



## Gıdalarda Uçucu Bileşen Analizinde Katı Faz Mikroekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonunda Yanıt Yüzey Yönteminin Kullanılması

Ceyda Dadalı, Yeşim Elmacı\*

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100 Bornova/İzmir, Türkiye

### MAKALE BİLGİSİ

#### Derleme Makale

Geliş 18 Mayıs 2017  
Kabul 10 Ağustos 2017

#### Anahtar Kelimeler:

Katı faz mikroekstraksiyon  
SPME  
Uçucu bileşen analizi  
Yanıt yüzey yöntemi  
Optimizasyon

#### \* Sorumlu Yazar:

E-mail: yeşim.elmaci@ege.edu.tr

### ÖZET

Gıdalarda uçucu bileşen analizinde örnek hazırlama amacıyla yüksek vakumlu buhar destilasyonu, eş zamanlı destilasyon ekstraksiyon, buhar destilasyonu, tuzak ile tutma gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin uygulanışının zor ve maliyeti yüksek olması nedeniyle söz konusu yöntemler yerini katı faz mikroekstraksiyon tekniğine bırakmıştır. Katı faz mikroekstraksiyon ile uçucu bileşen analizlerinde ekstraksiyonun etkinliğinin artırılması için ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, örnek hacmi, fiber tipi gibi ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir. Gıdaların uçucu bileşen analizinde ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu amacıyla deneme sayını azaltan ve bağımsız değişkenlerin interaksiyon etkisini inceleyen yanıt yüzey yönteminden faydalanan çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu derlemede gıdalarda katı faz mikroekstraksiyon tekniği kullanılarak yapılan uçucu bileşen analizi optimizasyonunda yanıt yüzey yöntemini kullanan güncel çalışmalar ile ilgili bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 5(10): 1173-1183, 2017

## Optimization of Solid Phase Microextraction Conditions for Volatile Components of Foods by Using Response Surface Methodology

### ARTICLE INFO

#### Review Article

Received 18 May 2017  
Accepted 10 August 2017

#### Keywords:

Solid phase microextraction  
SPME  
Volatile compound analysis  
Response surface methodology  
Optimisation

#### \* Corresponding Author:

E-mail: yeşim.elmaci@ege.edu.tr

### ABSTRACT

High vacuum steam distillation, simultaneous distillation extraction, steam distillation, purge and trap methods are used for sample preparation in volatile component analysis. Since these methods are difficult and costly to implement, these methods have left their place to the solid phase microextraction technique. Extraction conditions such as extraction temperature, extraction time, sample volume and fiber type should be optimized in order to increase the efficiency of extraction in volatile component analysis with solid phase microextraction in foods. In the optimization of extraction conditions in volatile component analysis of foods, studies have been carried out to utilize the response surface method, which reduces the number of experiments and also examines the interaction effect of the independent variables. In this review, it is aimed to give information about current studies using response surface methodology in optimization of volatile compound analysis of foods using solid phase microextraction technique.

## Giriş

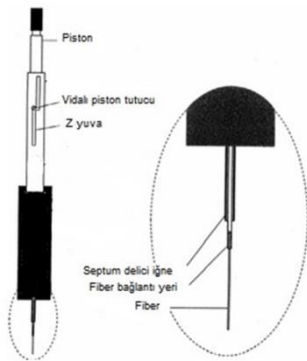
Katı faz mikroekstraksiyon (SPME) 1990 yılında Pawliszyn tarafından geliştirilmiş hızlı örnek hazırlama tekniğidir. Gıdalarda uçucu bileşen analizinde bu teknik diğer yöntemlerle kıyaslandığında oldukça hızlı ve basit olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Uçucu bileşen analizlerinde SPME haricinde yüksek vakumlu buhar destilasyonu, eş zamanlı destilasyon ekstraksiyon, buhar destilasyonu, tuzak ile tutma (purge and trap) gibi yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler zaman alıcı, yüksek yatırım maliyeti getiren ve organik çözügen kullanımı gerektiren yöntemlerdir (Mondello ve ark., 2005). SPME tekniği ise toksik organik çözügenlerin kullanımını gerektirmeyen, yüksek sayıda uçucu bileşenlerin düşük teşhis limitinde tespitini sağlamaktadır. Söz konusu teknikte, bileşen ekstraksiyonu ve konsantrasyonu tek bir aşamada yapılmakta, örnek hazırlama aşaması çok az zaman gerektirmekte olup diğer yöntemlere göre daha ucuz bir tekniktir (Zhu ve Chai, 2005; Pinho ve ark. 2006; Rodrigues ve ark. 2008; Charry-Parra ve ark., 2011). Yöntem araştırmacıya düşük örnek miktarıyla çalışma avantajı sunması nedeniyle yüksek duyarlılığa sahiptir (Lochow ve ark., 2005; Charry-Parra ve ark., 2011; Pawliszyn, 2012), Ayrıca analiz sırasında kolon su ya da çözügene de maruz kalmamaktadır (Lochow ve ark., 2005). Ancak, SPME tekniği kullanılarak yapılacak ekstraksiyonun etkin şekilde gerçekleştirilmesi için ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir. SPME koşullarının optimizasyonunda fiber tipinin seçimi en önemli aşamayı oluşturmaktadır (Mondello ve ark., 2005). SPME ile yapılan optimal deneysel koşullar fiber kaplaması, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, örnek hacmi, iyonik şiddet gibi kinetik ve termodinamik ekstraksiyon koşullarına bağlıdır (Ribeiro ve ark., 2010; Ma ve ark., 2013; Bezerra ve ark., 2016). SPME tekniğiyle yapılan birçok çalışmada ekstraksiyon parametreleri ayrı ayrı incelenmekte olup, bu parametrelerin değerlendirildiği bütün koşulların ayrı ayrı denenmesi zaman alıcı olması ve faktörler arasında interaksiyonu incelememesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Yanıt yüzey yöntemi (Response Surface Methodology) ile tüm parametrelerin ayrı ayrı ve interaksiyon etkileri incelenebilmekte, aynı zamanda deneme sayısı azaltılmakta, matematiksel model oluşturularak verilerin tahminlenmesi sağlanmaktadır (Rodríguez-Bencomo ve ark., 2012). Bu çalışmada gıdalarda uçucu bileşen analizinde yanıt yüzey yöntemi

kullanılarak SPME koşullarının optimizasyonunun derlenmesi amaçlanmıştır.

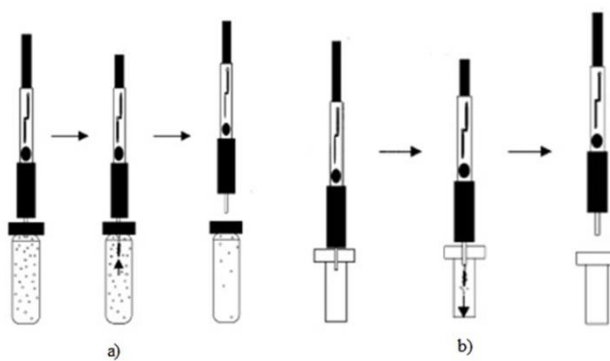
## SPME Tekniği

SPME tekniği analiz edilecek matrikste bulunan bileşenleri silika üzerine ince polimerik sabit fazla kaplanmış fibere ekstrete eden basit, hızlı ve duyarlı örnek hazırlama yöntemidir (Frazey ve ark., 1998). İlk olarak Pawliszyn tarafından 1990 yılında geliştirilmiş olan SPME tekniği 1993 yılında ise ticari olarak üretilmeye başlanmıştır (Arthur ve Pawliszyn, 1990; Alver ve ark., 2012). SPME tekniğinde kullanılan enjektör dolgu materyali ile kaplı fiber ve fiber üzerinde polar ya da apolar karakterde ince fiber kaplamasından meydana gelmektedir (Şekil 1) (Zhang ve Pawliszyn 1993). Film tabakası örnek matriksindeki bileşikler adsorpsiyon ya da absorpsiyon yoluyla konsantre etmektedir (Kataoka ve ark., 2000).

Bu teknikte, ekstraksiyon işlemi ürünün tepe boşluğuna (HS) ya da içine daldırılarak gerçekleştirilmektedir. HS ekstraksiyon tekniğinde örneğin buhar fazı fiber ile etkileşim halinde olup fiber örnek ile temas halinde değildir. Buhar fazındaki bileşenler difüzyon yolu ile fibere ulaşmaktadır. Doğrudan ürün içine daldırılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonda ise fiber örnek ile temas ederek ekstraksiyon sağlanmaktadır (Pawliszyn, 1995; Kataoka ve ark., 2000; Mester ve Sturgeon, 2005) SPME genellikle gaz kromatografisi (GC), GC-kütle spektroskopisi (MS), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) veya sıvı kromatografisi (LC)-MS ile birlikte kullanılmaktadır (Kataoka ve ark., 2000). SPME tekniğinde vial içerisine yerleştirilen örneğin uçucu bileşenlerinin tepe boşluğunda dengeye gelmesi için beklenir. Ekstraksiyon aşaması için SPME enjektörü septum delinerek vial içine yerleştirilir. SPME fiberi enjektörden çıkarılır ve fiber vial içinde tutularak bileşenlerin fibere adsorbe veya absorbe olması sağlanır. Ekstraksiyon tamamlandıktan sonra fiber enjektör içine alınıp vialden çıkarılır (Şekil 2a). Desorpsiyon işlemi için enjektör GC enjeksiyon bölümüne yerleştirilir. Fiber enjektörden çıkartılıp adsorbe veya absorbe olmuş bileşenlerin desorpsiyonu sağlanır. Fiber enjektör içine alınıp GC'den enjektör çıkarılır (Şekil 2b).



Şekil 1 SPME enjektörü (Kataoka ve ark., 2000'den uyarlanmıştır.)



Şekil 2 a) SPME prosedürü b) SPME desorpsiyon prosedürü (Anonim, 1999)

Tablo 1 Analit tipine bağlı olarak kullanılması önerilen fiber tipleri (Pala ve Yüceer, 2006; Anonim, 2017)

Analit Tipi	Fiber Tipi
Gazlar ve düşük molekül ağırlıklı bileşikler (MA 3-225)	75 µm/85 µm CAR/PDMS
Uçucular (MA 60-275)	100 µm PDMS
Uçucular, aminler ve nitro-aromatik bileşikler (MA 50-300)	65 µm PDMS/DVB
Polar yarı uçucular (MA 80-300)	85 µm PA
Polar olmayan yüksek molekül ağırlıklı bileşikler (MA 125-600)	7 µm PDMS
Polar olmayan yarı uçucular (MA 80-500)	30 µm PDMS
Alkoller ve polar bileşikler (MA 40-275)	60 µm CW
Aroma bileşikleri: uçucular ve yarı uçucular C3-C20 (MA 40-275)	50/30 µm DVB/CAR/PDMS
İz bileşen analizleri	50/30 µm DVB/CAR/PDMS (2 cm)
Aminler ve polar bileşikler	60 µm PDMS/DVB

Uygulanışı hızlı ve pratik bir yöntem olan SPME geliştirildiğinden günümüze kadar gıda, çevre, biyoloji gibi alanlarda geniş bir kullanım alanına sahiptir (Junting ve ark., 1998; Picó ve ark. 2007; Olariu ve ark. 2010). Gıdalarda da uçucu bileşen analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

### SPME Koşullarına Etki Eden Faktörler

#### *Ekstraksiyon Sıcaklığı ve Süresi*

HS-SPME tekniği fiber kaplaması, tepe boşluğu ve örnek olmak üzere üç faz arasındaki analitin dengesine bağlıdır (Zhang ve ark., 2009). Tepe boşluğunda bulunan bileşenlerin analizi, vial içerisindeki örneğin uçucu bileşenlerinin buhar basıncına bağlı olmakla birlikte uçucu bileşenlerin buhar basıncını ve dengesini etkileyen iki önemli faktör ekstraksiyon sıcaklığı ve süresidir (Ho ve ark., 2006). SPME tekniğinde ekstraksiyon sıcaklığının artışı, uçucu bileşenleri buldukları matrikse bağlayan enerji bariyerlerini yenmelerini sağlamakta aynı zamanda kütle transferi prosesi için buhar basıncını artırmaktadır (Alexandrou ve ark., 1992; Ho ve ark., 2006). Bu durum uçucu bileşiklerin tepe boşluğuna doğru salınmasını kolaylaştırmaktadır (Zhang ve Pawliszyn, 1993). Ekstraksiyon süresinin artışı analiz edilen uçucu bileşiğin fibere daha fazla bölgeden tutunması için destek olmaktadır. Ancak çok uzatılmış ekstraksiyon süresi, ekstraksiyonun etkinliğini etkilememekte veya bazı durumlarda desorpsiyona neden olabilmektedir (Balasubramanian ve Panigrahi, 2011). Ekstraksiyon süresi, yüksek kaynama noktasına sahip bileşiklerin ekstraksiyonuna etki ederken, düşük kaynama noktasına sahip bileşiklerde daha düşük etkiye sahiptir. Ekstraksiyon süresinin artması yüksek kaynama noktasına sahip bileşiklerin ekstraksiyonunun etkinliğini iyileştirip tespit edilen pik alanını artırmaktadır. Ancak süredeki artış düşük kaynama noktasına sahip bileşiklerde aynı etkiyi göstermemektedir (Ho ve ark., 2006). Ekstraksiyon koşullarından sıcaklık ve süre yakından ilişkili olup, sıcaklıktaki artışla daha kısa sürede ekstraksiyon gerçekleşmesi sağlanırken bu durum analiz süresini hızlandırmaktadır. Düşük kaynama noktasına sahip bileşikler düşük ekstraksiyon sıcaklığı ve kısa ekstraksiyon süresinde ekstrakte edilebilirken, yüksek kaynama noktasına sahip uçucu bileşikler yüksek ekstraksiyon sıcaklığı ve uzun ekstraksiyon süresinde daha iyi ekstrakte edilebilmektedir (Mestres ve ark., 2000). Ekstraksiyonda sıcaklık artışı uçucu bileşiğin matriksten salınımını kolaylaştırmaktadır. Uçucu

bileşenin içinde bulunduğu matriks ile üzerindeki tepe boşluğu konsantrasyonlarının birbirine oranı olarak tanımlanan partiyon katsayısı ekstraksiyon sıcaklığının artışıyla birlikte azalmakta ve bileşenin fiber tarafından adsorpsiyonu azalmaktadır. Buna bağlı olarak dengedeysen daha düşük miktarda uçucu bileşen ekstrakte edilmektedir (Zhang ve Pawliszyn, 1993). Bu duruma ek olarak ekstraksiyon sıcaklığının artışı ekstraksiyon hızını artırmakta, partiyon katsayısının azalmasıyla sonuçlanmakta ve ekstraksiyon proselinin duyarlılığının azalmasına neden olmaktadır (King ve ark., 2003). Optimizasyonla ekstraksiyon hızı ve duyarlılığı arasında iyi bir denge kurulmalıdır. Ekstraksiyonun yeterli duyarlılıkta ve kısa ekstraksiyon süresinde gerçekleşmesi için ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin optimize edilmesi önemlidir (Pawliszyn, 2000).

#### *Fiber Tipi ve Kalınlığı*

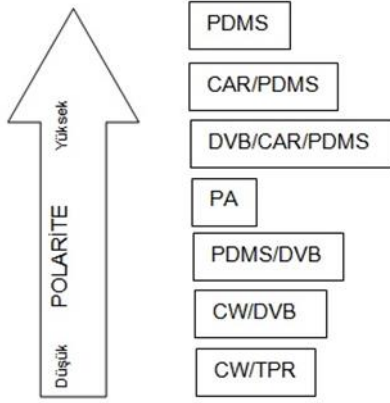
SPME tekniğinde analiz edilecek bileşiklerin ekstraksiyonunun etkin şekilde yapılması için fiber seçimi önemli bir aşamadır. Ticari olarak farklı kaplamalara sahip birçok fiber mevcuttur. Bu fiberler arasından analiz edilecek bileşiğin polaritesine uygun fiber tipinin seçilmesi gerekmektedir. Analiz edilecek bileşiklerin polaritesi ve molekül ağırlığına bağlı olarak kullanımı tavsiye edilen fiber tipi Tablo 1'de verilmiştir. Apolar yapıdaki bileşikler apolar tipteki fiber, polar bileşikler ise polar fiber kaplamasıyla daha iyi ekstrakte edilmektedir. Şekil 3'te Divinilbenzen/Karboksen/Polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS), CAR/PDMS, PDMS/DVB, PDMS, Poliakrilat (PA), Karbovaks (CW)/DVB, CW/Kaplanmış reçine (TPR) fiberleri polaritelerine bağlı olarak sınıflandırılmıştır (Kataoka ve ark., 2000).

Fiber kalınlığı da ekstraksiyonu etkilemekte olup kalın fiber kaplaması uçucu bileşikleri tutmakta ve kayıp olmadan GC enjeksiyon ünitesine transferi sağlamaktadır. İnce fiber kaplaması, hızlı difüzyonu ve yüksek kaynama noktasına sahip bileşiklerin termal desorpsiyon esnasında salınımını sağlamaktadır. Kalın fiber kaplaması ise kaynama noktası yüksek bileşikler için etkin şekilde örnek matriksinden alırken, desorpsiyon süresinin uzamasına neden olmaktadır (Anon, 1999).

#### *Karıştırma*

Örneğin karıştırılması özellikle yüksek molekül ağırlığına sahip bileşiklerin ekstraksiyonunu hızlandırmakta ve ekstraksiyon süresini kısaltmaktadır. Ancak değişken olarak uygulanan karıştırma işlemi hiç karıştırma uygulanmadan yapılan ekstraksiyona göre

ekstraksiyon duyarlılığını azaltmaktadır (Anon, 1999; Prosen ve Zupancic-Karlj, 1999). Karıştırma hızının artmasıyla örnek matrisinde bulunan bileşiklerin fibere transferi hızlanmakta ve dengeye geliş süresi kısalmaktadır. Ancak çok yüksek hızda uygulanan karıştırma da dengeye geliş süresini etkileyerek ölçüm duyarlılığının azalmasına neden olmaktadır (Kataoka ve ark., 2000).



Şekil 3 Divinilbenzen/Karboksen/Polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS), CAR/PDMS, PDMS/DVB, PDMS, Poliakrilat (PA), Karbovaks (CW)/DVB, CW/Kaplanmış reçine (TPR) fiber tiplerinin polariteleri (Kataoka ve ark., 2000'den uyarlanmıştır.)

#### Tuz Eklenmesi ve pH Ayarlanması

Örneğe tuz eklenmesi özellikle polar bileşiklerin, uçucuların çözünürlüğünü azaltmakta ve ekstraksiyon verimini arttırmaktadır (Anon, 1999). NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bu amaçla kullanılmaktadır (Kataoka ve ark., 2000). %25-30 oranında örneğe eklenen NaCl örneğin pH değerini değiştirmekte, iyonik gücü arttırmakta ve bazı bileşenlerin çözünürlüğünü azaltmaktadır. Tuz eklenen bileşiğin suda çözünürlüğünün azalmasıyla birlikte tepe boşluğuna geçen bileşik miktarı artmakta ve fiber tarafından daha fazla ekstrakte edilmektedir (Prosen ve Zupancic-Karlj, 1999; Zhang ve ark., 1994; Ayhan ve Döş, 2004). İz bileşen analizlerinde tuz gerekliyen, partiyon katsayısı yüksek olan bileşenlerde ekstraksiyonu artırmak için tuza gerek yoktur. pH'nın değiştirilmesi bazı bileşenlerin çözünürlüğünü azaltmaktadır. Asidik ve bazik bileşikler daha etkin olarak sırayla asidik ve bazik pH değerlerinde daha iyi ekstrakte edilmektedir. Tuz ilavesi ve pH ayarlamasının birlikte yapılması bileşiklerin tepe boşluğundan ekstraksiyon verimini arttırmaktadır (Anon, 1999).

#### Örnek Hacmi

Uçucu bileşen konsantrasyonu 50 ppb veya daha düşük olduğunda denge konsantrasyona bağlı olduğu için örnek hacmindeki değişim ekstraksiyonu etkilememektedir. Ancak daha yüksek konsantrasyonlarda örnek hacmindeki değişim önemlidir. Yüksek konsantrasyonda ve 5 ml üzerindeki örnek hacminde ekstraksiyon etkinliği düşmektedir. Eğer örnekteki analitin konsantrasyonu bilinmiyorsa örnek hacmi 1-5 ml arasında tutulmalı ve tüm analizlerde sabit hacimle çalışılmalıdır (Anon, 1999).

## Yanıt Yüzey Yöntemi

Yanıt yüzey yöntemi 1951 yılında Box ve Wilson tarafından denemelerin optimum koşullara ulaşması amacıyla geliştirilmiş ve tanımlanmıştır. Box ve Draper (2007) yanıt yüzey yöntemini empririk model geliştirilmesi ve bu modelin değerlendirilmesi için kullanılan istatistiksel teknikler topluluğu olarak tanımlamıştır. Myers ve Montgomery (1995) ise yanıt yüzey yöntemini proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli istatistiksel ve matematiksel tekniklerin beraber kullanıldığı bir yöntem olarak ifade etmiştir. Deneme setlerinden türetilen modellerin kullanıldığı yanıt yüzey yöntemi gıda bilimi ve teknolojisi alanında yaygın olarak kullanılan bir optimizasyon tekniğidir (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2010). Yanıt yüzey yöntemi eleme denemeleri, bölge araştırması ve optimizasyon olmak üzere 3 aşamadan meydana gelmektedir. Eleme denemeleri yapılarak yanıtlar üstünde etkili olan faktörlerin istatistiksel olarak önemli olanları seçilmektedir. Faktör sayısının azaltılması ile yapılacak deneme sayısı azalmaktadır. Deneme sayısının azalması zamanı azaltmaktadır. İkinci aşama olan bölge araştırmasında eleme denemeleri ile belirlenen bağımsız değişkenlerin yanıt oluşturdıkları değerlerin, optimum noktaya yakın sonuçlar verip vermediğinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Optimum noktaya yaklaştıkça yanıt yüzeydeki eğrilik daha belirginleşmektedir. Üçüncü aşama ise optimum noktaya yaklaşıldığında başlamaktadır. Gerçek yanıt fonksiyonu optimum nokta çevresinde genellikle ikinci dereceden polinomial modelle tahminlenen önemli bir eğrilik göstermektedir. Elde edilen model optimum noktanın araştırılmasında kullanılmaktadır (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2010; Eren, 2011). Yanıt yüzey yönteminin sağladığı birçok avantaj bulunmaktadır. Daha az deneme yapılarak daha fazla bilgiye ulaşılmaktadır. Bağımsız değişkenlerin etkileri birlikte araştırılmaktadır. Bağımlı değişkenler ve yanıtlar arasındaki ilişki matematiksel modelle tanımlanmaktadır (Myers ve Montgomery, 1995). İlk olarak kimya endüstrisinde uygulanan yanıt yüzey yöntemi sonradan fiziksel bilimler ve mühendislik, sosyal bilimler ve gıda endüstrisini de içeren farklı alanlarda da uygulanmıştır (Eren, 2011). Yanıt yüzey yönteminin gıda alanında uygulandığı alanlardan biri de SPME tekniği kullanılarak yapılan uçucu bileşen analizinde ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesidir.

## Gıdalarda Uçucu Bileşen Analizinde Yanıt Yüzey Yönteminin Kullanılması

Gıdalarda uçucu bileşen analizlerinde SPME tekniği birçok üründe kullanılmaktadır. Uçucu bileşenlerin SPME ile ekstraksiyonunu etkileyen fiber tipi, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, örnek hacmi gibi parametreler bulunmaktadır. Uçucu bileşen analizinin doğru olarak yapılabilmesi için ekstraksiyon basamağının doğru uygulanması gerekmektedir. Bu sebeple SPME koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir. Optimizasyonda yanıt yüzey yöntemi kullanılarak deneme sayısı azaltılıp, değişkenlerin interaksiyon etkileri incelenerek optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmektedir. Yapılan literatür taramasında uçucu bileşen analizinde üzüm, bira, şarap, kahve ve et gibi çeşitli gıdalarda optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesinde yanıt yüzey yönteminin kullanıldığı görülmüştür (Tablo 2).

Tablo 2 Gıdalarda uçucu bileşen analizinde SPME koşullarının optimizasyonunda yanıt yüzey yönteminin kullanıldığı çalışmalar

Gıda	Tasarım	Bağımlı Değişken	Bağımsız Değişken	Kaynak
<i>Evodia cinsi</i> meyve	Merkezi bileşik tasarım	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı	Pellati ve ark., 2005
Yaz trüf mantarı ( <i>Tuber aestivum</i> )	Merkez tümleşik tasarım	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı	Dı'az ve ark., 2009
Arabika kahve	Merkezi tümleşik sınırlı tasarım	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı	Ribeiro ve ark., 2010
Acı biber ( <i>Capsicum frutescens</i> )	Merkez tümleşik tasarım	Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı	Junior ve ark., 2011
Salam	Merkezi bileşik tasarım	Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı	Wagner ve Franco, 2012
Şarap	Merkezi bileşik tasarım	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi NaCl miktarı	Bileşen alanı	Barros ve ark., 2012
Bira	Merkezi bileşik tasarım	Örnek hacmi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı	Rodriguez-Bencomo ve ark., 2012
Bira	Merkezi bileşik tasarım	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi PFBHA miktarı	Bileşen alanı	Moreira ve ark., 2013
Pişmiş dana eti	Merkezi tümleşik sınırlı tasarım	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı	Ma ve ark., 2013
Şarap	Merkezi bileşik tasarım	Ekstraksiyon süresi pH değeri NaCl miktarı	Bileşen alanı	Burin ve ark., 2013
Bira	D-Optimal	Fiber tipi Örnek hacmi Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi karıştırma	Bileşen alanı	Leça ve ark., 2015
Böğürtlen	Box-Behnken	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı ve furan türevi miktarı	D'Agostino ve ark., 2015
Şarap	Merkez tümleşik tasarım	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı Izoamil asetat alanı Bileşen sayısı	Arcanjo ve ark., 2015
Şarap ve üzüm	Box-Behnken	Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	İyonik şiddet	Sadoughi ve ark., 2015
Peynir	Merkez tümleşik tasarım	Dengeye geliş süresi Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen sayısı	Bezerra ve ark., 2016
Surinam kirazı ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) yaprağı	Merkezi bileşik tasarım	Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi	Bileşen alanı	Mesquita ve ark., 2017
Şeker kamışı likörü	Merkezi bileşik tasarım	Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi Desorpsiyon süresi	Bileşen alanı	Zacaroni ve ark., 2017
Beyaz peynir	Merkezi tümleşik tasarım	Ekstraksiyon sıcaklığı Ekstraksiyon süresi Karıştırma hızı	Bileşen alanı	Salum ve ark., 2017

Pellati ve ark. (2005), *Evodia* cinsi meyvedeki uçucu bileşenleri HS-SPME-GC-MS yöntemini kullanarak araştırmıştır. Ekstraksiyon koşulları yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Merkezi bileşik tasarım (Central Composite Design) kullanılarak bağımsız değişkenlerin ekstraksiyona etkisi araştırılmıştır. Yöntemde dengeye geliş süresi, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi olmak üzere 3 farklı faktör denenmiştir. Dengeye geliş süresi 1,18, 8, 18, 28 ve 34,82 dakika; ekstraksiyon sıcaklığı 29,77, 40, 55, 70 ve 80,23°C, ekstraksiyon süresi 1,59, 5, 10, 15, 18,41 dakika olarak merkezi bileşik tasarım kullanılmış ve toplam 20 deneme gerçekleştirilmiştir. Yöntemde toplam alan bağımlı değişken olarak belirlenmiş olup yanıt maksimize edilmiştir. Analizlerde PDMS, PDMS/DVB, DVB/CAR/PDMS ve CW/DVB fiberleri denenerek DVB/CAR/PDMS fiberi seçilmiştir. Ekstraksiyona etki eden faktörün ekstraksiyon sıcaklığı olduğu tespit edilmiş olup, sıcaklık artışıyla birlikte toplam uçucu bileşen alanının arttığı; ekstraksiyon süresi, dengeye geliş süresi ile interaksiyonların etkisinin olmadığı bulgulanmıştır. Optimizasyon sonucuna göre ise *Evodia* cinsi meyvelerde uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda optimum koşullar; dengeye geliş süresi 25 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı 80°C ve ekstraksiyon süresi 18 dakika olarak belirlenmiştir.

Dı'az ve ark. (2009), yaz trüf mantarındaki (*Tuber aestivum*) uçucu bileşenlerin iki farklı polaritedeki fiber kullanılarak SPME ile ekstraksiyonunu optimize etmiştir. Apolar ve absorbant karakterli PDMS fiberi ile polar, absorbant ve adsorbant karakterli CW/PDMS fiberi kullanılmıştır. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda yanıt yüzey yöntemi kullanılmıştır. Merkezi tümleşik tasarım (Rotatable Central Composite Design) dizaynından faydalanılmış olup dengeye geliş süresi, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi bağımsız değişkenleri seçilmiştir. Dizaynda dengeye geliş süresi 0-10 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı 30-70°C, ekstraksiyon süresi 5-30 dakika aralığında değiştirilmiştir. Optimizasyonda birinci yanıt PDMS fiberi kullanılarak elde edilen toplam uçucu bileşen alanı, ikinci yanıt ise CW/PDMS fiberi kullanılarak elde edilen toplam uçucu bileşen alanıdır. PDMS fiberi kullanıldığında uçucu bileşen alanına dengeye geliş süresi ile ekstraksiyon süresinin etkisinin olmadığı, ekstraksiyon sıcaklığının artışıyla uçucu bileşen alanının arttığı ve 54°C'de 30 dakikada ekstraksiyonun en etkin sonucu verdiği belirlenmiştir. CW/PDMS fiberinin ise ekstraksiyonda daha iyi sonuç verdiği, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon sıcaklığı ve dengeye geliş süresinin interaksiyon etkisinin olduğu, maksimum uçucu bileşen alanının yüksek ekstraksiyon sıcaklığı ve düşük dengeye geliş süresiyle sağlandığı bulgulanmıştır. CW/PDMS fiberiyle optimum koşulların dengeye geliş süresi yaklaşık 0 dakika ( $1,37 \times 10^{-7}$  dakika), 64,9°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 30 dakika süren ekstraksiyonla sağlandığı tespit edilmiştir.

Ribeiro ve ark. (2010), kahvedeki uçucu bileşenlerin SPME tekniğiyle ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amacıyla yanıt yüzey yöntemini kullanmıştır. Materyal olarak kavrulmuş Arabika kahvenin kullanıldığı çalışmada kahvedeki uçucu bileşenler için ön denemelerle belirlenmiş olan PDMS/DVB fiber kullanılmıştır. Kahve

örnekleri hazırlanırken 250 mg kahveye 2 ml NaCl çözeltisi eklenip 5 ml hacmindeki vialer transfer edilmiştir. Yanıt yüzey yönteminde merkezi bileşik tasarım seçilmiştir. Optimizasyon için üç farklı bağımsız değişken olarak dengeye geliş süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi kullanılmıştır. Dengeye geliş süresi 5-15 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı 30-50°C, ekstraksiyon süresi 20-30 dakika aralığında değiştirilmiştir. Toplam uçucu bileşen alanı yanıt olarak kullanılmıştır. İlk 8 dakikada çıkan uçucu bileşenler ayrı ayrı lineer olarak modellenmiştir. İlk 8 dakikada çıkan uçucu bileşenlerin ekstraksiyonuna sıcaklığın negatif, 8 ile 19 dakika arasında çıkan uçucu bileşenlere ise sıcaklığın ve ekstraksiyon süresinin pozitif etkisinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla uçucu bileşen alanını veren ekstraksiyon koşulları optimum olarak belirlenmiştir. 8 dakikalık dengeye geliş süresi, 40°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 20 dakika ekstraksiyon süresi kahvedeki uçucu bileşenlerin efektif olarak ekstraksiyonunu sağladığı bulgulanmıştır.

Junior ve ark. (2011), acı biberde (*Capsicum frutescens*) bulunan uçucu bileşenlerin HS-SPME tekniği kullanılarak ekstraksiyon koşullarını optimize etmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin etkisi yanıt yüzey yöntemi merkezi tümleşik tasarım kullanılarak araştırılmıştır. Denemelerde ekstraksiyon sıcaklığı 12-68°C, ekstraksiyon süresi 52-108 dakika aralığında değiştirilmiştir. Optimizasyon yanıtı olarak toplam uçucu bileşen alanı kullanılmıştır. Çalışmada CAR/PDMS, PDMS, DVB/PDMS, CW/DVB ve DVB/CAR/PDMS olmak üzere beş farklı fiber denenmiştir. Denenen fiberler arasında DVB/CAR/PDMS fiberi seçilmiş olup, optimizasyonda tek tip fiber kullanılmıştır. İncelenen bağımsız değişkenler olan ekstraksiyon sıcaklığının, ekstraksiyon süresinin ve interaksiyonlarının ekstraksiyona etki ettiği; ekstraksiyon sıcaklığının, ekstraksiyon süresinin pozitif etkisinin, interaksiyonun ise negatif etkisinin olduğu tespit edilmiştir. 40°C'de 80 dakika süren ekstraksiyon koşulunun en fazla uçucu bileşeni veren optimum ekstraksiyon koşulu olduğu belirlenmiştir. Ana uçucu bileşen grubu esterler olmak üzere 83 uçucu bileşen optimize edilmiş bu ekstraksiyon koşullarında belirlenmiştir.

Salam örneklerinin uçucu bileşenleri üzerine SPME tekniği kullanılarak ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin etkisi araştırılmıştır. Yanıt yüzey yöntemi merkezi bileşik tasarım kullanılmıştır. Dizaynda ekstraksiyon sıcaklığı 26-54°C, ekstraksiyon süresi 8,8-51,2 dakika arasında değiştirilmiştir. Örnek miktarı, dengeye geliş süresi ve fiber tipi değiştirilmemiştir. Analizde 5 g örnekteki uçucu bileşenler ekstraksiyon sıcaklığında 15 dakika süreyle dengeye geldikten sonra CAR/PDMS fiberi ile ekstrakte edilmiştir. Uçucu bileşenler GC-Alev İyonizasyon Dedektörü (FID) ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Optimizasyonda uçucu bileşen alanı ve aroma yoğunluğu olmak üzere iki yanıt kullanılmıştır. Optimizasyon yanıtları ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin artışıyla birlikte artmakta olup sıcaklık ve sürenin interaksiyon etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda optimal koşulların 50°C'de 45 dakika olduğu tespit edilmiştir (Wagner ve Franco, 2012).



Barros ve ark. (2012), şarap örneklerindeki uçucu bileşenlerin tespiti için GC-İyon yakalama (IT)-MS yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemle şaraplarda yüksek sayıda bulunan alkol, ester, norizoprenoid ve terpenlerin miktarının belirlenmesi mümkün olmaktadır. Yöntemde ekstraksiyon koşullarından fiber tipi, dengeye geliş süresi ve sıcaklığı, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, NaCl eklenmesi optimize edilmiştir. PDMS, PDMS/DVB, PA, DVB/CAR/PDMS, CAR/PDMS fiberleri ön denemelerde kullanılmış ve ekstraksiyonda en iyi sonucu veren DVB/CAR/PDMS fiberi kullanılarak denemeler sürdürülmüştür. Ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesinde merkezi bileşik tasarım kullanılmıştır. Dizayn içerisinde dengeye geliş süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, NaCl miktarı değişkenlerine yer verilmiştir. Merkezi bileşik tasarımda toplam 29 deneme yapılmıştır. Dengeye geliş süresi 0-20 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı 35-55°C, ekstraksiyon süresi 0,5-40,5 dakika, NaCl miktarı 0-2 g arasında değişmektedir. Optimizasyon yanıtı olarak toplam uçucu bileşen alanı kullanılmıştır. NaCl eklenmesi ve ekstraksiyon süresinin yanıtı pozitif etkisinin olduğu ve bu değişkenler arasındaki interaksiyonun önemli olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının ise yanıtı etki etmediği; ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve dengeye geliş süresi arasında interaksiyonların negatif etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Optimizasyon sonucuna göre DVB/CAR/PDMS fiberi kullanılarak 5 ml şaraba 2 g NaCl eklenip 45°C'de 5 dakika dengeye geliş ve 45°C'de 30 dakika ekstraksiyon yapılarak uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda başarılı olunmuştur. Bu yöntemle şaraplarda bulunan 64 bileşen tespit edilmiştir.

Birada bulunan uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılacak SPME tekniğinin optimizasyonunda yanıt yüzey yöntemi kullanılmıştır. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda fiber olarak DVB/CAR/PDMS seçilmiştir. Optimizasyon tekniğinde merkezi tümleşik sınırlı tasarım (Central Composite Circumscribed Design) kullanılmıştır. Çalışmada üç faktör 5 ayrı seviyede denenmiş; örnek hacmi 1, 2, 3,5, 5 ve 6 ml; ekstraksiyon sıcaklığı 31,6, 35, 40, 45 ve 48,4°C; ekstraksiyon süresi 13,2, 20, 30, 40 ve 46,8 dakika olarak dizaynda yer almıştır. Optimizasyonda yanıt olarak her bileşenin alanı ayrı ayrı yer almıştır. Ekstraksiyona örnek hacminin pozitif, ekstraksiyon sıcaklığının negatif etkisinin olduğu, ekstraksiyon süresinin ise etkisinin daha az olup seçilen bileşikler üzerine genellikle negatif etkisinin olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin interaksiyonunun seçilen bileşiklerin yarısından fazlasına etkisi olduğu, örnek hacmi ve ekstraksiyon süresinin interaksiyon etkisinin 9 uçucu bileşen için etkili olduğu tespit edilmiştir. Optimizasyonda birayı temsil eden 28 uçucu bileşene ayrı ayrı yer verildiği için her bir bileşen için ayrı ekstraksiyon koşulu belirlenmiştir (Rodriguez-Bencomo ve ark., 2012).

Biranın bayatlamasıyla ilişkilendirilen uçucu karbonil bileşikleri alkanal, alkenal, alkendial, dikarbonil bileşikler, Strecker aldehitleri, ketonlar ve furanların SPME koşulları optimize edilmiştir. Araştırmada HS-SPME tekniğinde PDMS/DVB fiberi kullanılmıştır. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu amacıyla merkezi bileşik tasarım kullanılmıştır. Çalışmada dengeye geliş süresi, ekstraksiyon sıcaklık ve süresi, karbonil

gruplarının türevlendirilmesinde kullanılan PFBHA miktarı optimizasyonda kullanılmıştır. 29 denemeyi içeren merkezi bileşik tasarımda dengeye geliş süresi 5-25 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı 30-70°C, ekstraksiyon süresi 20-60 dakika, o (2,3,4,5,6- pentaflorobenzil) hidroksilamin hidroklorür (PFBHA) miktarı 200-1000 mg/l aralığında değişmektedir. Optimizasyonda tek yanıt kullanılmış olup toplam uçucu bileşen alanı maksimize edilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, PFBHA miktarının ekstraksiyona etki ettiği ancak dengeye geliş süresinin etki etmediği belirlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin uçucu bileşen alanına pozitif etkisi olup, aralarındaki interaksiyon önemli olduğu bulgulanmıştır. PFBHA konsantrasyonunun ise uçucu bileşen alanına negatif etkisinin olduğu ve ekstraksiyon sıcaklık ve süresiyle interaksiyon etkisinin olduğu tespit edilmiştir. HS-SPME tekniğiyle kullanılan GC-IT-MS ile birada bayatlamayla oluşan uçucu karbonil bileşikler için optimal ekstraksiyon koşulları 5 ml biraya 700 mg/l PFBHA eklenmesi, 7 dakika dengeye geliş süresi ardından 45°C'de 20 dakika ekstraksiyonun PDMS/DVB fiberi ile gerçekleştirilmesiyle sağlanmıştır (Moreira ve ark., 2013).

Piştirilmiş dana etindeki aroma maddelerinin ekstraksiyonu HS-SPME-GC-MS kullanarak yanıt yüzey yöntemine göre optimize edilmiştir. DVB/CAR/PDMS fiberi analizde kullanılmıştır. Dengeye geliş süresi, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığının ekstraksiyona etkisi değerlendirilmiştir. Toplam 20 denemeyi içeren 3 faktörlü merkezi bileşik tasarım kullanılmıştır. Dengeye geliş süresi 5-10 dakika, ekstraksiyon süresi 10-50 dakika ve ekstraksiyon sıcaklığı 20-60°C arasında değiştirilmiştir. Piştirilmiş dana etinden seçilen aroma maddelerinin alanına ekstraksiyon sıcaklığının etki ettiği, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi ve dengeye geliş süresinin aralarındaki interaksiyonun da önemli olduğu bulgulanmıştır. Piştirilmiş dana etindeki optimum ekstraksiyon koşullarının 10 dakika dengeye gelme süresi, 40°C ekstraksiyon sıcaklığı, 25 dakika ekstraksiyon süresi olduğu saptanmıştır (Ma ve ark., 2013).

Şarapların lezzetine önemli etkisi olan heterosiklik bileşenlerin analizinde SPME koşullarının optimize edilmesi amacıyla yeni yöntem geliştirilmiştir. Şarap lezzetine etki eden heterosiklik bileşikler Maillard reaksiyonu ürünleri olan furan, tiyofen, tiyazol ve pirazinleri içermektedir. DVB/CAR/PDMS, PDMS/DVB, CAR/PDMS, PDMS ve PA fiberleri denenmiş ve CAR/PDMS fiberi seçilmiştir. Seçilen CAR/PDMS fiberi tüm optimizasyon denemelerinde kullanılmıştır. En iyi optimizasyon koşullarının belirlenmesi için pH, NaCl miktarı ve ekstraksiyon süresi parametreleri yanıt yüzey yönteminde kullanılmıştır. pH, NaCl miktarı ve ekstraksiyon süresinin tek başına ve interaksiyon etkilerinin de belirlenmesi için merkezi bileşik tasarım kullanılmıştır. Toplam 18 denemeyi içeren dizaynda pH 3,5, 5,5 ve 7,5; NaCl 0, 1,5 ve 3,5 g, ekstraksiyon süresi 20, 40 ve 60 dakika parametreleri kullanılmıştır. Yöntemde bağımlı değişken olarak tüm bileşiklerin pik alanının geometrik ortalaması kullanılmıştır. Ekstraksiyona pH, NaCl miktarı ve ekstraksiyon süresinin pozitif etkisi olduğu, en düşük etkiyi ekstraksiyon süresinin gösterdiği ancak interaksiyon etkisinin olmadığı

tespit edilmiştir. Analiz sonucunda maksimum ortalama alanı veren pH 5,5, 3 g NaCl ve 55 dakika süren ekstraksiyon süresi optimum SPME koşulları olarak belirlenmiştir (Burin ve ark., 2013).

Birada bulunan divinil ketonların belirlenmesi amacıyla HS-SPME-GC-MS yöntemi optimize edilmiştir. Optimizasyonda D-Optimal dizayn kullanılmıştır. Değişken olarak fiber tipi, örnek hacmi, dengeye geliş süresi, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve karıştırma seçilmiştir. Fiber olarak DVB/CAR/PDMS, CAR/PDMS, DVB/PDMS olmak üzere üç farklı fiber kullanılmıştır. Örnek hacmi olarak 5, 10 ml; dengeye geliş süresi 0, 2,5 ve 5 dakika; ekstraksiyon sıcaklığı 30, 40, 50°C; ekstraksiyon süresi 5, 15, 25 dakika, karışma sabit hızda var/yok olarak uygulanmıştır. Optimizasyon yanıtı olarak toplam pik alanı seçilmiştir. Değerlendirilen parametrelerden fiber tipi, örnek hacmi, ekstraksiyon sıcaklığının ve fiber tipi ile örnek hacmi arasında interaksiyon etkisinin, ekstraksiyon sıcaklığı ile örnek hacmi arasında interaksiyon etkisinin, dengeye geliş süresi ekstraksiyon sıcaklığı arasında interaksiyon etkisinin uçucu bileşen alanına etki ettiği tespit edilmiştir. Optimizasyon sonucunda CAR/PDMS fiberi, 5 ml örnek hacmi, 5 dakika dengeye geliş süresi, 25 dakika ekstraksiyon süresi, 30°C ekstraksiyon sıcaklığı ve karıştırma varlığında ekstraksiyon optimum ekstraksiyon koşulları olarak belirlenmiştir (Leça ve ark., 2015).

D'Agostino ve ark. (2015), böğürtlendeki uçucu bileşenlerin SPME-GC-MS ile analizi için ekstraksiyon koşullarını optimize etmişlerdir. Ekstraksiyon sıcaklığı, dengeye geliş süresi ve ekstraksiyon süresi bağımsız değişkenleri kullanılmıştır. 15 denemeyi içeren Box-Behnken dizayn kullanılarak ekstraksiyon koşulları araştırılmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığı 40-80°C, dengeye geliş süresi 10-20 dakika, ekstraksiyon süresi ise 10-30 dakika arasında değişmektedir. SPME metoduyla optimizasyon için toplam uçucu bileşen miktarı ve furan türevi miktarı maksimize edilmiştir. Toplam uçucu bileşen alanına ekstraksiyon sıcaklığının ve ekstraksiyon süresinin negatif ve ekstraksiyon sıcaklık ile süresinin interaksiyon etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Furan türevi miktarına ekstraksiyon sıcaklığının negatif etkisinin, ekstraksiyon sıcaklığı ile ekstraksiyon süresinin interaksiyon etkisinin olduğu belirlenmiştir. Analiz sonucunda 66°C ekstraksiyon sıcaklığı, 20 dakika dengeye geliş sıcaklığı ve 16 dakika ekstraksiyon süresi optimize edilmiş SPME ekstraksiyon koşulları olarak saptanmıştır.

Arcanjo ve ark. (2015), şaraptaki uçucu bileşenlerin tespiti için SPME ile ekstraksiyonun optimizasyonunu ve validasyonunu araştırmıştır. SPME ile ekstraksiyonu etkileyen parametrelerden olan dengeye geliş süresi, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresini optimize etmiştir. Merkezi tümleşik tasarımdan faydalanılmıştır. Ekstraksiyonda PDMS/CAR/DVB fiberi ön denemelerle seçilmiş olup, dengeye geliş süresi 7-23 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı 13-47°C ekstraksiyon süresi 10-60 dakika arasında değiştirilmiştir. Optimizasyonda bileşen sayısı, bileşen alanı ve isoamil asetat alanı olmak üzere üç tane yanıt kullanılmıştır. Bu yanıtlara ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, dengeye geliş süresinin negatif kuadratik etkisinin olduğu belirlenmiştir. Dengeye geliş süresi 15 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı 30°C,

ekstraksiyon süresi 35 dakika olduğunda ekstraksiyon koşulları optimumya ulaşmıştır. Uçucu bileşen analizinde optimum ekstraksiyon koşullarında 33 tane bileşen tanımlanmıştır.

Sadoughi ve ark. (2015), şarapta ve üzümde hoşagitmeyen lezzet bileşenlerinin belirlenmesi için HS-SPME-GC-MS tekniğini yanıt yüzey yöntemini kullanarak optimize etmiştir. HS-SPME-GC-MS yöntemiyle eş zamanlı olarak 2-isopropil-3-metoksipirazin, 2-isobutil-3-metoksipirazin, 3-oktanon, fenkon, 1-okten-3-on, trans-2-okten-1-ol, fenkol, 1-okten-3-ol, 2-metilisoborneol, 2,4,6-trikloroanisol, geosmin, 2,4,6-tribromoanisol ve pentakloroanisol bileşenleri analiz edilmiştir. Yöntemde DB-Wax kolon ve DVB/CAR/PDMS fiberi kullanılmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi optimizasyondaki bağımsız değişkenlerdir. Üç seviyeli faktöriyel dizaynı içeren Box-Behnken deneme dizaynı kullanılarak optimizasyon yapılmıştır. Sıcaklık olarak 30, 50, 70°C; süre olarak 30, 50 ve 70 dakika denenmiştir. Optimizasyon yanıtı olarak iyon şiddeti seçilmiştir. Üzümde ekstraksiyon sıcaklığı 2-isopropil-3-metoksipirazin, 2-isobutil-3-metoksipirazin, 3-oktanon, 1-okten-3-on, fenkol, 1-okten-3-ol, 2,4,6-tribromoanisol; ekstraksiyon süresi 2-isopropil-3-metoksipirazin, fenkon, fenkol, 1-okten-3-ol için pozitif etkiye sahip olup, interaksiyon etkisi tespit edilmemiştir. Şarapta ise ekstraksiyon sıcaklığı 3-oktanon, fenkon, 1-okten-3-ol için pozitif; 2-metilisoborneol, 2,4,6-trikloroanisol, pentakloroanisol için negatif etkiye sahip olup ekstraksiyon sıcaklığının ve interaksiyonun etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Her bileşen için ayrı optimum ekstraksiyon süre ve sıcaklığı belirlenmiş olup, tüm bileşenler göz önüne alınarak ağırlıklı ortalama ekstraksiyon sıcaklık ve süresi hesaplanmıştır. Üzüm için 66,7°C'de 65,3 dakika, şarap için ise 65,2°C'de 43,9 dakika optimum ekstraksiyon koşulu olarak belirlenmiştir.

Keçi peynirinde bulunan uçucu bileşenlerin belirlenmesinde HS-SPME tekniği kullanıldığında ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu amaçlanmıştır. Ekstraksiyon parametrelerinden olan dengeye geliş süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Çalışmada, merkezi tümleşik tasarım kullanılmış olup bağımlı değişken olarak uçucu bileşen sayısı atanmıştır. Dengeye geliş süresi olarak 3, 10, 20, 30 ve 37 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı olarak 20, 30, 45, 60 ve 70°C, ekstraksiyon süresi olarak 6, 20, 40, 60 ve 74 dakika denenmiştir. DVB/CAR/PDMS, PDMS, CW/DVB ve PDMS/DVB fiberleri denenmiş ve en iyi ekstraksiyonu sağlayan DVB/CAR/PDMS ekstraksiyonda kullanılmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresinin uçucu bileşen sayısı üzerine pozitif etkisinin olduğu ancak dengeye geliş süresinin uçucu bileşen sayısına etki etmediği; ekstraksiyon süresi ile dengeye geliş süresi arasında interaksiyonun olduğu bulgulanmıştır. 20 dakika süren dengeye geliş süresi, 45°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 40 dakika süren ekstraksiyon süresinin optimum ekstraksiyon parametreleri olduğu belirlenmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında keçi peynirinde 5 alkol, 5 ester, 3 keton, 6 asit, 3 aldehit, 3 terpen ve 7 hidrokarbon olmak üzere toplam 32 uçucu bileşen HS-SPME-GC-MS ile tespit edilmiştir (Bezerra ve ark., 2016).



Brezilya’da yerel olarak yetiştirilen Surinam kirazı (*Eugenia uniflora* L.) yaprağındaki uçucu bileşikler HS-SPME-GC-MS kullanılarak tanımlanmıştır. Çalışmada turuncu, kırmızı ve mor renkli meyveye sahip Surinam kirazı yaprağı kullanılmıştır. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyon koşullarından sıcaklık ve süre optimize edilmiştir. Çalışmada merkezi bileşik tasarım kullanılmış olup ekstraksiyon sıcaklığı 36-64°C, ekstraksiyon süresi 16-44 dakika aralığında değiştirilmiştir. Bütün denemelerde 75 µm CAR/PDMS fiberi kullanılmış, toplam uçucu bileşen alanı optimizasyon yanıtı olarak kullanılmıştır. Turuncu, kırmızı ve mor renkli meyveli Surinam kirazı yaprağında hidrokarbon monoterpenler, hidrokarbon seskiterpenler, oksijenli monoterpenler, oksijenli seskiterpenler grubundan toplam 33 farklı uçucu bileşen tespit edilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının ve süresinin uçucu bileşen alanına pozitif etkisi olduğu saptanmıştır. Optimizasyon sonucunda 0.1 g örnek CAR-PDMS fiberi ile 54°C’de 60 dakika süren ekstraksiyonun optimum koşullar olduğu belirlenmiştir (Mesquita ve ark., 2017).

Zacaroni ve ark. (2017); şeker kamışı liköründe bulunan uçucu bileşenlerin belirlenmesi amacıyla HS-SPME-GC-MS yöntemini kullanmış ve ekstraksiyon koşullarını yanıt yüzey yöntemini kullanarak optimize etmiştir. Çalışmada bağımsız değişken olarak ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi ve desorpsiyon süresi seçilmiştir. Optimizasyonda merkezi bileşik tasarım kullanılmış olup yanıt olarak toplam uçucu bileşen alanı kullanılmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığında 30, 35, 42,5, 50 ve 55°C, ekstraksiyon süresinde 13,18, 20, 30, 40 ve 47,22 dakika ve desorpsiyon süresinde ise 19, 60, 120,180 ve 221 saniye denenmiştir. Denemelerde DVB/CAR/PDMS fiberi kullanılmış olup incelenen bütün bağımsız değişkenlerin ve interaksiyonlarının ekstraksiyona etki ettiği saptanmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığının ve ekstraksiyon süresinin pozitif etkisi, desorpsiyon süresinin ise negatif etkisinin olduğu bulgulanmıştır. Şeker kamışı likörünün uçucu bileşenleri için optimum ekstraksiyon koşullarının 45°C’de 50 dakika süren ekstraksiyon ve 100 saniyelik desorpsiyon ile sağlandığı belirlenmiştir.

Beyaz peynirdeki uçucu bileşenlerin HS-SPME ile ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesi için yanıt yüzey yöntemi merkezi tümleşik tasarım kullanılmıştır. Optimizasyonda beyaz peyniri temsil eden 10 adet uçucu bileşenin (izoamil alkol, etil laktat, 2-nonanon, etil oktanoat, 2-etil-1-hegzanol, bütanoik asit, fenetil alkol, fenol, δ-dekalakton ve dekanolik asit) alanı yanıt olarak kullanılmıştır. Ekstraksiyona ekstraksiyon sıcaklığı (30-60°C), ekstraksiyon süresi (30-100 dakika) ve karıştırma hızının (250–750 1/dakika) etkisi araştırılmıştır. Çalışmada CAR/PDMS ve DVB/CAR/PDMS fiberleri için ayrı ayrı optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiş olup, 10 uçucu bileşen ayrı ayrı modellenmiştir. DVB/CAR/PDMS fiberi kullanıldığında ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin 2-etil-1-hegzanol hariç tüm bileşenlere interaksiyon etkisinin olduğu, ekstraksiyon sıcaklığı ile karıştırma hızı ve ekstraksiyon süresi ile karıştırma hızının interaksiyon etkisinin izoamil alkol, 2-

nonanon, etil oktanot ve 2-etil-1-hegzanol üstüne etkili olduğu tespit edilmiştir. CAR/PDMS fiberi kullanıldığında ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin interaksiyonunun tüm bileşenlerde etkili olduğu; ekstraksiyon sıcaklığı ve karıştırma hızının interaksiyon etkisinin izoamil alkol, fenetil alkol ve δ-dekalakton hariç 7 bileşene etki ettiği, ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızının interaksiyon etkisinin ise sadece izoamil alkol, etil laktat, 2-nonanon, etil oktanoat ve fenol üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. CAR/PDMS fiberinin düşük kaynama noktasına sahip uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda daha başarılı olduğu ve beyaz peynirle yapılacak çalışmalarda CAR/PDMS fiberinin daha uygun olduğu saptanmıştır. Optimum ekstraksiyon koşulları CAR/PDMS fiberi kullanıldığında 56.20°C’de 84,92 dakika ve 549 1/dakika hızında karıştırma ile, DVB/CAR/PDMS fiberi kullanıldığında ise 54,75°C’de 85,60 dakika ve 250 1/dakika hızında karıştırma ile sağlandığı bulgulanmıştır (Salum ve ark., 2017).

## Sonuç

Gıdalarda uçucu bileşen analizinde SPME tekniği günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. SPME ile yapılan ekstraksiyon işlemini ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, fiber tipi, örnek hacmi, karıştırma uygulanması, ortam pH değeri ve tuz eklenmesi gibi faktörler etkilemektedir. Uçucu bileşenlerin gıda matriksinden etkin olarak ekstrakte edilmesi için bu parametrelerin optimize edilmesi önem taşımaktadır. Bu amaçla gıdalarda uçucu bileşen analizinde SPME koşullarının optimizasyonunda yanıt yüzey yönteminden faydalanılmaktadır. Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak yapılan optimizasyon çalışmalarında ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresinin en çok kullanılan bağımsız değişkenler olduğu görülmektedir. Ekstraksiyonda bağımlı değişkenler olan uçucu bileşen alanı ve sayısına genellikle ekstraksiyon sıcaklığının pozitif etkisi olduğu, ekstraksiyon süresinin etkisinin ise ürün grubuna göre değiştiği saptanmıştır. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda merkezi bileşik, merkezi tümleşik, merkezi tümleşik sınırlı, Box-Behnken ve D-Optimal tasarım kullanıldığı görülmektedir. Yanıt yüzey yöntemi ile ekstraksiyonu etkileyen bağımsız değişkenlerin ayrı ayrı incelenmesi ve interaksiyon etkilerinin incelenmesi ile optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesinde yapılan deneme sayısı azalmaktadır. Bu nedenle yanıt yüzey yönteminin SPME koşullarının optimizasyonunda kullanılması araştırmacıya avantaj sağlayacaktır. Ayrıca SPME koşullarının optimizasyonunda kolaylık sağlaması nedeniyle yanıt yüzey yönteminin kullanımı SPME alanı için daha da yaygınlaşacaktır. Günümüze kadar, yanıt yüzey yöntemi kullanılarak bira, şarap, şeker kamışı likörü, peynir, böğürtlen, salam, et, kahve, biber gibi çeşitli ürün gruplarında ekstraksiyon koşullarının optimize edildiği saptanmıştır. Ancak gıdaların matriks yapılarının farklı olmaları nedeniyle değişik gıdalar için ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesi ile ilgili çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışma 16-MÜH-028 no'lu E.Ü. Bilimsel Araştırma Projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir. Proje kapsamında vermiş olduğu maddi destek için Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- Alexandrou N, Lawrence MJ, Pawliszyn J. 1992. Cleanup of complex organic mixtures using supercritical fluids and selective adsorbents. *Anal. Chem.*, 64: 301–311.
- Alver E, Demirci A, Özçimder M. 2012. Microextraction methods. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 30: 75-90.
- Anonim, 1999. Solid phase microextraction: Theory and optimization of conditions. *Bulletin 923A. Supelco, Bellefonte, Pa.*
- Anonim, 2017. Selection Guide for Supelco SPME Fibers. Erişim adresi: <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/selecting-spme-fibers.html> [Erişim tarihi: 02.03.2017].
- Arcanjo NMD, Bezerra TKA, da Silva FLH, Madruga MS. 2015. Optimization of the HS-SPME-GC/MS technique for determining volatile compounds in red wines made from Isabel grapes (*Vitis labrusca*). *Food Sci. Technol.*, 35(4): 676-682.
- Arthur CL, Pawliszyn J. 1990. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.*, 62: 2145–2148.
- Ayhan Z, Döş A. 2004. Gıdalarda katı faz mikroekstraksiyon tekniği ile flavor analizi. *Gıda*, 29(2): 169-175.
- Balasubramanian S, Panigrahi S. 2011. Solid-phase microextraction (SPME) techniques for quality characterization of food products: a review. *Food Bioprocess Tech.*, 4: 1–26.
- Barros EP, Moreira N, Pereira GE, Leite SGF, Rezende CM, de Pinho, PG. 2012. Development and validation of automatic HS-SPME with a gas chromatography-iontrap/massspectrometry method for analysis of volatiles in wines. *Talanta*, 101: 177-186.
- Bezerra TKA, Araújo ARR, Arcanjo NMD, da Silva FLH, Queiroga RDRD, Madruga MS. 2016. Optimization of the HS-SPME-GC/MS technique for the analysis of volatile compounds in caprine Coalho cheese using response surface methodology. *Food Sci. Technol.*, 36(1): 103-110.
- Box GEP, Draper NR. 2007. *Empirical Model Building and Response Surfaces*, 2nd ed. John Wiley and Sons, New York. 0471810339.
- Burin VM, Marchand S, de Revel G, Bordignon-Luiz, MT. 2013. Development and validation of method for heterocyclic compounds in wine: Optimization of HS-SPME conditions applying a response surface methodology. *Talanta*, 117: 87–93.
- Charry-Parra G, DeJesus-Echevarria M, Perez FJ. 2011. Beer volatile analysis: optimization of HS/SPME coupled to GC/MS/FID. *J. Food Sci.*, 76(2): C205-C211.
- D'Agostino MF., Sanz, J., Sanz, M.L., Giuffrè, A.M., Sicari, V., Soria, A.C., 2015. Optimization of a solid-phase microextraction method for the gas chromatography–mass spectrometry analysis of blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott) fruit volatiles. *Food Chem.*, 178:10–17.
- Dr'az P, Iba'n'ez E, Reglero, G, Sen'ora'ns, FJ. 2009. Optimization of summer truffle aroma analysis by SPME: Comparison of extraction with different polarity fibres. *LWT - Food Sci. Technol.*, 42: 1253–1259.
- Eren İ. 2011. Yağlarda membran teknolojisiyle Degumming ve asitlik giderme İşlemlerinin optimizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye.
- Fraze PA, Barkley RM, Sievers RE. 1998. Solid-phase microextraction with temperature programmed desorption for the analysis of iodination disinfection byproducts. *Anal. Chem.*, 70: 638–644.
- Ho CW, Wan Aida WM, Maskat MY, Osman H. 2006. Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC–MS) analysis of aroma compound in palm sugar (*Arenga pinnata*). *J. Food Compos. Anal.*, 19:822–830.
- Junior SB, de Melo, ADT, Zini CA, Godoy HT. 2011. Optimization of the extraction conditions of the volatile compounds from chili peppers by headspace solid phase micro-extraction. *J. Chromatogr. A.*, 1218: 3345–3350.
- Junting L, Peng C, Suzuki O. 1998. Solid-phase microextraction (SPME) of drugs and poisons from biological samples. *Forensic Sci. Int.*, 97: 93-100.
- Kataoka H, Lord HL, Pawliszyn J. 2000. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromatogr A*, 880: 35-62.
- King AJ, Readman JW, Zhou JL. 2003. The application of solid-phase micro-extraction (SPME) to the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Environ. Geochem. Health*, 25: 69–75.
- Koç B, Kaymak-Ertekin F. 2010. Yanıt yüzey yöntemi ve gıda işleme uygulamaları. *Gıda*, 35(1): 63-70.
- Leça JM, Pereira AC, Vieira AC, Reis MS, Marques JC. 2015. Optimal design of experiments applied to headspace solid phase microextraction for the quantification of vicinal diketones in beer through gas chromatography-mass spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta*, 887: 101-110.
- Lochow E, Peschmann P, Hellwig C. 2005. Determination of beer fermentation by-products via gas chromatography. *Brauwelt International*, 23: 270–1.
- Ma QL, Hamid N, Bekhit AED, Robertson J, Law TF. 2013. Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC–MS) analysis of aroma compounds in cooked beef using response surface methodology. *Microchem. J.*, 111: 16–24.
- Mesquita PRR, Nunes EC, dos Santos FN, Bastos LP, Costa MAPC, Rodrigues FD, de Andrade JB. 2017. Discrimination of *Eugenia uniflora* L. biotypes based on volatile compounds in leaves using HS-SPME/GC–MS and chemometric analysis. *Microchem. J.*, 130: 79–87.
- Mester Z, Sturgeon R. 2005. Trace element speciation using solid phase microextraction. *Spectrochim. Acta Part B*, 60: 1243–1269.
- Mestres M, Marti MP, Busto O, Guasch J. 2000. Analysis of low-volatility organic sulphur compounds in wines by solid-phase microextraction and gas chromatography. *J. Chromatogr. A*, 881: 583–590.
- Mondello L, Costa R, Tranchida PQ, Chiofalo B, Zumbo A, Dugo P, Dugo G. 2005. Determination of flavor components in Sicilian goat cheese by automated HS-SPME-GC. *Flavour Fragr. J.*, 20: 659–665.
- Moreira N, Meireles S, Brandão T, de Pinho PG. 2013. Optimization of the HS-SPME–GC–IT/MS method using a central composite design for volatile carbonyl compounds determination in beers. *Talanta*, 117: 523–531.
- Myers RH, Montgomery DC. 1995. *Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments* 3rd ed., John Wiley and Sons. New York. 978-1-119-06860-0
- Olariu RI, Vione D, Grinberg N, Arsene C. 2010. Sample preparation for trace analysis by chromatographic methods. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 33: 1174–1207.

- Pala ÇU, Yüceer YK. 2006. Katı faz mikroekstraksiyon (spme) tekniğinin aroma maddelerinin analizinde kullanımı. Erişim adresi: Dünya Gıda. <http://www.dunyagida.com.tr/haber/kati-faz-mikroekstraksiyon-spme-tekniğinin-aroma-maddelerinin/1892> [Erişim tarihi: 30.04.2017]
- Pawliszyn J. 1995. New directions in sample preparation for analysis of organic compounds. *Trends Analyt. Chem.*, 14:113-122.
- Pawliszyn J. 2000. Theory of solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. Sci.*, 38: 270-278.
- Pawliszyn J. 2012. *Handbook of Solid Phase Microextraction 1st ed.*, Elsevier Inc. USA. 978-0-12-416017-0.
- Pellati F, Benvenuti S, Yoshizaki F, Bertelli D, Rossi MC. 2005. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry analysis of the volatile compounds of *Evodia* species fruits. *J. Chromatogr. A*. 1087: 265–273.
- Picó Y, Fernández M, Ruiz MJ, Font G. 2007. Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 70: 117–131.
- Pinho O, Ferreira I, Santos L. 2006. Method optimization by solid-phase micro-extraction in combination with gas chromatography with mass spectrometry for analysis of beer volatile fraction. *J. Chromatogr A*, 1121: 145–153.
- Prosen H, Zupancic-Karlj L. 1999. Solid-phase microextraction. *Trends Analyt. Chem.*, 18(4): 272-282
- Ribeiro JS, Teófilo RF, Augusto F, Ferreira MMC. 2010. Simultaneous optimization of the microextraction of coffee volatiles using response surface methodology and principal component analysis. *Chemometr. Intell. Lab. Syst.*, 102: 45–52.
- Rodrigues F, Caldeira M, Camara JS. 2008. Development of a dynamic headspace solid-phase microextraction procedure coupled to GC–qMSD for evaluation the chemical profile in alcoholic beverages. *Anal. Chim. Acta*, 609: 82–104.
- Rodriguez-Bencomo JJ, Muñoz-González C, Martín-Álvarez PJ, Lázaro E, Mancebo R, Castañé X, Pozo-Bayón MA. 2012. Optimization of a HS-SPME-GC-MS procedure for beer volatile profiling using response surface methodology: application to follow aroma stability of beers under different storage conditions. *Food Anal. Methods*, 5: 1386–1397.
- Sadoughi N, Schmidtke LM, Antalick G, Blackman JW, Steel, CC. 2015. Gas chromatography–mass spectrometry method optimized using response surface modeling for the quantitation of fungal off-flavors in grapes and wine. *J. Agric. Food Chem.*, 63: 2877–2885.
- Salum P, Erbay Z, Kelebek H, Selli S. 2017. Optimization of Headspace Solid-Phase Microextraction with Different Fibers for the Analysis of Volatile Compounds of White-Brined Cheese by Using Response Surface Methodology. *Food Anal. Methods*, 10: 1956-1964.
- Wagner R, Franco MRB. 2012. Effect of the variables time and temperature on volatile compounds extraction of salami by solid phase microextraction. *Food Anal. Methods*, 5: 1186–1195.
- Zacaroni LM, de Sales PF, Cardoso MG, Santiago WD, Nelson DL. 2017. Response surface optimization of SPME extraction conditions for the analysis of volatile compounds in Brazilian sugar cane spirits by HS-SPME-GC–MS. *J. Inst. Brew.*, 123: 226–231.
- Zhang Y, Gao B, Zhang M, Shi J, Xu Y. 2009. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry analysis of the volatile components of longan (*Dimocarpus longan* Lour.). *Eur. Food Res. Technol.*, 229: 457–465.
- Zhang Z, Pawliszyn J. 1993. Headspace solid phase microextraction. *Anal. Chem.*, 65:1853-1860.
- Zhang Z, Yang MJ, Pawliszyn J. 1994. Solid phase microextraction. *Anal. Chem.*, 66(17): 844-852.
- Zhu JY, Chai XS. 2005. Some recent developments in headspace gas chromatography. *Curr. Anal. Chem.*, 1: 79–83.