça önem taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda, ısıtma, pişirme metodu, olgunlaşma süresi kullanılan katkı maddeleri gibi etkenlerin CLA içeriğini etkilediği gözlenmiştir (Bak›r, N., 2005; Ercoskun, H., Uguz, S. ve K›ralan, M., 2005).

Gıdalardaki yağ asidi analiz yöntemleri ile CLA analizi yapılmaktadır. Bu yöntemler ve uygulanabilirlikleri CLA izomerlerini en doğru şekilde analiz edebilmek aç›s›ndan son derece önemlidir. Bu yöntemlerden en yayg›n olarak kullanılanı, yağ asidi metil esterlerinin oluşturulması ve Gaz Kromatografisinde

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

(GC) analiz edilmesidir (Wang, M. L. ve ark. 2007). Yağ asidi metil esterlerinin oluşumu için asit veya alkali katalizörler kullanılabilir. Uzunluğu 30 m'den 100 m'ye kadar değişen polar kapiler kolona sahip, alev iyonizasyon dedektörü (FID) bulunan gaz kromatografi cihazlar› CLA analizi için kullan›lmaktad›r (Willet, J., 1987). Fakat CLA'in tüm izomerlerinin analizinde GC yeterli olmamaktad›r. Bunun yan› s›ra Kütle Spektrofotometresi (MS), Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) ve "Fourier Transform Infrared Spektroskopisi" (FTIR) CLA analizinde kullanılan diğer cihazlardır. Yaygın olarak süt ve süt ürünleri ile yağlardaki CLA içeriğinin tespiti için GC ve HPLC yöntemi kullan›lmaktad›r (Adlof, R. O., 2003; Fuente, M. A. ve ark., 2006).

Geviş getiren hayvanlardan farklı olarak insanda linoleik asitten CLA oluşumu önemli miktarda değildir ve yukarıda bahsedildiği gibi ana kaynağı diyettir (Kelly GS. 2001; Wahle KW. ve ark., 2004). İnsan diyetinde yayg›n bulunan CLA izomeri 9-cis,11-trans, ikinci yüksek bulunan› ise 10-trans, 12-cis izomeri olup bu iki izomer biyolojik olarak diğerlerinden daha aktiftirler (Kelly GS. 2001; Wahle KW. ve ark., 2004; Terpstra AH. 2004; Khosla P, Fungwe TV. 2001; Banni S. 2002). İnsanda yağ ve akciğer dokularında en fazla olmak üzere birikimleri dokuya spesifiktir (Jiang J, Wolk A, Vessby B. 1999). İnsan yağ dokusunda biriken CLA`in miktarı doğrudan süt yağının tüketimi ile ilişkilidir ve süt alımından sonra biriken primer izomer 9-cis,11-trans`d›r (Kelly GS. 2001).

Diyet, insanda CLA`in ana kaynağı olmakla birlikte günlük CLA`in tüketimi ile ilgili bilgilerimiz oldukça s›n›rl›d›r. Ritzenthaler ve ark. (Ritzenthaler KL. ve ark., 2001) CLA tüketiminin kad›nlar için 151 mg/gün ve erkekler için 212 mg/gün olduğunu ve bunun %60`ının süt ürünlerinden kaynaklanırken %37`sinin ise et kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir (Wahle KW. ve ark., 2004).

Pariza ve ark. (Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. 1987) taraf›ndan 1987'de tesadüfen antikanserojen etkisinin keşfedilmesinden sonra CLA önem kazanmış ve o tarihten günümüze kadar sağlığa faydalı pek çok etkisi bulunmuştur. Bu faydalardan bazıları aşağıdaki tabloda yer almaktadır ve faydaların etkileri kullanılan doz-metabolizma, izomer çeşidi ve türe göre değişmektedir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

1- Kan lipidlerini düşürücü etkisi vardır.	**2- Vücut yağ miktarını azaltır.**
3- Antiaterosklerotik etki gösterir.	**4-** Diabetes mellitus (DM)'ta artmış insülin direncini azalt›r.
5- Antikanserojenik etki gösterir.	**6-** Metabolik h›z› art›r›c› etkisi vard›r.
7- İnflamasyonu azaltıcı etkisi vardır.	**8-** İmmüniteyi güçlendirir.
9- Kemik oluşumu ve kas kitlesini artırıcı etkisi vard›r.	

CLA kullan›m›n›n insanlar üzerindeki biyolojik etkilerini gösterilebilmesi için günlük tüketilmesi gereken CLA miktarları hakkında değişik kaynaklar farklı rakamlar (Chamruspollert ve Sell (1999) 1.5-3g/gün; Blankson ve ark. (2000) 3.4g/gün; Hah ve ark. (2006) 3g/gün; İp ve ark. (1995) 3g/gün; Cherian ve Ahn (2002) 3g/gün; Ha ve ark. (1998) 3g/gün) bildirmeleriyle birlikte, şimdiye kadar elde edilen araştırma bulguları, CLA'nın insanlar üzerindeki etkilerinin henüz tam olarak nitelik kazanmadığını ve konuyla ilgili olarak daha fazla araştırma yapılmasının gerektiğini göstermiştir.

Sağlığımız için oldukça önemli etkileri olan bu yağ asidinin etkileri hakkında bilgilerimizin kesinleşmesi ve ayrıca, olası zararlarını belirlemek üzere spesifik izomer çeşitleri hakkında bilgi sağlamak için insanlar üzerinde daha fazla çalışma yap›lmas›na ihtiyaç vard›r.

1.4.2. Çalışmanın Amacı

Son y›llarda hastal›klar›n önlenmesi ve tedavi edilmesi maksad›yla fonksiyonel besinler ve doğal sağlık ürünleri daha fazla tüketilmeye başlanmıştır. Fonksiyonel besinler; besleyici özellikleri dışında vücudumuza fizyolojik yararlar sağlayan ve kronik hastal›k riskini azaltabilen besinler olarak tan›mlanmaktad›r. Bu fonksiyonel bileşiklerden birisi de son y›llarda büyük ilgi gören, insan sağlığı için çok önemli etkileri bulunan konjuge linoleik asit (CLA) izomerleridir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Bu çalışmada; insan metabolizması üzerinde bağışıklık sistemini güçlendirme, kanser oluşumunu azaltma veya yok etmeye, kemik ve kıkırdak sağlığını iyileştirme, yüksek kolesterolü ve damar tıkanıklığını engelleyerek kalp hastalıklarından koruma ve obeziteyi engelleme gibi pek çok faydas› olduğu belirtilen Konjuge Linoleik Asitin (CLA) çeşitli yenilebilir yağlardaki miktarlarının ve izomer yüzdelerinin, önemli bir teknik olan gaz kromatografi teknikleri ile (GC-FID & GC-MS) tespit edilmesi için deneysel parametrelerin optimizasyon çalışmalar›n›n yap›lmas› amaçlanmıştır.

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarla; canl›lar aç›s›ndan oldukça büyük bir öneme sahip CLA`in kalitatif ve kantitatif tayini için uygulanabilirliği kolay metotlar geliştirilmesi ve bu metodlarla etkili bir yöntem olan GC-FID & GC-MS teknikleri kullanılarak yenilebilir yağlarda bulunan CLA izomer çeşitlerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2. KROMATOGRAFİ

Kromatografi, bilimin bütün dallar›nda uygulamas› bulunan güçlü bir ay›rma tekniğidir. 20. y.y. başlarında Rus botanikçi Michail Tswett tarafından bulunmuştur. Yunancada chroma “renk” graphin “yazma” anlam›na gelir. Botanikçi, kolonda renkli bantlar şeklinde ayrılmalar gördüğünden “chromagraphein” diye adlandırmıştır (Skoog,D.A.,D.M.,Holler,F.J., 1996)

Kromatografi; moleküler veya iyonlar halindeki karışımların hareketli mobil) bir faz yardımıyla sabit faz üzerinden değişik hızlarla hareket etmeleri veya sürüklenmeleri esas›na dayanarak birbirinden ay›r›p, ayr› ayr› bölgelerde toplayarak bunların miktarlarının çeşitli fiziksel metotlarla belirlenmesine denir.

Durgun ve hareketli faz, numune bileşenlerinin farklı oranlarda dağılmasını sağlayacak şekilde seçilir. Durgun faz tarafından kuvvetli tutulan numune bileşenleri, daha yavaş hareket ederken; zayıf tutulan numune bileşenleri, hızlı hareket ederek ayrılırlar. Bu hareket hızının farklılığı sonucu, numune bileşenleri, birbirinden kalitatif veya kantitatif olarak analiz edilebilen farklı bantlar veya bölgeler şeklinde ayr›l›rlar.

2.1. Kromatografi Metotlar›n›n S›n›fland›r›lmas›

Kromatografik metotlar iki şekilde sınıflandırılabilir

Kolon kromatografisi; Durgun faz dar bir boruda tutulur hareketli faz ise yerçekimi veya bas›nç etkisiyle borudan geçirilir.

Düzlem kromatografisi; Durgun faz düz bir yüzeyde veya bir kağ›d›n gözeneklerinde tutulur. Hareketli faz, durgun faz üzerinde k›lcal etki veya yerçekimi etkisiyle hareket eder.

Tablo 2.1.’in ilk kolonunda gösterildiği gibi kromatografik metotlar sıvı, gaz veya süperkritik akışkan olmak üzere, hareketli fazın yapısına bağlı olarak üç sınıfta da verilebilir. Bu tablonun ikinci kolonunda durgun faz›n yap›s›na ve fazlar aras› dengenin niteliğine bağlı olarak beş tür sıvı kromatografi, üç tür de gaz kromatografi tekniği bulunduğu görülmektedir (Skoog,D.A.,D.M.,Holler,F.J., 1996).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 2.1. Kolon Kromatografisi Metotlar›n›n S›n›fland›r›lmas›

Genel S›n›fland›rma	Özel Metot	Durgun Faz	Denge Tipi
S›v› kromatografisi (*hareketli faz›; s›v›*)	☙ S›v›-s›v› ve partisyon	Bir kal›nt› üzerine adsorplanmış sıv›	Karışmayan sıvılar aras›nda partisyon
	☙ Bağlı-s›v› faz	Katı bir yüzeye bağlı organik türler	Sıvı ve bağlı yüzey aras›nda partisyon
	☙ S›v›-kat› veya adsorpsiyon	Kat›	Adsorpsiyon
	☙ İyon değişimi	İyon değiştirici reçine	İyon değişimi
	☙ Boyut elemesi	Polimer kat›n›n yüzeyindeki s›v›	Partisyon/eleme
Gaz kromatografisi (*hareketli faz; gaz*)	☙ Gaz-s›v›	Bir kat› üzerine adsorplanmış sıvı	Gaz ve s›v› aras›nda partisyon
	☙ Bağlı-s›v› faz›	Katı bir yüzeye bağlı organik türler	Sıvı ve bağlı yüzey aras›nda partisyon
	☙ Gaz-kat›	Kat›	Adsorpsiyon
Süperkritik akışkanlı kromatografi (*hareketli faz; süperkritik akışkan*)		Katı bir yüzeye bağlı organik türler	Süperkritik akışkan ve bağlı yüzey arasında partisyon

2.1.1.Sabit faz›n yap›s›na göre

Kromatografik metotlar hareketli faz›n yap›s›na ve durgun (sabit) faz›n yap›s›na göre de ikiye ayr›l›r.

2.1.1.1. Adsorpsiyon kromatografisi

Adsorpsiyon kromatografisi ilk kromatografidir. Bu tip kromatografi tekniklerinde absorban olarak çok küçük parçacık ebatına getirilmiş silikajel, alümina, kalsiyum karbonat veya selüloz kullanılabilir. Bu kromatografi çeşidi, iyonik olmayan, molekül ağırlığı 2000'in altında olan ve organik çözücülerde çözünen

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

maddelerin ayrılmasında iyi sonuç verir. Apolar bileşikler için polaritesi yüksek kolonlar kullanılır. Silikajel asidik karakterde olduğu için bazik bileşiklerin ayrılmasında kullanılırken, alümina ise hem asidik, hem de bazik bileşiklerin ayr›lmas›nda iyi sonuç verir.

Ayırma, ayrılacak bileşiklerin sabit fazda farklı tutulmaları esasına dayanır. Kolona ilave edilen hareketli fazlar sayesinde bileşikler, adsorplanma durumlarına göre farkl› h›zlarla sürüklenirler. Genellikle kolonlar, uzunluklar›n›n, çaplar›na oran›, 5:1, 20:1, 100:1 olan cam tüpler olabileceği gibi, 1cm çapında 25 cm uzunluğunda veya 2 cm çap›nda 30-50 cm uzunluğunda analitik büretler de kolon olarak kullan›labilir.

2.1.1.2. Dağılma kromatografisi

Bu kromatografi sistemlerinde sabit faz katı destek üzerine tutturulmuş sıvıdır. Dağılma kromatografisinde sabit faz; genellikle katı destek maddesi olarak silisilik asit ve silikajel kullanılr. Bu maddeler çok kuvvetli şekilde su absorpladıklarından sabit faz sıvı özelliğini gösterir. Polar çözücülerden, alifatik alkoller, glikoller ve nitro metan kat› destek maddesi üzerine kaplanarak sabit faz olarak kullan›l›r. Diatome toprağı, nişasta, selüloz ve ufalanmış cam katı destek maddesi olarak kullanılır. Su ve değişik karakterdeki organik sıvılar katı destek maddesi üzerine kaplanarak sabit fazlar haz›rlanabilir. Hareketli faz saf çözücüler olabildiği gibi bir karışım da olabilir. Hareketli faz›n seçimi genellikle deneme yoluyla bulunur.

2.1.1.3. İyon değiştirme kromatografisi

Bu metot genellikle zay›f ve kuvvetli organik elektrolit maddelerin ayr›lmas›nda kullanılır. Sabit faz; iyon değiştirme yeteneğine sahip, asidik ve bazik uçlar ihtiva eden çapraz bağlı organik polimerlerdir. Bu reçineler çözücülerde çözünmezler, aktif grupları hidrofilik olduğundan iyonik çözücülerle karşı değişik derecede ilgi duyarlar. Ay›rma, bu ilginin ayr›lacak maddelere karşı farklı olması sayesinde gerçekleştirilir.

Bu kromatografi çeşidinde, sabit faz iyon değiştirme yeteneğine sahip gruplardır. Değiştirdikleri iyon cinsine göre, katyonik ve anyonik iyon değiştiriciler olmak üzere iki gruba ayr›l›rlar. Katyonik iyon değiştiriciler asidik uçlara, anyonik

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

iyon değiştiriciler ise bazik uçlara sahiptirler. İlk kullanılan iyon değiştiriciler zeolitlerdir ve suların sertliğinin giderilmesinde kullanılmıştır. Reçinelerin iyon değiştirme gücü, pH, iyonik yük, iyonik yarıçap, reçinelerin gözenekliliği, çözücünü gücü ve sıcaklık gibi birçok parametrelere bağlıdır. İyon değiştirici sabit fazlar; tiplerine (anyonik ve katyonik), tutma gücüne (zay›f, kuvvetli), fonksiyonlu gruplarına, kapasitelerine ve iyon şekillerine göre sınıfland›r›l›rlar.[37]

2.1.1.4. Sterik seçiçi kromatografisi

Bileşiklerin şekillerine ve büyüklüklerine göre ayırma yapan bir kromatografi çeşididir. Genellikle değişik molekül ağırlıklı bileşiklerin ayrılmasında kullanılır. Hareketli faz›n ana rolü, yaln›zca verilen numuneyi taşımak ve sabit fazı ıslak tutmaktır. Numune ile sabit ve hareketli faz arasında hiçbir etkileşme yoktur.

Ayrılacak bileşik sisteme verilmeden önce hareketli faz, sabit faz taneciklerin gözeneklerini doldurur ve küçük gölcükler meydana gelir. Ayrılacak bileşikler kolona geldiğinde, gözeneklerin genişliğinden daha büyük ebata sahip olanlar gözeneklere giremediklerinden, sabit fazda tutunamay›p hareketli faz ile birlikte kolonu terk eder. Gözeneklerin genişliği kadar derinliği de önemlidir. Gözeneklerin dip k›sm›na yerleşen küçük bileşikleri kolondan çıkartmak için çok fazla miktarda hareketli fazın kullanılması gerekir. Gözenek derinliği çok büyük veya çok küçük olursa sağlıklı bir ay›rma yap›lamaz.

Jel süzme kromatografisinde sabit faz; çözücü ile şişirilmiş, poroz ve hidrofilik bir madde, hareketli faz ise sulu çözeltidir. Jel geçirgen kromatografisinde; sabit faz çapraz bağlı hidrofob bir madde, hareketli faz ise organik bir çözücüdür. Genelde sabit bir faz olarak stiren ve divinil gibi kopolimerler kullan›l›r. Jel geçirgenlik kromatografisinde bileşikler, molekül ağırlıklarına, şekillerine ve dipol momentlerine göre ayr›l›rlar [37].

2.1.2. Hareketli faz›n yap›s›na göre

S›v› kromatografisi;

Bir çözücüde çözünmüş olan karışımdaki bileşikler kolonda bulunan sabit fazdaki farklı tutulmalarından dolayı, hareketli faz tarafından farklı hızlarla taşınır ve

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

birbirinden ayr›l›rlar. Sabit faz, kat› destek maddesi üzerine ince bir film halinde kaplanmış sıvıdır. Hareketli faz kolona değişik tipte pompalarla bas›l›r. Yüksek basınçlı hareketli fazın yardımıyla bileşikler kolondan taşınır ve ayırma geçekleşir. Ayrılan bileşikler kolon çıkışına bağlanan uygun bir dedektörle tespit edilir, elde edilen sinyaller kaydedilir.

Yüksek bas›nç ve h›zda yap›lan ay›rmaların yapıldığı sıvı kromatografi sistemlerine *Yüksek Bas›nçl› S›v› Kromatografisi (HPLC)* ismi verilir. Bir s›v› kromatografisi aşağıdaki kısımlardan oluşur.

Süperkritik akışkan kromatografi;

Süper kritik akışkan kromatografi gaz ve sıvı kormatografinin üstün tarafla›n› bir araya getirmiş bunların karışımı olan bir tekniktir. Süper kritik akışkan, bir maddenin kritik sıcaklığının üzerine kadar ısıtıldığı zaman oluşur. Kritik sıcaklıkta bir madde, basınç uygulaması ile sıvı haline hiçbir şekilde dönüştürülemez. Süperkritik akışkan kromatografi cihazları,yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazlar›na benzerdir.Bu krromatografide en çok kullan›lan hareketli faz karbondioksittir.Kullan›lan kolonlar ise dolgulu ve aç›k tüp kolonlard›r. Süperkritik akışkan kromatografini en önemli üstünlüğü;gaz-s›v› kromatografide kullan›lan duyarlı ve çok amaçlı dedektörlerin bu tekniğe de uygun olmasıdır.

Açık tüp kolonlarda gerçekleştirilen süperkritik akışkan kromatografi gaz-s›v› ve s›v› kromatografi ile kolayca ayr›lamayan bileşik sınıfları için kolon kromatografik metotlar aras›nda güçlü bir tekniktir.

Gaz kromatografisi;

Gaz kromatografide, numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. Kullan›lan hareketli faz gaz olup,durgun faz adsorpsiyonla kat› üzerine tutturulmuş sıvı veya katı olabilir. Bu teknik ileride daha detayl› aç›klanacakt›r.

2.2. Kromatografide Kullan›lan Terimler

2.2.1. Kromatogram

Çözünen maddenin derişimine cevap veren bir dedektör, kolon çıkışına yerleştirilirse ve dedektör sinyali zaman›n bir fonksiyonu olarak kaydedilirse, bir seri

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

pik elde edilir. Bu piklere kromatogram denir. Kalitatif ve kantitatif analizler için kullanılır. Zaman eksenindeki piklerin yerleri, numune bileşenlerini tanımada kullan›labilir. Pik alanlar› ise her bir bileşenin miktarının kantitatif ölçüsüdür.

2.2.2. Çözünenlerin Göç H›zlar›

Bir kromatografi kolonunun iki çözüneni ayırmadaki verimliliği, iki türün elüsyon sırasındaki bağıl hızlarına bağlıdır. Bu hızlar ise, çözünenlerin iki faz aras›ndaki partisyon oranlar› taraf›ndan belirlenir.

2.2.2.1. Kromatografideki partisyon oranlar›

Kromatografide bir çözünen için partisyon oran› veya partisyon katsay›s›, bu bileşenin durgun fazdaki konsantrasyonunun hareketli fazdaki konsantrasyonuna oranına eşittir. Bütün kromatografik ay›rmalar, çözünenlerin hareketli ve durgun faz arasındaki partisyon (dağılma) derecesini temel alır. A çözüneni için söz konusu denge, aşağıdaki eşitlikle gösterilir.

$A_{Hareketli} \Leftrightarrow A_{durgun}$

Bu reaksiyon denge sabiti K’ ya, partisyon oran› veya partisyon katsay›s› ad› verilir ve;

$K = C_S/C_M$ şeklinde gösterilir.

Burada;

C_s: çözünenin durgun fazdaki analitik konsantrasyonu

C_m: hareketli fazdaki analitik konsantrasyonu

2.2.2.2. Tutulma süresi:

Numune enjeksiyonundan sonra gelen, analit pikinin dedektöre ulaşması için geçen zamana tutulma süresi denir ve $\mathbf{t_R}$ ile gösterilir. Hiç tutulmayan bir türün kolondan geçişi için gereken süreye ölü zaman denir. $\mathbf{t_M}$ ile gösterilir (L: kolon dolgusunun uzunluğudur).

Çözünen maddenin ortalama doğrusal göç hızı: $v=L/t_R$

Hareketli faz moleküllerinin ortalama doğrusal hızı: $u=L/t_M$

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2.2.2.3. Kapasite faktörü (çözünenin göç h›z›)

Kapasite faktörü, önemli bir deneysel parametre olup, Çözünen maddelerin kolonda göç h›zlar›n› tan›mlamakta yayg›n olarak kullan›l›r. Bir A çözüneni için kapasite faktörü;

$$k'_a = K_a.(V_s / V_m) \longrightarrow k'_a = (t_R - t_M) / t_M$$

Burada Ka A türü için partisyon oran›d›r.

Bir numunedeki analitler için kapasite faktörü, ideal olarak 1 ile 5 aras›ndad›r.

2.2.2.4. Seçicilik katsay›s› (bağıl göç hızları)

Bir kolonda A ve B gibi iki tür için seçicilik katsay›s›

$\alpha = K_b/K_a$ $\alpha = k'_b / k'_a$

şeklinde tanımlanır; daha kuvvetli tutunan B türü için partisyon oranı K_b, daha az kuvvetli tutunan veya daha h›zl› olarak kolondan elde edilen A türü için ayn› sabit K_a'd›r.Bu tan›ma göre **α** daima birden büyüktür.

2.2.3. Kolon Verimliliği

Kolon verimliliğinin kantitatif bir ölçüsü olarak 2 terim kullanılmaktadır; tabaka yüksekliği (H) ve tabaka sayısı (N) ise ;

N=L/H ile tan›mlan›r.

Kromatografik kolonun verimliliği tabaka sayısı arttıkça ve tabaka yüksekliği azaldıkça artar. Türlerin içerdikleri hareketli ve durgun fazların çeşitlerine bağlı olarak kolonlardaki verimlilik büyük farkl›l›klar gösterebilir. Tabaka say›s› cinsinden verimlilik birkaç yüz ile birkaç bin arasında değişebilir, tabaka yüksekliği ise birkaç mm ile bir cm' nin binde biri kadar hatta daha da az olabilir.

2.2.4. Kolon Verimliliğini Etkileyen Değişkenler

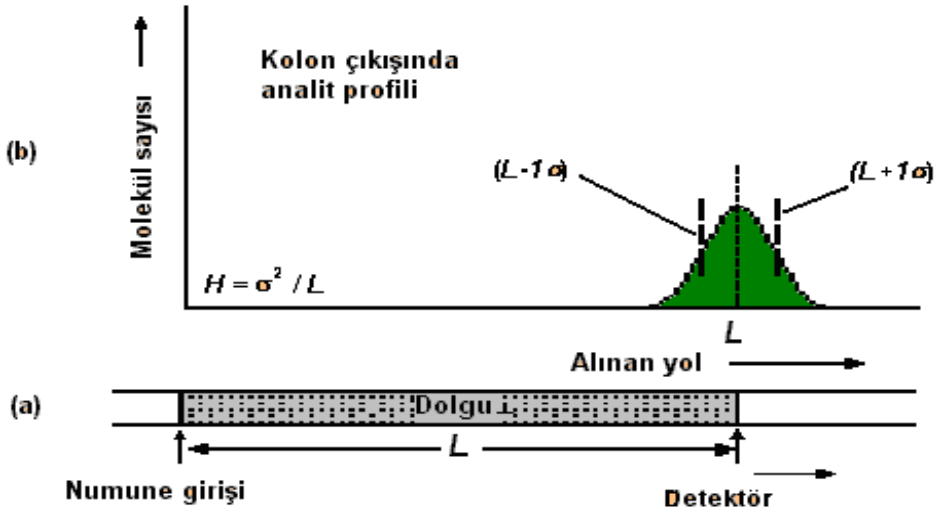
2.2.4.1. Tabaka yüksekliği

Gauss eğrisinin genişliğinin standart sapma σ ve varyans σ^2 değeriyle tanımlanır. Kromatografik bantlar gaus eğrisi şeklindedir ve kolon verimlilikleri de kromatografik piklerin genişlikleri ile ilgili olduğundan, birim kolon uzunluğundaki varyans değeri,

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

kromatografistler tarafından kolon verimliliğinin bir ölçüsü olarak kullanılır. Diğer bir deyişle kolon yüksekliği;

H= σ^2/L şeklinde verilebilir.



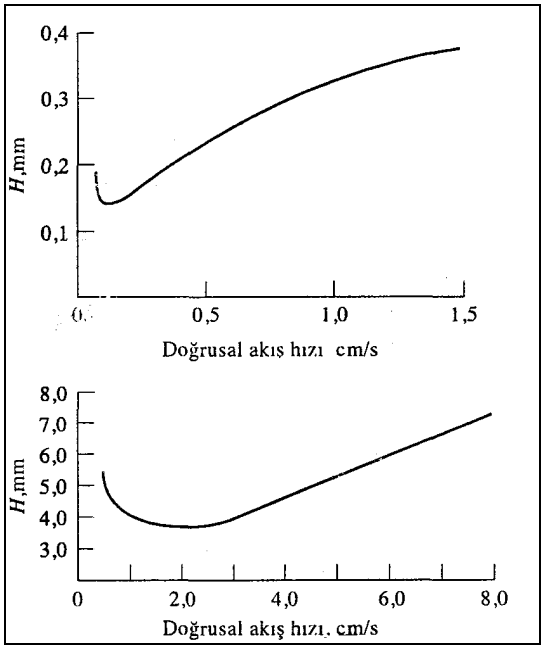
Şekil 2.1. Tabaka yüksekliği Tanımı

2.2.4.2. Hareketli faz akış hızının etkisi

Kolon verimliliğine etkilerin büyüklüğü, doğrudan hareketli fazın durgun faz ile temas ettiği sürenin uzunluğuna, dolayısıyla hareketli fazın akış hızına bağlıdır. Bu nedenle, verimlilik çalışmalarında genellikle hareketli faz hızına bağımlı olarak H bulunur.

Genelde, sıvı kromatogramlar, gaz kromatogramlara göre daha düşük akış h›zlar›nda elde edilir buna ek olarak, s›v› kromatografi için tabaka yükseklikleri, gaz kromatografide bulunanlardan on kat veya daha büyüktür. Bu üstünlüğü azaltan bir özellik olarak, s›v› kolonlar›n› 25-50 cm'den daha uzun yapmak pratik değildir; gaz kromatografi kolonlar› ise 50 m veya daha uzun olabilir. Sonuç olarak, gaz kromatografi kolonlar›nda toplam tabaka say›s› genellikle daha fazla, dolay›s›yla kolon verimliliği daha iyidir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 2.2. Hareketli faz akış hızının tabaka yüksekliğine etkisi (a) s›v› kromatografide (b) gaz kromatografide

2.2.4.3. Bant genişlemesinin teorisi

Tabaka yüksekliğini hesaplamak için belki bir düzineden fazla bağıntı ileri sürülmüş ve çeşitli derecelerde başarılı olarak kullanılmıştır. Bu bağıntılardan hiç birisi, bant genişlemesine, dolayısıyla kolonda verim düşmesine yol açan karmaşık fiziksel kimyasal etkileşimleri tam olarak açıklamamıştır. Bununla birlikte baz› eşitlikler, mükemmel olmamakla beraber iyileştirilmiş kolon performansına giden yolu gösterdiklerinden, yaygın olarak kullanılmıştır. Çoğu kromatografi kolonunda verimlilik aşağıdaki bağıntı ile yaklaşık olarak bulunabilir:

$$H = B/u + C_s u + C_m u$$

Burada h cm olarak yüksekliği, u ise saniye başına cm olarak hareketli fazın doğrusal hızıdır. B değeri uzunlamasına difüzyon katsayısı, Cs ve Cm ise, sırasıyla durgun ve hareketli faz için kütle-aktar›m katsay›lar›d›r.

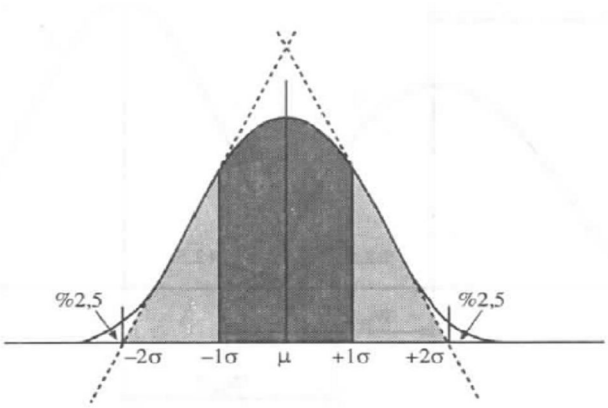
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2.2.4.4. Kolonun ay›rma gücü (Rezolüsyon)

Bir kolonun ay›rma gücü R_S ile gösterilir. $R_{S\ bir}$ numunede bulunan bileşenlerin birbirinden ne derece ayrıldıklarını gösteren kantitatif bir terimdir. Bu terim, $R_S = 2.\ \Delta t_R / (W_A + W_B)$

$$\Delta t_R = (t_R)_B - (t_R)_B$$

şeklinde verilir. Bilindiği gibi normal bir dağılım eğrisinde $\mu \pm 2\sigma$ eğrinin altındaki alanın yaklaşık % 95'ini temsil eder. Buna göre eğrinin $\mu \pm 2\sigma$'l›k alan›n›n ötesinde kalan kısımlarında (sağda ve solda) % 2,5'luk kısımları bulunur, Şekil 2.3.



Şekil 2.3. Normal bir dağılım eğrisinde, alanın σ değerlerine göre ayrılması. Taral› alanlar bütün alan›n %95'idir.

Yukar›da söylenenler kromatografik piklere uygulan›rsa,

$$\mu + 2\sigma = (t_R)_A + W/2$$

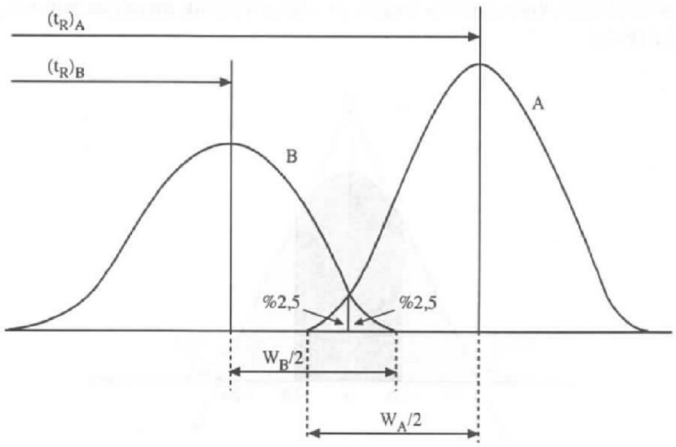
$$\mu - 2\sigma = (t_R)_A - W/2$$

olur. Buna göre kolonun ay›rma gücü RS=1 ise A maddesinin pikinin %2,5'luk kuyruk kısmı, B maddesi pikinin %2,5'luk kuyruk kısmı ile üst üste binmiş demektir, Şekil 1.6. Bu da,

$$(W_A + W_B) / 2 = (t_R)_A - (t_R)_B$$

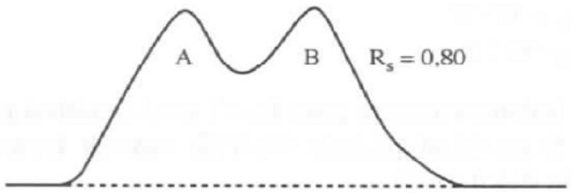
olduğu zaman görülür.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 2.4. Karışımda bulunan A ve B maddeleri piklerinin % 2,5'lik k›s›mlar›

Buna karşılık, kolonun ayırma gücü RS=1,5 olduğu zaman pik kuyruklarının üst üste gelen kısımları yaklaşık % 0,2 olur. Bu değerlerden anlaşıldığına göre, bir kromatogramda R_S değerinin 1,5 değerinin üstünde olması gerekir. Aksi halde piklerin kuyruklar› birbiri içine çok girer(%2,5 ten fazla). R_S=0,80 olduğu zaman, Şekil 2.5'de verilen durumla karşılaşılır. Böyle bir durum hiç bir zaman istenmez ve şartlar değiştirilerek kromatogram yeniden alınır.



Şekil 2.5. R_S = 0,80 olması halinde A ve B piklerinin yaklaşık görünüşü.

2.2.4.5. Kapasite ve seçicilik faktörlerinin Ay›rma gücüne etkisi

Bir kolonun ayırma gücü ile kolonda bulunan iki çözünen bileşen için kapasite ve seçicilik faktörleri ayr›ca tabaka sayısı arasındaki ilişkiyi veren bir eşitlik kolayca türetilebilir. Böylece yukar›daki A ve B gibi iki çözünen madde için ay›rma gücünün aşağıdaki eşitlik ile de gösterilebilir.

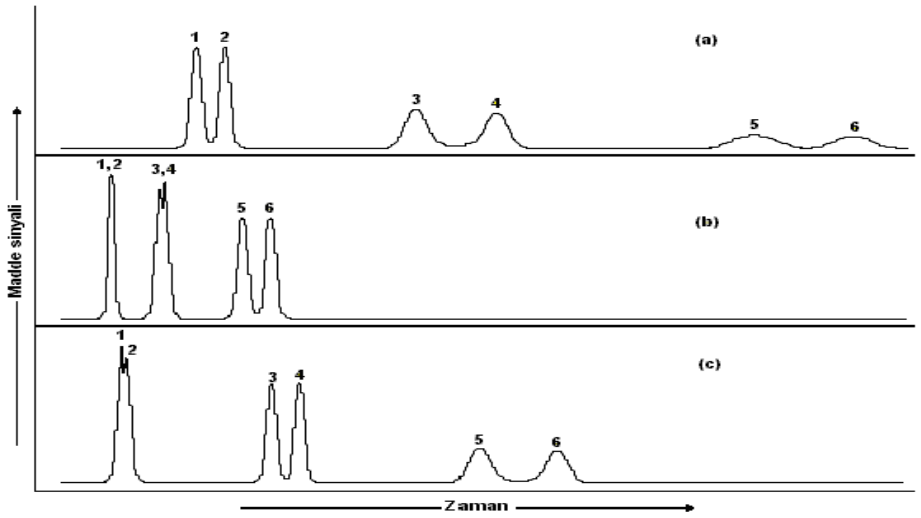
$$R_s = N^{1/2}/4.\ [(\alpha-1)/\alpha].\ [k'_b/(1+k'_b)]$$

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2.2.4.6. Genel elüsyon problemi

Oldukça farklı dağılma katsayılarına, dolayısıyla çok farklı kapasite faktörlerine sahip üç analit içeren, alt›-bileşenli bir karışım için hipotetik kromatogramlar şekilde verilmektedir. Kromatogram (a) için şartlar, 1 ve 2 sayılı bileşenlerin kapasite faktörleri (k'1 ve K'2), 1-5 arasındaki optimum aralıkta olacak şekilde ayarlanmıştır. Bununla birlikte, diğer bileşenler için faktörler optimumdan daha büyüktür.

Bu nedenle, 5 ve 6 sayılı bileşenlerin ancak çok uzun bir süre sonunda pik verirler; buna ek olarak bu piklerin, tanınmayı zorlaştıracak derecede genişlemiştir. Kromatogram (b)'de görüldüğü gibi, şartlar 5 ve 6 sayılı bileşenlerin uygun ayrılması için ayarlandığında ise, diğer dört bileşenin pikleri zaman ekseninde sıkışarak zayıf bir ay›rma veririler. Bu durumda toplam elüsyon süresi uygundur.



Şekil 2.6. Kromatografide Genel Elüsyon Problemi

Şekil 2.6'da anlatılan ve genelde yaşanan bu soruna genel elüsyon problemi adı verilir. Bu problemin genel bir çözümü k' değerini etkilemeyen şartların, ayrılma sürerken değiştirilmesidir. Böylece şekilde ele alınan karışım için, ilk şartlar kromatogram (a) sırasında kullanılanlar gibi olabilir.1 ve 2 sayılı bileşenlerin elüsyonundan hemen sonra farklar 3 ve 4 sayılı bileşenlerin için optimum olacak şekilde ayarlanabilir (kromatogram c gibi) bu bileşenler de pik verdikten sonra, bu kez şartlar, kromatogram (b)'de olduğu şekilde değiştirilir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Sıvı kromatografide, k' elüsyon süresinde hareketli fazın süresi değiştirilerek ayarlanabilir. Gaz kromatografisinde ise, s›cakl›k art›r›larak ay›rma için en uygun şartlar elde edilebilir.

2.3. Kromatografinin Uygulamalar›

Kromatografi, yap›lar› benzer kimyasal türlerin ayr›lmas› için güçlü ve kullanışlı bir araçtır. Buna ek olarak ayrılan türlerin kalitatif ve kantitatif tayinleri için de kullan›labilir.

2.3.1. Kalitatif Analiz

Az sayıda ve bilinen türleri içeren karışımlardaki bileşenlerin varlığını tanımak amacıyla kromatografi yaygın olarak kullanılır. Örneğin, tek bir kromatogramla, protein hidrolizatında 30 kadar aminoasit yeterince kesin bir şekilde görülebilir. Öte yandan kromatogram, karışımdaki her tür için, tutulma süresi gibi yalnızca tek bir bilgi içerir; bu nedenle anılan tekniğin bilinmeyen bileşimde karmaşık numunelere uygulanmas›ndaki başarı sınırlıdır. Kromatografi kolonların doğrudan ultraviyole, infrared veya kütle spektrometrelerine bağlanmasıyla, bu sınırlamalar önemli ölçüde aşılmıştır. Böylece oluşan ikili cihazlar, karmaşık karışımlardaki bileşenlerin tan›nmas›nda güçlü araçlar olarak kullan›l›r.

Belirtilmesi önemli olan bir hususta, tek kromatogram›n numunedeki belli bir türün kesin olarak bulunduğunu göstermede yeterli olamayacağı, ancak çoğunlukla bu türlerin ortamda bulunmadığı yolunda kesin bilgi verebileceğidir. Böylece, benzer şartlarda bir standart ile elde edilen tutunma süresi ile aynı tutulma süresinde bir pik vermemesi, söz konusu bileşiğin ortamda olmadığının güçlü kanıtıdır.

2.3.2. Kantitatif Analiz

Kromatografi, hızlı büyümesini kısmen hızına, basitliğine, bağıl olarak ucuzluğuna ve ayırmalarda yaygın uygulanabilen bir araç olmasına borçludur. Ancak, ayrılan türler hakkında kantitatif bilgi vermeseydi, bu denli yaygınlaşması mümkün olmayabilirdi. Kantitatif kromatografi, analit pikini yüksekliği veya alanının bir veya daha çok sayıda standart değerleriyle karşılaştırılması temeline dayanır. Şartlar uygun

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

biçimde denetlenirse, bu parametrelerin ikisi de konsantrasyonla doğrusal olarak değişir.

2.3.2.1. Pik yüksekliğine dayalı analizler

Bir kromatografi pikinin yüksekliğini ölçmek için pikin iki yanındaki zemin çizgisi bir doğru ile birleştirilir ve bu doğrudan pikin yüksekliği düşey olarak belirlenir. Numune ve standart ve kromatogramlarının alındığı süre içinde, pik genişliğini etkileyecek kolon şartları değişmez ise, bu ölçüm yeterince tekrarlanabilir şekilde yapılabilir ve doğru sonuç alınabilir.

İyi bir şekilde denetlenmesi için gerekli şartlar kolon sıcaklığı, elüent akış hızı ve numune enjeksiyon hızıdır. Bunlara ek olarak, kolona aşırı yüklenmelerden kaç›n›lmal›d›r. Numune enjeksiyon h›z›n›n etkisi, kromatogramlarda erken gelen pikler için özellikle önemlidir.

2.3.2.2. Pik alan›na dayal› analizler

Pik alanı, bir önceki paragrafta anılan değişkenlerle oluşan genişleme etkilerinden bağımsızdır. Bu bakımdan analitik parametre olarak alan ölçümü pik yüksekliğinden daha uygundur. Öte yandan pik yüksekliğini ölçülmesi daha kolay olup özellikle dar piklerde daha doğru ölçülebilir.

Modern kromatografi cihazlarının çoğunda bağıl pik alanlarının tekrarlanabilir şekilde ölçülmesini sağlayan elektronik integratörler vardır. Bu tür bir olanak yoksa, ölçüm elle yapılmalıdır. Simetrik piklerde oldukça başarılı olan basit bir metot, pik yüksekliğinin yarı yükseklikteki pik genişliği ile çarpılmasıdır.

2.3.2.3. Standartlarla kalibrasyon

Kantitatif kromatografi analizlerinde en çok kullan›lan metot, bilinmeyenin bileşimine benzer bir dizi standart çözelti hazırlamaktadır. Bundan sonra kromatogramlar alınır ve pik yükseklik veya alan değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilir. Böyle bir grafik, sıfır noktasından geçen bir doğru şeklinde olmalıdır; analizler bu grafik ile yapılırken doğru sonuçların alınması için kalibrasyonun s›k s›k yap›lmas› gerekir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Kalibrasyon standartlarına dayalı analizlerde en önemli hata kaynağı, genellikle numune hacmindeki belirsizliktir; enjeksiyon h›z› da bazen bir etken olabilir. Numuneler genelde küçük olup (1 mikro litre), bu denli küçük bir hacmin mikro şırınga ile verilmesindeki tekrarlanabilirlik bağıl hatası, yüzde birkaç düzeyindedir. Numunenin ısıtılmış bir numune girişine verildiği gaz-s›v› kromatografi için bu durum daha da kötü olabilir. Bu durumda, şırınga iğnesi ucundan numunenin buharlaşması, hacimde önemli değişmelere neden olabilir.

2.3.2.4. İç-Standart metodu

Kantitatif kromatografide en iyi keskinlik, iç standartlar kullan›larak elde edilir; çünkü bu metot ile numune enjeksiyonu, akış hızı ve kolon şartlarındaki değişmelerle oluşan belirsizlikler en aza indirilir. Bu metotta, standart ve numune çözeltilerinin her birisine dikkatle ölçülmüş miktarda bir iç-standart kat›l›r; analit pik alan (veya yükseklik) değerinin iç-standart pik alanı (veya yükseklik) değerine oranı analitik parametredir. Bu metotta başarılı olunabilmesi için, iç-standart piki numunedeki diğer bileşenlerin piklerinden belirgin şekilde ayrılmalı, ancak analit pikine de yakın olmal›d›r.

2.4. Gaz Kromatografisi

Gaz kromatografide, numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. İnert bir hareketli gaz faz ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz faz analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi, analitik kolon boyunca taşımaktır. İki tür gaz kromatografisi vardır, gaz-kat› kromatografi (GSC), gaz-s›v› kromatografi (GLC). Gaz-s›v› kromatografi bir çok alanda yayg›n olarak kullanıldığı için adı genelde kısaltılır ve gaz kromatografi (GC) terimi kullan›l›r.

Gaz-kat› kromatografi kat› bir durgun faz üzerinde fiziksel adsorpsiyon sonucu analitlerin al›konmas›n› temel al›r.

Gaz-kat› kromatografi iki nedenle s›n›rl› uygulama alan› bulur; polar moleküllerin kal›c› denebilecek ölçüde al›konma problemi ve adsorpsiyon olay›n›n doğrusal olmayışı nedeni ile kuyruklanmanın aşırı oranla meydana gelmesi bu nedenle

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

yöntem küçük mol kütleli moleküllerin ayrılmasının dışında fazla bir uygulama alan› bulamamıştır. Gaz-s›v› kromatogarfi analitin gaz haldeki hareketli faz ile bir kat›n›n yüzeyine tutturulmuş durgun sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur.[37]

2.4.1. Gaz-s›v› kromatografi

2.4.1.1. Al›konma hacimleri

Gaz kromatografide s›cakl›k ve bas›nc›n etkilerini dikkate almak için al›konma zamanı yerine alıkonma hacmini kullanmak daha yararlı olmaktadır. İkisi arasındaki ilişki şöyledir.

$V_R = t_R.F$ ve $V_M = t_M.F$

F: kolon içindeki gaz›n ortalama hacimsel h›z›

V ve t: s›ras› ile al›konma hacmi ve al›konma zaman›

R ve M: alt indisleri kolonda tutulan ve tutulmayan maddeleri göstermektedir.

2.4.1.2. V_g ile K arasındaki ilişki

V_g dağılma sabiti (K) arasındaki ilişkiyi kurmak önemlidir. V_g'nin belli bir s›cakl›kta yaln›zca maddenin dağılma sabitine ve durgun fazı oluşturan sıvının yoğunluğuna bağlı olduğu aşağıdaki denklemde açıklanmıştır.

$V_g = K / d_s \; x \; 273 / T_c$

Bu haliyle V_g maddelerin tan›nmas›nda prensip olarak uygun bir parametredir.

2.4.1.3. Hareketli faz akış hızın›n etkisi

Boyuna difüzyon teriminin, gaz içindeki difüzyon hızının diğer kromatografik yöntemlerden çok büyük olmas› nedeni ile, gaz-s›v› kromatografide önemi aç›kt›r. Bununla bağlantılı olarak, tabaka yüksekliği (H) ile ilgili akış hızı eğrilerinden minimum, gaz kromatografide daha geniştir. Şekilde gazın, kolona girmeden önce ikiye ayrıldığına dikkat ediniz. Bu tip bir tasarım, dedektörün analitin varlığı ile gaz özelliklerinde ortaya çıkan değişimi ölçmesi halinde uygulanır. Diğer tip dedektörler de normal olarak akış bölücüler kullanılmaz.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2.4.2. Gaz-kat› kromatografi

Gaz-kat› kromatografinin temeli, gaz haldeki maddelerin kat› yüzeylerinde adsorpsiyonuna dayanır. Dağılma sabitleri gaz-s›v› kromatografidekine göre genellikle çok daha büyüktür. Bunun sonucu olarak, gaz-kat› kromatografi, gaz-s›v› kolonunda al›konulmayan oksijen, azot, hidrojen sülfür, karbon disülfür, azot oksitleri, karbon monoksit, karbon dioksit ve diğer nadir gazların ayrılmasında yararl›d›r. Gaz-kat› kromatografi dolgulu ve k›lcal kolonlar›n her biri ile de yap›labilir. K›lcal kolonlarda adsorban, ince bir film halinde kolon iç yüzeyine tutturulur. Bu tür kolonlara bazen gözenekli tabaka aç›k borusal kolonlar (PLOT) ad› verilir. Dolgu maddesi olarak moleküler elek ve gözenekli polimerler kullan›l›r.

2.4.2.1. Moleküler elek

Moleküler elekler alüminyum silikat iyon değiştiricilerdir ve gözenek çapları mevcut katyona bağlıdır. Elekler, gözeneklere girebilecek maddelerin maksimum çaplar›na göre s›n›fland›r›l›rlar. Genellikle çaplar› 4, 5, 10, 13 A' boyutlar›ndad›r.

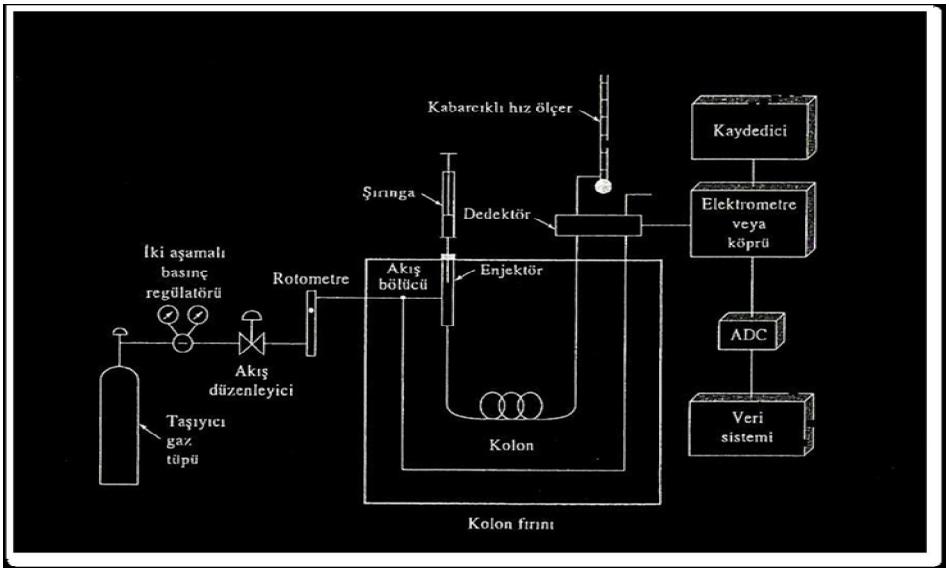
Bu ölçülerden küçük çaptaki moleküller gözeneklere girerler ve adsorplan›r. Böylece küçük moleküller büyük moleküllerden ayrılmış olur. Örneğin, oda sıcaklığında, 180 cm uzunluğunda, 5 A' boyutlu bir elek dolgusu, helyum, oksijen, azot, metan ve karbon monoksiti ayn› s›rada kolayca ay›r›r.

2.4.2.2. Gözenekli polimerler

Gözenekli polimer tanecikleri, stirenin divinil benzen ile çapraz bağlanmasından elde edilir. Bunların gözenek boyutları homojendir ve çapraz bağlama derecesi ile kontrol edilir. Gözenekli polimerler hidrojen sülfür, azot oksitleri, su, karbon dioksit, metanol ve vinil klorür gibi gaz halde polar maddelerin ayr›lmas›nda önemli ölçüde kullan›l›rlar.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2.4.3. Gaz kromatografi cihaz›



Şekil 2.7. Bir gaz kromatografi cihazının şeması

2.4.3.1 Taşıyıcı gaz

Kimyada inert olması gereken taşıyıcı gaz, genellikle helyum, hidrojen, azottur. Gaz seçimi, kullanılan dedektör tipine göre yapılır. Taşıyıcı gaz tüpüne bağlı halde, bas›nç ayarlay›c›lar, göstergeler ve akış sayaçları bulunur. Bunlara bağlı olarak su ve diğer safsızlıkları gidermek için gaz sisteminde çoğu zaman moleküler elek bulunur.

Akış hızı kontrolü, normal olarak gaz silindirine bağlı iki basamaklı basınç regülatörleri ile yapılır. Giriş bas›nçlar› genellikle 10-50 psi arasında değişir ve dolgulu kolonlarda 25-150 mL/dak, aç›k boru tipi ince k›lcal kolonlarda 1-25 mL/dakika akış hızlarına ulaşabilir. Akış hızı kolon başına monte edilen bir rotametre ile ayarlanabilir. Modern ticari kromatograflar akış hızını istenilen değerlere ayarlanabilen ve kontrol eden elektronik cihazlarla donatılmıştır.

2.4.3.2. Numune enjeksiyon sistemi

Kolon verimi, numunenin uygun miktarda ve buhar halinde bir defa verilmesini gerektirir. Yavaş enjeksiyon ve fazla miktarda numune verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayıma gücüne neden olur. Sıvı veya gaz numune enjeksiyonunda, en yaygın

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

yöntem s›zd›rmas›z enjektör kullan›m›d›r. Enjeksiyon, bir silikon lastik diyaframdan veya bir septumdan yap›l›r.

Septumun hemen arkasında, kolon girişi ucunda hızlı buharlaştırıcı bölme bulunur. Enjeksiyon yapıldığı bu kısım numune içinde kaynama noktası en büyük maddenin kaynama noktasından 50 ºC`e kadar yüksek sıcaklığa kadar ısıtılır. Normal analitik amaçlar için enjeksiyon hacmi, 0,1-20 mikro litre aras›nda olabilir. K›lcal kolonlarda daha küçük miktarlar enjekte edilir. Bunun için kolon girişine bir bölücü yerleştirilir. Bölücü enjekte edilen numunenin bir kısmını kolona diğer kısmını dışarı atar. Kantitatif analizlerde daha tekrarlanabilir miktarlarda gaz veya s›v› numunelerinin cihaza verilebilmesi için döner numune vanalar› kullan›l›r. Bu vanalar, numune enjeksiyonundan kaynaklanan bağıl hatalar %0,5-%2 civarına düşürülebilir.

2.4.3.3. Kolon f›r›n

Gaz kromatografide iki tür kolon kullan›l›r; *dolgulu ve k›lcal (aç›k boru) kolonlar*. Kromatografik kolonlar›n boylar› 2-50 m veya daha büyük olabilir. Paslanmaz çelikten, camdan, erimiş silisten veya teflondan kolonlar yapılabilir. Bu kolonlar› ›s› kontrolü yap›lan bir f›r›na yerleştirebilmek için 10-30 cm çap›nda spiraller haline getirilirler.

En az hata ile çalışabilmek için, 0,1ºC duyarlıkla kontrol edilmesi gereken bir başka önemli parametre kolon sıcaklığıdır. Bu nedenle kolon, sıcaklığı kontrol edilebilen bir bölmeye yerleştirilir. Optimum kolon sıcaklığı numunenin kolon sıcaklığına ve istenen ayırma verimine bağlıdır. Çok geniş bir kaynama noktası aralığındaki numuneler için sıcaklık programlaması yapmak gerekir. Sıcaklık programlamas›nda kromatografik ay›r›m devam ederken kolon sıcaklığı sürekli veya basamaklar halinde artt›r›r.

2.4.3.4. Dedeksiyon Sistemleri

Gaz kromatografisinin gelişimi esnasında onlarca dedektör sistemi incelenmiş ve kullanılmıştır.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

İdeal Bir Dedektörden Beklenen Özellikler:

- Yeterli duyarl›l›k.
- İyi bir kararlılık ve tekrarlanabilirlik.
- Geniş bir doğrusal çalışma aralığı.
- 400℃ a kadar varan sıcaklık aralığı.
- Akış hızından bağımsız küçük cevap zamanı.
- Yüksek güvenirlik ve kolay kullanım kolaylığı.
- Her türden analite benzer cevap alınmalı veya, belirli sınıf maddelere karşı tahmini kolay ve seçici cevap verme özelliği olmalı.
- Numuneyi parçalamamal›.

Bu niteliklerin tümüne sahip bir dedektör mevcut değildir ve böyle bir dedektörün geliştirilmesi de pek olanaklı görülmemektedir.

Gaz kromatografisinde kullanılan dedektörler şunlardır;

1. Alev iyonlaşma dedektörü (FID)
2. Termal iletkenlik dedektörü (TCD)
3. Kükürt kemilüminesans dedektörü (SCD)
4. Elektron yakalama dedektörü (ECD)
5. Atomik emisyon dedektörü (AED)
6. Termiyonik dedektör (TID)
7. Alev fotometrik dedektör (FPD)
8. Foto iyonlaşma dedektörü

Alev iyonlaşma dedektörü, gaz kromatografide en yaygın biçimde kullanılan dedektördür. Kolondan gelen gaz, hidrojen ve hava ile karıştırılıp manyetik çakmağı ile tutuşturularak alev meydana getirilir. Hidrojen/hava alevinde yak›lan organik bileşiklerin birçoğu iyon ve elektronlar meydana getirir. Bunlar alevden elektrik ak›m›n›n geçmesine yard›mc› olurlar.

Karbon bileşiklerinin alevde iyonlaşma olayları henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak deneyler, oluşan iyon sayısının alevde indirgenen karbon atomları sayısı ile orantılı olduğunu göstermektedir. Alev iyonlaşma dedektörü, dedektöre birim zamanda giren karbon sayısına cevap verdiği, yani dedektör sinyali,

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

aleve giren madde değişimi ile değil verdiği C atomları sayısı ile orantılı olduğu için kütle-duyarl› dedektördür.

Karbonil, alkol, halojen ve amin gibi fonksiyonel gruplar alevde hiç iyon vermez, ya da çok az iyon verirler. Ayr›ca tan›nmayan H_2O, CO_2, SO_2, NO_x gibi gazlara duyarlı değildir. Bu özellikler alev iyonlaşma dedektörünü su, azot veya kükürt gazları ile kirlenmiş birçok organik maddenin tayininde çok uygun bir dedektör haline getirmektedir. Alev iyonlaşma dedektörünün suya karşı duyarlı olmayışı bu dedektörü özellikle doğal sulardaki kirleticilerin tayininde yararl› hale getirmektedir.

Dedektörün duyarlılığı çok yüksektir. Gürültüsü azdır. Genellikle dayanıklıdır ve kolay kullanılabilir. Alev iyonlaşma dedektörünün sakıncası ise numuneyi parçal›yor olmas›d›r.

2.4.4. Gaz Kromatografisinde Kolonlar ve Durgun Fazlar

2.4.4.1. Aç›k borusal kolonlar

Açık borusal veya diğer adıyla kılcal kolonlar, iki türlüdür; duvar-kapl› aç›k borusal kolon (WCOT) ve destek-kapl› aç›k borusal kolon (SCOT). Duvar-kapl› k›lcal kolonlarda kalori duvar›, s›v› faz ile ince bir film halinde kaplan›r. Destek-kaplı kolonlarda kolon duvarı 30 mikro litre kadar kalınlıkta diatome toprağı gibi bir destek maddesiyle kaplanır. Bu kolonlara diğerlerine göre daha fazla sıvı faz kullan›labilir. Böylece kolon kapasitesi yükselir. SCOT kolonlar›n›n ay›rma verimi WCOT' lardan daha düşüktür ancak dolgulu kolonlardan daha verimlidirler.

İlk WCOT kolonlar paslanmaz çelikten, alüminyumdan, bakırdan veya plastiklerden yapılırdı. Cam da kullanıldığı olurdu. Camın iç yüzeyi çoğu zaman, gaz halde veya derişik hidroklorik asit veya potasyum hidrojen florür ile aşındırılarak daha pürüzlü bir yüzey yaratılır ve durgun fazın daha kuvvetli tutulması sağlanmaya çalışılırdı. 1979 yılında görülen ilk WCOT kolonlar erimiş silisten aç›k borusal kolonlard›r (FSOT). Erimiş silis kolonlar, içinde minimum düzeyde metal oksitler içeren silisten çekilir. Bunlar, cam kapilerlere göre daha ince duvarlara sahiptirler ve çekim sırasında dışarıdan kaplanan poliimid kaplama ile sağlamlaştırılırlar. Bu şekilde yapılan kolonlar daha esnektir ve 5-10 cm çap›nda halka sar›mlar haline getirilebilirler.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Silis aç›k borusal kolonlar›n birçok üstünlükleri vard›r; fiziksel dayan›kl›l›k, numune bileşenlerine karşı inertlik ve yüksek esneklik. Genelde kullanılan silis kılcal kolonlar›n iç çaplar› 320-260 mikrometre kadard›r. 200-150 mikrometre çapl› kolonlarda bulunmaktadır. Bu kolonların kullanımları daha zordur ve daha gelişmiş enjeksiyon ve dedeksiyon sistemleri isterler. Bu nedenlerle, numune miktar›n› azaltmak amac›yla basit bir bölücü sistem ve h›zl› cevap zamanl› daha duyarl› dedektör sistemi kullan›lmal›d›r.

2.4.4.2. Dolgulu kolonlar

Kullan›lmakta olan dolgulu kolonlar cam, paslanmaz çelik, bak›r, alüminyum veya teflon gibi malzemelerden yap›lmaktad›r. Boylar› 2-3 m, iç çaplar› 2-4 mm arasında değişmektedir. Bu kolonlar, ince bir durgun sıvı faz ile kaplanmış, homojen ve ince taneli bir kat› (destek kat›s›) ile iyice doldurulur. Bunlar, s›cakl›k ayarlanabilen fırına kolayca yerleştirilebilmeleri için 15 cm çaplı sarımlar haline getirilirler.

❄ *Kat› Destek Maddeleri:*

Dolgulu kolonlardaki katı destek maddeleri, kaplanmış sıvı-durgun faz› sabit tutarak, hareketli faza büyük temas yüzeyi sağlamak için kullanılır. Bu katılar yüksek s›cakl›kta inert ve s›v› faz ile ›slat›labilir olmal›d›r. Hemen hemen tüm destek maddeleri doğal olarak bulunan diatome toprağından yapılmaktadır. Bunlar göl ve denizlerde çağlar boyu yaşamış ve ölmüş tek hücreli (diatome) bitkilerin iskeletlerinin jeolojik süreçlerle dönüşümünden oluşurlar.

❄ *Taşıyıcı Tanecik Boyutlar›:*

Gaz kromatografik kolonun verimi, taşıyıcının tanecik boyutu azaldıkça, hızla artar. Diğer taraftan gaz akış hızının aynı düzeyde kalmasını sağlayan basınç farkı, tanecik boyutunu karesi ile doğru orantılıdır.

2.4.4.3. Durgun Faz

Gaz-s›v› kromatografi kolonlar›ndaki durgun s›v› fazdan beklenen özellikler;

- ❖ Yüksek kaynama sıcaklığı
- ❖ Termal kararl›l›k

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

❖ Kimyasal inertlik

Çözücü özellikleri Uygun çözücüyü seçmek kritik bir iştir. Seçim için kalitatif yol gösterici ilkeler olmakla beraber, en uygun durgun faz, s›nama yan›lma ile saptanır. Bir maddenin kolondaki alıkonma süresi dağılma sabitine ve dolayısıyla durgun fazın kimyasal yapısına bağlıdır. Maddelerin kolonda birbirlerinden ayrılabilmeleri için sıvı fazda farklı dağılma sabitlerine sahip olmas› gerekir. Bu sabitler ne çok büyük ne de çok küçük olmal›d›rlar.

Kolonda uygun bir alıkonma zamanına ulaşabilmek için, ayrılacak maddeler durgun faz (çözünebilir) ile uyumlu olmal›d›r. Burada benzer benzeri çözer ilkesi geçerlidir. Analitin ve s›v› fazın polarlıkları karşılaştırılır. Polarlık molekülün etrafını etkileyen elektriksel aland›r ve dipol momenti ile ölçülür. Polar durgun fazlarda CN, CO ve OH gibi fonksiyonel gruplar bulunur. Hidrokarbon türü s›v›lar ve dialkil silioksanlar, apolar s›v› fazlara, poliester tipi s›v›lar ise çok polar fazlara örnektir. Genellikle, kromatografik çalışmalarda madde ve sıvı fazın polarlıklarının birbirine yak›n olmas› istenir.

Tablo 2. 2. Gaz-Sıvı Kromatografi İçin Bazı Yaygın Durgun Fazlar

	Ticari Ad›		
Polidimetil siloksan	OV-1, SE-30	350	**Genel amaçl› apolar faz, hidrokarbonlar, ilaçlar, poliaromatikler, PCB'ler**
Poli (fenilmetildimetil) silokson (%10 fenil)	OV-3, SE-52	350	**Yağ asiti metil esterleri, alkaloidler, ilaçlar,halojenli bileşikler**
Poli(fenilmetil) siloksan (%50 fenil)	OV-17	250	**İlaçlar, steroidler, pestisitler, glikoller**
Poli(triflorapropildimetil) siloksan	OV-210	200	**Klorluaromatikler, nitroaromatikler, alkilsübstitüe benzenler**
Polietilen glikol	Carbowax20M	250	**Serbest asitler, alkoller, eterler, eteri yağlar, glikoller**
Poli(disiyanoallildimetil) siloksan	**OV-275**	**240**	**Polidoymamış yağ asitleri, reçine asitleri, serbest asitler, alkoller**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Ticari kolonlarda film kalınlığı 0,1-5 µm kadardır. Film kalınlığı başlıca, alıkonma zamanını ver kolon kapasitesini etkiler. Kalın filmler düşük kaynama noktal› analitler için kullan›l›r, çünkü kal›n film, analitlerin kolondan daha uzun süre kalmas›n› ve böylece ayırımın gerçekleşmesini mümkün kılar. İnce filmler yüksek kaynama noktal› maddelerin ayr›lmas›nda yararl›d›r.

2.4.5. Gaz kromatografi ile spektroskopik yöntemlerin birlikte kullan›m›

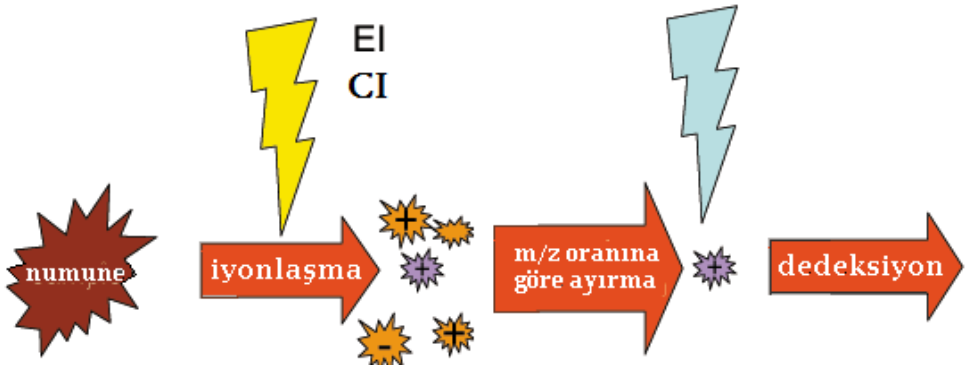
Gaz Kromatografi çoğu zaman seçici spektroskopik ve elektrokimyasal tekniklerle bağlantılı olarak kullanılır. Böylece ikili yöntemler ad› verilen bu sistemler, kompleks karışımların analizinde güçlü bir araç olarak kullanılır. Eskiden, ikili yöntemlerde Kromatografik kolondan gelen eluat, maddeyi parçalamayan veya seçici olmayan bir dedektörden geçirildikten sonra soğuk tuzakta fraksiyonlar halinde tutulurdu. Her fraksiyon, daha sonra NMR, IR, kütle spektrometre veya elektroanalitik yöntemlerle analiz edilirdi.

Bu yöntemin en büyük sak›ncas› toplanan fraksiyonlardaki maddelerin miktarlarının µmol dolayında olmasıdır. Buna rağmen, bu genel yöntemler çok bileşenli karışımların kalitatif analizinde yöntemlerdir. Şimdilerde yaygın olarak kullanılan ikinci genel yöntem, kolon çıkışında maddeleri seçici bir dedektör izlemektedir. Bu yöntemlerde bilgisayar kullan›m› gerekir. Böylece bilgisayar haf›zas›ndaki spektral veriler ve kromatogramlar kullan›labilir.

2.5. Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometri (GC/MS)

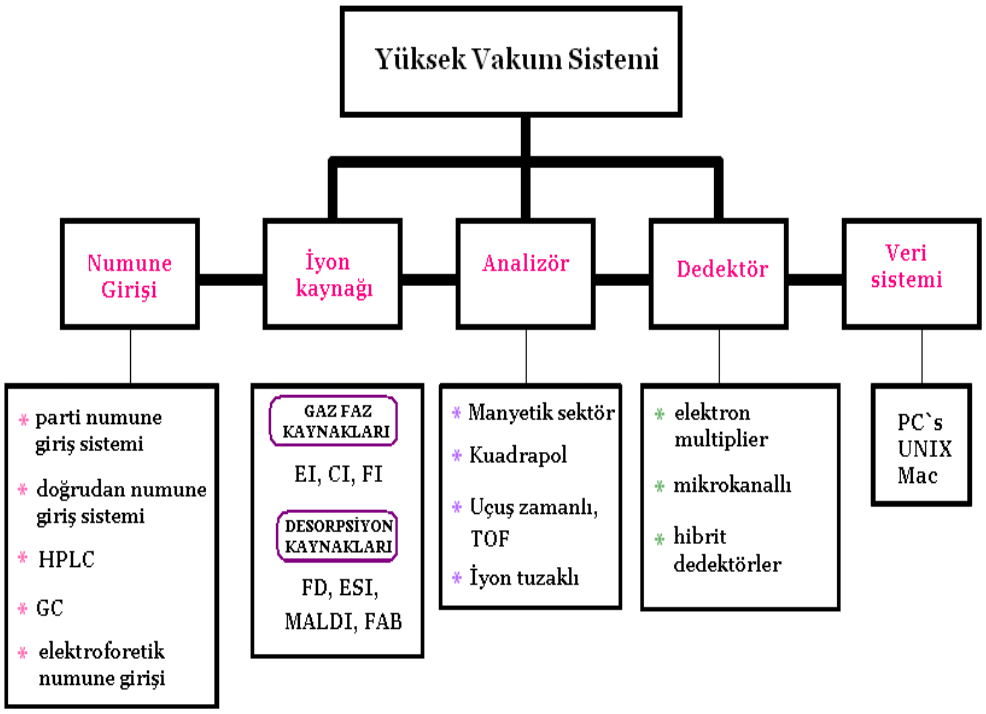
Maddelerin elementel bileşimlerinin belirlenmesi; molekül yapılarının ayd›nlatılması, karışımların kalitatif ve kantitatif analizleri, katı yüzeylerinin yapı ve bileşimlerinin aydınlatılması atomların izotopik oranlarının bulunması gibi pek çok amaç için günümüzde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaya başlamıştır.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Yüksek enerjili elektronlar ile analit molekülleri arasındaki çarpışmalar, *molekülü uyaracak kadar yüksek enerji* verir. *Uyarılmış molekülün durulması;* s›k s›k parçalanma şeklinde olur ve daha düşük kütleli iyonlar olarak ortaya çıkar. Elektron çarpmas› sonucu elde edilen *pozitif iyonlar,* kütle spektrometrenin slit aralığından geçirilir ve kütle/yük (m/z)oranına ayarlanmış bir ekranda kütle spektrumu halini alır. İyonların ilerlemesini sağlamak amacıyla ***yüksek vakum*** kullan›lmaktad›r.

2.5.1. Kütle spektrometresinin bölümleri



Şekil 2.8. Gaz kromatografisi/kütle spektrometrenin bölümleri

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2.5.1.1. İyon kaynakları

Bir kütle spektrometrisinde ilk iş; *analitin gaz halinde iyonlar›n›* elde etmektir ve kütle spektrometrik yöntemin yararı, iyonlaştırma basamağı tarafından belirlenir. Kütle spektrumlarının görünüşü kullanılan iyonlaştırma yöntemine şiddetle bağlıdır. Çizelgede 3.1 de moleküler kütle spektrometrelerinde kullan›lan iyon kaynaklar› listelenmiştir.

Gaz faz iyon kaynaklar›n›n kullan›m›,kaynama noktalar› 500 ^{0}C dan küçük termal olarak kararlı maddelerle sınırlıdır. Çoğunlukla gaz kaynaklarıyla mol kütleleri yaklaşık 10^{3} daltondan daha küçük bileşikler incelenebilir. Analitin uçucu olmasının gerekmediği desorpsiyon kaynakları, mol kütlesi 10^{5} daltona kadar olan yüksek molekül ağırlıklı analitlere uygulanabilir.

Tablo 2.3. Moleküler kütle spektroskopide kullan›lan iyon kaynaklar›

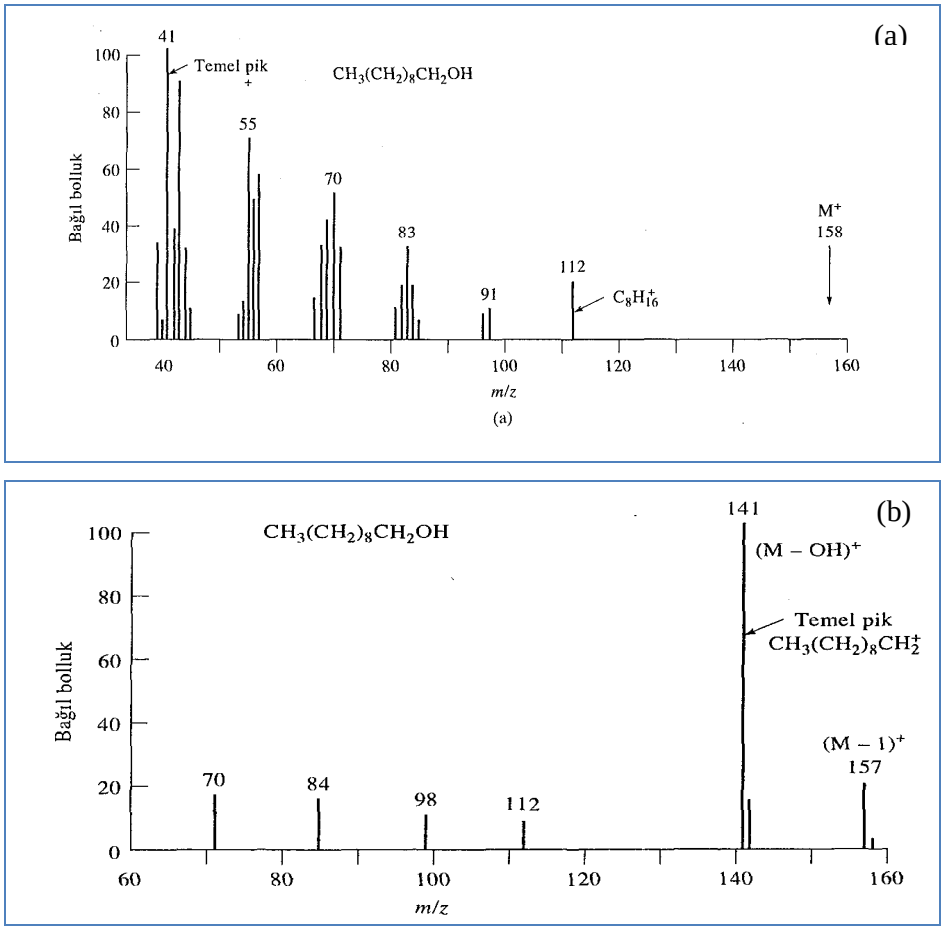
Temel tip	**Ad› ve k›saltmas›**	**İyonlaştırıcı**
Gaz faz›	Elektron impakt (EI)	Enerjik atomlar
	Kimyasal iyonlaştırma (CI)	Reaktif gaz iyonlar›
	Alan iyonlaştırma (FI)	Yüksek potansiyelli elektrot
Desorpsiyon	Alan desorpsiyonu (FD)	Yüksek potansiyelli elektrot
	Elektrosprey iyonlaştırma (ESI)	Yüksek elektrik ak›m›
	Matriks yard›ml› desorpsiyon/iyonlaştırma (MALDI)	Lazer demeti
	Plazma desorpsiyonu (PD)	^{252}Cf'nin fisyon ürünleri
	H›zl› atom bombarduman› (FAB)	Enerjik atom demeti
	İkincil iyon kütle spektrometri (SIMS)	Enerjik iyon demeti
	Termospray iyonlaştırma (TS)	Yüksek s›cakl›k

İyon kaynakları sert ve yumuşak kaynaklar olarak sınıflandırılır. Sert kaynaklar yeterli enerjiyi analit moleküllerine aktaran ve molekülleri yüksek enerjili hallere çıkaran kaynaklardır. Bu moleküllerin durulması bağların kopması şeklinde

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

olur ve kütle/yük oran› moleküler iyonunkinden daha küçük iyonlar ortaya ç›kar. Yumuşak kaynaklar analitin daha az parçalanmasına sebep olur. Bunun sonucunda elde edilen kütle spektrumlarında moleküler pik çoğu zaman görülür ve bunun yan›nda birkaç başka pik bulunur.

Sert ve yumuşak iyon kaynaklarının her ikisi de analizlerde kullanılır.sert kaynakla elde edilmiş bir kütle spektrumunda gözlenen çok sayıda pik fonksiyonlu grupları›n tiplerini belirlemede ve analitlerle ilgili yap›sal bilgi, dolay›s›yla yap› ayd›nlatmada kullanılır. Yumuşak kaynaklarla alınan spektrumlar ise analiz edilen molekül veya moleküllerin mol kütlelerinin doğru olarak tayin edilmesinde yararl›d›r.



Şekil 2.9. Dekanolün (a) sert ve (b) yumuşak bir kaynakla alınmış kütle spektrumlar›

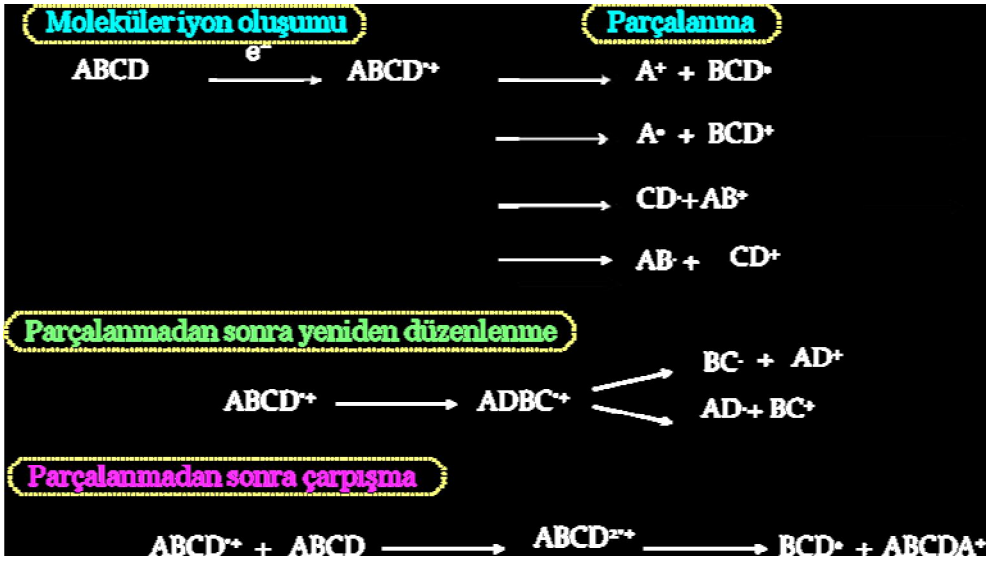
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Elektron impakt kaynağı (EI);

Kütle analizlerinin ilk örnekleri elektron impakt ile ortaya çıkmıştır. Bu teknikte, numune yeterince buharlaşabilecek bir sıcaklığa getirilir ve enerjik elektronlarla bombardıman edilerek iyonlaştırılır. Dezavantajına rağmen, bu teknik büyük öneme sahiptir ve kütle spektrum kütüphanelerinin çoğunda bu teknikle elde edilmiş veriler bulunmaktadır.

Tekrarlanabilir bir h›zda ve çok say›da gaz iyonlar› elde etmek için, kaynaktaki telden çıkan elektronların yaklaşık 50 V'dan daha büyük bir potansiyelle h›zland›r›lmalar› gerekir. Küçük kütleli ve yüksek enerjili bu elektronlar, çarpt›klar› moleküllerin öteleme enerjilerinde küçük bir artışa neden olurlar. Buna karşılık moleküller, yüksek titreşim ve dönme seviyelerine uyar›l›rlar. Bunu izleyen durulmada, sık sık yoğun parçalanma görülür, mol kütlesi molekülden daha düşük olan çok sayıda değişik kütleli parça oluşur (bazen kütlesi moleküler iyonunkine büyük olana da rastlan›r). Bu küçük kütleli iyonlar **yavru iyon** olarak bilinir.

Parçalanma ürünleri



Son eşitlikte görüldüğü gibi iyon/molekül çarpışmaları moleküler iyonun kütlesinden daha büyük kütlede piklerin meydana gelmesine sebep olabilir. Normal numune basınçlarında, önemli sayılabilecek bu tip reaksiyon çeşidi yaln›zca bir

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

tanedir ve bu reaksiyonda da iyona bir tane hidrojen atomu aktarılarak protonlanmış bir moleküler iyon elde edilir. Bunun sonucunda kütlesi daha büyük $(M+1)^+$ piki ortaya çıkar. Elektron impakt yöntemiyle elde edilen karmaşık kütle spektrumları çoğu zaman madde teşhisinde kullanılır. Öte yandan, bazı moleküllerde parçalanma yüzünden moleküler iyon ortaya ç›kmaz, bu yüzdende analitin tan›nmas› için birinci dereceden önemli olan mol kütlesi tespit edilemez. Moleküler iyon piki yap›n›n ayd›nlat›lmas›nda birinci derecede önemlidir, çünkü moleküler pik, bilinmeyenin mol kütlesini verir. Ne yaz›k ki, her zaman moleküler piki gözlemek mümkün olmaz. Genelde elektron impakt iyonlaştırmada molekülden meydana gelen ana ürün, moleküler iyon değildir.

❖ **İzotop Pikleri**

Spektrum piklerinden baz›lar›n›n moleküler iyon pikinden daha büyük olmas› ilginçtir. Bu pikler,aynı kimyasal formüle sahip olmasına karşılık,farklı izotop birleşiminden dolayı bu şekilde ortaya çıkar.

Örneğin metil klorürde önemli izotopik türler şunlardır;

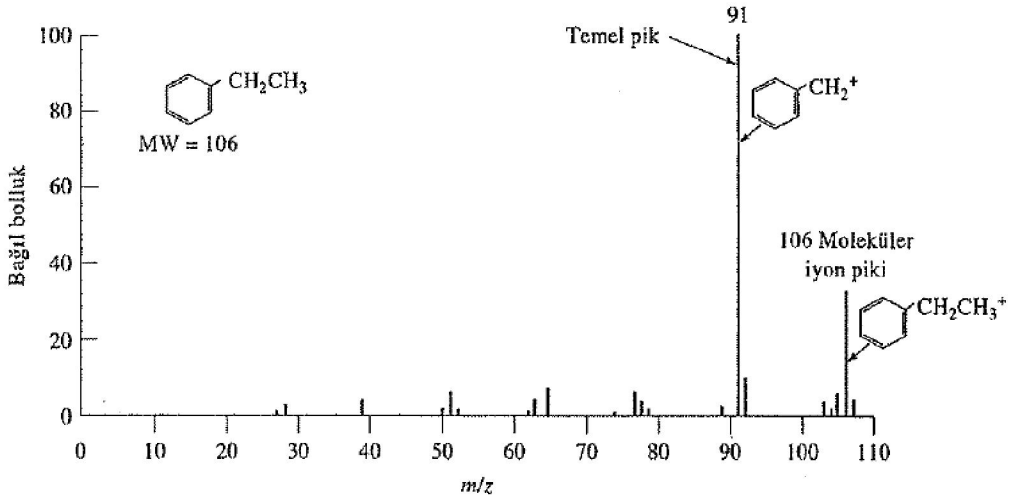
$^{12}C\ ^{1}H_2\ ^{35}Cl_2$ (m=84), $^{13}C\ ^{1}H_2\ ^{35}Cl_2$ (m=85),

$^{12}C\ ^{1}H_2\ ^{35}Cl\ ^{37}Cl$ (m=86),

$^{13}C\ ^{1}H_2\ ^{35}Cl\ ^{37}Cl$ (m=87), $^{12}C\ ^{1}H_2\ ^{37}Cl_2$ (m=88),

Şekil 2.10'de etil benzene ait kütlesi 107 olan küçük pik,etil benzen moleküllerinin baz›lar›nda ^{13}C atomu bulunmas›ndan ileri gelir. Etil benzende iki veya daha fazla ^{13}C bulunmasından dolayı ortaya çıkabilecek piklerin şiddeti iyi bir kesinlikle bulunabilir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



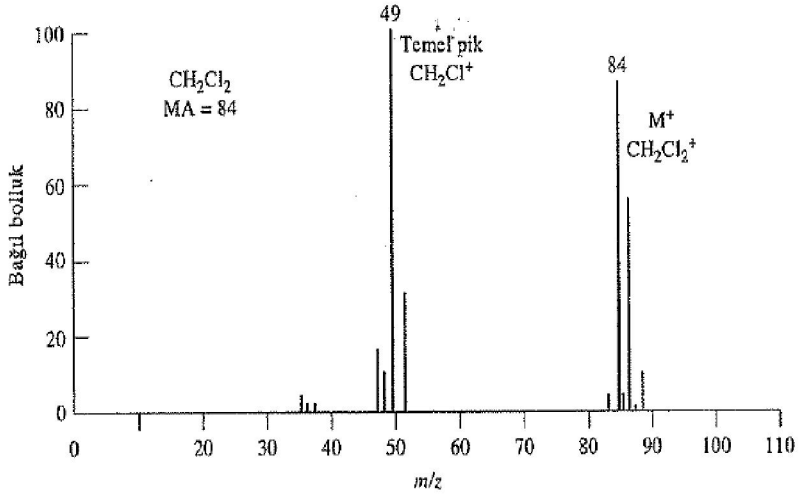
Şekil 2.10. Etil benzenin kütle spektrumu.

Fakat iki ^{13}C atomunun aynı molekülde bulunma olasılığının az olmasından dolay› (M+2) piki gözlenemeyebilir.

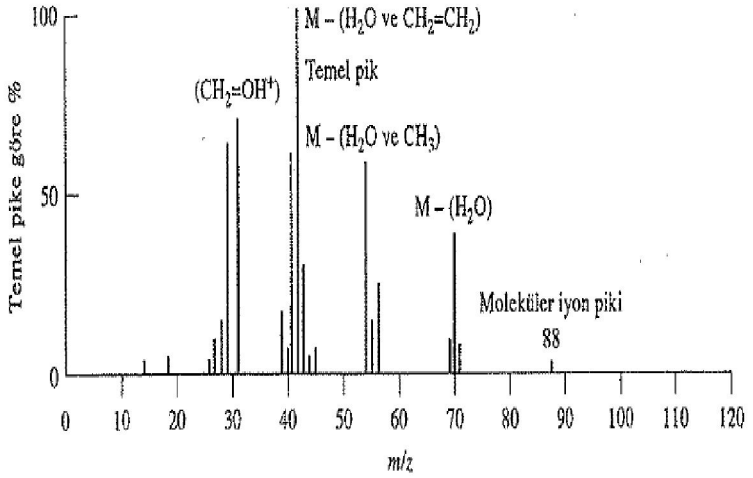
❖ **Elektron impakt kaynaklar›n›n üstünlükleri**

Elektron impakt kaynakları kullanışlıdır ve yüksel iyon ak›m› üretmek için uygundur, bu yüzden duyarlılıkları iyidir. Bu yöntemde görülen aşırı parçalanma ve çok say›da pik görülmesi de bir üstünlük say›labilir, çünkü bu durum analiz edilen maddenin şüpheli kısımlarının tanınmasında yardımcı olur. Ancak parçalanman›n sakıncası da vardır; çünkü analitin molekül pikini ortadan kaldırabileceğinden, mol kütlesinin ölçülmesi imkans›z hale gelir. Elektron impakt kaynaklar›n›n kullan›m›n› sınırlayan başka bir durum da numuneyi buharlaştırma gereğidir. Baz› analitlerde iyonlaşmadan önce termal bozunma olayı gözlenir. Termal bozunmanın etkileri, bazen ısıtılmış prob spektrometrenin giriş aralığına yakın yerleştirilerek en aza indirilebilir. İyonlaştırma kaynağının civarındaki düşük basınçta buharlaşma düşük s›cakl›kta olur. Buna ilaveten, burada termal bozunman›n meydana gelmesi için daha az bir zaman söz konusu olur. Daha önce belirtildiği gibi, elektron impakt kaynakları mol kütlesi 10^3 daltondan küçük moleküllere uygulanabilir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 2.11. Metilen klorürün elektron impakt kütle spektrumlan



Şekil 2.12. 1-pentanol'ün elektron impakt kütle spektrumlan**.**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullan›lan Kimyasal Maddeler

Analizlerde kullan›lan kimyasal maddeler ve konjuge linoleik asit standart maddeleri, Merck ve Sigma firmasından temin edilmiştir. Gaz Kromatografisi ve Gaz kromatografisi/Kütle Spektrometresinde gerçekleştirilen analizlerde kullanılan kimyasalların tümü kromatografik saflıkta olup, aşağıda detaylı şekilde belirtilmiştir.

Kullanılan tereyağ ve margarin Türkiye`de üretim yapan firmalardan temin edilmiştir.

Tablo 3. 1. Analizler İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

Yağ Asit Kompozisyonu Analizi
➢ Hekzan ➢ Metanol ➢ KOH
CLA Standart Madde Analizleri
➢ 9-cis, 11-trans CLA Standard› (%100) ➢ 9-cis, 11-cis CLA Standard› (%100) ➢ 9-trans, 11-trans CLA Standard› (%100) ➢ 10-trans, 12-cis CLA Standard› (%100) ➢ CLA Karışım Standard›

3.2. Kullan›lan Cihazlar

◈ GC - *FID Sistemi* (Gas Chromatography)	*Agilent 6890 Series*
◈ GC-MS (Gas Chromatography Mass Spectrometry)	*Agilent 7890 Series*

3.3. Deneysel K›s›m

Bu çalışmada; insan metabolizması üzerinde pek çok faydası tespit edilmiş olan (bağışıklık sistemini güçlendirme, kanser oluşumunu azaltma veya elimine

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

etme, yüksek kolesterolü ve damar tıkanıklığını engelleme, kemik ve kıkırdak yapısını iyileştirme, obeziteyi engelleme vb.) konjuge linoleik asidin, çeşitli yenilebilir yağlardaki izomerlerinin miktarlar› GC/FID ve kimlikleri GC/MS cihazlar› kullanılarak tespit edilmeye çalışılmıştır.

Yapılan çalışmaları genel olarak dört basamakta toplamak mümkündür;

1. Kromatografik analizler için yağ numunelerinin hazırlanması (ester formlarına dönüştürme),
2. CLA analizi için çeşitli metotların uygulanması ve metot parametrelerinin optimizasyonun CLA standartları ile sağlanması,
3. Optimize edilen metot parametlerinin kullan›lmas›yla, yağ numunelerindeki CLA miktarlar›n›n ve izomer türlerinin tespit edilmesi,
4. Kromatografik ayırma verimliliğin tespiti için çeşitli kromatografik değerlendirmelerin ve istatistiksel hesaplamaların yapılması.

3.3.1. Kromatografik analizler için yağ numunelerinin hazırlanması

GC`deki en yaygın numune hazırlama metotlarından birisi yağ asidi metil esterlerinin oluşturulmasıdır. Yağ asidi metil esterlerinin oluşumu için asit veya alkali katalizörler kullanılabilmektedir. Alkali katalizörler, esterleşme işlemi sonucunda oldukça az atık oluşturması ve trans-trans geometrik izomerlerinin oluşumuna izin vermesi gibi özellikleri sebebiyle asit katalizörlere nazaran daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu sebeple; sunulan bu çalışmada yağ numunelerinin metil esterlerine dönüştürme işlemleri metanollü KOH çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Metil esterlerinin oluşturulması: 0,1 gr yağ numunesi tüpe al›n›p, üzerine 0,1 ml 2N metanollü KOH, 10 ml Hekzan çözeltisi ilave edilmiş, istenilen reaksiyonun meydana gelmesi için belirli bir süre çalkalanmıştır. Çalkalanan numune santrifüjde 1 dakika 2000 devirde santrifüjlenerek esterleşen kısmın ayrılması sağlanmış, esterleşen kısım dekantasyon ile ayrılarak başka bir tüpe alınmış ve numune enjeksiyonu için kullanılmıştır.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

3.3.2. CLA analizi için metot parametrelerinin optimizasyonu

Çalışmalarımıza yön vermesi açısından öncelikle; literatürde yer alan metotlar incelenmiş, bu metotlar ile bazı ön denemeler gerçekleştirilmiş, daha sonra CLA izomerlerinin ayrımının daha iyi sağlanması amacıyla tarafımızdan geliştirilen metotlara ait parametrelerin optimizasyonu sağlanmıştır.

GC/FID ve GC/MS sistemleri ile gerçekleştirilen analizlerde;

- 9-cis, 11-trans CLA (%100)
- 9-cis, 11-cis CLA (%100)
- 9-trans, 11-trans CLA (%100)
- 10-trans, 12-cis CLA (%100)
- 9-cis, 11-trans CLA (%74 9-cis, 11-trans, %17 9-cis, 11-cis, %1 9-trans,11-trans)

standartlar›n her birisinden 200 µL alınarak hazırlanan karışım CLA kullanılarak deneyler gerçekleştirilmiş, daha sonra yağ numulerinde CLA miktarları belirlenmiştir.

GC/FID ve GC/MS sistemlerinde uygulanan her bir metot için;

- Hareketli Faz Türü
- Hareketli Faz Akış Hızı parametreleri için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

◈ **<u>Hareketli Faz Türü ve Akış Hızı Optimizasyonu:</u>**

CLA miktarlar›n›n ve izomer türlerinin belirlenmesi için kullan›lan metot parametrelerinin etkinlikleri; kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan Rs değerleri hesaplanarak incelenmiştir. GC ve GC/MS cihazı kullanılarak gerçekleştirilen metotlar için analiz şartları Tablo 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 ve 3.7'de detaylı olarak verilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 3.2. HKARA-1 İçin Deneysel Parametreler

HKARA-1 METODU		
Enjeksiyon Bloğu	*Enjeksiyon Miktar›*	**1 µL**
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	**250 °C**
	Taşıyıcı Gaz	**Hidrojen veya Helyum**
	Enjeksiyon Bloğu Basıncı	**Hidrojen Taşıyıcı Gazı İçin 121.8 kPa** **Helyum Taşıyıcı Gazı İçin 121.8 kPa**
	Mod	**Splitless**
Kolon F›n›	*Kolon*	**Agilent 112-88A7** **HP-88 Capilarry 100m x 250 µm x 0.20 µm nominal**
	Kolon Bas›nc›	**Hidrojen Taşıyıcı Gazı İçin 121.8 kPa** **Helyum Taşıyıcı Gazı İçin 121.8 kPa**
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	**0.5 ml/dk**
	Kolon S›cakl›k Program›	**50°C (10 dk)** **(4°C/dk) 50°C ⟶ 240°C (30dk)**
Dedektör	*Dedektör Sıcaklığı*	**250 °C**
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	**30 mL/dk**
	Kuru Hava Akış Hızı	**300 mL/dk**
	Make Up Gazı (He) Akış H›z›	**10 mL/dk**
	Toplam Analiz Süresi:	**87.5 dakika**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 3.3. HKARA-10 Metodu İçin Optimizasyon Parametreleri

HKARA-10 METODU OPTİMİZASYONU		
Enjeksiyon Bloğu	*Enjeksiyon Miktar›*	**1 µL**
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	**250 °C**
	Taşıyıcı Gaz	**Hidrojen & Helyum**
	Enjeksiyon Bloğu Basıncı	**Akış hızı değiştiğinde otomatik olarak değişmektedir.**
	Mod	**Splitless**
Kolon F›r›n›	*Kolon*	**Agilent 112-88A7** **HP-88 Capilarry 100m x 250 µm x 0.20 µm nominal**
	Kolon Bas›nc›	**Akış hızı değiştiğinde otomatik olarak değişmektedir.**
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	**0.3- 0.5- 0.7- 0.9- 1.0- 1.2 ml/dk**
	Kolon S›cakl›k Program›	**50°C (10 dk)** **(4°C/dk) 50°C ⟶ 240°C (30dk)**
Dedektör	*Dedektör Sıcaklığı*	**250 °C**
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	**30 mL/dk**
	Kuru Hava Akış Hızı	**300 mL/dk**
	Make Up Gazı (He) Akış H›z›	**–**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 3.4. Metod 2 İçin Deneysel Parametreler

METOD 2		
Enjeksiyon Bloğu	*Enjeksiyon Miktarı*	**1 µL**
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	**250 °C**
	Taşıyıcı Gaz	**Hidrojen veya Helyum**
	Enjeksiyon Bloğu Basıncı	**Hidrojen Taşıyıcı Gazı İçin 175.0 kPa** **Helyum Taşıyıcı Gazı İçin 175.0 kPa**
	Mod	**Splitless**
Kolon Fırını	*Kolon*	**Agilent 112-88A7** **HP-88 Capilarry 100m x 250 µm x 0.20 µm nominal**
	Kolon Basıncı	**Hidrojen Taşıyıcı Gazı İçin 175.0 kPa** **Helyum Taşıyıcı Gazı İçin 175.0 kPa**
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	**0.9 ml/dk**
	Kolon Sıcaklık Programı	**45°C (4 dk)** **(13°C/dk) 45°C → 175°C (27dk)** **(4°C/dk) 175°C → 215 °C (35dk)**
Dedektör	*Dedektör Sıcaklığı*	**250 °C**
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	**40 mL/dk**
	Kuru Hava Akış Hızı	**450 mL/dk**
	Make Up Gazı (He) Akış Hızı	**20 mL/dk**
	Toplam Analiz Süresi:	**86 dakika**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 3.5. METOD 2 Metodu İçin Optimizasyon Parametreleri

METOD 2 OPTİMİZASYONU		
Enjeksiyon Bloğu	*Enjeksiyon Miktar›*	**1 µL**
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	**250 °C**
	Taşıyıcı Gaz	**Hidrojen & Helyum**
	Enjeksiyon Bloğu Basıncı	**Akış hızı değiştiğinde otomatik olarak değişmektedir.**
	Mod	**Splitless**
Kolon F›n›	*Kolon*	**Agilent 112-88A7** **HP-88 Capilarry 100m x 250 µm x 0.20 µm nominal**
	Kolon Bas›nc›	**Akış hızı değiştiğinde otomatik olarak değişmektedir.**
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	**0.3- 0.5- 0.7- 0.9- 1.0- 1.2 ml/dk**
	Kolon S›cakl›k Program›	**45°C (4 dk)** **(13°C/dk) 45°C → 175°C (27dk)** **(4°C/dk) 175°C → 215 °C (35dk)**
Dedektör	*Dedektör Sıcaklığı*	**250 °C**
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	**40 mL/dk**
	Kuru Hava Akış Hızı	**450 mL/dk**
	Make Up Gazı (He) Akış H›z›	**–**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 3.6. Metod 3 İçin Deneysel Parametreler

METOD 3		
Enjeksiyon Bloğu	*Enjeksiyon Miktarı*	**1 µL**
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	**250 °C**
	Taşıyıcı Gaz	**Hidrojen veya Helyum**
	Enjeksiyon Bloğu Basıncı	**Hidrojen Taşıyıcı Gazı İçin 160.4 kPa** **Helyum Taşıyıcı Gazı İçin 160.4 kPa**
	Mod	**Splitless**
Kolon Fırını	*Kolon*	**Agilent 112-88A7** **HP-88 Capilarry 100m x 250 µm x 0.20 µm nominal**
	Kolon Basıncı	**Hidrojen Taşıyıcı Gazı İçin 160.4 kPa** **Helyum Taşıyıcı Gazı İçin 160.4 kPa**
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	**0.7 ml/dk**
	Kolon Sıcaklık Programı	**60°C (1 dk)** **(20°C/dk) 60°C → 170°C (60dk)** **(10°C/dk) 170°C → 240 °C (25dk)**
Dedektör	*Dedektör Sıcaklığı*	**250 °C**
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	**30 mL/dk**
	Kuru Hava Akış Hızı	**300 mL/dk**
	Make Up Gazı (He) Akış Hızı	**10 mL/dk**
	Toplam Analiz Süresi:	**98.5 dakika**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 3.7. METOD 3 Metodu İçin Optimizasyon Parametreler

METOD 3 OPTİMİZASYONU		
Enjeksiyon Bloğu	*Enjeksiyon Miktar›*	**1 µL**
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	**250 °C**
	Taşıyıcı Gaz	**Hidrojen & Helyum**
	Enjeksiyon Bloğu Basıncı	**Akış hızı değiştiğinde otomatik olarak değişmektedir.**
	Mod	**Splitless**
Kolon F›n›	*Kolon*	**Agilent 112-88A7** **HP-88 Capilarry 100m x 250 µm x 0.20 µm nominal**
	Kolon Bas›nc›	**Akış hızı değiştiğinde otomatik olarak değişmektedir.**
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	**0.3- 0.5- 0.7- 0.9- 1.0- 1.2 ml/dk**
	Kolon S›cakl›k Program›	**60°C (1 dk)** **(20°C/dk) 60°C → 170°C (60dk)** **(10°C/dk) 170°C → 240 °C (25dk)**
Dedektör	*Dedektör Sıcaklığı*	**250 °C**
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	**30 mL/dk**
	Kuru Hava Akış Hızı	**300 mL/dk**
	Make Up Gazı (He) Akış H›z›	**–**

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

3.3.3. Yağ numunelerinde CLA miktarlarının ve izomer türlerinin tespiti

Yukar›da belirtilen ve standart maddeler kullan›larak optimize edilen metotların herbirisi ile çeşitli yağ numuneleri için analizleri gerçekleştirilmiş; bu sayede yenilebilir yağlarda CLA miktarları ve izomer türleri, GC/FID ve GC/MS sistemlerinde kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilmiştir.

Deneylerde, yapılan pek çok çalışma ile CLA izomerleri bakımından zengin olduğu belirlenen tereyağı numuneleri başta olmak üzere, margarin, iç yağı gibi hayvansal ve bitkisel kaynaklı katı yağ numulerinde CLA ve izomerleri tespit edilmeye çalışılmıştır.

3.3.4. Kromatografik değerlendirmeler ve istatistiksel hesaplamalar

Yağ numunelerindeki CLA miktarlarının ve izomerlerinin belirlenmesi için uygulanan metotlar ile gerçekleştirilen gaz kromatografisi analizleri sonucunda kromatografik ayrırmanın verimliliğini ve etkinliğini gösteren çeşitli parametreler tespit edilerek değerlendirmeler yapılmıştır. Analizler sonunda kromatografik verimlilik tespiti için kullanılan parametreler şunlardır:

❄ **Çözünenlerin göç h›zlar› (Kapasite Faktörü):**

Kapasite faktörü, önemli bir deneysel parametre olup, çözünen maddelerin kolonda göç h›zlar›n› tan›mlamakta yayg›n olarak kullan›l›r. Bir A çözüneni için kapasite faktörü;

$$k'_a = K_a.(V_s / V_m) \longrightarrow k'_a = (t_R - t_M) / t_M$$

Burada Ka A türü için partisyon oran›d›r.

Bir numunedeki analitler için kapasite faktörü, ideal olarak 1 ile 5 aras›ndad›r.

❄ ***Bağıl göç hızları (Seçicilik Katsayıs›):***

Bir kolonda A ve B gibi iki tür için seçicilik katsay›s›;

$\alpha = K_b / K_a$ $\qquad\qquad$ $\alpha = k'_b / k'_a$

şeklinde tanımlanır; daha kuvvetli tutunan B türü için partisyon oranı K_b, daha az kuvvetli tutunan veya daha h›zl› olarak kolondan elde edilen A türü için ayn› sabit K_a'd›r. Bu tan›ma göre α daima birden büyüktür.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

❄ ***Kolon Verimliliği:***

Kolon verimliliğinin kantitatif bir ölçüsü olarak iki terim kullanılmaktadır; tabaka yüksekliği (H) ve tabaka sayısı (N) ise;

N = L/H ile tan›mlan›r.

Kromatografik kolonun verimliliği tabaka sayısı arttıkça ve tabaka yüksekliği azaldıkça artar. Türlerin içerdikleri hareketli ve durgun fazların çeşitlerine bağlı olarak kolonlardaki verimlilik büyük farkl›l›klar gösterebilir.

Tabaka say›s› cinsinden verimlilik birkaç yüz ile birkaç bin aras›nda değişebilir, tabaka yüksekliği ise birkaç mm ile bir cm'nin binde biri kadar hatta daha da az olabilir.

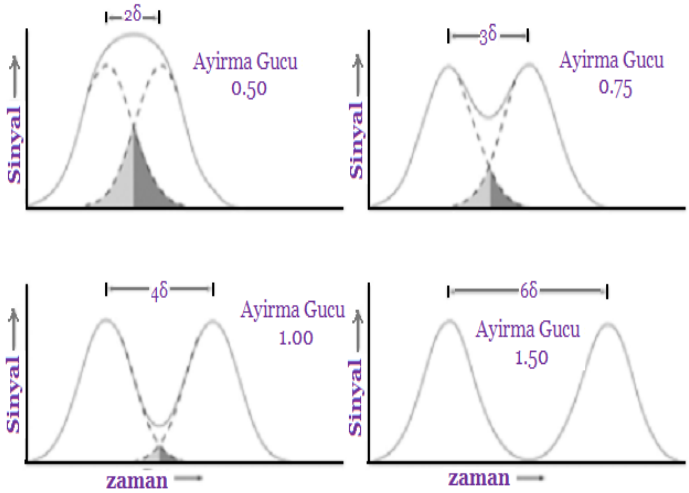
❄ ***Kolon Ay›rma Gücü:***

Kolonun ayırma gücü (rezolüsyon) Rs değeri, kolonun iki analiti ayırma gücünün kantitatif ölçütüdür. Ay›rma güçleri farkl› üç kolonda A ve B gibi türlerin kromatogramlarını içeren aşağıdaki şekilde, bu terimin önemi gösterilmektedir. Her bir kolonunu ay›rma gücü;

$$Rs = 2\,[\,(t_R)_B - (t_R)_A\,]\;/\;W_A + W_B$$

Şekilde görüldüğü gibi, ayırma gücü için 1,5 gibi bir değer A ve B'nin tam ayr›lmas›n› sağlarken 0,75 değeri yeterli değildir. Ayırma gücü 1,0 olduğunda A tepesi B'nin yaklaşık %4 ünü, B tepesi ise A' nın yine yaklaşık %4'ünü içerir. Ayırma gücü 1,5 olduğunda, çakışma % 0,3 dolaylarındadır. Belli bir durgun faz için ayırma gücünü iyileştirmek amac›yla kolon uzat›l›r, böylece tabaka say›s› art›r›l›r. Bununla birlikte artan tabaka say›s›n›n olumsuz bir etkisi ise, istenilen ay›rma için gerekli sürenin uzamas›d›r.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Bir metodun oluşturulması ya da geliştirilmesi istenildiğinde yapılması gereken bir dizi çalışma olarak değerlendirilen validasyon; bir cihazın, metodun veya sistemin performansının belirlenen koşullara uygun olduğunu göstermek için yapılan test ve ölçme işlemleri olarak da tanımlanmaktadır.

Konjuge linoleik asitlerin analizlerinin, GC ve GC/MS analiz sistemleriyle gerçekleştirilmesini ve uygulanabilirlik kazanmasını amaçlayan bu çalışma; metot geliştirmeye dayandığı için önerilen metodun optimize&valide edilmesi ve kullanılabilirliğinin kanıtlanması gerekmektedir. Bu sebeple; öncelikle validasyonu yapılacak ve metodların uygulama amacına ve kapsamına bağlı olarak performans parametreleri belirlenmiştir.

Yağ analizleri gerçekleştirildikten ve performans parametreleri kullanılarak metodlar›nun validasyonu için gerekli veriler elde edildikten sonra, metodlar›n validasyon parametreleri belirlenmiş ve metodların amaca uygun olarak kullanılıp/kullanılamayacağı tespit edilmeye çalışılmıştır.

CLA yağ analizleri için önerilen metotların validasyonunda kullanılacak parametreler şunlardır:

VALİDASYON PARAMETRELERİ
▪ Kesinlik (Precision)
▪ Tayin Limiti (Limit of detection, LOD)
▪ Ölçüm Limiti (Limit of quantitation, LOQ)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Parametrelerin metod validasyonundaki işlevlerinden kısaca bahsetmek gerekirse;

Kesinlik (Precision): Spesifik analiz koşulları altında elde edilen bağımsız analitik sonuçlar arasındaki uyumun derecesidir. Bu sonuçlar arasındaki değişimi;

- Analist
- Ekipman ve ekipman›n kalibrasyonu
- Çevre koşulları (sıcaklık, nem, hava kirliliği vb)
- Ölçümler aras›nda geçen zaman etkilemektedir.

Kesinlik yalnız tesadüfi hataların dağılımı ile ilişkilidir, gerçek değerle ilgisi yoktur.

Bir yöntemin kesinliği;

- ✓ tekrarlanabilirlik (repeatibility)
- ✓ yeniden yapılabilirlik (reproducibility) değerleri ile ifade edilir.

Tekrarlanabilirlik koşulları: Ayn› yöntem, aynı test örneği, aynı laboratuvar, aynı analist, aynı ekipman, kısa zaman aralığı.

Yeniden yapılabilirlik koşulları: Aynı yöntem, aynı test örneği, farklı laboratuar, farkl› analist, farkl› ekipman.

Tayin Limiti (Limit of detection, LOD): Bir yöntemin/metodun ölçebildiği en düşük konsantrasyon değerine tayin limiti denir. Tayin limiti altındaki bir değer sayısal olarak rapor edilmez. Tayin limiti, yöntemin tekrarlanabilirliğine ve kör ölçümlerine bağlı olarak değişir.

Ölçüm Limiti (Limit of quantitation, LOQ): Uygun doğruluk ve kesinlikle miktarı saptanabilen en küçük konsantrasyon değeridir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada; önemi ve faydaları her geçen gün daha iyi anlaşılmakta olan CLA`n›n tereyağı ve margarindeki izomer yüzdeleri ile izomer türleri GC-FID ve GC-MS cihazları yardımıyla kromatografik olarak belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmanın CLA ile ilgili yapılan çalışmalara katkı, daha sonra yap›lacak çalışmalara ise yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Normal halde çift bağ içeren yağ asitlerinin tümünde, trans yapılarının cis yap›lar›na göre daha az polar yap›lar olduklar›ndan yüksek polaritedeki kolondan daha önce ç›kt›klar› bilinmektedir. Ancak C18:2 gibi iki çift bağ içeren yağ asitlerinde çift bağ sıralamalarının değişmesiyle oluşan konjuge yapıdaki yağ asitlerinde durum farkl›d›r. Konjuge yap›larda izomerlerin polariteleri değiştiğinden yüksek polaritedeki kolondan çıkış sürelerinde de değişiklik görülür.

CLA izomerlerinin ayrılmasında etkili bir yöntem olan GC tekniği ile yap›lan araştırmalarda; farklı özellikte GC kolonları kullanılmış, izomer yapıların çıkış sürelerinde meydana gelen farklılıklar incelenmiştir. CLA izomerlerinin ayrılmasında GC tekniği ile yapılan araştırmalarda; yüksek polar özellikteki 100 m'lik kolonlarda izomerlerinin elüsyonunda; aşağıda verilen kurallara göre elue edildikleri belirlenmiştir;

❋ Öncelikle geometrik izomerler; *cis/trans, trans/cis, cis/cis* ve *trans/trans* olmak üzere 4 farklı şeklinde gruplandırılır. Daha sonra bu gruplar içerisinde pozisyonel izomerler için Δ olarak ifade edilen çift bağın bulunduğu karbon atomuna göre çıkış sıralamaları belirlenir.

❋ Geometrik izomerlerde; tüm *cis/trans* izomer yap›lar› en önce elue edilir, daha sonra tüm *cis/cis* izomerler en son olarak da tüm *trans/trans* izomer yap›lar› elue edilir. Geometrik yapıların her birisi kendi içerisinde çift bağın bulunduğu karbon atomuna göre yani çift bağın pozisyonuna göre farklı çıkış süreleri göstermektedir. Çıkış sürelerindeki sıralama her bir geometrik yapı için aşağıdaki kurallara göre gerçekleşmektedir;

✓ *Cis/trans CLA izomer yap›lar›n›n elüsyonunda*; moleküldeki Δ olarak ifade edilen cis yapılı çift bağ sayılarının artışına göre meydana gelmektedir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Pozisyonel izomerler için *cis/trans* izomerler *trans/cis* geometrik izomerlerinden önce elue edilmektedir. Ayn› Δ cis değerine sahip olan cis/trans izomer çiftlerinin elüsyonunda ise; daha düşük trans değerine sahip olan cis/trans izomer çiftinin daha önce elüe edildiği tespit edilmiştir.

- ✓ *Cis/cis CLA izomer yap›lar›n›n elüsyonunda*; çıkış süresi artan Δ değerlerine göre artış göstermektedir.
- ✓ *Trans/trans CLA izomerlerinin elüsyonunda*; çıkış süresi *cis/trans* ve *cis/cis* izomerlerinin aksine Δ değeri artıkça daha erken çıkar.

Trans/trans CLA izomer yapılarında; GC tekniği kullanılarak 10t,12t'den 7t,9t-C18:2 kadar olan izomerlerde ayrım gerçekleştirilememektir. Bu yapılar için Ag^{+}-HPLC gibi diğer teknikler kullanılarak ayrım gerçekleştirilebilmektedir.

CLA izomerlerinin GC tekniğinde 100 m'lik yüksek polaritedeki kolondaki yukar›da belirtilen kurallara göre çıkış sıralaması, aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4.1. CLA İzomerlerinin Geometrik ve Pozisyonel Yapılarına Göre Çıkış S›ralamas›

	Geometrik CLA İzomerleri İçin Çıkış Süresinde Artış ⇒		
	***cis/trans*-C18:2**	***cis/cis*-C18:2**	***trans/trans*-C18:2**
Pozisyonel CLA İzomerleri İçin Çıkış Süresinde Artış ⇓	7*c*,9*t*	7*c*,9*c*	12*t*,14*t*
	6*t*,8*c*	8*c*,10*c*	11*t*,13*t*
	8*c*,10*t*	9*c*,11*c*	10*t*,12*t*
	7*t*,9*c*	10*c*,12*c*	9*t*,11*t*
	9*c*,11*t*	11*c*,13*c*	8*t*,10*t*
	8*t*,10*c*	12*c*,14*c*	7t,9*t*
	10*c*,12*t*		
	9*t*,11*c*		
	11*c*,13*t*		
	10*t*,12*c*		
	12*c*,14*t*		

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1. CLA Analizi İçin Metot Parametrelerinin Optimizasyonu:

GC ve GC/MS tekniği kullanılarak konjuge linoleik asit miktarları ve izomer türlerinin tayininde; öncelikle CLA standart maddelerinden hazırlanan karışım kullan›larak ***akış hızı*** ve ***hareketli faz türü*** optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Analizler sonucunda elde edilen veriler kullan›larak, CLA izomerleri için kapasite faktörü, seçicilik katsayısı, kolon verimliliği ve kromatografik kolonun iki analiti ayırabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan Rs değerleri hesaplanmıştır.

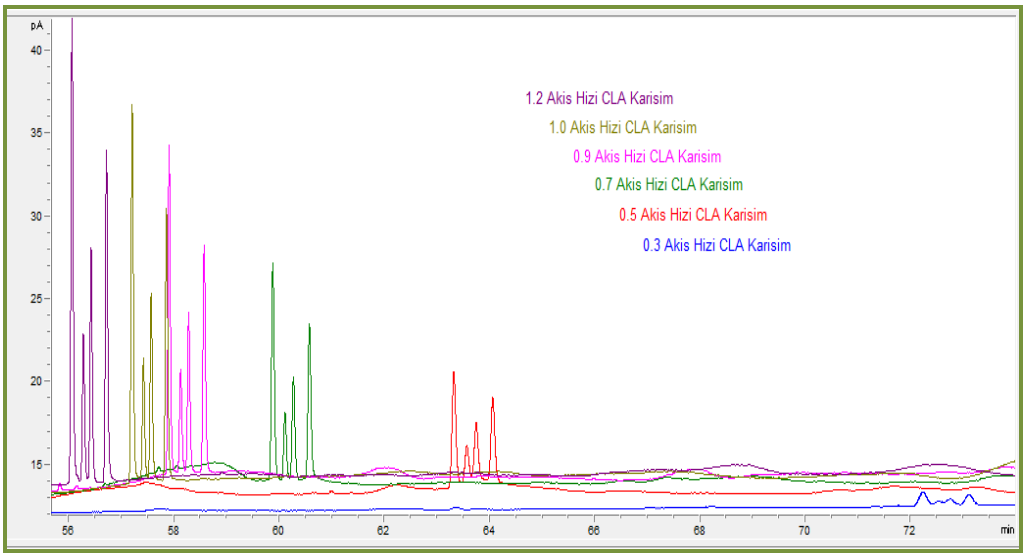
GC/FID ve GC/MS sistemleri kullanılarak gerçekleştirilen CLA standart maddeleri ile hazırlanan karışım analizlerinde hareketli faz sabit tutularak;

- HKARA-10 Metodu
- HKARA-20 Metodu ve
- HKARA-30 Metodu için optimum akış hızı denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Her iki sistemde farklı metotlara göre gerçekleştirilen analizlerden elde edilen kromatogramlar ve veriler aşağıda detaylı olarak verilmektedir.

4.1.1. HKARA-10 için Metod Parametrelerinin Optimizasyonu (GC/FID ve GC/MS)

4.1.1.1. He taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler



Şekil 4.1. HKARA-10 Metodu İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID Sistemi He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Konjuge Linoleik Asit (CLA)`in yenilebilir yağlardaki miktarlarının ve izomer yüzdelerinin, önemli bir teknik olan GC/FID sistemi kullan›larak tespit edilmesi amacıyla çeşitli metotlar üzerinde optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

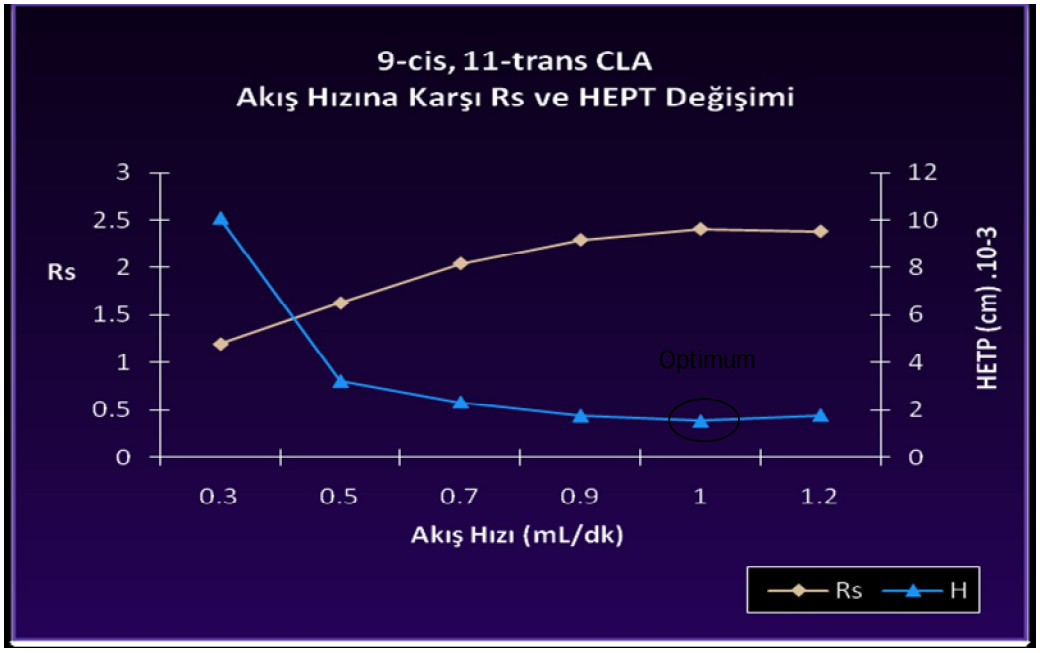
Optimizasyon çalışmalarında öncelikle GC/FID sisteminde helyum taşıyıcı gazı kullanılarak konjuge linoleik asit standartlarından hazırlanan karışım üzerinde HKARA-10 metodu için optimum akış hızı denemeleri gerçekleştirilmiş, analizler sonucu elde edilen farkl› akış hızı kromatogramları Şekil 4.1'de verilmiştir.

HKARA-10 metodu ile gerçekleştirilen GC/FID analizleri sonucunda kromatografik ayrırmanın verimliliğini ve etkinliğini gösteren çeşitli parametreler tespit edilerek değerlendirmeler yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre; karışım içerisindeki her bir standart madde için hesaplanan k', α, HETP ve Rs değerleri tablo 4.2'de verilmiştir. Bu veriler kullanılarak *akış hızlarına karşı* kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan *Rs değerleri* ve kolon verimliliğinin kantitatif ölçüsü olarak ifade edilen *tabaka yüksekliği* grafiği çizilmiştir (Şekil 4.2, 4.3, 4.4).

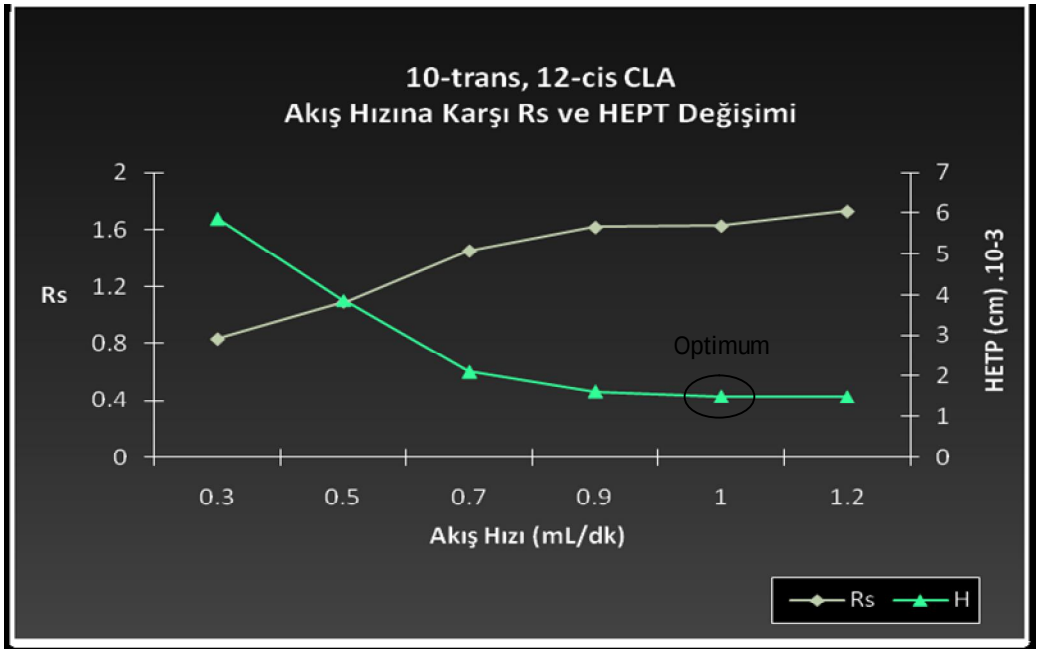
Akış hızı denemelerinde HKARA-10 metodu için; 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0 ve 1,2 mL/dk akış hızları kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Analizlerde kullanılan akış hızı değerleri arttıkça Rs değerlerinde (1 ile 3,5 arasındaki değerler) parabolik bir artış, HETP değerlerinde (1,3 ile 10 arasındaki değerler) ise belli bir akış hızına kadar ani bir azalma, daha yüksek akış hızlarında çok az değişme meydana geldiği tespit edilmiştir.

Optimum akış hızına karar verilirken, Rs değerinin yanı sıra bir kolonun ayırma verimliliğini etkileyen en önemli faktör olan tabaka yüksekliği değerinin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Çünkü akış hızına karşı tabaka yüksekliğindeki değişim, kromatografik bir kolonun verimliliği hakkında önemli fikir vermektedir. Bilindiği üzere tabaka sayısı arttıkça ve tabaka yüksekliği azaldıkça kromatografik kolon verimliliği belirgin bir şekilde artmaktadır.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

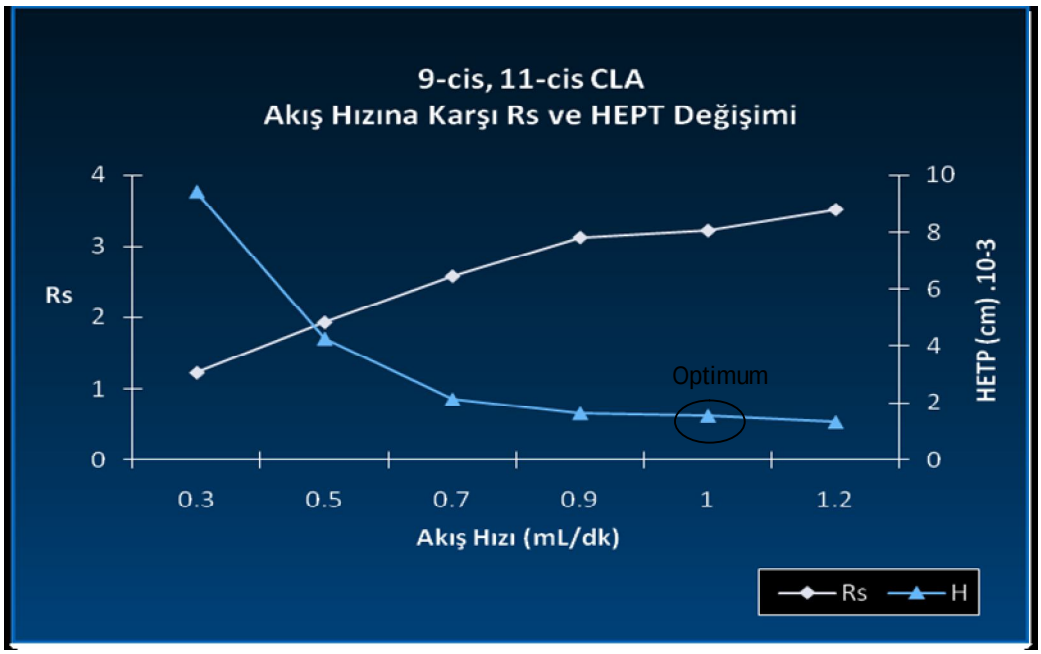


Şekil 4.2. 9-cis, 11-trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/FID He)



Şekil 4.3. 10-trans, 12-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/FID He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

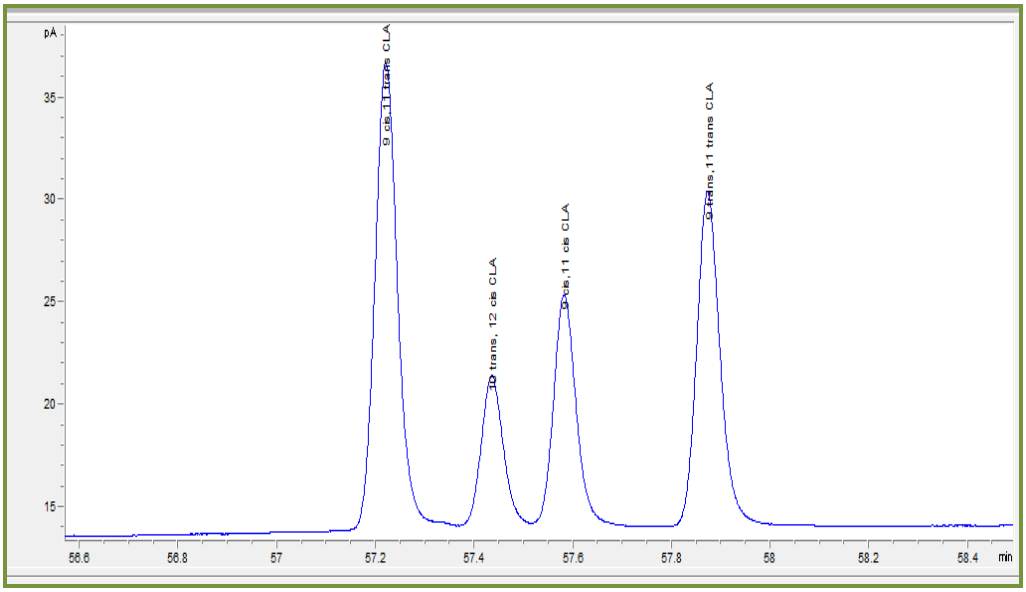


Şekil 4.4. 9-cis, 11-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/FID He)

Elde edilen veriler doğrultusunda her bir standart pik için HKARA-10 metodu için çizilen *"Akış hızına karşı Rs ve HETP değişimi"* grafiği incelendiğinde; akış hızına bağlı olarak her bir standart pikin Rs değerlerinde optimum değer olan 1,5'in üzerinde bir değerin elde edilebildiği, HETP değerlerinde ise belli bir akış hızına kadar azalma, daha sonrasında çok az değişme meydana geldiği belirlenmiştir. 10-trans, 12-cis CLA ve 9-cis, 11-cis CLA standart maddelerine ait pikler arasındaki ayrımın diğer piklere göre daha az olduğu göz önünde bulundurularak optimum akış hızı değeri bu iki pike göre tespit edilmeye çalışılmıştır.

Sonuç olarak; HETP değeri azaldıkça kolon verimliliğinin arttığı göz önüne alındığında, CLA standart maddeleri için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 1 mL/dk akış hızının, HKARA-10 metodu için optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de, pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek 1,5 değerinin üzerinde bir değer olan 1.63'e karşılık geldiği görülmüştür.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.5. HKARA-10 Metodu 1 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID He)

Hazırlanan CLA standart karışımları ile optimum akış hızında gerçekleştirilen analizlerde kalitatif değerlendirmeler yapılırken; HKARA-10 metodu için karışımda kullan›lan her bir standart ile ayr› ayr› denemeler yapılmış ve çıkış zamanları tespit edilmiştir. Daha sonra bu standartlar ile hazırlanan karışımla analizler gerçekleştirilmiş ve standartların çıkış sıraları belirlenmiştir (Şekil 4.5).

Karışım içerisindeki CLA standart maddeleri, öncelikle; *cis/trans, trans/cis, cis/cis* ve *trans/trans* olmak üzere geometrik izomerler olarak gruplandırılmış, daha sonra bu gruplar içerisinde pozisyonel izomerler için Δ olarak ifade edilen çift bağın bulunduğu karbon atomuna göre çıkış sıralamaları doğrulanmıştır. Karışım CLA analizinde şekil 4.5'deki kromatogramdan da görüleceği üzere; cis/trans ve trans/cis izomerler (9-cis, 11-trans CLA ve 10-trans, 12-cis CLA) elue edilmiş daha sonras›nda cis/cis izomer (9-cis, 11-cis CLA) elue edilmiş, son olarak trans/trans izomer (9-trans, 11-trans CLA) elue edilmiştir. Pozisyonel izomerlerde *cis/trans* izomerler *trans/cis* geometrik izomerlerinden önce elue edilmektedir. Yani standart karışımımız içerisindeki 9-cis, 11-trans CLA izomeri, 10-trans, 12-cis CLA izomerinden önce elue edilmiştir. Sonuç olarak standart CLA karışım içerisindeki izomerlerin HKARA-10 metodu için optimum akış hızına göre çıkış sırası;

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

57,22. dk	9-cis, 11-trans CLA,
57,44. dk	10-trans, 12-cis CLA,
57,58. dk	9-cis, 11-cis CLA ve
57, 87. dk	9-trans, 11-trans CLA şeklinde belirlenmiştir.

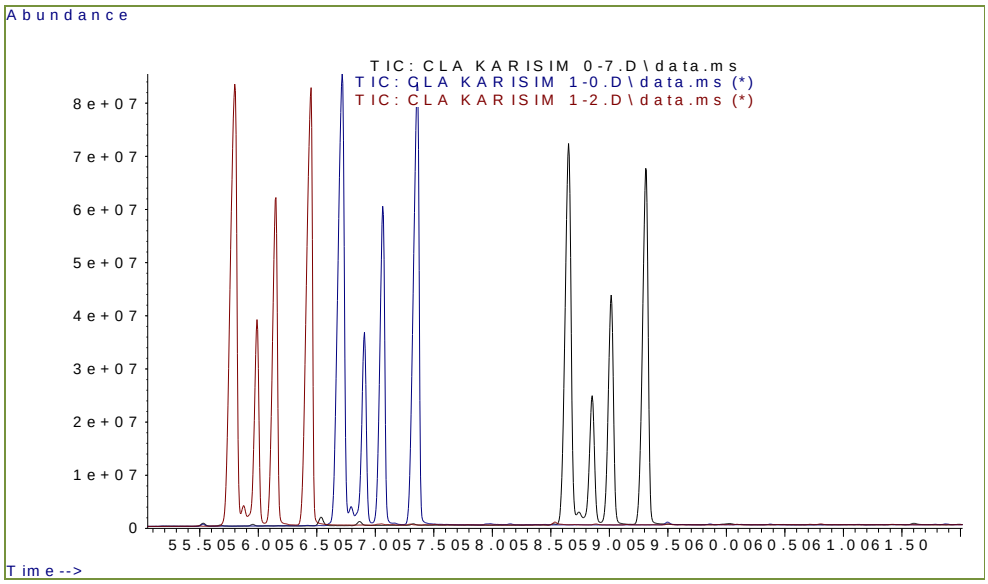
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4. 2. HKARA-10 Metodu İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları

HKARA-10 Metodu (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: He)															
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	**0.3 mL/dk**	2.15	1.01	10.09	1.20	2.16	1.00	5.87	0.83	2.17	1.01	9.42	1.22	2.18	10,46
	0.5 mL/dk	3.04	1.00	3.23	1.63	3.05	1.00	3.86	1.09	3.06	1.01	4.26	1.93	3.08	3.94
	0.7 mL/dk	3.56	1.00	2.33	2.04	3.58	1.00	2.10	1.45	3.59	1.01	2.12	2.58	3.61	2.64
	0.9 mL/dk	4.36	1.00	1.75	2.29	4.38	1.00	1.63	1.62	4.40	1.01	1.62	3.12	4.42	1.64
	1.0 mL/dk	4.65	1.00	1.53	2.41	4.67	1.00	1.50	1.63	4.68	1.01	1.54	3.22	4.71	1.53
	1.2 mL/dk	5.18	1.00	1.77	2.38	5.20	1.00	1.49	1.73	5.22	1.01	1.32	3.51	5.25	1.40

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.1.2. He taşıyıcı gazı ile GC/MS Sisteminde gerçekleştirilen analizler



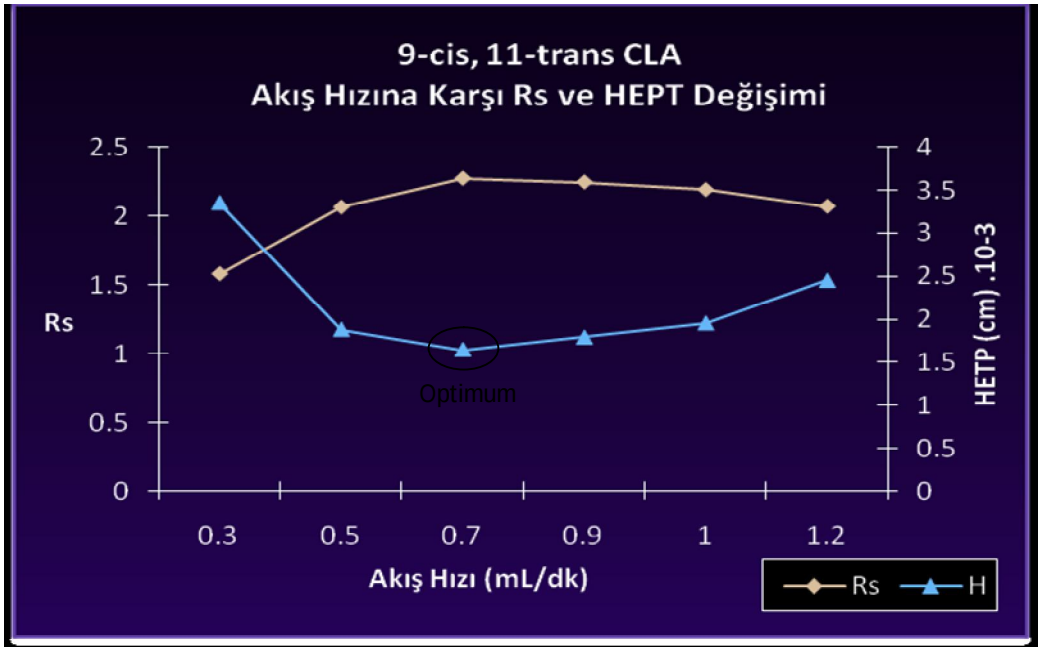
Şekil 4.6. HKARA-10 Metodu İçin Farklı Akış H›z› Analizleri (GC/MS Sistemi He)

Konjuge Linoleik Asit (CLA)`in yenilebilir yağlardaki izomerlerin tespiti için önemli bir teknik olan GC/MS sistemi kullanılarak tespit edilmesi amacıyla çeşitli metotlar üzerinde optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

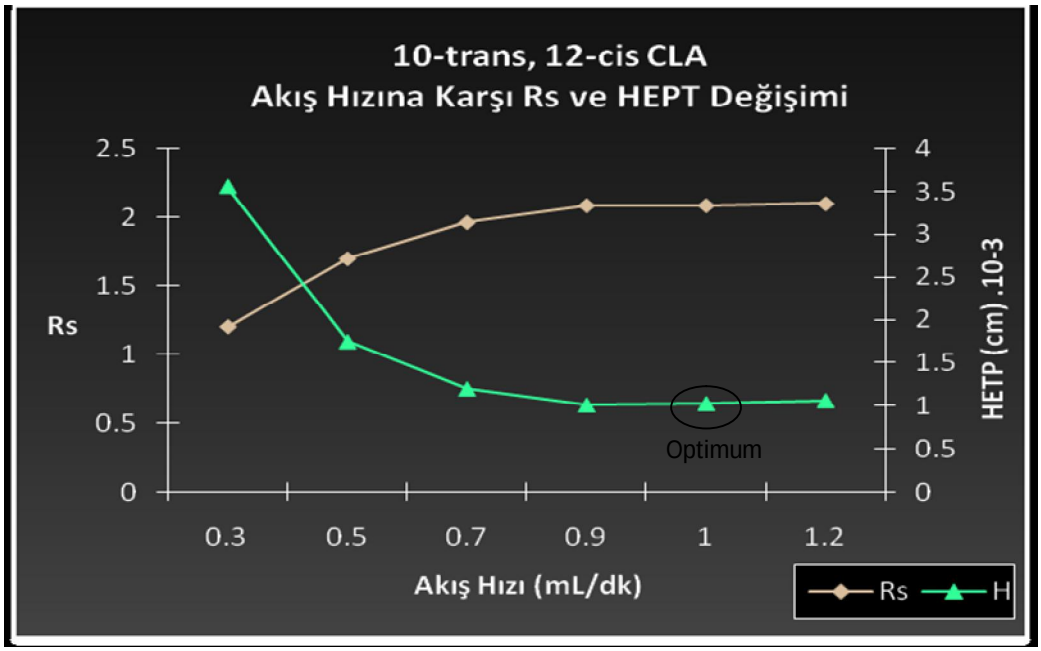
GC/MS sisteminde helyum taşıyıcı gazı kullanılarak konjuge linoleik asit standartlarından hazırlanan karışım üzerinde HKARA-10 metodu için optimum akış hızı denemeleri gerçekleştirilmiş, analizler sonucu elde edilen farklı akış hızı kromatogramlar› Şekil 4.7'de verilmiştir.

HKARA-10 metodu ile gerçekleştirilen GC/MS analizleri sonucunda kromatografik ayrırmanın verimliliğini ve etkinliğini gösteren çeşitli parametreler tespit edilerek değerlendirmeler yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre karışım içerisindeki her bir standart madde için hesaplanan k', α, H ve Rs değerleri tablo 4.2'de verilmiştir. Bu veriler kullanılarak *akış hızlarına karşı* kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan *Rs değerleri* ve kolon verimliliğinin kantitatif ölçüsü olarak ifade edilen ***HETP*** grafiği çizilmiştir (şekil 4.7, 4.8, 4.9).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

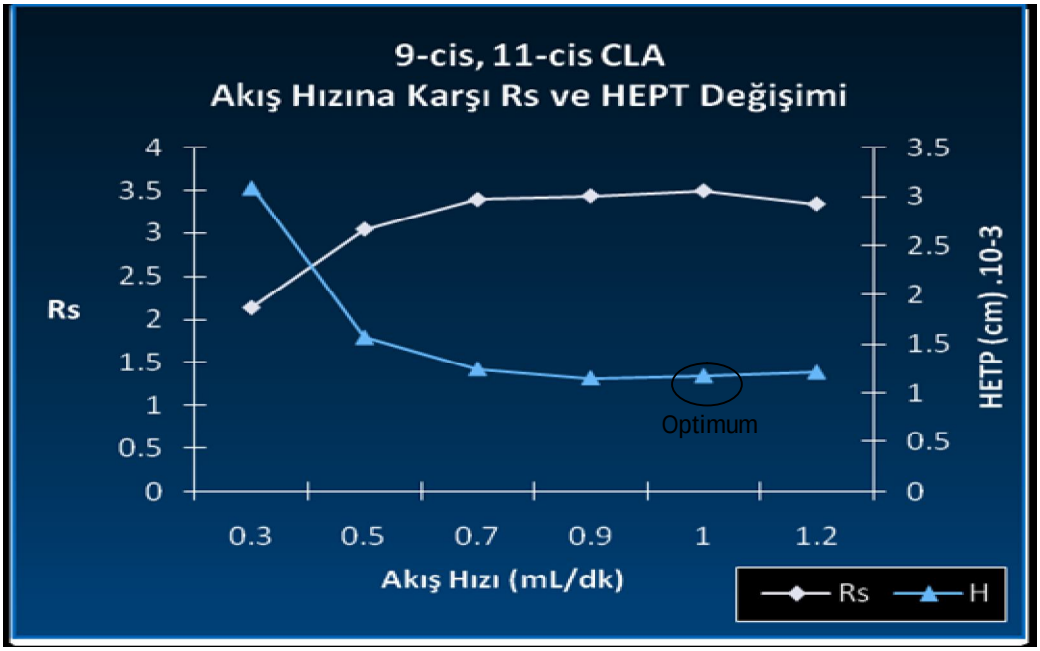


Şekil 4.7. 9-cis, 11-trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/MS He)



Şekil 4.8. 10-trans, 12-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/MS He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



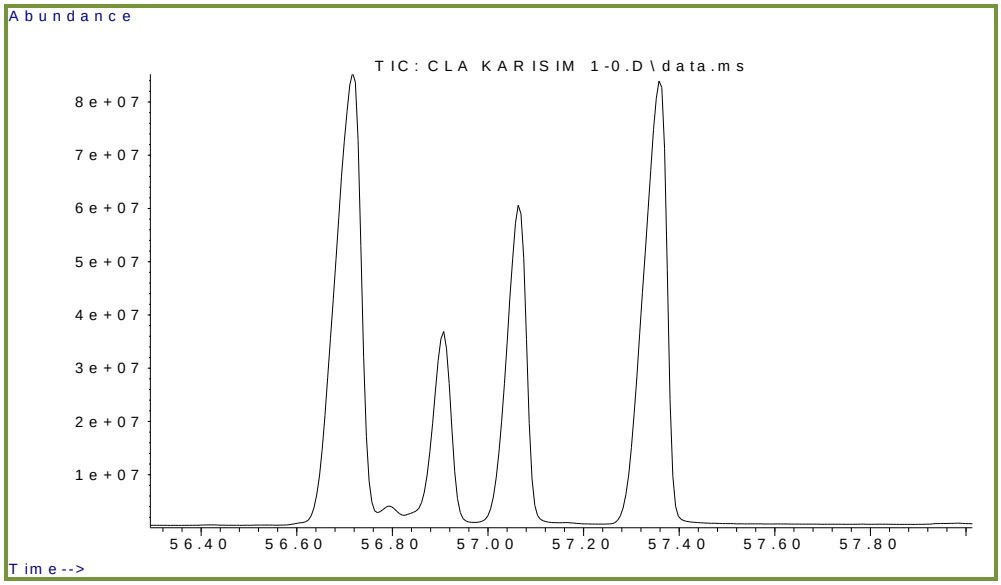
Şekil 4.9. 9-cis, 11-cis CLA Standartı Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/MS He)

Optimum akış hızı denemelerinde HKARA-10 metodu için; 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0 ve 1,2 mL/dk akış hızları kullanılmıştır. Analizlerde kullanılan akış hızı değerleri arttıkça Rs değerleri; 1,2 ile 3,5 arasındaki değerler, HETP değerleri ise 1,07 ile 3,56 arasındaki değerler olarak tespit edilmiştir.

GC/MS sisteminde HKARA-10 metodu ile elde edilen veriler doğrultusunda her bir standart madde için çizilen *"Akış hızına karşı Rs ve HETP değişimi"* grafiği incelendiğinde; akış hızına bağlı olarak her bir standart pikin Rs değerlerinde optimum değer olan 1,5'in üzerinde bir değerin elde edilebildiği, HETP değerlerinde ise belli bir akış hızına kadar azalma, daha sonrasında çok az değişme meydana geldiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak; HETP değeri azaldıkça kolon verimliliğinin arttığı göz önüne alındığında, 10-trans, 12-cis CLA standart maddesi için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 1 mL/dk akış hızının, HKARA-10 metodu için optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de, pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek 1,5 değerinin üzerinde bir değer olan 2.09'a karşılık geldiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.10. HKARA-10 Metodu 1 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/MS He)

GC/MS sisteminde CLA standart karışımları ile optimum akış hızında gerçekleştirilen analizlerde kalitatif değerlendirmeler yapılırken; karışımda kullanılan her bir standart için ayrı ayrı denemeler yapılmış ve çıkış zamanları HKARA-10 (hareketli faz; He) metodu için tespit edilmiştir. Daha sonra bu standartlar ile hazırlanan karışım analizi gerçekleştirilmiş ve elde edilen kromatogram ve standartların çıkış sıraları şekil 4.10'da görüleceği üzere belirlenmiştir.

Sonuç olarak; HKARA10 metodu ile farkl› dedektörlerin kullanıldığı gaz kromatografi sistemlerinde (GC/FID ve GC/MS); optimum akış hızı 1 mL/dk olarak tespit edilmiştir. Fakat CLA analizleri için uygulanan her metot için kullan›lan dedektör sistemindeki integrasyon tekniğinin farklı olmasından dolay› ayn› izomer yüzdeleri elde edilemeyebilir, farkl› dedektör sistemlerinin kullan›lmas›ndaki amaç yapılan optimizasyon çalışmalarının doğruluğunu teyit etmekdir. HKARA10 metodu için her iki dedektör sisteminde aynı optimum akış hızı tespit edilerek yapılan *akış hızı optimizasyon çalışması* doğrulanmıştır.

GC/MS sistemleri; maddelerin elementel bileşimlerinin belirlenmesi, molekül yapılarının aydınlatılması, karışımların kalitatif ve kantitatif analizleri, katı yüzeylerinin yapı ve bileşimlerinin aydınlatılmas›, atomlar›n izotopik oranlar›n›n

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

bulunması gibi pek çok amaç için günümüzde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. GC/MS sisteminde elektron impakt yöntemiyle iyonlaştırma yöntemi kullanılmıştır. Elektron impact yönteminde elde edilen karmaşık kütle spektrumları çoğu zaman madde teşhisinde kullanılır. Bu sebepten dolayı yapılan çalışmada izomerlerin çıkış sırası ve kimlik tespitleri GC-MS ile gerçekleştirilmiştir.

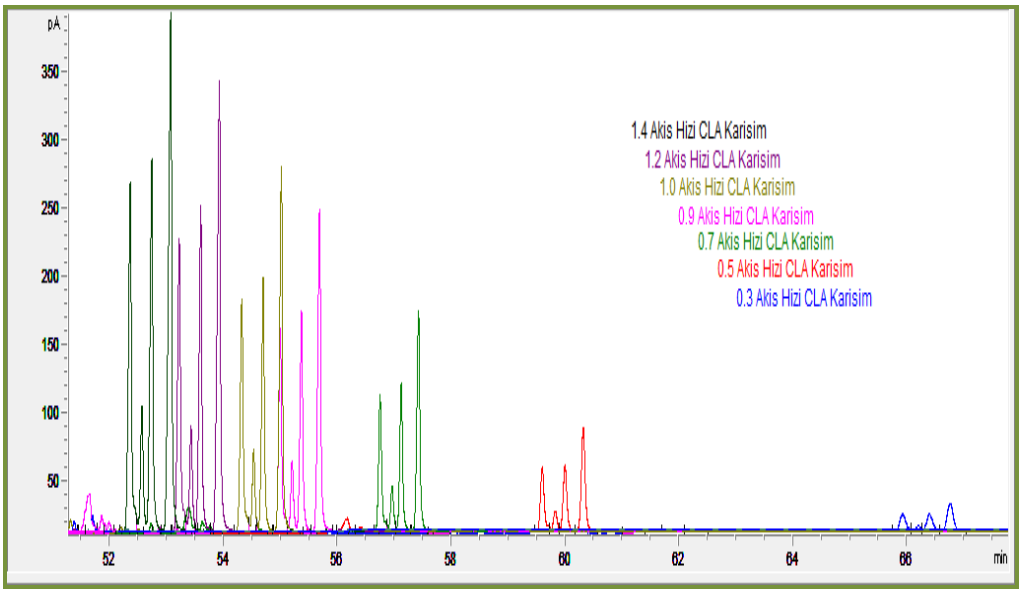
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4.3. HKARA-10 Metodu İçin Farklı Akış H›z› Analizleri Kromatografik Hesaplamalar›

HKARA-10 Metodu (GC/MS Sistemi - Hareketli Faz: He)														
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	**0.3 mL/dk**	2.76	1.00	3.36	1.58	2.77	1.00	3.56	1.20	2.78	1.01	3.09	2.13	2.80	2.92
	0.5 mL/dk	3.73	1.00	1.88	2.06	3.75	1.00	1.75	1.70	3.76	1.01	1.57	3.04	3.79	1.66
	0.7 mL/dk	4.34	1.00	1.65	2.27	4.36	1.00	1.20	1.96	4.38	1.01	1.24	3.39	4.41	1.50
	0.9 mL/dk	4.88	1.00	1.79	2.25	4.90	1.00	1.01	2.09	4.91	1.01	1.15	3.43	4.94	1.57
	1.0 mL/dk	5.11	1.00	1.95	2.19	5.13	1.00	1.03	2.09	5.14	1.01	1.17	3.49	5.18	1.54
	1.2 mL/dk	5.56	1.00	2.45	2.07	5.58	1.00	1.07	2.10	5.60	1.01	1.21	3.34	5.64	2.04

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.1.3. H_2 taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler

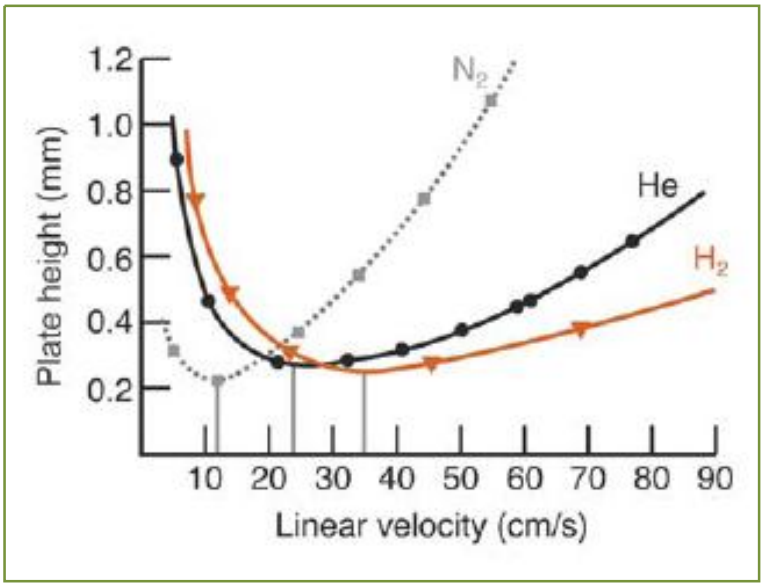


Şekil 4.11. HKARA-10 Metodu İçin Farklı Akış Hızı Analizleri(GC/FID Sistemi H_2)

GC/FID sisteminde optimum akış hızı denemelerine; hidrojen taşıyıcı gaz› kullanılarak devam edilmiş, konjuge linoleik asit standartlarından hazırlanan karışım üzerinde HKARA-10 metodu için optimum akış hızı denemeleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucu elde edilen farkl› akış hızı kromatogramları Şekil 4.11 de verilmiştir.

Gaz kromatografisi sistemlerinde hareketli faz seçiminde kimyasal olarak inert özellikteki gazlar tercih edilmelidir. Genellikle hareketli faz olarak helyum, hidrojen ve azot gazlar› yayg›n olarak kullan›lmaktad›r. Gaz seçimi, sistemde kullan›lan dedektör tipine göre yapılmaktadır. GC sisteminde aynı deney şartlarında farklı hareketli fazlar kullanılarak yapılan çalışmalarda; hareketli fazlar›n türüne göre HETP değerlerinde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.12. Farkl› Hareketli Fazlar›n HETP Değerlerinin Karşılaştırılması

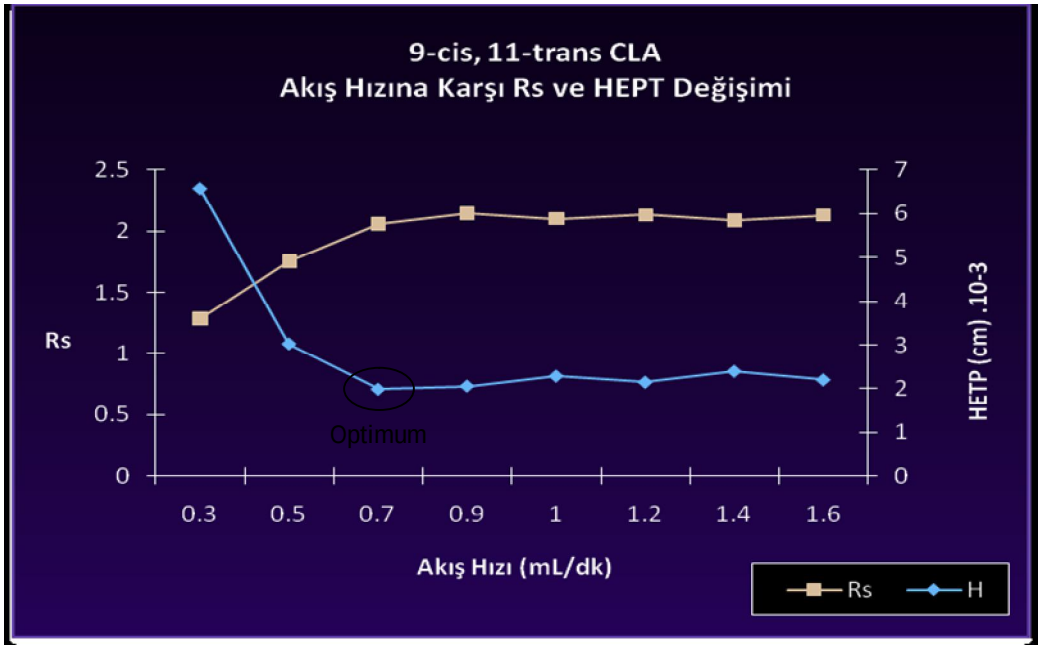
Şekil 4.12'den görüleceği üzere üç farklı hareketli faz için aynı akış hızlarında farklı tabaka yüksekliği değerleri elde edilmiştir. Taşıyıcı faz olarak kullanılan N_2 gazı ile en düşük tabaka yüksekliği değeri elde edilmiş, He ve H_2 gazlar› için ise N_2 gazına göre daha yüksek HETP değerleri elde edilmiştir. Fakat N_2 gaz› ile yap›lan denemeler çok düşük akış hızları ile gerçekleştirilmiş, akış hızındaki artışlar ile tabaka yüksekliği değerleri ani bir artış göstermiştir. Dolayısıyla hem analiz süresi uzamış, hem de akış hızı olarak daha sınırlı değerler kullanılabilmiştir. He ve H_2 gazları için ise daha yüksek akış hızlarında bile N_2 gazına göre daha düşük HETP değerleri bulunmuştur. Yüksek akış hızlarında He ve H_2 gazlar› için hemen hemen aynı HETP değerleri elde edilmesine rağmen, H_2 gazı ile daha geniş bir akış hızı aralığında HETP değerlerinde değişiklik gözlenmemiştir. Sonuç olarak GC sisteminde H_2 gaz› ile yapılan analizlerde geniş bir akış hızı aralığında düşük HETP değerleri elde edilerek çalışma imkanı sağlanabilmiştir.

Analizler sonucunda kromatografik ayrırmanın verimliliğini ve etkinliğini gösteren çeşitli parametreler tespit edilerek değerlendirmeler yapılmıştır. Elde edilen veriler kullan›larak *akış hızlarına karşı* kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan *Rs değerleri* ve kolon verimliliğinin kantitatif ölçüsü olarak ifade edilen *tabaka yüksekliği* grafiği çizilmiştir (Şekil 4.13, 4.14, 4.15).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

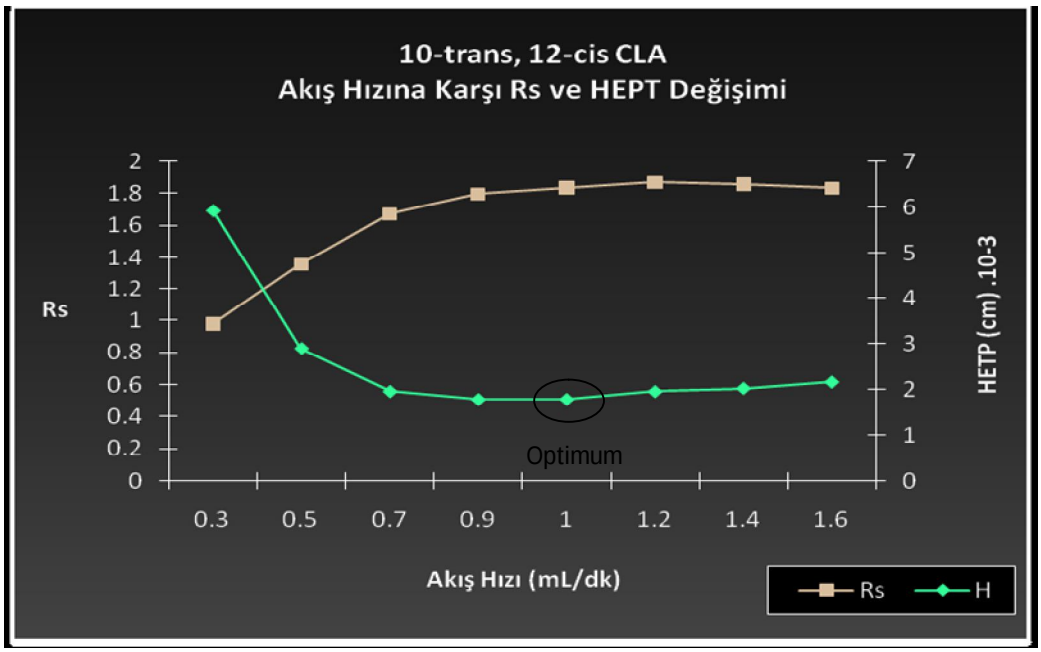
Akış hızı denemelerinde HKARA-10 metodu için; 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0- 1,2- 1,4 ve 1,6 mL/dk akış hızları kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Analizlerde kullanılan akış hızı değerleri arttıkça Rs değerlerinin 1,29 ile 2,19 arasında artış gösterdiği, HETP değerlerinin ise 2.16 ile 5.93 arasında değerler gösterdiği tespit edilmiştir.

Elde edilen veriler doğrultusunda her bir standart pik için HKARA-10 metodu için çizilen *"Akış hızına karşı Rs ve HETP değişimi"* grafiği incelendiğinde; akış hızına bağlı olarak her bir standart pikin Rs değerlerinde optimum değer olan 1,5'in üzerinde değerler elde edilmiş, yani kromatografik olarak istenilen düzeyde ayırmalar gerçekleştirilebilmiştir.

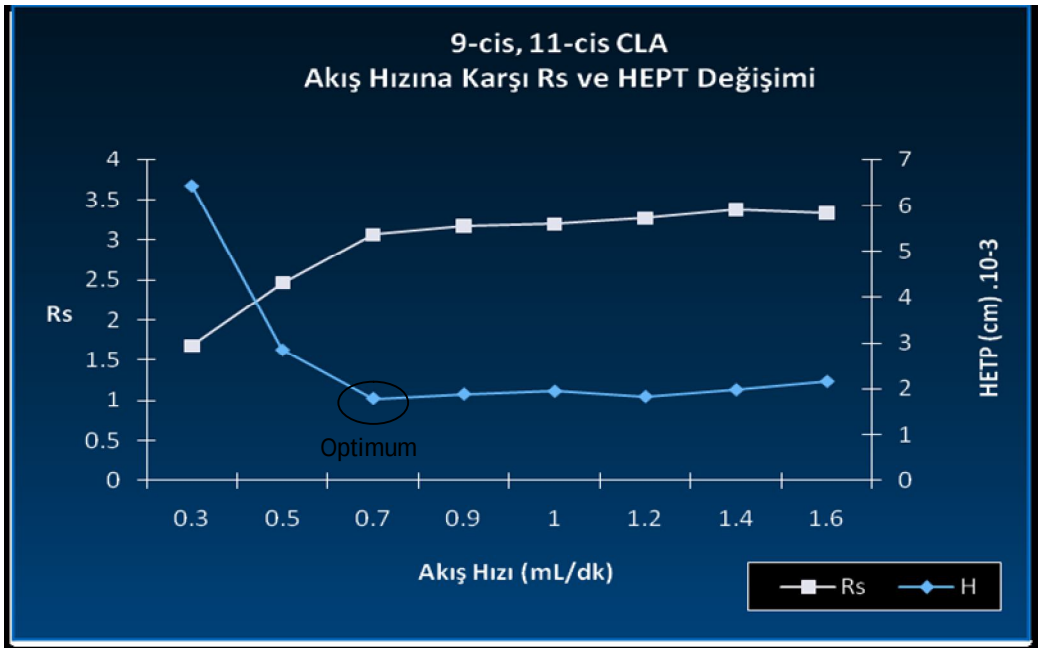


Şekil 4.13. 9-cis, 11-trans CLA Standartı Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/FID H_2)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



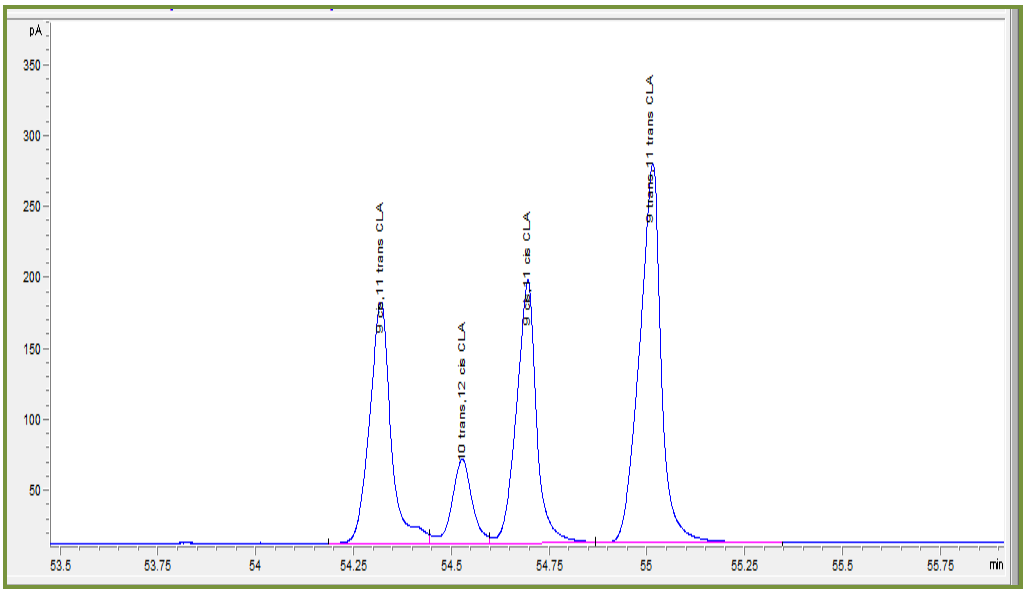
Şekil 4.14. 10-trans,12-cis CLA Standartı Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/FID H_2)



Şekil 4.15. 9-cis, 11-cis CLA Standartı Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (HKARA-10 Metodu- GC/FID H_2)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Sonuç olarak; 10-trans, 12-cis CLA standart maddesi için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 1 mL/dk akış hızının, optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de, pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek bir değer olan 2.10'e karşılık geldiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.16. HKARA-10 Metodu 1 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID H_2)

CLA standart karışımları ile optimum akış hızında gerçekleştirilen analizlerde kalitatif değerlendirmeler yapılırken; HKARA-10 metodu ile H_2 hareketli faz› kullanılarak karışımda kullanılan her bir standart ile ayrı ayrı denemeler yapılmış ve çıkış zamanları tespit edilmiştir. Daha sonra bu standartlar ile hazırlanan karışım ile analizler gerçekleştirilmiş ve standartların çıkış sıraları belirlenmiştir (Şekil 4.16).

H_2 gaz› ile yap›lan analizlerde He gaz›na göre standart maddelerin çıkış sürelerinde farklılıklar tespit edilmiştir. H_2 gaz› ile yap›lan ayr›mlar›n daha iyi ve kısa sürede gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

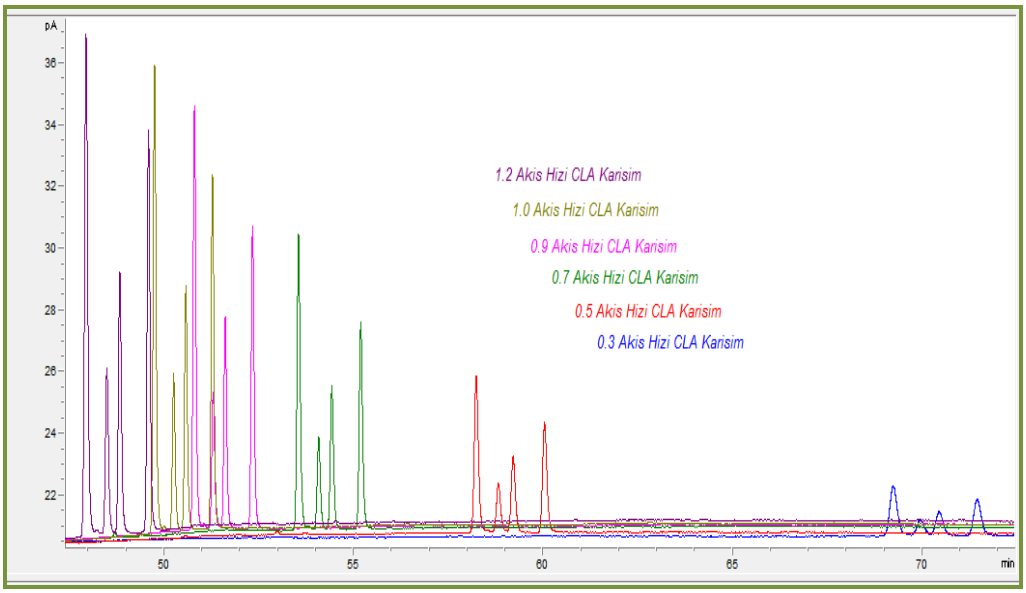
Tablo 4.4. HKARA-10 Metodu İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamalar›

HKARA-10 Metodu (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: H_2)														
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	**0.3 mL/dk**	2.35	1.006	6.58	1.29	2.37	1.004	5.93	0.98	2.38	1.008	6.42	1.68	2.39	6.27
	0.5 mL/dk	3.48	1.005	3.02	1.75	3.50	1.004	2.89	1.35	3.51	1.007	2.84	2.46	3.53	2.87
	0.7 mL/dk	4.44	1.004	1.98	2.06	4.46	1.004	1.95	1.67	4.47	1.006	1.79	3.06	4.50	1.88
	0.9 mL/dk	5.31	1.004	2.06	2.15	5.33	1.004	1.77	1.80	5.35	1.007	1.8	3.17	5.39	2.03
	1.0 mL/dk	5.69	1.004	2.28	2.10	5.72	1.004	1.78	1.83	5.74	1.007	1.95	3.19	5.78	2.11
	1.2 mL/dk	6.42	1.004	2.14	2.13	6.45	1.004	1.95	1.87	6.47	1.007	1.83	3.27	6.52	2.29
	1.4 mL/dk	7.05	1.004	2.39	2.09	7.08	1.004	2.02	1.86	7.11	1.007	1.98	3.37	7.16	2.13
	1.6 mL/dk	7.61	1.005	2.20	2.13	7.64	1.004	2.16	1.83	7.67	1.007	2.16	3.33	7.73	2.30

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.2. Metot-2 için Metod Parametrelerinin Optimizasyonu (GC/FID ve GC/MS)

4.1.2.1. He taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler

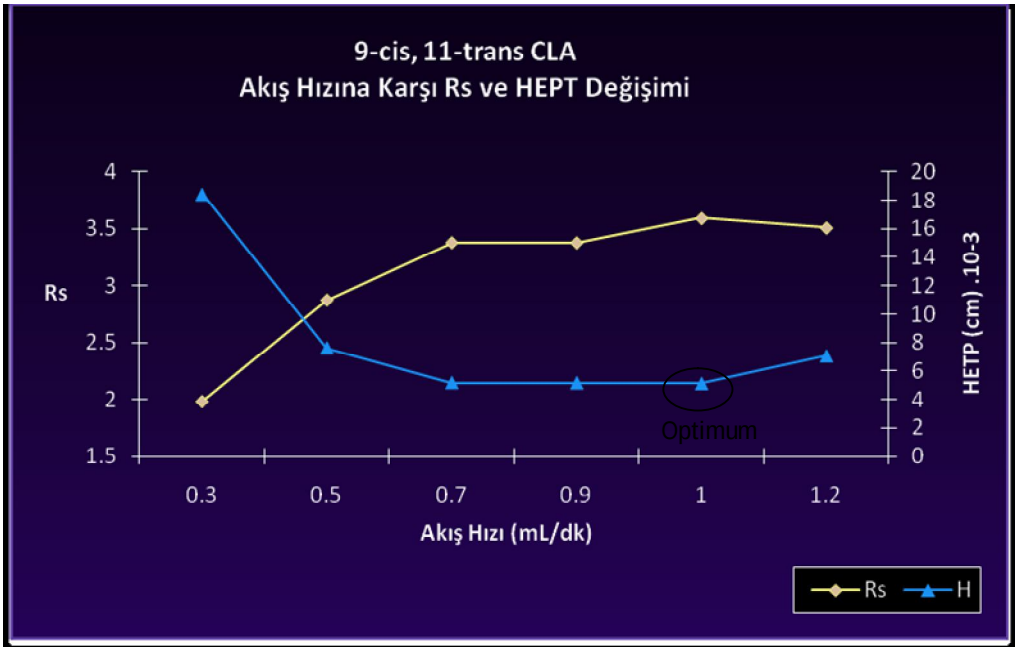


Şekil 4.17. Metot-2 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID He)

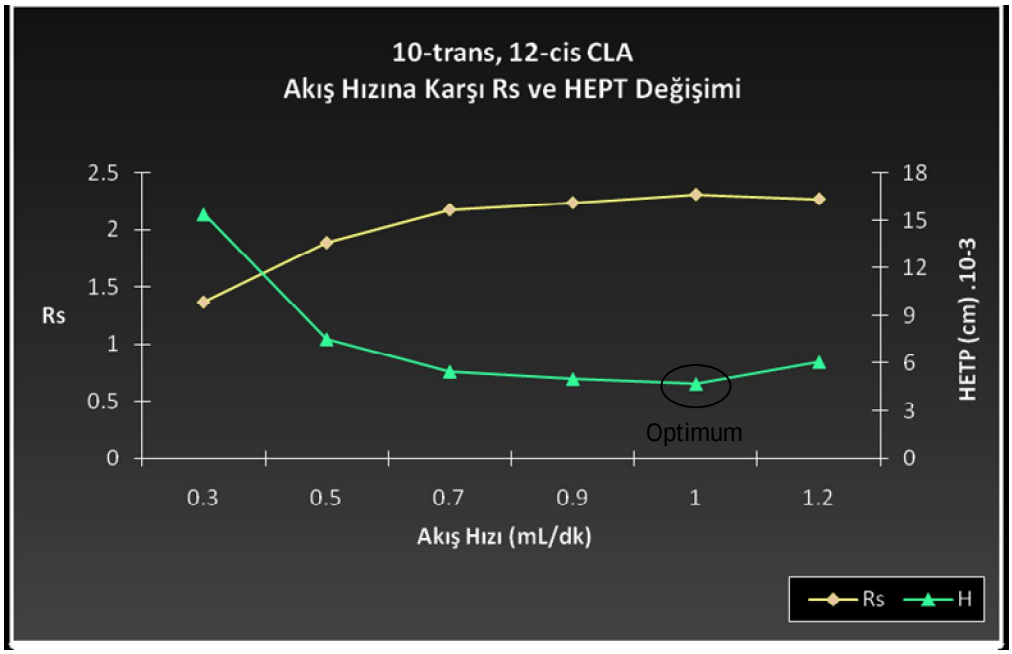
GC/FID sisteminde daha önce yap›lan fakat ayr›lman›n tam olarak gözlenmediği CLA tayin metotlar›n›n, taraf›m›zdan optimize edilmesiyle oluşturulan Metot-2 ile akış hızı optimizasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu denemelerde optimum akış hızı hem He gazı hem de H_2 taşıyıcı gazı için ayrı ayrı tespit edilmiştir. Metot-2 için akış hızı analizleri sonucu elde edilen kromatogramlar Şekil 4.17'de verilmiştir.

Metot-2 metodu ile gerçekleştirilen GC/FID analizleri sonucunda kromatografik ayrırmanın verimliliğini ve etkinliğini gösteren çeşitli parametreler tespit edilerek değerlendirmeler yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre; karışım içerisindeki her bir standart madde için hesaplanan k', α, HETP ve Rs değerleri Tablo 4.5'de verilmiştir. Bu veriler kullanılarak *akış hızlarına karşı* kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan *Rs değerleri* ve kolon verimliliğinin kantitatif ölçüsü olarak ifade edilen *tabaka yüksekliği* grafiği çizilmiştir (Şekil 4.18, 4.19, 4.20).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

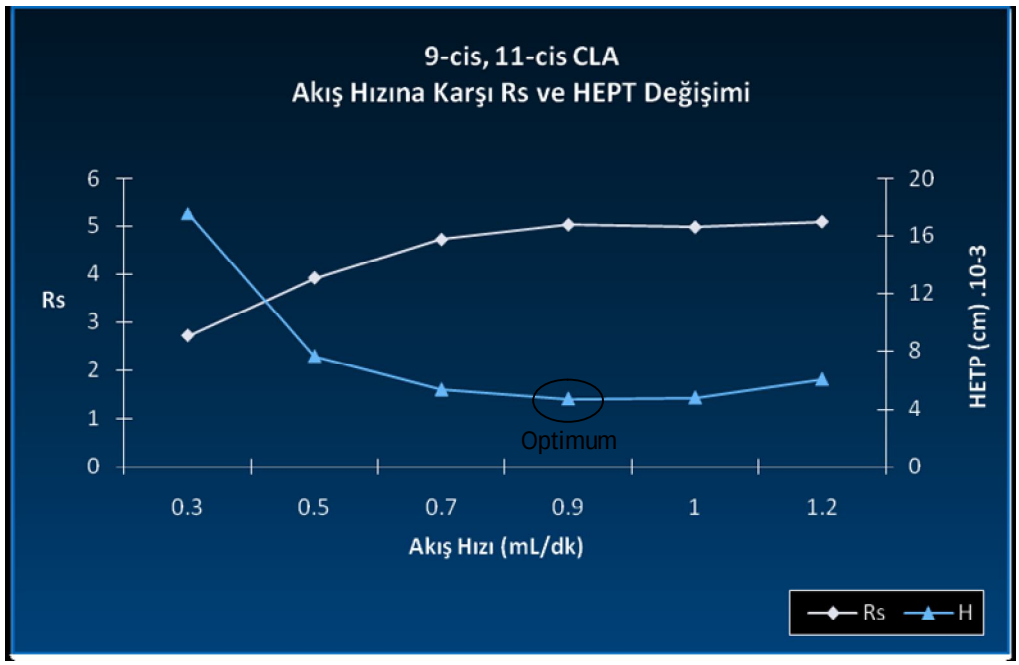


Şekil 4.18. 9-cis, 11-trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karş› HETP ve Rs Değişimi (Metot-2 - GC/FID He)



Şekil 4.19. 10-trans, 12-cis CLA Standardı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-2- GC/FID He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

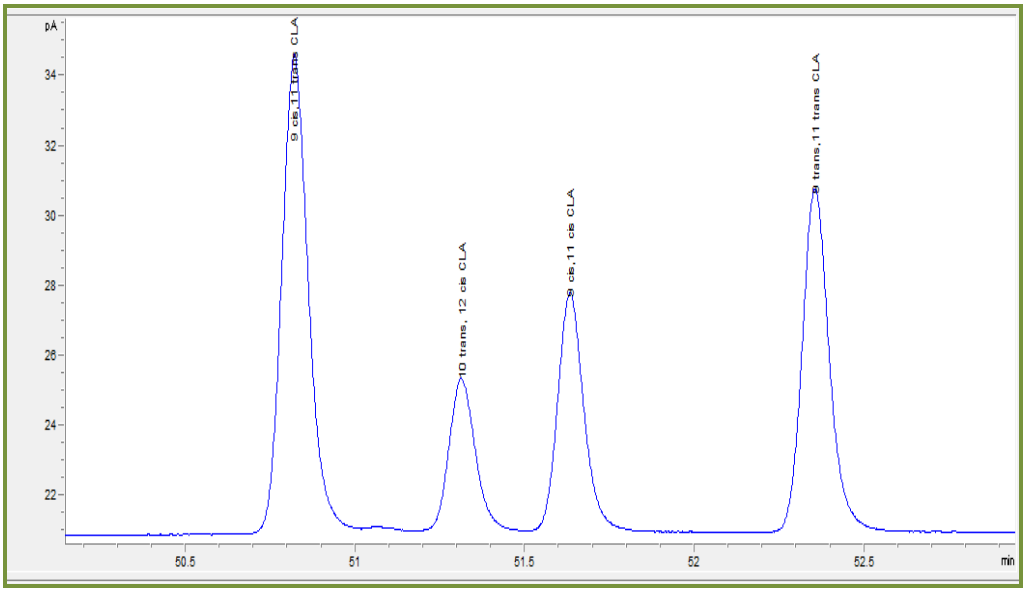


Şekil 4.20. 9-cis, 11-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-2- GC/FID He)

Akış hızı denemelerinde Metot-2 için; 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0 ve 1,2 mL/dk akış hızları kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda her bir standart pik için Metot-2 için çizilen *"Akış hızına karşı Rs ve HETP değişimi"* grafiği incelendiğinde; 10-trans, 12-cis CLA ve 9-cis, 11-cis CLA standart maddelerine göre optimum akış hızı değeri tespit edilmeye çalışılmıştır.

Sonuç olarak; 10-trans, 12-cis CLA standart maddesi için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 0.9 mL/dk akış hızının, Metot-2 için optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de, pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek bir değer olan 3.38'e karşılık geldiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.21. Metot-2 1 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID He)

CLA standart karışımları ile 1 mL/dk optimum akış hızında gerçekleştirilen analizlerde kalitatif değerlendirmeler yapılırken; Metot-2 metodu için karışımda kullanılan her bir standart ile ayrı ayrı denemeler yapılmış ve çıkış zamanları tespit edilmiştir. Daha sonra bu standartlar ile hazırlanan karışım ile analizler gerçekleştirilmiş ve standartların çıkış sıraları belirlenmiştir (Şekil 4.21).

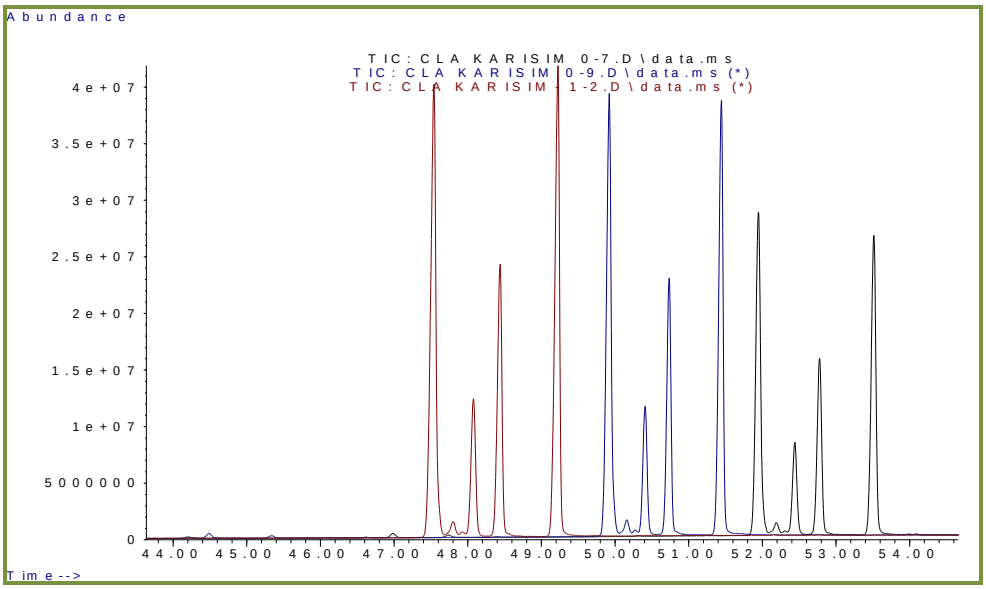
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4 5. Metot-2 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları

Metot-2 Metodu (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: He)															
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	A	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	0.3 mL/dk	2.16	1.02	18.43	1.98	2.19	1.01	15.37	1.37	2.21	1.02	17.55	2.72	2.26	1.65
	0.5 mL/dk	2.86	1.01	7.62	2.88	2.90	1.01	7.51	1.89	2.92	1.02	7.63	3.92	2.98	8.06
	0.7 mL/dk	3.40	1.01	5.18	3.38	3.44	1.01	5.45	2.17	3.47	1.02	5.35	4.72	3.53	5.49
	0.9 mL/dk	3.84	1.01	5.16	3.38	3.89	1.01	4.99	2.24	3.92	1.02	4.72	5.03	3.99	4.77
	1.0 mL/dk	4.04	1.01	5.11	3.59	4.09	1.01	4.67	2.31	4.12	1.02	4.80	4.98	4.20	4.82
	1.2 mL/dk	4.38	1.01	7.05	3.51	4.45	1.01	6.05	2.27	4.48	1.02	6.04	5.09	4.57	5.27

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.2.2. He taşıyıcı gazı ile GC/MS Sisteminde gerçekleştirilen analizler



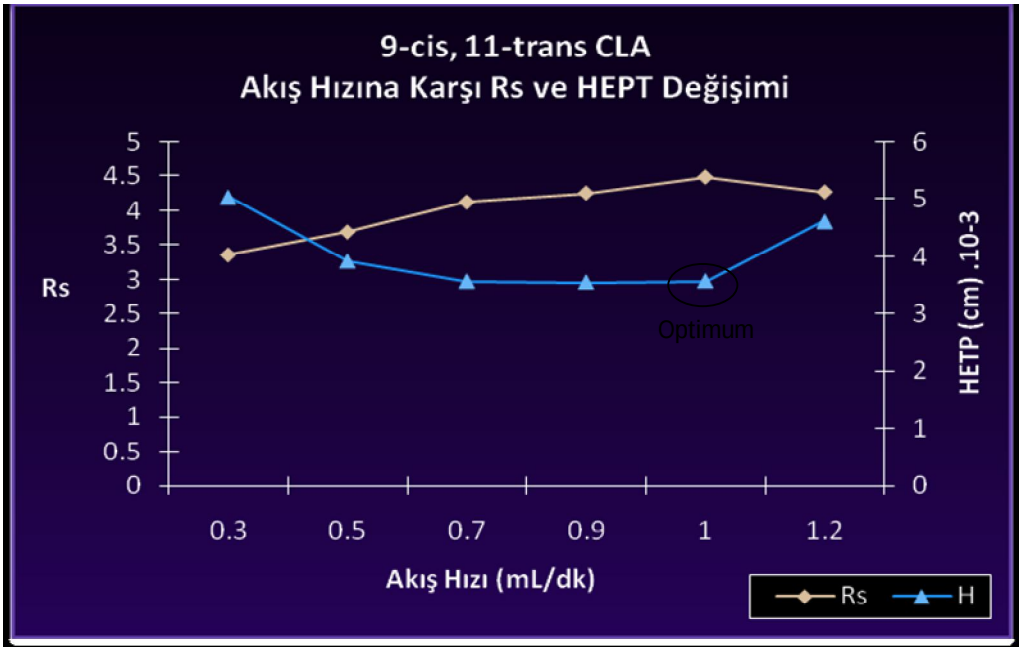
Şekil 4.22. Metot-2 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/MS He)

GC/MS sisteminde helyum taşıyıcı gazı kullanılarak konjuge linoleik asit standartlarından hazırlanan karışım üzerinde; literatür araştırmalarının ard›ndan tarafımızdan geliştirilen Metot-2 için optimum akış hızı denemeleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucu elde edilen farkl› akış hızı kromatogramları Şekil 4.22'de verilmiştir.

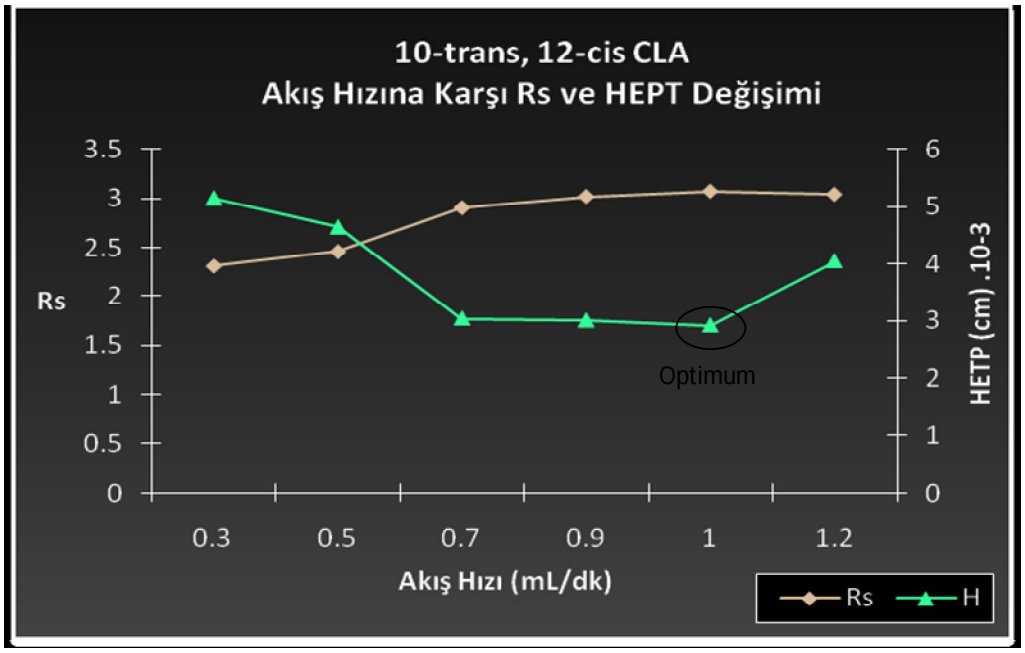
CLA izomerlerinin tespiti için yapılan analiz sonuçları karışım içerisindeki her bir standart madde için hesaplanan k', α, HETP ve Rs değerleri ile değerlendirilmiş ve Tablo 4.7'de verilmiştir. Metot-2 için optimum akış hızı denemelerinde; 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0 ve 1,2 mL/dk akış hızları kullanılmıştır. Akış hızı değerleri arttıkça Rs değerlerinin; 3,5 ile 4,61 aralığında, HETP değerlerinin ise 5,14 ile 4,05 aralığında değiştiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.6'da verilen değerler kullanılarak *akış hızlarına karşı* kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan *Rs değerleri* ve kolon verimliliğinin kantitatif ölçüsü olarak ifade edilen *HETP* grafiği çizilmiştir (Şekil 4.23, 4.24, 4.25).

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

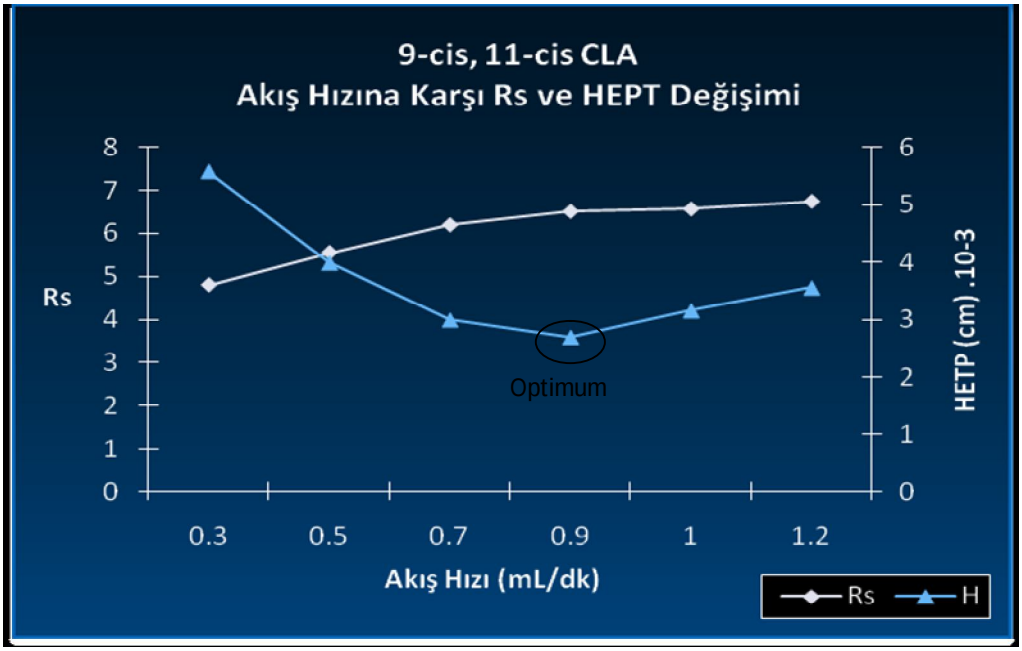


Şekil 4.23. 9-cis, 11-trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/MS He)



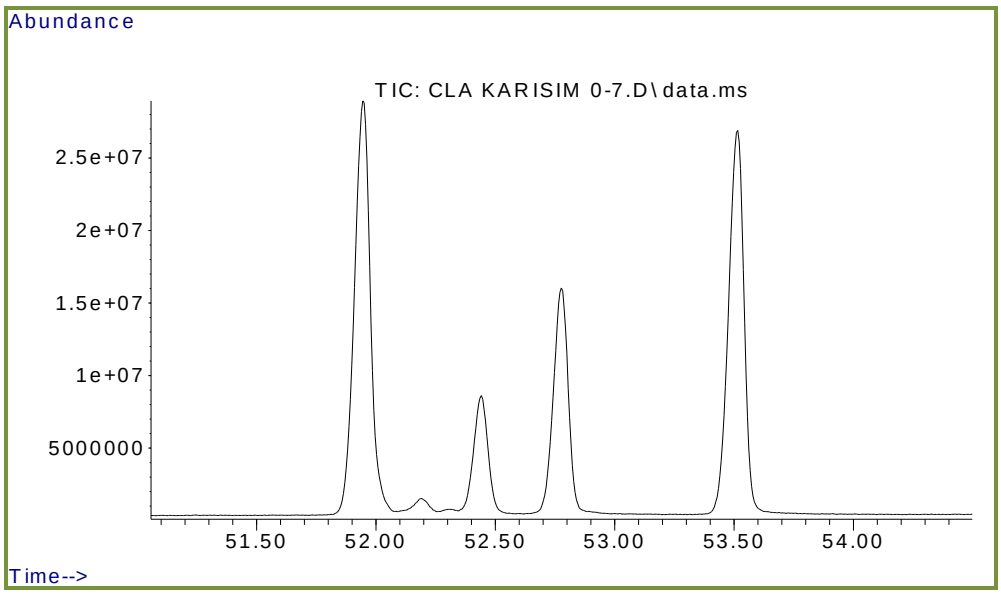
Şekil 4.24. 10-trans, 12-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/MS He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.25. 9-cis, 11-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/MS He)

10-trans, 12-cis CLA standart maddesi için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 0,9 mL/dk akış hızının, Metot-2 için optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de, pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek 1,5 değerinin üzerinde bir değer olan 3,55'e karşılık geldiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.26. Metot-2 1 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/MS He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Sonuç olarak; Metot-2 ile farklı dedektörlerin kullanıldığı gaz kromatografi sistemlerinde (GC/FID ve GC/MS); optimum akış hızı 1 mL/dk olarak tespit edilmiştir. Metot-2 için her iki dedektör sisteminde aynı optimum akış hızı tespit edilmiş, böylece yapılan *akış hızı optimizasyon çalışması* doğrulanmıştır. Ayr›ca yapılan çalışmada izomerlerin çıkış sırası ve kimlik tespitleri de GC-MS ile gerçekleştirilmiştir.

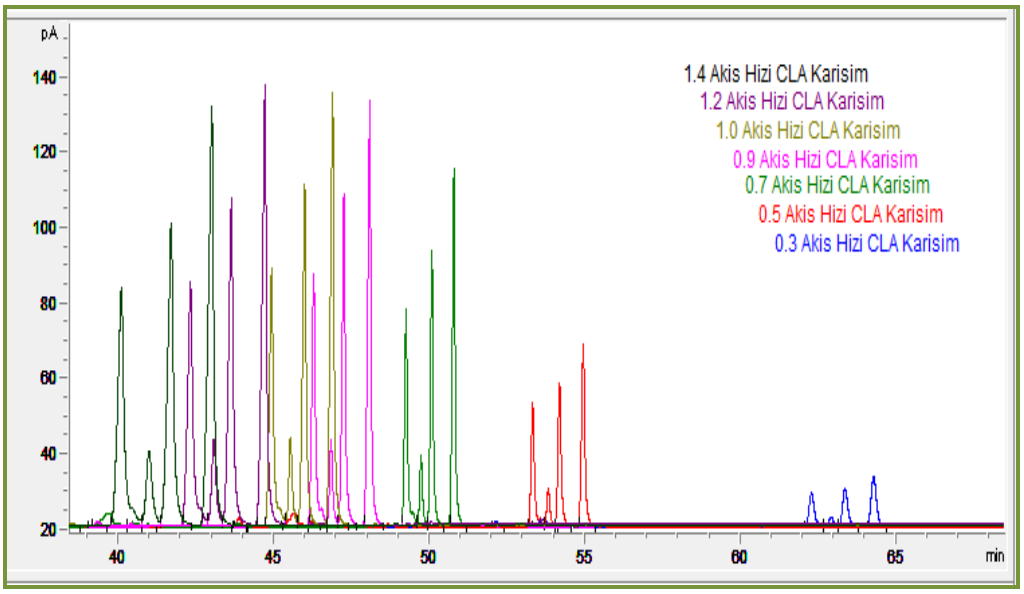
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4.6. Metot-2 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları

Metot-2 (GC/MS Sistemi - Hareketli Faz: He)															
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	0.3 mL/dk	2.48	1.01	5.04	3.35	2.52	1.01	5.14	2.31	2.54	1.02	5.58	4.80	2.59	4.47
	0.5 mL/dk	3.32	1.01	3.92	3.69	3.36	1.01	4.64	2.46	3.39	1.02	3.98	5.55	3.45	3.69
	0.7 mL/dk	3.77	1.01	3.56	4.12	3.82	1.01	3.03	2.90	3.85	1.02	3.00	6.19	3.92	3.27
	0.9 mL/dk	4.16	1.01	3.55	4.25	4.21	1.01	3.00	3.02	4.24	1.02	2.70	6.50	4.32	2.97
	1.0 mL/dk	4.33	1.01	3.57	4.48	4.38	1.01	2.90	3.07	4.42	1.02	3.16	6.56	4.50	2.97
	1.2 mL/dk	4.63	1.01	4.61	4.27	4.69	1.01	4.05	3.04	4.74	1.02	3.56	6.74	4.83	3.54

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.2.3. H_2 taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler



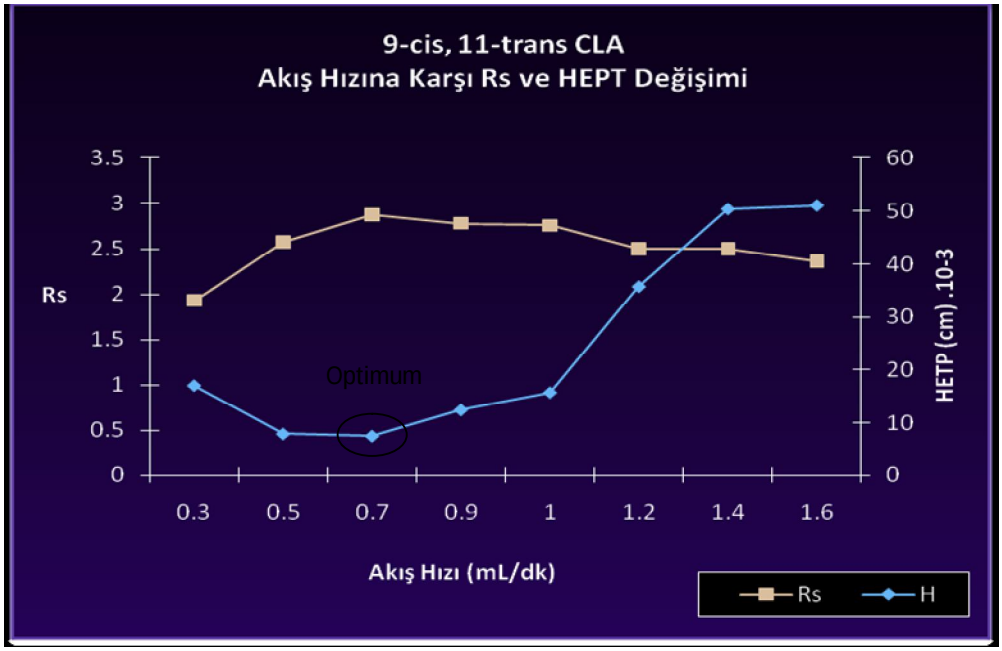
Şekil 4. 27. Metot-2 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID H_2)

GC/FID sisteminde optimum akış hızı denemelerine; hidrojen taşıyıcı gazı kullanılarak devam edilmiş, konjuge linoleik asit standartlarından hazırlanan karışım üzerinde Metot-2 için optimum akış hızı denemeleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucu elde edilen farkl› akış hızı kromatogramları Şekil 4.30 ve 4.31'de verilmiştir.

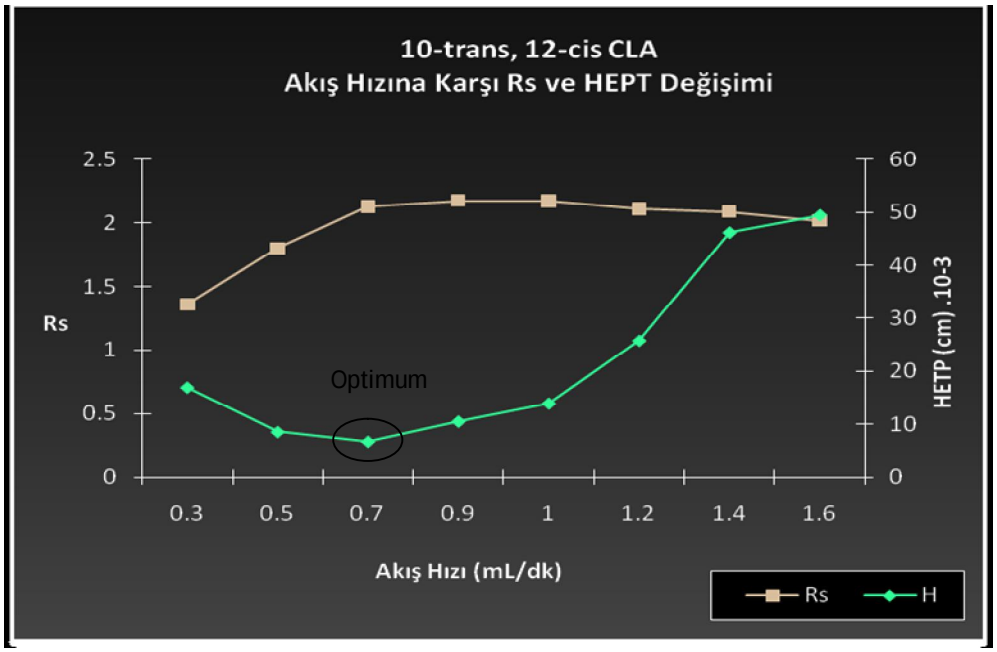
Analizler sonucu elde edilen veriler kullan›larak *akış hızlarına karşı* kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan *Rs değerleri* ve kolon verimliliğinin kantitatif ölçüsü olarak ifade edilen *tabaka yüksekliği* grafiği çizilmiştir (Şekil 4.32, 4.33, 4.34).

Akış hızı denemelerinde Metot-2'de He gazı akış hızı denemelerine göre daha geniş akış hızı aralığında denemeler gerçekleştirilmiştir. Analizlerde 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0- 1,2- 1,4 ve 1,6 mL/dk akış hızları kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Akış hızı değerleri arttıkça Rs değerlerinin 1,9 ile 2,36 arasında artış gösterdiği, HETP değerlerinin ise 6,76 ile 49,46 arasında değerler gösterdiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

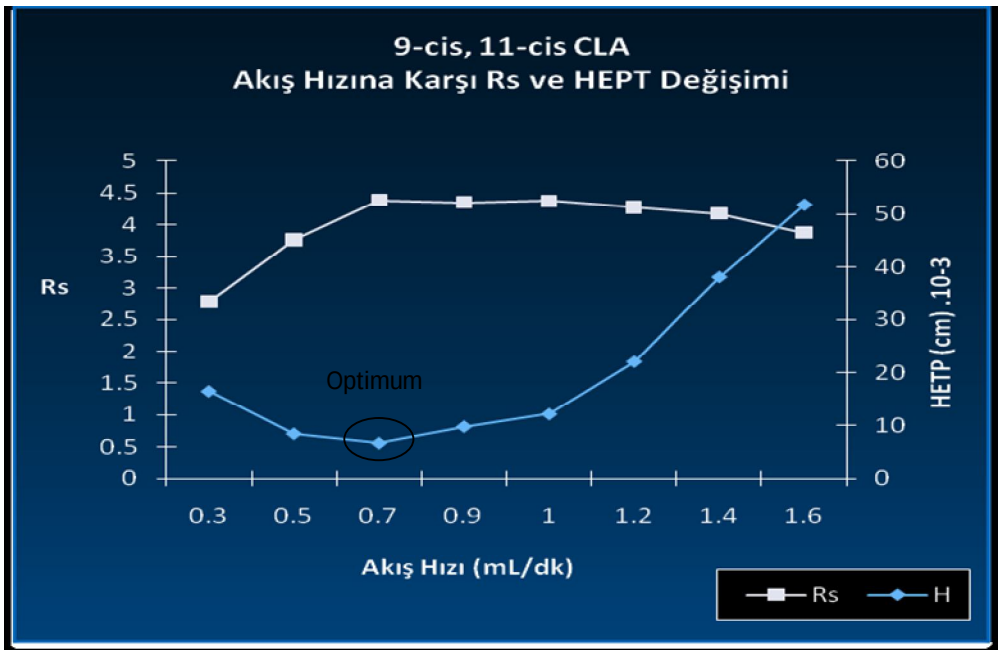


Şekil 4.28. 9-cis, 11-trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/FID H_2)



Şekil 4.29. 10-trans, 12-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/FID H_2)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

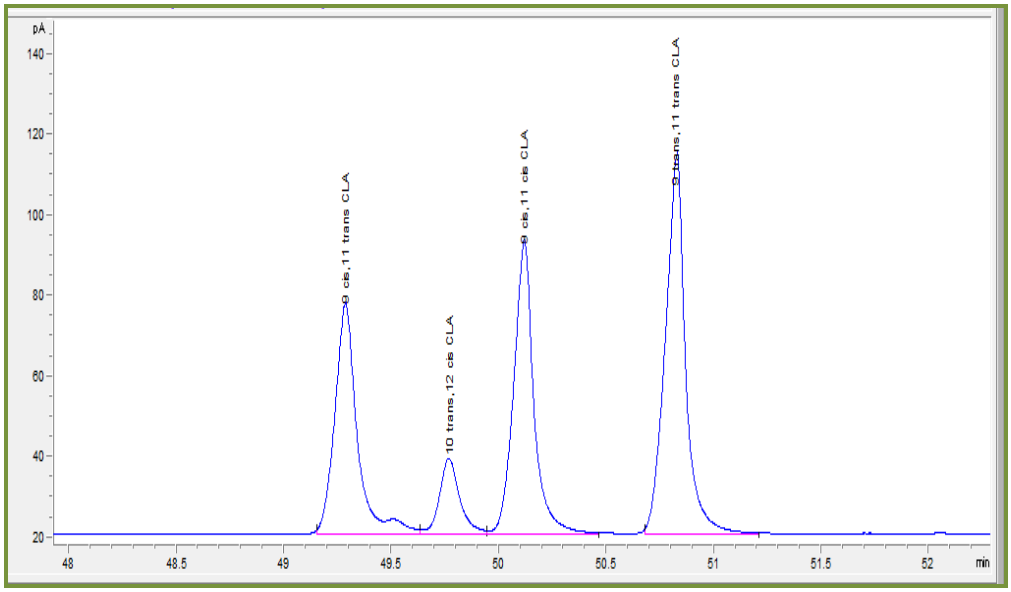


Şekil 4.30. 9-cis, 11-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-2 GC/FID H_2)

Hidrojen gazı ile elde edilen Rs ve HETP değerleri, helyum gazı ile elde edilen değerler ile karşılaştırıldığında, hidrojen gazının helyuma göre daha hızlı hareket ettiği ve daha hızlı bir ayrım gerçekleştirilebildiği görülmektedir.

10-trans, 12-cis CLA standart maddesi için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 0,7 mL/dk akış hızının, optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de, pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek bir değer olan 2.78'e karşılık geldiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.31. Metot-2 0.7 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID H_2)

CLA standart karışımları ile optimum akış hızında gerçekleştirilen analizlerde kalitatif değerlendirmeler yapılırken; Metot-2 ile H_2 hareketli faz› kullan›larak karışımda kullanılan her bir standart ile ayrı ayrı denemeler yapılmış ve çıkış zamanları tespit edilmiştir. Daha sonra bu standartlar ile hazırlanan karışım ile analizler gerçekleştirilmiş ve standartların çıkış sıraları belirlenmiştir (Şekil 4.35). H_2 gaz› ile yap›lan analizlerde He gaz›na göre standart maddelerin çıkış sürelerinde farklılıklar tespit edilmiştir. H_2 gaz› ile yap›lan ayr›mlar›n daha iyi ve k›sa sürede gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

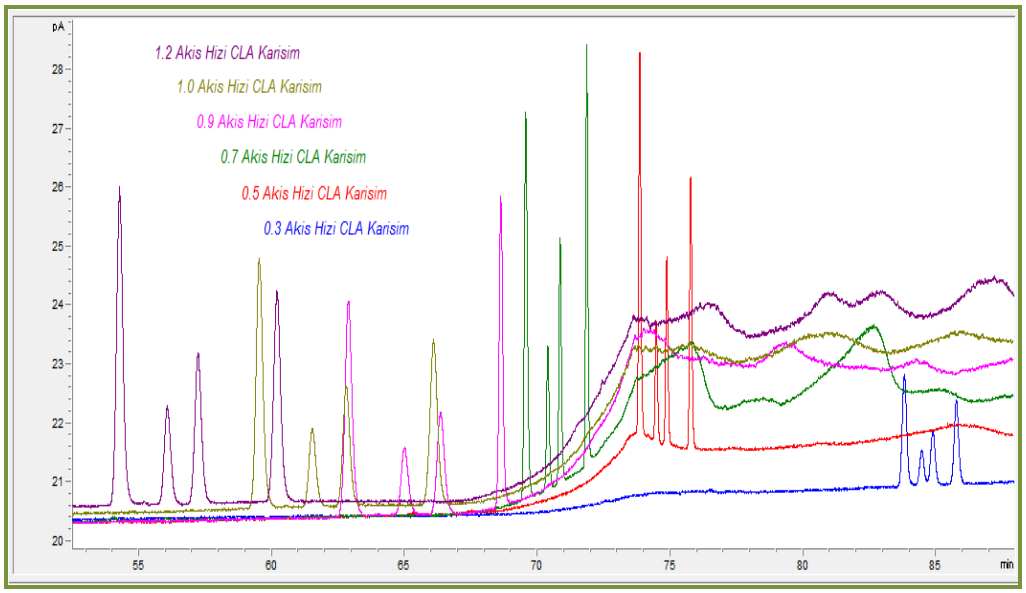
Tablo 4.7. Metot-2 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları

Metot-2 (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: H_2)															
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	0.3 mL/dk	2.43	1.014	17.06	1.93	2.47	1.01	16.95	1.36	2.49	1.02	16.48	2.78	2.54	16.85
	0.5 mL/dk	3.29	1.012	7.97	2.58	3.33	1.009	8.57	1.80	3.36	1.018	8.50	3.76	3.42	8.65
	0.7 mL/dk	3.95	1.012	7.56	2.87	4.00	1.009	6.76	2.13	4.03	1.018	6.76	4.39	4.11	5.99
	0.9 mL/dk	4.46	1.015	12.48	2.78	4.52	1.011	10.54	2.18	4.57	1.021	9.84	4.35	4.67	10.09
	1.0 mL/dk	4.67	1.016	15.74	2.76	4.75	1.012	13.95	2.17	4.80	1.024	12.19	4.37	4.92	12.16
	1.2 mL/dk	4.97	1.021	35.71	2.50	5.08	1.016	25.78	2.11	5.16	1.029	22.04	4.27	5.31	18.69
	1.4 mL/dk	5.21	1.026	50.31	2.50	5.35	1.021	46.17	2.09	5.46	1.037	38.08	4.18	5.66	30.35
	1.6 mL/dk	5.33	1.025	51.00	2.36	5.47	1.022	49.46	2.02	5.59	1.045	51.74	3.88	5.84	64.80

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.3. Metot-3 için Metod parametrelerininOptimizasyonu (GC/FID ve GC/MS)

4.1.3.1. He taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler

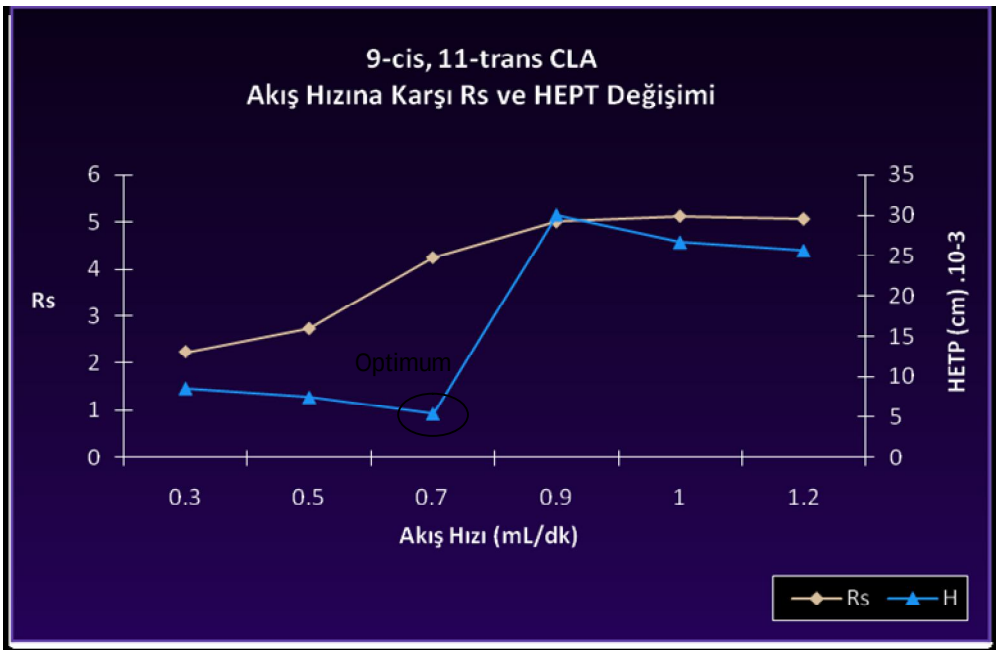


Şekil 4.32. Metot-3 Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID Sistemi He)

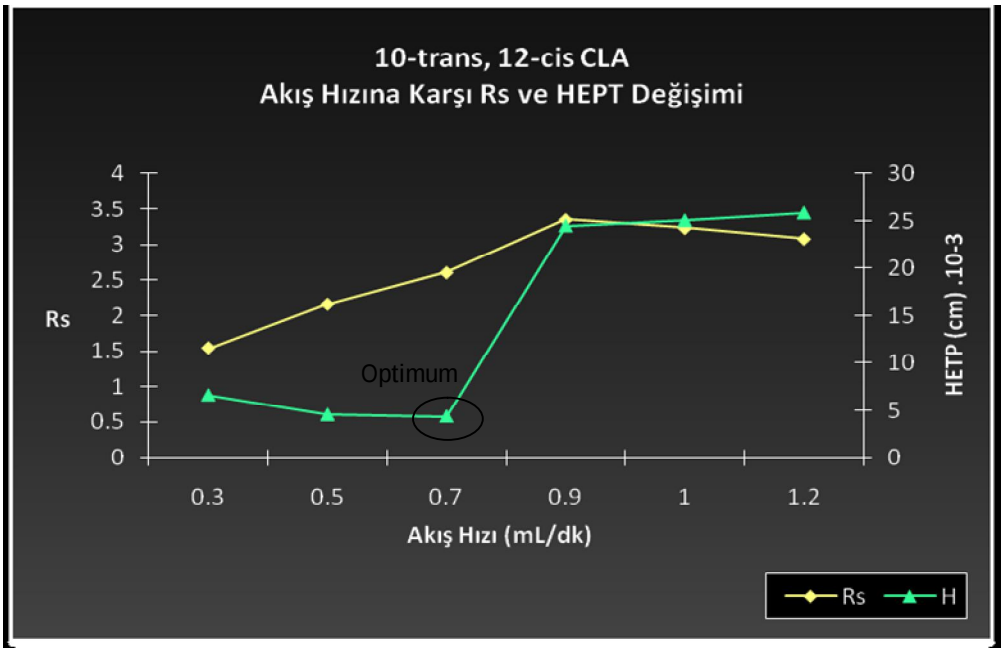
GC/FID sisteminde daha önce yap›lan CLA tayin metotlar›n›n, taraf›m›zdan optimize edilmesiyle oluşturulan Metot-3 ile akış hızı optimizasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan denemelerde optimum akış hızı hem He gazı hem de H_2 taşıyıcı gazı için ayrı ayrı tespit edilmiştir. Metot-3 için optimum akış hızı analizleri sonucu elde edilen kromatogramlar Şekil 4.32'de verilmiştir.

Metot-3 ile gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre; karışım içerisindeki her bir standart madde için hesaplanan k', α, H ve Rs değerleri tablo 4.6'de verilmiştir. Bu veriler kullan›larak *akış hızlarına karşı* *Rs değerleri* ve *tabaka yüksekliği* grafiği çizilmiştir (Şekil 4.33, 4.34, 4.35). Akış hızı denemelerinde Metot-3 için; 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0 ve 1,2 mL/dk akış hızları kullanılmıştır.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

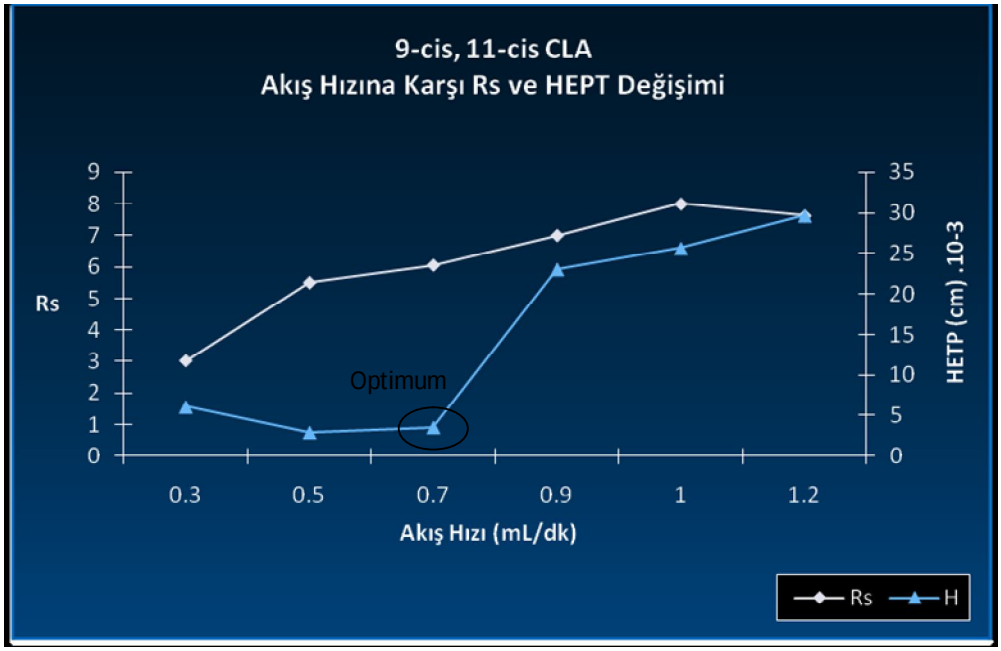


Şekil 4.33. 9-cis, 11-trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID He)



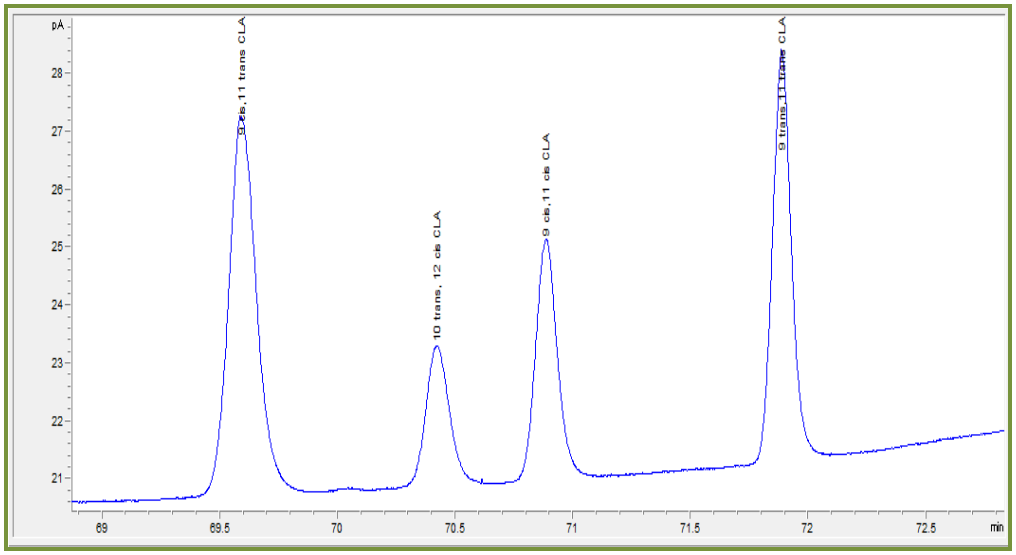
Şekil 4.34. 10-trans, 12-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.35. 9-cis, 11-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID He)

Her bir standart pik için Metot-3 için çizilen *"Akış hızına karşı Rs ve HETP değişimi"* grafiği incelendiğinde; 10-trans, 12-cis CLA standart maddesi için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 0.7 mL/dk akış hızının, Metot-3 için optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de, pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek bir değer olan 3.38'e karşılık geldiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.36. Metot-3 0.7 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

CLA standart karışımları ile 0.7 mL/dk optimum akış hızında gerçekleştirilen analizlerde kalitatif değerlendirmeler yapılırken; Metot-3 için karışımda kullanılan her bir standart ile ayrı ayrı denemeler yapılmış ve çıkış zamanları tespit edilmiştir. Daha sonra bu standartlar ile hazırlanan karışım ile analizler gerçekleştirilmiş ve standartların çıkış sıraları belirlenmiştir (Şekil 4.36).

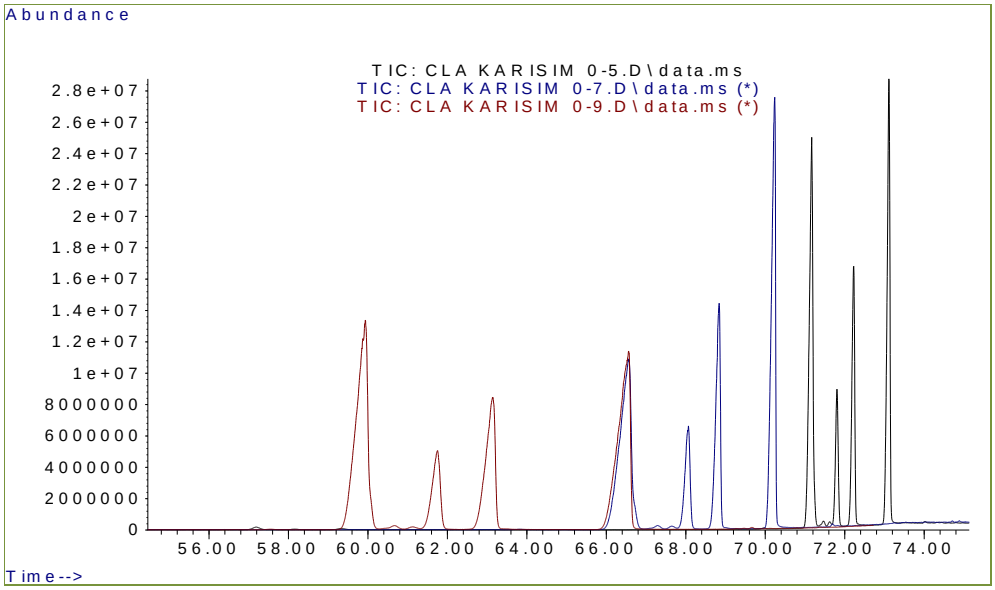
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4. 8. Metot-3 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları

Metot-3 (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: He)															
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	0.3 mL/dk	2.16	1.01	9.43	2.28	2.19	1.01	15.37	1.98	2.21	1.02	17.55	2.72	2.26	1.65
	0.5 mL/dk	2.86	1.01	7.62	2.88	2.90	1.01	7.51	2.88	2.92	1.02	7.63	3.92	2.98	8.06
	0.7 mL/dk	3.40	1.01	5.18	4.38	3.44	1.01	5.45	3.38	3.47	1.02	5.35	4.72	3.53	5.49
	0.9 mL/dk	3.84	1.01	31.16	5.18	3.89	1.01	23.16	3.88	3.92	1.02	4.72	5.03	3.99	4.77
	1.0 mL/dk	4.04	1.01	28.11	5.89	4.09	1.01	25.11	3.59	4.12	1.02	4.80	4.98	4.20	4.82
	1.2 mL/dk	4.38	1.01	25.05	5.51	4.45	1.01	30.05	3.51	4.48	1.02	6.04	5.09	4.57	5.27

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.3.2. He taşıyıcı gazı ile GC/MS Sisteminde gerçekleştirilen analizler

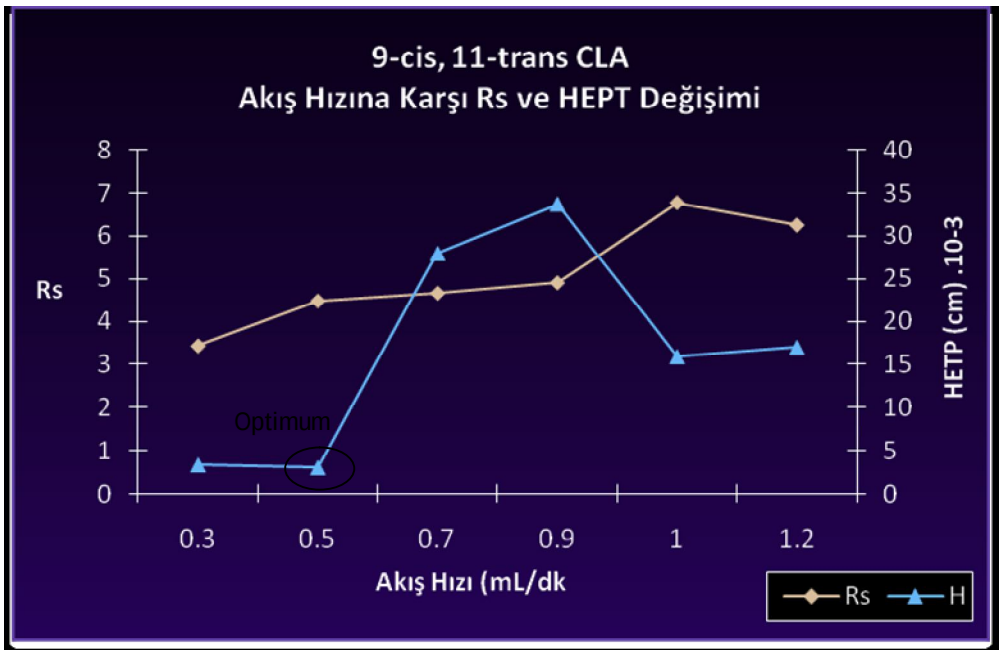


Şekil 4.37. Metot-3 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/MS Sistemi He)

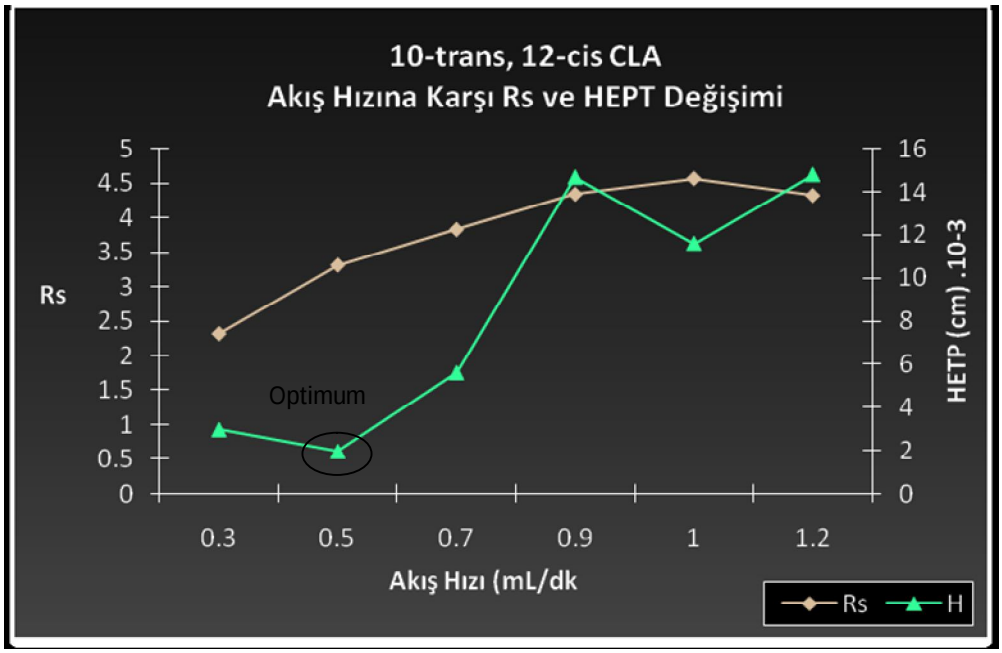
GC/MS sisteminde helyum taşıyıcı gazı kullanılarak konjuge linoleik asit standartlarından hazırlanan karışım üzerinde; Metot-3 için optimum akış hızı denemeleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucu elde edilen farklı akış hızı kromatogramı Şekil 4.37'de verilmiştir.

CLA izomerlerinin tespiti için yapılan analiz sonuçları karışım içerisindeki her bir standart madde için hesaplanan k', α, H ve Rs değerleri ile değerlendirilmiş ve Tablo 4.9'de verilmiştir. Metot-3 için optimum akış hızı denemelerinde; 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0 ve 1,2 mL/dk akış hızları kullanılmıştır. Akış hızı değerleri arttıkça Rs değerlerinin; 3,43 ile 6,26 aralığında, HETP değerlerinin ise 3,43 ile 6,26 aralığında değiştiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

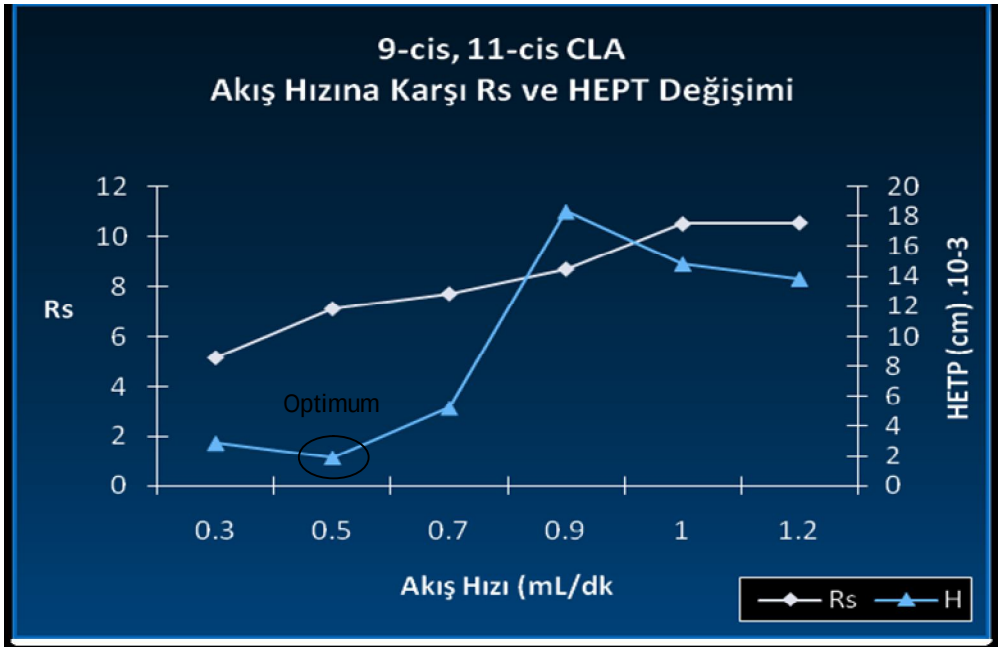


Şekil 4.38. 9-cis, 11-trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/MS He)



Şekil 4.39. 10-trans, 12-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/MS He)

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

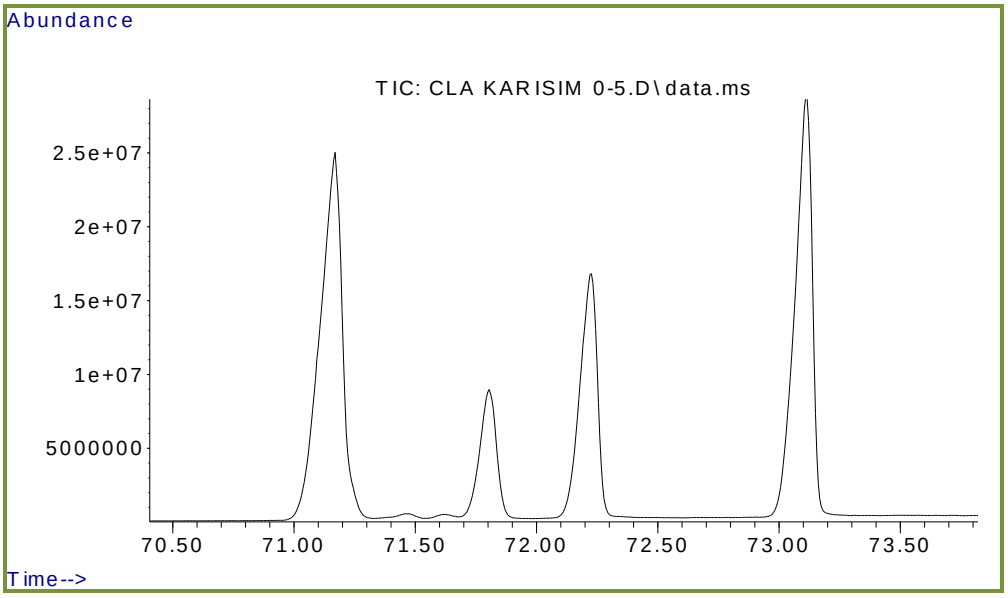


Şekil 4.40. 9-cis, 11-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/MS He)

Tablo.4.9'da verilen değerler kullanılarak *akış hızlarına karşı* kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan *Rs değerleri* ve kolon verimliliğinin kantitatif ölçüsü olarak ifade edilen *HETP* grafiği çizilmiştir (Şekil 4.38, 4.39, 4.40).

10-trans, 12-cis CLA standart maddesi için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 0,5 mL/dk akış hızının, Metot-3 için optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek 1,5 değerinin üzerinde bir değer olan 4,48'e karşılık geldiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.41. Metot-3 0.5 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/MS He)

Sonuç olarak; Metot-3 ile farklı dedektörlerin kullanıldığı gaz kromatografi sistemlerinde GC/FID sitemi için optimum akış hızı 0.5 mL/dk, GC/MS sistemi için ise 0.5 mL/dk olarak tespit edilmiştir. Metot-3 için iki dedektör sisteminde farklı optimum akış hızı tespit edilmiştir.

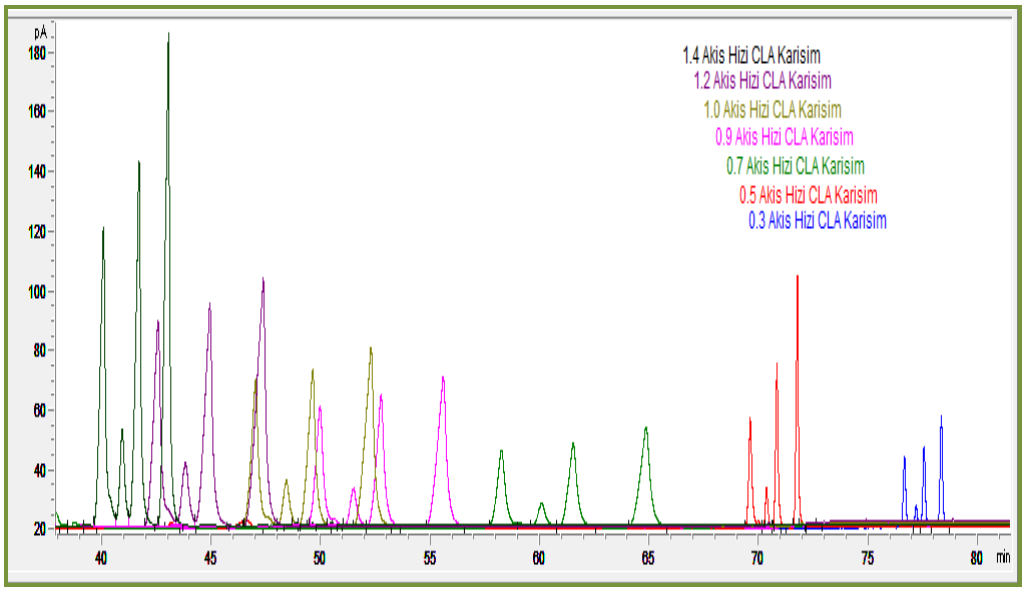
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4. 9. Metot-3 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları

Metot-3 (GC/MS Sistemi - Hareketli Faz: He)															
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	0.3 mL/dk	3.78	1.01	3.34	3.43	3.81	1.01	2.97	2.32	3.84	1.01	2.89	5.15	3.89	2.77
	0.5 mL/dk	4.77	1.01	3.02	4.48	4.82	1.01	1.97	3.31	4.85	1.01	1.89	7.10	4.93	1.79
	0.7 mL/dk	5.31	1.03	28.00	4.66	5.46	1.01	5.61	3.83	5.53	1.02	5.21	7.71	5.66	3.37
	0.9 mL/dk	5.40	1.04	33.70	4.91	5.60	1.03	14.66	4.34	5.75	1.06	18.29	8.68	6.11	27.96
	1.0 mL/dk	5.52	1.04	15.90	6.77	5.73	1.02	11.60	4.57	5.87	1.06	14.82	10.48	6.23	14.82
	1.2 mL/dk	5.49	1.04	16.97	6.26	5.70	1.02	14.78	4.32	5.84	1.06	13.82	10.53	6.20	15.56

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.1.3.3. H_2 taşıyıcı gazı ile GC/FID sisteminde gerçekleştirilen analizler



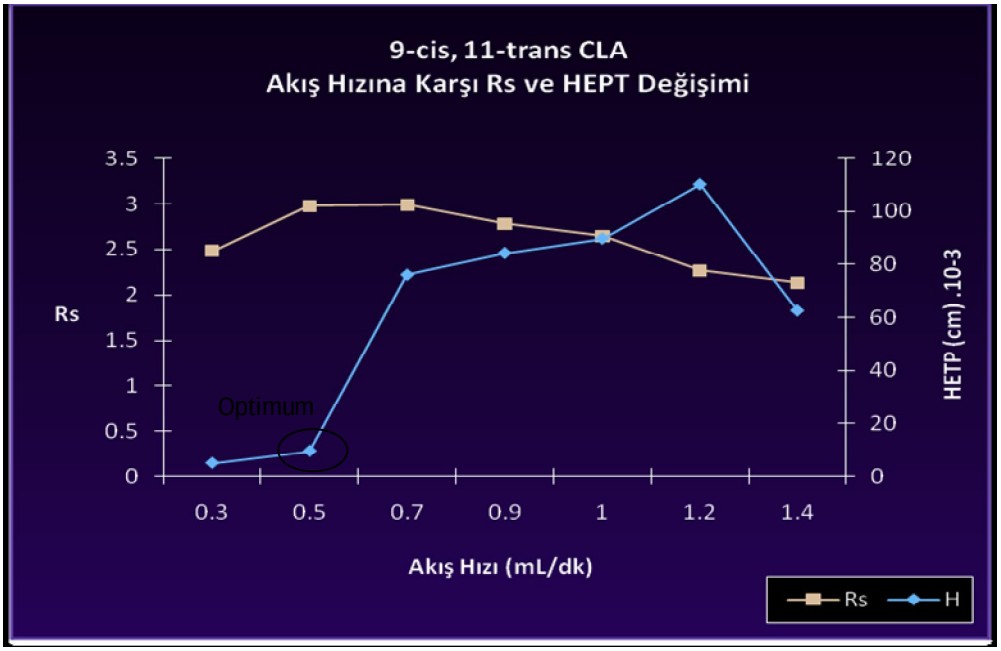
Şekil 4.42. Metot-3 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri (GC/FID Sistemi H_2)

GC/FID sisteminde optimum akış hızı denemelerine; hidrojen taşıyıcı gazı kullanılarak devam edilmiş, konjuge linoleik asit standartlarından hazırlanan karışım üzerinde Metot-3 için optimum akış hızı denemeleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucu elde edilen farkl› akış hızı kromatogramları Şekil 4.42'de verilmiştir.

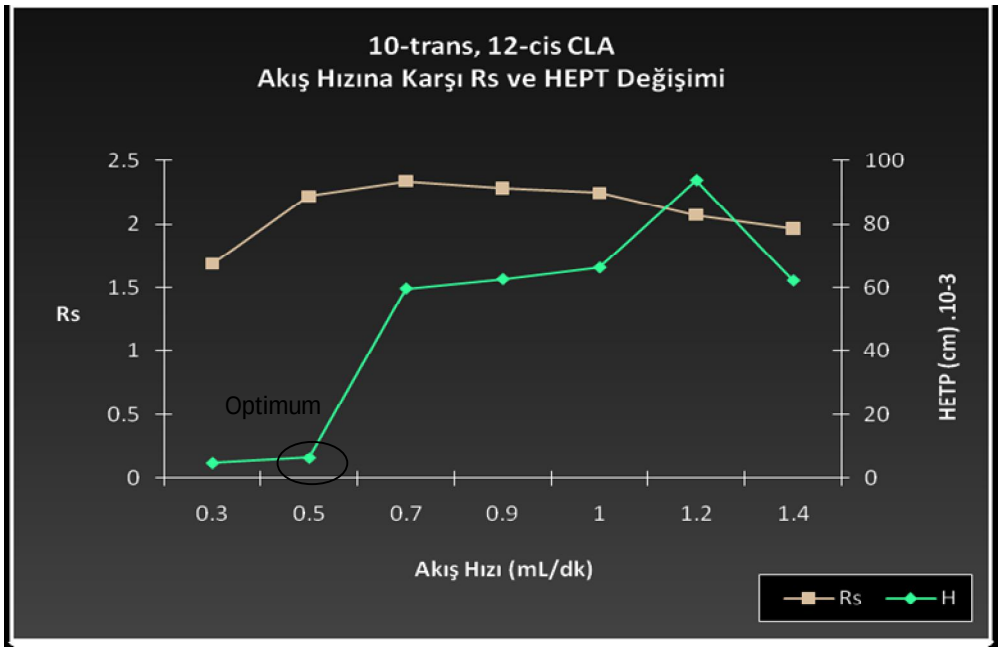
Analizler sonucu elde edilen veriler kullan›larak *akış hızlarına karşı* kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan *Rs değerleri* ve kolon verimliliğinin kantitatif ölçüsü olarak ifade edilen *tabaka yüksekliği* grafiği çizilmiştir (Şekil 4.43, 4.44, 4.45).

Akış hızı denemelerinde Metot-3'de He gazı akış hızı denemelerine göre daha geniş akış hızı aralığında denemeler gerçekleştirilmiştir. Analizlerde 0,3- 0,5- 0,7- 0,9- 1,0- 1,2 ve 1,4 mL/dk akış hızları kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Akış hızı değerleri arttıkça Rs değerlerinin 2,46 ile 2,48 arasında artış gösterdiği, HETP değerlerinin ise 4,76 ile 75,85 arasında değerler gösterdiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

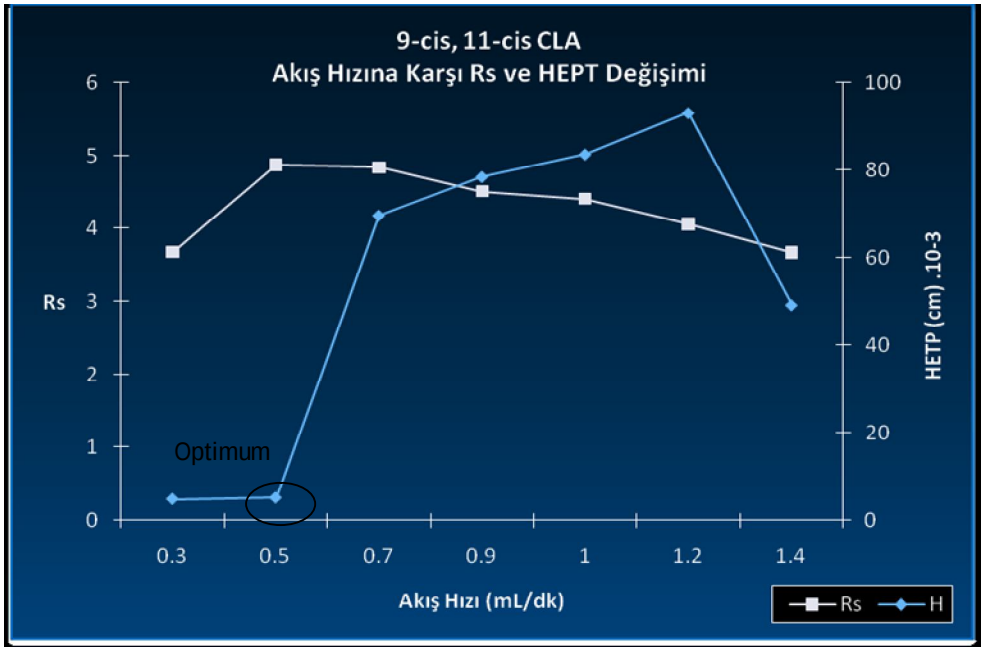


Şekil 4.43. 9-cis, 11-trans CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID H_2)



Şekil 4.44. 10-trans, 12-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID H_2)

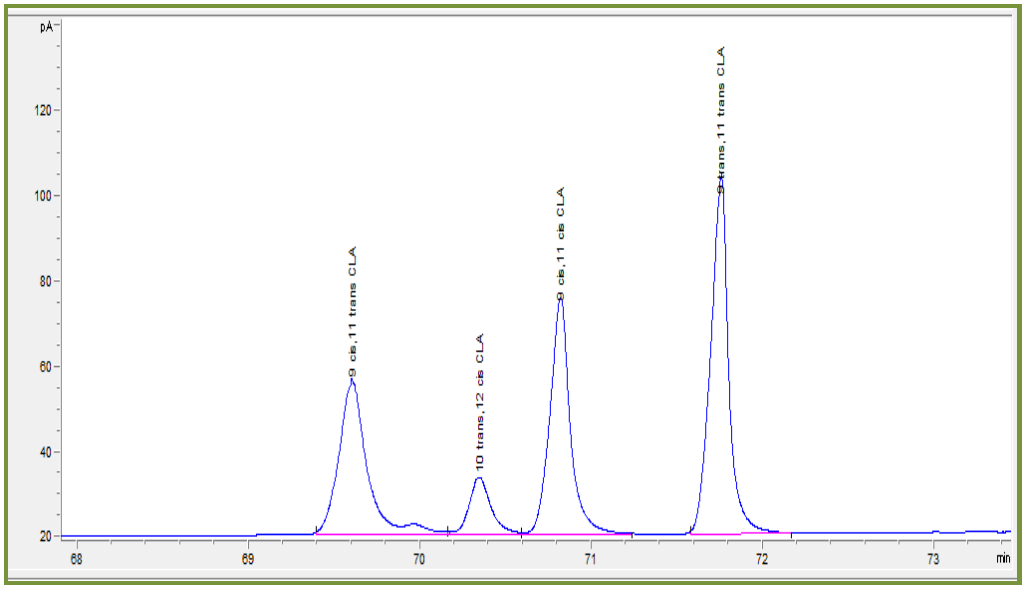
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.45. 9-cis, 11-cis CLA Standartı İçin Akış Hızına Karşı HETP ve Rs Değişimi (Metot-3 GC/FID H_2)

Hidrojen gazı ile elde edilen Rs ve HETP değerleri, helyum gazı ile elde edilen değerler ile karşılaştırıldığında, hidrojen gazının helyuma göre daha hızlı hareket ettiği ve daha hızlı bir ayrım gerçekleştirilebildiği görülmektedir. 10-trans, 12-cis CLA standart maddesi için en düşük tabaka yüksekliğine karşılık gelen 0,5 mL/dk akış hızının, optimum akış hızı olduğuna karar verilmiştir. Bu akış hızına karşılık gelen Rs değerinin de, pikler arasında iyi bir ayrımı sağlayabilecek bir değer olan 2.98'e karşılık geldiği tespit edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



Şekil 4.46. Metot-3 0.5 mL/dk Akış Hızı CLA Karışım Kromatogramı (GC/FID H_2)

CLA standart karışımları ile optimum akış hızında gerçekleştirilen analizlerde kalitatif değerlendirmeler yapılırken; Metot-3 ile H_2 hareketli faz› kullan›larak karışımda kullanılan her bir standart ile ayrı ayrı denemeler yapılmış ve çıkış zamanları tespit edilmiştir. Daha sonra bu standartlar ile hazırlanan karışım ile analizler gerçekleştirilmiş ve standartların çıkış s›ralar› belirlenmiştir (Şekil 4.46). H_2 gazı ile yapılan analizlerde He gazına göre standart maddelerin çıkış sürelerinde farklılıklar tespit edilmiştir. H_2 gaz› ile yap›lan ayr›mlar›n daha iyi ve k›sa sürede gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Hidrojen gaz› ile yap›lan analizlerde, azot gazının yaklaşık altı katı, helyum gazının yaklaşık iki katı daha fazla akış hızı ile çalışılmaasına rağmen en yüksek Rs değeri elde edilmiştir. Böylece hem akış hızı için daha yüksek değerler kullanılarak analiz süresi kısaltılmış, hem de kromatografik olarak iyi bir ayrım sağlayabilecek Rs değeri elde edilmiştir. Sonuç olarak GC sisteminde H_2 gaz› ile yap›lan analizlerde geniş bir akış hızı aralığında istenilen düzeyde iyi bir ayrım sağlayabilecek Rs değerleri elde edilmiştir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4.10. Metot-3 İçin Farklı Akış Hızı Analizleri Kromatografik Hesaplamaları

Metot-3 (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: H_2)															
CLA Standartlar›		9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CLA				9-trans, 11-trans CLA	
		k'	A	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	HETP
Hareketli Faz Akış Hızı	**0.3 mL/dk**	3.34	1.01	4.98	2.48	3.37	1.00	4.76	1.69	3.39	1.01	4.77	3.67	3.43	4.68
	0.5 mL/dk	4.85	1.01	9.62	2.98	4.91	1.01	6.38	2.22	4.95	1.02	5.07	4.87	5.03	4.07
	0.7 mL/dk	5.19	1.04	76.05	2.99	5.39	1.03	59.67	2.34	5.54	1.06	69.52	4.84	5.90	77.94
	0.9 mL/dk	5.29	1.04	84.26	2.78	5.49	1.03	62.66	2.28	5.65	1.06	78.45	4.51	6.00	89.98
	1.0 mL/dk	5.32	1.03	89.77	2.65	5.51	1.03	66.34	2.24	5.68	1.06	83.61	4.40	6.03	92.42
	1.2 mL/dk	5.38	1.04	110.2	2.27	5.57	1.03	93.73	2.07	5.74	1.06	93.03	4.05	6.11	117.84
	1.4 mL/dk	5.20	1.03	62.55	2.13	5.33	1.02	62.24	1.97	5.45	1.04	49.09	3.67	5.66	44.03
	1.6 mL/dk	5.49	1.03	93.22	2.46	5.68	1.03	75.85	2.18	5.84	1.06	73.22	4.46	6.20	93.61

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4.11. HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 Hareketli Faz Karşılaştırma analizleri İçin Kromatografik Hesapla

HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: He & H_2)													
			CLA Standart Maddeleri										
			9-cis, 11-trans CLA				10-trans, 12-cis CLA				9-cis, 11-cis CL		
			k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP	Rs	k'	α	HETP
HKARA-10 METODU	1.0 mL/dk	H_2	5.69	1.00	2.28	2.10	5.72	1.00	1.78	1.83	5.74	1.00	1.95
	1.0 mL/dk	He	4.65	1.00	1.53	2.41	4.67	1.00	1.50	1.63	4.68	1.01	1.54
Metod -2	0.7 mL/dk Akış	H_2	3.95	1.01	7.56	2.87	4.00	1.00	6.76	2.13	4.03	1.01	6.76
	0.9 mL/dk Akış	He	3.84	1.01	5.16	3.38	3.89	1.01	4.99	2.24	3.92	1.02	4.72
Metot-3	0.5 mL/dk Akış	H_2	4.85	1.01	9.62	2.98	4.91	1.01	6.38	2.22	4.95	1.02	5.07
	0.7 mL/dk Akış	He	3.40	1.01	5.18	3.38	3.44	1.01	5.45	2.17	3.47	1.02	5.35

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.2. Yağ Numunelerinde CLA Miktarların›n ve İzomer Türlerinin Tespiti

Yukarıda belirtildiği üzere birçok önemli etkinliğe sahip CLA`in insanlar ve diğer canlılar taraf›ndan tüketilen miktarlar›, dolay›s›yla CLA`in hangi besin maddesinde ne kadar bulunduğu oldukça önem taşımaktadır. Hayvansal kaynaklardan elde edilebilen doğal yağlar, CLA izomerlerini içerme özelliği ile önemli besin maddelerinin ilk s›ralar›nda yer almaktad›rlar.

Yapılan bu çalışmada; CLA analizlerinde etkin bir yöntem olan GC/FID ve GC/MS ile CLA içeren yağ asit kompozisyonlarının incelenmesi yapılmıştır. Optimizasyon çalışmaları tamamlanmış olan HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 metotlar› kullan›larak;

- Tereyağı
- Margarin numunelerinde yağ asit kompozisyonları ve konjuge linoleik asit konfigürasyonları incelenmiştir.

4.2.1. Tereyağı Analizleri (GC/FID & GC/MS Sistemi):

CLA içeriği bakımından en zengin kaynaklardan birisi olan tereyağı numuneleri ile gerçekleştirilen analizlerde; önce türevlendirme işlemi yapılmış, daha sonra GC/FID tekniği ile, deneysel kısımda belirtilen parametrelere göre oluşturulan ve optimize edilen metotlara göre analizler gerçekleştirilmiştir. Hidrojen ve helyum hareketli fazları kullanılarak yağ asitlerinin metil esterler türevlerinin ve CLA izomerlerinin bağıl yüzdeleri hesaplanarak değerlendirmeler yapılmıştır.

CLA, birçok gıdada doğal olarak sınırlı miktarlarda bulunmakla birlikte insan vücudunda sentezlenememektedir. Bu yüzden ruminant hayvanlardan elde edilen et, süt ürünleri ve özellikle hayvansal kaynaklı yağlar, insan diyetleri için CLA'nın ana kaynaklarını oluştururlar. Bitkisel yağlar ise CLA içeriği bakımdan daha fakirdirler.

İki farklı hareketli faz kullanılarak oluşturulan metotlar ile gerçekleştirilen tereyağ yağ asit kompozisyon analiz sonuçları incelendiğinde; oluşturulan bu metotların sağlık üzerine pek çok olumsuzluğu yapılan araştırmalarla kanıtlanmış olan trans yağ asitleri dâhil olmak üzere, doymuş ve doymamış tüm yağ asitlerinin

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

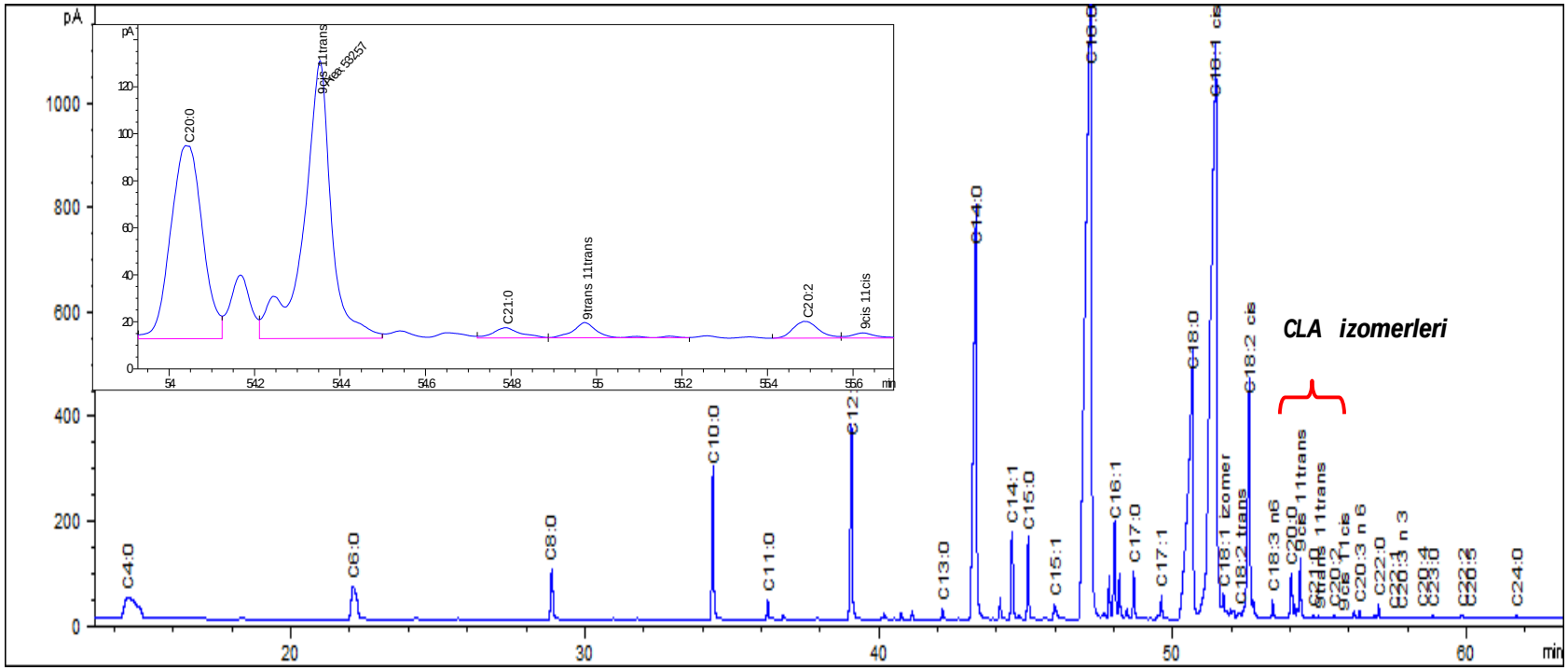
ayrımında başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

CLA standart karışımları kullanılarak CLA izomerlerinin alıkonma süreleri tespit edilmiş ve bağıl yüzdeleri hesaplanmıştır. Analiz sonuçlarına bakıldığında; tereyağı numunesinin %3 düzeyinde CLA izomerleri içermekte olduğu ve toplam CLA'n›n %25'ini 9-cis, 11-trans, %10'unu 10-trans, 12-cis, %20'sini 9-cis,11-cis, %45'ini 9-trans,11-trans izomerinin oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.12).

Sonuç olarak H_2 hareketli faz› kullan›lan Metot-2 ile CLA izomerlerinin ayrımının istenilen düzeyde gerçekleştirilebildiği görülmektedir. Metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğu test edilerek kanıtlanmıştır.

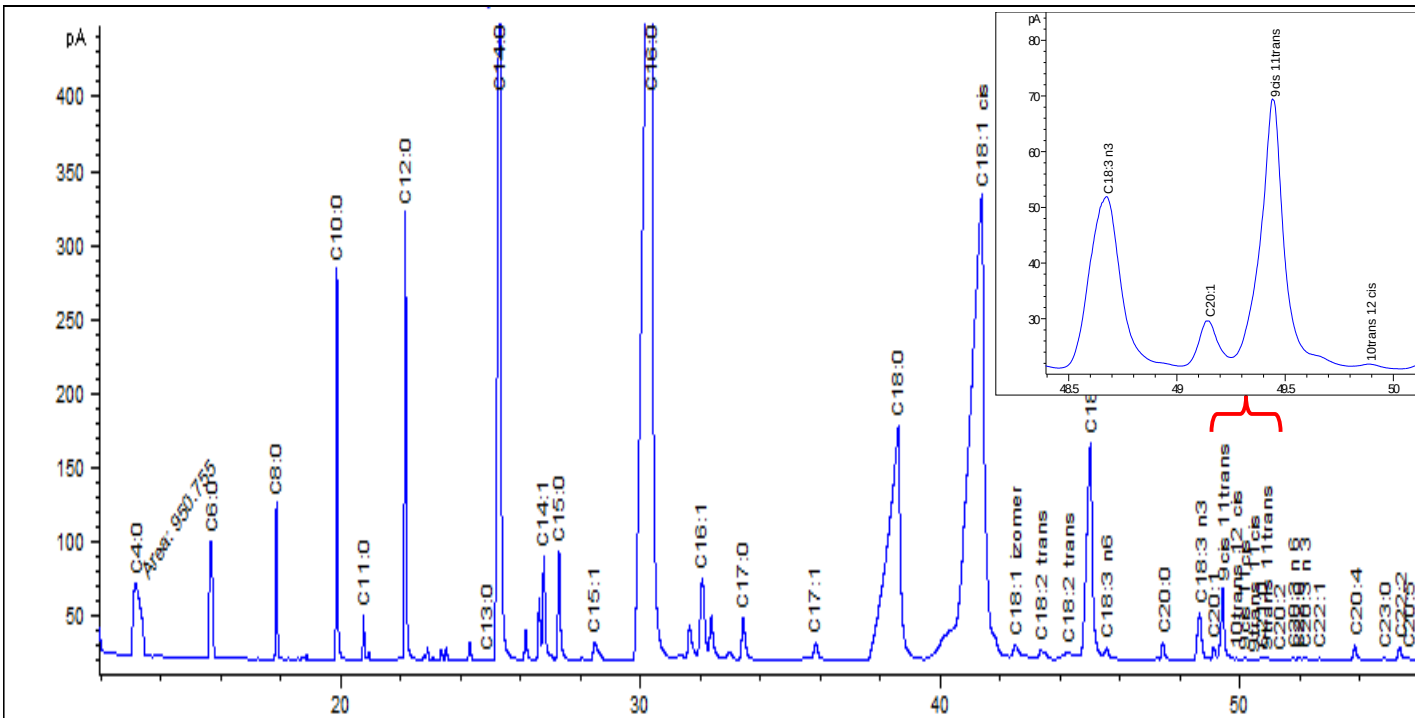
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.47. ***HKARA-10 Metodu Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2)***



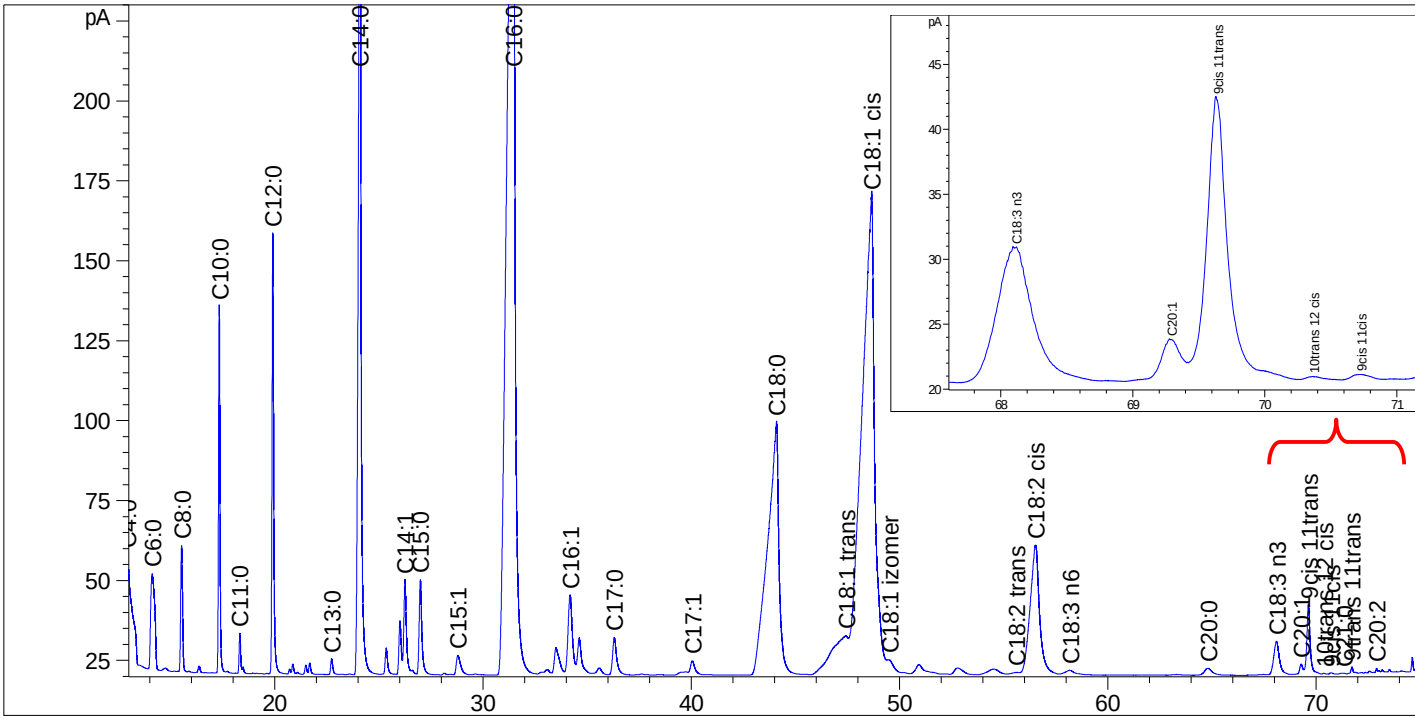
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.48. ***Metot-2 Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2)***



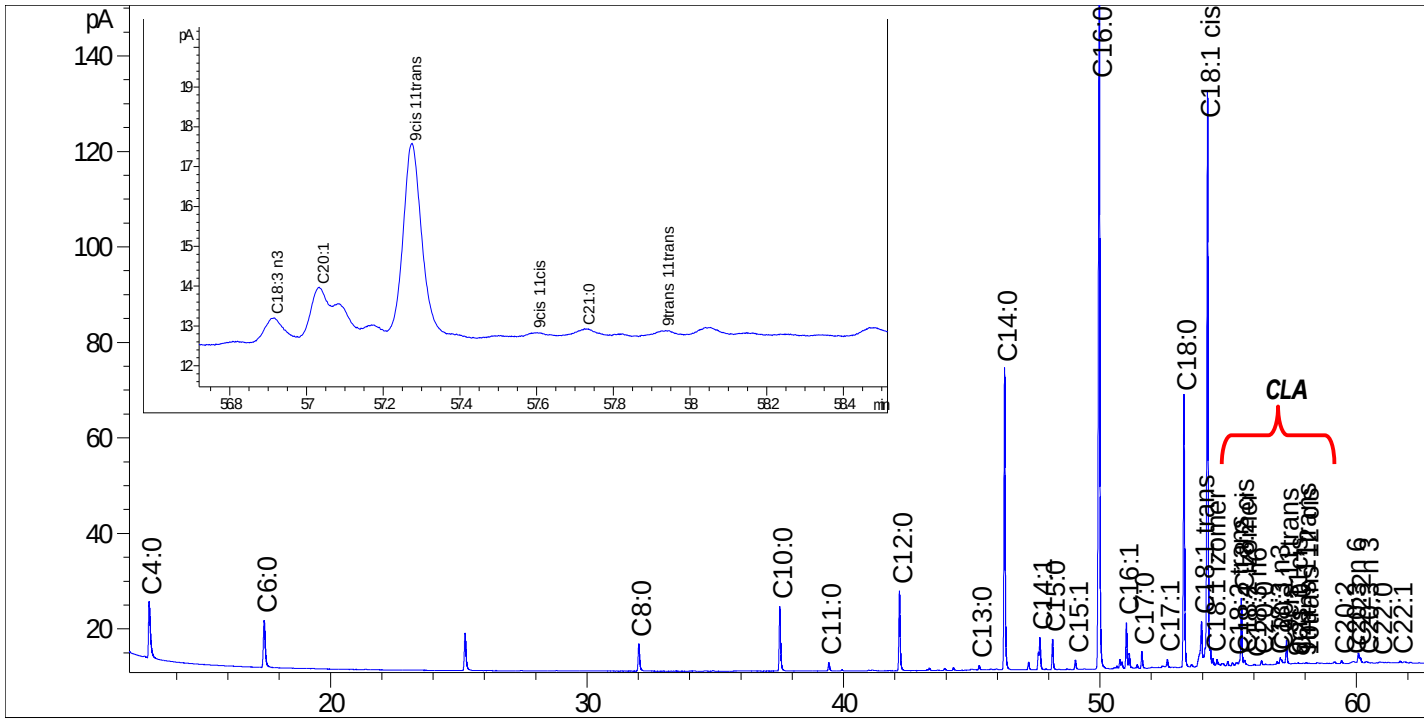
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.49. ***Metot-3 Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2)***



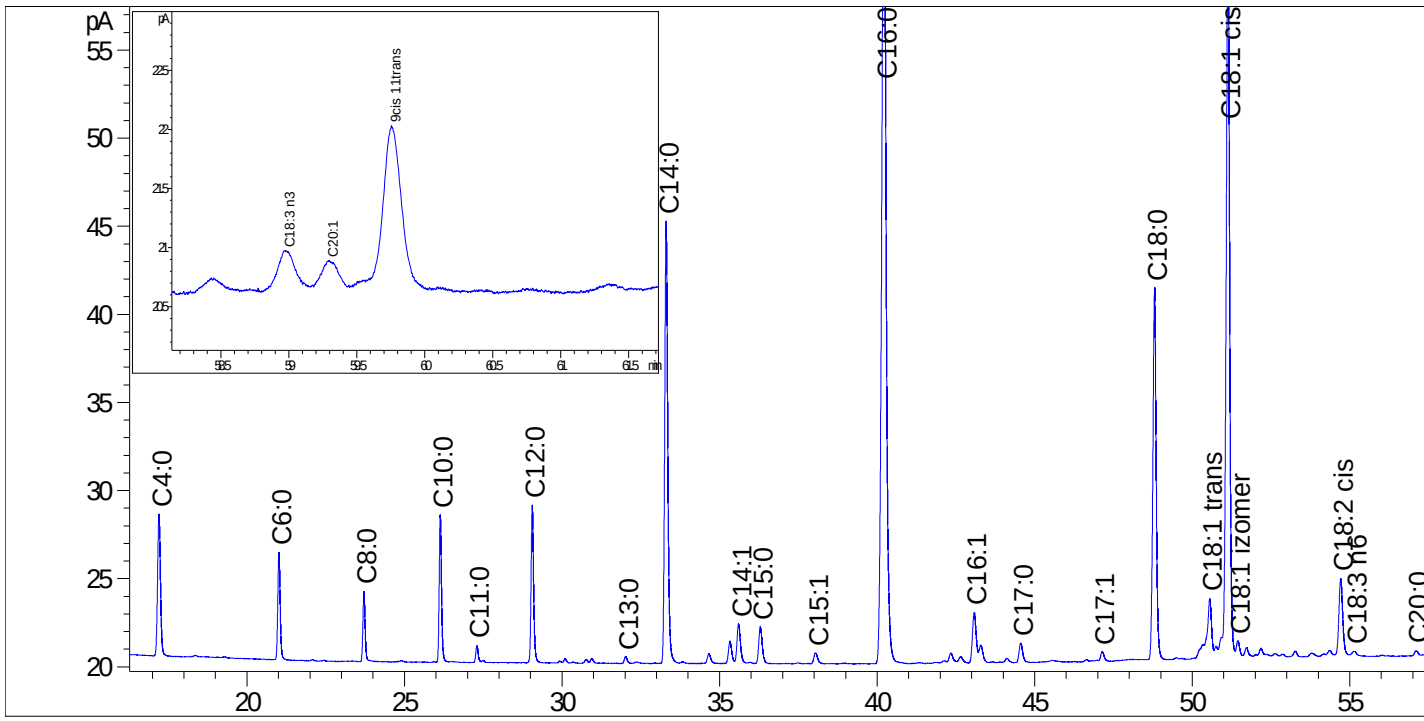
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.50. ***HKARA-10 Metodu Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogram›(G***



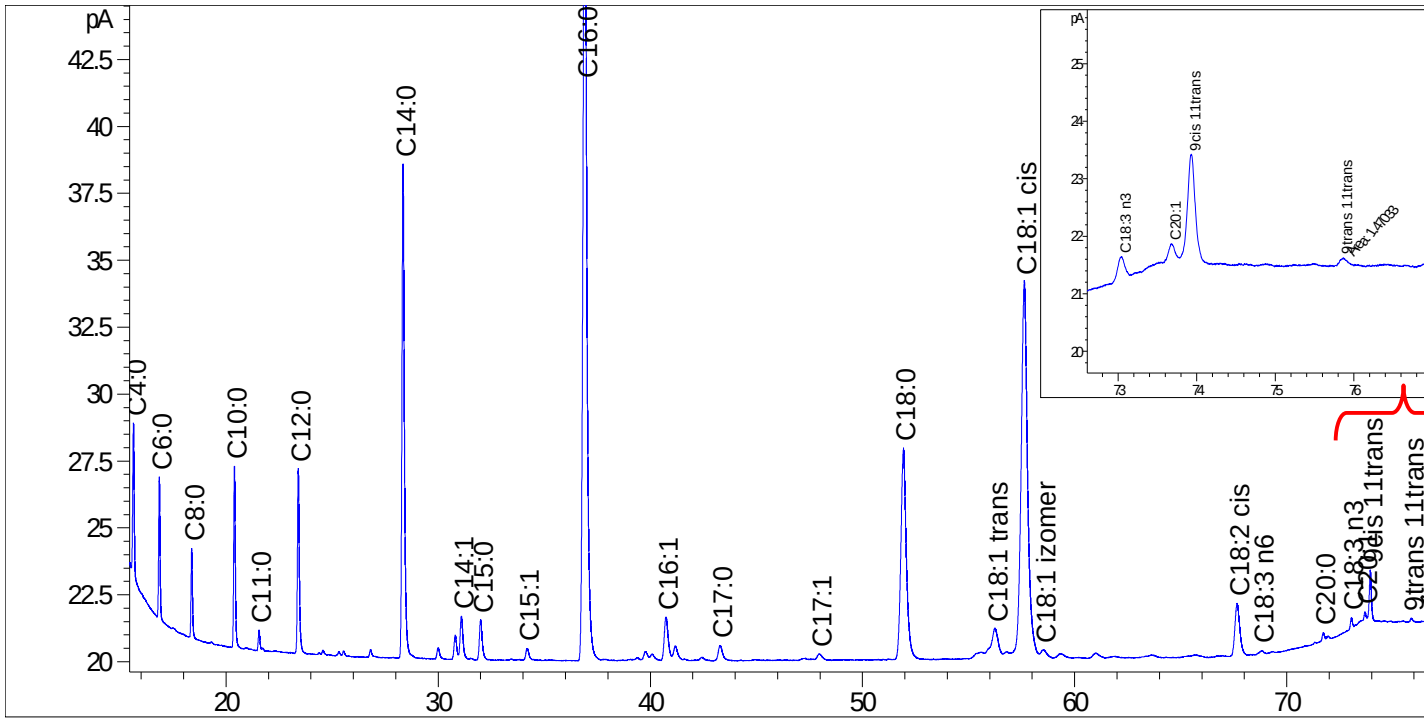
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.51. ***Metot-2 Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID He)***



Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil4. 52. ***Metot-3 Tereyağ Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogram›(GC/FID He)***



Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4.12. GC/FID Sisteminde HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 İle Gerçekleştirilen Tereyağı Analiz Sonuçları

HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: He & H_2)																													
Tereyağı Numunesi																													
Metotlar&Akış Hızları&Hareketli Faz			C 4:0	C 6:0	C 8:0	C 10:0	C 12:0	C 14:0	C 14:1	C 15:0	C 16:0	C 16:1	C 17:0	C 17:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 20:1	9-cis, 11-trans CLA	9-trans, 11-cis CLA	10-trans, 12-cis CLA	9-cis, 11-cis CLA	9-trans, 11-trans CLA	C 20:2	C 22:0	C 22:1	C 23:0	C 24:0
HKARA-10 Metodu	1.0 mL/dk	H_2	2.10	1.40	0.90	2.00	2.90	9.90	1.00	1.00	30.20	1.40	0.60	0.40	10.70	26.30	4.80	0.80	0.10	0.80	0.04	0.30	0.70	1.10	0.10	0.20	0.06	0.08	0.09
	1.0 mL/dk	He	2.00	1.30	1.00	2.00	2.80	9.90	1.10	1.00	30.10	1.40	0.50	0.30	10.70	26.30	4.70	0.80	0.10	0.80	0.30	0.40	0.80	1.10	0.10	0.20	0.06	0.07	0.09
Metot-2	0.7 mL/dk	H_2	2.00	1.40	0.90	2.10	2.80	9.90	1.00	1.00	30.40	1.30	0.60	0.30	11.00	26.40	4.70	1.00	0.10	0.90	0.04	0.40	0.90	1.10	0.10	0.20	0.06	0.08	0.09
	0.9 mL/dk	He	2.00	1.30	1.00	2.00	2.80	9.80	1.10	1.00	30.10	1.40	0.50	0.30	10.70	26.30	4.70	0.90	0.10	0.80	0.30	0.40	0.80	1.00	0.10	0.20	0.05	0.08	0.08
Metot-3	0.5 mL/dk	H_2	1.90	1.50	0.90	2.10	2.90	9.70	1.00	0.90	30.30	1.30	0.60	0.30	10.80	26.30	4.60	0,90	0.10	0.90	0.04	0.40	0.80	1.20	0.10	0.20	0.06	0.09	0.09
	0.7 mL/dk	He	2.00	1.50	1.00	2.00	2.80	9.80	1.10	1.00	30.20	1.40	0.50	0.30	10.70	26.30	4.60	0.90	0.10	0.80	0.30	0.30	0.70	1.10	0.10	0.20	0.06	0.08	0.09

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.2.2. Margarin Analizleri (GC/FID)

Margarin numunesinde bulunan CLA izomerlerinin belirlenmesi için yap›lan çalışmalarda; ticari olarak sat›lan margarin numunesi kullan›larak analizler gerçekleştirilmiştir. Margarinler, çesitli yağların kısmi olarak hidrojene edilmeleri sonucu elde edilen sertlestirilmis rafine yağlardan veya bu yağlara çesitli rafine bitkisel yağların karıstırılmasından elde edilen ve/veya içerisinde emülsiyon halinde su, pastörize fermente yağsız süt, pastörize taze süt, süt tozu ve peynir tozu bulunabilen yağlardır. Margarinler, diğer bitkisel yağlara nispeten daha fazla trans yağ asidi içermektedir. Trans yağ asidi, pek çok hastalığın oluşum riskini artırması nedeniyle üzerinde önemle durulmas› gereken bir konudur.

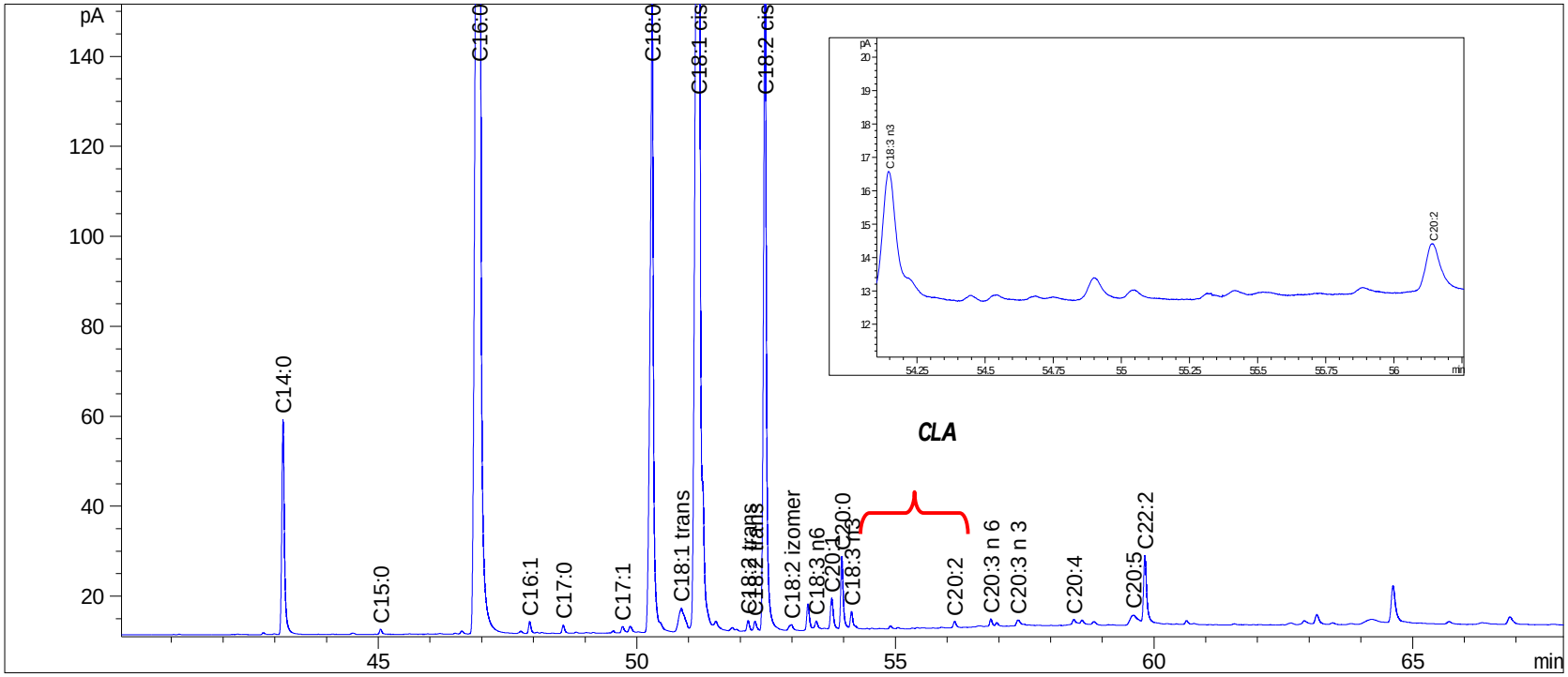
İki farklı hareketli faz kullanılarak oluşturulan metotlar ile gerçekleştirilen margarin yağ asit kompozisyon analiz sonuçları incelendiğinde; oluşturulan bu metotların sağlık üzerine pek çok olumsuzluğu yapılan araştırmalarla kanıtlanmış olan trans yağ asitleri dâhil olmak üzere, doymuş ve doymamış tüm yağ asitlerinin ayrımında başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Analiz sonuçlarına bakıldığında; margarin numunesinde CLA’ in izomerlerini içermediği tespit edilmiştir (Tablo 4.13)

Sonuç olarak Metot-2 ile yağ asitlerinin ayr›m›n›n istenilen düzeyde gerçekleştirilebildiği görülmektedir. Metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğu test edilerek kanıtlanmıştır.

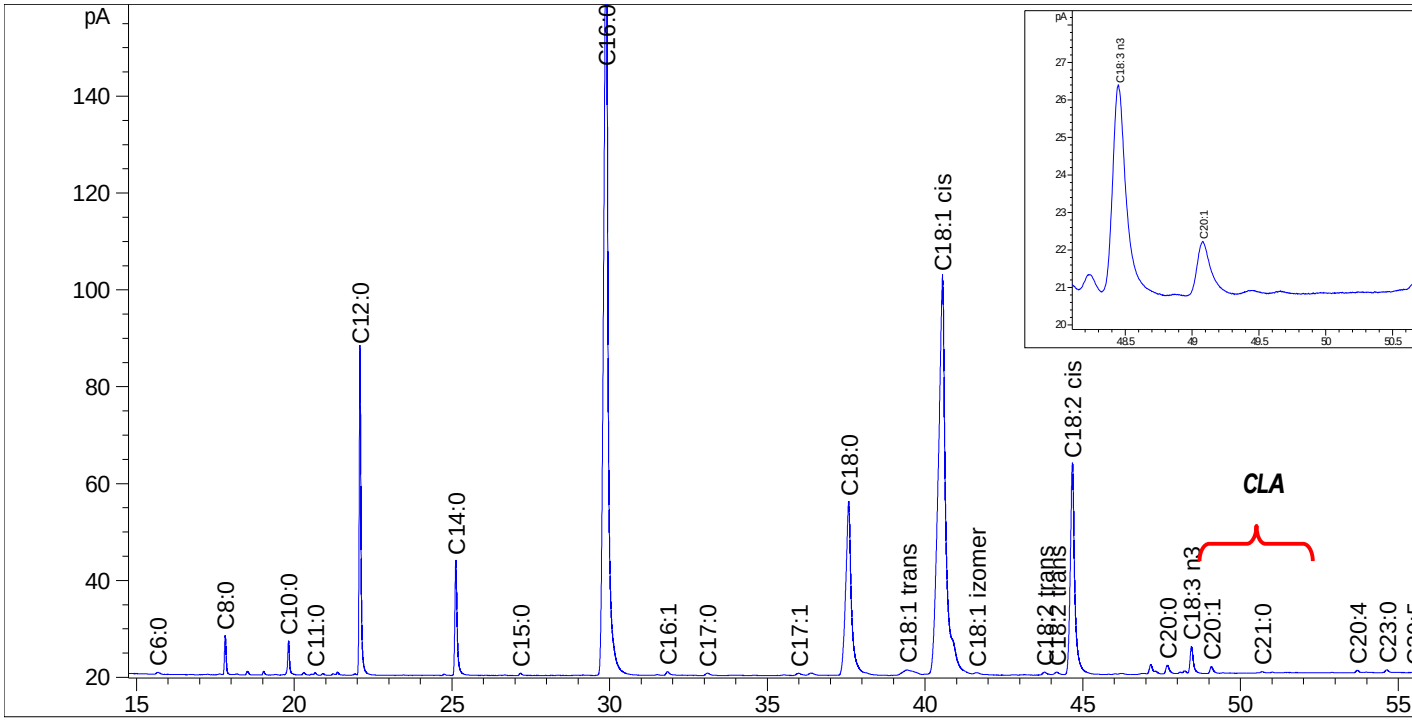
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.53. ***HKARA-10 Metodu Margarin Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2)***



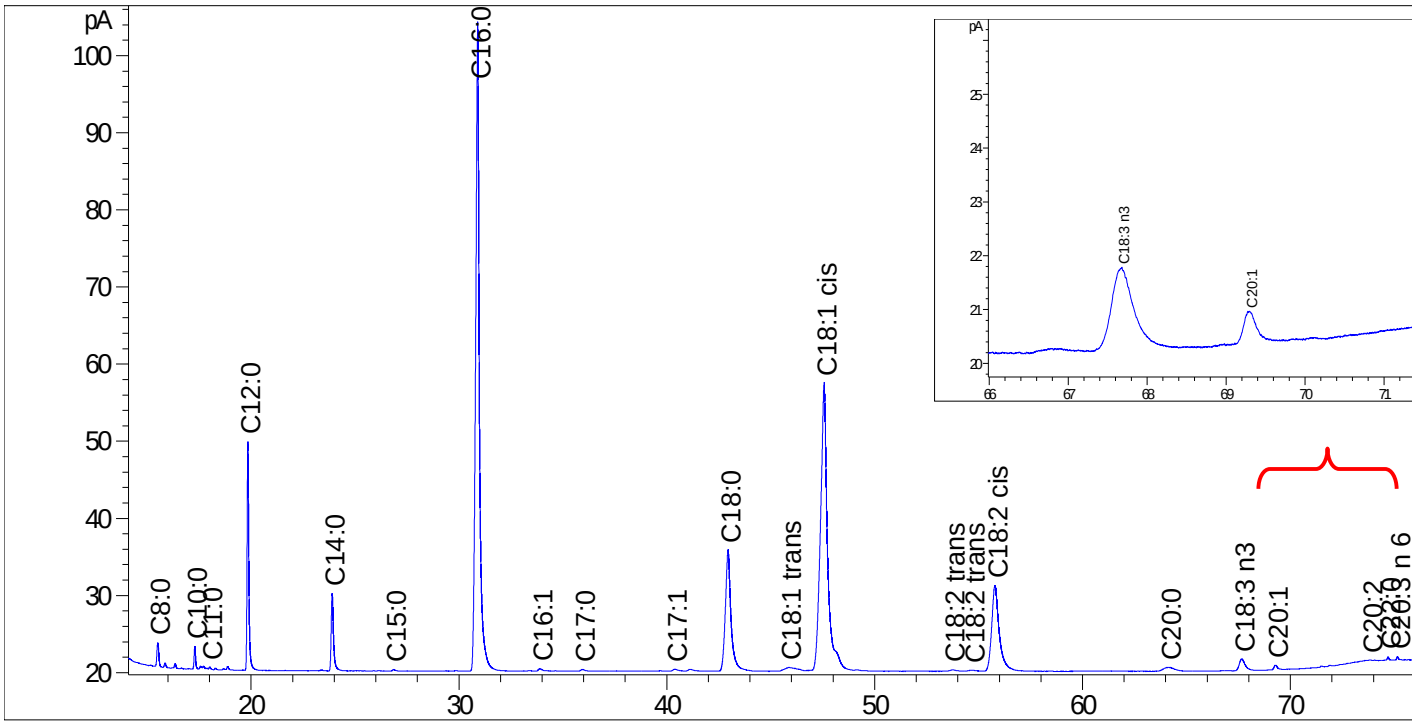
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.54. ***Metot-2 Margarin Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H2***



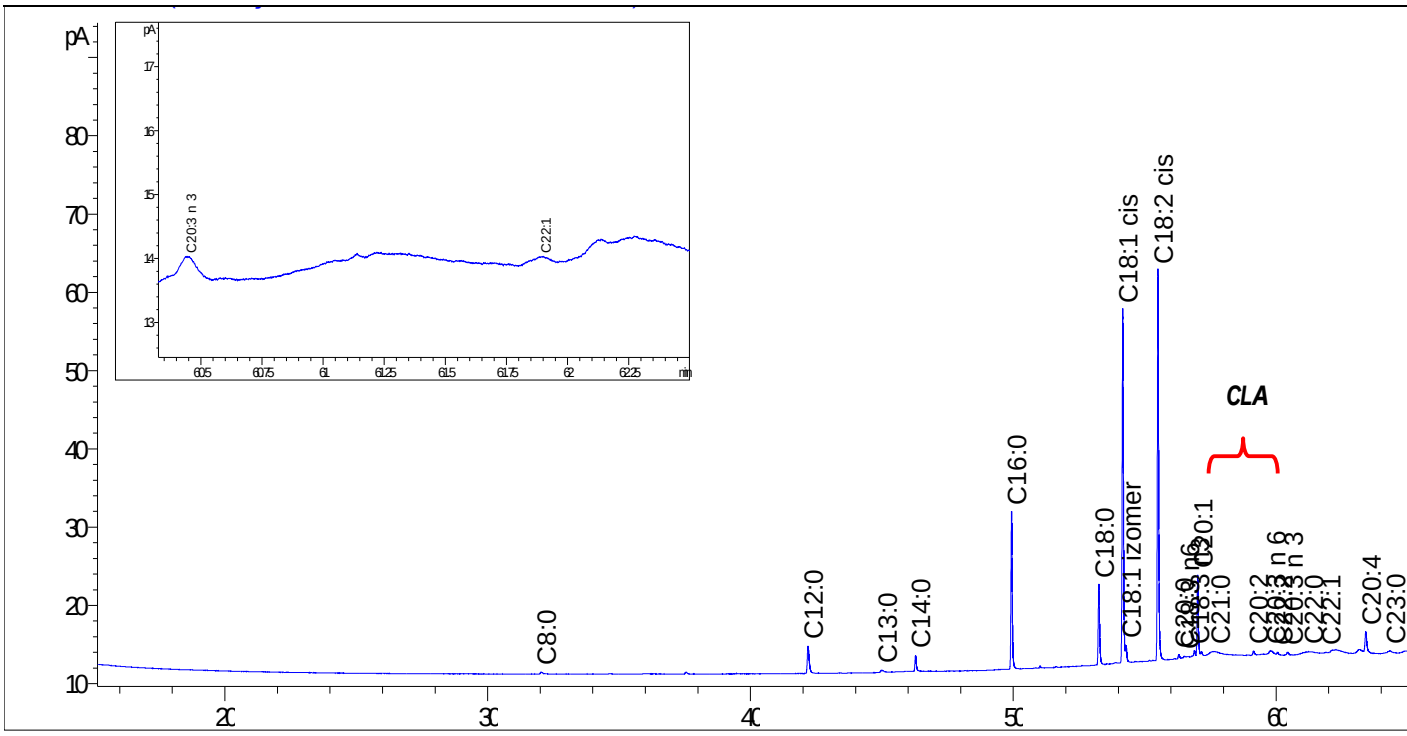
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.55. ***Metot-3 Margarin Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID H_2***



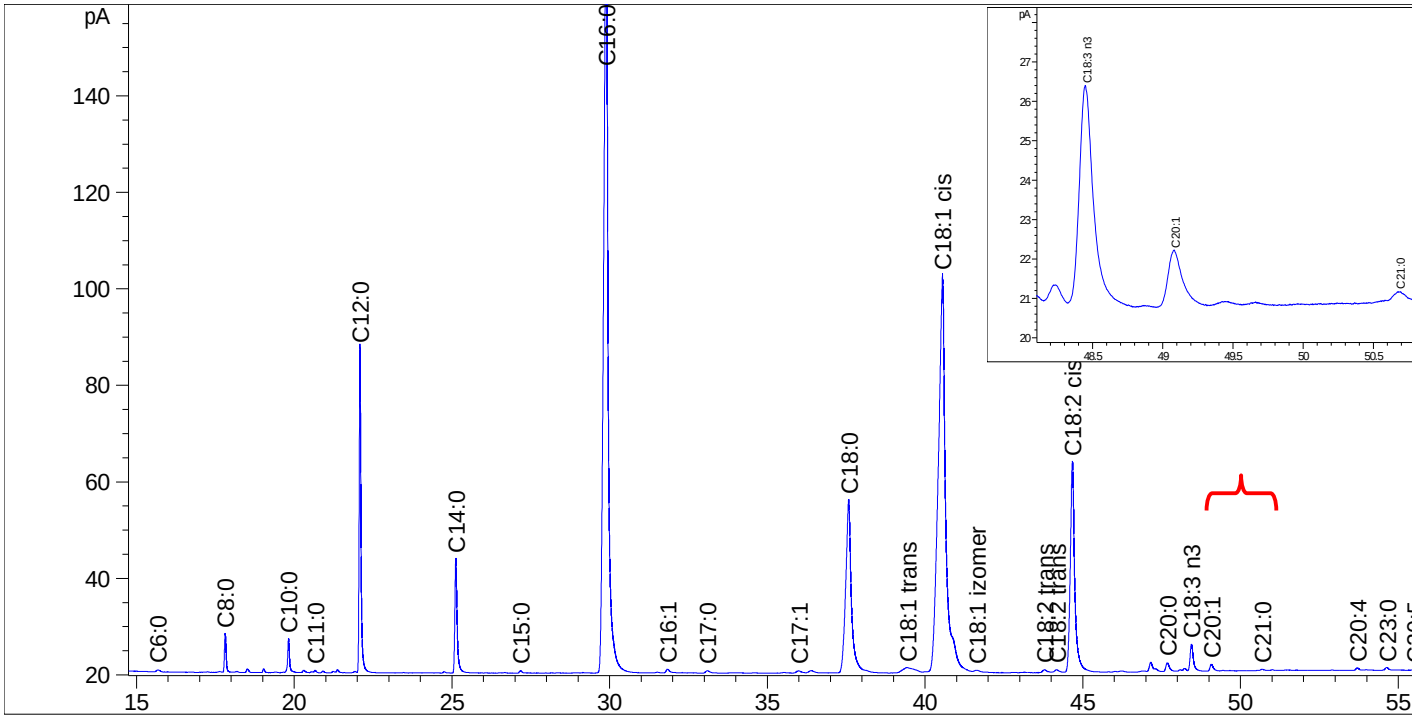
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.56. ***HKARA-10 Metodu Margarin Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(G***



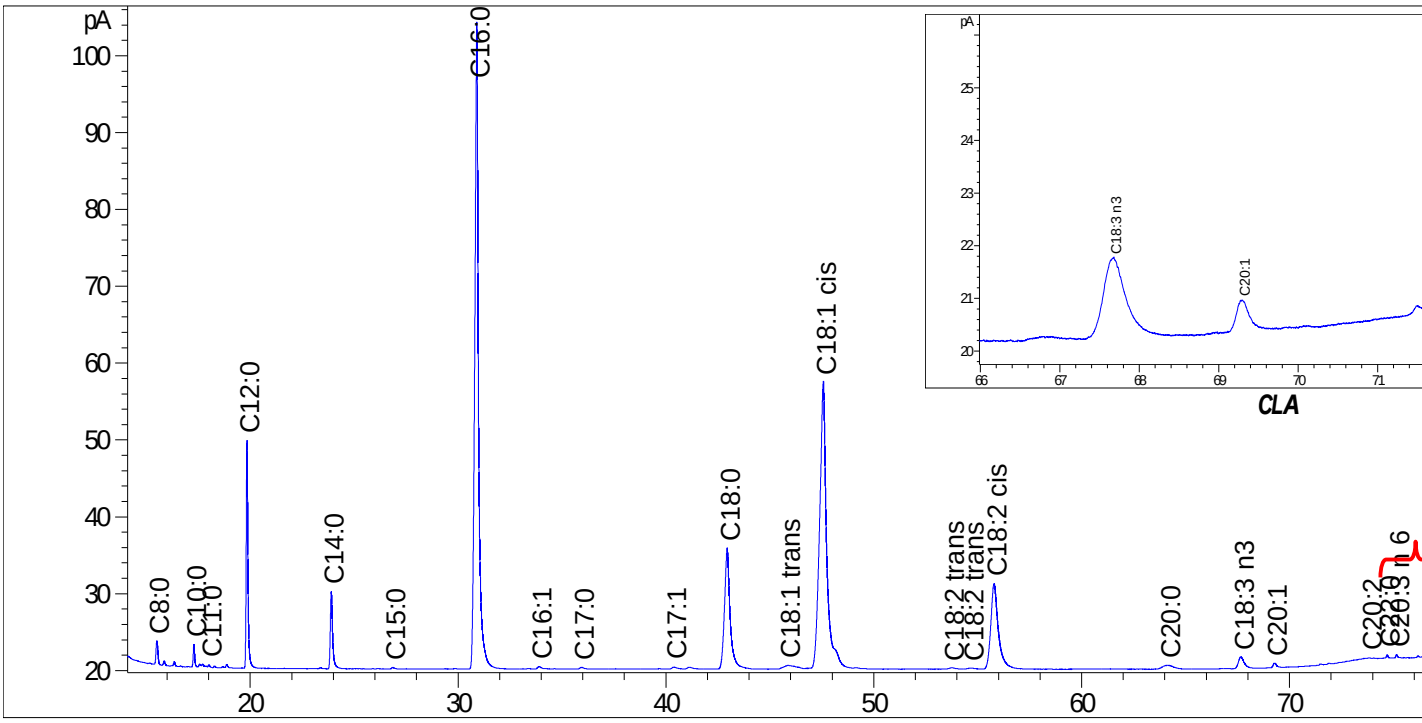
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.57. ***Metot-2 Margarin Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID He***



Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.58. ***Metot-3 Margarin Yağ Asit Kompozisyonu ve CLA İzomer Analiz Kromatogramı(GC/FID He***



Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4. 13. GC/FID Sisteminde HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 İle Gerçekleştirilen Margarin Analiz Sonuçlar›

HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 (GC/FID Sistemi - Hareketli Faz: He & H2)																									
			Margarin Numunesi																						
Metotlar&Akış H›zlar›&Hareketli Faz			C 4:0	C 6:0	C 8:0	C 10:0	C 12:0	C 14:0	C 14:1	C 15:0	C 16:0	C 16:1	C 17:0	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 20:0	C 20:1	9-cis, 11-trans CLA	9-trans, 11-cis CLA	10-trans, 12-cis CLA	9-cis, 11-cis CLA	9-trans, 11-trans CLA
HKARA-10 Metodu	1.0 mL/dk	H_2	0.50	0.41	0.81	0.46	6.45	2.43	-	0.18	38.22	0.22	0.08	4.96	32.70	7.90	0.80	1.10	0.66	-	-	-	-	-
	1.0 mL/dk	He	0.60	0.40	0.80	0.40	6.40	2.40	-	0.18	38.10	0.20	0.08	4.80	32.80	7.80	0.85	1.30	0.65	-	-	-	-	-
Metot-2	0.7 mL/dk	H_2	0.55	0.40	0.81	0.45	6.45	2.43	-	0.19	38.20	0.20	0.08	4.90	33.00	7.90	0.85	1.30	0.60	-	-	-	-	-
	0.9 mL/dk	He	0.60	0.40	0.81	0.42	6.43	2.43	-	0.19	38.12	0.20	0.08	4.85	32.90	7.70	0.80	1.20	0.65	-	-	-	-	-
Metot-2	0.5 mL/dk	H_2	0.60	0.40	0.80	0.46	6.45	2.43	-	0.18	38.20	0.22	0.08	4.90	33.10	7.80	0.80	1.40	0.66	-	-	-	-	-
	0.7 mL/dk	He	0.50	0.41	0.80	0.40	6.40	2.43	-	0.19	38.10	0.22	0.08	4.96	33.00	7.70	0.80	1.30	0.66	-	-	-	-	-

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.3. İstatistiksel Hesaplamalar

GC/FID sisteminde CLA standart karışım ile gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarında, her bir numuneyle en az 3 paralel çalışma yapılmıştır. Analizler sonucu cihaz taraf›ndan otomatik olarak verilen piklerin % cinsinden alan değerleri kullan›larak aritmetik ortalama, standart sapma, Rsd ve r değerleri hesaplanmıştır. Origin 7.0 programı kullanılarak elde edilen değerlere ait grafikler çizilmiştir. Optimize edilen metotlar için hesaplanan istatistik değerler ve bu değerlere göre çizilen grafikler detaylı olarak verilmiştir.

4.3.1. GC/ FID Sistemi; HKARA-10 Metodu; He & H_2 Hareketli Faz›

GC/FID sisteminde tarafımızdan geliştirilen HKARA-10 metodunun validasyonu için hesaplanan değerler incelendiğinde; önerilen metodun yüksek tekrarlanabilirlik gösterdiği ve pik alanlarına karşı konsantrasyon değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin, doğrusallığının oldukça iyi olduğu tespit edilmiştir. İzomerlerin tümü için çizilen kalibrasyon eğrilerine ait regrasyon katsay›lar›n›n bire çok yak›n değerler olduğu görülmektedir(Şekil 4.61, Şekil 4.62).

Metodun ölçebildiği en düşük dedeksiyon limit değeri ve saptanabilen en küçük konsantrasyon değerini tespit edebilmek için hesaplanan tayin limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) değerleri, yöntemin tekrarlanabilirliğine bağlı olarak yüksek değerler olarak belirlenmiştir. LOD ve LOQ değerleri, cihazdan elde edilen analiz görüntülerindeki değerlere bakılarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; CLA izomerlerinin tayini için oluşturulan HKARA-10 metodu validasyonu gerçekleştirilmiştir. Metodun rutin kullanım koşullarındaki performansı ile bu performansın gerçekleşmesi için koşullar ve sınırlar belirlenmiştir. Metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğu test edilerek kanıtlanmıştır.

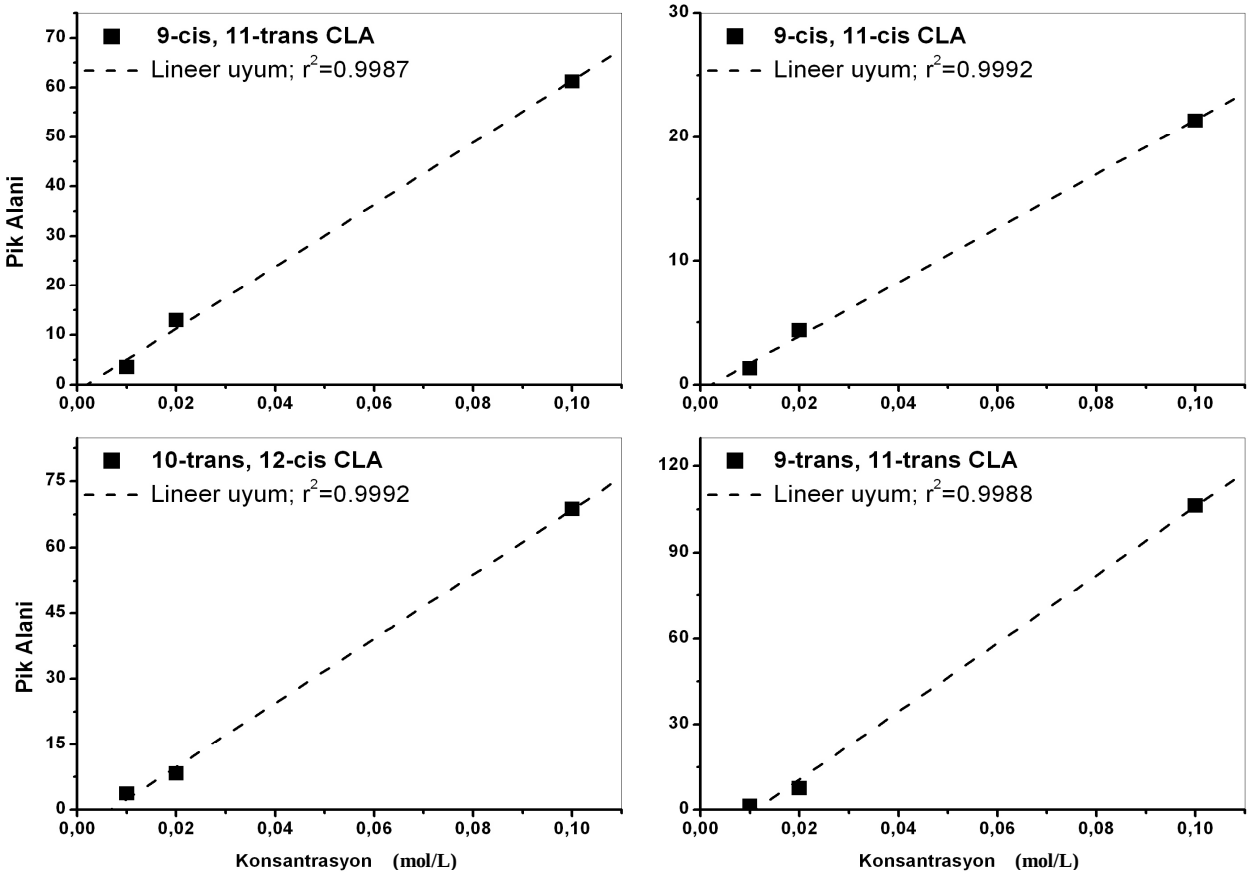
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4.14. GC/FID Sisteminde HKARA-10 Metodu için He ve H_2 Hareketli Fazlar› ile Kesinlik Tayini

HKARA-10 Metodu; *GC/FID Sistemi & He Hareketli Faz›*								*GC/FID Sistemi & H_2 Hareketli Faz›*					
		KESİNLİK				LOD	LOQ	KESİNLİK				LOD	LOQ
		x	S	Rsd	r	mg/mL		x	s	Rsd	r	mg/Ml	
9-cis, 11-trans CLA Standard›	50 mg/L	3.55	0.35	0.099	2.15	1.35	3.25	24.47	0.84	0.034	5.10	2.98	4.53
	100 mg/L	12.97	0.38	0.029	2.30			79.20	1.30	0.016	7.90		
	500 mg/L	61.23	0.32	0.005	1.95			715.20	5.98	0.008	36.34		
10-trans, 12-cis CLA Standard›	50 mg/L	1.30	0.14	0.109	0.86	2.44	6.70	7.30	0.30	0.041	1.82	4.44	8.83
	100 mg/L	4.37	0.21	0.048	1.26			25.73	0.55	0.021	3.35		
	500 mg/L	21.33	0.40	0.019	2.46			260.63	6.38	0.024	38.80		
9-cis, 11-cis CLA Standard›	50 mg/L	3.75	0.35	0.094	2.15	2.82	5.05	23.33	1.05	0.045	6.39	2.47	4.65
	100 mg/L	8.30	0.52	0.063	3.16			49.30	1.05	0.021	6.41		
	500 mg/L	68.73	0.55	0.008	3.35			365.63	4.03	0.011	24.50		
9trans, 11trans CLA Standard›	50 mg/L	1.45	0.21	0.143	1.29	3.49	4.41	10.33	1.17	0.113	7.10	5.00	9.35
	100 mg/L	7.53	0.35	0.046	2.14			39.13	1.01	0.026	6.15		
	500 mg/L	106.33	0.38	0.003	2.30			607.17	15.05	0.025	91.51		

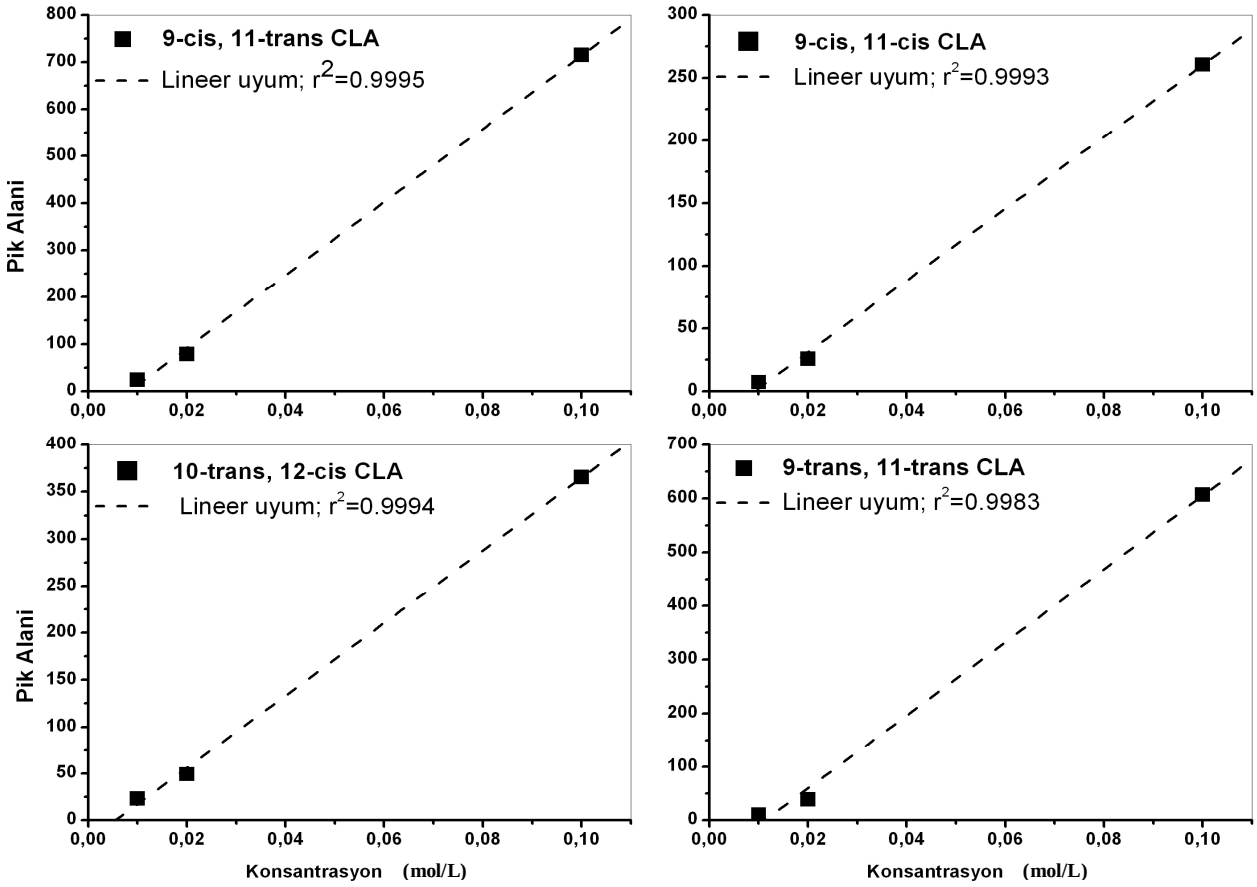
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.59. ***HKARA-10 Metodu CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karş Pik Alanının Değişimi (G***



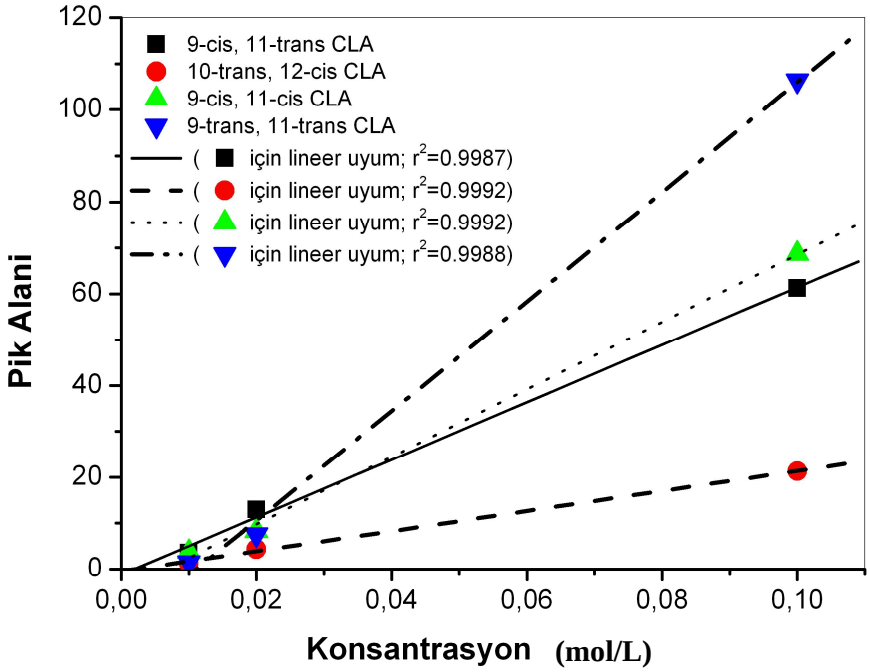
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.60. ***HKARA-10 Metodu CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karş Pik Alanının Değişimi (G***

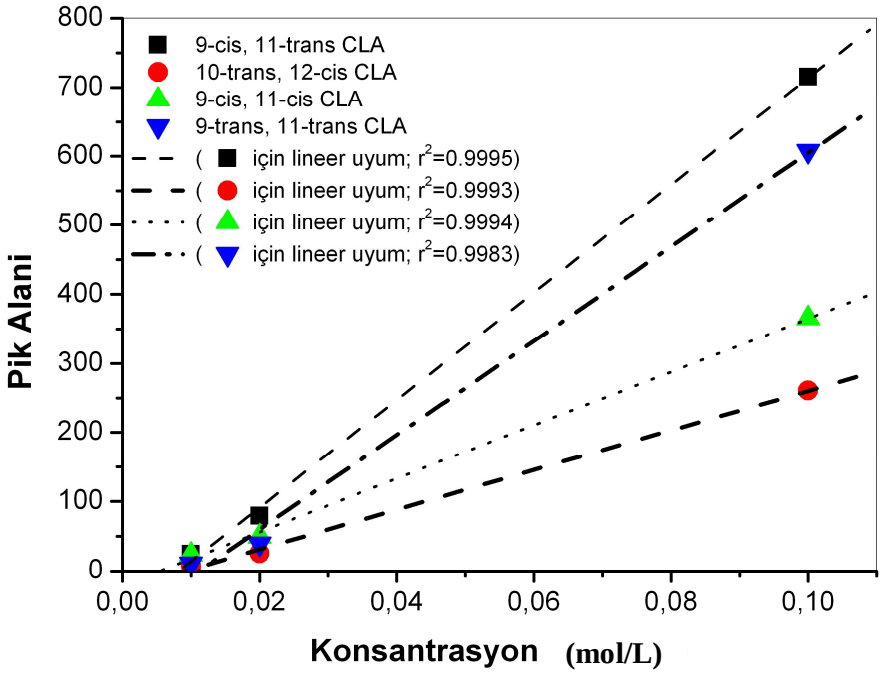


Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.61. ***HKARA-10 Metodu CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alan›n›n Değişimi (GC/FID He)***



Şekil 4.62. ***HKARA-10 Metodu CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi (GC/FID H_2)***



Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.3.2. GC/ FID Sistemi; HKARA-20 Metodu; He & H_2 Hareketli Faz›

GC/FID sisteminde taraf›m›zdan geliştirilen metotların validasyonu için hesaplanan değerler incelendiğinde; önerilen Metot-2'nin yüksek tekrarlanabilirlik gösterdiği ve pik alanlarına karşı konsantrasyon değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin doğrusallığının oldukça iyi olduğu tespit edilmiştir. İzomerlerin tümü için çizilen kalibrasyon eğrilerine ait regrasyon katsayılarının bire çok yakın değerler olduğu görülmektedir (Şekil 4.65, Şekil 4.66).

Sonuç olarak; CLA izomerlerinin tayini için oluşturulan Metot-2 validasyonu gerçekleştirilmiştir. Metodun rutin kullanım koşullarındaki performansı ile bu performansın gerçekleşmesi için koşullar ve sınırlar belirlenmiştir. Metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğu test edilerek kanıtlanmıştır.

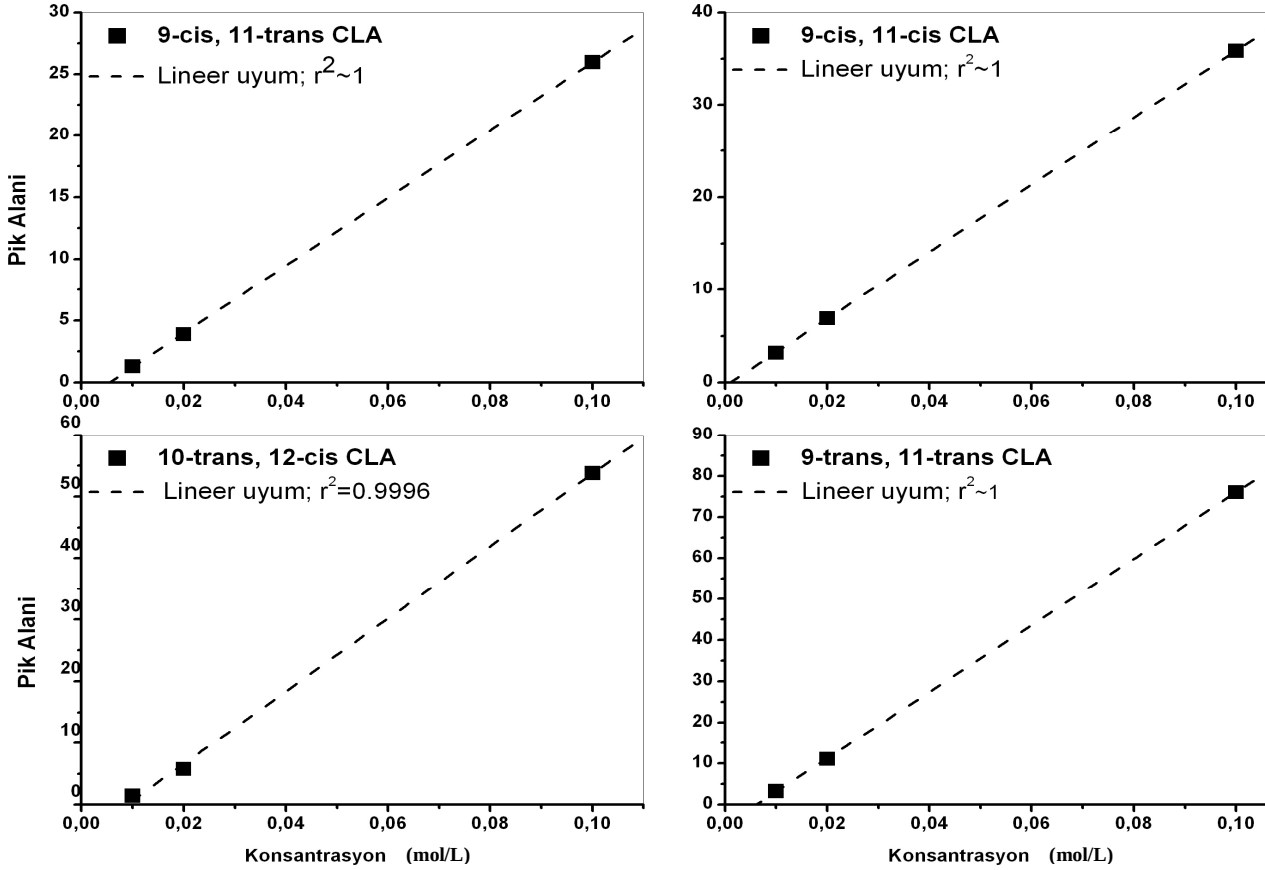
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4.15. GC/FID Sisteminde Metot-2 için He ve H_2 Hareketli Fazlar› ile Kesinlik Tayini

Metot-2; GC/FID Sistemi & He Hareketli Faz›								GC/FID Sistemi & H_2 Hareketli Faz›					
		KESİNLİK				LOD	LOQ	KESİNLİK				LOD	LOQ
		X	S	Rsd	r	mg/mL		x	s	Rsd	r	mg/mL	
9-cis, 11-trans CLA Standard›	50 mg/L	3.35	0.07	0.021	0.43	3.99	9.34	16.77	0.90	0.054	5.48	3.50	5.64
	100 mg/L	11.15	0.07	0.006	0.43			49.24	0.07	0.001	0.41		
	500 mg/L	76.07	2.21	0.029	13.45			532.60	6.32	0.012	38.45		
10-trans, 12-cis CLA Standard›	50 mg/L	1.25	0.07	0.056	0.43	4.79	12.39	4.97	0.40	0.081	2.46	1.97	6.40
	100 mg/L	3.85	0.07	0.018	0.43			49.75	0.07	0.001	0.40		
	500 mg/L	25.97	1.06	0.041	6.44			178.23	4.05	0.023	24.63		
9-cis, 11-cis CLA Standard›	50 mg/L	3.2	0	0	0	3.78	11.89	15.77	0.67	0.042	4.05	1.60	3.72
	100 mg/L	6.90	0	0	0			50.06	0.07	0.001	0.41		
	500 mg/L	35.87	1.50	0.042	9.15			254.03	2.74	0.010	16.68		
9trans, 11trans CLA Standard›	50 mg/L	1.45	0.07	0.049	0.43	5.28	11.84	7.30	0.35	0.047	2.11	3.43	5.76
	100 mg/L	5.75	0.49	0.086	3.01			50.76	0.07	0.001	0.40		
	500 mg/L	53.83	1.91	0.035	11.64			421.53	5.47	0.013	33.28		

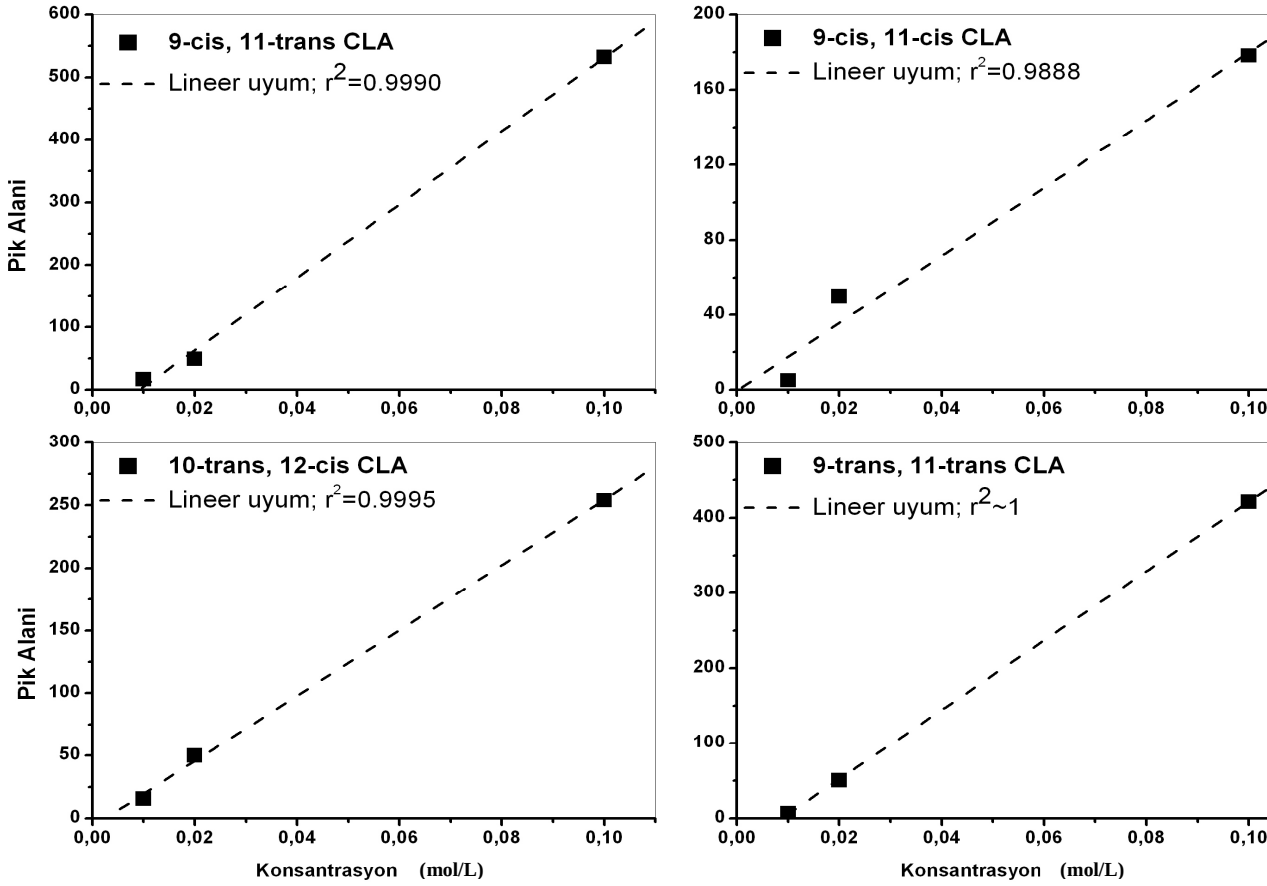
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.63. ***Metot-2 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID He)***



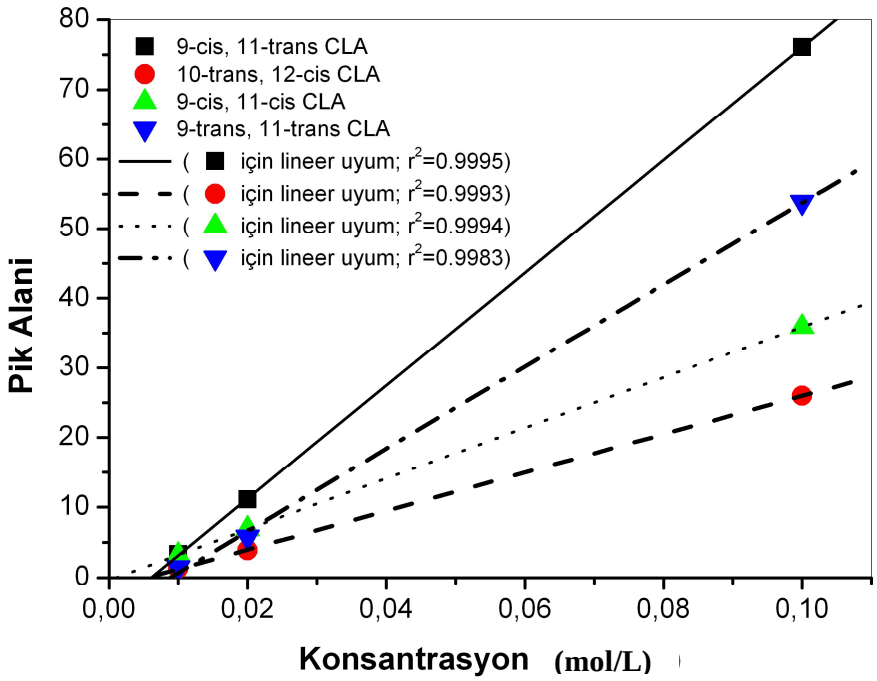
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.64 Metot-2 ***CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID H_2)***

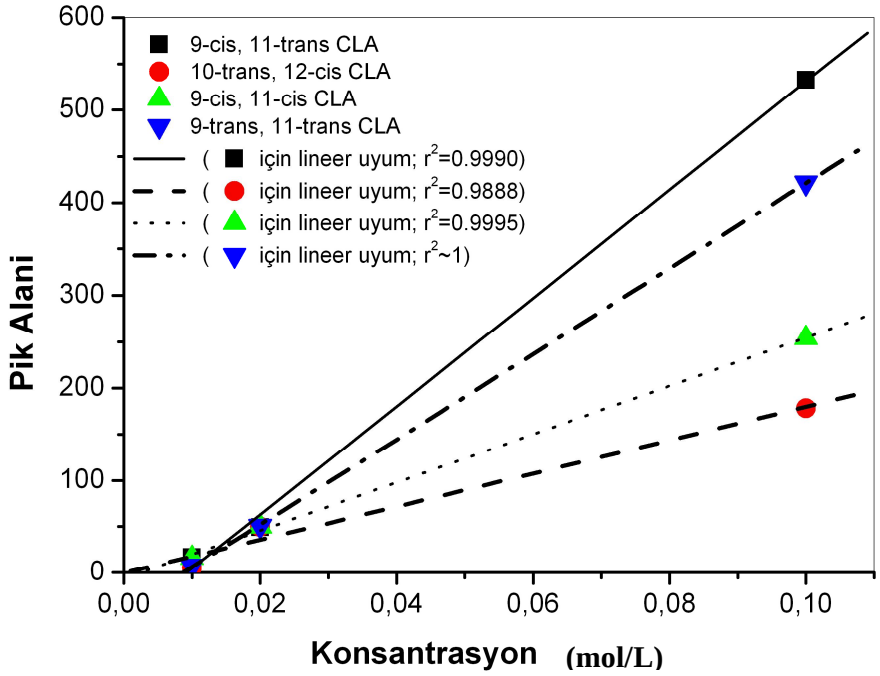


Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.65. ***Metot-2 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID He)***



Şekil 4.66. ***Metot-2 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi (GC/FID H_2)***



Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

4.3.1. GC/ FID Sistemi; HKARA-30 Metodu; He & H_2 Hareketli Faz›

GC/FID sisteminde tarafımızdan geliştirilen metotların validasyonu için hesaplanan değerler incelendiğinde; önerilen Metot-3'ün yüksek tekrarlanabilirlik gösterdiği ve pik alanlarına karşı konsantrasyon değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin doğrusallığının oldukça iyi olduğu tespit edilmiştir. İzomerlerin tümü için çizilen kalibrasyon eğrilerine ait regrasyon katsayılarının bire çok yakın değerler olduğu görülmektedir (Şekil 4.69, Şekil 4.70).

Sonuç olarak; CLA izomerlerinin tayini için oluşturulan Metot-3 validasyonu gerçekleştirilmiştir. Metodun rutin kullan›m koşullarındaki performansı ile bu performansın gerçekleşmesi için koşullar ve sınırlar belirlenmiştir. Metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğu test edilerek kanıtlanmıştır.

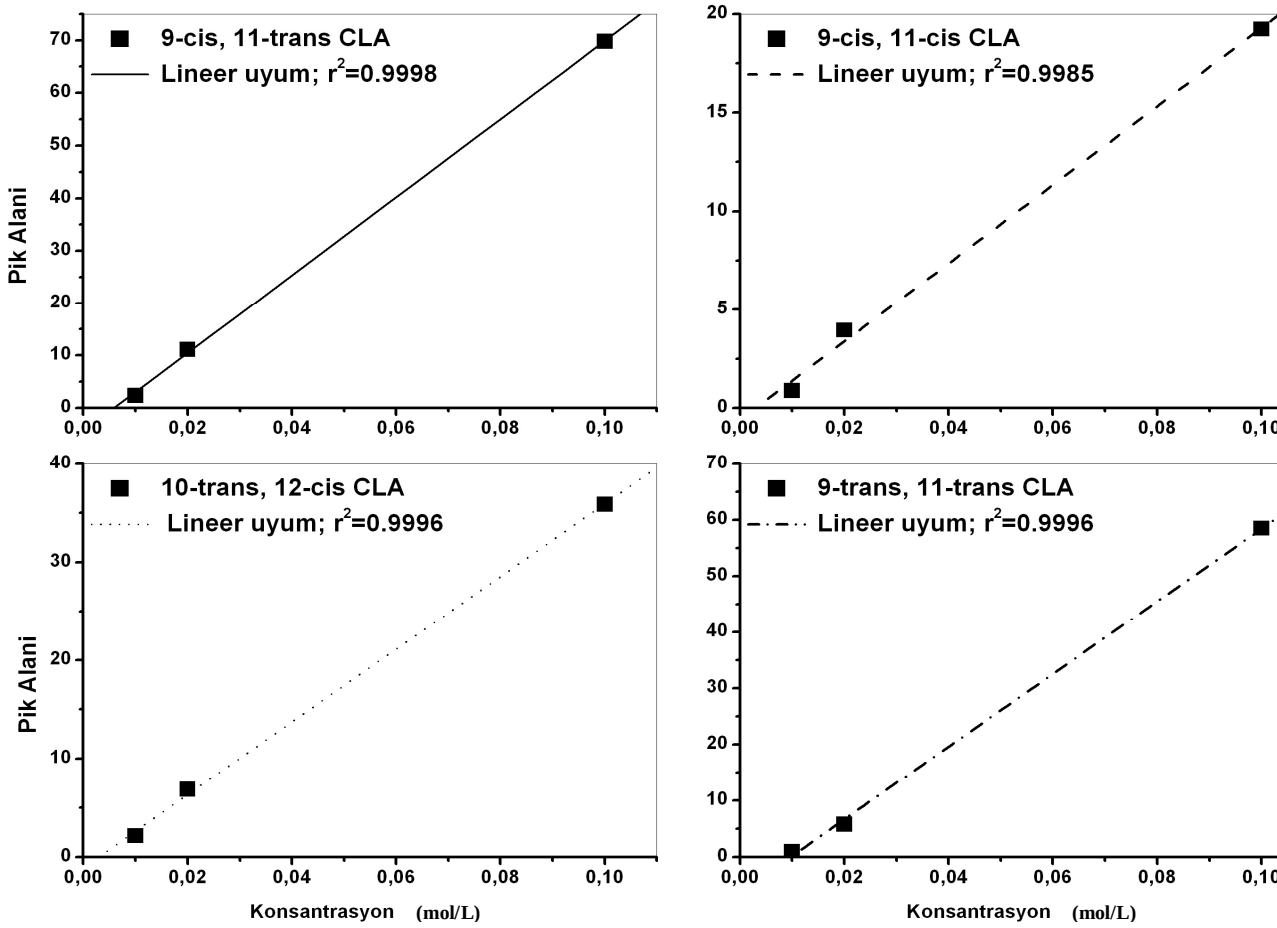
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Tablo 4.16. GC/FID Sisteminde Metot-3için He ve H_2 Hareketli Fazlar› ile Kesinlik Tayini

Metot-3; *GC/FID Sistemi & He Hareketli Faz›*								***GC/FID Sistemi & H_2 Hareketli Faz›***					
		KESİNLİK				LOD	LOQ	KESİNLİK				LOD	LOQ
		X	s	Rsd	R	mg/mL		x	s	Rsd	r	mg/mL	
9-cis, 11-trans CLA Standard›	50 mg/ml	2.40	0.14	0.059	0.86	3.33	7.23	10.07	0.65	0.065	3.96	1.59	3.21
	100 mg/L	11.15	0.07	0.006	0.43			69.40	0.07	0.001	0.41		
	500 mg/L	69.8	1.47	0.021	8.96			317.67	2.65	0.008	16.12		
10-trans, 12-cis CLA Standard›	50 mg/L	0.89	0.44	0.492	2.67	4.79	12.39	2.50	0.26	0.106	1.61		
	100 mg/L	3.95	0.07	0.018	0.43			70.20	0.05	0.001	0.34		
	500 mg/L	19.23	1.12	0.058	6.83			109.60	0.56	0.005	3.39		
9-cis, 11-cis CLA Standard›	50 mg/L	2.15	0.07	0.033	0.43	3.78	11.89	8.93	0.64	0.072	3.91		
	100 mg/L	6.85	0.07	0.010	0.43			70.64	0.048	0.001	0.29		
	500 mg/L	35.87	1.36	0.038	8.30			155.9	0.95	0.006	5.80		
9trans,11trans CLA Standard›	50 mg/L	1.00	0.14	0.141	0.86	5.28	11.84	5.00	0.30	0.060	1.82	1.11	2.79
	100 mg/L	5.80	0.57	0.097	3.44			71.58	0.05	0.001	0.28		
	500 mg/L	58.53	1.75	0.030	10.63			266.07	2.33	0.009	14.16		

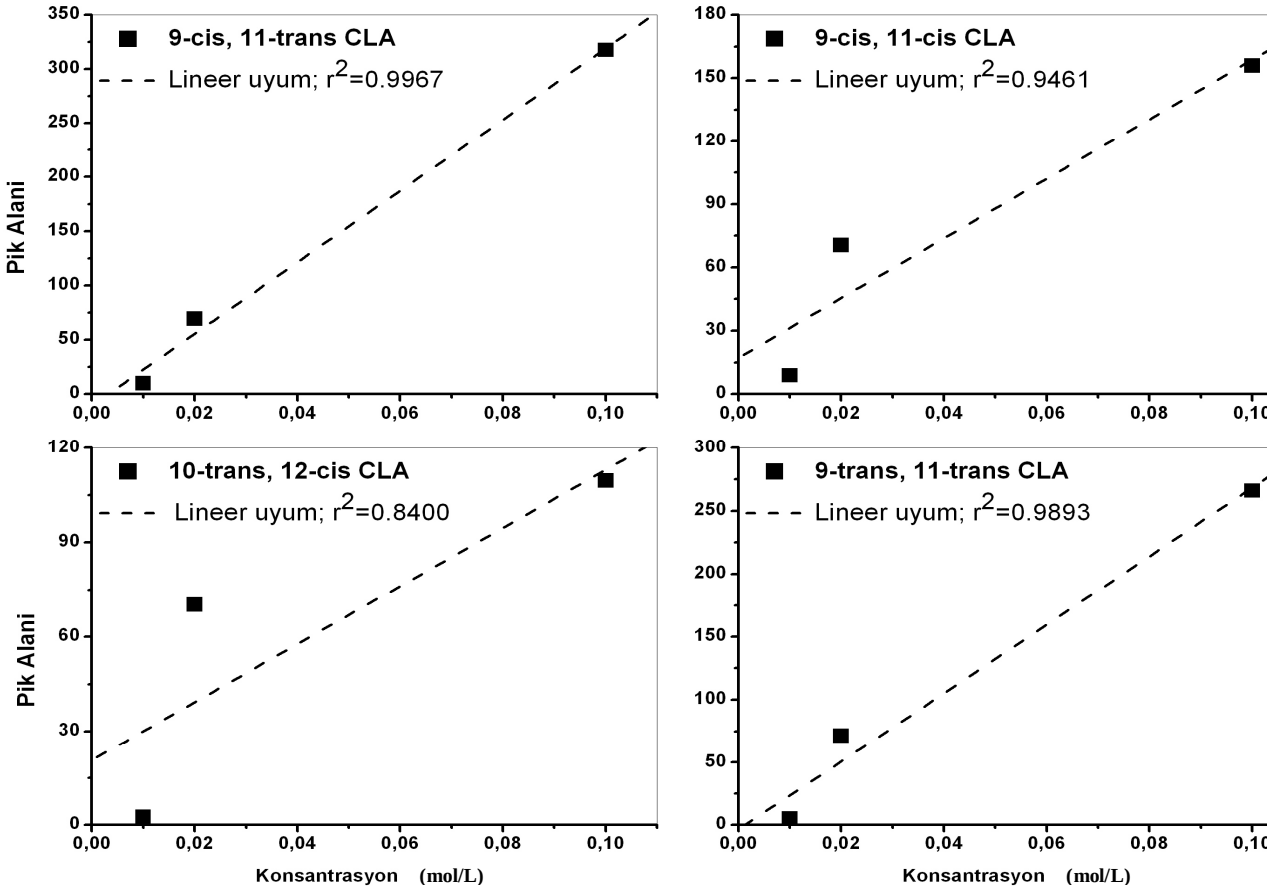
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.67. ***Metot-3 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Deş***



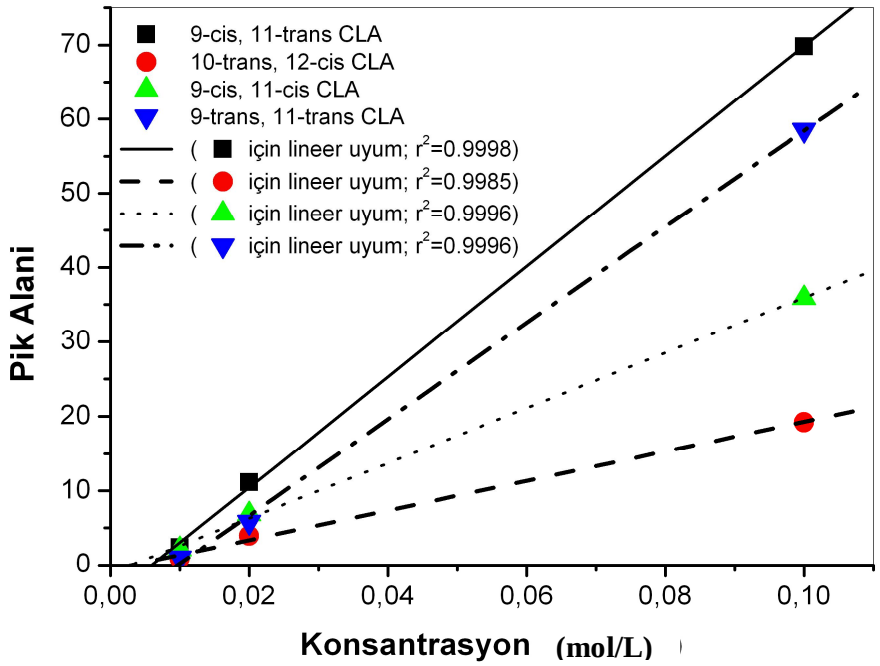
Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.68. ***Metot-3 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID H_2)***

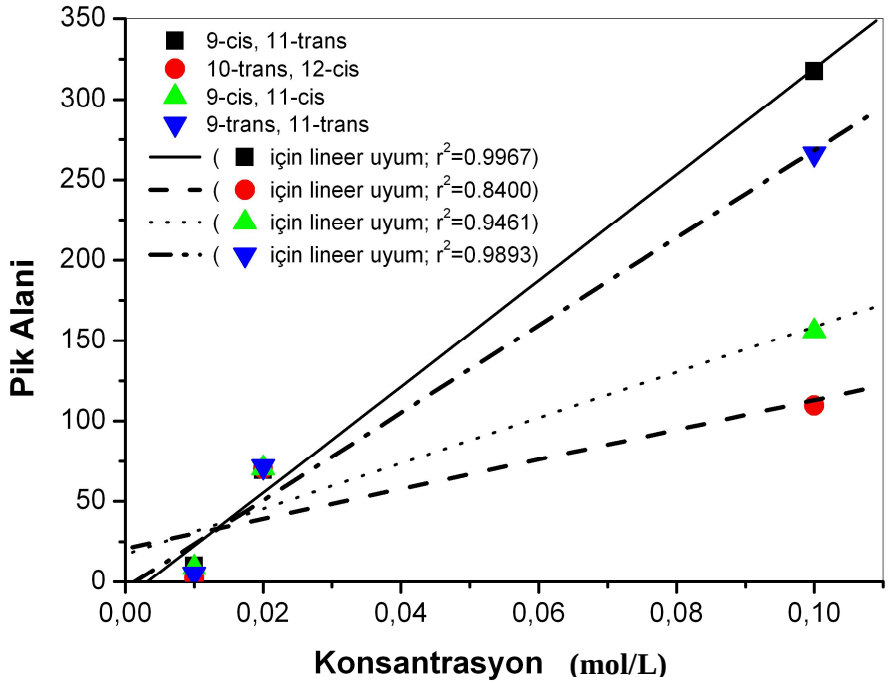


Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Şekil 4.69. ***Metot-3 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID He)***



Şekil 4.70. ***Metot-3 CLA Standartlari İçin Konsantrasyona Karşı Pik Alanının Değişimi(GC/FID H_e)***



Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kırmızı et, yumurta ve tereyağı gibi beslenmenin temel taşlarından olan hayvansal ürünlerin, kalp damar hastalıklarına neden olduğu gerekçesiyle tüketiminin son y›llarda çok önemli derecede azaldığı bilinmektedir. Yapılan araştırmalar ile; konjuge linoleik asidin kalp damar hastal›klar› riskini azalt›c›, immün direnci art›r›c›, dokularda oksidasyonu önleyici ve kanser oluşumunu engelleyici gibi biyolojik özelliklerinin ortaya çıkmasıyla, CLA'ya olan ilgi artmış ve söz konusu yararlarından dolayı et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlerdeki CLA miktar›n›n tespit edilmesine yönelik çalışmalar büyük önem kazanmıştır.

CLA`in çeşitli yenilebilir yağlardaki miktarlarının ve izomer yüzdelerinin GC-FID ve GC-MS teknikleriyle tespit edilmeye çalışıldığı bu çalışmada; öncelikle yağ numunelerinin gaz kromatografisi analizlerine uygun hale getirilmesi için (uçuculuk kazand›rmak için) esterlerine dönüştürülmesi sağlanmıştır. Daha sonra taraf›m›zdan geliştirilen çeşitli metotların optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Optimizasyonu tamamlanan metotların kullanılmasıyla CLA`nın çeşitli yağ numunelerindeki miktarları ve izomer yüzdeleri belirlenmiştir.

GC-FID ve GC-MS tekniği kullan›larak konjuge linoleik asit miktarlar› ve izomer türlerinin tayininde; öncelikle CLA standart maddelerinden hazırlanan karışım kullanılarak akış hızı ve hareketli faz türü optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen veriler kullan›larak, CLA izomerleri için k', α, HETP ve kromatografik kolonun iki analiti ay›rabilmesinin kantitatif bir ölçüsü olan Rs değerleri hesaplanmıştır. HKARA-10, Metot-2 ve Metot-3 metotlar› için çizilen her bir standart pike ait "Akış hızına karşı Rs ve HETP değişimi" grafikleri incelendiğinde; akış hızına bağlı olarak her bir standart pikin Rs değerlerinde optimum değer olan 1,5'in üzerinde bir değerin elde edildiği görülmüştür. HETP değerlerinde ise belli bir akış h›z›na kadar azalma, daha sonras›nda çok az değişme meydana geldiği belirlenmiştir. 10-trans, 12-cis CLA ve 9-cis, 11-cis CLA standart maddelerine ait pikler aras›ndaki ayrımın diğer standart piklerine göre daha az olduğu göz önünde bulundurularak her bir metot için optimum akış hızı değeri bu iki pike göre tespit edilmeye çalışılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda tereyağ ve margarinde bulunan CLA izomerlerinin, optimize ettiğimiz her bir metotda ayrılabildiği görülmüş ancak H_2 hareketli faz› kullan›lan Metot-2 ile CLA izomerlerinin ayr›m›n›n daha iyi olduğu

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

görülmüştür. Metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğu test edilerek kanıtlanmıştır.

Bu çalışmada; önemi ve faydaları her geçen gün daha iyi anlaşılmakta olan CLA`nın çeşitli yenilebilir yağlardaki miktarları ve izomer yüzdeleri GC-FID ve GC-MS cihazları yardımıyla kromatografik olarak belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmanın daha sonra yapilacak olan CLA ile ilgili çalışmalara katkı sağlaması ve bu çalışmalara yol gösterici olmas› beklenmektedir.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

KAYNAKLAR

Adlof, R. O., 2003. Application of Silver-Ion Chromatography to the Separation of Conjugated Linoleic Acid Isomers, in Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, pp. 37-51, Ed. Sebedio, J. L., Christie, W. W. and Adlof, R., AOCS Pres, America.

Aksoy, A., Macit M., Karaoğlu M. 2000. Hayvan Besleme. Ders Notu Yayın No:220, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisleri, Erzurum.

Ayd›n, R. 2005. Conjugated linoleic acid: chemical structure, sources and biological properties. Türk J. Vet. Animal Sci. 29: 189-195.

Bak›r, N., 2005. F›nd›k Yag›n›n Enzimatik Olarak Konjuge Linoleik Asit ile Zenginlestirilmesi ve Fonksiyonel (Yap›land›r›lm›s) Yag Eldesi, Yüksek Lisans Tezi,

Banni S. 2002. Conjugated linoleic acid metabolism.Curr Opin Lipidol 13:261-6.

Banni,S.,2002.Metabolism of conjugated linoleic acid research,current status and future directions.May 15-16, 2002, Bethesda,Maryland.

Bauman, D.E., Barbamo, D.M., Dwyer, D.A., Grinari, G.M. 2000. Technical note: Production of butter with animal models. J. Dairy Sci. 83: 2422-2425.

Bauman,D.E.,Baumgard,L.H.,Corl , B.A. and Griinari,J.M.,1999.Biosynthesis of c›njugated linoleic acid in ruminants.proceedings of the american society of animal science.

Baumgard,L.H.,Moore,C.E.and Bauman,D.E.,2002.Potential application of conjugated linoleic acid in nutrient pationing.Proc.Southwest Nutr.Conf.pp127-141

Bell, J.A. and Kenelly, J.J.,2001.Conjugated linoleic acid enriched milk:A designer milk with potential.Advances in Dairy technology,13:213-228/ Khanal,R.C.and Olson, K.C., 2004. Factors affecting conjugated linoleic acid (cla) content in milk,meat,and egg:a review.Pakistan Journal of Nutrition 3(2):82-98)

Belury, M., Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effectsand mechanism of action, Annu.Rev.Nutr. 22, 505-531, 2002.).

Benito, P., Nelson, G.J., Kelley, D.S., Bartolini, G., Schmidt, P.S., Simon, V. 2001. The effects of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. Lipids 36: 229-236.

Britton, M., Fong, C., Wickens, D., Yudkin, J., Diet as a source of phospholipid esterified 9, 11-octadecandienoic acid in humans, Clinical Science. 83, 97-101, 1992)

Brown, M.J., McIntosh, M.K., Conjugated linoleic acid in humans: Regulation of adiposity and insulin sensitivity, J.Nutr., 133, 3041-3046, 2003

Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L., Pariza, M.W., Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens, J. Food. Comp. Anal., 5, 185-197, 1992.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Choi, J. S. and Song, J., 2005. Conjugated Linoleic Acid, Obesity, and Insulin Resistance: Waiting for the Day of Liberation from Chronic Disease, Nutrition, 21(11-12), 1170-1172.

Choi, S.H., Wang, J.H., Kim, Y.J., Oh, Y.K., Song, M.K. 2006. Effect of soybean oil supplementation on the contents of plasma cholesterol and in cis9, trans11-cla of the fat tissues sheep. Asian Aust. J. Anim. Sci. 19(5): 673-683.

Christie, W. W., 2003. Analysis of Conjugated Linoleic Acid: An Owerview, in Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, pp. 1-30, Ed. Sebedio, J. L., Christie, W. W. and Adlof, R., AOCS Press, America.

Clement, I.P., Belury, M., 161ous, C.L., Conjugated linoleic acid: Recent advances in disease prevention and management, The American Dietetic Association's Food and Nutrition Conference and Exhibition, Atlanta,USA, 2001).

Clement, L., Pourier, H., Niot, I., Bocher, V., Guerre-Millo, M., Krief, S.,Staels, B., Besnard, P..Dietary trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid İnduceshyperinsulinemia and fatty liver in the 161ouse, J. Lipid. Res., 43, 1400-1409,2002

Collomb, M., Schmid, A., Sieber, R., Wechsler, D. and Ryhänen, E. L., 2006. Conjugated Linoleic Acids in Milk Fat: Variation and Physiological Effects, International Dairy Journal, 16(11), 1347- 1361.

Continuing Survey of Food Intake of Individuals, CSFII 1994-1996.

Cook, M. E., Butz, D., Li, G., Pariza, M. and Whigham, L., 2003. Conjugated Linoleic Acid Enhances Immune Responses but Protects Aganist the Collateral Damage of Immune Events, in Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, pp. 283-289, Ed. Sebedio, J. L.,Christie, W. W. and Adlof, R., AOCS Press, America.

Corino, C., Fiego, D. P. L., Macchioni, P., Pastorelli, G., Giancamillo, A.D., Domeneghini, C. and Rossi, R., 2007. Influence of Dietary Conjugated Linoleic Acids and Vitamin E on Meat Quality and Adipose Tissue in Rabbits, Meat Science, 76(1), 19-28.

Coşkun, T. 2005. Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. Çocuk Sağlığı ve Hastal›klar› Dergisi 48(1): 61-84.

Çelebi, Ş. ve Karaca, H. 2006. Yumurtanın besin değeri, kolesterol içeriği ve yumurtayı n-3 yağ asitlerince zenginleştirmeye yönelik çalışmalar. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 37(2): 257-265.

Çelik, S. ve Demirel, M., 2004. nsan ve Hayvan Sagl›g› Bak›m›ndan Omega Yag Asitleri ve Konjuge Linoleik Asitin Önemi, Y. Y. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 1, 25-35.

Ercoskun, H., Uguz, S. ve K›ralan, M., 2005. Konjuge Linoleik Asit, G›da Mühendisligi Dergisi, 19, 42-45.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Evans, M.E., Brown, J.M., McIntosh, M.K., Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism, J. Nutr. Biochem., 13, 508-516, 2002.

Fogerty, A., Ford, G., Svoronos, D., Octadeca-9-11-dienoic acid in foodstuff and in the lipids of human blood and breast milk, Nutr. Reports Int., 38,937- 944,1988.).

Fritsche J, Steinhart H. 1998. Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. Z Lebensm Unters Forsch A 206: 77-82.

Fuente, M. A., Luna, P. and Juárez, M., 2006. Chromatographic Technique to Determine Conjugated Linoleic Acid Isomers, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 25(9), 917-926.

Gürcan Ü.,Yüksek Lisans Tezi,Yağ rafinasyonunda oluşan trans yağ asitlerinin incelenmesi,Konya 2001

Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. Carcinogenesis 8: 1881-7.

Houseknecht, K., Heuvel, J., Moya-Camarena, S., Portocarrero, C., Peck, L.,Nickel, K., Belury, M., Dietary conjugated linoleic acid normalize impairedglucose tolerance in zucker diabetic fatty fa/fa rat, Biochem.Biophys. Res.Commun., 244, 678-682, 1998.,

HwanAbo, J., Kim, H.J, Lee, B.S., Kang, S.W., Chang, J., Bae, H.B., Lee, M.S., Kim, Y.J., Choi, N.J., 2006. Increasing content of healty fatty acids in egg yolk of laying hens by cheese by product. Asian Aust. J. Anim. Sci. 19(3): 444-449.

Jiang J, Wolk A, Vessby B. 1999. Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue. Am J Clin Nutr 70:21-7.

Keim, N. L., 2003. Conjugated Linoleic Acid and Body Composition, in Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, pp. 316-322, Ed. Sebedio, J. L., Christie, W. W. and Adlof, R., AOCS Press, America.

Kelly,G.S., 2001.Conjugated linoleic acid: a review.Alternative Medicine Review,Vol.6,Number 4,pp:367-382.

Khosla P, Fungwe TV. 2001. Conjugated linoleic acid: effects on plasma lipids and cardiovascular function. Curr Opin Lipidol 12:3 1-34

Kramer,J.K.G.,Cruz-Hernandez,C.,Zhou,J.,2001.Conjugated Linoleic Acids and Octadecenoic Acids: Analysis by GC,Europian Journal Of Lipid Science And Technology,103,594-632.

Kung, F. C. and Yang, M. C., 2006. Effect of Conjugated Linoleic Acid Immobilization on the Hemocompatibility of Cellulose Acetate Membrane, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 47(1), 36-42.

Lavillonniere,F.,Martin,J.C.,Bougnoux,P.and Sebedio,J.L.,1998.Analysis of conjugated Linoleic Acid Isomer and Content in French Cheeses,Journal of Agricultural anf food Chemistry,75(3),343-352.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Lin,H., Bolyston,T.D., Luedeecke, L.O.and Shultz,T.D.,b1999.Conjugated Linoleic Acid Content of Cheddar-type Cheeses as Afeected by Processing,Journal of Food Science, 64(5), 874-87

Luna, P., Juárez, M. and Fuente, M. A., 2006. Conjugated Linoleic Acid Content and Isomer Distribution During Ripening in Three Varieties of Cheeses Protected with Designation of Origin, Food Chemistry, Artical in Press.

Ma,D.W.L.,Wierzbicki,A.A.,Field,C.J.and Clandinin,M.T.,1999.Preparation of conjugated Linoleic Acid from Safflower Oil,Journal of agricultural and Food Chemistry.76(6),729-730

Meier-Augenstein,W.,2002.Stable Isotope Analysis of Fatty Acids By Gas PChromatography-Isotope Ratio Mass Spectrometry,Analytica Chimica Acta,465,63-79.

Mir, Z., Gounewardene, L.A., Okine, E., Jeagar, S., Scheer, H.D., 1999. Effect of feeding canola oil on constituents, conjugated linoleic acid (cla) and long chain fatty acids in goats milk. Small. Rum. Resh. 33: 137-143.

Mir, Z., Rushfelth, M.L., Mir, P.S., Paterson, L.J., Weselake, R.J. 2000. Effect of dietary supplementation with either conjugated linoleic acid(cla) or linoleic acid rich oil on the cla content of lamb tissues. Small Rumin. Res. 36: 25-31.

Noli, C., Carta, G., Cordeddu, L., Melis, M. P., Murru, E. and Bani, S., 2007. Conjugated Linoleic Acid and Black Currant Seed Oil in the Treatment of Canine Atopic Dermatitis: A Preliminary Report, The Veterinary Journal, 173(2), 413-421.

O'Neill,H.A.,2003.The effect of cla on broiler carcass quality.A literature review for BASF Animal Nutrition SA (Pty)Ltd.32pp

Pariza,M.W.,Park,Y.,Cook,M.E.,2001."The biologically active isomers of conjugated linoleic acid" Progress in lipid Research 40,283-298.

Park, Y., Albright, K.J., Storkson, J.M., Liu, W., Cook, M.E., Pariza,M.W., Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice, Lipids, 32, 853-858, 1997.)

Parodi PW. 1997. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. J Nutr 127: 1055-60.

Riserus, U., Arner, P., Brismar, K., Vessby, B., Treatment with dietary trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome, Diabetes Care, 25, 1516-1521, 2002

Ritzenthaler KL, McGuire MK, Falen R, Shultz TD,Dasgupta N, McGuire MA. 2001. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. J Nutr 131: 1548-54.

Ryder, J.W., Portacarrero, C.P., Song, X.M., Cui, L., Yu. M., CobatsiariT.,Galuska, D., Bauman, D.E., Barbano, D.M., Charron, M.J., Zierath J.R.,Houseknecht, K.L., Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. Improved

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression, Diabetes, 50, 1149-1157, 2001.)

Seppanen-Laakso,I.and Hiltunen,R.2002.Analysis Of Fatty Acids By Gas Chromatography,And Its Relevance To Research On Heelth And Nutrition,Analytica Chimica Acta.465,39-62

Skoog,D.A.,D.M.,Holler,F.J., Çeviri: Kılıç,E.,Köseoğlu,F.,1996,Analitik Kimya,Bilim Yay›nc›l›k,Ankara

Şahin,N.,Özçelik,B.,Karaali,A.,2003.Peynir ürünlerinde Konjuge Linoleik asit miktar› ve sağlık üzerine etkileri,Süt endüstrisinde yeni eğilimler sempozyumu,İzmir.22-23 May›s 2003,s.29-34

Tanaka,K.,2005.Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its phsiological functions.Animal Science Journal,76,291-303.

Taylor ,C.G.and Zahradka,P.,2004.Dietary conjugated linoleic acid and insulin sensitivity and resistance in rodent models.Am.J.Clin.Nutr.79(suppl.):1164S-8S.

Terpstra AH. 2004. Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in humans: an overview of the literature. Am J Clin Nutr 79: 352-61.

Tokuşoğlu, Ö.,Akalın,S.ve Gönç,S.,2003.Kapiler Gaz Kromatografik yöntemle Peynirlerde Konjuge Linoleik Asit (CLA,C18:2;cis-9,trans-11;trans-10,cis-12 oktadekadienoik asit) miktarlarının belrilenmesi üzerine bir araştırma ,Süt endüstrisinde yeni eğilimler sempozyumu,İzmir,22-23 May›s,303-309

Tsuboyama-Kasaoka, N., Takahashi, M., Tanemura, K., Kim, H., Tange, T.,Okuyama, H., Kasai, M., Ikemoto, S., Ezaki, O., Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and devolops lipodystropy in mice, Diabetes, 49, 1534-1542, 2000

Turuni, M. E. and Martin, J. C., 2001. Sources, Functions and Analysis of Conjugated Linoleic Acid and Its Metabolites, in Structured and Modified Lipids, pp.251-278, Ed. Gustano F. D., Marcel Dekker Inc., New York.

Tüzün,C.,Biyokimya,Palme Yay›nc›l›k,Ankara

Wahle KW, Heys SD, Rotondo D. 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? Prog Lipid Res 43: 553-87.

Wang, M. L., Lv, J. P., Chu, Z. Q., Cui, Y. Y.and Ren, X. H., 2007. Production of Conjugated Linoleic Acid by Propionibacterium Freudenreichii, Food Chemistry, 103(2), 313-318.

Watkins, B. A. and Li, Y., 2002. Conjugated Linoleic Acids: Nutrition and Biology, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biology*, pp.637-654, Ed. Akoh, C. C. and Min, D. B., Marcel Dekker Inc, New York.

Watkins, B. A. and Li, Y., 2003. CLA in Functional Food: Enrichment of Animal Products, in Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, pp. 174-184, Ed. Sebedio, J. L., Christie, W. W. and Adlof, R., AOCS Press, America.

Weiss,M.F.,Martz,F.A.,Pas and Lorenzen,C.L.,2004.Conjugated linoleic acid:historical context and implications.The Professional Animal Scientist,20(2):118-126.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Whigham,L. D.,Cook,M.E. and Atkinson,R.L.,2000.Conjugated Linoleic Acid:Implications For human Health,Pharmacological Research,42(6),503-510.

Willet, J., 1987. *Gas Chromatography*, pp.1-5, Acol, London.

Zlatanos,S.,Laskaridis,K.,Feist,C.,and sagredos,A.,2002.CLA Content and Fatty Acid Composition of Grek Feta And Hard Cheeses,Food Chemistry,78,471-477.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

EKLER

EK-1 He taşıyıcı gazı için metod parametreleri

Helyum Taşıyıcı Gaz		HKARA-10 METODU	METOT-2	METOT-3
Enjeksiyon Bloğu	Enjeksiyon Miktar›	1 µL	1 µL	1 µL
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	250 °C	250 °C	250 °C
	Taşıyıcı Gaz	Helyum	Helyum	Helyum
	Enjeksiyon Bloğu Basıncı	121.8 kPa	175.0 kPa	160.4 kPa
	Mod	Splitless	Splitless	Splitless
Kolon f›r›n›	Kolon	HP-88 Capilarry 100mx 250 µmx0.20 µm	HP-88 Capilarry 100m x 250 µmx0.20 µm	HP-88 Capilarry 100m x 250 µm x 0.20 µm
	Kolon Bas›nc›	121.8 kPa	175.0 kPa	160.4 kPa
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	0.3- 0.5- 0.7- 0.9- 1.0- 1.2 ml/dk	0.3- 0.5- 0.7- 0.9- 1.0- 1.2 ml/dk	0.3- 0.5- 0.7- 0.9- 1.0- 1.2 ml/dk
	Kolon S›cakl›k Program›	50°C (10 dk) (4°C/dk) 50°C → 240°C (30dk)	45°C (4 dk) (13°C/dk) 45°C → 175°C (27dk) (4°C/dk) 175°C → 215 °C (35dk)	60°C (1 dk) (20°C/dk) 60°C → 170°C (60dk) (10°C/dk) 170°C → 240 °C (25dk)
Dedektör	Dedektör Sıcaklığı	250 °C	250 °C	250 °C
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	30 mL/dk	40 mL/dk	30 mL/dk
	Kuru Hava Akış Hızı	300 mL/dk	450 mL/dk	300 mL/dk
	Make Up Gazı (He) Akış Hızı	10 mL/dk	20 mL/dk	10 mL/dk

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

EK-2 H_2 taşıyıcı gazı için metod parametreleri

Hidrojen Taşıyıcı Gaz		HKARA-10 METODU	METOT-2	METOT-3
Enjeksiyon Bloğu	Enjeksiyon Miktar›	1 µL	1 µL	1 µL
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	250 °C	250 °C	250 °C
	Taşıyıcı Gaz	Hidrojen	Hidrojen	Hidrojen
	Enjeksiyon Bloğu Basıncı	121.8 kPa	175.0 kPa	160.4 kPa
	Mod	Splitless	Splitless	Splitless
Kolon f›r›n›	Kolon	HP-88 Capilarry 100mx 250 µmx0.20 µm	HP-88 Capilarry 100m x 250 µmx0.20 µm	HP-88 Capilarry
	Kolon Bas›nc›	121.8 kPa	175.0 kPa	160.4 kPa
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	0.3- 0.5- 0.7- 0.9- 1.0- 1.2 ml/dk	0.3- 0.5- 0.7- 0.9- 1.0- 1.2 ml/dk	0.3- 0.5- 0.7- 0.
	Kolon S›cakl›k Program›	50°C (10 dk) (4°C/dk) 50°C → 240°C (30dk)	45°C (4 dk) (13°C/dk) 45°C → 175°C (27dk) (4°C/dk) 175°C → 215 °C (35dk)	(20°C/dk) 6 (10°C/dk) 17
Dedektör	Dedektör Sıcaklığı	250 °C	250 °C	250 °C
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	30 mL/dk	40 mL/dk	30 mL/dk
	Kuru Hava Akış Hızı	300 mL/dk	450 mL/dk	300 mL/dk

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad› Soyad› : Ayşe Gökçen SARAÇ
Uyruğu : TC
Doğum Yeri ve Tarihi : ÇORUM 30.05.1983
Telefon : 0505 548 77 30
Faks :
e-mail : gokcensrc19@hotmail.com

EĞİTİM

Derece			**Bitirme Y›l›**
Lise	:	Çorum Cumhuriyet Lisesi (Süper Lise)	2001
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	2007
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Y›l	**Kurum**	**Görevi**
	-	

UZMANLIK ALANI Ay›rma teknikleri

YABANCI DİLLER İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

Uluslararas› Konferans, Sempozyum ve Kongreler:

2010 Hüseyin KARA, A.Gökçen SARAÇ, F.Nur ARSLAN and H.Filiz AYYILDIZ, "**Identification and Quantification of Conjugated Linoleic Acid (CLA) Isomers for Butter Samples by Using GC-FID and GC-MS Systems"**8th Euro Fed Lipid Congress Book of Abstract, Munich-Germany.

2009 Huseyin Kara, Fatma Nur Arslan, H. Filiz Ayyildiz, Mustafa Topkafa, A.Gokcen SARAC "**Rancimat Method to Determine Cottonseed Oil Stability in Refining Process Steps"** Euroanalys›s 2009 Book of Abstract, 06-10, Sept, 2009, Innsbruck/Austria.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

2009 Huseyin Kara, Fatma Nur Arslan, H. Filiz Ayyildiz, Mustafa Topkafa, A.Gokcen SARAC "**Use of Reversed Phase HPLC Technique for Determination of Cotton Seed Oil Quality As a Frying Oil"** Taibah International Chemistry Conference (23-25 March), Medine-i Munevvere-Saud-i Arabistan.

2008 H.Filiz Ayy›ld›z, Fatma Nur ARSLAN, Mustafa TOPKAFA, Fatih DURMAZ, A.Gokcen SARAC, Huseyin Kara **"Determination of FFA Content in Sunflower Oil by Using a Modified HPLC System"** 6th Aegean Analytical Chemistry Days, International Conference (9-12 October), Denizli-Türkiye.

Ulusal Konferans, Sempozyum ve Kongreler :

2010 A.Gökçen SARAÇ, Hüseyin KARA, H.Filiz AYYILDIZ, F. Nur ARSLAN, Mustafa TOPKAFA, İsmail TARHAN, **" Tereyağı Örneklerindeki Konjuge Linoleik Asit (CLA) İzomerlerinin GC/FID Sistemi Kullanılarak Tayini** "24. Ulusal Kimya Kongresi**,** 29 Haziran-02 Temmuz 2010, Zonguldak, Türkiye.

2010 H. Filiz Ayy›ld›z, Fatma Nur Arslan, Mustafa Topkafa, Fatih Durmaz, A. Gökçen Saraç, İsmail Tarhan, Hüseyin Kara, **" Bitkisel Yağlardaki Serbest Yağ Asidi (FFA) Miktarının Otomatikleştirilmiş Akış Enjeksiyon (FIA) Sistemleriyle Tespitinde Sıcaklık ve Yağ Cinsinin Etkisi"** 5. Ulusal Analitik Kimya Kongresi**,** 21-25 Haziran 2010, Erzurum, Türkiye.

2008 Fatma Nur Arslan, Mustafa Topkafa, Ayşe Gökçen SARAÇ, H. Filiz Ayyıldız, Hüseyin KARA **"Yağ Asit Kompozisyonlarının Kromatografik Tayinlerinin Optimizasyonu"** XXII. Ulusal Kimya Kongresi**,** 6-10 Ekim, Magusa, K›br›s.

KATILDIĞI BİLİMSEL TOPLANTILAR

- VIII Ulusal Kromatografi Kongresi, 9-11 Haziran, Isparta, 2008
- 1st International Türkiye-Pakistan Chemistry Days, 27-28 Nisan, Konya-Türkiye, 2007

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.