

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SÜT ENDÜSTRİSİNDE GIDA GÜVENLİĞİ VE KALİTESİNİN
ARTTIRILMASI AMACIYLA pH, TOPLAM ASİTİDE VE YAĞ
MİKTARININ HIZLI VE EKONOMİK TAYİNİ İÇİN
OTOANALİZÖR CİHAZ GELİŞTİRİLMESİ**

ALİME GÜL GÖNEŞ

**DOKTORA TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. İBRAHİM İŞILDAK**

İSTANBUL, 2017

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SÜT ENDÜSTRİSİNDE GIDA GÜVENLİĞİ VE KALİTESİNİN
ARTTIRILMASI AMACIYLA PH, TOPLAM ASİTİDE VE YAĞ MİKTARININ
HIZLI VE EKONOMİK TAYİNİ İÇİN OTOANALİZÖR CİHAZ
GELİŞTİRİLMESİ**

Alime Gül GÖNEŞ tarafından hazırlanan tez çalışması tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Şerafettin ÇELİK
Harran Üniversitesi

Prof. Dr. Beraat ÖZÇELİK
İstanbul Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Rabia ÇAKIR KOÇ
Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Murat TOPUZOĞULLARI
Yıldız Teknik Üniversitesi



Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu 2211-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Doktora Burs Programı (2013-2) projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Öncelikle, doktora hayatımın başlamasında yaşadığım kaygıyı aşmamı sağlayıp akademik hayat için beni yönlendiren, bu alanda sahip olduğu eşsiz bilgi ve tecrübesini mütavazi bir şekilde bana aktaran, süreç boyunca yaşadığım maddi ve manevi tüm sorunları çözmemde bana yardımcı olan değerli Hocam ve sevgili büyüğüm İbrahim İŞILDAK'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora hayatım sürecinde değerli dostlukları ile moral ve motivasyon sağlayan, beni hiç yalnız bırakmayan değerli dostlarım İlkay ŞENEL'e, Zehra Tofan KESKİN'e, Ülker ARI'ya, Canan KESKİN'ne ve Sema YAŞAR'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Vildan ERCİ'ye, Hakan TURMUŞ'a, İsmail AĞIR'a, Rıdvan YILDIRIM'a, Özlem TAVUKÇUOĞLU'na teşekkür ederim.

Benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, değerli ailem ve akrabalarım Meryem AKIN, Ahmet GÖNEŞ ve Şerife GÖNEŞ'e teşekkür ederim.

Bu süreç boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, maddi manevi desteğini esirgemeyen, bu stresli ve zor süreci atlatmamda bana yardımcı olan biricik eşim, hayat arkadaşım Sadık GÖNEŞ'e sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışan ve okuyan bir anneye sabreden, çocukluklarının bir kısmı okulun bahçesinde, laboratuvarın kapısında geçen, doktora sürecinde her gün anneden ayrı kalmaya alışmaya çalışan hayatımın en değerli varlıkları, oğullarım Ahmet Said GÖNEŞ'e ve Akın GÖNEŞ'e minnet, şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Kasım, 2017

Alime Gül GÖNEŞ

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ.....	x
KISALTMA LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
ÇİZELGE LİSTESİ	xvii
ÖZET	xix
ABSTRACT.....	xxi
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	4
1.3 Orijinal Katkı	5
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER	7
2.1 Potansiyometri	7
2.1.1 Potansiyometrik Analizin İlkesi	7
2.1.2 Potansiyometrik Yöntemle pH Tayini	8
2.1.3 Potansiyometrik Asit-Baz Titrasyonları	9
2.1.3.1 pKa Tayini.....	10
2.1.3.2 Dönüm Noktası Tayini.....	10
2.3 Potansiyometrik Analizlerde Kullanılan Elektrotlar.....	12
2.3.1 Referans Elektrotlar	12
2.3.1.1 Kalomel Referans Elektrotlar.....	12
2.3.1.2 Gümüş/Gümüş Klorür Referans Elektrot.....	14
2.3.1.3 Standart Hidrojen Elektrotu	15
2.3.2 Potansiyometrik İndikatör Elektrotlar	17
2.3.2.1 Metalik İndikatör Elektrotlar	17

2.3.2.2	İyon Seçici Alan Etkili Transistörler (ISFET)	18
2.3.2.3	Membran İndikatör Elektrotlar	19
2.4	İyon Seçici Elektrotlar (İSE).....	20
2.4.1	İyon Seçici Elektrotların Özellikleri.....	20
2.4.1.1	İyon Seçici Elektrotların Membran özellikleri.....	20
2.4.1.2	İyon Seçici Elektrotların Çalışma Prensibi	21
2.4.1.3	İyon Seçici Elektrotların Avantaj ve Dezavantajları.....	22
2.4.2	İyon Seçici Elektrotların Sınıflandırılması	23
2.4.2.1	Cam İyon-Seçici Elektrotlar.....	23
2.4.2.2	Kristal Membran İyon Seçici Elektrotlar	24
2.4.2.3	Sıvı Membran İyon Seçici Elektrotlar	24
2.4.2.4	Gaz ve Enzim İyon Seçici Elektrotlar.....	25
2.4.2.5	Kompozit Elektrotlar.....	26
2.4.3	İyon Seçici Elektrotların Performans Özellikleri	27
2.4.3.1	Seçicilik.....	27
2.4.3.2	Cevap Zamanı	29
2.4.3.3	Tayin Limiti	29
2.4.3.4	Tekrarlanabilirlik	30
2.4.3.5	Çalışma Ömrü	30
2.4.3.6	Doğrusal Çalışma Aralığı.....	30
2.4.4	pH Elektrotların Uygulama Alanları	31
2.5	Süt ve Süt Analizleri	31
2.5.1	Endüstriyel Olarak Kullanılacak Çiğ Sütte Aranacak Kriterler.....	32
2.5.1.1	Sütte Yapılan Duyusal Testler	33
2.5.1.2	Sütte Yapılan Fiziksel Testler	34
2.5.1.3	Sütte Yapılan Kimyasal Testler	36
2.5.2	Sütte pH Tayini.....	38
2.5.2.1	pH' ın Tanımı.....	38
2.5.2.2	pH' ın Önemi	39
2.5.2.3	pH' ın Ölçüm Yöntemleri	39
2.5.2.3.1	İndikatör Metot	40
2.5.2.3.2	Potansiyometrik Metot.....	40
2.5.2.4	Süt ve Süt Ürünlerinde pH Ölçümü	41
2.5.3	Sütte Toplam Asitlik Tayini	41
2.5.3.1	Toplam Asitlik Tanımı.....	41
2.5.3.2	Toplam Asitlik Tayininin Önemi	42
2.5.3.3	Toplam Asitlik Tayininin Ölçüm Yöntemleri.....	43
2.5.4	Süt Yağı ve Analizi	45
2.5.4.1	Süt Yağının Önemi.....	45
2.5.4.2	Süt Yağının Kimyasal Özellikleri	47
2.5.4.3	Süt Yağının Fiziksel Özellikleri.....	49
2.5.4.4	Süt Yağ Analizinde Kullanılan Yöntemler	50
2.6	Sıralı Enjeksiyon Analizi (SEA).....	51
2.6.1	SEA Yönteminin Temel Prensipleri	52
2.6.2	SEA Sisteme Etki Eden Faktörler	55
2.6.3	SEA Sisteminin Teknik Ekipmanları	57
2.6.3.1	Çoklu Enjeksiyon Valfi.....	57
2.6.3.2	Peristaltik Pompa	58
2.6.3.3	Dedektör.....	59
2.6.3.4	Diğer Bileşenler	59

2.6.4	SEA Sisteminin Optimizasyonu	59
2.6.5	SEA Uygulamaları.....	59
2.6.6	SEA Titrasyonları	60

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD.....	65
3.1 Materyal	65
3.1.1 Kullanılan Kimyasallar.....	65
3.1.2 Kullanılan Cihazlar.....	65
3.1.3 Kullanılan Bilgisayar Yazılımları.....	66
3.1.4 Kullanılan Süt Örnekleri.....	66
3.2 Metod	66
3.2.1 Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	66
3.2.2 pH Elektrot Hazırlanması	66
3.2.3 Hareketli Ortam Tasarımı	69
3.2.3.1 Akış Hücresinin Tasarımı	69
3.2.3.2 SEA Akış Sisteminin Tasarımı	70
3.2.4 SEA Sistemde Toplam Asitlik Tayini	71
3.2.5 SEA Sisteminde pH Tayini	72
3.2.6 SEA Sisteminde Yağ Analizi	73

BÖLÜM 4

BULGULAR VE TARTIŞMA	74
4.1 pH Elektrotların Potansiyometrik Davranışları ve Doğrusal pH Aralığı..	74
4.1.1 Karışım-1 ile Hazırlanan pH Elektrotun Potansiyometrik Davranışı ve Doğrusal pH Aralığı.....	74
4.1.2 Karışım-2 ile Hazırlanan pH Elektrotun Potansiyometrik Davranışı ve Doğrusal pH Aralığı.....	76
4.1.3 Karışım-3 ile Hazırlanan pH Elektrotun Potansiyometrik Davranışı ve Doğrusal pH Aralığı	77
4.2 Kompozit pH Elektrotların Tekrarlanabilirliği	78
4.2.1 Karışım-1 ile Hazırlanan pH Elektrotun Tekrarlanabilirliği	78
4.2.2 Karışım-2 ile Hazırlanan pH Elektrotun Tekrarlanabilirliği	79
4.2.3 Karışım-3 ile Hazırlanan pH Elektrotun Tekrarlanabilirliği	80
4.3 pH Elektrotların Cevap Zamanı	81
4.3.1 Karışım-1 ile Hazırlanan pH Elektrotun Cevap Zamanı	82
4.3.2 Karışım-2 ile Hazırlanan pH Elektrotun Cevap Zamanı	82
4.3.3 Karışım-3 ile Hazırlanan pH Elektrotun Cevap Zamanı	83
4.4 SEA Sistemde Kullanılan pH Elektrotun Çalışma Ömrü	85
4.5 SEA Sisteminin Optimizasyonu	90
4.5.1 Taşıyıcı Faz Derişiminin Optimizasyonu	91
4.5.2 Örnek Derişiminin Optimizasyonu.....	92
4.5.3 Akış Hızının Optimizasyonu	94
4.5.4 Enjeksiyon Hacminin Optimizasyonu	96
4.5.5 pH Analizi İçin Enjeksiyon Hacminin Optimizasyonu	98
4.5.6 Sistem Tasarımlarının Optimizasyonu	100
4.6 SEA Sistemi ile Sütte Toplam Asitlik, pH ve Yağ Tayini.....	104
4.6.1 SEA Sistem Kullanılarak Sütte Toplam Asitlik Tayini.....	104

4.6.2	SEA Sistem Kullanılarak Sütte pH Tayini	120
4.6.3	SEA Sistem Kullanılarak Sütte Yağ Tayini	134
4.7	pH, Toplam Asitlik ve Yağ Tayini İçin Lab-on-çip Tasarımı	139
BÖLÜM 5		
SONUÇ VE ÖNERİLER.....		141
KAYNAKLAR		146
ÖZGEÇMİŞ		154



SİMGE LİSTESİ

Ag	Gümüş
Cd	Kadmiyum
$C_{\max}$	Maksimum Konsantrasyon
Cl	Klor
Cu	Bakır
dk	Dakika
E_{ind}	İndikatör Elektrot
E_m	Membran Potansiyeli
E_j	Tuz Köprüsü
E_{ref}	Referans Elektrot
Fe	Demir
g	Gram
k_a	Asit İyonlaşma Sabiti
k_b	Baz İyonlaşma Sabiti
k_{sp}	Bir katının çözünürlük çarpımı K_{sp}
L	Litre
La	Lantan
mm	Milimetre
mV	Milivolt
NaOH	Sodyum Hidroksit
Pb	Kurşun
S	Kükürt
s	Saniye
t_{95}	Cevap zamanı
μL	Mikrolitre
ΔE	Potansiyel Farkı
ΔV	Hacim Farkı

KISALTMA LİSTESİ

AV	Anisidin Sayısı
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
FFA	Serbest Yağ Asidi
FIA	Flow Injection Analyses
FIM	Girişim Yapan İyonun Ana İyon Çözeltisine İlavesi Metodu
iR	Ohmik Damla
İSE	İyon-Seçici Elektrotlar
ISFET	İyon Seçici Alan Etkili Transistörler
Lab-on-çip	Laboratuvar Çipi
MOSFET	Metal Oksit Alan Etkili Transistör
MPM	Eş Potansiyel Metodu
MSM	Ana İyonun Girişim Yapan İyon Çözeltisine İlavesi Metodu
pH	Hidrojen Gücü
PMM	Polimetil Metakrilat
PV	Peroksit Sayısı
SE	Sıralı Enjeksiyon
SEA	Sıralı Enjeksiyon Analizi
SHE	Standart Hidrojen Elektrotu
SSM	Ayrı Çözelti Metodu
⁰ SH	Soxhlet-Henkel Derecesi
THF	Tetrahidrofuran
t testi	Bağımsız İki Örnek Testi

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Potansiyometrik analizler için bir hücre 7
Şekil 2.2	Potansiyometrik titrasyon için düzenek9
Şekil 2.3	Titrasyonda potansiyelin madde hacmine göre değişim eğrisi11
Şekil 2.4	Titrasyonda potansiyelin madde hacmine göre değişimi; birinci türev eğrisi11
Şekil 2.5	Titrasyonda potansiyelin madde hacmine göre değişimi, ikinci türev eğrisi12
Şekil 2.6	Tipik ticari doygun kalomel elektrot13
Şekil 2.7	Kalomelin kristal yapısı14
Şekil 2.8	Gümüş/gümüş klorür referans elektrot15
Şekil 2.9	Tipik bir standart hidrojen elektrotu16
Şekil 2.10	Bir metal oksit alan etkili transistör (MOSFET)19
Şekil 2.11	pH ölçümünde kullanılan bir iyon-seçici alan etkili transistör (ISFET)19
Şekil 2.12	İyon-seçici elektrot kullanılarak oluşturulan potansiyometrik hücrenin şeması21
Şekil 2.13	Cam elektrot23
Şekil 2.14	Gaz duyarlı iyon seçici elektrot26
Şekil 2.15	Kompozit elektrot26
Şekil 2.16	Seçicilik katsayısının kalibrasyon grafiği28
Şekil 2.17	Cevap zamanı29
Şekil 2.18	İyon seçici elektrotların tayin limitinin belirlenmesi için örnek grafik30
Şekil 2.19	Doğrusal çalışma aralığı31
Şekil 2.20	Piknometre34
Şekil 2.21	Süt analizi için refraktometre35
Şekil 2.22	İndikatör yöntem ile pH tayini40
Şekil 2.23	Laktozun laktik asite parçalanması42
Şekil 2.24	Süt asitliğinin tespiti için titrasyon yöntemi43
Şekil 2.25	Süt yağının kimyasal gösterimi47
Şekil 2.26	Sütte yağ oranı analizinin akış şeması50
Şekil 2.27	Bütirometre ile sütte yağ analizi51
Şekil 2.28	SEA sisteminin şematik gösterimi52
Şekil 2.29	Sıralı Enjeksiyon (SE) sistemlerinin çalışma prensibinin şematik gösterimi53
Şekil 2.30	SEA sinyali54
Şekil 2.31	Akış enjeksiyon analizlerinde numune hacminin etkisi55
Şekil 2.32	Sıralı enjeksiyon (SE) sistemlerinde numunenin dağılımı56
Şekil 2.33	SEA sisteminin elemanlarını gösterildiği şematik çizim57

Şekil 2.34	Çoklu enjeksiyon valfi çalışma örneği.....	57
Şekil 2.35	Çoklu enjeksiyon valfi	58
Şekil 2.36	Peristaltik pompa	58
Şekil 3.1	pH elektrotun hazırlanma aşaması.....	67
Şekil 3.2	Hazırlanan pH elektrot karışımının borulara doldurulması	68
Şekil 3.3	Borulara doldurulmuş olan pH elektrot materyalin sıkıştırılması	68
Şekil 3.4	Katı kontak hazırlanması	69
Şekil 3.5	Tasarlanmış olan akış hücresi	70
Şekil 3.6	SEA sistemin son tasarımı	71
Şekil 3.7	Süt örneklerinin fenolftalein kullanılarak titrasyonu	72
Şekil 3.8	Süt örneklerinin pH metre ile ölçümü.....	72
Şekil 3.9	Tasarlanan mini bütirometre.....	73
Şekil 4.1	Karışım-1 ile hazırlanan pH elektrodun durgun ortamda pH 2-12 arasında potansiyometrik davranışı	75
Şekil 4.2	Karışım-1 karışımı ile hazırlanan kompozit pH elektrotun doğrusal pH aralığı	75
Şekil 4.3	Karışım-2 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında potansiyometrik davranışı	76
Şekil 4.4	Karışım-2 karışımı ile hazırlanan kompozit pH elektrotun doğrusal pH aralığı	77
Şekil 4.5	Karışım-3 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında potansiyometrik davranışı	77
Şekil 4.6	Karışım-3 karışımı ile hazırlanan kompozit pH elektrotun doğrusal pH aralığı	78
Şekil 4.7	Karışım-1 ile hazırlanmış pH elektrotun tekrarlanabilirlik testi.....	79
Şekil 4.8	Karışım-2 ile hazırlanmış pH elektrotun tekrarlanabilirlik testi.....	80
Şekil 4.9	Karışım-3 ile hazırlanmış pH elektrotun tekrarlanabilirlik testi.....	81
Şekil 4.10	Karışım-1 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında zamana göre potansiyometrik davranışı	82
Şekil 4.11	Karışım-2 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında zamana göre potansiyometrik davranışı	83
Şekil 4.12	Karışım-3 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında zamana göre potansiyometrik davranışı	83
Şekil 4.13	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 10^{-1} M asetik asit çözeltisi 15 μ L hacim 15 μ L/s hızla enjeksiyon (1-17.enjeksiyonlar).....	86
Şekil 4.14	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 μ L 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 15 μ L/s hızla sisteme enjeksiyon (18-27.enjeksiyonlar) .	86
Şekil 4.15	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 μ L 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 15 μ L/s hızla sisteme enjeksiyon (28-37.enjeksiyonlar) .	87
Şekil 4.16	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 μ L 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 15 μ L/s hızla sisteme enjeksiyon (38-53.enjeksiyonlar) .	87
Şekil 4.17	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 μ L 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 15 μ L/s hızla sisteme enjeksiyon (54-62.enjeksiyonlar) .	88
Şekil 4.18	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 μ L 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 15 μ L/s hızla sisteme enjeksiyon (63-72.enjeksiyonlar) .	88
Şekil 4.19	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 μ L 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 15 μ L/s hızla sisteme enjeksiyon (73-82.enjeksiyonlar) .	89
Şekil 4.20	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 μ L 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 15 μ L/s hızla sisteme enjeksiyon (83-92.enjeksiyonlar) .	89

Şekil 4.21	Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 μL 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 15 $\mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (93-100.enjeksiyonlar).....	90
Şekil 4.22	SEA sisteme 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, hareketli faz olarak 10^{-4} M NaOH kullanılarak, 15 μL 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	91
Şekil 4.23	SEA sisteme, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, hareketli faz olarak 10^{-3} M NaOH kullanılarak, 15 μL 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	92
Şekil 4.24	SEA sisteme, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, 15 μL 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar	93
Şekil 4.25	SEA sisteme, 10^{-2} M asetik asit çözeltisinin 15 μL sinin, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	93
Şekil 4.26	SEA sisteme, 10^{-3} M asetik asit çözeltisinin 15 μL sinin, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	94
Şekil 4.27	SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin 15 μL , 5 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	95
Şekil 4.28	SEA sisteme, 15 μL , 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin 10 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	95
Şekil 4.29	SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin 15 μL , 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	96
Şekil 4.30	SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin 10 μL , 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu ile oluşan flowgramlar	97
Şekil 4.31	SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin 15 μL , 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	97
Şekil 4.32	SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin 20 μL , 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar.....	98
Şekil 4.33	SEA sisteme pH analizi için 20 μL örnek hacmi enjeksiyonu ile oluşan flowgramlar	99
Şekil 4.34	SEA sisteme pH analizi için 40 μL örnek hacmi enjeksiyonu ile oluşan flowgramlar	99
Şekil 4.35	SEA sisteme pH analizi için 60 μL örnek hacmi enjeksiyonu ile oluşan flowgramlar	100
Şekil 4.36	SEA sistemde kullanılan bir holding coil	101
Şekil 4.37	SEA sistemde kullanılan mini kolon	101
Şekil 4.38	Holding coil eklenerek tasarlanan SEA sisteme, 15 μL hacminde sütün, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar ..	103
Şekil 4.39	2 cm uzunluğundaki mini kolon eklenerek tasarlanan SEA sisteme, 15 μL hacminde sütün, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar	103
Şekil 4.40	1 cm uzunluğundaki mini kolon eklenerek tasarlanan SEA sisteme, 15 μL hacminde sütün, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar	104
Şekil 4.42	1.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	106
Şekil 4.44	2.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	107
Şekil 4.45	3.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği	108

Şekil 4.46	3.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	108
Şekil 4.47	4.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği	109
Şekil 4.48	4.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	109
Şekil 4.49	5.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği	110
Şekil 4.50	5.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	110
Şekil 4.51	6.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği	111
Şekil 4.52	6.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	111
Şekil 4.53	7.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği	112
Şekil 4.54	7.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	112
Şekil 4.55	8.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği	113
Şekil 4.56	8.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	113
Şekil 4.57	9.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği	114
Şekil 4.58	9.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	114
Şekil 4.59	10.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği	115
Şekil 4.60	10.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği).....	115
Şekil 4.61	Süt örneklerinin fenolftalein kullanılarak titrasyonu	116
Şekil 4.62	SEA ile titrasyon sonuç histogramı	117
Şekil 4.63	Fenolftalein ile titrasyon sonuç histogramı.....	118
Şekil 4.64	SEA ile titrasyon (SEAT) ve fenolftalein ile titrasyon (FFT) sonuçlarının Box and Whiskers grafiği ile karşılaştırılması.....	119
Şekil 4.65	Süt örneklerinin SEA ile titrasyon ve fenolftalein ile titrasyonu sonuçlarının şematik gösterimi	120
Şekil 4.66	1.Süt örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı	121
Şekil 4.67	1.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi	121
Şekil 4.68	2.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı	122
Şekil 4.69	2.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi	122
Şekil 4.70	3.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı	123
Şekil 4.71	3.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi	123
Şekil 4.72	4.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı	124
Şekil 4.73	4.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi	124
Şekil 4.74	5.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı	125

Şekil 4.75	5.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi125
Şekil 4.76	6.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı126
Şekil 4.77	6.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi126
Şekil 4.78	7.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı127
Şekil 4.79	7.Süt örneğinin SEA sistem ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi127
Şekil 4.80	8.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı128
Şekil 4.81	8.Süt örneğinin SEA sistem ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi128
Şekil 4.82	9.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı129
Şekil 4.83	9.Süt örneğinin SEA sistem ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi129
Şekil 4.84	10.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı130
Şekil 4.85	10.Süt örneğinin SEA sistem ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi130
Şekil 4.86	SEA sistem ile yapılan pH ölçüm sonuçlarının normal dağılımı132
Şekil 4.87	Cam elektrot ile yapılan pH ölçüm sonuçlarının normal dağılımı132
Şekil 4.88	SEA ile pH tayini sonuçlarının cam elektrot ile pH tayini sonuçları ile Box and Whiskers grafiği ile karşılaştırılması.....133
Şekil 4.89	Süt örneklerinde SEA sistem ile ölçülen pH değeri ve cam elektrot ile ölçülen pH değerlerinin şematik gösterimi.....134
Şekil 4.91	Tasarlanan mini bütirometre ile süt yağı tayini135
Şekil 4.92	Gerber yöntemi ile süt yağı tayini.....136
Şekil 4.93	SEA sistem ve Gerber yöntemi ile yağ analizi sonuçlarının Box and Whiskers grafiği ile karşılaştırılması137
Şekil 4.94	Gerber yöntemi ve SEA sistem ile yağ analizi sonuçlarının şematik gösterimi138
Şekil 4.95	pH ve toplam asitlik analizleri için tasarlanmış olan lab-on-çip139
Şekil 4.96	Sütte yağ analizinin yerinde yapılabilmesi için tasarlanan lab-on-çip ..139

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1	Bileşim ve sıcaklığın fonksiyonu olarak kalomel referans elektrotların elektrot potansiyelleri (potansiyel SHE' e karşı)14
Çizelge 2.2	Bileşimin ve sıcaklığın fonksiyonu olarak Ag/AgCl ⁺ referans elektrotların elektrot potansiyelleri (potansiyel SHE' e karşı)15
Çizelge 2.3	Optimal iyon seçici elektrot membran kompozisyonu25
Çizelge 2.4	Çeşitli canlılardan elde edilen sütlerin ana besin içerikleri miktarları...32
Çizelge 2.5	Farklı hayvan cinslerinin süt yoğunlukları34
Çizelge 2.6	Donma noktası ile süte katılan su miktarı arasındaki ilişki35
Çizelge 2.7	Sütte indirgeme testleri37
Çizelge 2.8	25 °C' de asidik ve bazik çözeltilerin pH skalası.....38
Çizelge 2.9	Bazı sıvıların pH değeri38
Çizelge 2.10	Bazı süt ve ürünlerine ait pH değerleri41
Çizelge 2.11	Asitlik dereceleri ve sütün özellikleri43
Çizelge 2.12	Titrasyon asitliği değerleri karşılaştırması.....44
Çizelge 2.13	Çeşitli süt ve süt ürünlerinde bulunması gerekli yağ miktarları46
Çizelge 2.14	Süt yağında bulunan bileşimler.....48
Çizelge 2.15	Süt yağında bulunan yağ asitlerinin kompozisyonu49
Çizelge 2.16	SEA sistem kullanılarak gıdalarda inorganik madde tayini.....62
Çizelge 2.17	SEA sistem kullanılarak gıdalarda organik madde tayini.....63
Çizelge 4.1	Karışım-1 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler79
Çizelge 4.2	Karışım-2 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler80
Çizelge 4.3	Karışım-3 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler81
Çizelge 4.4	Karışım-1, karışım-2, karışım-3 ile hazırlanmış olan pH elektrotların potansiyometrik performans özellikleri85
Çizelge 4.5	1 cm boyutlarında mini kolon eklenmiş üçüncü tasarım SEA sistemin hacimsel verileri.....102
Çizelge 4.6	Süt örneklerinin fenolftalein ile titrasyonu ve SEA sistem ile titrasyonu sonucu bulunan % asitlik oranları.....116
Çizelge 4.7	SEA sistem ile titrasyon (SEAT) ve fenolftalein ile titrasyon (FFT) sonuçlarının normallik dağılımı.....117
Çizelge 4.8	Levene testi ve t testi sonuçları.....119
Çizelge 4.9	Süt örneklerinde SEA sistem kullanılarak elde edilen pH değerler ile cam elektrot kullanılarak elde edilen pH değerleri.....131

Çizelge 4.10	Shapiro-Wilk testi ile SEA yöntemi ile pH analizi ve cam elektrot ile pH analizi sonuçlarının normal dağılım testi	131
Çizelge 4.11	Süt örneklerinde SEA sistem ile elde edilen yağ miktarları ile Gerber yöntemi ile elde edilen yağ miktarları	136
Çizelge 4.12	Shapiro-Wilk testi ile SEA sistemi ve Gerber yöntemi ile yağ analizi sonuçlarının normal dağılım testi	137



ÖZET

SÜT ENDÜSTRİSİNDE GIDA GÜVENLİĞİ VE KALİTESİNİN ARTTIRILMASI AMACIYLA pH, TOPLAM ASİTİDE VE YAĞ MİKTARININ HIZLI VE EKONOMİK TAYİNİ İÇİN OTOANALİZÖR CİHAZ GELİŞTİRİLMESİ

Alime Gül GÖNEŞ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK

Çalışmada; sütte toplam asitlik ve pH' ın eşzamanlı ölçümü için yeni bir yöntem tarif edilmektedir. Üç farklı kompozisyonda ve farklı şekillerde hazırlanan kompozit pH elektrot test edildi. pH elektrotların potansiyometrik performans özellikleri bilgisayar kontrollü çok kanallı potansiyometre sistemi kullanılarak incelendi. En iyi potansiyometrik performans %12.50 işlem görmüş trimetilhidrokinon, %12.50 işlem görmemiş trimetilhidrokinon, %25 grafit ve %50 polimetil metakrilat birleştirilerek hazırlanan pH elektrottan elde edildi. pH ve referans elektrot için sıralı enjeksiyon analiz sistemde kullanılmak üzere akış hücresi tasarlandı. Özellikle total asitlik tayininde etkinliği artırmak için, üç farklı mini-kolon sıralı enjeksiyon analiz sistemde akış yoluna uygulandı. Toplam asitlik, pH ve yağ analizi ölçümlerinin optimizasyonunda, mobil faz konsantrasyonu, enjeksiyon hacmi, taşıyıcı faz akış hızı, minyatür kolonun uzunluğu, akış yolunun uzunluğu gibi bazı temel parametreler incelendi. Akış sistemine uygun tasarlanan mini bütirometre sisteme entegre edildi. Geliştirilen sıralı enjeksiyon analiz sistemi, toplam asitlik, pH ve sütte yağ analizleri için farklı süt örneklerine uygulandı. Elde edilen tüm sonuçlar SPSS programı yardımıyla analiz edildi. Geliştirilen yöntemle süt örneklerinden elde edilen sonuçlar klasik titrasyon yöntemi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı. Birbirleri ile uyumlu olduğu bulundu. Süt örneklerinden elde edilen pH sonuçları ve ticari bir cam pH elektrotu ile elde edilen sonuçlar kıyaslandığında anlamlı bir fark gözlenmedi. Süt örneklerinden elde edilen yağ oranı sonuçları Gerber yöntemiyle tekrarlandı. Tüm sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu tespit edildi. Geliştirilen yöntemle elde edilen veriler, pH, toplam asitlik ve yağ oranı tayinlerini ekonomik, hızlı ve doğru bir şekilde düşük hacimli süt örneklerinde eşzamanlı olarak ölçülebileceğini ve geleneksel yöntemlerin yerine kullanılabilme potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Sıralı enjeksiyon analiz, eşzamanlı ölçüm, pH ve toplam asitlik, kompozit pH elektrot, yağ analizi.



ABSTRACT

THE DEVELOPMENT OF AN AUTO-ANALYZER DEVICE FOR FAST AND ECONOMIC ANALYSIS OF pH, TOTAL ACIDITY AND FAT RATIO IMPROVING THE FOOD SAFETY AND QUALITY IN DAIRY INDUSTRY

Alime Gül GÖNEŞ

Bioengineering Department

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK

In this study; A new simultaneous method measuring total acidity and pH of milk is described. Three composite pH electrodes in different composition and production phase were tested. Potentiometric performance characteristics of the pH electrodes in the stagnant environment were examined by using a computer-controlled multi channel potentiometer system. The best potentiometric performance was obtained from the electrode prepared by combining 12.50% treated trimethylhydroquinone, 12.50% untreated trimethylhydroquinone, 25% graphite and 50% polymethyl methacrylate. A flow-cell has been designed for pH and reference electrodes for the sequential injection analysis. Three different miniature columns were applied in the flow-line to improve the efficiency of total acidity measurement in the sequential injection analysis system. Some main parameters such as volume of injection, flow-rate of carrier, length of miniature column, length of tubing as they are assumed highly influential in simultaneous measurement of total acidity, pH and fat ratio analyses were examined for the optimization. During the trials, mobile phase concentration and sampling rate were also taken into account to obtain best titration peak curve. The mini buretometer designed for the flow system is integrated into the system. Finally the developed sequential injection analysis system was applied to different milk samples for total acidity, pH and total fat ratio analyses. Results obtained by both methods were analyzed by SPSS software. The obtained results by the developed method were compared with the results obtained by classical titration method and found to be compatible with each other. pH results of milk samples that they are simultaneously measured in the system developed were also compared with the results obtained by a commercial glass pH electrode. The obtained pH results were also found to be compatible with each other. Fat ratio results of milk samples that are obtained by Gerber method, found to be

compatible with each other. In sight of obtained data, the method developed in the present study will ensure some advantages such as economy, fast and precise measurement of pH, total acidity and fat ratio simultaneously in low volume milk samples, and might have potential to replace by the conventional methods.

Keywords: Sequential injection analysis, simultaneous measurement, pH and total acidity, composite pH electrode, fat ratio analysis.



BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Günümüzün en önemli konularının başında, gıda güvenliğinin sağlanması ve kalitesinin artırılması gelmektedir. İçerdiği besin öğeleri nedeniyle mikrobiyal gelişime uygun bir ortam olması, sütte gıda güvenliği ve kalitesi konusunu diğer ürün gruplarına göre daha önemli bir hale getirmektedir. Sütün kontamine olması ile organoleptik değişimler meydana gelmekte ve en önemlisi süt, patojen mikroorganizmaları taşıyan bir risk materyali halini almaktadır. Bununla birlikte, süt endüstrisi uygulamalarında süt ve süt ürünlerinin kalitesini birinci derecede etkileyen unsur sütün içerdiği yağ oranıdır. Sütün fiyatlandırılmasında, süt ürünlerinin tüketicinin arzu edeceği kalite ve standartta üretilmesinde sütün yağ oranı en önemli yeri tutmaktadır [1].

Süt işletmelerinde ham süt alımından başlayan proses boyunca pH, titrasyon asitliği (toplam asitlik), yağ, protein, kuru madde oranı ve antibiyotik testi gibi sütün kalite ve güvenilirliğini ortaya koyan çok sayıda önemli parametrenin rutin olarak izlenmesi gereklidir [2]. Sektörel uygulamalar, Türk Gıda Kodeksi Mevzuatı ve ISO 22000 uygulamaları esas alınarak incelendiğinde, çiğ süt için en önemli kontrol parametrelerinin; süt pH ve titrasyon asitliği ile yağ oranı olduğu vurgulanmaktadır [3]. Bu parametreler süt ve süt ürünlerinin tat ve tekstürel yapısına doğrudan etki etmektedir [4], [5]. Bu parametrelerin takibi için çok sayıda yöntem geliştirilmiştir.

Sütte pH ölçümü, süt asitliğinin tanımlanmasında en önemli parametredir. pH daha az değişken bir yapı gösterdiğinden sütte asitlik tayininde ilk tespit edilmesi gereken kriter olarak yerini almıştır. Çiğ sütün pH' ı türler arasında pek farklılık göstermemekle

beraber bu değer inek sütü için ortalama 6.6-6.8 ve keçi sütü için 6.3-6.7 arasındadır [6]. Kimyasal ve biyolojik sistemlerde pH ölçümü iki yolla yapılmaktadır; kolorimetrik ve potansiyometrik yöntemler [7], [8].

Sütte toplam asitlik tayini iki yöntemle yapılmaktadır. Ampirik usullerle sütün asitidesinin tayini için kaynatma deneyi, alkol deneyi ve fosfat deneyi uygulanmaktadır. Titrimetrik yöntem ile sütün asitidesinin tayini; titre edilen asitide veya laktik asit cinsinden, Soxhlet-Henkel cinsinden asitidenin tayinidir [7], [8]. Asit-baz titrasyonunun temel prensibi, oldukça eskiye dayanmakla birlikte günümüzde de değişmeden devam etmektedir [9]. Ülkemizde sütte toplam asitliği belirlemek amacıyla titrimetrik yöntemler daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem manuel bir uygulama olması, indikatörün renk değişim aralığının nitel yargılara dayanması nedeniyle tam ve doğru sonuçların alınmasına engel teşkil etmektedir [10]. Bununla birlikte, düşük düzeylerdeki asit içeriğine karşı duyarlı olmamakla birlikte örnek ve kimyasal sarfiyatı fazladır [11]. Toplam asitlik tayininde daha nicel yaklaşımlara ihtiyaç duyulmuş ve yeni teknikler geliştirilmeye başlanmıştır. Bunlardan biri de SEA sistem ile analizdir [12].

Süt yağı, sütün ekonomik önemini belirleyen değişken olarak fiyatlandırmada belirleyici öğedir [13]. Sütte yağ analizi için çeşitli yöntemler mevcuttur; Babcock, Roese, Gottlieb ve Gerber yöntemleri. Ülkemizde sütte yağ analizi Gerber yöntemi ile yapılmaktadır [7],[8].

Çözeltide yer alan çeşitli iyonlardan genel olarak bir iyonla karşı belirli bir seçicilik gösteren elektrokimyasal sensörlere “İyon-Seçici Elektrotlar (İSE)” denir [14]. Teixeira vd. Fe₂O₃ katı bazlı karbon-epoksi bileşiğinden ürettikleri elektrotun sonuçlarını cam elektrot ile karşılaştırdıklarında 39.7± 0.6 mV/pH doğrusal eğimi hesaplamışlardır. Elektrotun ömrünü 8 ay olarak tespit etmişlerdir [15]. Glanc-Gostkiewicz vd. yapmış oldukları çalışmada metal oksit (RuO₂) bazlı pH elektrotun duyarlılığını 30 mV/pH olarak tespit etmişlerdir [16]. Hosseini vd. triacetylcellulose membran bazlı yaptıkları pH sensörün pH aralığını 4-12 olarak, elektrotun cevap süresini 1 dakikaya yakın olarak tespit etmişlerdir [17]. Kahlert, Prksen vd. quinhidron/grafit temelli yaptıkları pH elektrotu FIA sistemde kullanmışlar, 50 µL 0.1 M KCl enjeksiyonunda elektrotun 50.6 mV/pH hassasiyet ile sonuç verdiğini tespit etmişlerdir [18].

Sıralı Enjeksiyon Analizi (SEA) akış esaslı, mikrolitre ölçülerde örnek ve reaktan ile çalışmaya olanak sağlayan bir yöntemdir. SEA sistemi tek kanallı akışı ile analitik

tespitler ve proses kontrolünü otomatize etmek amacıyla kullanılır [19]. SEA Sistemi kullanım kolaylığı sağlaması, düşük bakım ihtiyaçları, sağlamlığı, minyatürize edilmiş olmasından kaynaklı düşük reaktan hacmi ile çalışmaya imkan tanınması gibi avantajlar sağlayan bir sistemdir. Enjeksiyon ve akış merkezi bir program yardımıyla yapılır, kimyasal sensörler ve yapısal elemanlar analize uygun olarak dizayn edilir. Farklı kimyasal biçimleri ihtiva eden matris içinden çoklu analiz yapmaya imkan tanır [20], [21]. Analizde örnekleme, kimyasal türetme, seyreltme, standart ekleme gibi proses koşulları SEA sistemin yazılımı sayesinde değiştirilebilir [19].

SEA sistemi ile dilüsyon, diyaliz, gaz difüzyon, ekstraksiyon (sıvı/sıvı, gaz/sıvı, katı faz), enzimatik ve immünolojik tahliller ile çeşitli online operasyonlar incelenebilmektedir [22]. Silva vd., [23] SEA sistemi kullanarak yaptıkları çalışmada suda sülfid analizi yaptılar. Themelis vd., [24] SEA sistem yardımı ile ürede fosfat tayini yaptılar. Staden ve Tlowana [25], SEA sisteme dedektör olarak spektrofotometre ekleyerek gübrede çinko analizi yaptılar. Oms vd., [26] SEA sisteme spektrofotometre ekleyerek çevreden topladıkları çeşitli örneklerde amonyum tayini yaptılar. Anthemidis vd. [27] atomik absorpsiyon spektrofotometresi ekleyerek su örneklerinde arsenik tayini yaptılar. Nielsen ve Hansen [28], SEA sisteme elektro-termal atomik absorpsiyon spektrofotometresi ekleyerek deniz suyu ve atık sularda krom (IV) analizi yaptılar. Theodoridis vd. [29] SEA sistemde dedektör olarak HPLC kullanarak kola, sprit ve kahvede kafein tayini yaptılar. Min vd. [30] SEA sistemde *Penicillium Chrysogenum* kültürasyonu sırasında glikoz ve penisil miktarındaki değişimi gözlediler.

SEA sistemi kullanılarak titrasyon analizleri otomatize edilebilmektedir. Silva vd. [31] SEA sistem ile birlikte fotometre kullanarak meyve sularında toplam asitlik tayini yaptılar. Fletcher ve Staden [32], SEA sistemde titrasyon yaparak su örneklerinde karbonat ve hidrokarbonat analizi yaptılar. SEA sistemi optimize ederken 33.33 µL/s akış hızı ile 167 µL hacimde örnek kullanımını uygun buldular. Vieira vd. [33], SEA sistem ile titrasyon yaparak süt ve şaraptaki klorid miktarını tayin ettiler. Bunun için 1.0×10^{-3} mol/L standard NaCl taşıyıcı olarak kullanarak, akış hızı olarak 32 µL/s ve örnek hacmi olarak 256 µL kullandılar. Elde ettikleri sonuçların, yaptıkları standart analizden %95 güven aralığında belirli bir farkının olmadığını saptadılar. Rujirallal vd. [34] yaptıkları çalışmada SEA sistem kullanarak meyve sularında toplam asitlik tayini yaptılar. 25 µL örnek hacmi ile 150 µL/s akış hızında yaptıkları denemelerde 7 örnekle çalıştılar. Bulunan sonuçların standart titrasyon sonuçlarından 2.3-7.1 standart sapma

aralığında olduğunu tespit ettiler. Staden vd. [35] SEA sistemde titrasyon yöntemini kullanarak sirke örneklerinde asetik asit miktarı tayini yaptılar. Örnek hacmi; 454 μ L, akış hızı; 2.27 mL/min (37.83 μ L/s) kullandılar. 28 örnekte asetik asit miktarını 1-9 g/100 mL aralığında olduğunu saptadılar.

Silva vd. [36], yaptıkları çalışmada SEA sistemi kullanarak elektrolitik sıvılarda pH tayini yaptılar. Örnek hacmi olarak 500 μ L, akış hızı olarak 9.10 ml/dk (152 μ L/s) kullandılar. 48 örnekte yaptıkları analizi cam elektrotla kıyasladılar ve anlamlı bir fark olmadığını tespit ettiler.

Ayyıldız [37] yaptığı çalışmada akış enjeksiyon analiz (FIA) sistemine HPLC modifiye ederek ayçiçeği, mısır, soya, kanola, yer fıstığı gibi yemeklik yağlardaki serbest yağ asidi (% FFA), peroksit sayısı (PV) ve anisidin sayısı (AV) tayinlerini yaptı. Akış hızı 2 ml/dk (33 μ L/s), reaktif hacmi 30 μ L kullandı.

1.2 Tezin Amacı

Günümüzün en önemli konularının başında, gıda güvenliğinin sağlanması ve kalitesinin artırılması gelmektedir. İçerdiği besin öğeleri nedeniyle mikrobiyal gelişime uygun bir ortam olması, sütte gıda güvenliği ve kalitesi konusunu diğer ürün gruplarına göre daha önemli hale getirmektedir. Sütün kontamine olması ile organoleptik değişimler meydana gelmekte ve en önemlisi süt, patojen mikroorganizmaları taşıyan bir risk materyali halini almaktadır. Bununla birlikte, süt endüstrisinde süt ve süt ürünlerinin kalitesini birinci derecede etkileyen unsur sütün içerdiği yağ oranıdır. Sütün fiyatlandırılmasında, süt ürünlerinin tüketicinin arzu edeceği kalite ve standartta üretilmesinde süt yağ oranı en önemli yeri tutmaktadır.

Bütün bu nedenlerden dolayı, süt işletmelerinde ham süt alımından başlayan proses boyunca pH, titrasyon asitliği (toplam asitide), yağ, protein, kuru madde oranları ve antibiyotik testi gibi sütün kalite ve güvenilirliğini ortaya koyan çok sayıda önemli parametrenin rutin olarak izlenmesi gereklidir. Sektörel uygulamalar, Türk Gıda Kodeksi Mevzuatı ve ISO 22000 uygulamaları esas alınarak incelendiğinde, çiğ süt için en önemli kontrol parametrelerinin; süt pH' ı, % süt asitliği ve yağ oranı olduğu vurgulanmaktadır. Bu parametrelerin takibi için çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Halihazırda kullanılan analiz yöntemlerinin uzun sürmesi ve bu süre içerisinde sütlerin beklemesi mikrobiyal yükün artmasına neden olmaktadır. Mevcut analiz yöntemlerinin

çoğunda ölçümlerin nitel bir özellik göstermesi sonuçların hassasiyetinin düşük olmasına, dolayısıyla optimizasyon ve standardizasyonun sağlıklı yapılamamasına ve gıda güvenliğinde sorunlar yaşanmasına sebep olabilmektedir.

Mevcut çalışmada; gıda güvenliği ve sağlığı yönünden önem arz eden pH, toplam süt asitliği ve yağ oranı parametrelerinin eşzamanlı olarak takip eden yeni bir otoanaliz yönteminin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Otoanalizörde, tarafımızdan geliştirilen mikro boyutlarda pH sensörü ve mini boyutlarda tasarlanan bütirometrenin Sıralı Enjeksiyon Analiz (SEA) sistemi ile birlikte çalışması amaçlanmıştır. Sensörler vasıtasıyla sütün pH ve toplam asitliği; mini bütirometre vasıtasıyla da sütün yağ içeriğinin analizi hedeflenmektedir. Mevcut çalışmada, SEA sisteminde, pH, toplam asitide (titrasyon asitliği) ve sütte yağ oranı test sonuçlarının bir/iki dakika içerisinde eşzamanlı olarak nicel ölçümü hedeflenmektedir. Özet olarak; gıda zincirinde gıda güvenliği ve kalitesinin artırılmasına yönelik olarak çalışmada aşağıda yer alan temel hedeflere ulaşılması amaçlanmıştır;

1. Sütün bileşenlerinin (kimyasal ve biyolojik) tespiti için yapılan pH, % süt asitliği ve yağ oranı analizlerinin eşzamanlı gerçekleştirilmesi,
2. Geliştirilen otoanalizör sistemle sözü edilen ajanların kısa sürede ve düşük maliyette belirlenmesi,
3. Ölçümlerin nicel ve standart olması,
4. Geliştirilen hızlı otoanalizör sistemin doğruluk ve hassasiyet yönünden validasyonunun sağlanmasıdır.

1.3 Orijinal Katkı

Çalışmada; süt endüstrisinde yasal zorunluluklar ve kalite standartları çerçevesinde rutin olarak yapılan pH, toplam asitlik ve yağ oranı analizlerinin otomatize edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; tamamı laboratuvarımızda geliştirilen yeni yaklaşım, uzun ömürlü, küçük ve hassas ISE sensörler, tarafımızca tasarlanan mini bir bütirometre ile birlikte, düşük hacim çalışmalarına olanak tanıyan, tasarımı ve kullanımı kolay, yeni bir teknoloji olan SEA (sıralı enjeksiyon analiz) sisteme entegre edilmiştir. Geliştirilen otoanalizörde kullanılan bileşenler düşük maliyetli olup uzun ömürlü ve hızlı sonuç elde edilmesine imkan tanımaktadır. Sanayiye yönelik yapılan araştırmalarda halihazırda bu analizlerin genelde manuel olarak klasik yöntemlerle yapıldığı bilinmektedir. Piyasada

bu parametreleri tespit eden cihazların maliyetlerinin yüksek, optimizasyonlarının zor olması ve bazı analizlerde düzgün sonuç verirken bazılarında hata paylarının yüksek olması sebebi ile kullanımı azdır. Ayrıca literatür incelendiğinde, bu üç parametreyi birlikte analiz eden, kullandığı bileşenler ile maliyeti düşük uzun ömürlü, doğru ve nicel sonuçlar veren bir sistemin bulunmadığı tespit edilmiştir.

Geliştirilen sistem; optimizasyon parametrelerinin değiştirilmesi suretiyle başta içecek sektörü olmakla üzere diğer gıda sektörlerinde hammadde, proses ara ürünlerinin ve nihai ürünlerin, pH, asitlik ve yağ miktar analizleri için de kullanılabilecektir.

Ülkemizde sanayiye yönelik hammaddeden başlayarak nihai ürüne kadar ürün güvenliği ve kalitesinin kontrol ve takibinin yapılmasında yeni yaklaşım analiz metotlarının ilki olacağı düşünülmektedir.

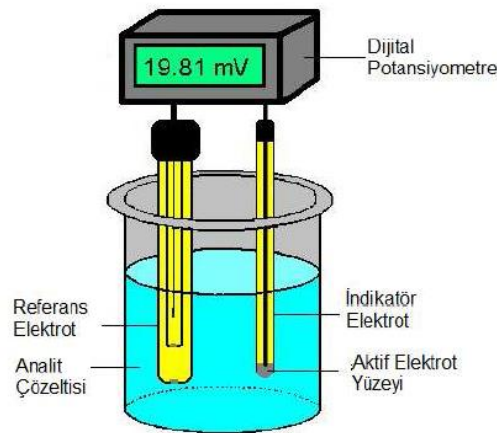
2.1 Potansiyometri

Bir referans ve bir çalışma elektrotu kullanılarak oluşturulan sistemle, analiz edilmesi amaçlanan çözeltide bulunan iyon miktarlarının nicel olarak ölçülmesini sağlayan analitik metotlar potansiyometrik metotlar olarak adlandırılmaktadır [38].

2.1.1 Potansiyometrik Analizin İlkesi

Potansiyometrik analizler; düşük akım varlığında sistemde bulunan referans elektrot ile indikatör elektrotun arasında ortamda bulunan iyonların oluşturduğu potansiyel farkın ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Hücrede temel olarak referans elektrot (E_{ref}), tuz köprüsü (E_j), analit çözeltisi, indikatör elektrot (E_{ind}) bulunmaktadır.



Şekil 2.1 Potansiyometrik analizler için bir hücre [39]

Sistemde bulunan referans elektrot (E_{ref}); elektrot potansiyeli bilinen, analizi yapılacak olan çözeltinin özelliklerinden veya içeriğinde bulunan diğer iyonların bileşiminden bağımsız olan ve daima anot olarak işlev gören bir yarı hücredir. İndikatör elektrot (E_{ind}); elektroaktif iyonun aktivitesine bağlı bir potansiyel oluşturan oldukça seçici bir yarı hücredir. Analit çözelti ile referans elektrot çözeltisinin karışmasını önleyen bileşen tuz köprüsüdür (E_j). E_j potansiyeli genellikle ihmal edilebilecek kadar küçük değerler gösterdiği için elektroanalitik çözümlemelerde göz ardı edilir. E_{ind} ölçülmesi hedeflenen analit çözeltinin konsantrasyonu ile ilişkilidir [40].

$$E_{hücre} = E_{ind} - E_{ref} + E_j \quad (2.1)$$

2.1.2 Potansiyometrik Yöntemle pH Tayini

pH; bir çözeltide bulunan hidronyum iyonlarının aktivitelerinin 10 tabanına göre logaritmasının eksi işaretlisi olarak ifade edilmektedir.

$$pH = -\log a [H^3O^+] \quad (2.2)$$

Bir çözeltinin pH' ını potansiyometrik yöntemlerle ölçmek için hidronyum iyonlarına duyarlı bir pH elektrotu ile referans bir elektrota ihtiyaç duyulmaktadır. Referans elektrotun potansiyeli bilinmektedir, pH elektrotun bulunan potansiyeli ile pH hesaplanmaktadır. pH' ı belli olan S olarak ifade edilen standart çözeltisi için pH tayini;

$$E_s = E'_0 - \frac{2,3026 RT}{F} \log (a_{H_3O^+})_s + E^s + \frac{2,3026 RT}{F} \log P H_2 (atm) \quad (2.3)$$

$(a_{H_3O^+})$ = Standart çözeltinin hidronyum iyonu aktivitesi

E^s = Likit temas potansiyeli

$$E_x = E'_0 - \frac{2,3026 RT}{F} \log (a_{H_3O^+}) + E_l^x + \frac{2,3026 RT}{F} \log P H_2 (atm) \quad (2.4)$$

x olarak ifade edilen bir çözeltiden, pH' ı bilenen bir standart çözeltinin elektromotor kuvveti birbirinden çıkarılarak pH hesaplanırsa;

$$E_x - E^s = \frac{2,3026 RT}{F} (pH_x - pH_s) \quad (2.5)$$

$$pH_x = pH_s + \frac{F(E_x - E^s)}{2,3026 RT} \quad (2.6)$$

pH_s = Standart tampon çözeltisinin pH' ı

E_s = Standart tampon çözeltisinin elektromotor kuvveti

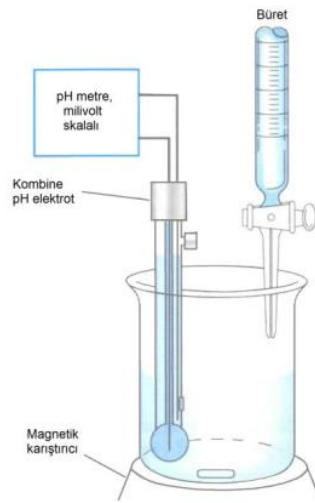
pH_x = Bilinmeyen çözeltinin pH' ı

E_x = Bilinmeyene çözeltinin elektromotor kuvveti

pH ölçümlerinde pH' ı belli referans standart çözeltinin sabit standart potansiyel ($E_0 + E_{x1}$) yerine kullanılmasında doymuş kalomel elektrotların daima aynı şekilde tekrar edilememeleri, cam elektrotların potansiyellerinin değişken olması gibi sebepler yer almaktadır [41].

2.1.3 Potansiyometrik Asit-Baz Titrasyonları

Bir asit çözeltisine bir baz veya bir baz çözeltisine bir asit çözeltisinin yavaş yavaş eklenmesi suretiyle absis eksenini reaktif miktarını, ordinat eksenini de pH değerlerini gösteren bir nötralleşme eğrisi çizilir. Nötralleşme noktası eğri üzerinde bir infleksiyon noktası şeklinde belirlenir. Bu nokta yardımı ile çözeltideki toplam asit veya baz bulunur. Asit veya bazın kuvveti nötralleşme eğrisinin görüntüsünü etkilemektedir [41], [42].



Şekil 2.2 Potansiyometrik titrasyon için düzenek [43]

2.1.3.1 pKa Tayini

Zayıf asit ve bazların potansiyometrik yöntem kullanılarak titrasyonu ile dissosiyasyon sabitleri ve eşdeğer gramları bulunabilmektedir. Zayıf bir asitin dissosiyasyon sabitinin negatif logaritmasını bulmak için, asit ayarlı kuvvetli bir bazla potansiyometrik yöntemle titre edilir. Yarı nötralleşme noktasındaki pH değeri asitin pKa değerini vermektedir.

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (2.7)$$

Yarı Titrasyonda;

$$[A^-] = [HA] \quad (2.8)$$

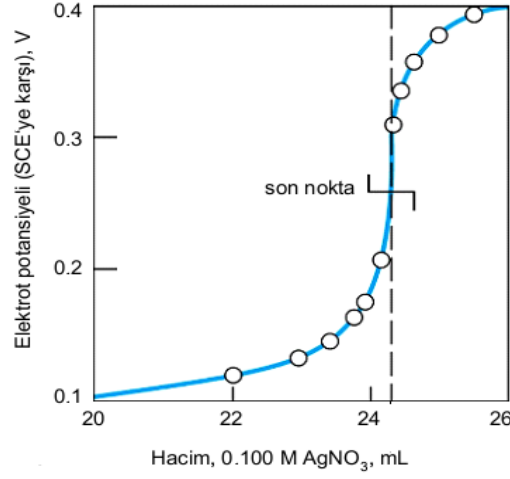
$$K_a = [H^+] \quad (2.9)$$

$$pK_a = pH \quad (2.10)$$

Bir zayıf bazın bir kuvvetli asitle nötralleşmesi bir zayıf asitin kuvvetli bir bazla nötralleşmesi ilkesine dayanmaktadır. Nötralleşme eğrileri görünüşü ters taraftan olmaktadır ve $[H_3O^+]$ yerine $[OH^-]$ iyonları baz alınmaktadır. k_a yerine ise k_b ifadesi kullanılmakta ve asit konsantrasyonu yerine bazın konsantrasyonu alınmaktadır [41], [42].

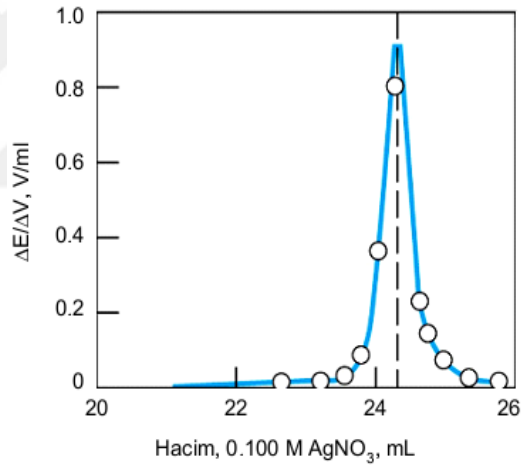
2.1.3.2 Dönüm Noktası Tayini

Potansiyometrik titrasyonlarda dönüm noktası tayini için bir kaç yöntem öngörülmektedir. En yaygın olarak kullanılan yöntem (Şekil 2.3) titrant hacmine karşı potansiyelin doğrudan grafiğinin çizilerek eğrinin sıçrama yaptığı bölgenin orta noktasının gözle tespit edilmesi ve dönüm noktası olarak belirlenmesidir.



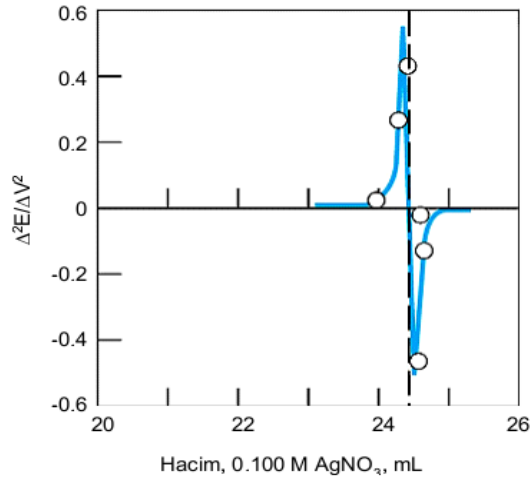
Şekil 2.3 Titrasyonda potansiyelin madde hacmine göre değişim eğrisi [44]

Diğer bir yöntem ise (Şekil 2.4) birim titrant hacmine karşı potansiyeldeki değişimin ($\Delta E/\Delta V$) grafiği çizilir. Bu veriler ışığında, ortalama hacmin (V) bir fonksiyonu olarak grafiği büküm noktasına karşı gelen maksimumu gösteren eğri elde edilir.



Şekil 2.4 Titrasyonda potansiyelin madde hacmine göre değişimi; birinci türev eğrisi [44]

Bir başka yöntem ise (Şekil 2.5) titrant hacmine göre potansiyelin ve hacmin ikinci türevi ($\Delta^2 E/\Delta V^2$) alınarak $\Delta^2 E/\Delta V^2$ sıfır olduğu nokta eşdeğerlik noktası olarak alınır [40].



Şekil 2.5 Titrasyonda potansiyelin madde hacmine göre değişimi, ikinci türev eğrisi [44]

2.3 Potansiyometrik Analizlerde Kullanılan Elektrotlar

2.3.1 Referans Elektrotlar

Elektrot potansiyeli bilinen, kullanımı sırasında potansiyeli değişmeden kalabilen, potansiyeli üzerinde çalışılan çözeltinin türüne, içeriğindeki analit veya diğer iyonların konsantrasyonuna bağlı olmayan elektrotlara “referans elektrotlar” bir başka ifade ile “Karşılaştırma Elektrotları” denir [45].

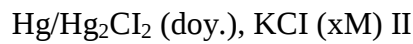
Analizden doğru ölçüm sonuçları elde etmek için bir referans elektrot;

1. Potansiyelinin sıcaklık değişimlerinden etkilenme katsayısı küçük olmalıdır.
2. Laboratuvar ortamında kolaylıkla hazırlanabilmelidir.
3. İçinden küçük akım geçtiğinde bile gerilimi sabit kalmalı, belli bir akım aralığında tersinir olmalıdır
4. Potansiyeli zamanla değişmemelidir.
5. Doğru ve tekrarlanabilir ölçümler alınabilmelidir [42].

2.3.1.1 Kalomel Referans Elektrotlar

Doygun kalomel elektrot kolay hazırlanan bir elektrot olduğu için yaygın olarak kullanılmaktadır ve potansiyeli 25°C ' de 0.2444 V ' dur.

Bir kalomel elektrotun şematik gösterimi;



şeklindedir. Burada gösterilen x; potasyum klorürün molar konsantrasyonu (0.1 M, 1.0 M ve doymuş olmak üzere üç konsantrasyonu yaygın olarak kullanılır) ifade eder.

Kalomel yarı-hücreinde elektrot reaksiyonu;

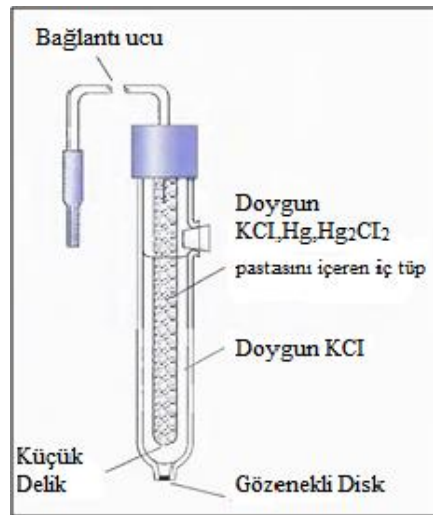


Nernst Eşitliği:

$$E = E^0_{Hg_2Cl_2/Hg} - 0,0592 \log Cl \quad (2.12)$$

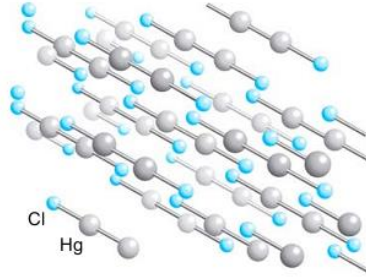
Kalomel elektrotun dezavantajı; oldukça büyük bir sıcaklık katsayısına sahip olmasıdır. Özellikle büyük sıcaklık değişimlerinin yaşandığı analizlerde bu durum sağlıklı sonuçların alınmasını engellemektedir.

Şekil 2.6' da piyasada bulunan tipik bir kalomel elektrot görülmektedir. Bu elektrotun boyu 5 ile 10 cm arasında, çapı 0.5-1.0 cm aralığında değişebilmektedir. İçteki tüpte doymuş potasyum klorürdeki civa/civa(I) klorür pastası vardır ve bu küçük bir delik ile dış tüpte yer alan doymuş potasyum klorür çözeltisiyle temas etmektedir. Bir metal uç iç tüpteki karışıma daldırılmıştır. Analit çözelti ile temas en dış kısımda bulunan gözenekli disk yardımıyla olmaktadır [46].



Şekil 2.6 Tipik ticari doymuş kalomel elektrot [46]

Kalomelin (Hg_2Cl_2) sudaki çözünürlüğü çok azdır, $K_{sp} = 1.8 \times 10^{-18}$. Kristal yapısı Şekil 2.7' de görülmektedir [46].



Şekil 2.7 Kalomelin kristal yapısı [46]

Çizelge 2.1’ de en çok kullanılan üç kalomel elektrotun bileşimleri ve elektrot potansiyelleri görülmektedir [40] .

Çizelge 2.1 Bileşim ve sıcaklığın fonksiyonu olarak kalomel referans elektrotların elektrot potansiyelleri (potansiyel SHE’ e karşı) [40]

Sıcaklık °C	0.1 M Kalomel	3.5 M Kalomel	Doygun Kalomel
12	0.3362		0.2528
15	0.3362	0.254	0.2511
20	0.3359	0.252	0.2479
25	0.3356	0.250	0.2444
30	0.3351	0.248	0.2411
35	0.3344	0.246	0.2376

2.3.1.2 Gümüş/Gümüş Klorür Referans Elektrot

Doygun kalomel elektrotta benzer bir sistem olup bir gümüş telin yüzeyinin elektro-kaplama yöntemi kullanılarak AgCl ile kaplanması sonucu üretilmektedir. Elektrot potansiyeli 25 °C sıcaklıkta 0.199 V’ dur. Referans elektrotun potansiyeli doldurma çözeltisindeki klorür iyonunun konsantrasyonuna bağlıdır. Yarı reaksiyon;



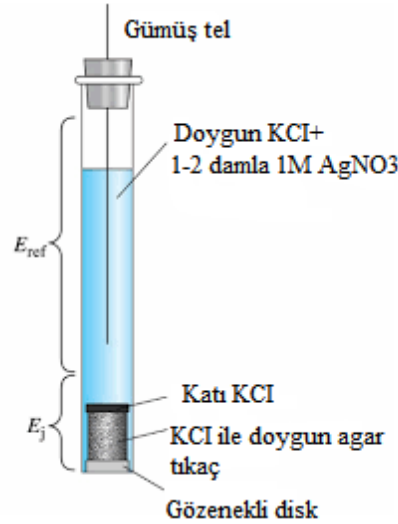
Piyasada mevcut olan çeşitli gümüş/gümüş klorür elektrotlar Çizelge 2.2’ de gösterilmektedir. [40].

Çizelge 2.2 Bileşimin ve sıcaklığın fonksiyonu olarak Ag/AgCl⁺ referans elektrotların elektrot potansiyelleri (potansiyel SHE' e karşı) [40]

Sıcaklık °C	3.5 M Ag/AgCl ⁺	Doygun Ag/AgCl ⁺
15	0.212	0.209
20	0.208	0.204
25	0.205	0.199
30	0.201	0.194
35	0.197	0.186

Gümüş/gümüş klorür referans elektrotun, basit, ucuz, kararlı olması, toksik etki göstermemesi, geniş sıcaklık aralığında çalışılabilmesi ve küçük boyutlarda da üretilmesi analizler açısından en önemli avantajlardır. KCl, pH ölçümlerinde girişim yapmaz ve potasyum iyonu ile klorür iyonu mobiliteleri eşit derecede birbirine yakındır, bu sebeple gümüş/gümüş klorür referans elektrotta KCl en çok kullanılan elektrolittir. Bununla birlikte, gümüş/gümüş klorür referans elektrottun en büyük dezavantajı; dış çözelti ile teması sağlayan gözenekli tıkaçın çözünmeyen gümüş kompleksleri ile tıkanma durumudur.

Elektrotun hücre ile bağlantısını gözenekli bir tuz köprüsü sağlamaktadır. Tipik bir Ag/AgCl elektrot Şekil 2.8' de görülmektedir. Çözelti ile elektrotun teması gözenekli disk sayesinde gerçekleşmektedir [42].



Şekil 2.8 Gümüş/gümüş klorür referans elektrot [46]

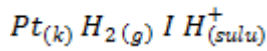
2.3.1.3 Standart Hidrojen Elektrotu

Standart hidrojen elektrotu (SHE) bir gaz elektrotu olup, pH ölçümü ve bağıl yarı-hücre potansiyeli üzerine yapılan çalışmalarda kullanılmaktadır. Diğer referans elektrotların

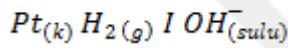
potansiyelleri SHE' ye göre belirlenmektedir, bu sebeple bu elektrota “primer referans elektrot” da denir. Diğer referans elektrotlar ise “sekonder referans elektrotlar” olarak adlandırılır [42].

Bir standart hidrojen elektrotu kullanıldığı yarı-hücresinin özelliğine göre anot veya katot gibi hareket edebilir. Hidrojen, anotta hidrojen iyonuna yükseltgenirken katotta ise bunun tersi bir reaksiyon gerçekleşir.

Asidik hidrojen elektrotu; denge reaksiyonu:



Bazik hidrojen elektrotu; denge reaksiyonu:



Denklemler incelendiğinde; platin yüzeyde oluşan potansiyel çözeltideki hidrojen iyonu konsantrasyonuna ve çözeltiyi doymun hale getirmek için kullanılan hidrojenin kısmi basıncına bağlı olduğu görülmektedir.

Bir standart hidrojen elektrotunda iletken kısım, platin levha ve bunun kloroplatinik asit (H_2PtCl_4) kullanılarak elektrokimyasal indirgenme reaksiyonu sonucu ince platin tozları ile kaplanmasıyla oluşturulmuştur [46].



Şekil 2.9 Tipik bir standart hidrojen elektrotu [46]

Ancak SHE' lerin sahip oldukları dezavantajlar sebebiyle kullanımları sınırlıdır. Bunlar;

1. Hazırlanma ve çalıştırılma aşamalarında yaşanan zorluklar
2. Yükseltgen ve indirgen maddelere karşı aşırı duyarlı olması
3. Toksik etki meydana getirebilmesi [42].

2.3.2 Potansiyometrik İndikatör Elektrotlar

Potansiyometrik indikatör elektrotlar; çözelti içinde ölçülmesi amaçlanan kimyasal türün konsantrasyonu ile orantılı potansiyel üreten, potansiyometrik hücre içindeki kimyasal elektrotlardır. İndikatör elektrot potansiyeli Nernst eşitliği ile tanımlanmaktadır.

Elektrokimyasal elektrotların çalışma modu, geleneksel elektro-analitik laboratuvar ilkelerine dayanmaktadır. Elektrokimyasal hücreler bir indikatör bir de referans olmak üzere iki elektrotun konfigürasyonu sonucu çalışabilirler. Bu hücrenin tam olarak çalışabilmesi için akım yoğunlukları referans denge potansiyelinin doğru ölçülebilmesini sağlayacak şekilde yeterince düşük olmalıdır. Çözelti boyunca oluşan ohmik damla (iR) potansiyostat tarafından uygulanan potansiyeli önemli ölçüde değiştirmez.

Metalik, membran ve iyon seçici alan etkili transistör (ISFET) olmak üzere üç çeşit indikatör elektrot bulunmaktadır [47].

2.3.2.1 Metalik İndikatör Elektrotlar

Metalik indikatör elektrotlar; birinci sınıf, ikinci sınıf ve inert redoks elektrotlar olmak üzere üçe ayrılır.

Birinci Sınıf Elektrotlar

Birinci sınıf elektrotlar (örneğin; Ag/Ag⁺) çözeltide katyonuyla doğrudan dengede bulunan saf metal parçasıdır. Potansiyel ara yüzey denge denklemi;



Elektrot potansiyeli denkliği ;

$$E = E^0 - \frac{2.303 RT}{nF} \log \frac{1}{a_{M^{n+}}} \quad (2.17)$$

E^0 = standart elektrot potansiyeli

$$\frac{2.303 RT}{nF} = \text{Nernst faktörü}$$

$a_{M^{n+}}$ = Metal iyon aktivitesi

Birinci sınıf elektrotlar seçici olmayıp kendi katyonu dışında kolay indirgenen katyonlara da cevap vermektedir. Metaller çözünme özellikleri sebebi ile her çözeltide kullanılamazlar. Örneğin; çinko gibi asitte çözünen metaller sadece bazik veya nötral çözeltilerde kullanılabilir. Metaller kolay yükseltgenme özellikleri sebebiyle sadece havası giderilmiş çözeltilerde kullanılabilir. Bu dezavantajları sebebiyle birinci sınıf elektrotlar pratikte yaygın olarak kullanılmamaktadır [40], [47].

İkinci Sınıf Elektrotlar

Katyonlarla oldukça az çözünen tuz veya kararlı kompleksler oluşturan anyonların (örneğin Ag/AgCl) aktivitelerinin tayini için kullanılırlar.

Gümüş iyon konsantrasyonu:



Elektrot potansiyel denklemi:

$$E = E_{Ag}^0 + 0,05916 \log K_{sp} - 0,05916 \log Cl^- \quad (2.19)$$

Elektrot potansiyeli gümüş iyon aktivitesini etkileyen her türden kompleksten etkilenmektedir. Bu koşullar altında Ag/AgCl elektrot doğrudan test çözeltisine daldırılmaz, bir tuz köprüsüne bağlanmalıdır [40], [47].

Redoks Elektrotlar

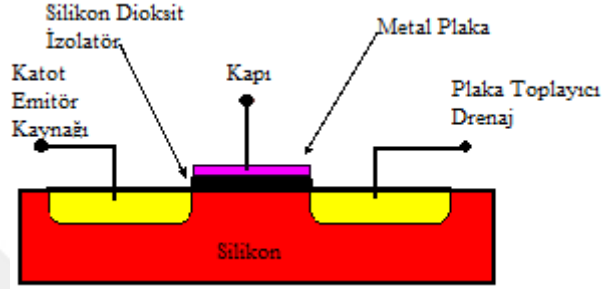
Platin, altın, paladyum veya karbon gibi elementler inert elementlerdir ve redoks sistemlerinin potansiyellerine cevap verirler. Platin indikatör elektrotun, elektrot potansiyeli oksidan ve redüktan aktivitesine göre belirlenir [40], [47].

$$E = E^0 - \frac{0.0592}{n} \log \frac{a_{red}}{a_{ox}} \quad (2.20)$$

2.3.2.2 İyon Seçici Alan Etkili Transistörler (ISFET)

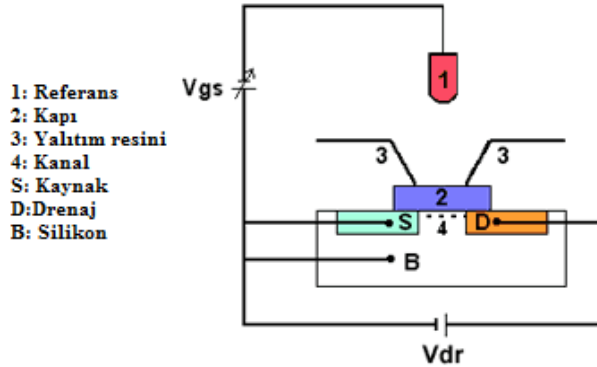
Alan etkili transistör veya metal oksit alan etkili transistör (MOSFET) devrelerdeki akım akışını kontrol eden bir anahtar olarak bilgisayarlarda veya diğer elektronik devrelerde yer

alan küçük katı haldeki yarı iletken alettir. Bu aletler iyonik yüzey safsızlıklarına oldukça duyarlıdır. 1970' li yıllardan beri çeşitli iyonların seçimli potansiyometrik tayini için yüzey iyonik safsızlıklara duyarlı olan MOSFET' lerden yararlanmak amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar ISFET denilen çok sayıda farklı iyon seçici alan etkili transistörlerinin gelişmesini sağlamıştır.



Şekil 2.10 Bir metal oksit alan etkili transistör (MOSFET) [48]

ISFET' ler membran elektrotlara göre daha sağlam, küçük, kötü çevre şartlarına karşı daha dayanıklıdır. Daha hızlı cevap verirler ve düşük elektriksel dirence sahiptirler. ISFET' ler membran elektrotların tersine önce bir hidratlaşma işlemi gerektirmezler ve kuru halde sınırsız bir süre saklanabilirler [40], [47].



Şekil 2.11 pH ölçümünde kullanılan bir iyon-seçici alan etkili transistör (ISFET) [49]

2.3.2.3 Membran İndikatör Elektrotlar

Membran indikatör elektrotlar, bir çok anyon ve katyonun doğrudan potansiyometrik ölçümlerle hızlı ve seçici tayinini mümkün hale getirmektedirler. Membran elektrotlar “*p-iyon elektrotlar*” olarak da bilinmektedir. Genellikle elde edilen veriler pH, pCa, pNO₃ gibi p-

fonksiyonu olarak verilmektedir. Metal elektrotlardan hem tasarım hem de prensip olarak farklılık göstermektedirler [40], [47].

Membran elektrotlar 2 gruba ayrılır;

1. İyon seçici elektrotlar
2. Molekül seçici elektrotlar

2.4 İyon Seçici Elektrotlar (İSE)

Çözeltide yer alan çeşitli iyonlardan genel olarak bir iyonla karşı belirli bir seçicilik gösteren elektrokimyasal sensörlere “İyon-Seçici Elektrotlar (İSE)” denir [14]. İyon seçici elektrotlar elektrokimyasal yarı hücreler olup, iyon seçici membran, bir iç dolgu çözeltisi ve bir referans elektrot veya iyon seçici membran ve bir katı yüzeyden meydana gelir. Böyle bir iyon seçici elektrot farklı iyonların bulunduğu bir sıvı çözeltide belirli bir iyonu seçebilir [47].

2.4.1 İyon Seçici Elektrotların Özellikleri

Belirli bir iyonla karşı seçicilik gösteren elektrotlar iyon seçici veya p-iyon elektrotlar olarak adlandırılmaktadır. p-iyon terimi (örneğin pH, pNO_3) bu elektrotların verilerine göre isimlendirilmesini ifade etmektedir [40].

2.4.1.1 İyon Seçici Elektrotların Membran özellikleri

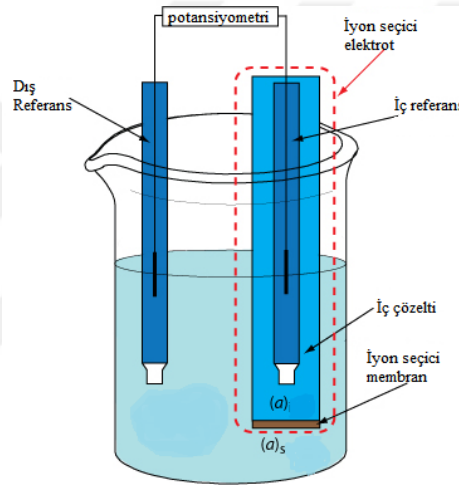
İyon seçici elektrotların membranları belirli özellikler taşımalıdır. Bu sayede yüksek performansta sonuçlar elde edilebilmektedir.

1. Membranlar analit çözeltilerinde çözünürlük özelliği göstermemelidir. Bunu sağlamak için uygulamada membranlar genellikle büyük moleküllü materyallerden örneğin; silika camlar veya polimerik reçineler veya iyonik anorganik bileşikler örneğin; gümüş halojenürler, elde edilmektedir.
2. Membranlar elektriksel iletkenliğe sahip olmalıdır.
3. Membran bileşenleri analitteki hedef iyonla karşı seçici olarak bağlanabilmelidir. Bu bağlanma iyon değişimi, kristallenme, kompleksleşme şeklinde olmaktadır [50].

2.4.1.2 İyon Seçici Elektrotların Çalışma Prensibi

Potansiyometrik olarak bir iyon seçici elektrotun diğer yarı hücresi bir dış referans elektrottan meydana gelir (Şekil 2.12). İki elektrot arasında oluşan gerilim değeri ile ölçümü yapılacak iyonun konsantrasyonu arasında logaritmik bir ilişki mevcuttur

İyon seçici elektrot belirli bir çözeltide bir iyonla karşı duyarlı olduğu için, örneğin; pH elektrot hidrojen iyonuna karşı duyarlıdır, bu iyonun meydana getirdiği potansiyeli ölçmektedir. Bu potansiyel, sabit potansiyele sahip referans elektrot ile karşılaştırılarak bağlı oldukları potansiyometre yardımıyla ölçülür. Bu iki elektrot arasındaki potansiyel fark, ölçülmesi amaçlanan iyonun aktivitesinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 2.12 İyon-seçici elektrot kullanılarak oluşturulan potansiyometrik hücrenin şeması [47]

Membran potansiyeli, E_m , iyon seçici membran elektrotların performansı olarak tanımlanmaktadır. i iyonu için seçici olan bir membranın, sabit akım potansiyelinde ölçülen aktivitesi;

$$E_m = \frac{R T}{z_i F} \ln \frac{a'_i}{a''_i} \quad (2.21)$$

a_i ; i iyonunun örnek solüsyondaki aktivitesini, a'_i ; i iyonun iç dolgu çözeltisindeki aktivitesini ifade etmektedir.

a_i iç dolgu çözeltisinde sabit olduğunda iyon seçici membran elektrot potansiyeli;

$$E = E_i^0 + S \log a'_i \quad (2.22)$$

S; ideal ortamda (Nernst eşitliğine göre 25 °C’ de 59.16 mV/z_i) elektrot kalibrasyon eğrisinin ($\Delta E / \Delta \log a'_i$) eğimidir.

Pratikte, toplam iyon aktivitesine örnek çözeltiden karışan başka iyonların varlığını göz önünde bulundurmalıyız. Bu durumda membran elektrot potansiyeli Nikolsky-Eisenmann eşitliğine göre;

$$E = E_i^0 + S \log [a'_i + \sum_{i \neq k} K_{ik}^{pot} (a'_k)^{z_i/z_k}] \quad (2.23)$$

Burada K_{ik}^{pot} seçicilik faktörü, z_k karışan iyonun yük sabiti, a_k ; karışan iyonun aktivitesi olarak tanımlanmaktadır. K_{ik}^{pot} iyon seçici elektrotun doğru iyonun seçiciliğini ifade eder. Bir başka deyişle, hedeflenen iyonla karşı diğer iyonların toplam elektrot potansiyeline katkısına dair yorum yapmaya imkan tanır [47].

2.4.1.3 İyon Seçici Elektrotların Avantaj ve Dezavantajları

İyon seçici elektrotların birçok avantajı bulunmaktadır;

- Fiziksel özellikleri spektrofotometrik yöntemlere uygun olmayan çözeltilerde ölçüm yapılabilmektedir.
- İSE’ ler birçok alanda ölçüm yapmaya olanak sağlamaktadır. Örneğin; geliştirilen yeni İSE’ ler sayesinde canlı organizmada da sonuçlar alınabilmektedir.
- SIA, FIA gibi farklı analiz yöntemlerinde dedektör olarak kullanılmaktadır.
- Ölçüm yapılacak çözelti içinde kirlilik meydana getirmezler.
- İSE’ ler kolay ve kısa sürede sonuç alınmasına olanak sağlamaktadırlar.
- İSE’ ler geliştirilen İSE’ ye bağlı olarak bir çok kimyasal tür için geniş bir konsantrasyon aralığında sonuç alınmasına imkan sağlamaktadır.
- Sağlam, kararlı, kolay hazırlanabilen, analiz edilecek ürüne göre rahatça geliştirilebilen elektrotlardır.
- Elektrotlar aynı anda birden fazla elementin analiz edilmesine olanak sağlamaktadır.

Bununla birlikte İSE' lerin bazı dezavantajları vardır;

- Elektrotlar protein ve diğer organik maddelerle temasta kolayca kirlenebilmekte bu da sonuçları etkileyebilmektedir.
- İSE' ler ortamdaki serbest iyonlara tepki verdikleri için ortamda ligant bulunmaması önem taşımaktadır.
- Analizden doğru sonuçların alınabilmesi için ortamın iyonik şiddetinin sabit tutulması gerekmektedir [47].

2.4.2 İyon Seçici Elektrotların Sınıflandırılması

İyon-seçici elektrotlar genel olarak aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir;

1. Cam membran iyon seçici elektrotlar
2. Kristal membran iyon seçici elektrotlar
3. Sıvı membran iyon seçici elektrotlar
4. Kompozit iyon seçici elektrotlar
5. Gaz ve enzim iyon seçici elektrotlar [47].

2.4.2.1 Cam İyon-Seçici Elektrotlar

20. Yüzyılın başlarında geliştirilmiş ilk cam iyon seçici elektrotlar pH elektrotlardır. Cam elektrotlar bir cam membrandan ve iç referans elektrottan oluşmaktadır. Bir hücre cam elektrotta ek dış bir referans elektrottan oluşmaktadır.



Şekil 2.13 Cam elektrot

Cam elektrotlar H^+ iyonuna karşı duyarlıdır. Çözelti içerisinde yer alan H^+ cam membranın silikat yapısındaki hareketli sodyum iyonları ile yer değiştirir. Bu durum membranın iç ve dış yüzeyindeki H^+ konsantrasyonu değişimiyle bir potansiyel fark oluşur. Oluşan potansiyel fark Nernst Eşitliğinden hesaplanarak ölçüm yapılmış olur.

$$E = \text{sabit} - 0,059 \log \frac{a_{H^+ (iç)}}{a_{H^+ (dış)}} \quad (2.24)$$

Cam elektrotlar H^+ iyonlarının yanı sıra sodyum iyonlarına karşı da duyarlıdır. Bu durum ölçümlerde hatalı sonuçların alınmasına yol açmaktadır. pH ölçen cam elektrotların yüksek pH ve yüksek a_{Na^+} değerlerinde ölçtükleri pH değeri gerçek pH değerinden düşüktür. Buna “Alkali” veya “Sodyum Hatası” denmektedir. Düşük pH değerlerinde gözlenen hata ise “Asit Hatası” olarak adlandırılmaktadır [47].

2.4.2.2 Kristal Membran İyon Seçici Elektrotlar

Kristal membran iyon seçici elektrotlarda algılayıcı element iyonik iletken çoğu zaman yapı içine homojen veya heterojen olarak dağılmış az çözünür bir tuzdur; $AgCl$, Ag_2S , LaF_3 , Ag_2S+CuS , Ag_2S+PbS , Ag_2S+CdS . Homojen membranlar tamamı tuzdan oluşmuştur, bununla birlikte kristal veya uygun şekil verilmiş preslenmiş pellet kullanılır. Heterojen membranlarda aktif tuz inert destekleyici bir materyal, örneğin; silikon kauçuk, içine eklenmiştir.

Gümüş halojenür tabanlı kristal elektrotlar anyon tespiti için geliştirilmiş elektrotlardır. Pratikte gümüş veya anyonlarının tespiti için kullanılırlar. Bu elektrotların Ag^+ ve X^- iyonları için potansiyel denkliği;

$$E = E_{Ag^+}^0 + \frac{RT}{F} \ln a_{Ag^+} = E_X^0 - \frac{RT}{F} \ln a_{X^-} \quad (2.25)$$

En çok kullanılan kristal membran iyon seçici elektrotlardan biri de florid elektrottur. Floridin basit bir şekilde tayini için tasarlanmıştır [47].

2.4.2.3 Sıvı Membran İyon Seçici Elektrotlar

Sıvı membranlar üç veya dört bileşen içeren elektrik olarak pozitif veya negatif yüklü yada mobile iyon taşıyan yüksüz membranlardır. Mobil iyon taşıyıcı özellik polivinil klorit gibi iyon bağlayan özellik gösteren bir bileşenin matrikse katılması sonucu oluşur.

Sıvı membran iyon seçici elektrotların en yaygınları nitrat ve kalsiyum iyonlarının ölçülmesine yardımcı olan elektrotlardır. Nitrat iyon seçici elektrotların membran aktif maddesi tris (4,7 difenil-1,10-fenantroline) Ni^{+2} -p-nitrosemin içinde nitrattır.

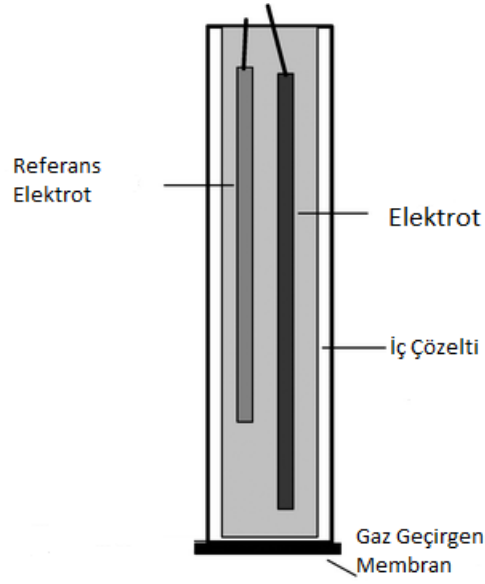
Genel olarak plastikleştirici (genellikle polivinil klorit) bazlı bir membranda, %1 iyonofor, %66 nonpolar çözücü, %33 PVC kullanılır. En sık kullanılan membran bileşenleri Çizelge 2.3’ de gösterilmektedir [47].

Çizelge 2.3 Optimal iyon seçici elektrot membran kompozisyonu [47]

Mebran Kompozisyonu	Membran Materyali
%33 PVC Polimerik matriks	HMW-PVC (Yüksek molekül ağırlıklı Polivnili klorit) VHMW-PVC (vinil Klorit, vinil asetat ve vinil alkolü polimeri) PVC-COOH PVC-OH PVC-NH ₂
%66 Plastikleştirici	<i>o</i> -NPOE (2-Nitrofenil oktil eter)
%1 İyonofor	DOS (bis 2-etilheksil sebakat) Soya tohumu yağı DNA DBS (Dibütil sebakat) DOP (Bis 2-etilheksan fitalat)
%0.5 Katkılar	NaTPB (sodyum tetrafenilborat) KTpCIPB (potasyum tetrakis borat) KTbTFMPB (Potasyum tetrakis fenil borat)

2.4.2.4 Gaz ve Enzim İyon Seçici Elektrotlar

Bu elektrotlar hassaslaştırılmış multi bir sistemden meydana gelir. Öncelikle temel bir elektrot ve buna bağlı modifiye edilmiş ek bir seçici membran bağlanır. Modifiye edilmiş tabaka sinyallerin seçimini indükler. Bu etkinin sağlanması için membrana inorganik gazlar ve organik moleküller eklenir [47].



Şekil 2.14 Gaz duyarlı iyon seçici elektrot [47]

2.4.2.5 Kompozit Elektrotlar

1980' li yıllarda kullanmaya başlanan kompozit elektrotlar minimize edilebilen boyutları ve kullanım ömürlerinin uzun olması ile potansiyometrik analizlerde tercih sebebi olmuştur. Elektrotlar karbon ve polimerik inert bir matriksten ve buna eklenmiş organik veya inorganik iyon bağlayıcı özellikli materyalden oluşmaktadır [51].



Şekil 2.15 Kompozit elektrot [51]

2.4.3 İyon Seçici Elektrotların Performans Özellikleri

2.4.3.1 Seçicilik

Bir iyon seçici elektrotun en önemli özelliği seçiciliktir. Bir İSE çözelti içerisinde belirli bir iyonla karşı cevap verirken, ortamda bulunan diğer iyonlara özellikle İSE' ye özel iyonla benzer iyonlara da cevap verebilmektedir. Bu durum "Bozucu İyon Etkisi" olarak tanımlanır.

Bir İSE' nin seçiciliği membranın diğer iyon türlerini tanıma niteliğine bağlıdır. İSE' nin seçiciliğinin en iyi olduğu durum kullanılan iyonoforun sadece analit iyonla bağlandığı ve bozucu iyon etkisinin olmadığı ideal durumdur.

Seçicilik katsayısı bir iyon seçici elektrotun diğer iyonlara cevabının bir ölçüsüdür. Bir membranda gelişen potansiyel üzerine alkali metal iyonlarının etkisi Eşitlik (2.26)' da gösterilmektedir.

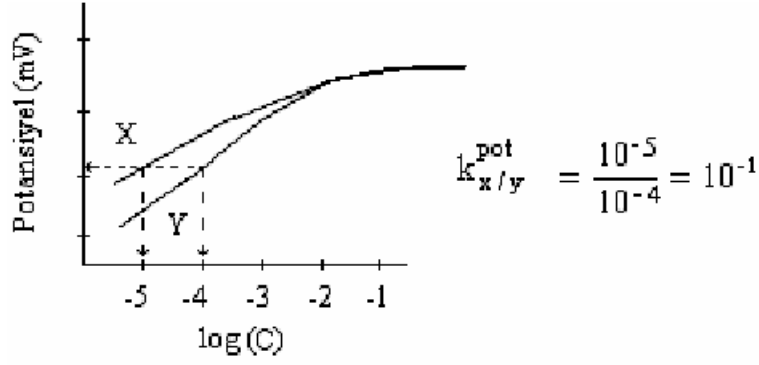
$$E_s = L' + 0,0592 \log(a_1 + k_{H,B} b_1) \quad (2.26)$$

Burada $k_{H,B}$ elektrot için seçicilik katsayısıdır. Bu denklem, cam elektrotlar dışında, bütün membran elektrotlar için kullanılmaktadır.

Seçicilik katsayısı, elektrotun farklı iyonik türlere karşı duyarlılığının belirlenmesine yardımcı olur.

$$k_{x,y}^{pot} = \frac{Y'_{ys} \text{ duyarlılık}}{X'_{es} \text{ duyarlılık}} = a_x / a_y^{n_x/n_y} \quad (2.27)$$

Seçicilik katsayısı arttıkça elektrotun hedef iyonla olan hassasiyeti azalır. Grafik yataya doğru gitmeye başlar (Şekil 2.16). Sonuçlarda negatif $\log k_{x,y}^{pot}$ değerleri elektrotun ölçülmesi hedeflenen iyonlara daha duyarlı olduğunu göstermektedir [47].



Şekil 2.16 Seçicilik katsayısının kalibrasyon grafiği [47]

Seçicilik katsayısının hesaplanmasında pek çok yöntem olmakla birlikte bunların en çok tercih edilenleri; ayrı çözelti metodu (SSM), ana iyonun girişim yapan iyon çözeltisine ilavesi metodu (MSM), girişim yapan iyonun ana iyon çözeltisine ilavesi metodu (FIM), eş potansiyel metotudur (MPM).

Ayrı Çözelti Metodu: Bu yöntemde i ve j iyonlarını ayrı ayrı içeren iki farklı çözelti hazırlanır. Her bir çözeltinin potansiyelleri (E_i ve E_j) ayrı ayrı ölçülür. İ ve j iyonlarının aktivite ve yükleri eşit olduğunda Eşitlik 2.28 yardımı ile seçicilik katsayısı hesaplanır.

$$\log k_{ij}^{pot} = (E_i - E_j) / 2,303 RT / zF \quad (2.28)$$

Karışık Çözelti Yöntemi: Ölçümü hedeflenen iyonun aktivitesi sabit tutulur, bozucu iyon ise değiştirilerek bir seri çözelti hazırlanır. İlk olarak yalnızca i iyonunun bulunduğu çözeltinin potansiyeli ölçülür (E) daha sonra karışık çözeltinin potansiyeli ölçülür (E').

$$E = E^0 \pm 2,303 RT / F \log a_i \quad (2.29)$$

$$E' = E^0 \pm 2,303 RT / F \log [a_i + k_{ij}, (a_j^{z/y})] \quad (2.30)$$

İki denklem düzenlendiğinde seçicilik katsayısı (k_{ij}^{pot}) eşitlik (2.31) ile bulunur.

$$10^{(-\Delta E/S)} = 1 \pm k_{ij}^{pot} (a_j^{z/y}) / a_i \quad (2.31)$$

Sabit Bozucu Yöntemi: Bozucu iyonun derişiminin sabit tutulduğu, ölçümü hedeflenen iyonun derişiminin değiştiği bir seri çözelti hazırlanır. Her bir çözeltinin potansiyeli ölçülerek

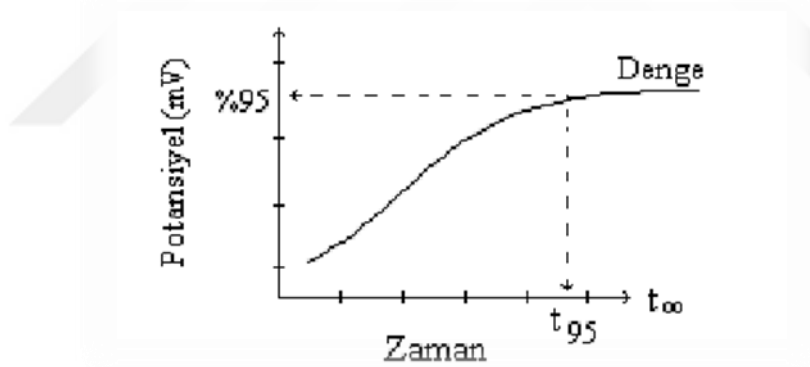
bulunan sonuçlar bir grafiğe aktarılır grafiğin kesim noktasından bulunan a_i değerinden yararlanılarak (k_{ij}^{pot}) tespit edilir.

$$k_{ij}^{pot} = a_i / (a_j^{z/y}) \quad (2.32)$$

Eş Potansiyel Metodu: Başlangıç çözeltisi içerisindeki hedeflenen iyonun aktivitesini arttıran potansiyel değişmesi ölçülür. Ardından başlangıç çözeltisine aynı potansiyel değişim gözlenene kadar bozucu iyon ilave edilir. Hedeflenen iyonun ve bozucu iyonun aktivitesindeki değişim oranı k_{ij}^{pot} değerini verir [50].

2.4.3.2 Cevap Zamanı

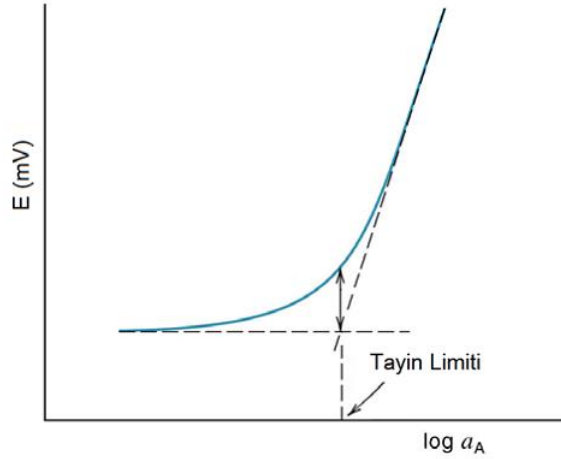
Cevap zamanı; elektrotun duyarlı kısmı ile çözeltide ölçülmesi hedeflenen iyon arasında dengenin kurulabilmesi için geçen sürenin %95' i olarak belirtilip t_{95} şeklinde gösterilir. (Şekil 2.17) [52].



Şekil 2.17 Cevap zamanı [52]

2.4.3.3 Tayin Limiti

İyon seçici elektrotun membran ara fazında ölçülebilir bir potansiyel farkı meydana getiren en düşük iyon derişimi tayin limiti olarak bilinir. Şekil 2.18' de tayin limitinin belirlenmesi için örnek teşkil eden bir grafik görülmektedir [52].



Şekil 2.18 İyon seçici elektrotların tayin limitinin belirlenmesi için örnek grafik [52]

Genel olarak iyon-seçici elektrotlar için tayin limiti 10^{-5} ile 10^{-7} mol/L aralığındadır. Hali hazırda daha alt limitlerde ölçüm yapabilen İSE' ler de kullanılmaktadır. Bu limitler, ortamda bulunan girişim yapan iyonlar ve moleküller ile ters yönde etkilenebilmektedir [53].

2.4.3.4 Tekrarlanabilirlik

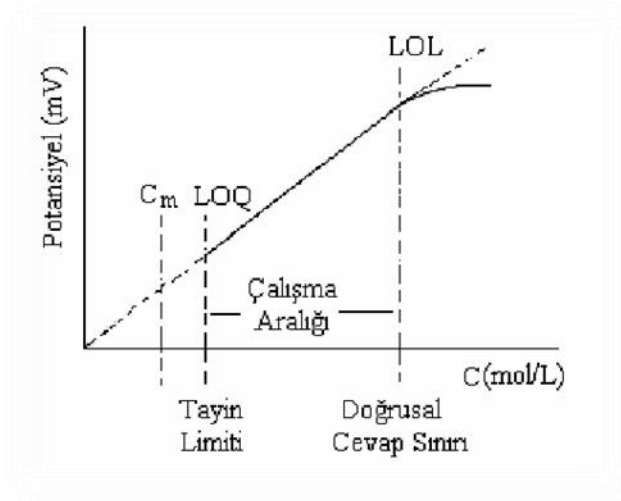
Tekrarlanabilirlik; farklı derişimdeki standart çözeltilerde elektrotun potansiyelinin ölçülmesi ve bu işlemin tekrarlanması sonucu elde edilen değerlerin standart sapmasıdır. Bu sonuç analizin güvenilirliği konusunda önemli bir parametredir [52].

2.4.3.5 Çalışma Ömrü

Elektrotların kullanım ömürleri Nernst cevabı verdikleri süredir [54]. İyon seçici elektrotların kullanım ömürlerinin hesaplanması için on katlık derişim farkı gösteren bir seri çözelti hazırlanır ve çözeltilerde elektrotun cevabı gözlenir. Bu sonuçlar ile zaman arasında bir grafik oluşturularak eğim hesaplanır. Eğimin diğer sonuçlara göre farklı çıktığı süre kullanım ömrüdür [55].

2.4.3.6 Doğrusal Çalışma Aralığı

Kalibrasyon grafikleri kullanılarak iyon seçici elektrotların doğrusal çalışma aralıkları hesaplanmaktadır. Çizilen potansiyel (mV), molarite (mol/L) grafiğinde elektrotun cevap verebildiği en küçük derişiminden grafiğin eğrisinin doğrusal ölçümden uzaklaştığı noktadaki derişime kadar olan bölgeye lineer çalışma aralığı olarak ifade edilmektedir [56].



Şekil 2.19 Doğrusal çalışma aralığı [56]

2.4.4 pH Elektrotların Uygulama Alanları

İyon seçici elektrotlar yaygın olarak aşağıda yer alanlarda kullanılırlar;

1. Hedeflenen iyonun doğrudan analizi
2. Potansiyometrik titrasyonların dönüm noktalarının tayini
3. Denge sabiti ve buna bağlı fiziksel sabitlerin hesaplanması
4. Hareketli ortamlarda dedektör olarak [57].

2.5 Süt ve Süt Analizleri

Süt; memelilerin süt bezlerinden salgılanan, canlının yavrusunun beslenme ve gelişimini sağlayan, canlının türüne göre bileşimi beyazdan kreme değişen renkte bir sıvıdır [1]. Süt yapısında bulunan besinsel öğelerin zenginliğiyle temel bir gıda maddesidir. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Birimi (USDA) ile Ulusal Süt ve Süt Ürünleri Konseyi sütü temel gıda maddelerinin en önemlileri arasında saymaktadır [58]. Süt adlandırılırken elde edildiği canlı dikkate alınmaktadır. Ancak gıda endüstrisinde süt denilince inek sütü anlaşılmakta ve bu şekilde kullanılmaktadır. Sadece farklı bir canlıdan elde edildiği zaman bu durumda sütün elde edildiği canlı adı belirtilmektedir [1].

Süt 200' den fazla besinsel öğeyi bünyesinde taşımaktadır. Süt; süt şekeri, süt yağı, azotlu maddeler, mineral maddeler ve eser miktarlarda bulunan vitaminler, enzimler, koruyucu maddeler ve organik asitler içermektedir [59]. Süt içerisinde bulunan besinsel öğelerin miktarı pek çok faktörden etkilenmektedir. Örneğin; elde edildiği canlı türüne, Çizelge 2.4' de

görüldüğü üzere kurumadde miktarı %11-38, yağ oranı %1.8-22, protein miktarı %2.5-15.5, laktoz miktarı %1.3-7, kül miktarı %0.5-2.6 aralıklarında değişmektedir [1].

Çizelge 2.4 Çeşitli canlılardan elde edilen sütlerin ana besin içerikleri miktarları [1]

Süt türü	Kurumadde (%)	Süt yağı (%)	Protein (%)	Laktoz (%)	Kül (%)
İnsan	12.4	3.8	1.0	7.0	0.2
İnek	12.6	3.7	3.4	4.7	0.7
Manda	17.2	7.4	3.5	5.4	0.8
Koyun	19.3	7.4	5.5	4.8	1.0
Keçi	13.2	4.5	3.2	4.1	0.8
Kısırak	11.2	1.9	2.5	6.2	0.5
Fil	23.4	14.3	4.9	3.4	0.8
Eşek	12.0	1.8	2.5	6.1	0.5
Köpek	24.9	10.5	12.2	1.3	0.9
Deve	13.6	4.5	3.6	5.0	0.7
Ada Tavşanı	30.6	10.5	15.5	2.0	2.6
Kedi	17.9	3.3	9.1	4.9	0.6
Fare	30.9	14.8	11.8	2.8	1.5
Domuz	20.5	8.8	7.3	3.3	1.1
Ren Geyiği	33.3	16.9	11.5	2.8	1.4
Balina	37.5	22.0	12.0	1.8	1.7

2.5.1 Endüstriyel Olarak Kullanılacak Çiğ Sütte Aranacak Kriterler

Çiğ süt içeriği sebebiyle mikrobiyolojik ve kimyasal bozulmalara karşı oldukça hassastır. Kaliteli bir hammadde temini ile kaliteli son ürün üretilebilecektir. Çiğ sütün kalite kriterleri süttten elde edilen tüm ürünlerin kalitesini etkilediği gibi tüketiciye kadar geçireceği süreçte sağlanacak gıda güvenliğinin temelini oluşturacaktır.

Kaliteli bir süt, sağlıklı hayvanlardan hijyenik koşullarda sağılmış, sağımı takiben soğuk zincire dikkat edilerek fabrikaya ulaştırılmış, duysal nitelikleri üstün, kimyasal bileşimi mevcut standartlara uygun, biyolojik niteliği değişmemiş, bakteri sayısı belirlenen düzeylerde, enzim aktivitesi düşük ve taşıyış yapılmamış süt demektir. Bu amaçla çiğ sütte duysal, fiziksel ve kimyasal testler yapılmaktadır [1].

2.5.1.1 Sütte Yapılan Duyusal Testler

Duyusal testler süt ilk getirildiği zaman yapılan, sütün genel özelliklerinin tespit edilmesi ve kullanılacağı alanın saptanması için karar verilebilmesini sağlayan testlerdir.

Renk: Sütün rengi genel olarak beyazdır ancak bu beyazlığın tonu hayvanın cinsine, ırkına, beslenme durumuna göre değişiklik gösterir. Beyaz renk dışında gözlenebilecek farklı renkler hayvanın memelerinde kanama olmasından, süte katılan su veya boya etkisinden, bazı mikroorganizma faaliyetlerinden kaynaklanabilmektedir.

Sarımsı hatta kahverengiye çalan bir renk sütün kolostrumlu, esmerimsi veya mat oluşu kirli veya ısıtılmış olduğunu, kırmızımsı renk memelerdeki kanamadan süte kan bulaştığını, mavimsi renk ise süte fazlaca su katılmak suretiyle taşış yapıldığını gösterir [1], [60], [2].

Tat ve Koku: Sağlıklı bir sütün kendine has, hoş bir kokusu, hafif tatlımsı bir tadı vardır. Sütün kendine has kokusu ve tadı içeriğindeki süt şekeri, süt yağı ve mineral maddelerin dengesi ve eser miktarda yer alan aseton, asetaldehit, bütirik asit ve diğer serbest yağ asitleri gibi lezzet veren maddelerden kaynaklanır. Kurumaddesi yüksek olan sütlerin kokusu daha güçlü algılanır. Lezzet maddeleri daha çok yağ ve protein üzerinden absorbe edilir. Dolayısıyla aynı maddeler belirli ölçülerde süt mamullerine geçer.

Koku ve tat hayvanın yediği yemlerden, verilen ilaçlardan etkilenmektedir. Ayrıca biyokimyasal reaksiyonlar örneğin; laktozun fermentasyonu ile ekşimsi bir tat, proteolitik mikroorganizmaların faaliyeti sonucu proteinlerin parçalanması ile acımsı bir tat, lipolitik mikroorganizmaların süt yağını parçalaması ile acımsı bir tat meydana gelir.

Sütte hafif tuzlumsu tat sütte bulunan klorür ile laktoz dengesinin bozulduğunu gösterir. Klorür miktarı laktasyon sonlarına doğru artar ayrıca klorür oranı meme enfeksiyonları sonucu da artış göstermektedir.

Bununla birlikte, sütte ışık, oksijen ve ağır metal varlığı gibi fiziksel etkilerde sütün tadını ve kokusunu bozabilir [1], [60], [2].

Kıvam ve Görünüş: Süt, suyun hemen hemen iki katı kadar bir viskoziteye sahiptir. Ancak viskozitesi çok yüksek, ip gibi uzayan veya su kadar akışkan olan sütlerin bozuk olduğu veya taşış yapıldığı düşünülür. Süt aşırı koyu ise ağız sütü karıştırılmış olabilir veya mikroorganizma yükü fazladır. Bazı sütlerde ayrıca kumlu, çakıllı veya topraklı bir yapı gözlenebilir. Bu sütlerin bayat veya bozuk oldukları düşünülür [1], [60], [2].

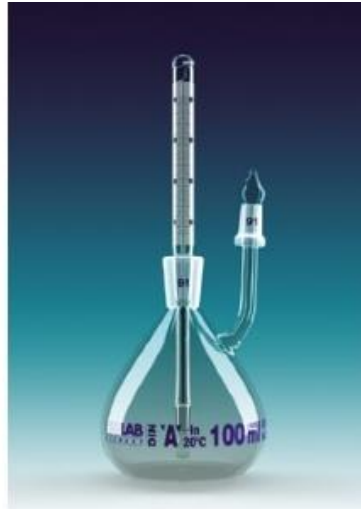
2.5.1.2 Sütte Yapılan Fiziksel Testler

Yoğunluk: Genel olarak sütün yoğunluğu 20 °C’ de 1.027 - 1.035 g/mL arasında değişir. Sütün içeriğindeki yağ oranı arttıkça yoğunluk azalır, protein, laktoz ve mineral madde miktarının artması ile yoğunluk artar. Bunun yanısıra, sıcaklık artışı yoğunluğu azaltır. Yağ globülleri bir süre bekleyince küçülürler ayrıca sütte bulunan bazı gazlar uçar böylece hacim azalması meydana gelir bu sebeple süt ilk sağıldığında daha düşük bir yoğunluğa sahiptir.

Çizelge 2.5 Farklı hayvan cinslerinin süt yoğunlukları

Sütün Cinsi	Yoğunluk (g/mL)
İnek sütü	1.028 - 1.039
Koyun sütü	1.030 - 1.045
Keçi sütü	1.028 - 1.045
Manda sütü	1.027 - 1.040

Sütte yapılan yağışın anlaşılmasında yoğunluk önemli bir parametredir. Sütten yağ çekilmiş ise sütün yoğunluğu artar. Süte soda vs. sudan daha ağır maddeler eklenir ise yoğunluk yükselir. Sütün kaynatılması sonucu içeriğindeki su miktarı azalacağı için yoğunluk artar. Süte su katılır ise yoğunluk azalır. Ancak sadece yoğunluğa bakılarak süte su katıldığını anlayamaz. Yoğunluk tayini piknometre veya laktodansimetre kullanılarak yapılır (Şekil 2.20) [1], [60], [2].



Şekil 2.20 Piknometre [61]

Donma Noktası: Sütün en temel fiziko-kimyasal özelliklerinden biridir. Bu değeri süt içinde bulunan laktoz ve süt tuzları etkiler. Sütün donma noktası genel olarak -0.530 °C ile -0.550 °C arasında değişir. Sütün donma noktası sütte yapılan hile hakkında bilgi verir. Süte su katıldığında, süte nötralize edici madde ilave edildiğinde donma noktası düşer.

Çizelge 2.6 Donma noktası ile süte katılan su miktarı arasındaki ilişki

Donma Noktası ($^{\circ}\text{C}$)	İlave Edilen Su Miktarı (%)
-0.54	0.00
-0.53	3.63
-0.52	5.54
-0.51	7.27
-0.50	9.09
-0.49	10.90
-0.48	12.72

Bununla birlikte; sütün asitliğinin artması donma noktasında düşmeye neden olur. Süte şeker, soda gibi eriyen maddeler katıldığı zaman donma noktası yine düşmektedir Ayrıca ağız sütlerinde, hastalıklarda donma noktası düşmektedir [1], [60], [2].

Refraktif İndis: Çözeltilerin yoğunluk farkına dayalı olarak ışığı kırma gücüne dayanan refraktif indis ölçümü süt analizlerinde kullanılmaktadır. Bu sayede süte katılan su miktarı, yağsız sütün kurumaddesi, süt serumunun laktoz miktarı, süt yağının kırılma indisi ve iyot sayısı belirlenir.

Sütte bulunan yağ globülleri ışığı büyük ölçüde geri yansıtacağı için refraktif indis yağı alınmış süt kullanılarak hesaplanır. Yağsız sütün refraktif indisi 1.3340-1.3480 aralığındadır. Refraktif İndis el refraktometrisi, Abbe refraktometrisi veya İmmersiyon refraktometrisi kullanılarak bulunur [1], [60], [2].



Şekil 2.21 Süt analizi için refraktometre [62]

2.5.1.3 Sütte Yapılan Kimyasal Testler

Kurumadde Tayini: Sütün su dışındaki bileşiminin belirlenmesini sağlar. Ayrıca süte su katılmak suretiyle yapılan hilelerin tespiti amacıyla kuru madde analizi yapılır. Kuru madde hesaplanırken aşağıdaki denklik kullanılır:

$$\%kuru\ madde - \%yağ = \%yağsız\ kuru\ madde \quad (2.33)$$

Kuru madde tayini gravimetrik, formül veya tablolar yardımıyla ve refraktometre ile ölçülmek suretiyle hesaplanır.

Kuru madde miktarı;

- Sütün elde edildiği kaynağın tür ve ırkına
- Verimin fazla yada az olmasına
- Laktasyon dönemine
- Hayvanın yaşına
- Mevsime
- Hayvanda hastalık olup olmamasına
- Hayvanın yeterli beslenip beslenmemesine
- Süte başka madde eklenmesine yada süttten madde çekilmesine bağlı olarak değişiklik gösterir [60].

Kül: Süt külü mastitis hastalığı varlığında sütte bulunan NaCl miktarının artmasına bağlı olarak artış gösterir. Süt külünde artma meydana gelmişse sütün mastitisli inekten geldiği veya nötralize edici bir madde eklendiği düşünülür. Bununla birlikte, süt külünün az olması süte su eklendiğini gösterir [1], [2], [60], [63].

Sütte İndirgenme Testleri: Çiğ sütün mikrobiyal yükü hakkında fikir edinmek amacıyla indirgenme testleri yapılır. Bu amaçla bazı boyar maddeler ilave edilir, renklenmiş çiğ süt içinde bulunan indirgenme yapabilen bakteriler tarafından farklı aşamalarda süt renksiz hale dönüşür. Rengin kaybolması için geçen süre, sütteki bakteri sayısı hakkında bir fikir verir [64].

Çizelge 2.7 Sütte indirgeme testleri [64]

Testin adı	Amacı	İlkesi
Redüktaz indirgeme testi (metilen mavisi testi)	Çiğ sütün bakteri sayısı hakkında bilgi sahibi olmak	Belli miktarda süt, belli miktarda bir renk maddesi olan metilen mavisi ile karıştırılır ve bir süre 38-40 °C'de bekletilir. Bu arada sütte mevcut canlı bakteriler, metilen mavisini indirgeyerek sütün renksiz hale dönüşmesine neden olur.
Resazurin indirgeme testi	Sütün hijyenik kalitesini belirlemek	Bu deneyde metilen mavisi yerine resazurin boyası kullanılır. Resazurin mikroorganizmalar tarafından indirgendiği zaman koyu maviden pembeye daha sonra kırmızıya ve beyaza dönüşür.
Nitrat indirgeme testi	Sütün hijyenik koşullarda üretilip üretilmediğini belirlemek	Ortama bulunan bakterilerin nitratı nitrite indirgemesiyle, Griess renk çözeltisinde meydana gelen renk değişikliği esasına dayanır.

Enzim Aktivite Testleri: Sütte bulunan katalaz ve peroksidaz enzimlerinin aktivitelerinin tayini sütün kalitesinin anlaşılması açısından önemlidir. Katalaz enzimi sütte meydana gelen fizyolojik veya patolojik değişikliklerin tespitinde, peroksidaz enzimi sütün önceden kaynatılıp kaynatılmadığı hakkında fikir edinilmesine yardımcı olur [1], [2], [60], [63].

Sütte Asitlik Testi: Süt doğal olarak asidik yapı gösteren bir üründür. Süt asitliğinin ölçümü süt işletmelerinde hayati önem taşımaktadır. Çiğ sütün en önemli kalite parametresi olduğu gibi süt proseslerinin ileri ki aşamalarına da yön vermektedir. Bu sebeple bu tezde süt asitliği üzerinde durulmuş ayrıntılı olarak ileri ki bölümlerde incelenmiştir [1], [2], [60], [63].

Sütte Yağ Analizi: Sütte yağ analizi de en önemli parametrelerden biridir. Sütte bulunan yağ, işletmelerin süt fiyatlandırmasını etkilemektedir. Bununla birlikte, sütün kullanılacağı alan yağ analizi sonucu belirlenmektedir. Bu sebeple bu tezde yağ analizi üzerinde çalışmalar yapılmış detaylı bilgi diğer bölümlerde verilmiştir.

Süt endüstrisinden çeşitli firmalar ile yapılan görüşmeler ile birlikte ISO-22000 standartları incelendiğinde süt işletmelerinde yağ oranı, pH, toplam asitlik, kuru madde, yoğunluk ve antibiyotik testlerinin günlük olarak her parti için yapıldığı anlaşıldı. Bu testler süt endüstrisindeki firmaların girdi kalite kontrol planlarında yer almakta ve uygulanmaktadır [1], [2], [60], [63].

2.5.2 Sütte pH Tayini

2.5.2.1 pH' ın Tanımı

Bir çözeltinin pH' ı hidrojen iyonu konsantrasyonunun (mol/L cinsinden) negatif logaritmasıdır. Sulu çözeltilerde H^+ ve OH^- iyonlarının konsantrasyonları genellikle çok küçük sayılar olduğu ve bunlarla uğraşmanın zaman aldığı düşünülerek Soren Sorensen tarafından 1909 yılında pH pratik bir yöntem olarak tanımlanmıştır.

$$pH = -\log[H]^+ \quad (2.34)$$

Eşitlik (2.34)' de görüldüğü gibi negatif logaritmanın alınması pH değerlerinin pozitif çıkmasını sağlamaktadır.

pH 0-14 aralığında değerler almaktadır. 25 $^{\circ}C$ ' de saf suyun hidrojen iyonu $[H^+]$ derişimi 1×10^{-7} mol/L' dir. Bu saf suyun pH' ının 7 olduğunu göstermektedir. pH değeri 7' nin altına indikçe asidik özellik artmakta, pH değeri 7' nin üstüne çıktıkça bazik özellik artmaktadır [65].

Çizelge 2.8 25 $^{\circ}C$ ' de asidik ve bazik çözeltilerin pH skalası [65].

Asidik Çözeltiler	$[H^+] > 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$	pH < 7.00
Bazik Çözeltiler	$[H^+] < 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$	pH > 7.00
Nötral Çözeltiler	$[H^+] = 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$	pH = 7.00

pH skalası aritmetik değil logaritmiktir. Örneğin; iki çözeltinin pH değerinde 1 ünitelik bir fark varsa bu birinin diğerinden 10 kat daha fazla H^+ iyon konsantrasyonuna sahip olduğunu göstermektedir [66].

Çizelge 2.9 Bazı sıvıların pH değeri [66]

Sıvı Adı	pH
Deniz Suyu	7.5
Kan plazması	7.4
İnterstisiyel Sıvı	7.4
Kan hücre içi sıvısı	6.1
Karaciğer hücre içi sıvısı	6.9
Mide salgısı	1.2 - 3.0
Pankreas salgısı	7.8 - 8.0
Tükürük	6.35 - 6.85
İnek sütü	6.6
İdrar	5.0 - 8.0
Domates suyu	4.3

2.5.2.2 pH' nın Önemi

Kimyasal ve biyolojik reaksiyonlar genellikle pH derecesine bağlıdır. Bu da pH' yı en yaygın laboratuvar ölçüm parametresi haline getirmektedir. pH ölçümü bir maddenin kimyasal özellikleri hakkında bilgi edinilmesini sağlayan en önemli birimdir. Çözeltide bulunan kimyasalların veya biyomoleküllerin çözünürlüğü, reaksiyonların hızı, oranı gibi parametreler pH ile doğrudan ilgilidir [67].

Gıdalarda kimyasal ve biyolojik pek çok reaksiyon gerçekleştiği ve bu reaksiyonları asitlik derecesini etkilediği için gıdalarda pH ölçümü oldukça önemlidir.

- Enzimler ve mikroorganizmalar optimum bir pH aralığında çalışırlar. Bu da özellikle fermantasyon teknolojisinin kullanıldığı gıda üretim alanlarını doğrudan etkilemektedir.
- Gıda koruma metotları (pastörizasyon, sterilizasyon, kimyasal madde kullanımı, ısınlama vs.) pH kontrolü ile yakından ilgilidir.
- Gıdanın tadı, aroması ve kokusu doğrudan pH değeri ile ilgilidir.
- Gıda proteinlerinden yararlanılarak yapılan gıda proseslerinde pH' ın kontrolü önemlidir. Proteinlerin fonksiyonel özellikleri pH değeri ile ortaya çıkar. Örneğin; su tutma kapasitesi pH değeri yükseldikçe artar. Bundan yararlanılarak fermente et ürünlerinde kurutma işleminin pH kontrolü sağlanarak etkin olarak yapılır.
- Jöle, marmelat ve reçel üretiminde pH değişimi ile gerçekleşir [68].

Süt ve süt mamullerinin üretiminde pH birinci derece öneme sahiptir. Çiğ süt alımlarında sütün özelliklerinden biri olarak kabul edilen pH değeri süt ve süt ürünlerinin kalite kriteri olarak üretimde yönlendirici bir etkiye sahiptir. Bununla birlikte, gerek mikrobiyolojik gerekse diğer değişimler hakkındaki en doğru sonuçlar pH değerinden anlaşılmaktadır [1], [2], [60].

2.5.2.3 pH' ın Ölçüm Yöntemleri

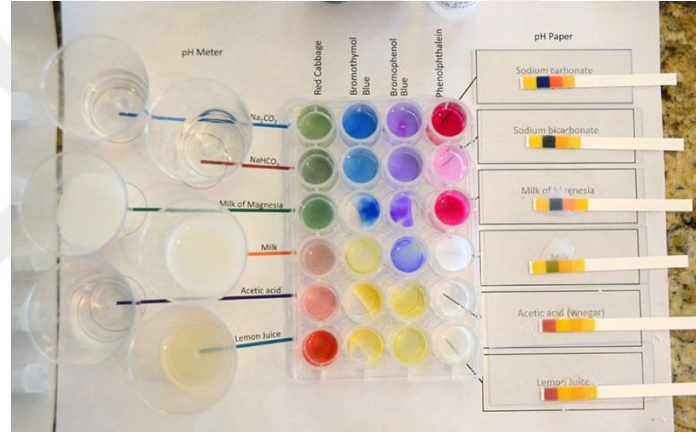
pH değeri kimyasal ve biyolojik reaksiyonların temelini oluşturduğu, kimyadan eczacılığa, gıdadan tıpa pek çok alanda uygulama alanı bulduğu için en çok ölçülen parametrelerden biridir. pH ölçümü genel olarak iki yolla yapılmaktadır. Bunlar; indikatör metot ve potansiyometrik metottur [69].

2.1.1.3.1 İndikatör Metot

İndikatör belirteçlerinin çözeltinin pH' na bağlı olarak değişmesinden yararlanılan bir metottur. Bu yöntemle ölçümde indikatör belirteçleri ve pH kağıtları kullanılır. İndikatör belirteçler hidronyum iyonuna hassas çözeltiye eklenen kimyasal bileşenlerdir.

Görünür bölgede absorpsiyon yapan metil oranj veya fenolftalein gibi indikatör boyalar, maksimum absorbansta, renginde değişime neden olan hidrojen iyonlarının aktivitesiyle konformasyonlarını değiştirirler.

pH şeritleri, indikatör boyalar ile doldurulmuş kağıt veya kağıt benzeri şeritlerdir. pH şeritleri çözelti içerisine batırıldıktan sonra beklenir ve zamanla renginde değişim gözlenir. pH değerini kabaca belirlemek için standart renklerle karşılaştırılır.



Şekil 2.22 İndikatör yöntem ile pH tayini [70]

Bu yöntem sıcaklık, yüksek tuz derişimleri gibi şartlardan kolayca etkilenmekte ve doğru sonuçlar vermemektedir. Bununla birlikte indikatör metot ile pH ölçüm hassasiyeti ± 1 pH dolaylarında olup kabaca bir fikir vermektedir [69].

2.1.1.3.2 Potansiyometrik Metot

Potansiyometrik yolla pH ölçen aletlere pH metre denmektedir. Bu metotta ölçülecek çözelti ile elektrot arasında meydana gelen potansiyel fark ölçülür. pH değeri otomatik olarak pH metrelerde gözlenir. Potansiyometrik yöntemle pH tayini Bölüm 2.2' de ayrıntılı olarak incelenmiştir.

2.5.2.4 Süt ve Süt Ürünlerinde pH Ölçümü

Ortamda bulunan serbest hidrojen iyonlarının miktarı ve aktivitesi hakkındaki en doğru bilgi pH değerinin ölçülmesi ile elde edilir ve bu asitlik “Aktüel Asitlik” olarak tanımlanır. Çizelge 2.10’ da görüldüğü gibi yeni sağılmış inek sütünün pH değeri 6.6-6.8, keçi sütünde 6.3-6.7 insan sütünde 7.3 aralığındadır. Sütte yaşanan bazı değişimler sütün pH değerini değiştirmektedir. Yeni sağılan inek sütünde pH değeri 7.5 değerine kadar yükselir ise mastitis hastalığından, 6.5’ in altında ise kolostrum sütü olmasından şüphelenir [71].

Çizelge 2.10 Bazı süt ve ürünlerine ait pH değerleri [6]

Ürün Adı	pH Değeri
İnek sütü	6.6 - 6.8
Manda sütü	6.45 - 6.85
Koyun sütü	6.46 - 6.90
İnsan sütü	7.3
Kolostrum	6.00
Mastitisli süt	7.5
Beyaz peynir	4.80 - 5.23
Kaşar peyniri	5.10
Yoğurt	4.00

Sütün asitliği süt üretiminde çok önemlidir. Sütün mayalanması, mayanın fiziki karakteri ve peynir suyu miktarı üzerine etkilidir [72].

Sütün izoelektrik noktası pH ölçümü ile bilinmektedir ve değeri 4.6-4.7 arasındadır. Bu noktada süt proteinleri stabil olduğu için sütün pıhtılaşmasına olumlu etki yapmaktadır [71].

pH değeri süt ve süt ürünlerinin pek çok özelliğini etkilemektedir, özetle;

- Süt proteinlerinin kolloidal yapıları
- Olgunlaşma dönemini etkileyen mikroorganizma faaliyet ve yaşam koşulları
- Çeşitli süt ürünlerinin aroma maddeleri
- Süt orjinli ve mikrobiyal enzimlerin etkinlikleri
- Temizlik ve dezenfeksiyonun etkin bir şekilde sağlanması [1], [6].

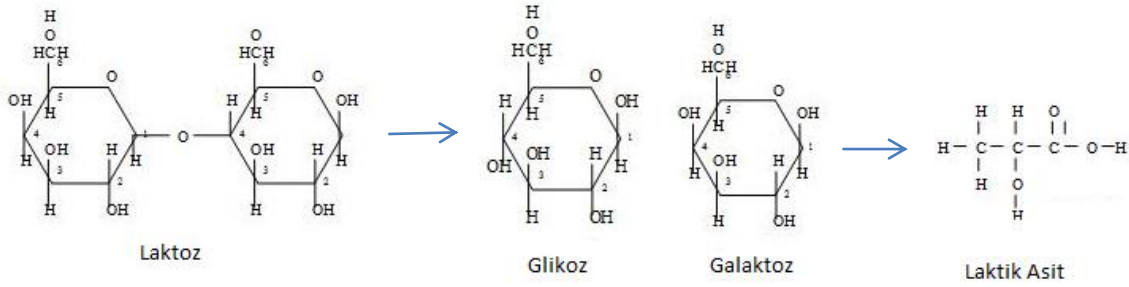
2.5.3 Sütte Toplam Asitlik Tayini

2.5.3.1 Toplam Asitlik Tanımı

Süt ilk sağımda hafif asidik bir yapıdadır. Sütün bu doğal asitliği birinci derecede kazein, fosfat ve sitratlardan, ikinci derecede albümin, globülin ve karbondioksitten kaynaklanır. Süt

yapısında bulunan bu maddeler sebebi ile asitlik özelliği gösterdiği için içeriği değişikçe asitlik derecesi de değişir. Bu sebeple süt kaynağına göre değişik asitlik düzeylerindedir [73].

Asit üreten bazı bakteriler laktozu parçalayarak laktik aside indirgerler, bu durum sütte asitliğin artmasına neden olur. Bu asitlik “Sonradan Meydana Gelen Asitlik” veya “Gelişen Asitlik” olarak ifade edilir.



Şekil 2.23 Laktozun laktik asite parçalanması [74]

Titrasyon yöntemi kullanılarak bulunan asitlik değeri, süütün doğal asitliği ve gelişen asitliğinin toplamıdır. Bu asitlik değerine “Toplam Asitlik” denilmektedir [1].

2.5.3.2 Toplam Asitlik Tayininin Önemi

Sütte öncelikle pH tayini yapılmaktadır. pH süt alımında ilk ve en önemli parametreyi oluşturmaktadır. Bununla birlikte, pH başlangıçta bulunan hidrojen iyonu derişimi hakkında bilgi vermektedir ve sütte zamanla gelişen asitlik hakkında net bilgiler edinilememektedir. Toplam asitlik tayini ile süütün gelişen asitliği hakkında doğru bilgiye ulaşmak mümkündür. [75], [76]. Gelişen asitlik süütün alım ve işlenmesinde sanitasyon ilkelerine uyulduğunun da bir göstergesidir (Çizelge 2.11) [77].

Toplam asitlik aynı zamanda laktik asit miktarındaki değişim hakkında bilgi edinilmesini sağlar. Asit üretimi arttıkça titrasyon asitliğinde yükselme meydana gelirken, pH değerinde düşme meydana gelir. Titrasyon asitliğinin bulunması laktik asit miktarının belirlenmesinde en iyi parametredir [78].

Çizelge 2.11 Asitlik dereceleri ve sütün özellikleri [1]

Sütün Özellikleri	⁰ SH Derecesi	pH Değeri
Mastitisli süt	4.0-5.0	> 6.8
Normal taze süt	6.5-7.5	6.6-6.8
Asitleşme başlangıcı	8.0-9.0	6.3
Isıtmada pıhtılaşma	10.0-12.0	5.7
Kesilen süt	25.0-30.0	5.3-5.5

2.5.3.3 Toplam Asitlik Tayininin Ölçüm Yöntemleri

Sütte asitlik artışı titrasyon yöntemi, alkol testi, kaynatma testi yapılarak belirlenir. Titrasyon yöntemi iki şekilde değerlendirilir. Bunlardan ilki Soxhlet-Henkel derecesi, ikincisi % laktik asit derecesidir. Laktik asit derecesi, 100 mL sütün titrasyonunda 0.1 N NaOH ile titre edilmesi sırasında harcanan NaOH miktarı (mL) kullanılarak belirlenir. Titrasyonda harcanan NaOH miktarı (mL) aşağıda verilen formülde yerine konularak, sütün titre edilebilir asitidesi yüzde laktik asit cinsinden hesaplanır.

$$\text{Asidite (\%laktik asit)} = \frac{\text{Ç} \times 0.009}{S} \times 100 \quad (2.35)$$

Ç = titrasyonda harcanan sodyum hidroksitin ml' si

S = titrasyonda kullanılan sütün ml' si



Şekil 2.24 Süt asitliğinin tespiti için titrasyon yöntemi

Soxhlet-Henkel Derecesi (kısaca ⁰SH) 100 mL sütün asitliğini nötralize etmek için kullanılan N/4' lük NaOH' in mL cinsinden ifadesidir. Sodyum hidroksit ile titrasyonda, hem süt asidi (laktik asit) gibi serbest asitler, hem de asit tuzları ve proteinin asit grupları tespit

edilmektedir. Harcanan miktar aşağıdaki denklemde yerine konarak sonuç bulunur:

$$\text{Asitlik Derecesi} (^{\circ}\text{SH}) = 4 \times V \quad (2.36)$$

V = Harcanan 0.25 N NaOH çözeltisinin ml olarak miktarı

Bazı ülkeler titrasyon asitliği tayinini Thörner yöntemini (titrasyonda 0.1 N NaOH kullanılır) veya Dornic Yöntemini (titrasyonda N/9 NaOH kullanılır) kullanarak gerçekleştirir. Sonuçta bulunan değerler % laktik asit cinsinden hesaplanır.

Çizelge 2.12 Titrasyon asitliği değerleri karşılaştırması [1]

Soxhlet Henkel Derecesi	Thörner Derecesi	Dornic Derecesi	% Süt Asiti
1	2.5	2.25	0.0225
2	5.0	4.50	0.0450
3	7.5	6.75	0.0675
4	10.0	9.00	0.0900
5	12.5	11.25	0.1125
6	15.0	13.50	0.1350
7	17.5	15.75	0.1575
8	20.0	18.00	0.1800
9	22.5	20.25	0.2025
10	25.0	22.50	0.2250
20	50.0	45.00	0.4500
30	75.0	67.50	0.6750

Sağlıklı bir inekten yeni sağılan sütün titrasyon asitliği 6.4-7.0 $^{\circ}\text{SH}$ derecesi veya %0.14-%0.16 süt asitidir. Ancak bu değer taşıma sırasında artış gösterir. SH derecesi 5' in altı olması halinde olumsuz bir mikrobiyal gelişmeden veya nötralize edici madde ilavesinden kuşulanılır. SH derecesi 10' un üzerine çıkarsa ısıtılmaya başlandığı anda pıhtılaşma olur.

pH değeri ile $^{\circ}\text{SH}$ değeri arasında hiçbir matematiksel ilişki yoktur. $^{\circ}\text{SH}$ değeri pH değerine çevrilemeyeceği gibi pH değeri kullanılarak $^{\circ}\text{SH}$ değeri hesaplanamaz.

Alkol testi ise daha çok sütün işletmeye kabul edilmesi sırasında eşit miktarda süt ve %68' lik alkolün karıştırılması ile yapılır. Bu yöntem temel olarak; süte alkol katılarak kazeinin kolloid durumunun bozulması sağlanır. Sütün asitliği arttıkça pıhtı oluşumu artar. Taze ve normal sütlerin pıhtılaşması için daha fazla alkole gereksinim duyulmakla birlikte, asitlik arttıkça pıhtılaşma için kullanılan alkol miktarı azalır. Bundan faydalanılarak sütün tazeliği ve asitlik derecesi hakkında tahmin yürütülür.

Kaynatma yöntemi ise analiz olanağı olmayan alanlarda sütün tazeliği hakkında fikir edinilmesine yardımcı olur. Kaynatma işlemi, asitliği yükselmiş sütlerin yüksek sıcaklık ile

yapısının bozularak pıhtı oluşturulması esasına dayanır. Sütün asitliği ile ilgili bir öngörüş edinilmesini sağlar [1], [79].

2.5.4 Süt Yağı ve Analizi

2.5.4.1 Süt Yağının Önemi

Süt proteini beslenme açısından en önemli bileşen olmasına rağmen ekonomik ve teknolojik önemi nedeniyle süt yağı sütün en değerli kısmı olarak bilinmektedir. Süt yağının önemi şu şekilde özetlenebilir;

- Sütün yağ oranı, ekonomik açıdan önemli bir yere sahiptir. Süt fabrikalarında süt hammadde olarak geldiğinde ilk olarak yağ analizi yapılmakta çıkan sonuçlara göre üreticiye fiyat verilebilmektedir.
- Sütün bileşimindeki yağ oranı, süt teknolojisinde üretim planlama, proses şekillendirme aşamalarında önemli bir parametredir.
- Bileşiminde esansiyel yağ asitleri, orta uzunlukta karbon zincirli yağ asitleri ve vitaminler içermesi sebebi ile beslenmede önemli bir yere sahiptir.
- Sindirimi kolaydır ve sağladığı enerji ile günlük beslenmede önemli bir yere sahiptir. Susuz 1 g. süt yağı 9.3 kcal enerji sağlamaktadır. Bu değer 1 g. protein veya 1 g. karbonhidratın sağladığı enerjiden fazladır.
- Süt ve süt ürünlerinin tekstürel yapısının oluşturulmasında önemlidir. Süt ürünlerinin duyu kalitesini artırır [80].

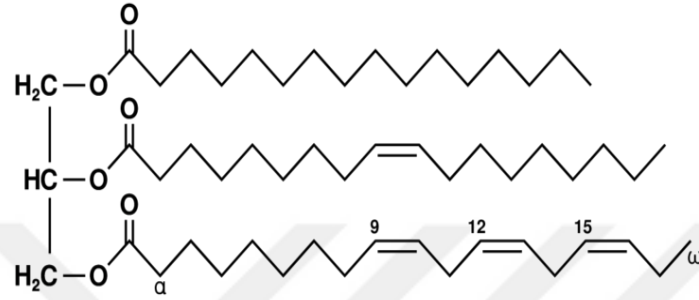
Süt ve süt ürünlerinin üretim aşamasında ve sonrasında en önemli kalite kriterlerinden biri olan yağ oranı Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Türk Gıda Kodeksi Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği, Türk Gıda Kodeksi Koyulaştırılmış Süt ve Süttozu Tebliği, Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği kapsamında standardize edilmiştir. Çizelge 2.13’ de ilgili tebliğlerde yer alan sütün sahip olması gereken yağ miktarları özetlenmektedir [81], [82], [83].

Çizelge 2.13 Çeşitli süt ve süt ürünlerinde bulunması gerekli yağ miktarları [81], [82], [83]

Ürün	Yağ Oranı
Tam yağlı yoğurt	Süt yağı $\geq$ % 3.8
Yarım yağlı yoğurt	% 2 > süt yağı $\geq$ % 1.5
Yağsız yoğurt	Süt yağı $\leq$ % 0.5
Tam yağlı ayran	Süt yağı $\geq$ % 1.8
Yarım yağlı ayran	% 1.2 > Süt yağı $\geq$ % 0.8
Yağsız ayran	Süt yağı $\leq$ % 0.5
Koyulaştırılmış Yağsız Süt	Süt Yağı $\leq$ 1
Koyulaştırılmış Yarım Yağlı Süt	1 < Süt yağı $\leq$ 7.5
Koyulaştırılmış Tam Yağlı Süt	Süt yağı > 7.5
Koyulaştırılmış Yüksek Yağlı Süt	Süt yağı $\geq$ 15
Şekerli Koyulaştırılmış Yağsız Süt	Süt yağı $\leq$ 1
Şekerli Koyulaştırılmış Yarım Yağlı Süt	1 < Süt Yağı $\leq$ 8
Şekerli Koyulaştırılmış Tam Yağlı Süt	Süt yağı > 8
Yağsız Süttozu	Süt yağı > 1.5
Yarım Yağlı Süttozu	1.5 < Süt yağı > 26
Tam Yağlı Süttozu	26 < Süt Yağı > 42
Yüksek Yağlı Süttozu	Süt yağı > 42
Sadeyağ	Ağırlıkça en az %99 oranında süt yağı
Tereyağı	Ağırlıkça en az %80, en fazla %90 oranında süt yağı
Yarım yağlı tereyağı	Ağırlıkça en az %39, en fazla %41 oranında süt yağı
Tam yağlı Peynir	45 $\leq$ Süt yağı
Yarım yağlı Peynir	25 $\leq$ Süt yağı $\leq$ 45
Az yağlı peynir	10 $\leq$ Süt yağı $\leq$ 25
Yağsız peynir	10 $\geq$ Süt yağı
Çiğ İnek Sütü	En az %3.5 (m/v)
Çiğ Manda Sütü	En az %7 (m/v)
Çiğ keçi sütü	En az %4.15 (m/v)
Çiğ koyun sütü	En az %5.5 (m/v)
Isıl işlem görmüş tam yağlı süt	%3.5
Isıl işlem görmüş yağlı süt	%3
Isıl işlem görmüş yarım yağlı süt	%1.5
Isıl işlem görmüş yağsız süt	%0.15

2.5.4.2 Süt Yağının Kimyasal Özellikleri

Süt yağı, yağ asitlerinin gliserin ile oluşturduğu trigliserid esterleridir. En önemli kısmını trigliseridler oluşturur. Süt yağı, yapısında 400' ün üzerinde yağ asidi ve 200' e yakın trigliserid bulundurması sebebiyle doğadaki en karmaşık yapıdaki yağıdır [84], [85]. Aynı zamanda, karmaşık yapısı kendisini oluşturan yağ asitlerinin çift bağlarının sayısı ve pozisyonundan kaynaklanmaktadır [86].



Şekil 2.25 Süt yağının kimyasal gösterimi [87]

Süt lipidlerinin %98-99' u trigliseridlerdir, geri kalan %1-2' lik kısım “minör lipidler” olarak adlandırılır. Çizelge 2.14' de süt yağında bulunan bileşimler özetlenmektedir. Süt lipidleri içerisinde yer alan maddeler farklı fazlarda, yağ globülleri içerisinde, globüllerin etrafını saran zarda ve eser miktarda süt serumunda bulunur [1]. Çapları 1-12 µm arasında değişen bu globüller fosfolipitçe zengindir. Globül çapı sütün yağ içeriğiyle doğrudan ilişkilidir. Globül membranı lipidin emülsiyon stabilitesini sağlar. Süt fosfolipidlerinin %60' ı ve süt kolesterolünün yaklaşık %85' i membranın yapısında yer alır. Yağ globülleri sıcaklık ve pH değişimlerine karşı dirençlidir. Globül membranında yer alan hidrofobik ve hidrofilik özellik gösteren gruplar sebebiyle güçlü mekanik uygulamalar (çalkalama, pompalama, homojenizasyon) yağ globüllerinin parçalanmasına neden olur [80].

Çizelge 2.14 Süt yağında bulunan bileşimler [1]

Bileşen	Oranları (%)	Bulunduğu Yer
Gliseridler		
Trigliseridler	98-99	Yağ globülü
Digliseridler	0.3-1.6	Yağ globülü
Monogliseridler	0.002-0.1	Yağ globülü
Fosfolipidler (Lesitin Sefalin Sfingomiyelin)	0.2-1.0	Yağ globülü membranı ve serum
Steroller (Kolesterol ve Lanosterol)	0.2-0.4	Yağ globülü membranı ve serum
Serbest Yağ Asitleri	0.1-0.4	Yağ globülü ve süt serumu
Serebrozitler	0.01- 0.07	Yağ globülü
Mumlar	Eser miktarda	Yağ globülü
Squalen	Eser miktarda	Yağ globülü
Yağda Çözünen Vitaminler		Yağ globülü
Vitamin A	7.0-8.5 µg/g yağ 8.0-10.0 µg/g yağ	
Karotenoidler		
Vitamin E	2-5.0 µg/g yağ	
Vitamin D	Eser miktarda	
Vitamin K	Eser miktarda	

Süt yağında yaklaşık 400 yağ asidi vardır (C2-C26). Bu yağ asitlerinin çoğu eser miktardadır (< %0.01). Ortalama 15 yağ asidinin konsantrasyonu %1 civarındadır. Bunların 14 tanesi çift karbonludur. Toplamın %63' ü doymuş asitler, %31' i monoenoik asitler, %3' ü dienoik asitler, %1' den azı polienoik asitlerden oluşmaktadır. Süt yapısında bulunan bu farklı yağ asitleri sayesinde geniş bir erime aralığına sahiptir. Yağ asitlerinin kompozisyonu genetik ve çevre faktörlerinin etkisiyle değişiklik gösterir [88].

Çizelge 2.15 Süt yağında bulunan yağ asitlerinin kompozisyonu [89]

Yağ Asidi	% Ağırlık	% Mol
C4:0 (Butirik asit)	3.70 ± 0.02	9.61 ± 0.05
C6:0 (Kaproik asit)	2.45 ± 0.02	4.85 ± 0.04
C8:0 (Kaprilik asit)	1.36 ± 0.01	2.17 ± 0.01
C10:0 (Kaprik asit)	2.88 ± 0.01	3.87 ± 0.01
C12:0 (Laurik asit)	3.21 ± 0.01	3.71 ± 0.01
C14:0 (Miristik asit)	11.19 ± 0.02	11.37 ± 0.02
C14:1 (Miristoleik asit)	1.05 ± 0.01	1.08 ± 0.01
C15:0 (Pentadekanoik asit)	1.27 ± 0.05	1.35 ± 0.05
C16:0 (Palmitik asit)	27.37 ± 0.03	24.78 ± 0.03
C16:1 (Palmitoleik asit)	1.65 ± 0.02	1.51 ± 0.02
C18:0 (Stearik asit)	13.91 ± 0.02	11.36 ± 0.02
C18:1 (Oleik asit)	27.99 ± 0.04	23.02 ± 0.03
C18:2 (Linoleik asit)	2.05 ± 0.05	1.70 ± 0.04
C18:3 (Linolenik asit)	0.99 ± 0.01	0.83 ± 0.01
C20:0 (Araşidik asit)	0.19 ± 0.01	0.14 ± 0.01

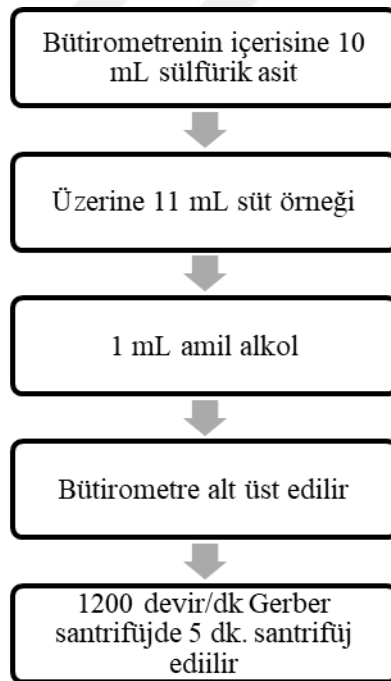
2.5.4.3 Süt Yağının Fiziksel Özellikleri

- **Özgül Ağırlığı:** Süt yağı sütün en hafif bileşenidir. Özgül ağırlığı 15 °C' de 0.93' tür. Bu sayede süt yağı kendi haline bırakılarak sütün yüzeyinde toplanır ve kaymak denen tabakayı oluşturur [78].
- **Çözünürlüğü:** Süt yağı; kloroform, benzol, trikloretilen, karbonditetraklorür, karbon sülfür, sıcak alkol, benzen, eter gibi organik çözücülerde çözünür. İçeriğinde bulunan trigliseridler suda çözünmez. Süt yağının bu özelliğinden faydalanılarak süt ve süt ürünlerinden ekstraksiyon yoluyla yağ alınarak kantitatif analizler yapılır [78].
- **Erime Noktası:** İçeriğinde bulunan kısa karbon zincirli yağ asitleri ve doymamış yağ asitleri sebebiyle süt yağının erime noktası diğer hayvansal yağlara oranla daha düşüktür. Erime sıcaklığı yaklaşık 27-33 °C' dir. Yağın tamamen berraklaşıp içeriğinde hiç bir bulanıklık bulundurmadığı sıcaklık ise 33-38 °C' dir. Süt yağının erime sıcaklığı sağlık açısından çok önemlidir. Süt yağı vücudumuzda eriyik halde bulunmaktadır [78].
- **Donma Noktası:** Yağlarda donma noktası, içeriğinde bulunan yağ asitlerinin kompozisyonu ile doğrudan ilişkilidir. Doymamış yağ asitleri fazla olan bitkisel yağlar 0 °C' nin altında donarken, süt yağının donma noktası 15-25 °C' dir [78].

- **Rengi:** Süt yağı hafif sarımsı bir renktedir. Süt yağının rengi hayvanın beslendiği yemin içeriğinde bulunan karoten ve ksantofil miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Ayrıca sütün elde edildiği hayvana göre de renk değişikliği gözlenmektedir [1].
- **Tekstürel Özellikleri:** Tekstürel özellikler ile donmuşluk, sertlik ve vizkosite özellikleri tanımlanır. Süt yağının donmuşluğu katı yağın sıvı yağa oranıyla belirlenir. Süt yağının vizkositesi; ürünün içeriği, pH' ı, sıcaklığı, yağın termal profili ve süreç işlemlerinden etkilenir [78].

2.5.4.4 Süt Yağ Analizinde Kullanılan Yöntemler

Süt ve süt ürünlerinin yağ oranının belirlenmesinde “Gerber Yöntemi” kullanılmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde bulunan protein ve zor çözünen tuzların derişik sülfürik asit ve amil alkolde çözdürülerek çöktürülmesi ve geriye kalan yağın bütirometrenin skalasından okunması ilkesine dayanmaktadır. Bütirometrenin skalasından % yağ oranı okunur ve bu değer ilgili tebliğ hükümleri ile kıyaslanarak kalite parametresi olarak kaydedilir. Deneyin akım şeması Şekil 2.26’ da görölmektedir.



Şekil 2.26 Sütte yağ oranı analizinin akış şeması

Su banyosu ve ısıtma düzenekli santrifüj genellikle süt ürünlerinde kullanılır, sütlerde ön ısıtma işlemi gerekmez, süt yanabilir. Analiz sonucunda okuma yapılırken skalada biriken yağ berrak olmalıdır. Yağ sütünün köpüklü, yanık ve tortulu olması analiz sırasında hata yapıldığının bir göstergesidir. Amil alkol eksik eklenmiş olabilir, H_2SO_4 çözeltisi fazla derişiktir veya bütirometre soğuktur. Skalası üzerinde yağın üst düzeyi okunur ve örneğin % yağ oranı belirlenir (Şekil 2.27). Okunan yağ yüzdesi 100 g. örnekte bulunan yağ oranını ifade eder [90].

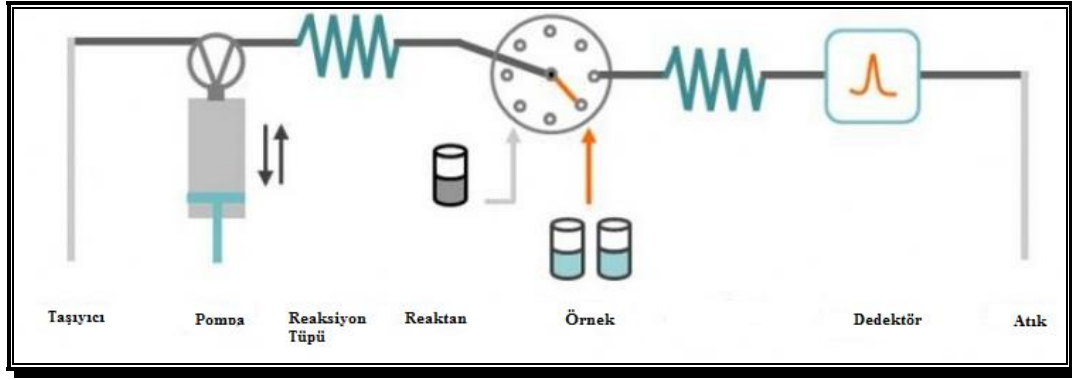


Şekil 2.27 Bütirometre ile sütte yağ analizi

2.6 Sıralı Enjeksiyon Analizi (SEA)

Sıralı enjeksiyon analizi (SEA) akış esaslı bir yöntemdir. Akış esaslı yöntemler 1970' li yıllarda Amerika Birleşik Devletlerinde Stewart, Danimarka' da Ruzicka ve Hansen isimli bilim adamları tarafından geliştirilmiştir. Bu kategoride sıralı enjeksiyon, akış enjeksiyon (FEA), hava bölmeli, sürekli olmak üzere dört temel yöntem vardır [37].

Sıralı Enjeksiyon Analizi (SEA), enstrümental analizlerde, kimyasal reaksiyonlar içeren sürekli ayırma proseslerinde, reaksiyon ürünlerinin kimyasal reaksiyon gelişimini tanımlamada, manuel olarak yapılan pek çok kimyasal ve fiziksel işlemlerde kullanılmakta, bu işlemlerin otomasyonunu sağlamaktadır. Bununla birlikte, analizlerde hızlı, kesin ve doğru sonuçların elde edilmesini kolaylaştırmaktadır [91].



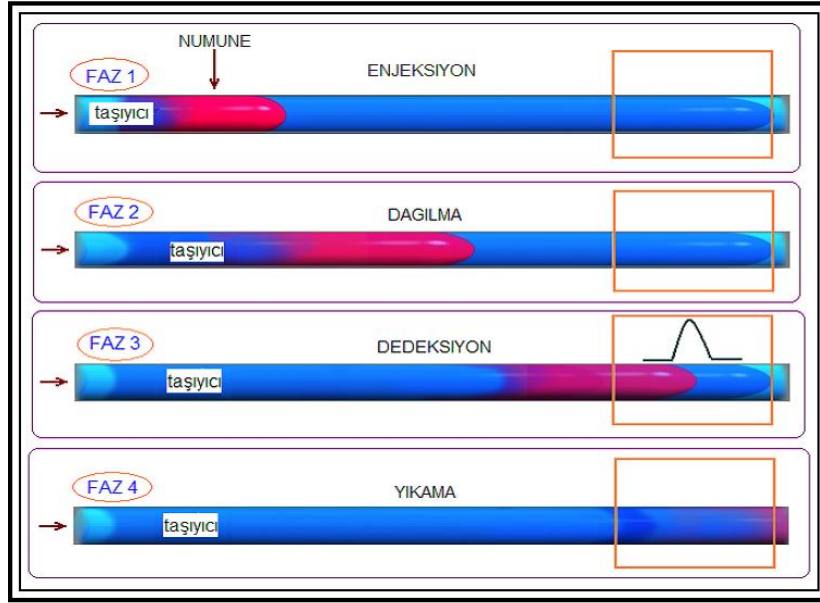
Şekil 2.28 SEA sisteminin şematik gösterimi [91]

SEA tekniği basitliği ve kolaylığı ile örnek manipülasyonlarını otomatize edecek bir yöntemdir. SEA yöntemi ilerlemiş teknoloji sayesinde ucuz donanımlara gereksinim duyulan bir yöntem haline almıştır. Geliştirilen bilgisayar programları ile araştırmacılara kendi konuları ile ilgili özel tasarımlar yapma imkanı sunmasının yanı sıra endüstriyel uygulamaları ile analiz yöntemlerinin süresini kısaltarak üretim ve kalite kontrol açısından avantajlar sağlamaktadır [20].

2.6.1 SEA Yönteminin Temel Prensipleri

SEA tekniğinin temel prensibi; mikro hacimlerdeki çözeltilerin bir taşıyıcı faz kullanılarak detektörden geçirilip ölçümünün yapılabilmesidir. Numune hareketli faz içerisinde bir bölge (zone) oluşturur ve detektörden geçerken absorpsiyon, elektrot potansiyeli gibi fiziksel parametrelerde değişikliğe bağlı olarak pikler oluşturur. Elde edilen pik yüksekliği veya alanı standart çözeltilerden elde edilen pik yüksekliği ve alanları ile karşılaştırılarak ölçüm sağlanır [93].

Şekil 2.29' da görüldüğü gibi, SEA sisteminde; (i) sistem borularının doldurulmuş olduğu taşıyıcı içerisine numune eklenir, (ii) taşıyıcı ile birlikte ilerleyen numune taşıyıcı faz içerisinde dağılmaya başlar ve bir ara yüzey meydana gelir, (iii) numune, taşıyıcı faz yardımıyla dedektöre iletilir, (iv) dedektör analitin içeriğine bağlı olarak değişimleri kaydeder [94].

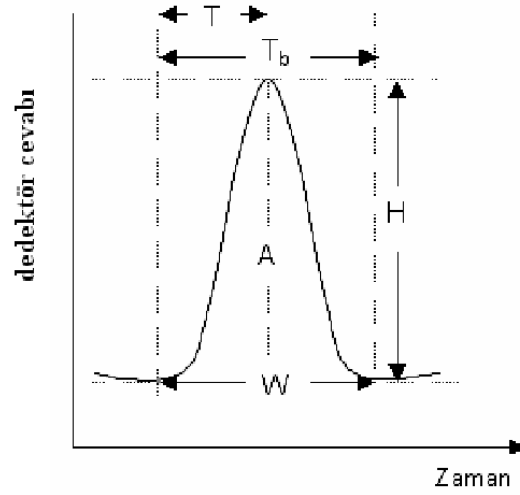


Şekil 2.29 Sıralı Enjeksiyon (SE) sistemlerinin çalışma prensibinin şematik gösterimi [94]

Örnek doğrudan ölçüme alınabileceği gibi sisteme eklenecek kollar sayesinde reaktiflerle reaksiyona girmiş halde de ölçüm yapılabilmesine olanak sağlar.

SEA sisteminde elektrotun cevabı iki kinetik sürecin sonunda oluşan geçici pikler şeklindedir (Şekil 2.30). Bu süreçlerden ilki taşıyıcı faz ile örnek bölgesinin dağılmasını kapsayan fiziksel süreç, diğeri ise numune ve reaktifin karışması sonunda elektrot tarafından algılanan bileşenlerin oluşturduğu kimyasal süreçtir. Bunlar eşzamanlı olarak meydana gelmektedir.

Elektrotun analizi yapılan türlere hızlı ve doğrusal şekilde cevap verdiği durumlarda pik yüksekliği, pik alanı veya pik genişliği ölçümleri arasında herhangi bir fark yoktur. Analizi yapılmak istenen maddenin konsantrasyonu bu parametrelerin her birine farklı biçimde bağlı olmasına rağmen böyle durumlarda parametrelerin her birinden faydalanmak mümkün olmaktadır.



Şekil 2.30 SEA sinyali [95]

Şekil 2.30 incelendiğinde;

H: Pik yüksekliği

W: Pik genişliği

A: Pik alanı

T: Enjeksiyon anından pik maksimumuna kadar geçen süre

Tb: Pikin başlangıcıyla yeniden temel hale dönüş anı arasında geçen süreyi ifade etmektedir.

Ayrıca;

k: Orantı sabiti

C: Çözelti konsantrasyonu

olmak üzere konsantrasyon ve pik yüksekliği arasındaki ilişki;

$$H = k \times C \quad (2.37)$$

şeklindedir. Pik yüksekliği ölçümlerde sık kullanılan bir parametredir, bunda akım potansiyel ve absorbans vs. elektrot cevapları ile doğrudan ilgili olması ve kolay tanımlanması etkilidir. Bununla birlikte; pik alanı ile konsantrasyon arasındaki ilişki;

$$A = k \times C \quad (2.38)$$

Pik alanı hesaplayarak kantitatif sonuçlar elde etmek bir takım dezavantajlar taşımaktadır. Logaritmik dedektörlerin ($\log C$) cevabı, pikin temel hale yakın olan kısmı, maksimum noktasına yakın olan kısımlara göre daha orantısız hesaplandığından değişebilmektedir. Bu durum numunenin konsantrasyonunun doğru hesaplanmasına engel teşkil etmektedir. Bununla birlikte pik genişliği konsantrasyonun logaritması ile doğru orantılı olarak

değişmekle birlikte pik alan ve yükseklik ölçümleri ile karşılaştırıldığında doğruluk oranı azdır [95].

SEA sistemine pH, elektrot potansiyeli, difüzyon akımı, absorbans, floresans, elektriksel iletkenlik gibi değişimleri algılayabilen birden fazla elektrot eklenerek çok sayıda parametrenin ölçümü yapılabilmektedir [96].

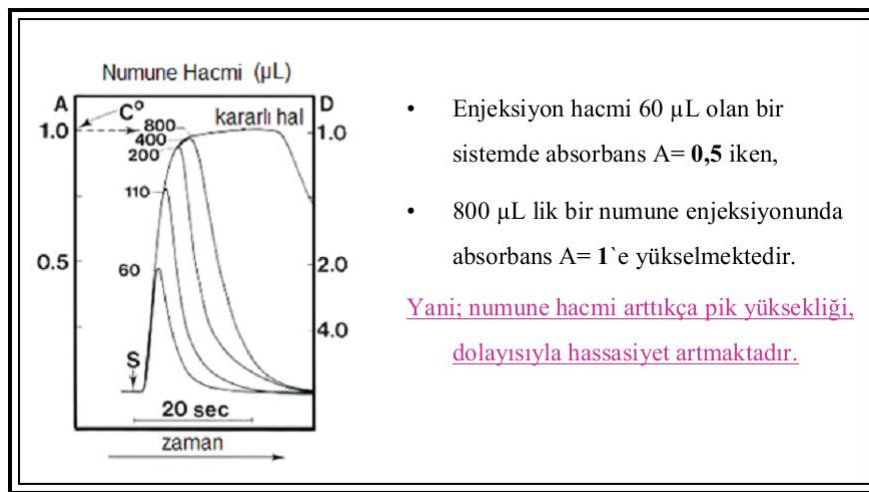
Ölçüm çok düşük miktarlarda örnek almayı sağlayan miligat pompa sayesinde ölçüm cihazına aktarılabilmekte ayrıca manuel olarak enjeksiyon yapmaya gerek kalmamaktadır.

2.6.2 SEA Sisteme Etki Eden Faktörler

Sıralı enjeksiyon analiz yöntemi:

- Numune enjeksiyon hacmi,
- Kontrol edilebilir numune dağılımı,
- Sistemin bağlantılarının geometrik şekilleri,
- Sıcaklık faktörlerine bağlıdır [37].

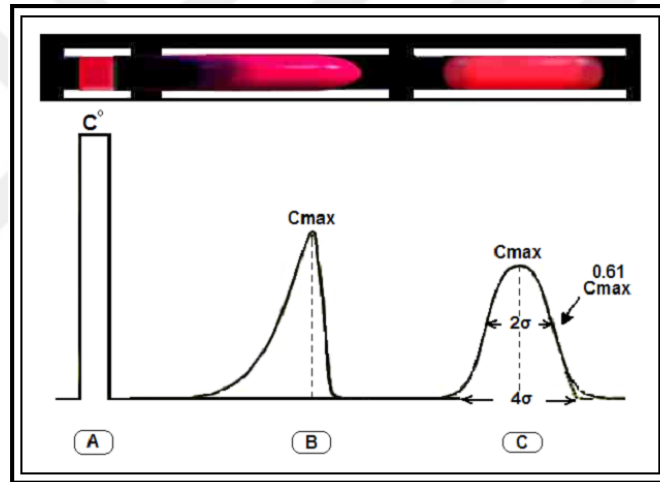
Sıralı enjeksiyon analiz yöntemi mikro düzeylerde numune enjeksiyonu yapmaya imkan veren bir sistemdir. Numune hacmi pik yüksekliği ve ölçüm hassaslığının artmasında etkili olan bir faktördür. Enjeksiyon hacmi ile hassasiyet arasındaki ilişki Şekil 2.31’ de gösterilmektedir [97].



Şekil 2.31 Akış enjeksiyon analizlerinde numune hacminin etkisi [97]

Kontrollü dağılma ise sıralı enjeksiyon sistemlerinin en önemli özelliğini oluşturmaktadır. Sürekli akış halinde olan sistem içerisine gönderilen numunenin dedektöre taşınması boyunca meydana gelen dağılımın tekrarlanabilirliği önemlidir.

SEA sistemde dağılım; moleküler difüzyon ve konveksiyon güçlerinin etkisi ile oluşmaktadır. Analiz sırasında moleküler difüzyon çoğu zaman ihmal edilebilir. Konveksiyon düz olmayan kanallarda akış yönüne dik merkez kaç kuvvetinin, düz kanallarda ise farklı noktadaki sıvı elemanlarının hızlarında oluşan farklılık sebebiyle oluşmaktadır. Dağılmanın gerçekleştiği bölge, boyu dedektöre taşınma uzaklığına bağlı olarak değişen, bir iç bükey parabolik yüzey ile bir dış bükey parabolik kuyruk meydana getirir. Bu alan taşıyıcı faz içine nüfuz ederek gelişir böylece dağılımı oluşturan kuvvetler kontrol altında olmakta SEA’ de rastgele türbülanslar meydana gelmemektedir.



Şekil 2.32 Sıralı enjeksiyon (SE) sistemlerinde numunenin dağılımı (a) Dağılıma uğramayan numune bölgesi (Initial Concentration) (b) Dağılmaya uğramaya başlayan numune bölgesi (c) Dağılıma uğrayan numune bölgesi (Gauss Şekli) [97]

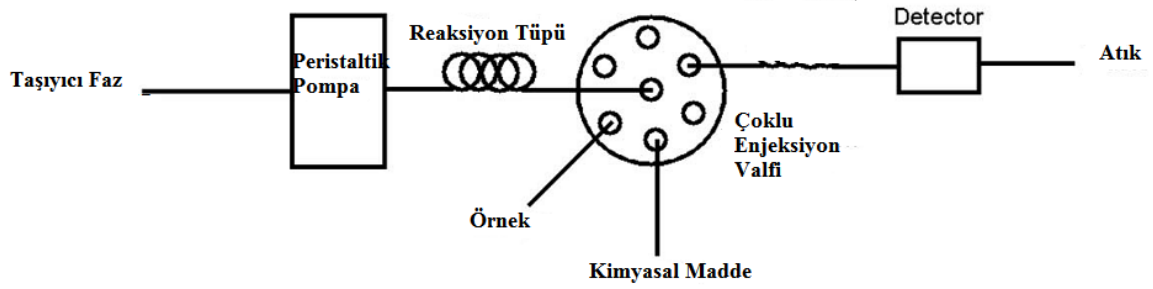
Şekil 2.32’ de Sıralı Enjeksiyon sistemlerde numune dağılımı gösterilmektedir. C_0 numunenin taşıyıcı faza enjekte edildiği ve henüz dağılmanın meydana gelmediği numune konsantrasyonudur. C_{max} ise taşıyıcı sistem içerisinde ilerleyen numunenin ölçülebilir maksimum konsantrasyonudur.

Ayrıca dağılım; numune hacmi ve akış hızı, sistemde bulunan boru çapları, reaksiyon hücrelerinin iç çapları ve uzunluklarından da etkilenmektedir. Boru iç çapları küçüldükçe hacim azalmakta bu da sıvı elemanların hızının artmasına yol açmaktadır. Artan hız sebebi ile pikler erken meydana gelmektedir. Bununla birlikte, bu durum numunenin hareketli faz ile

daha az etkileşerek bant genişliğinin daralmasına ve simetrik, keskin piklerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [97].

2.6.3 SEA Sisteminin Teknik Ekipmanları

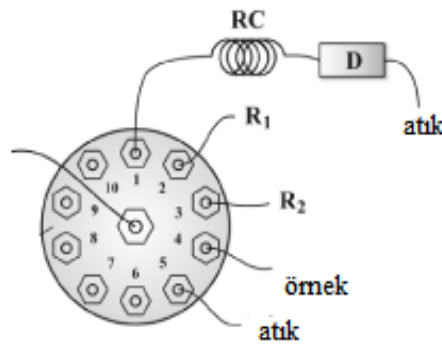
Sıralı enjeksiyon sistemi temel olarak dört ana bölümden oluşmaktadır. Bunlar; çoklu enjeksiyon valfi, peristaltik pompa, bağlantı elemanları ve detektör. Örnekleme çoklu enjeksiyon valfi yardımıyla yapılmaktadır. Peristaltik pompa ile akış sağlanmaktadır [22].



Şekil 2.33 SEA sisteminin elemanlarını gösterildiği şematik çizim [22]

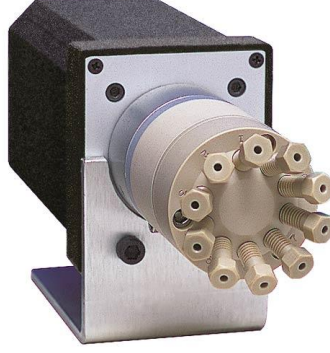
2.6.3.1 Çoklu Enjeksiyon Valfi

SEA sisteminin çok yönlü olmasını sağlayan en önemli etken çoklu enjeksiyon valfidir. Bu valf sistemin çok yönlü olmasını sağlar ve onu diğer akış sistemlerinden ayırır. Vananın her portu belirli bir amaca yönelik çalışmaktadır ve örnek, standart, reaktif ve dedektör kombinasyonları rahatlıkla belirli bir analize uyacak şekilde modifiye edilebilmektedir [20].



Şekil 2.34 Çoklu enjeksiyon valfi çalışma örneği [98]

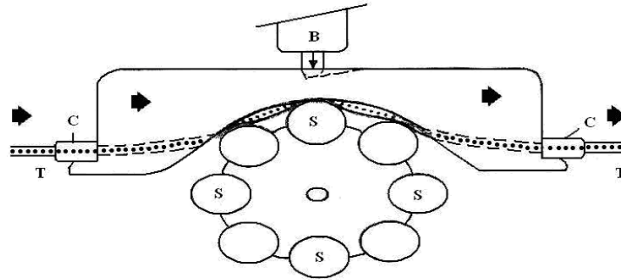
Valf sayesinde numune çözeltisi bir sıvı damlası şeklinde hızla hazırlanmış olan bilgisayar programı sayesinde kolayca sisteme enjekte edilir. Ayrıca bu numune yanında reaktifler de analizin durumuna uygun olarak sırayla sisteme alınır ve analizi sağlanır. Valf ayrıca sistemden atıkların atılmasında, sistemin temizlenmesinde kolaylıklar sağlamaktadır.



Şekil 2.35 Çoklu enjeksiyon valfi

2.6.3.2 Peristaltik Pompa

Peristaltik pompa SEA sistemin temel unsurlarından biridir. Pompa paralel tüpleri sayesinde çok kanallı özellik sunmaktadır. Çok yönlü itme kuvveti sağlayarak farklı hacimlerde akış hızı tercihleri ile çoklu valfin istenen sıvı elemanı alması sağlanmaktadır. Düzenli kullanımlarında analiz sırasında belirli bir performans artışı sağlamaktadır. Bununla birlikte; 300 saatlik çalışma süresi kısıtlaması, organik çözücüye ve kuvvetli asitlerle oluşabilen korozyonlar, akış oranında meydana gelebilen kararsızlıklar sistem açısından dezavantajlar meydana getirmektedir [99].



Şekil 2.36 Peristaltik pompa, B: sıkıştırma noktası, C: tüp uçları, S: silindir, T: tüp [99]

2.6.3.3 Dedektör

SEA sistemde çalışmanın amacına yönelik olarak atomik emisyon, pH, absorbans, floresans, elektrot potansiyeli, difüzyon akımı gibi değerleri ölçebilen çeşitli dedektörler ile çalışılabilmektedir. Her araştırmanın kendine özgü olmakla birlikte genel olarak bir dedektörün küçük boyutlarının olması, yüksek duyarlılık göstermesi ve geniş bir konsantrasyon aralığına sahip olması beklenir [91].

2.6.3.4 Diğer Bileşenler

Sıralı enjeksiyon analizinde kullanılan taşıyıcı boru ve bağlantılar sistemin temel unsurlarındandır. Piyasada kullanım amaçlarına uygun nitelik ve çaplarda çeşitli boru ve bağlantılar bulunmaktadır. Özellikle boru çapları, numuneye özgü ve çalışmanın niteliğini tamamlayıcı olması nedeniyle önem taşımaktadır [100].

Sistemde reaksiyonun gerçekleşmesinin sağlanması amacıyla reaksiyon kolonu eklenebilir. Kolonlar amaca yönelik olarak dolgu malzemeleri ile zenginleştirilebileceği gibi reaksiyonun gerçekleşmesi için kimyasalların bir araya gelmesini sağlayan daha geniş çaplı, burgulu, kıvrımlı gibi farklı şekillerde de olabilmektedir.

Hareketli ortamda çalışılacağı için elektrotların bağlanacağı hücrelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu hücreler polikarbonit bloklardan oluşabileceği gibi fleksiglass yapıda da olabilmektedir. Hücre tamamen çalışmanın amacına yönelik olarak bir veya birden fazla elektrotun bağlanabileceği şekilde tasarlanmalıdır. Bununla birlikte, akış yolunu oluşturacak giriş ve çıkışa sahip olup buralara ince boru bağlantıları eklenmelidir.

2.6.4 SEA Sisteminin Optimizasyonu

SEA sistemde sonuçların doğruluk, duyarlılık ve kesinliğinde değişkenlerin optimizasyonu önem taşımaktadır. Kimyasal olarak pH, sıcaklık, reaktif miktarı ve konsantrasyonu gibi değişkenler yanı sıra, SEA' i etkileyen faktörler olan akış elemanlarının geometrik şekilleri, numune hacmi, akış hızı, tüm sistemin hacmi gibi faktörlerin de göz önünde tutulması gerekmektedir [101].

2.6.5 SEA Uygulamaları

Akış enjeksiyon sistemlerinin kullanımı ile başlayan ardından teknolojinin gelişimi ile kendine oldukça geniş bir alan bulan SEA sistemi çevresel ve biyolojik alanların yanı sıra

gıda endüstrisinde kalite kontrol analizlerinde doğru ve hızlı sonuçların alınması amacıyla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, tıp, ilaç ve biyoteknoloji alanlarında da yaygın olarak kullanım alanı bulmaktadır.

Gıda endüstrisinde hammadde, ara ürün ve nihai üründe gıda güvenliği ve kalite kontrol amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca gıda araştırmalarında da hızlı ve güvenli olması reaktan miktarlarının oldukça düşük olması ve analizleri otomatize etmesi sebebi ile tercih edilmektedir.

Van Staden ve Mc Cormack, 1998 yılında sıvılaştırılmış soya fasulyesi örneklerinde toplam yenilebilir amino asit içeriğinin belirlenmesi için SEA sistem tasarlamışlardır [102].

Fletcher ve Van Staden (2003), çeşitli içki örneklerinde etanol tayini için bir spektrofotometrik izlemeye dayalı bir SEA sistemi tasarlamışlardır [103].

March, Simonet ve Grases (2000), tasarladıkları SEA sistem ile çeşitli yağlı tohumların fitik asit miktarını (inositol heksafosfat) belirlemişlerdir [104].

Van Staden ve Van der Merwe (1998), tasarladıkları spektrofotometrik izlemeye dayalı SEA sistemi ile işlenmiş et ürünlerinde bulunan nitrit miktarını belirlemişlerdir [105].

Bir diğer çalışmada Schindler et al. (1998), çeşitli alkolsüz içecek örneklerinde glikoz, früktoz ve süktroz miktarlarının tayini için bir SEA sistem tasarlamışlardır [106].

Silva, Souza, Ferraz, and Nogueira (1999), iletkenlik yetisinden yola çıkarak sütte klorür miktarını tespit etmek için bir SEA sistem tasarlamışlardır [107]. Çizelge 2.16 ve Çizelge 2.17' de SEA sisteminin gıda sektöründeki uygulamaları ayrıntılı olarak gösterilmektedir [108].

2.6.6 SEA Titrasyonları

Asit-baz titrasyonlarının hızlı bir şekilde yapılması özellikle ilaç ve kimya laboratuvarları olmak üzere endüstriyel kontrol laboratuvarlarında büyük önem taşımaktadır. Geleneksel olarak bu tip titrasyonlar için Batch yöntemi kullanılmaktadır. Ancak Batch yönteminin yavaş olması proses işleyişinde olumsuzluklara sebep olmaktadır. Bununla birlikte, bu yöntem daha fazla sarf malzemenin harcanmasına neden olmaktadır. Pipetleme, dağıtma, karıştırma ve ayırma gibi manuel uygulamalar otomatize edilebilirse zaman ve materyal tasarrufu sağlanabilir.

Temel olarak SEA' da titrasyon; hareketli ortamda yer alan baz fazı içerisine asit örneğinin enjeksiyonu ile sağlanır. Taşıyıcı ile reaksiyona girmeye başlayan örneğin n ve arkasında oluşan zonlar tamamen nötralize olur. Biri cepheleme bölgesi biri kuyruklama bölgesi olmak üzere iki eşdeğer noktanın gözlenmesi anlamına gelmektedir. Analit konsantrasyonu titrant konsantrasyonundan fazla olduğunda ve dağılma biri diğerinden fazla olduğunda doğrudur. Analit konsantrasyonu titratın konsantrasyonundan küçük ise pikde bükülme meydana gelir ve mesafe analit konsantrasyonunun bir fonksiyonudur.

Titrasyon elektrokimyasal veya spektrofotometrik takipler ile gerçekleştirilebilir. Spektrofotometrik yöntemlerde örnek enjekte edilmeden önce bir indikatörün kullanımı gerekir. Elektrokimyasal yöntemlerde özellikle potansiyometrik takip ile yapılan analizlerde ek bir indikatöre ihtiyaç duyulmaz. pH tayini için çok çeşitli elektrotlar kullanılmaktadır; cam veya elik elektrotlar, metal oksit, PVC veya epoksiakrilat temelli olanlar bunlara örnek olarak verilebilir [109].

Çizelge 2.16 SEA sistem kullanılarak gıdalarda inorganik madde tayini [108]

Analit	Örnek	Dedektör	Örnek Sayısı/Saatte İşlenebilen	Referans
İyot	Tuz	UV-Vis $\lambda = 528 \text{ nm}$	24	Arau'jo et al. (1997)
Demir	Şarap	UV-Vis $\lambda = 510 \text{ nm}$	9	Oliveira et al. (2000)
Demir	Bebek Maması	UV-Vis $\lambda = 480 \text{ nm}$	100	Arau'jo et al. (1997)
Demir	Alkolsüz İçecekler ve Süt	UV-Vis $\lambda = 510 \text{ nm}$	9	Neira et al.(2000)
Kalsiyum	Alkolsüz İçecekler ve Süt	UV-Vis $\lambda = 535 \text{ nm}$	9	Neira et al.(2000)
Nitrat	İşlenmiş etler	UV-Vis $\lambda = 540 \text{ nm}$	49	Van Staden Der and van Merwe (1998)
Fosfor	Şarap, Meyve Suyu, Süt	UV-Vis $\lambda = 619 \text{ nm}$	16	Oliveira et al. (1998)
Sülfat	Şarap	UV-Vis $\lambda = 420 \text{ nm}$	5	Silva et al . (2003)
Sülfür Dioksit (Serbest)	Şarap	UV-Vis $\lambda = 580 \text{ nm}$	17	Segundo and Rangel (2001)
Sülfür Dioksit (Toplam)	Şarap	UV-Vis $\lambda = 580 \text{ nm}$	16	Segundo and Rangel (2001)
Demir	Şarap	FAAS-Vis $\lambda = 248,3 \text{ nm}$	95	Costa et al. (2000)
Çinko	Şarap	FAAS-Vis $\lambda = 213,9 \text{ nm}$	95	Costa et al. (2000)

Manganez	Şarap	FAAS–Vis $\lambda = 279,0 \text{ nm}$	95	Costa et al. (2000)
Bakır	Şarap	FAAS $\lambda = 213,9 \text{ nm}$	75	Costa et al. (2000)
Demir (III)	Şarap	FAAS $\lambda = 248,3 \text{ nm}$	18	Costa et al. (2000)
Demir (toplam)	Şarap	FAAS $\lambda = 248,3 \text{ nm}$	18	Costa et al. (2000)
Civa	Balık	CVAAS $\lambda = 253,7 \text{ nm}$	30	Bauza' de Mirabo' et al. (1997)
Arsenik	Şarap	HGAAS $\lambda = 248,3 \text{ nm}$	23	Za'rate et al. (2001)
Klorür	Süt	İletkenlik	30	Silva et al.(1999)

Çizelge 2.17 SEA sistem kullanılarak gıdalarda organik madde tayini [108]

Analit	Örnek	Dedektör	Örnek Sayısı/Saatte İşlenebilen	Referans
Aflatoksin B1	Fıstık	UV–Vis $\lambda = 620 \text{ nm}$	6	Garden and Strachan (2001)
Aminoasit	Sıvılaştırılmış soya fasulyesi	UV–Vis $\lambda = 350 \text{ nm}$	15	Van Staden and McCormack (1998)
Etanol	Damıtılmış likör	UV–Vis $\lambda = 600 \text{ nm}$	19	Fletcher and Van Staden (2003)
Etanol	Şarap	UV–Vis $\lambda = 340 \text{ nm}$	22	Segundo and Rangel (2002)

Gliserol	Şarap	UV-Vis $\lambda = 340 \text{ nm}$	5	Segundo and Rangel (2002)
Glikoz	Süt	UV-Vis $\lambda = 510 \text{ nm}$	5	Saraiva (2000)
L (+) Laktik Asit	Şarap	UV-Vis $\lambda = 510 \text{ nm}$	14	Arau'jo et al. (1997)
D (+) Laktik Asit	Et	UV-Vis $\lambda = 340 \text{ nm}$	20	Shu et al. (1993)
L (-) Malik Asit	Şarap	UV-Vis $\lambda = 340 \text{ nm}$	22	Segundo and Rangel (2003)
Fitik Asit	Mısır, fıstık, fındık, badem	UV-Vis $\lambda = 550 \text{ nm}$	20	March et al. (2000)
İndirgenmiş Şeker	Şarap	UV-Vis $\lambda = 460 \text{ nm}$	18	Arau'jo et al. (2000)
Fruktoz	Şarap	FTIR $97-1435 \text{ cm}^{-1}$	20	Schindler et al. (1998)
Glikoz	Alkolsüz içecekler	FTIR $971-1206 \text{ cm}^{-1}$	15	Schindler et al. (1998)
Fruktoz	Alkolsüz İçecekler	FTIR $971-1206 \text{ cm}^{-1}$	15	Schindler et al. (1998)
Sükroz	Alkolsüz içecekler	FTIR $971-1206 \text{ cm}^{-1}$	15	Schindler et al. (1998)
Üre	Süt	ISE NH_4^+	20	Silva et al. (2000)

MATERYAL VE METOD**3.1 Materyal****3.1.1 Kullanılan Kimyasallar**

Stok çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan fosfat tuzları ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 , $(\text{Na}_3\text{PO}_4)12\text{H}_2\text{O}$), pH elektrotların hazırlanmasında kullanılan quinhidron ve grafit Merck (Darmstadt, Germany) firmasından, polimetil metakrilat (PMM) Fortex firmasından (İstanbul, Türkiye), akrilik sıvısı İmicryl firmasından (Konya, Türkiye), katı kontakt yapımında kullanılan tetrahidrofuran (THF) Fluka firmasından (Buchs, Switzerland), epoksi Henkel (İstanbul, Türkiye) firmasından, sertleştirici (Desmodur RFE) Bayer firmasından (Germany), asetik asit stok çözeltileri Merck firmasından (Darmstadt, Germany) ve taşıyıcı olarak kullanılan NaOH Merck firmasından (Darmstadt, Germany) temin edildi.

3.1.2 Kullanılan Cihazlar

Tampon çözeltilerin pH ölçümü, cam pH elektrot (Schott BlueLine 17 pH, Germany) ve Jenway iyon analiz cihazı (Jenway 3040, UK) kullanılarak yapıldı. Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan deiyonize su (Millipore Simfilter, ABD) deiyonize su cihazından elde edildi. Potansiyometrik ölçümler, bilgisayar kontrollü çok kanallı potansiyometrik ölçüm sistemi ile (Medisen, Türkiye) yapıldı. Bütün potansiyel ölçümlerinde referans elektrot olarak Gümüş (Ag)/Gümüş klorür (AgCl) elektrot (ALS, Japonya) kullanıldı. Maddelerin tartım işleminde (Avery Berkel, ModelVA 304, UK) hassas terazi kullanıldı. Sıralı Enjeksiyon Analizi (SEA) tasarımı iki yollu peristaltik

pompa VICI (Model:CP-DSM, ABD), çoklu valf VICI (Model: EMHMA-CE, ABD), taşıyıcı borular (Small Parts Inc., ABD) kullanıldı.

3.1.3 Kullanılan Bilgisayar Yazılımları

Elektrotların potansiyometrik performans parametrelerinin hesaplanmasında, Excell Office 2010 (Microsoft Co., ABD) kullanıldı. pH elektrotların performans değerlendirmesinde ISEMS veri toplayıcı programı kullanıldı. SEA sistemi teknik ekipmanlarının kontrolü FlozF (Global FIA Inc., ABD) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçların istatistiksel analizinde SPSS (IBM, ABD) paket programı kullanıldı.

3.1.4 Kullanılan Süt Örnekleri

Çalışmada, çeşitli markaların UHT süt örnekleri toplam asitlik ve pH tayini yapmak amacıyla kullanıldı. Yağ analizi için üreticiden temin edilen çiğ süt örnekleri kullanıldı.

3.2 Metod

3.2.1 Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Kompozit pH elektrotların potansiyometrik davranışlarının incelenmesi için çözeltilerin derişimi 1 M olacak şekilde pH' ı 2-12 arasında değişen standart tampon çözeltiler hazırlandı. pH 2-5 aralığındaki standart tampon çözeltiler $H_3PO_4/H_2NaPO_4 \cdot 12H_2O$ tuz çifti, pH 6-8 aralığında olan standart çözeltiler $H_2NaPO_4 \cdot 12H_2O/HNa_2PO_4 \cdot 12H_2O$ tuz çifti ve pH 9-12 aralığında olan standart tampon çözeltiler; $HNa_2PO_4 \cdot 12H_2O/Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ tuz çiftleri kullanılarak hazırlandı. Çözelti derişimi 1 M' a karşılık gelen miktarlar alınıp 250 mL' ye tamamlanarak hazırlandı. Çözelti pH değerlerinin düşürülmesi amacıyla 0.1 M HCl kullanıldı.

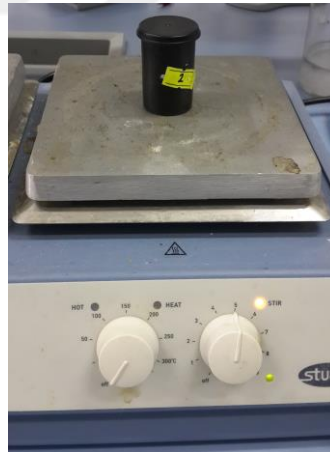
Hareketli ortamda kullanılan 10^{-3} M NaOH çözeltisi, 1 M çözeltisinden deiyonize su ile seyreltilerek hazırlandı.

3.2.2 pH Elektrot Hazırlanması

Bileşimleri, oranları ve prosesleri birbirinden farklı karışımlar kullanılarak pH elektrotlar hazırlandı. Bu karışımlar;

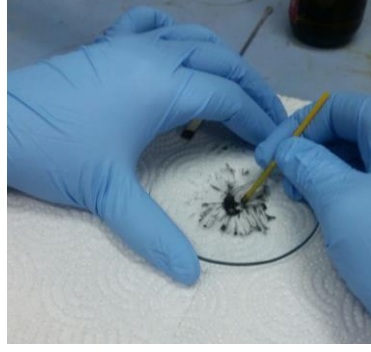
- **Karışım-1:** %15 quinhidron, %35 grafit, %50 polimetil metakrilat (PMM), akrilik sıvısı
- **Karışım-2:** %25 işlem görmüş trimetilhidrokinon, %25 grafit, %50 polimetil metakrilat (PMM), akrilik sıvısı
- **Karışım-3:** %12.50 işlem görmüş trimetilhidrokinon, %12.50 işlem görmemiş trimetilhidrokinon, %25 grafit, % 50 polimetil metakrilat (PMM), akrilik sıvısı şeklindeydi.

Kısaca, belirtilen oranlarda işlem görmüş trimetilhidrokinon, işlem görmemiş trimetilhidrokinon ve grafit tartıldı. Işık geçirgenliği olmayan bir kaba konuldu. Homojen bir karışım oluşturmak için 3.5 devirde 15 dakika karıştırıldı (Şekil 3.1). Hazırlanmış olan karışım bir havana alınarak bir süre dövüldü. Bu karışımdan 1000 mg alındı. Üzerine 800 mg polimetil metakrilat eklendi. Ardından 200 µL akrilik sıvısı eklendi. Viskoz bir yapı elde edildiğinde, farklı çaplarda borulara doldurularak 2 hafta süreyle mendenede sıkıştırıldı. Kuruması sağlanan karışımdan pelet şeklinde kesit alınarak katı kontak malzeme ile bakır bir telin ucuna sabitlendi.



Şekil 3.1 pH elektrotun hazırlanma aşaması

Karışım-2 ve karışım-3' de kullanılan işlem görmüş trimetilhidrokinonun hazırlanma aşamasında; 50 mL 0.01 M Na_2CO_3 çözeltisi hazırlandı. Bundan 5 mL alındı. Bu çözelti üzerine 200 mg trimetilhidrokinon eklendi. 1 saat karıştırıldı. Santrifüjlendi. Su ile yıkandı. Tekrar santrifüjlendi. Çöken kısım alındı. 12 saat boyunca etüvde kurutuldu.



Şekil 3.2 Hazırlanan pH elektrot karışımının borulara doldurulması

Karışım-2' nin hazırlanma metodu; işlem görmüş olan trimetilhidrokinondan 100 mg alındı ve 100 mg grafit ile içine balık atılarak homojen bir karışım oluşturmak için 3.5 devir/s' de 15 dakika karıştırıldı. Hazırlanmış olan grafit ve trimetilhidrokinon karışımı bir havana alınarak bir süre dövüldü. Karışıma 200 mg PMMA eklenerek tekrar karıştırıldı. Ardından 200 μ L akrilik sıvısı eklendi. Viskoz bir yapı elde edildiğinde, farklı çaplarda borulara doldurularak (Şekil 3.3) 2 hafta süreyle mengenede sıkıştırıldı. Kuruması sağlanan karışımdan pelet şeklinde kesit alınarak katı kontak malzeme ile bakır bir telin ucuna sabitlendi.

Karışım-3' ün hazırlanma metodu; işlem görmüş olan trimetilhidrokinondan 50 mg alındı. Buna 50 mg işlem görmemiş trimetilhidrokinon eklendi. İçine 100 mg grafit ilave edilip homojen bir karışım oluşturmak için 3.5 devirde 15 dakika karıştırıldı. Hazırlanmış olan grafit ve trimetilhidrokinon karışımı bir havana alınarak bir süre dövüldü. Karışıma 200 mg PMMA eklenerek tekrar karıştırıldı. Ardından 200 μ L akrilik sıvısı eklendi. Viskoz bir yapı elde edildiğinde, farklı çaplarda borulara doldurularak (Şekil 3.3) 2 hafta süreyle mengenede sıkıştırıldı. Kuruması sağlanan karışımdan pelet şeklinde kesit alınarak katı kontak malzeme ile bakır bir telin ucuna sabitlendi .



Şekil 3.3 Borulara doldurulmuş olan pH elektrot materyalin sıkıştırılması

Katı Kontakt Hazırlama:

Karışım: %15.50 grafit, %44.50 epoksi , %40 sertleştirici

Bileşenler saat camında tartılarak karıştırıldı. Karışıma viskoz bir yapı kazandırana kadar THF ilave edildi.



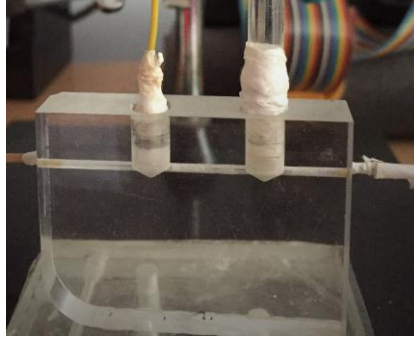
Şekil 3.4 Katı kontak hazırlanması

3.2.3 Hareketli Ortam Tasarımı

Sıralı Enjeksiyon Analiz sistemi, sütte pH, toplam asitlik ve yağ oranı oranlarının tespit edilebilmesi amacıyla yönelik olarak tasarlandı. Öncelikle elde edilen pH elektrotların hareketli ortam şartlarında kullanılabilmesi için elektrotların sabitleneceği akış hücresi tasarlandı ve sisteme entegre edildi. Sisteme analizlere uygun olarak farklı uzunluklarda boru ve filtreler eklenerek, optimizasyon sağlandı.

3.2.3.1 Akış Hücresinin Tasarımı

Hareketli ortamda ölçümler için geliştirilen akış hücresi 1 cm eninde ve 5.3 cm boyunda polikarbonat malzemeden hazırlandı. 0.2 mm çapında deliklerin açılması ile akış yolu oluşturuldu. Akış hücresinin giriş ve çıkışlarına 0.1 mm iç çapa sahip bağlantı boruları takıldı. Akış yoluna karşılık gelecek şekilde 0.6 mm çapında açılmış olan kanala referans elektrot, 0.8 mm çapında açılmış olan kanala kompozit pH elektrot yerleştirildi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Tasarlanmış olan akış hücresi

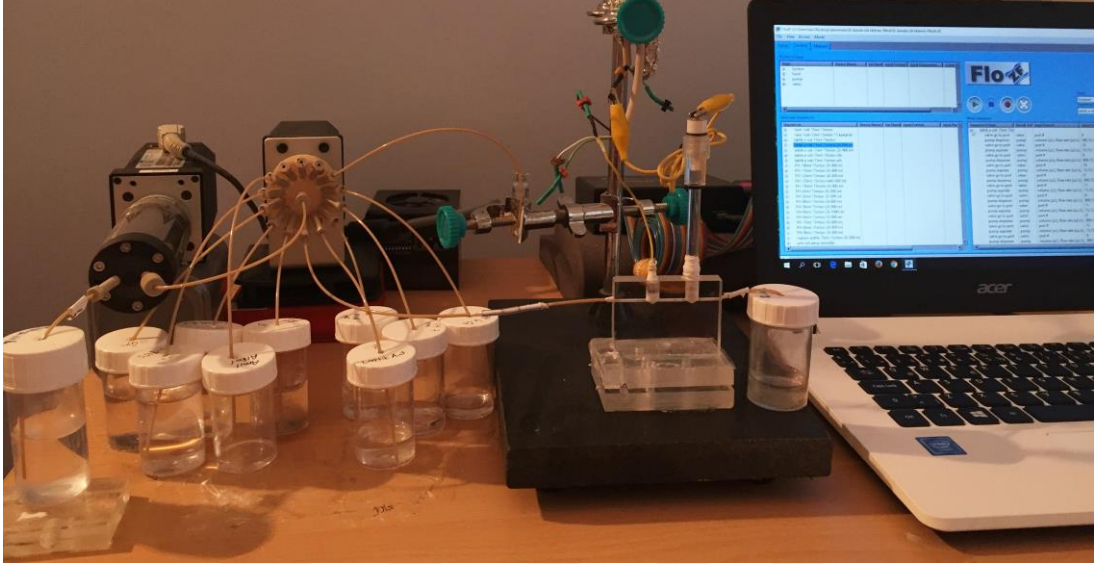
3.2.3.2 SEA Akış Sisteminin Tasarımı

SEA sistemi enjeksiyon vanası, miligat pompa ve bağlantı elemanları pH analizi yapabilecek şekilde yerleştirildi. Sisteme daha etkin bir titrasyon sağlamak amacıyla, bir holding coil (reaksiyon çemberi) eklenerek akış yolu uzatıldı ve sıvının yüzeylere daha fazla çarpması sağlandı. Daha sonra, sütte bulunan proteinlerin tutuklanmasını, çarpışmasını ve filtrasyonunu sağlamak amacıyla sisteme 2 cm ve 1 cm uzunluğunda olmak üzere iki farklı boyutta minyatüre kolonlar entegre edildi.

SEA Sistemde kullanılan kanallar şu şekilde tasarlandı;

1. Kanal sisteme hava
2. Kanal sisteme saf su
3. Kanal sisteme amil alkol
4. Kanal sisteme sülfürik asit
5. Kanal sisteme süt
6. Kanal sisteme 1.50×10^{-2} M laktik asit çözeltisi
7. Kanal sisteme 1.75×10^{-2} M laktik asit çözeltisi
8. Kanal sistemdeki bileşenleri sensöre iletmek üzere
9. Kanal sisteme 2×10^{-2} M laktik asit çözeltisi
10. Kanal sisteme standart pH 10 tamponu
11. Kanal sisteme standart pH 7 tamponu
12. Kanal sisteme standart pH 4 tamponu
13. Kanal bütirometreye reaktan aktarmak üzere tasarlandı.

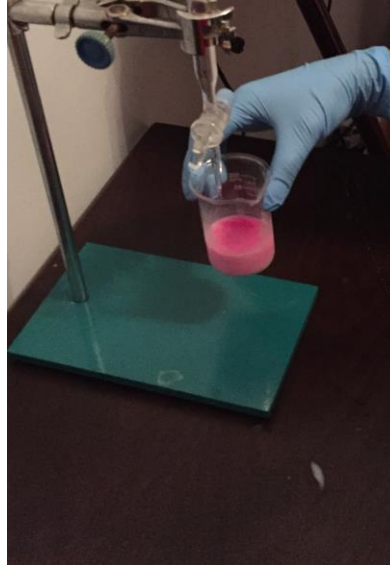
Miligat pompanın bir ucu sisteme taşıyıcı fazı enjekte edecek şekilde tüpe bağlandı. Sistemde analiz edilen reaktanlar hücrenin çıkışına eklenmiş atık kanalından sistemden uzaklaştırıldı. Şekil 3.6 tasarlanan SEA sistemi göstermektedir.



Şekil 3.6 SEA sistemin son tasarımı

3.2.4 SEA Sistemde Toplam Asitlik Tayini

SEA sisteminde sütte toplam asitlik tayini yapmak amacıyla sistemde kullanılan standart laktik asit çözeltilerinin derişimleri optimize edildi. Bu kapsamda 1.5×10^{-2} , 1.75×10^{-2} ve 2×10^{-2} M derişikteki laktik asit çözeltileri kullanıldı. Taşıyıcı faz olarak 1×10^{-3} M NaOH kullanıldı. Süt örneklerinin aynı sistemde titrasyonu yapıldı. Daha sonra pik alanları dikkate alınarak toplam asitlik değerleri hesaplandı. Aynı süt örnekleri fenolftalein indikatörü kullanılarak titre edildi ve iki yöntemin farklılıkları kıyaslandı (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Süt örneklerinin fenolftalein kullanılarak titrasyonu

3.2.5 SEA Sisteminde pH Tayini

Elde edilen süt örneklerinin SEA sisteminde pH ölçümü amacıyla öncelikle kullanılan standart tampon çözeltileri optimize edildi. Bu amaçla pH 4-7-10 olan fosfat tampon çözeltileri kullanıldı. Taşıyıcı olarak 1×10^{-3} M NaOH kullanıldı. Sisteme enjekte edilen süt örneklerinin oluşturduğu pik yükseklikleri dikkate alınarak süt pH değerleri hesaplandı. Ayrıca her bir süt örneğinin pH' ı cam elektrot kullanmak suretiyle tekrar ölçüldü ve her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar kıyaslandı (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Süt örneklerinin pH metre ile ölçümü

3.2.6 SEA Sisteminde Yağ Analizi

SEA sistem kullanılarak sütte yağ analizi yapmak amacıyla mini süt bütirometresi tasarlandı. Bu amaçla, Funke Gerber süt bütirometresi %97 oranında küçültülerek mini bir bütirometre elde edildi (Şekil 3.9).



3.9 Tasarlanan mini bütirometre

Mini bütirometre SEA sistem hattına portatif olarak eklendi. Mini bütirometreye eklenecek olan reaktanlar küçültme oranıyla doğru orantılı olarak azaltıldı. İlk olarak bütirometreye 300 μ L sülfürik asit gönderildi. Üzerine 330 μ L süt eklendi. Son olarak 30 μ L amil alkol yollandı. Bütirometre 1100 devirde 10 dakika santrifüj edildi. 10 dakika sonra sütün yağ mik hesaplandı. Aynı süt örneklerinin yağ miktarları klasik Gerber yöntemi kullanılarak bulundu ve her iki yöntemin farklılıkları kıyaslandı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

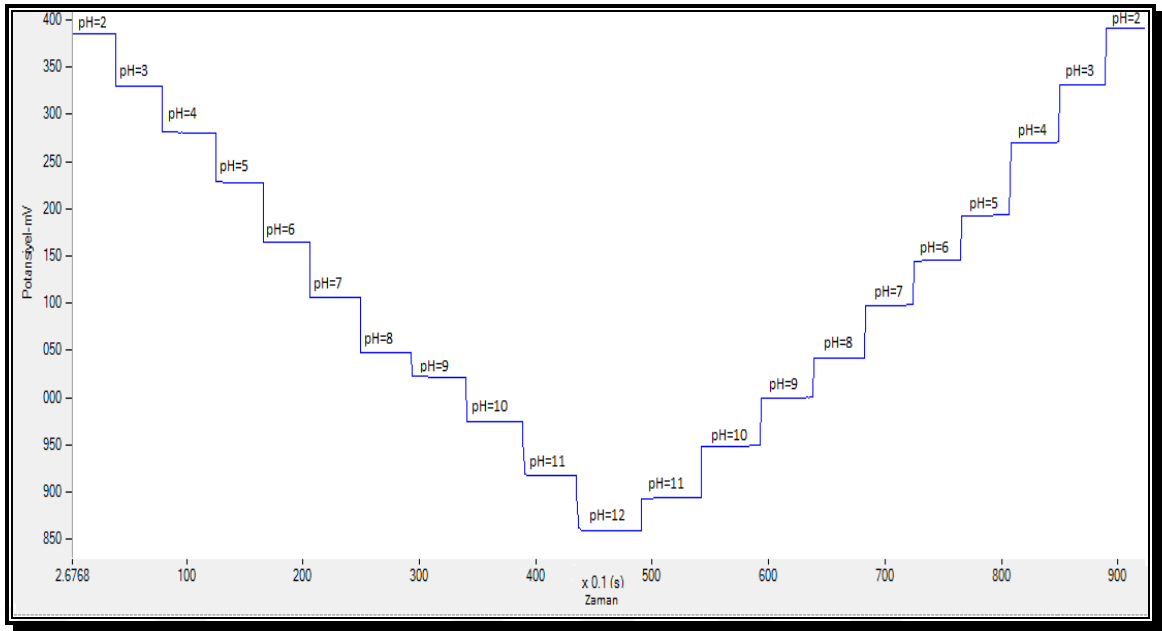
Bileşenleri ve bileşim oranları birbirinden farklı olan üç farklı elektrotun durgun ortamdaki potansiyometrik davranışları incelendi. Performans değerleri en iyi olan elektrot SEA sisteme entegre edildi. Durgun ortamda elektrotların gösterdiği potansiyometrik davranış sonuçları aşağıda özetlendi.

4.1 pH Elektrotların Potansiyometrik Davranışları ve Doğrusal pH Aralığı

Hazırlanmış olan pH elektrotların potansiyometrik davranışı, pH' ı 2-12 arasında değişen 1 M standart çözeltiler ile bilgisayar kontrollü potansiyometrik ölçüm sistemi ile incelendi.

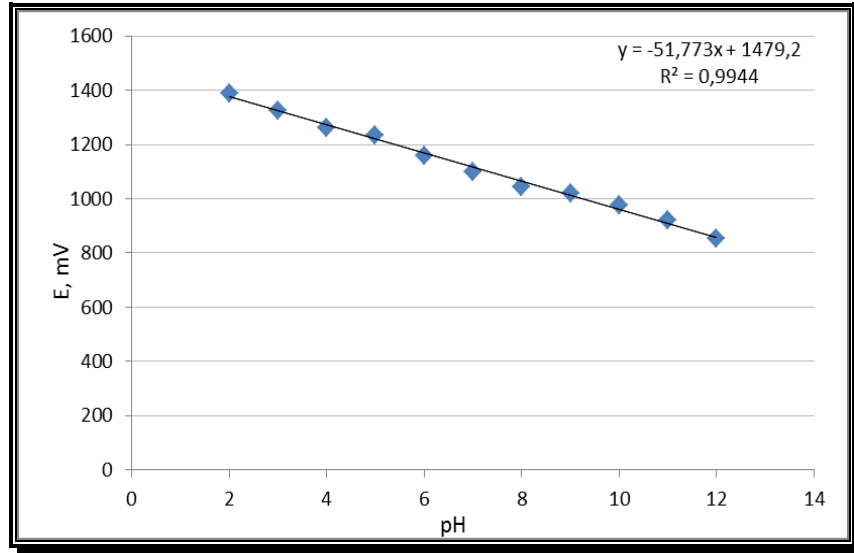
4.1.1 Karışım-1 ile Hazırlanan pH Elektrotun Potansiyometrik Davranışı ve Doğrusal pH Aralığı

Karışım-1 ile hazırlanan pH elektrotun potansiyel-pH değişimlerini gösteren kalibrasyon grafiği Şekil 4.1' de görülmektedir.



Şekil 4.1 Karışım-1 ile hazırlanan pH elektrodunun durgun ortamda pH 2-12 arasında potansiyometrik davranışı

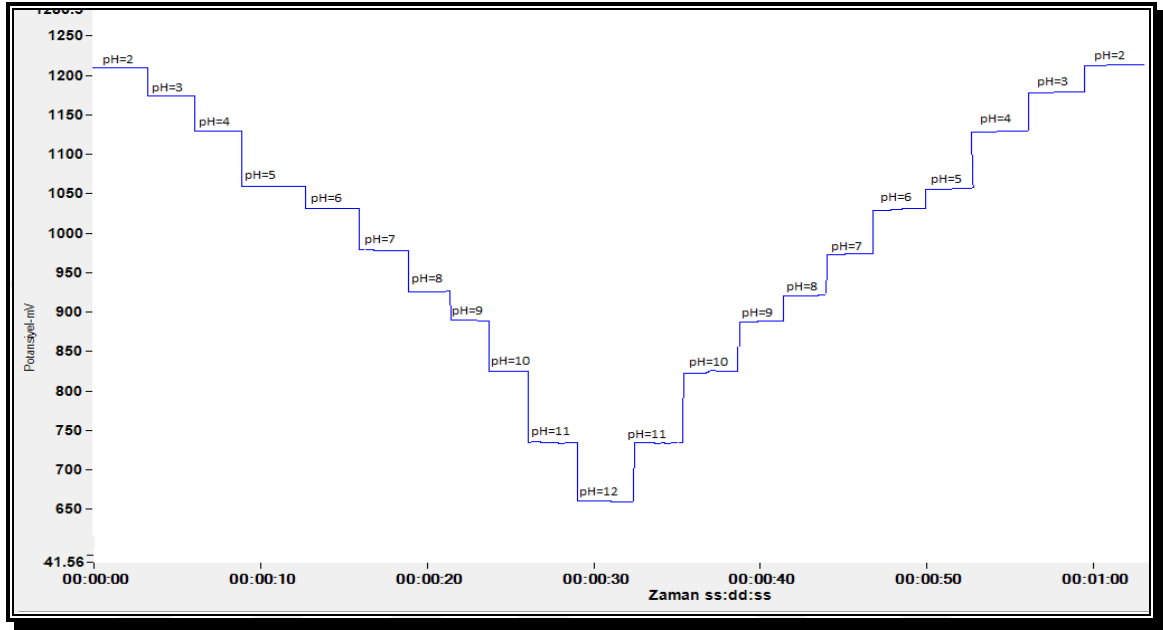
Kompozit pH elektrotun, pH 2-12 tampon aralığındaki potansiyometrik davranış grafiğinden yararlanılarak doğrusal pH aralığı belirlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Karışım-1 karışımı ile hazırlanan kompozit pH elektrotunun doğrusal pH aralığı

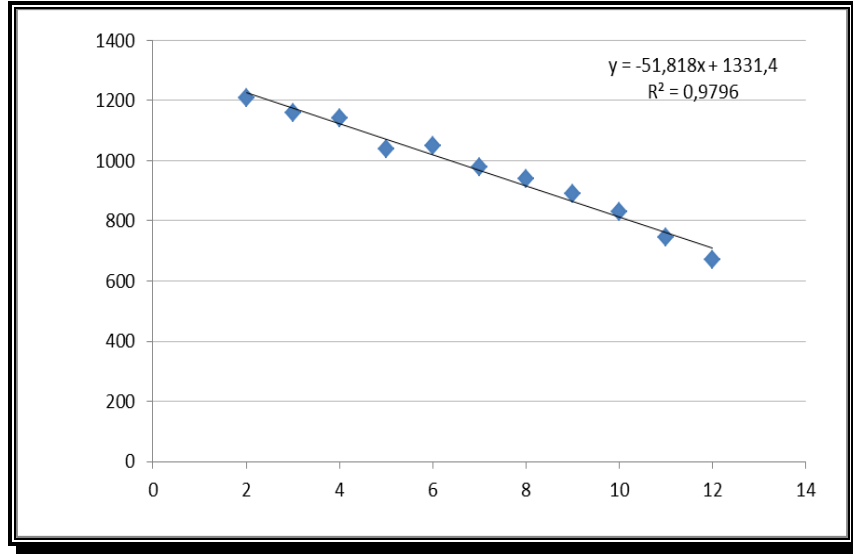
4.1.2 Karışım-2 ile Hazırlanan pH Elektrotun Potansiyometrik Davranışı ve Doğrusal pH Aralığı

Karışım-2 ile hazırlanan pH elektrotun potansiyel-pH değişimlerini gösteren kalibrasyon grafiği Şekil 4.3’ de görülmektedir.



Şekil 4.3 Karışım-2 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında potansiyometrik davranışı

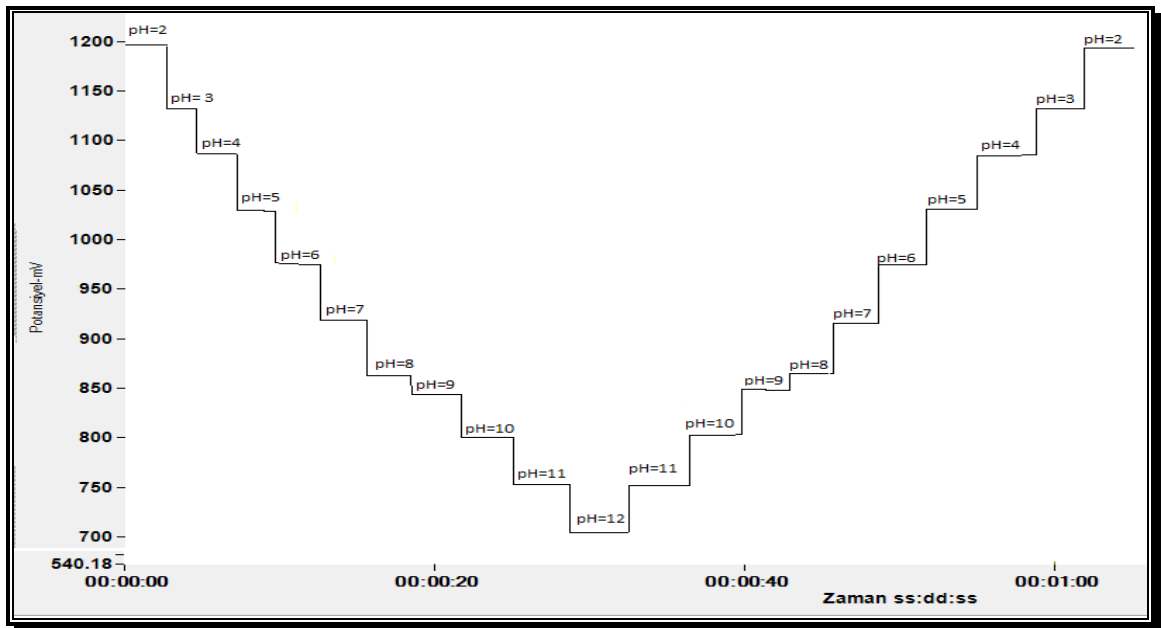
Kompozit pH elektrotun, pH 2-12 tampon aralığındaki potansiyometrik davranış grafiğinden yararlanılarak doğrusal pH aralığı belirlendi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Karışım-2 karışımı ile hazırlanan kompozit pH elektrotun doğrusal pH aralığı

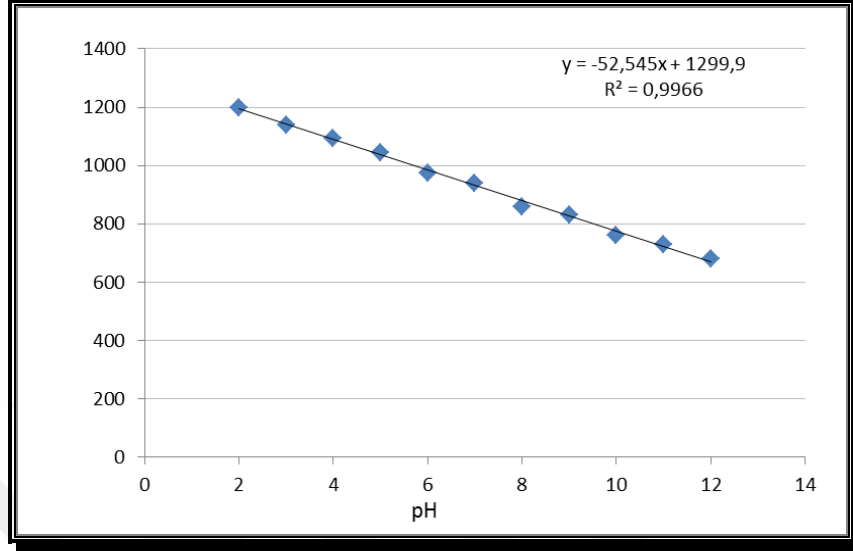
4.1.3 Karışım-3 ile Hazırlanan pH Elektrodun Potansiyometrik Davranışı ve Doğrusal pH Aralığı

Karışım-3 ile hazırlanan pH elektrotun potansiyel-pH değişimlerini gösteren kalibrasyon grafiği Şekil 4.5’ de görülmektedir.



Şekil 4.5 Karışım-3 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında potansiyometrik davranışı

Kompozit pH elektrotun, pH 2-12 tampon aralığındaki potansiyometrik davranış grafiğinden yararlanılarak doğrusal pH aralığı belirlendi (Şekil 4.6).



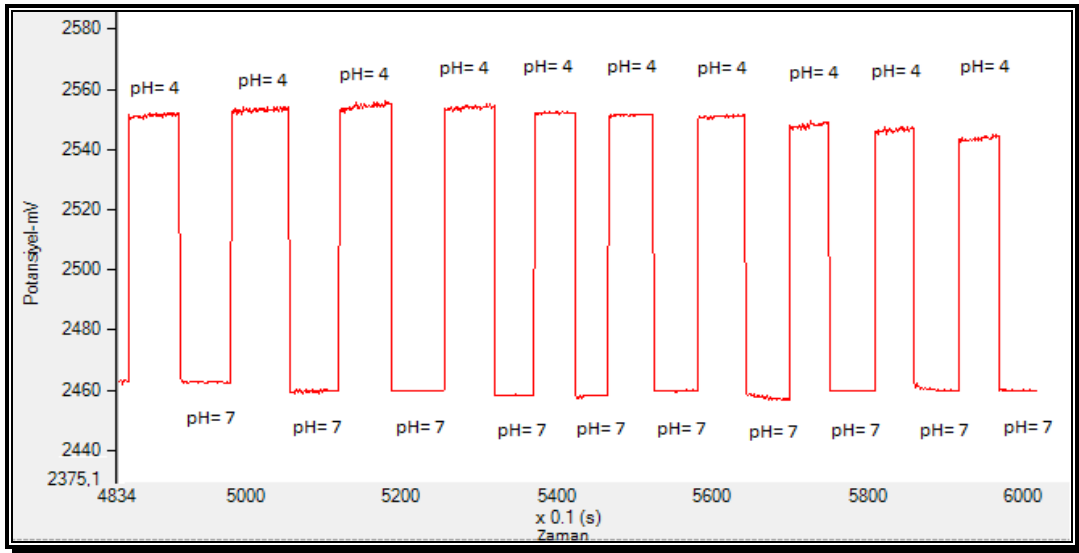
Şekil 4.6 Karışım-3 karışımı ile hazırlanan kompozit pH elektrotun doğrusal pH aralığı

4.2 Kompozit pH Elektrotların Tekrarlanabilirliğinin İncelenmesi

Hazırlanmış olan kompozit pH elektrotların tekrarlanabilirliğinin tespit edilmesi amacıyla her bir elektrot, pH 4-7 olan fosfat tampon çözeltilerine sırayla 10' ar kere daldırılırken potansiyometrik ölçümü yapıldı. Alınan ölçümler bir skala yardımıyla değerlendirildi.

4.2.1 Karışım-1 ile Hazırlanan pH Elektrotun Tekrarlanabilirliği

Karışım-1 ile hazırlanmış olan pH elektrotun tekrarlanabilirlik testleri yapıldı. Potansiyometrik davranış grafiği Şekil 4.7' de görülmektedir



Şekil 4.7 Karışım-1 ile hazırlanmış pH elektrotun tekrarlanabilirlik testi

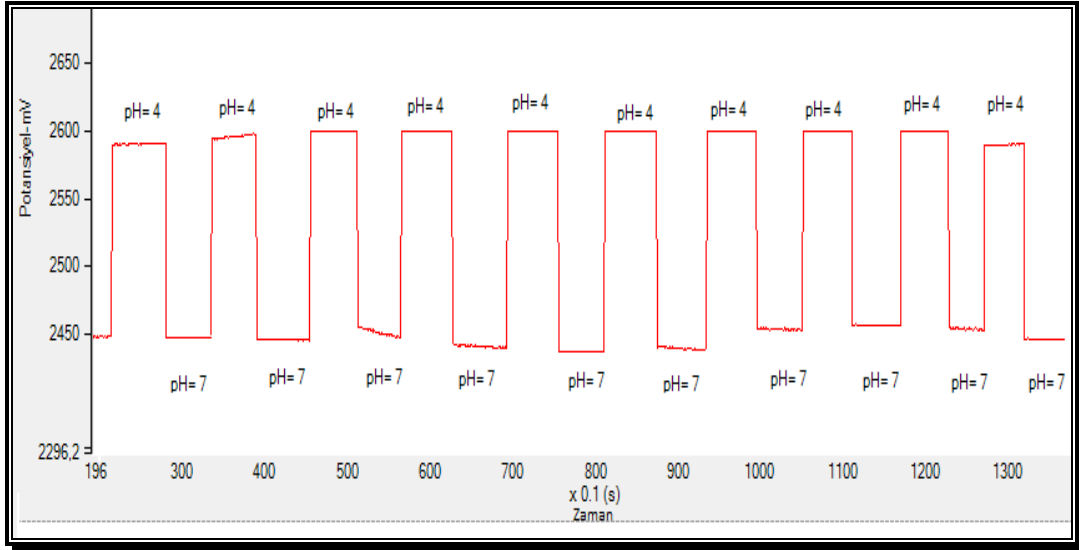
Karışım-1 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler Çizelge 4.1’ de görülmektedir.

Çizelge 4.1 Karışım-1 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler

Çözeltiler	Ölçümler (mV)										Ortalama	STD Sapma
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
pH 4	2552	2551	2551	2552	2550	2550	2550	2549	2549	2548	2550.2	1.32
pH 7	2463	2461	2461	2460	2460	2460	2458	2461	2461	2461	2460.6	1.26

4.2.2 Karışım-2 ile Hazırlanan pH Elektrotun Tekrarlanabilirliği

Karışım-2 ile hazırlanmış olan pH elektrotun tekrarlanabilirlik testleri yapıldı. Potansiyometrik davranış grafiği Şekil 4.8’ de görülmektedir.



Şekil 4.8 Karışım-2 ile hazırlanmış pH elektrotun tekrarlanabilirlik testi

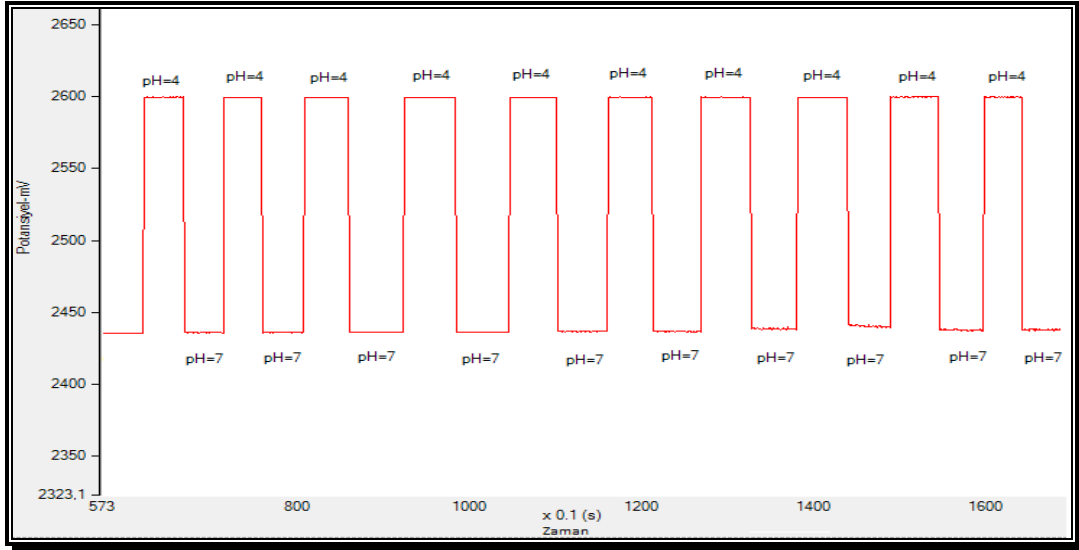
Karışım-2 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler Çizgelge 4.2’ de görülmektedir.

Çizgelge 4.2 Karışım-2 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler

Çözeltiler	Ölçümler										Ortalama	STD Sapma
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
pH 4	2599	2598	2600	2600	2600	2600	2600	2600	2600	2597	2599.4	1.07
pH 7	2449	2449	2449	2448	2448	2448	2451	2451	2450	2450	2449.3	1.16

4.2.3 Karışım-3 ile Hazırlanan pH Elektrotun Tekrarlanabilirliği

Karışım-3 ile hazırlanmış olan pH elektrotun tekrarlanabilirlik testleri yapılmıştır. Potansiyometrik davranış grafiği Şekil 4.9’ da görülmektedir.



Şekil 4.9 Karışım-3 ile hazırlanmış pH elektrotun tekrarlanabilirlik testi

Karışım-3 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler Çizelge 4.3’ de görülmektedir.

Çizelge 4.3 Karışım-3 ile hazırlanmış pH elektrot için yapılan tekrarlanabilirlik testinden elde edilen potansiyometrik değerler

Çözeltiler	Ölçümler										Ortalama	STD Sapma
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
pH 4	2600	2600	2600	2600	2600	2600	2600	2600	2600	2600	2600	0
pH 7	2436	2436	2436	2436	2436	2436	2436	2436	2436	2436	2436	0

Sonuçlar incelendiğinde; tüm elektrotların genel olarak iyi bir performans sergiledikleri görülmektedir. Bununla birlikte, karışım-3 ile hazırlanmış olan pH elektrotun tekrarlanabilirliğinin diğerlerine göre daha iyi olduğu anlaşılmaktadır (STD: 0.0).

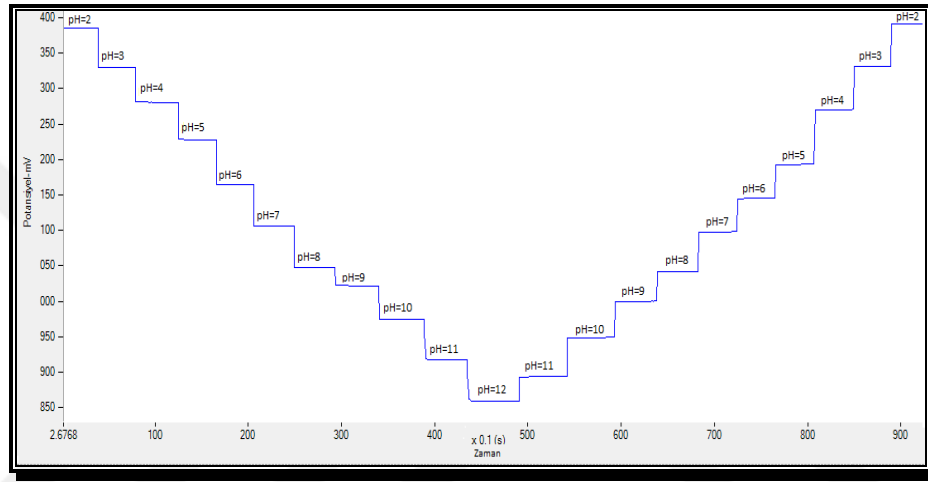
4.3 pH Elektrotların Cevap Zamanı

pH elektrotların cevap zamanları çözeltide bulunan hidrojen iyonları ile elektrot yüzeyi arasındaki etkileşimin dengeye gelme süresidir. Potansiyelin %95’ inin elde edildiği süreye ise (t_{95}) denmektedir [52]. Şekil 4.10 - 4.11 - 4.12’ de; pH’ 2-12 aralığında değişen çözeltilere kompozit pH elektrotların daldırılması ile zamana karşı oluşan

potansiyometrik değişimler görülmektedir. Dengeye gelme zamanları (t_{95}) bu grafikler yardımı ile belirlendi.

4.3.1 Karışım-1 ile Hazırlanan pH Elektrotun Cevap Zamanı

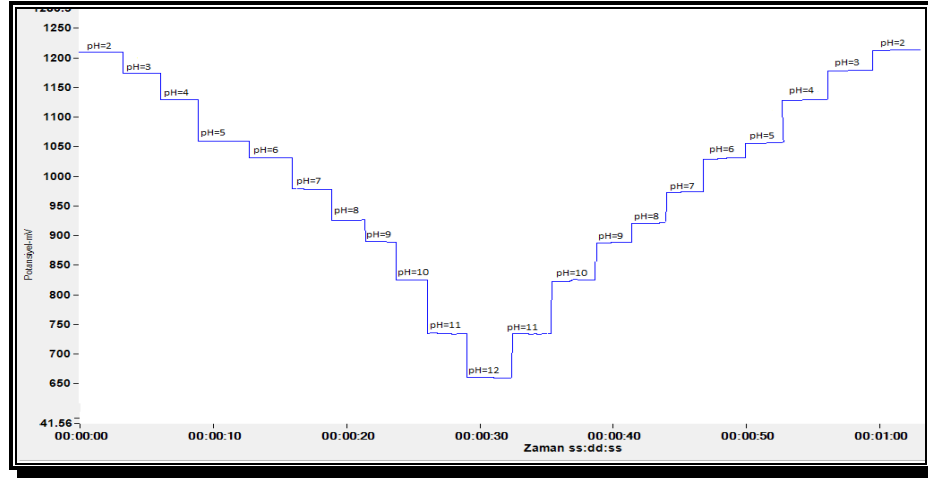
Karışım-1 ile hazırlanmış olan pH elektrotun farklı pH aralıklarına sahip ç zeltiiler arasındaki geçişlerdeki cevap zamanı Şekil 4.10’ da görülmektedir. Grafik incelendiğinde, karışım-1 elektrotun cevap zamanı (t_{95}) 50 s civarında hesaplandı.



Şekil 4.10 Karışım-1 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında zamana göre potansiyometrik davranışı

4.3.2 Karışım-2 ile Hazırlanan pH Elektrotun Cevap Zamanı

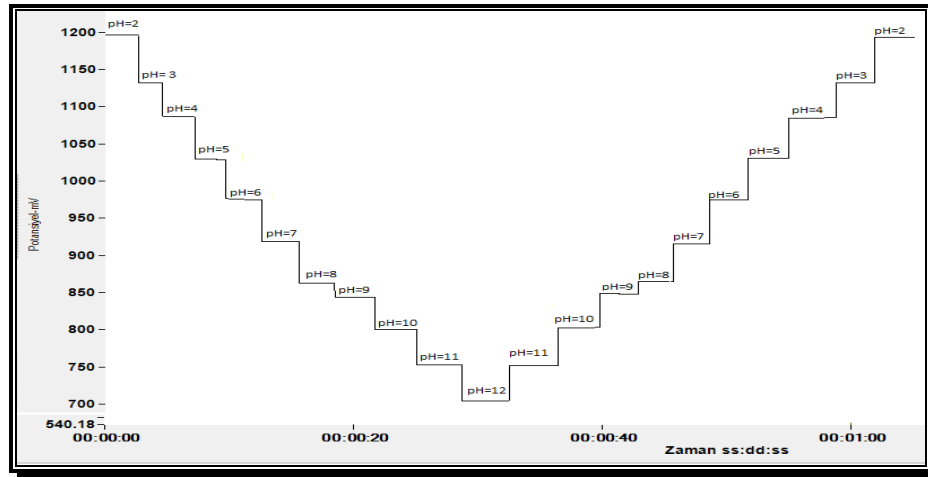
Karışım-2 ile hazırlanmış olan pH elektrotun farklı pH aralıklarına sahip ç zeltiiler arasındaki geçişlerdeki cevap zamanı Şekil 4.11’ de görülmektedir. Grafik incelendiğinde, geçiş zamanı, farklı pH değ erlerinde bir miktar fark etse bile elektrotun cevap zamanının $t_{95} < 20$ s olduğu görülmektedir.



Şekil 4.11 Karışım-2 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında zamana göre potansiyometrik davranışı

4.3.3 Karışım-3 ile Hazırlanan pH Elektrotun Cevap Zamanı

Karışım-3 ile hazırlanmış olan pH elektrotun farklı pH aralıklarına sahip çözeltiler arasındaki geçişlerdeki cevap zamanı Şekil 4.12' de görülmektedir. Grafik incelendiğinde, geçiş zamanı farklı pH değerlerinde bir miktar fark etse bile elektrotun cevap zamanının $t_{95} < 20$ s olduğu görülmektedir.



Şekil 4.12 Karışım-3 ile hazırlanan pH elektrotun durgun ortamda pH 2-12 arasında zamana göre potansiyometrik davranışı

Hazırlanmış olan kompozit pH elektrotların potansiyometrik performans özellikleri Çizelge 4.4' de özetlenmiştir. Tüm elektrotlar pH 2-12 aralığında doğrusal çalışmakta

ve birbirlerine benzer sonuçlar göstermekteydi. Elektrotların pH 2-12 aralığında potansiyometrik doğru denklemleri sırasıyla $y = -51.773x + 1479.2$ ($R^2 = 0.9944$), $y = -51.818x + 1331.4$ ($R^2 = 0.9796$), $y = -52.545x + 1299.9$ ($R^2 = 0.9966$) şeklindeydi. Trimetilhidrokinon kullanılarak hazırlanan pH elektrot (karışım-3) pH 2-12 aralığında Nernst davranışı sergilediği görülmektedir (Şekil 4.5).

Hazırlanmış olan tüm elektrotlar pH 2-12 aralığında benzer potansiyometrik davranışlar göstermiş olmakla birlikte, eğim değeri karışım-3 ile hazırlanmış elektrotta daha yüksektir. Eğim değeri elektrotun duyarlılığının (bir birimlik pH değişimi için mV farkı) bir göstergesidir. Karışım-3 ile hazırlanmış olan elektrotun pH değişimlerine karşı diğer elektrotlara kıyasla daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

Karışım-3 ile hazırlanmış olan elektrotun cevap zamanı (t_{95}) 20 s' den daha azdır. Cevap zamanı, elektrot ile çözelti arasında oluşan dengenin süresini belirtir. Karışım-1 ile hazırlanmış olan elektrotun cevap zamanı (t_{95}) 50 s aralığındadır.

Elektrotların pH 4 ve pH 7 tampon çözeltilerine art arda daldırılmak suretiyle gösterdikleri ortalama tekrarlanabilirlikleri sırasıyla pH 4 için 2550.2 ± 132 , pH 7 için 2460.6 ± 1.26 ; pH 4 için 2599.4 ± 1.07 , pH 7 için 2449.3 ± 1.16 ; pH 4 için 2600 ± 0 pH 7 için 2436 ± 0 şeklindedir. Karışım-1 ve karışım-2 ile hazırlanmış olan elektrotların standart sapması, karışım-3 ile hazırlanmış elektrotun standart sapmasından oldukça yüksektir. Her üç elektrot kıyaslandığında, trimethylhydroquinone kullanılarak hazırlanan elektrotun tekrarlanabilirlik özelliğinin diğerlerinininkinden çok daha iyi olduğunu göstermektedir.

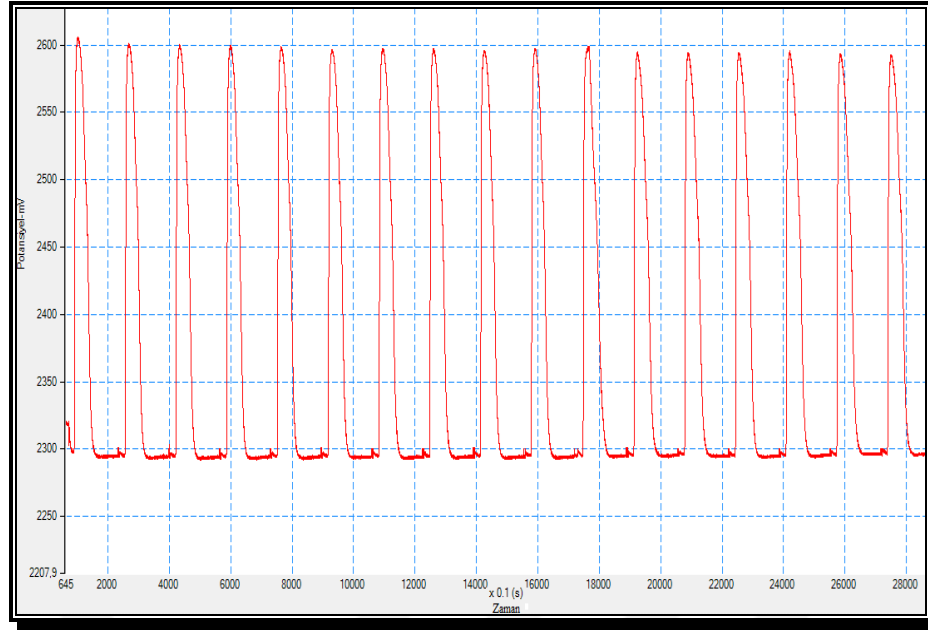
İncelenmiş olan tüm potansiyometrik performans değerleri göz önüne alındığında trimetilhidrokinon kullanılarak hazırlanmış olan (karışım-3) elektrotun; çalışmanın diğer aşamalarında kullanılmasının daha uygun olacağı kararlaştırıldı.

Çizelge 4.4 Karışım-1, karışım-2, karışım-3 ile hazırlanmış olan pH elektrotların potansiyometrik performans özellikleri

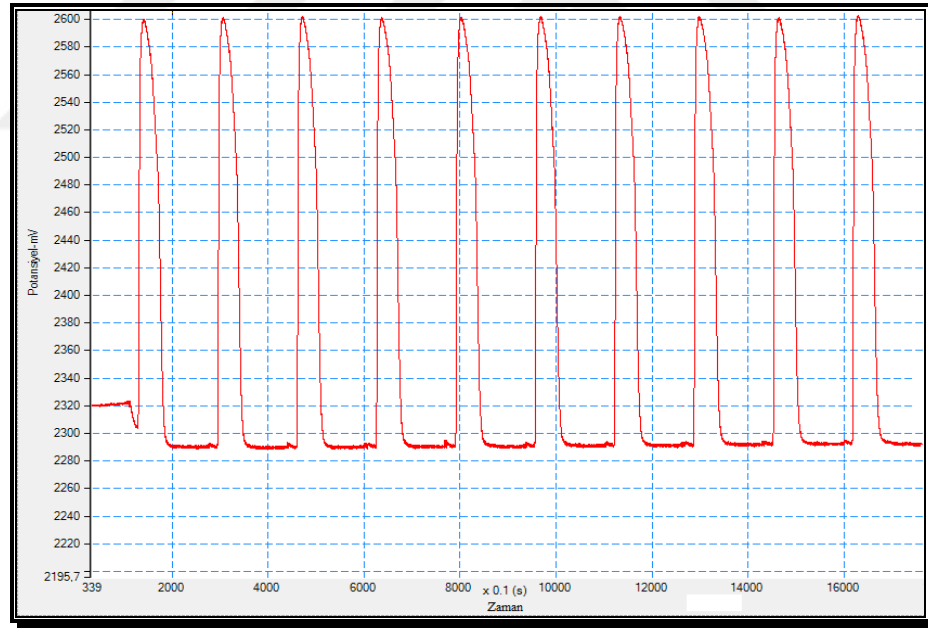
Kompozit pH Elektrot	Doğru Denklemi	Eğim ^a	Doğrusal pH Aralığı	Ortalama Cevap Zamanı, t ₉₅ (s)	Tekrarlanabilirlik	
Karışım-1	$y = -51.773x + 1479.2$ $R^2 = 0.9944$	51.77	2-12	50-60	pH 4 pH 7	2550.2±1.32 2460.6±1.26
Karışım-2	$y = -51.818x + 1331.4$ $R^2 = 0.9796$	51.82	2-12	< 20	pH 4 pH 7	2599.4±1.07 2449.3±1.16
Karışım-3	$y = -52.545x + 1299.9$ $R^2 = 0.9966$	52.55	2-12	< 20	pH 4 pH 7	2600±0 2436±0

4.4 SEA Sistemde Kullanılan pH Elektrotun Çalışma Ömrü

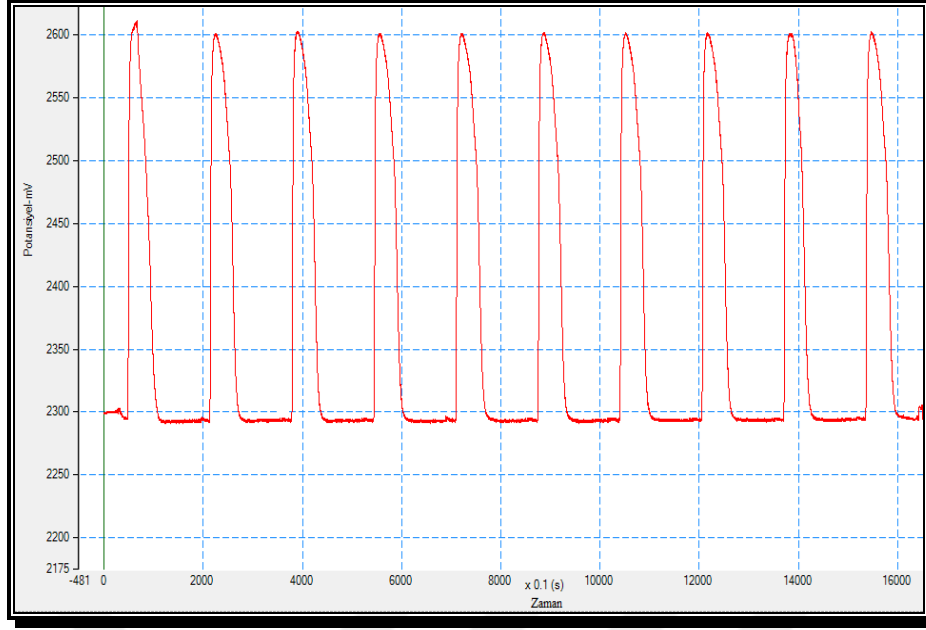
pH elektrotların kullanım ömrü enjeksiyon sayısı ile alakalıdır. Elektrotun duyarlılığının azalması yüzeyinin akış sırasında deforme olmasından kaynaklanmaktadır. Elektrot yüzeyinden ince bir kesit alınmak suretiyle elektrot yenilenmekte ve tekrar eski performansına dönmektedir. SEA sistemde akış hücresine monte edilen elektrotun kaçınıcı enjeksiyondan sonra performansında değişiklik gösterdiği önemli bir parametredir. Performans özellikleri incelenmiş olan pH elektrotun akış sırasında çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 15 µL 10⁻¹ M asetik asit çözeltisinden sisteme 15 µL/s hızında 100 kere enjeksiyon yapıldı.



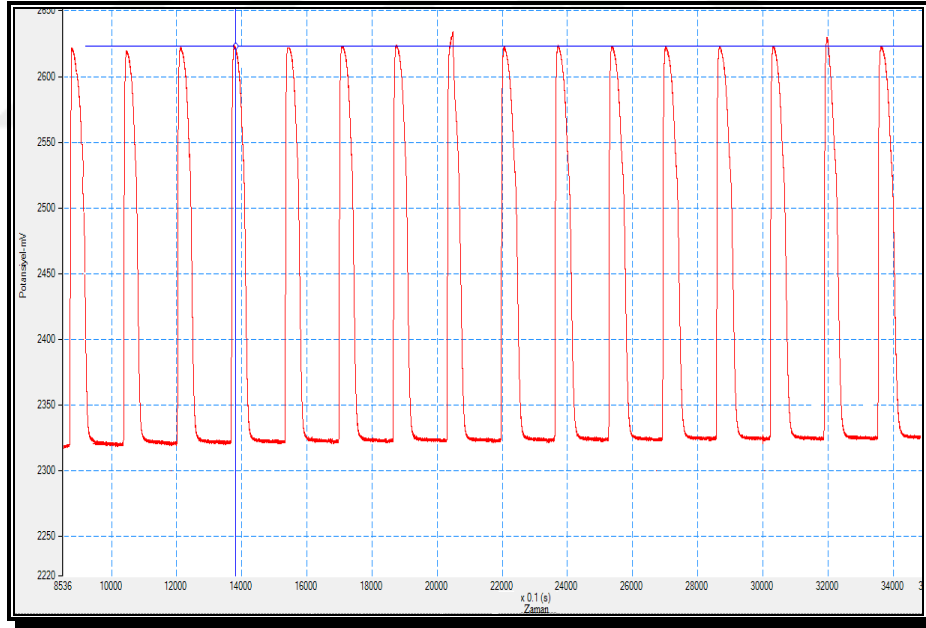
Şekil 4.13 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla 10^{-1} M asetik asit çözeltisi $15 \mu\text{L}$ hacim $15 \mu\text{L/s}$ hızla enjeksiyon (1-17.enjeksiyonlar)



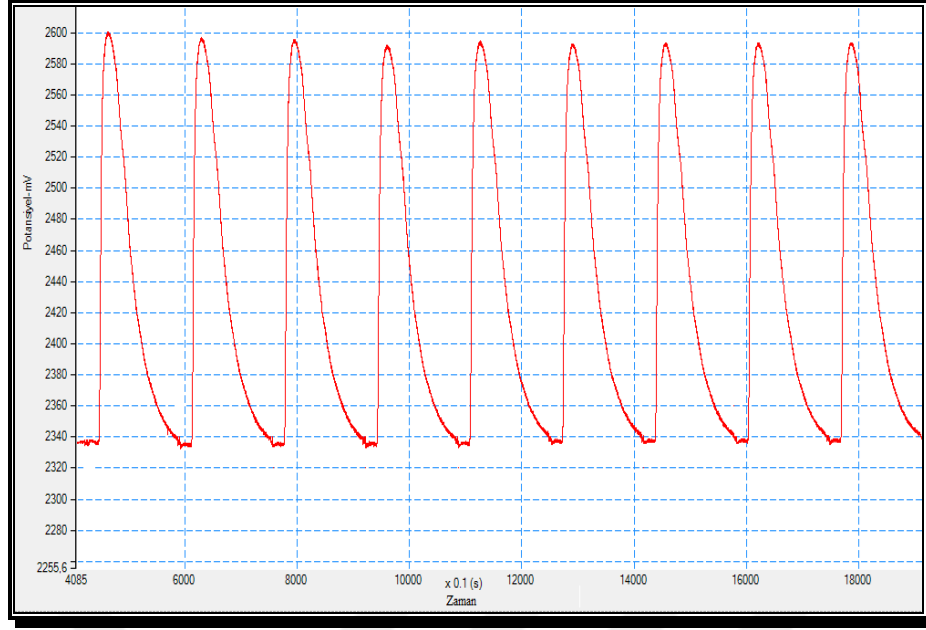
Şekil 4.14 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla $15 \mu\text{L}$ 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden $15 \mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (18-27.enjeksiyonlar)



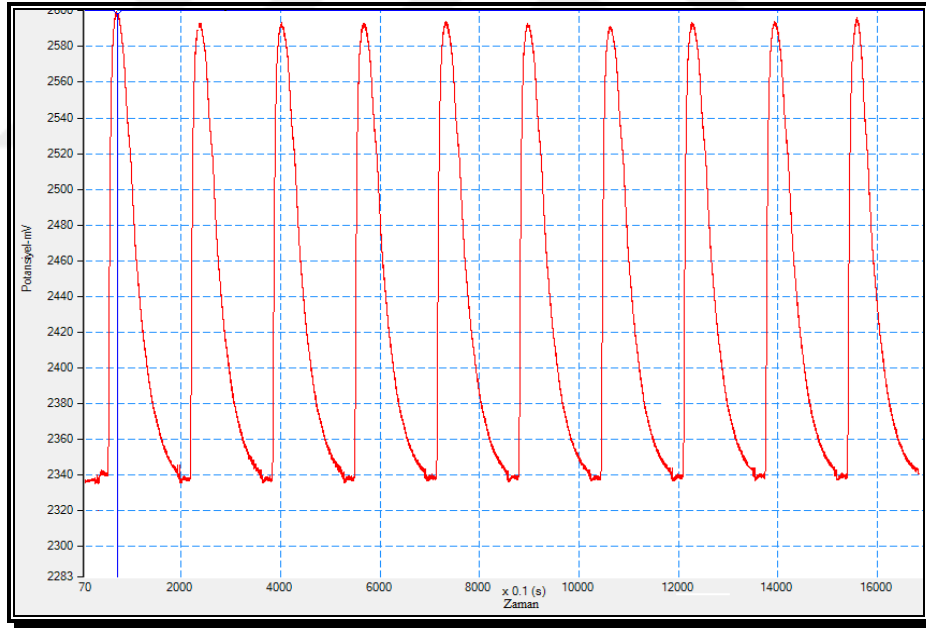
Şekil 4.15 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla $15 \mu\text{L } 10^{-1} \text{ M}$ asetik asit çözeltisinden $15 \mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (28-37.enjeksiyonlar)



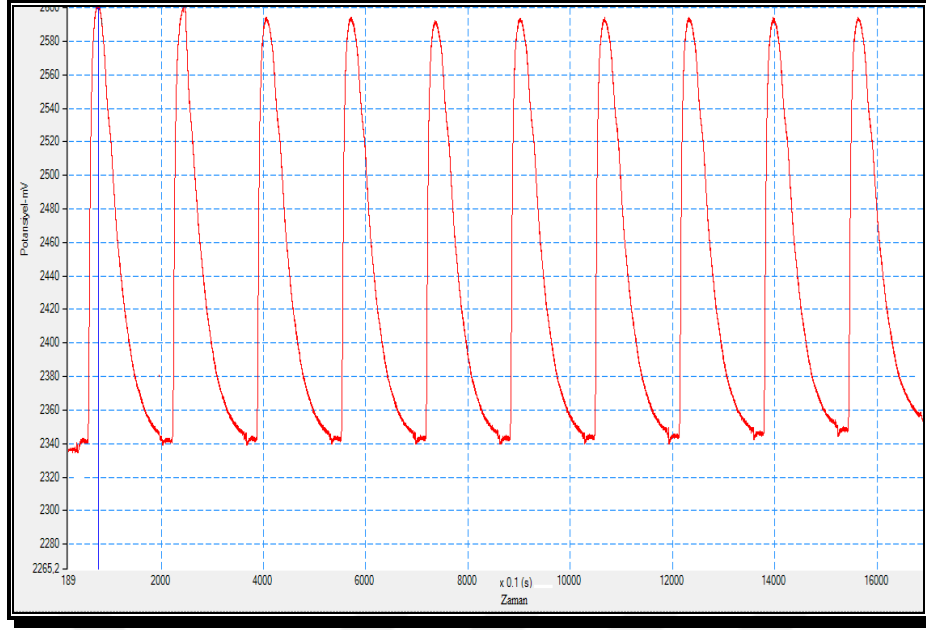
Şekil 4.16 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla $15 \mu\text{L } 10^{-1} \text{ M}$ asetik asit çözeltisinden $15 \mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (38-53.enjeksiyonlar)



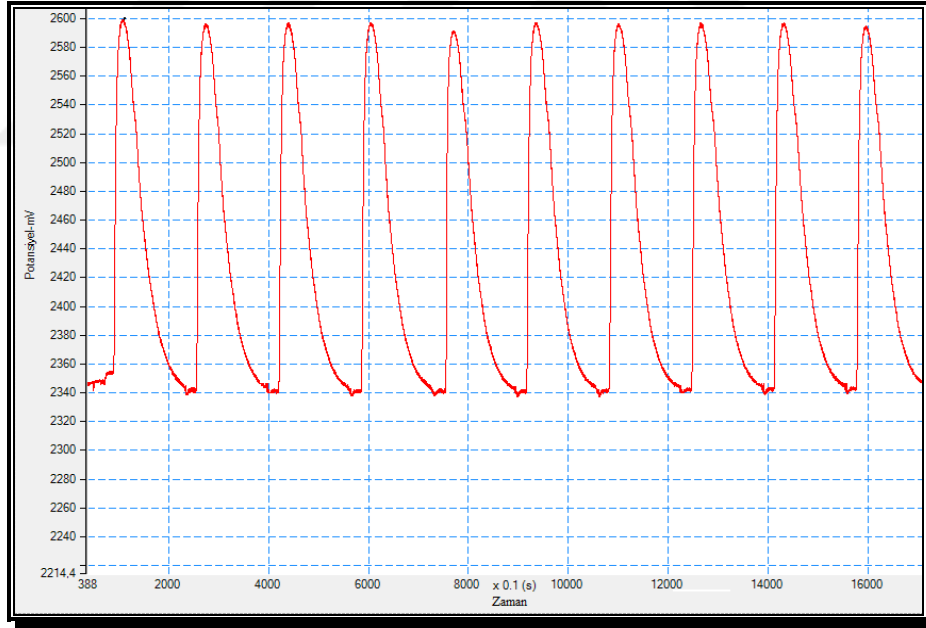
Şekil 4.17 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla $15 \mu\text{L } 10^{-1} \text{ M}$ asetik asit çözeltisinden $15 \mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (54-62.enjeksiyonlar)



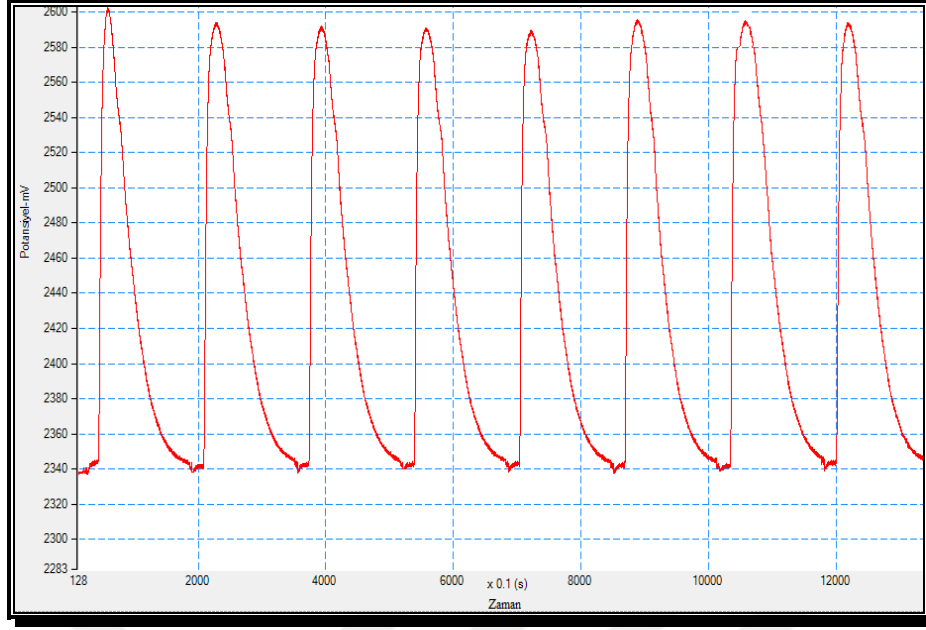
Şekil 4.18 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla $15 \mu\text{L } 10^{-1} \text{ M}$ asetik asit çözeltisinden $15 \mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (63-72.enjeksiyonlar)



Şekil 4.19 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla $15 \mu\text{L } 10^{-1} \text{ M}$ asetik asit çözeltisinden $15 \mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (73-82.enjeksiyonlar)



Şekil 4.20 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla $15 \mu\text{L } 10^{-1} \text{ M}$ asetik asit çözeltisinden $15 \mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (83-92.enjeksiyonlar)



Şekil 4.21 Çalışma ömrünün belirlenmesi amacıyla $15 \mu\text{L } 10^{-1} \text{ M}$ asetik asit çözeltisinden $15 \mu\text{L/s}$ hızla sisteme enjeksiyon (93-100.enjeksiyonlar)

Sonuçlar incelendiğinde pik değerinin 90. enjeksiyona kadar 2600 mV civarında olduğu, zaman zaman küçük düşüşler yaşansa da bir sonraki enjeksiyonda yine aynı değerlere çıktığı gözlenmektedir. 93. enjeksiyondan sonra ortalama 5 mV' luk bir fark oluşmaya başladığı gözlemlendi. Elektrotun potansiyometrik davranışında düşüş gözlemlendiğinde, elektrot yüzeyinden ince bir kesit alınması veya yüzeyin zımparalanması elektrotun eski performansına dönmesini sağlamaktaydı.

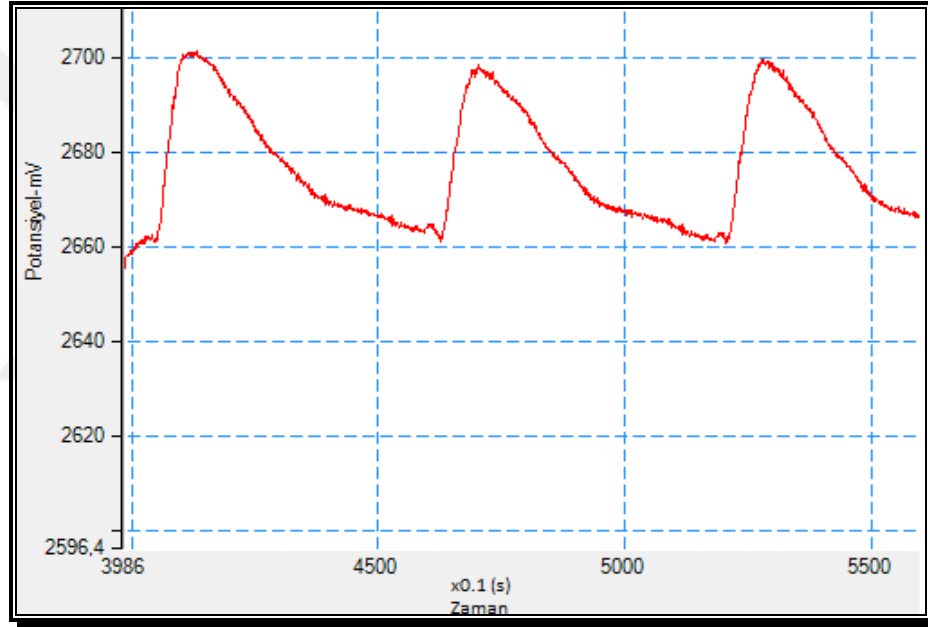
4.5 SEA Sisteminin Optimizasyonu

SEA sistemin optimizasyonu, çalışmanın en önemli kısımlarından birini oluşturmaktadır. Sistemde kullanılacak taşıyıcı faz derişiminin, optimizasyon için kullanılacak olan örneğin derişiminin, titrasyonun gerçekleştirileceği akış hızının ve sisteme eklenecek süt örneklerinin hacimsel değerlerinin hesaplanması büyük önem arz etmektedir. Bu amaçla, sistemde kullanılacak olan taşıyıcı faz derişiminin tespit edilmesi amacıyla 10^{-2} M , 10^{-3} M ve 10^{-4} M konsantrasyonlarda NaOH çözeltisi ile denemeler yapıldı. Bununla birlikte; konsantrasyonları 10^{-1} M , 10^{-2} M ve 10^{-3} M olan asetik asit çözeltileri kullanılarak sistem optimizasyonu için kullanılacak olan örneğin derişimi belirlendi. Sistemde çalışılacak olan örnekleme hızı belirlenirken $5\text{-}25 \mu\text{L/s}$ aralığındaki tüm hızlar birer artırılarak denendi ve tezde $10\text{-}20 \mu\text{L/s}$ aralığındaki çalışmalardan bahsedilmesi uygun bulundu. Aynı şekilde, toplam asitlik tayini için

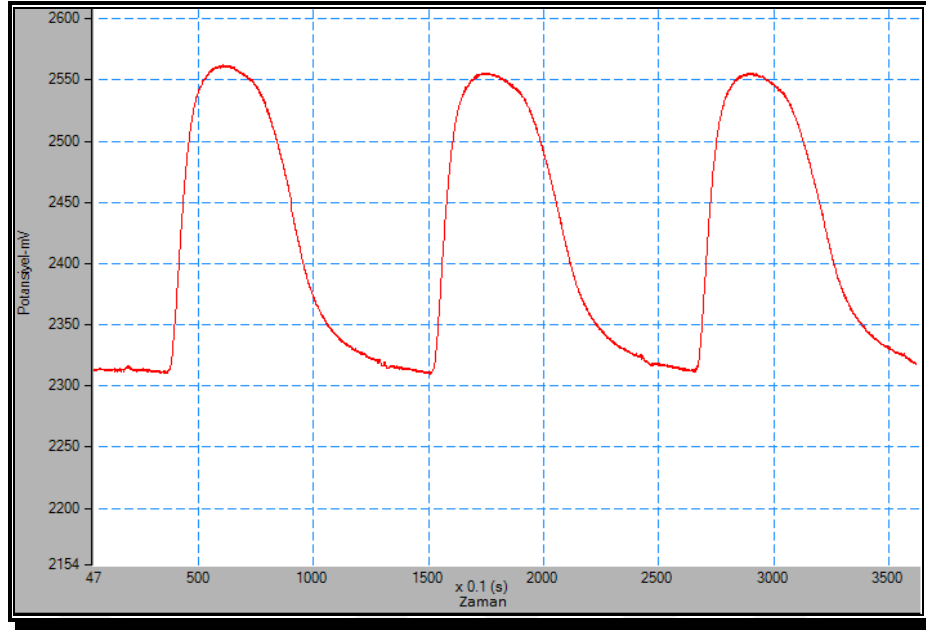
kullanılacak olan süt örneklerinin hacimsel verileri için 8-150 μL , pH tayini için ise 20-150 μL olan tüm hacimsel değerler tek tek denenerek en uygun bulunan sonuçlar teze eklendi.

4.5.1 Taşıyıcı Faz Derişiminin Optimizasyonu

SEA sistemde yapılan bütün çalışmalarda taşıyıcı faz olarak NaOH kullanıldı. 10^{-2} M, 10^{-3} M ve 10^{-4} M konsantrasyonlarda NaOH taşıyıcı faz olarak test edildi. Bu taşıyıcı faz konsantrasyonlarında, 15 $\mu\text{L/s}$ hızında, sisteme 15 μL hacimde 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 3 kez enjeksiyon yapıldı.



Şekil 4.22 SEA sisteme 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, hareketli faz olarak 10^{-4} M NaOH kullanılarak, 15 μL 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

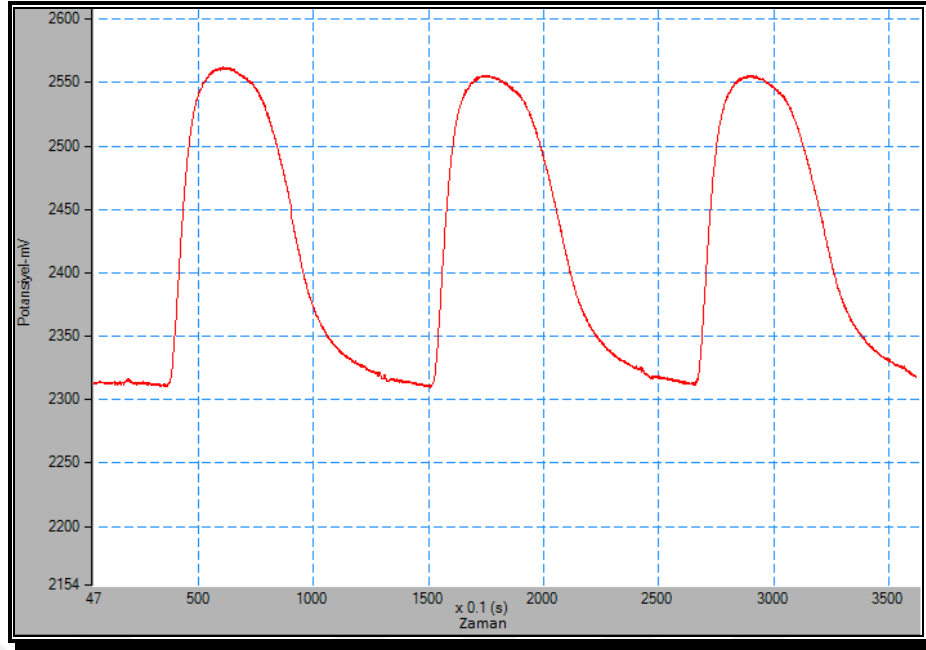


Şekil 4.23 SEA sisteme, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, hareketli faz olarak 10^{-3} M NaOH kullanılarak, 15 μL 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

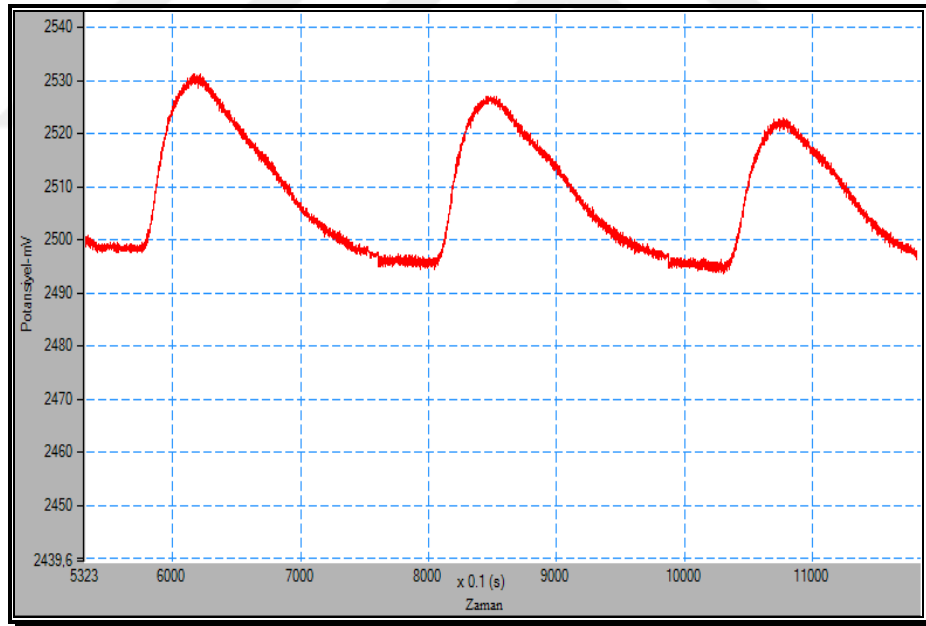
Sonuçlar incelendiğinde, 10^{-3} M NaOH ile yapılan titrasyonda gauss eğrisine en yakın eğriler elde edildiği görülmektedir. Ayrıca pik boyları daha uzun ve dağılım daha homojendir. Sonuçlar değerlendirildiğinde 10^{-3} M NaOH çözeltisini taşıyıcı faz olarak kullanmanın en uygun olduğu anlaşılmaktadır. 10^{-2} M NaOH çözeltisinin taşıyıcı faz olarak kullanıldığı titrasyonlarda Gauss eğrisi elde edildi. Ancak yüksek NaOH konsantrasyonunun titrasyon hassasiyetini olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle tercih edilmedi.

4.5.2 Örnek Derişiminin Optimizasyonu

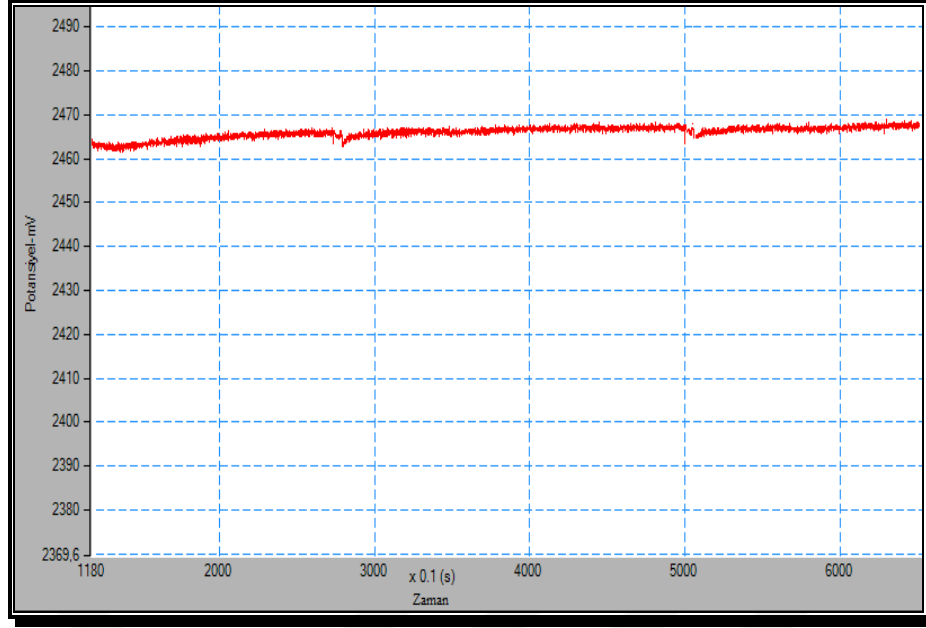
SEA sistemi optimizasyonunda kullanılacak olan örneğin derişimi seri ölçümler alınmak suretiyle optimize edildi. Bu amaçla 10^{-1} M, 10^{-2} M ve 10^{-3} M olan asetik asit çözeltileri kullanıldı. Örnekler, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, 5 μL hacimde 3 kez sisteme enjekte edildi. Sistemden elde edilen sonuçlar Şekil 4.24 - 4.25 - 4.26' da görülmektedir.



Şekil 4.24 SEA sisteme, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, 15 μL 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar



Şekil 4.25 SEA sisteme, 10^{-2} M asetik asit çözeltisinin 15 μL sinin, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

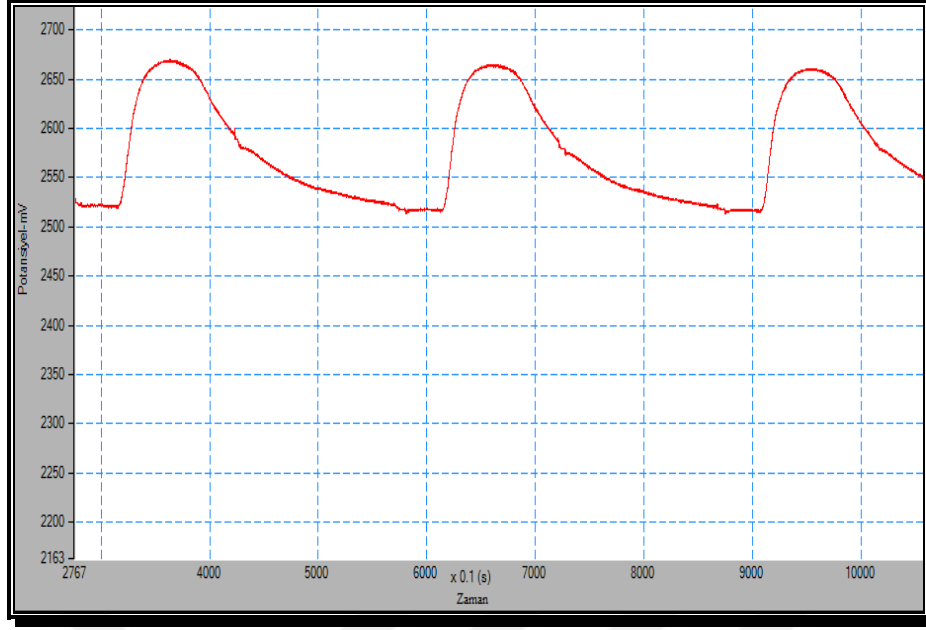


Şekil 4.26 SEA sisteme, 10^{-3} M asetik asit çözeltisinin $15 \mu\text{L}$ sinin, $15 \mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

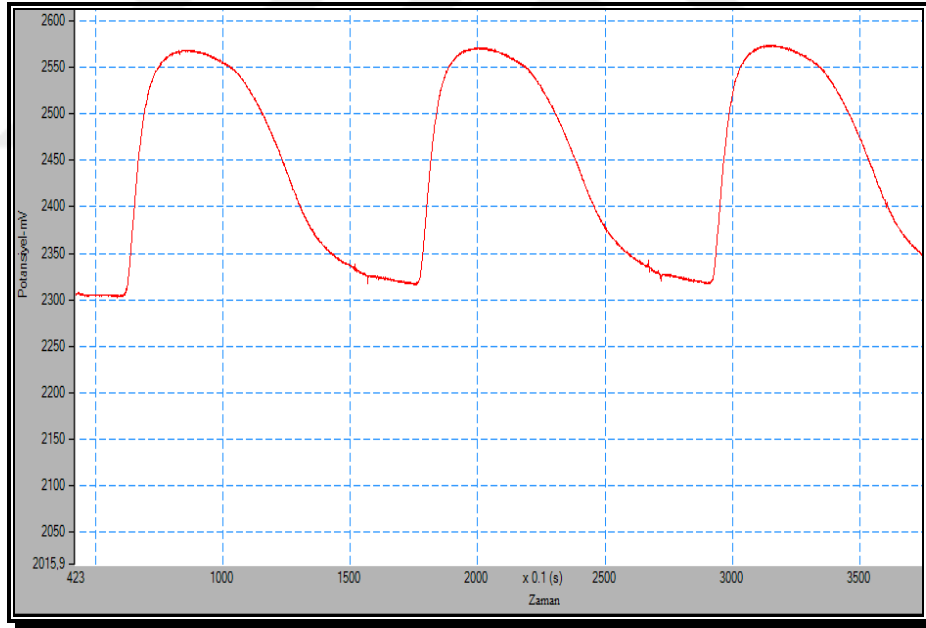
Sonuçlar incelendiğinde; 10^{-1} M derişimde örnek kullanıldığında (Şekil 4.24) oluşan pik alanları daha geniştir, piklerin keskinliği 10^{-2} M derişimde örnek kullanıldığında elde edilen sonuçlardan (Şekil 4.25) daha azdır, pikler gauss eğrisine çok daha yakındır. Bu sebeplerle, sistemde 10^{-1} M örnek kullanımı uygun bulunmuştur.

4.5.3 Akış Hızının Optimizasyonu

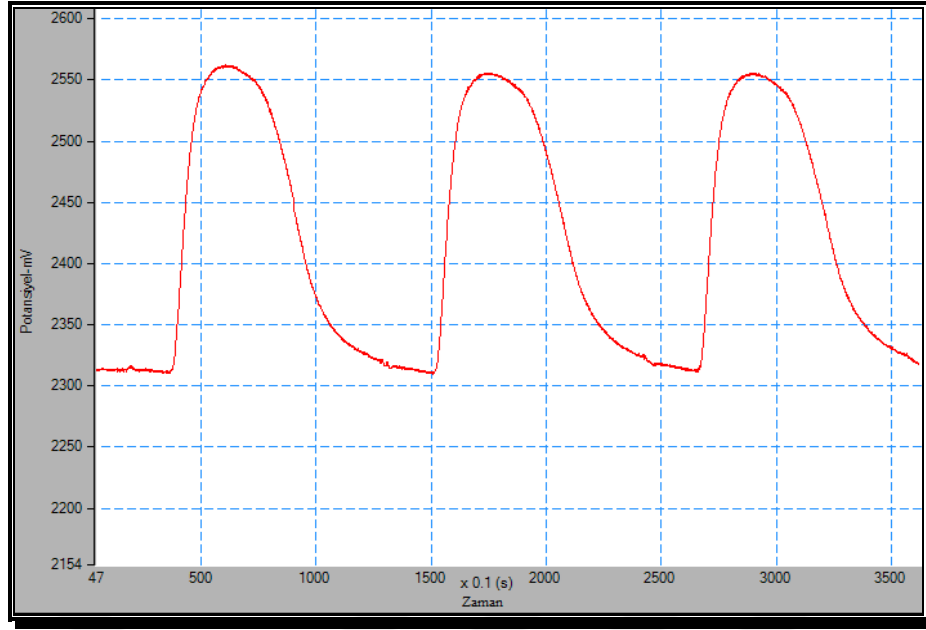
Taşıyıcı faz akış hızının optimizasyonu için sistemin $5 \mu\text{L/s}$, $10 \mu\text{L/s}$ ve $15 \mu\text{L/s}$ taşıyıcı faz hızları test edildi. Bu amaçla, sisteme 10^{-3} M NaOH taşıyıcı faz içine $15 \mu\text{L}$ 10^{-1} M asetik asit 3 kez enjekte edildi. Sistemden elde edilen sonuçlar Şekil 4.27 - 4.28 - 4.29' da görülmektedir.



Şekil 4.27 SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin $15 \mu\text{L}$, $5 \mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar



Şekil 4.28 SEA sisteme, $15 \mu\text{L}$, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin $10 \mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

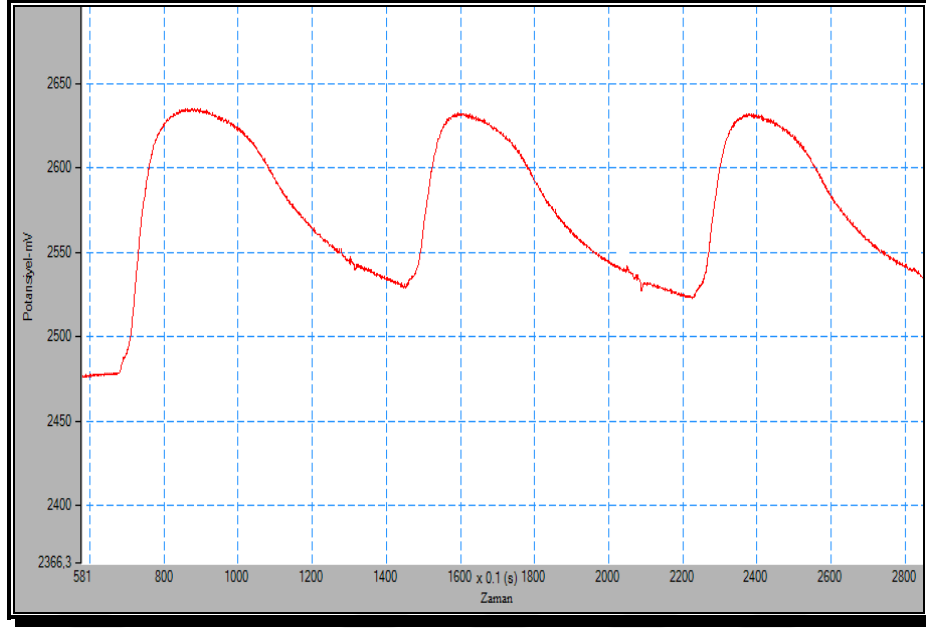


Şekil 4.29 SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin $15 \mu\text{L}$, $15 \mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

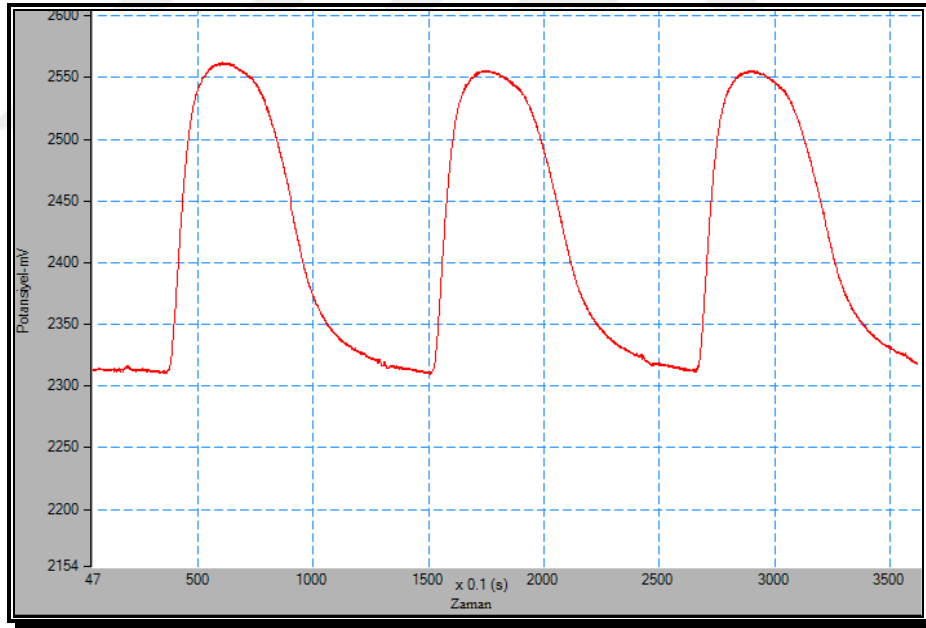
Sonuçlar incelendiğinde $5 \mu\text{L/s}$ ile yapılan çalışmada bir pikin tamamlanması için geçen sürenin 4.251 dakika olduğu, $15 \mu\text{L/s}$ hız ile yapılan enjeksiyonda ise bir pikin tamamlanması için geçen sürenin 1.61 dakika olduğu, $5 \mu\text{L/s}$ ile yapılan bir enjeksiyonda analizin 2.5 kata kadar uzadığı görülmektedir. Bununla birlikte, $10 \mu\text{L/s}$ hız ile $15 \mu\text{L/s}$ kıyaslandığında; $15 \mu\text{L/s}$ hız ile yapılan enjeksiyonda daha düzgün bir gauss eğrisi oluştuğu görülmektedir. Dolayısıyla çalışmada akış hızının $15 \mu\text{L/s}$ olmasının uygun olacağı saptandı.

4.5.4 Enjeksiyon Hacminin Optimizasyonu

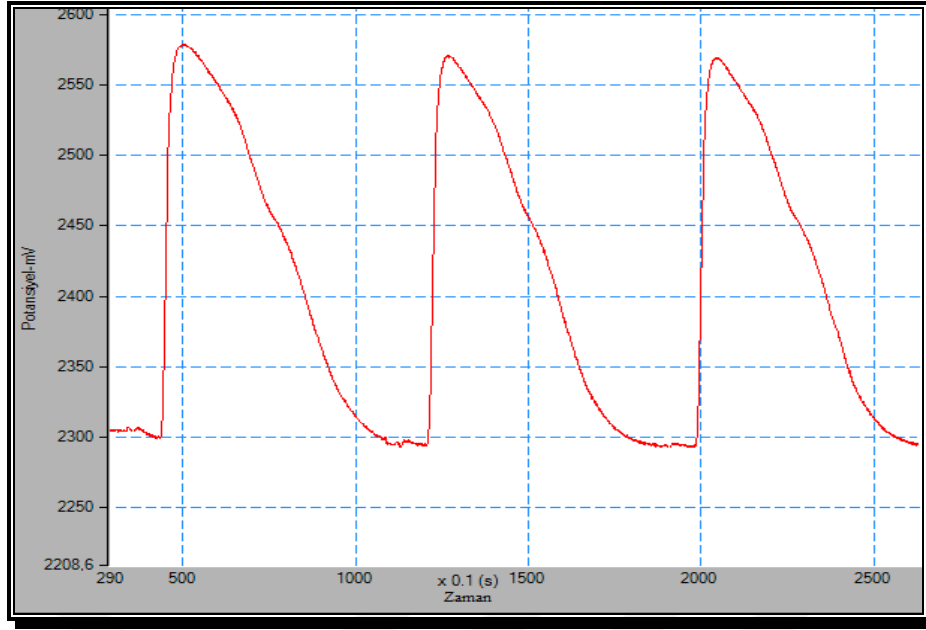
Örnek hacminin optimizasyonunu sağlamak amacıyla, $15 \mu\text{L/s}$ hızında, $10\text{-}15\text{-}20 \mu\text{L}$ 10^{-1} M asetik asit çözeltisinden 3' er kez enjekte yapıldı. Sistemden elde edilen flowgramlar Şekil 4.30 - 4.31- 4.32' de görülmektedir.



Şekil 4.30 SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin $10 \mu\text{L}$, $15 \mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu ile oluşan flowgramlar



Şekil 4.31 SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin $15 \mu\text{L}$, $15 \mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

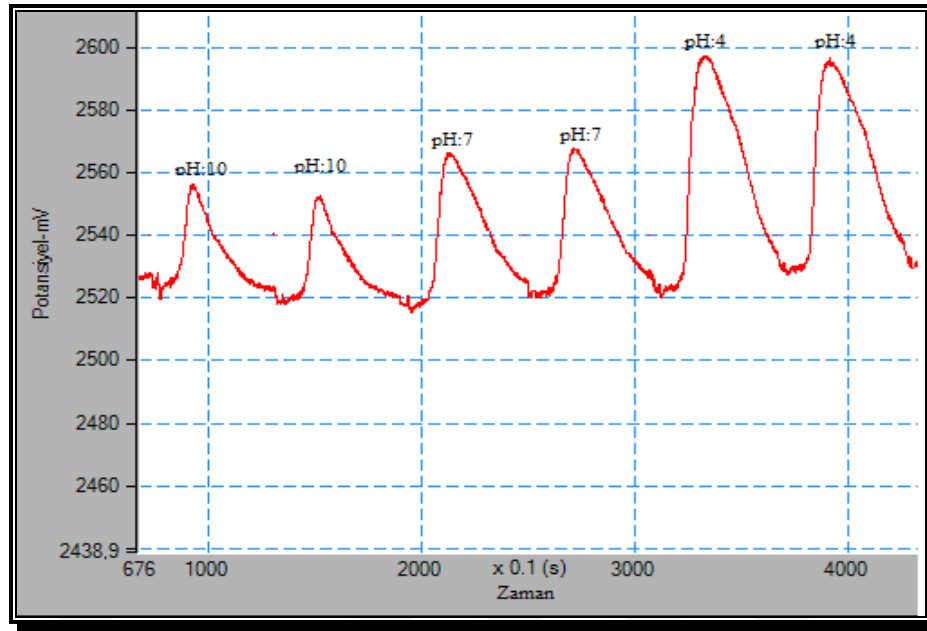


Şekil 4.32 SEA sisteme, 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin 20 μL , 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

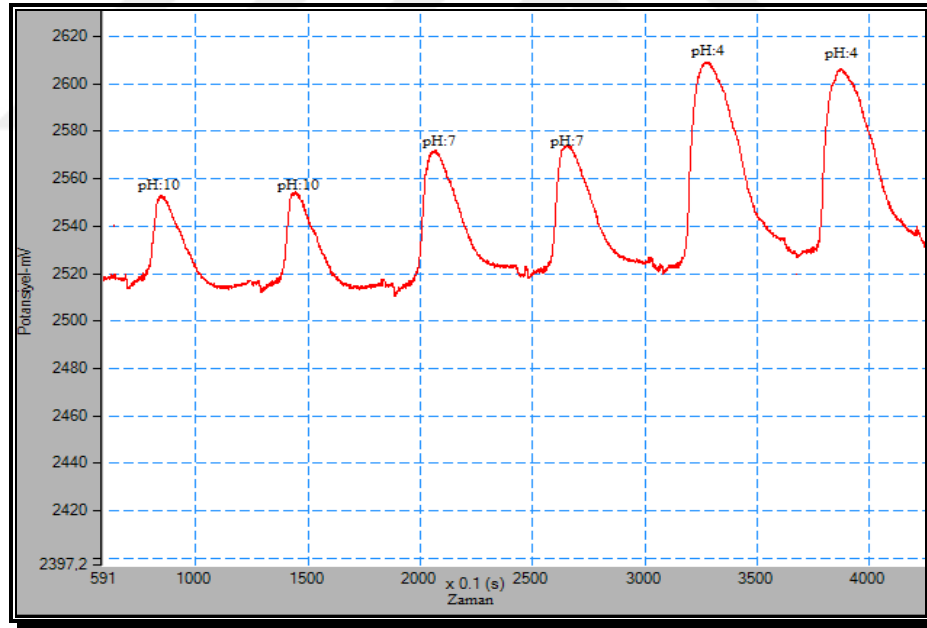
Sonuçlar incelendiğinde; örnek hacmi arttıkça pik boylarında bir artış gözlemlendi. Ancak hacim 15 μL 'nin üzerine çıktıkça piklerin gauss eğrisine olan benzerliğinin azaldığı saptandı. Bununla birlikte; örnek hacmi azaldıkça sensör duyarlılığının azaldığı tespit edildi. Pik boyları ve şekilleri incelendiğinde 15 μL ile çalışmanın en doğru olacağı kararına varıldı.

4.5.5 pH Analizi İçin Enjeksiyon Hacminin Optimizasyonu

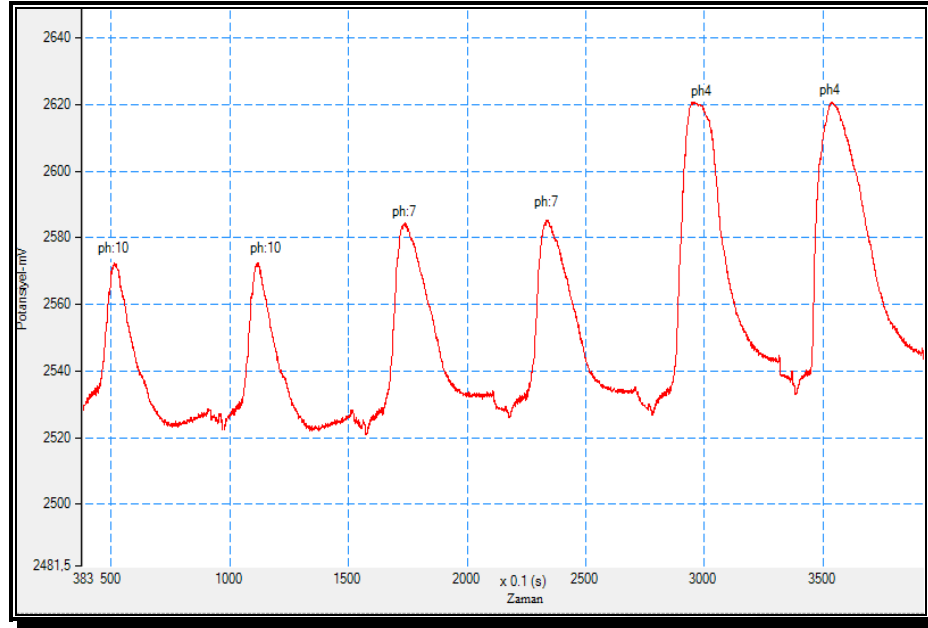
Sütte pH tayini için enjeksiyon hacmi toplam asitlik tayininden farklıdır. Toplam asitlik tayininde örneğin taşıyıcı faz ile titrasyonu amaçlanırken pH tayininde titre olmamış, taşıyıcı fazla etkileşime hiç geçmemiş bölgenin meydana getirdiği potansiyometrik gerilim farkı dikkate alınmaktadır. Bu amaçla standart pH 4-7-10 çözeltileri kullanılarak 20-40-60-80 μL hacimlerde örnek enjeksiyonu yapıldı. Alınan sonuçlar Şekil 4.33 - 4.34 - 4.35' de görülmektedir.



Şekil 4.33 SEA sisteme pH analizi için 20 µL örnek hacmi enjeksiyonu ile oluşan flowgramlar



Şekil 4.34 SEA sisteme pH analizi için 40 µL örnek hacmi enjeksiyonu ile oluşan flowgramlar



Şekil 4.35 SEA sisteme pH analizi için 60 μ L örnek hacmi enjeksiyonu ile oluşan flowgramlar

Şekil 4.33 incelendiğinde oluşan ortalama potansiyel farklar sırasıyla pH 10 için 30-40 mV, pH 7 için 40-45 mV, pH 4 için 60-70 mV' dır. Şekil 4.34 incelendiğinde oluşan ortalama potansiyel farklar sırasıyla pH 10 için 30-40 mV, pH 7 için 45-50 mV, pH 4 için 80-85 mV' dur. Şekil 4.35 incelendiğinde oluşan ortalama potansiyel farklar sırasıyla pH 10 için 40-50 mV, pH 7 için 60-65 mV, pH 4 için 85-90 mV' dur. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, 60 μ L örnek hacmi ile yapılan çalışmadan en yüksek potansiyel farklar elde edildiği görüldü. Diğer taraftan 80 μ L örnek hacmi ile yapılan çalışmada ise 60 μ L örnek hacmi ile yapılan çalışma ile elde edilen değerlere yakın değerler elde edildi. Dolayısıyla sütte pH tayini için 60 μ L örnek hacmi kullanılmasına karar verildi.

4.5.6 Sistem Tasarımlarının Optimizasyonu

Sistem üç farklı şekilde tasarlandı. Sistemlerin hacmi ayrı ayrı hesaplanıp, Flozf programlanması yapılırken bu hesaplamalardan faydalanılarak deneysel çalışmanın programlama basamağı şekillendirildi.

Sisteme sütte bulunan proteinlerin tutulması, çarpma ve filtrasyon sonucu daha etkin bir titrasyon sağlamak amacıyla bir holding coil (reaksiyon çemberi) eklenerek akış yolu uzatıldı ve sıvının yüzeylere daha fazla çarpması sağlanarak daha iyi bir titrasyon

amaçlandı. Daha sonra, bu amaç doğrultusunda, sistemde 2 cm ve 1 cm uzunluğunda olmak üzere iki farklı boyutta mini kolonlar kullanıldı.

Sistem Hacimlerinin Hesaplanması

Sistem tasarımlarında 0.1 mm çapında 222 cm uzunluğunda borulardan yararlanıldı. SEA sistemin ilk tasarımında sisteme holding coil eklendi (Şekil 4.36).



Şekil 4.36 SEA sistemde kullanılan bir holding coil

Kullanılan holding coilin toplam ölü hacmi 865.46 μL ' di. SEA sistemin ilk tasarımı ile elde edilen toplam ölü hacim 2644 μL ' di.

İkinci ve üçüncü tasarımda sisteme sırayla 2 ve 1 cm uzunluklarında mini kolonlar eklendi. 2 cm uzunluğunda mini kolon eklenerek elde edilen toplam hacim 1795 μL iken, 1 cm uzunluğunda mini kolon (Şekil 4.37) eklenen sistemin toplam hacmi 1787 μL .



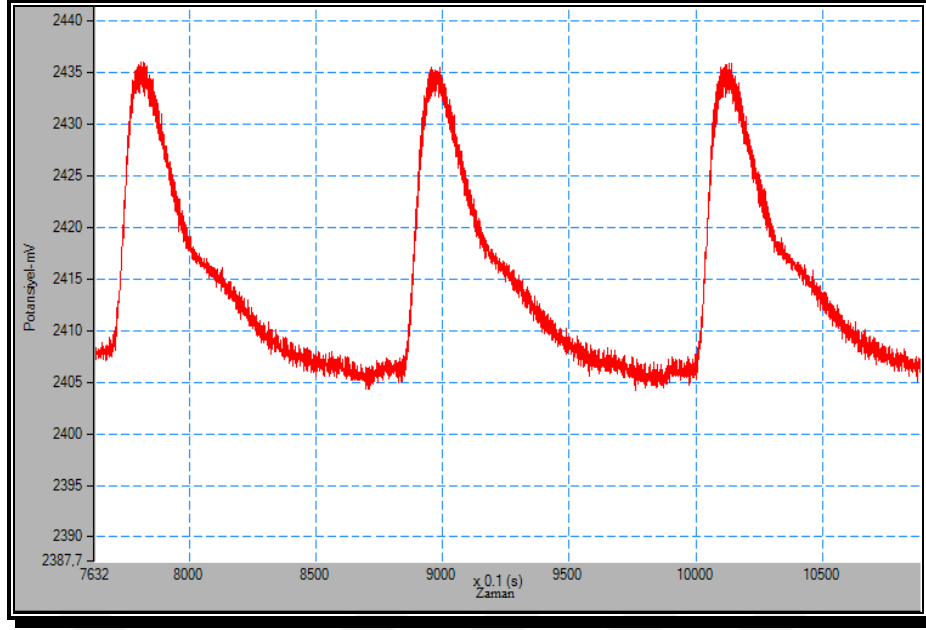
Şekil 4.37 SEA sistemde kullanılan mini kolon

1cm mini kolon eklenmiş olarak tasarlanan üçüncü tasarıma ait boru hacimleri Çizelge 4.5’ de görülmektedir. Sisteme 1.kanal hava, 2. kanal saf su sağlamaktadır. Ancak bu hatların Flozif programında reaktan miktarlarına etkisi olmadığı için hacimsel hesapları ihmal edilmiştir.

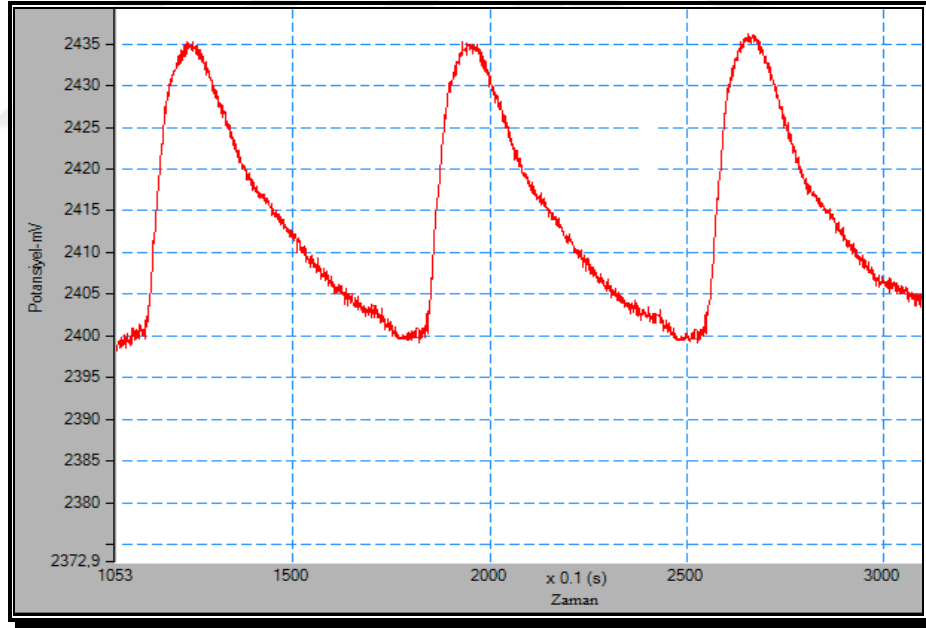
Çizelge 4.5 1 cm boyutlarında mini kolon eklenmiş üçüncü tasarım SEA sistemin hacimsel verileri

Borular	Uzunluk (cm)	Hacim (cm ³)	Hacim (µL)
Pompa taşıyıcı arası	12.5	0.098	98.13
Pompa-valf	12	0.094	94.20
Atık	5	0.039	39.25
Filtre ile hücre arası	5	0.039	39.25
3. Kanal çıkışı (amil alkol)	20	0.157	157.00
4. Kanal çıkışı (sülfürik asit)	20	0.157	157.00
5. Kanaldan çıkışı (süt)	14.5	0.114	113.83
6. Kanaldan çıkışı (1.50x10 ⁻² M laktik a.)	15	0.118	117.75
7. Kanaldan çıkışı (1.75x10 ⁻² M laktik a.)	15	0.118	117.75
8. Kanal çıkışı (hat yolu)	20	0.157	157.00
9. Kanaldan çıkışı (2x10 ⁻² M laktik a.)	20	0.157	157.00
10. Kanaldan çıkışı (pH 10)	13.5	0.106	105.98
11. Kanaldan çıkışı (pH 7)	14.5	0.114	113.83
12. Kanaldan çıkışı (pH 4)	15	0.118	117.75
13. Kanaldan çıkışı (bütirometre)	20	0.157	157.00
Hücre	4.6	0.036	36.11
Kolon	1	0.008	7.85
Toplam	159	1.787	1787

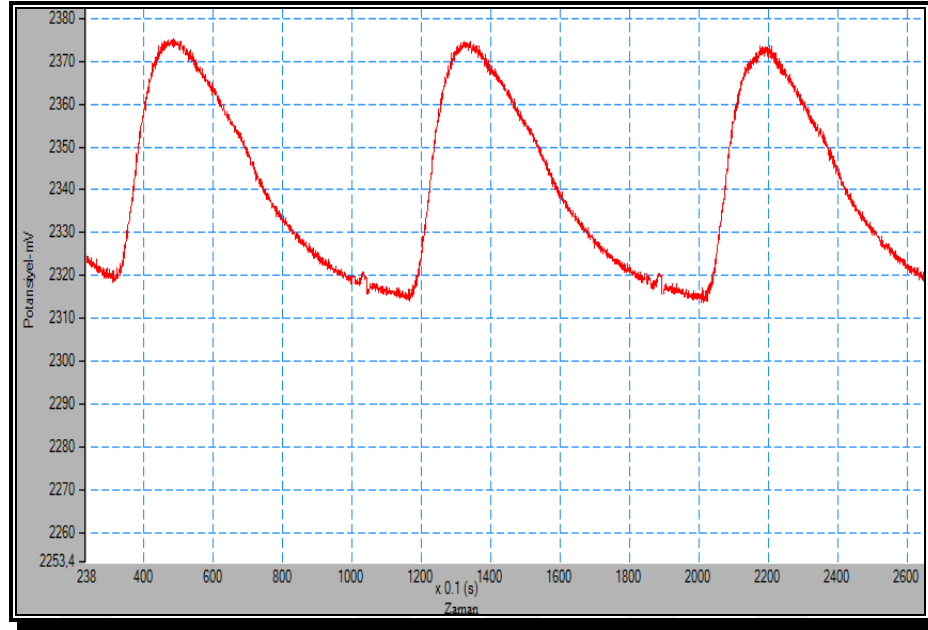
Tasarlanan her üç sisteme, 15 µL/s akış hızında, 15 µL hacminde 3’ er kere süt enjekte edildi. Sonuçlar Şekil 4.38 - 4.39 - 4.40’ da görülmektedir.



Şekil 4.38 Holding coil eklenerek tasarlanan SEA sisteme, 15 μL hacminde sütün, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar



Şekil 4.39 2 cm uzunluğundaki mini kolon eklenerek tasarlanan SEA sisteme, 15 μL hacminde sütün, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar



Şekil 4.40 1 cm uzunluğundaki mini kolon eklenerek tasarlanan SEA sisteme, 15 μL hacminde sütün, 15 $\mu\text{L/s}$ akış hızında, enjeksiyonu sonucu oluşan flowgramlar

Şekil 4.38 - 4.39 - 4.40 incelendiğinde holding coil eklendiği zaman sistemden alınan pik sonuçlarında eteklenme olduğu, piklerin düzgün bir dağılım göstermediği gözlemlendi. Bununla birlikte, pik boyu ortalama 40 mV dolaylarındadır. 2 cm uzunluğundaki mini kolon eklendiğinde piklerin keskinliği ve pik genişliği artmakta, düzgün bir gauss eğrisi oluşturmamaktadır. Pik boyu ortalama 35 mv' dur. 1 cm uzunluğundaki mini kolon eklenmiş olarak sistemden alınan sonuçlar incelendiğinde, düzgün bir gauss eğrisi olduğu, baseline dönüşünün hızlı ve pik aralığının ortalama bir seviyede olduğu gözlemlendi. Ayrıca pik boyu ortalama 60 mV seviyelerindedir. Bu da daha iyi bir titrasyon sağlandığını göstermektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde 1 cm uzunluğundaki mini kolon ile çalışmanın daha iyi sonuçlar almaya yardımcı olacağı anlaşıldı.

Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında bu optimizasyon parametreleri temel alındı. Literatüre kıyasla [32] daha düşük örnek hacmi ile düzgün gauss eğrileri elde edildiği belirlendi.

4.6 SEA Sistemi ile Sütte Toplam Asitlik, pH ve Yağ Tayini

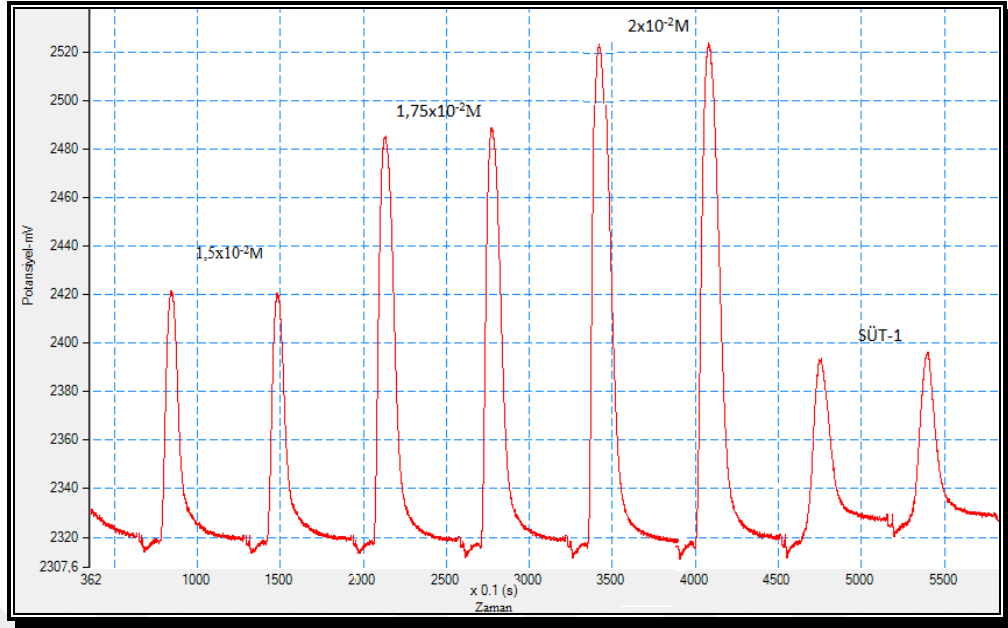
4.6.1 SEA Sistem Kullanılarak Sütte Toplam Asitlik Tayini

Sütte toplam asitlik tayini yapmak amacıyla, 10 farklı süt örneği ile birlikte 1.5×10^{-2} , 1.75×10^{-2} ve 2×10^{-2} M derişikteki laktik asit çözeltileri 2' şer kere enjekte edildi. Analiz

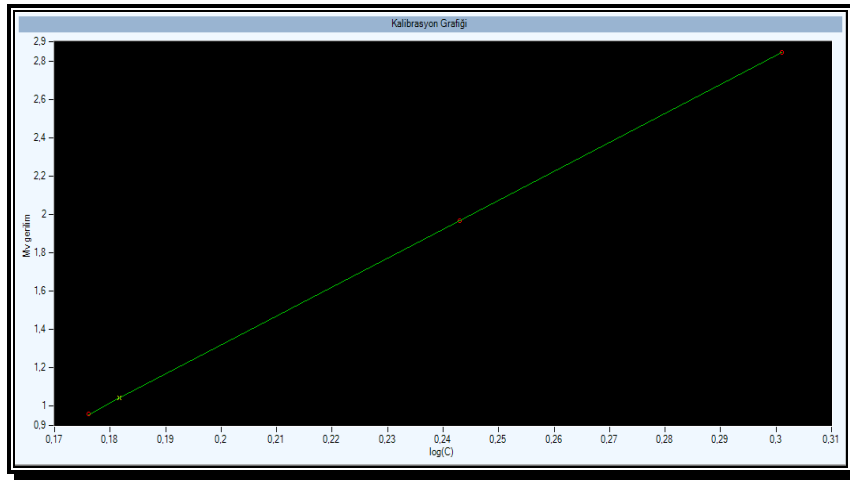
sonucunda her bir süt rneği için potansiyometriden elde edilen sonuçlar aŗaęıda yer almaktadır.

Elde edilen piklerin alanları dikkate alınarak % süt asitliği miktarları (Eŗitlik 4.1) hesaplandı [41]. SEA titrasyonu sonrası elde edilen flowgramlar Şekil 4.41 - Şekil 4.59 arasında görülmektedir. Bu flowgramlardaki pik alanları dikkate alınarak oluŗturulan kalibrasyon grafikleri Şekil 4.42 - Şekil 4.60 arasında görülmektedir.

$$E = E^0 - \frac{0.0592}{n} \times \log Q \quad (4.1)$$



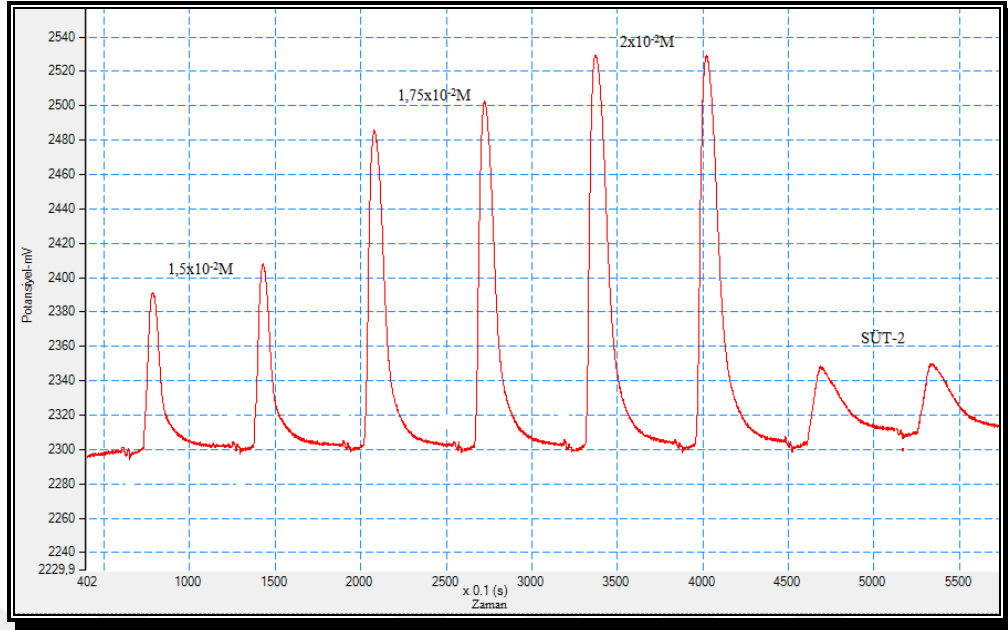
Şekil 4.41 1.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



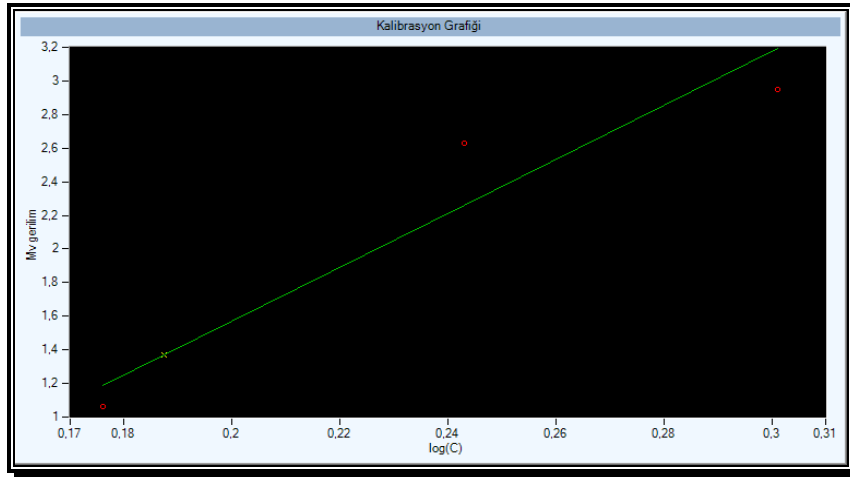
$$y = 15.101x - 1.7011$$

$$R^2 = 1$$

Şekil 4.42 1.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)



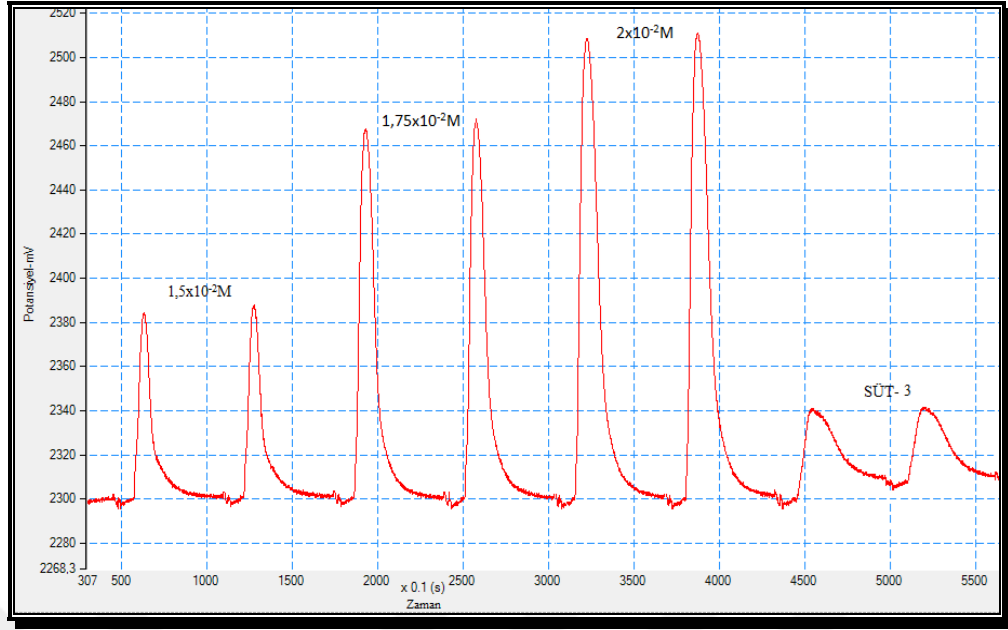
Şekil 4.43 2.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



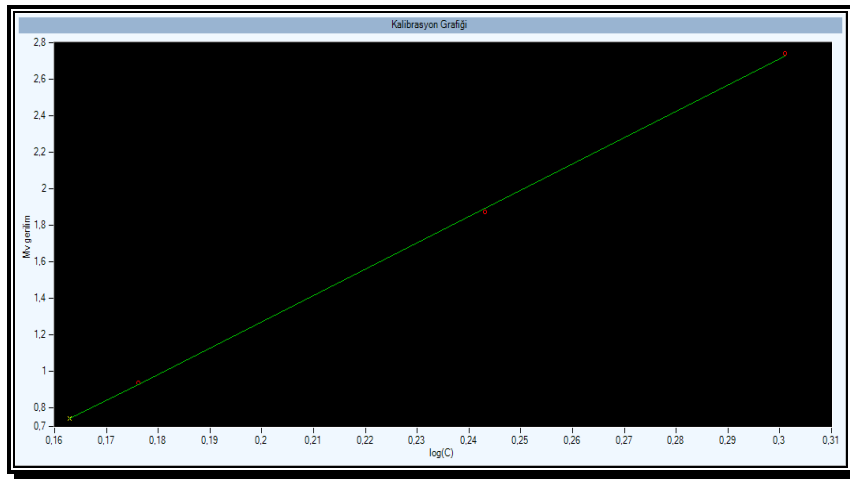
$$y = 15.465x - 1.5058$$

$$R^2 = 0.9197$$

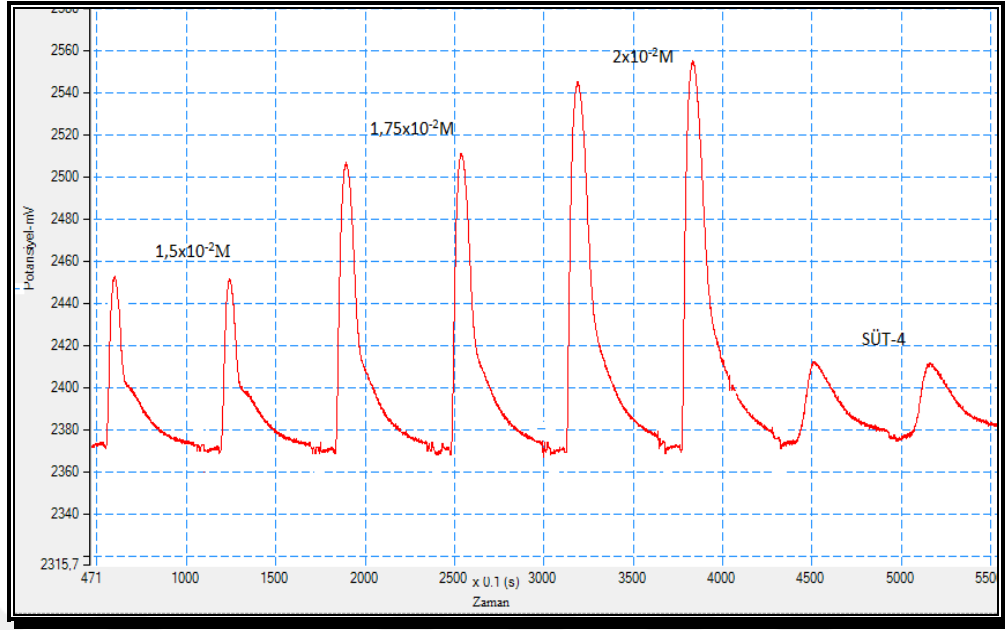
Şekil 4.44 2.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)



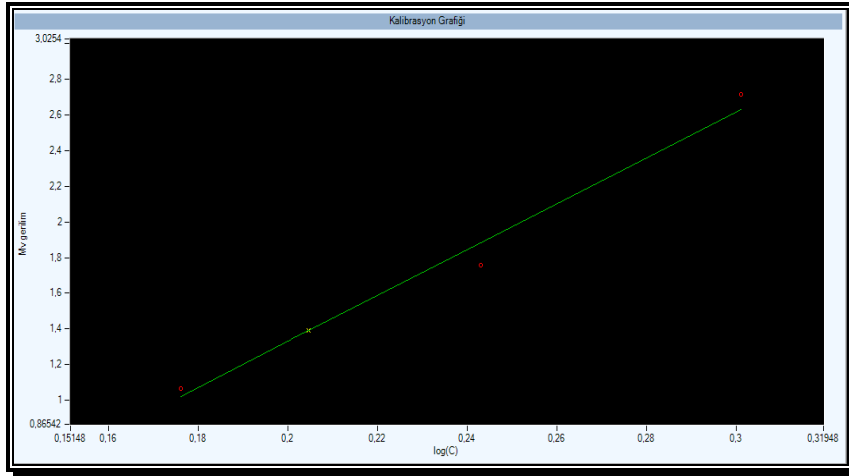
Şekil 4.45 3.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



Şekil 4.46 3.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)



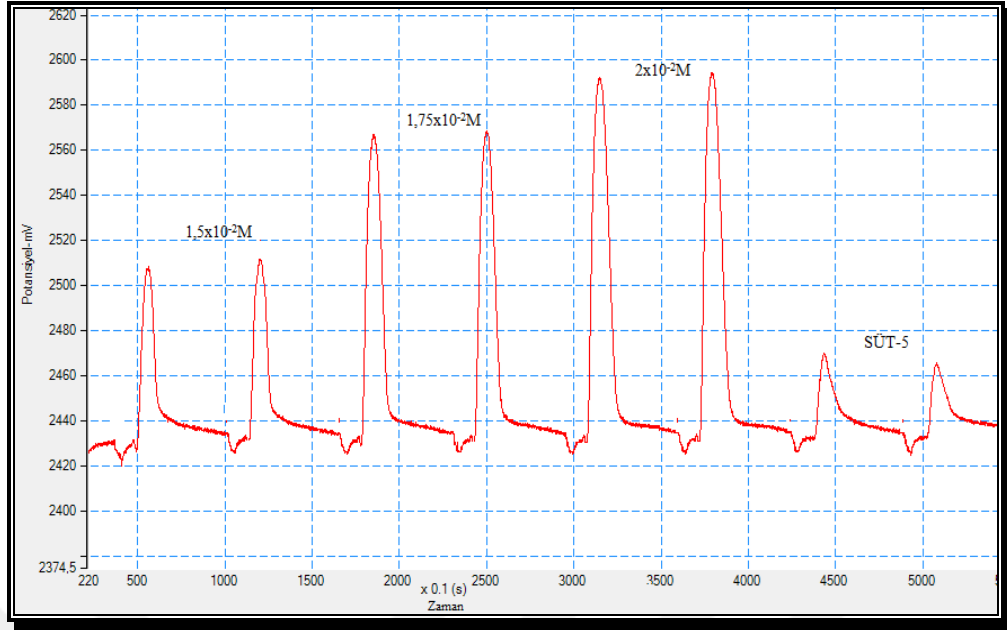
Şekil 4.47 4.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



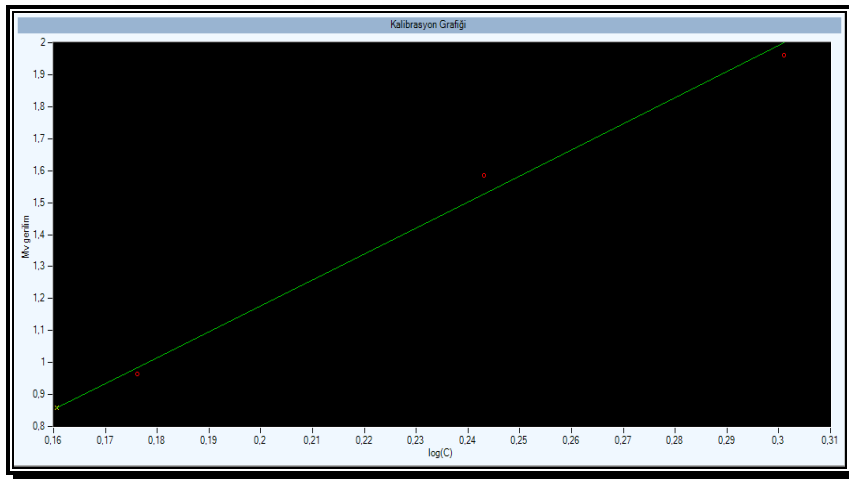
$$y = 13.108x - 1.2981$$

$$R^2 = 0.984$$

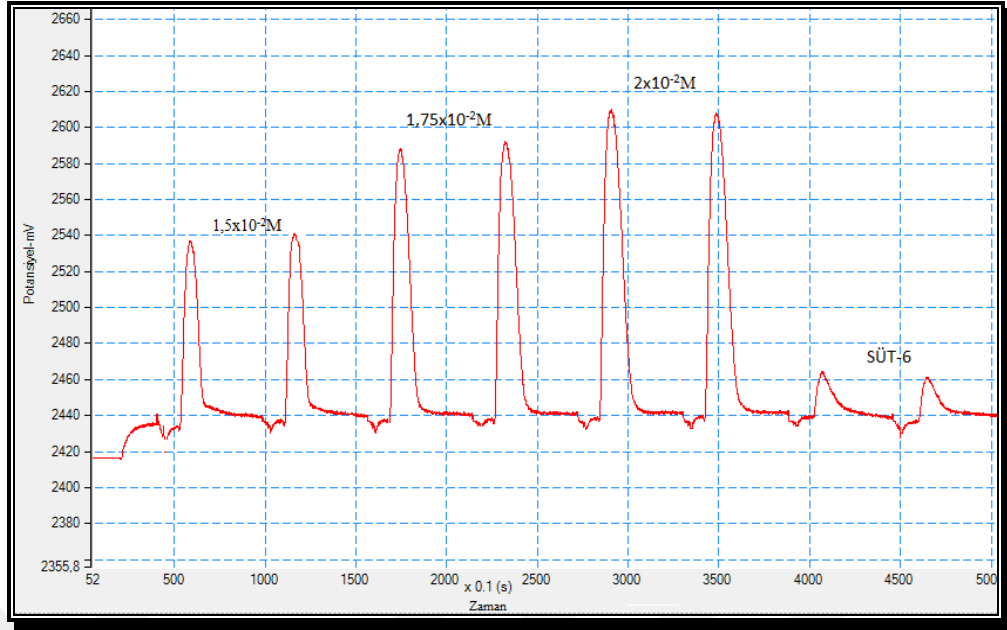
Şekil 4.48 4.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)



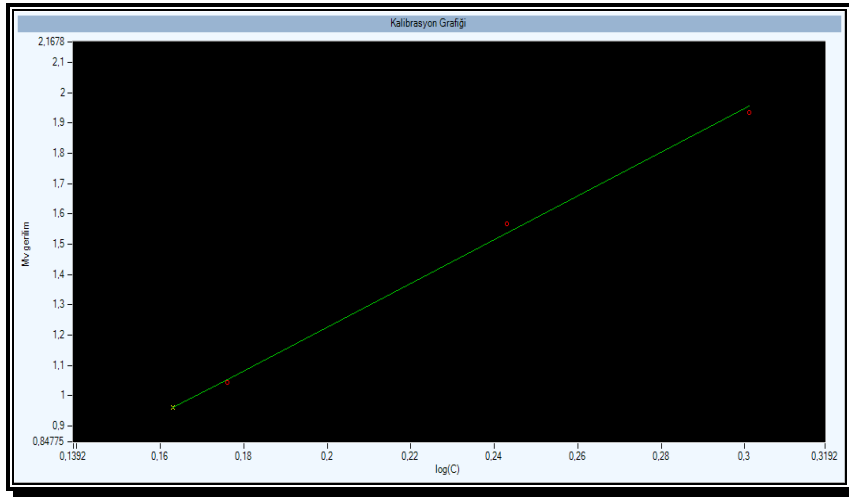
Şekil 4.49 5.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



Şekil 4.50 5.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)



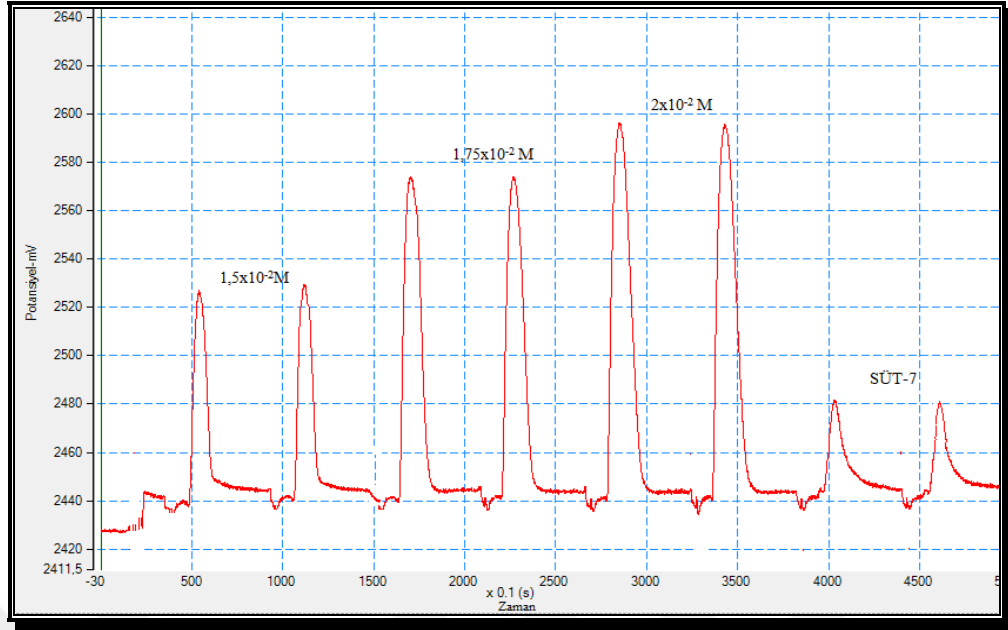
Şekil 4.51 6.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



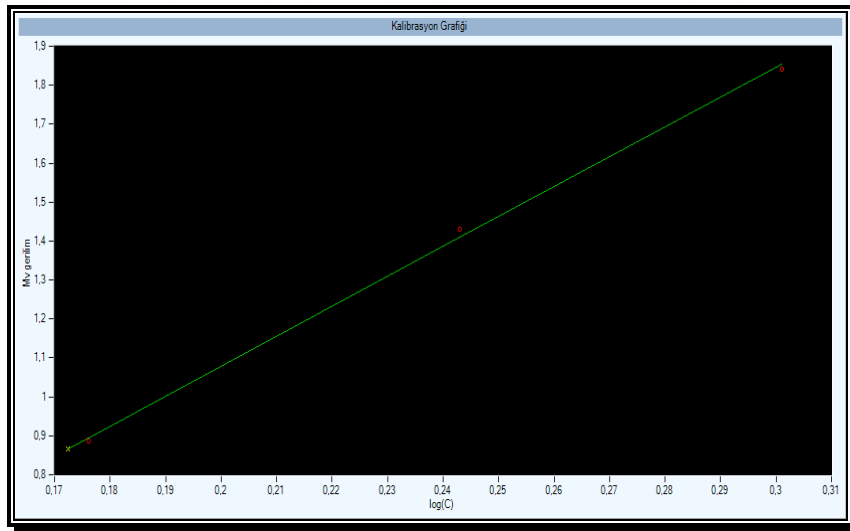
$$y = 7.1713x - 0.2067$$

$$R^2 = 0.9978$$

Şekil 4.52 6.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)



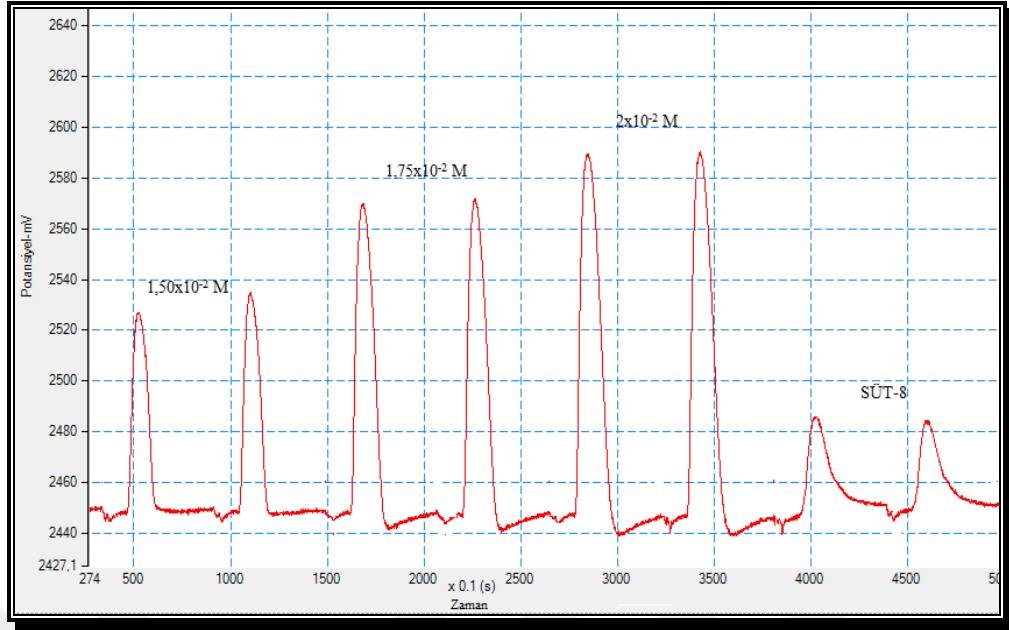
Şekil 4.53 7.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



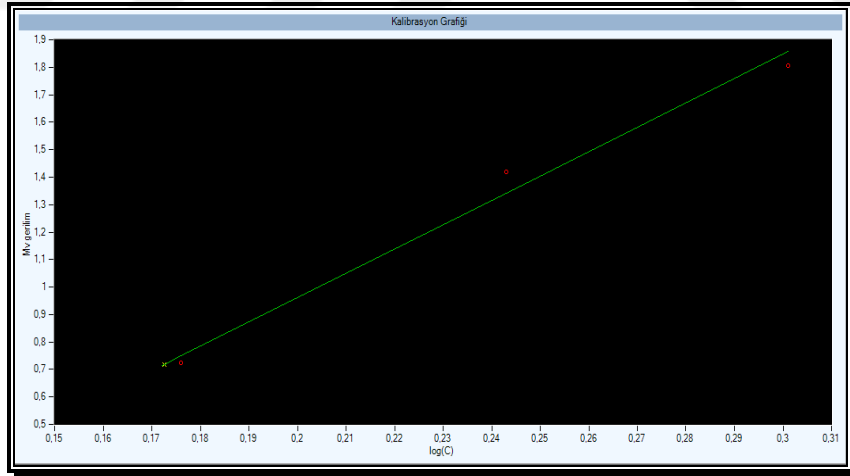
$$y = 8.3941x - 0.6702$$

$$R^2 = 0.9996$$

Şekil 4.54 7.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (mV)-Log C grafiği)



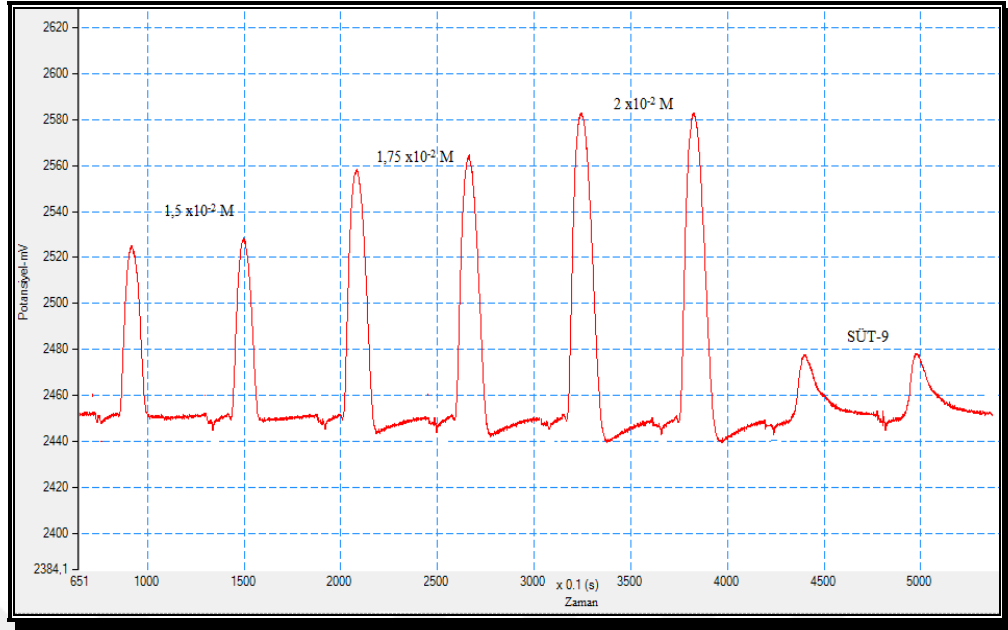
Şekil 4.55 8.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



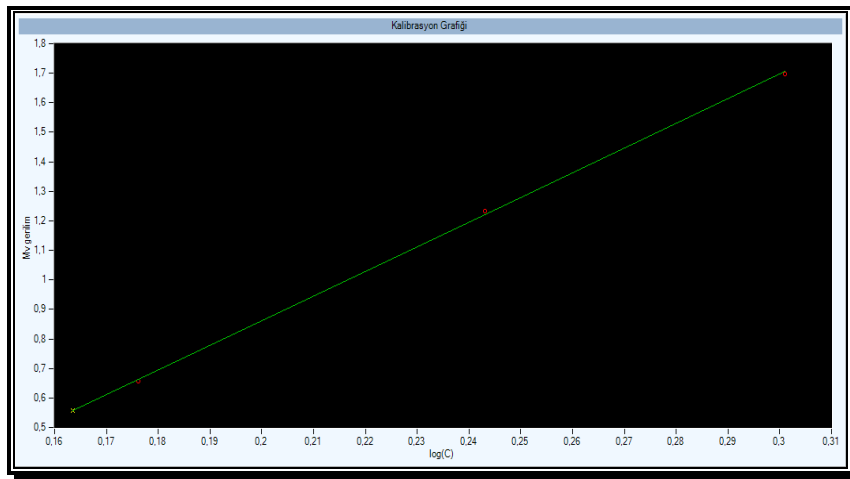
$$y = 8.7594x - 0.7882$$

$$R^2 = 0.9897$$

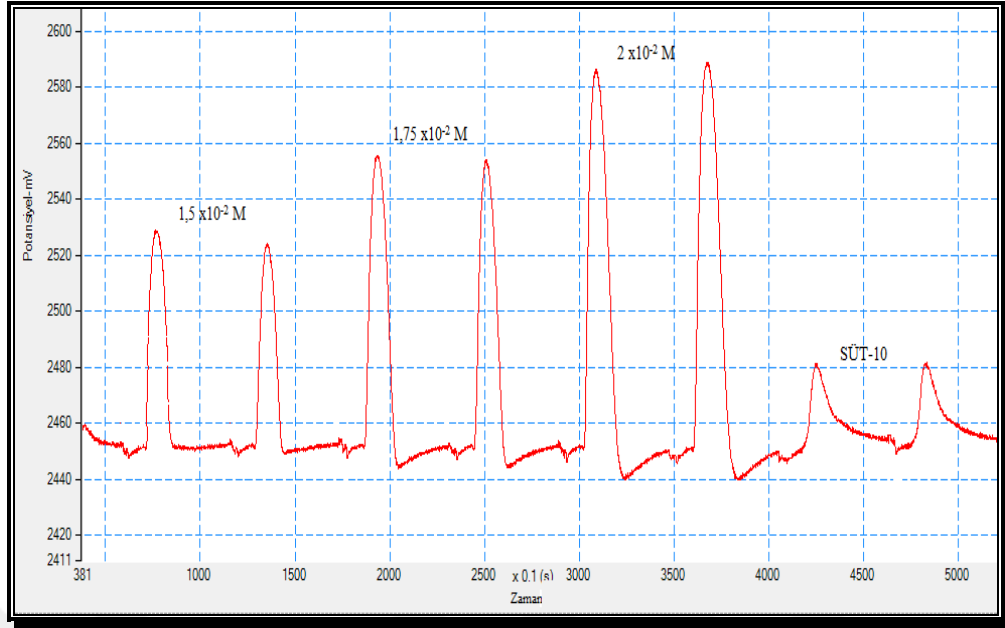
Şekil 4.56 8.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)



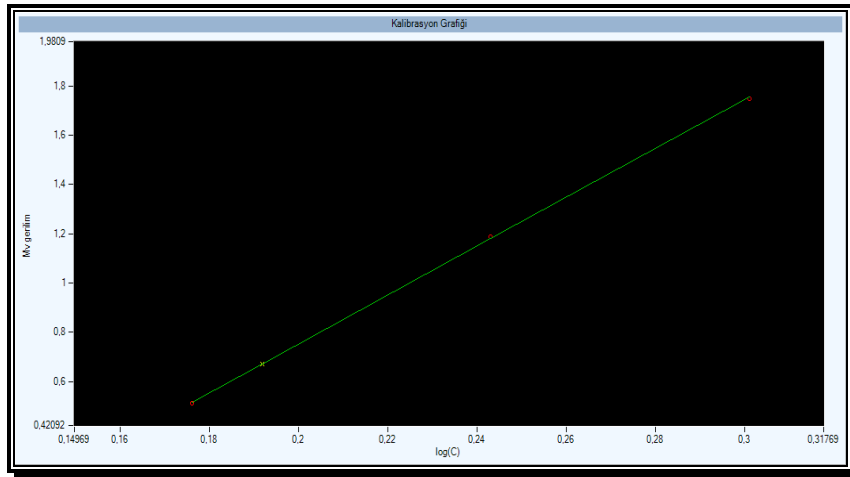
Şekil 4.57 9.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyometrik değişim grafiği



Şekil 4.58 9.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)



Şekil 4.59 10.Süt örneğinin SEA titrasyonu sırasında gösterdiği potansiyonetric değişim grafiği

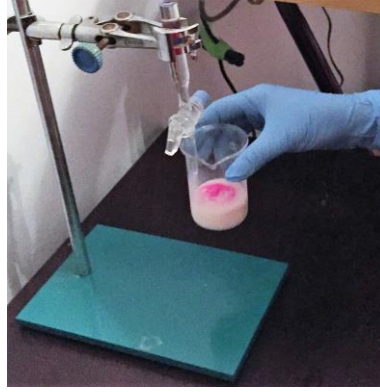


$$y = 9.483x - 1.1413$$

$$R^2 = 0.9958$$

Şekil 4.60 10.Süt örneğinin SEA titrasyonu sonrasında hesaplanan kalibrasyon grafiği (Pik Alanı (Mv)-Log C grafiği)

Aynı zamanda süt örneklerinde toplam asitlik tayini için fenolftalein indikatörü kullanılarak klasik yöntemle titrasyon yapıldı (Şekil 4.61).



Şekil 4.61 Süt örneklerinin fenolftalein kullanılarak titrasyonu

Süt örneklerinde SEA sistemi kullanılarak elde edilen titrasyon sonuçları ve fenolftalein indikatörü kullanılarak elde edilen titrasyon sonuçları dikkate alınarak elde edilen % asitlik oranları Çizelge 4.6’ da verildi.

Çizelge 4.6 Süt örneklerinin fenolftalein ile titrasyonu ve SEA sistem ile titrasyonu sonucu bulunan % asitlik oranları

Örnek	Fenolftalein ile Titrasyon (%)	SEA Sistemi ile Titrasyon (%)	Standart Sapma	Doğru Denklemi
Süt Örneği-1	0.126±0.0033	0.131±0.0080	0.0035	$y = 15.101x - 1.7011$ $R^2 = 1$
Süt Örneği-2	0.149±0.0021	0.142±0.0249	0.0050	$y = 15.465x - 1.5058$ $R^2 = 0.9197$
Süt Örneği-3	0.135±0.0016	0.136±0.084	0.0007	$y = 14.387x - 1.6026$ $R^2 = 0.9997$
Süt Örneği-4	0.144±0.0014	0.143±0.0084	0.0007	$y = 13.108x - 1.2981$ $R^2 = 0.984$
Süt Örneği-5	0.144±0.0027	0.138±0.0113	0.0042	$y = 7.4903x - 0.2842$ $R^2 = 0.9999$
Süt Örneği-6	0.135±0.0042	0.133±0.0046	0.0014	$y = 7.1713x - 0.2067$ $R^2 = 0.9978$
Süt Örneği-7	0.135±0.0012	0.136±0.0063	0.0007	$y = 8.3941x - 0.6702$ $R^2 = 0.9996$
Süt Örneği-8	0.140±0.0021	0.140±0.0068	0	$y = 8.7594x - 0.7882$ $R^2 = 0.9897$
Süt Örneği-9	0.140±0.0024	0.139±0.0086	0.0007	$y = 7.5775x - 0.6873$ $R^2 = 0.9957$
Süt Örneği-10	0.135±0.0031	0.135±0.0022	0	$y = 9.483x - 1.1413$ $R^2 = 0.9958$

SEA sistemde 10 farklı süt örneğinin toplam asitlik tayini yapıldı. Örnekler aynı zamanda fenolftalein indikatörü kullanılarak klasik yöntemle titre edildi. Sonuçlar SPSS programı yardımıyla istatistiksel olarak analiz edildi. Öncelikle fenolftalein ile titrasyon ve SEA sistem ile titrasyon sonuçlarının doğrusallığı ayrı ayrı olarak Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi.

Bununla ilgili aşağıdaki hipotezler kuruldu;

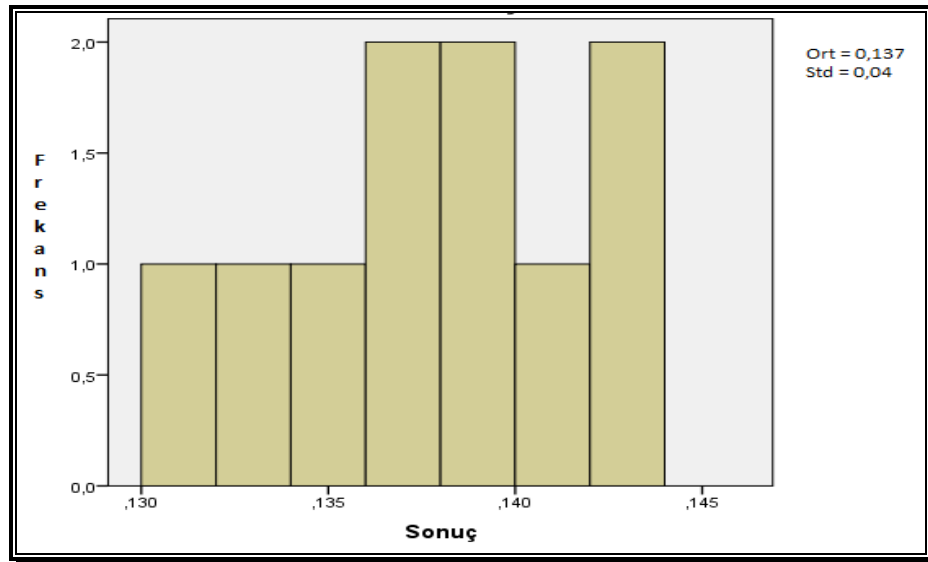
H_0 : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

H_1 : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

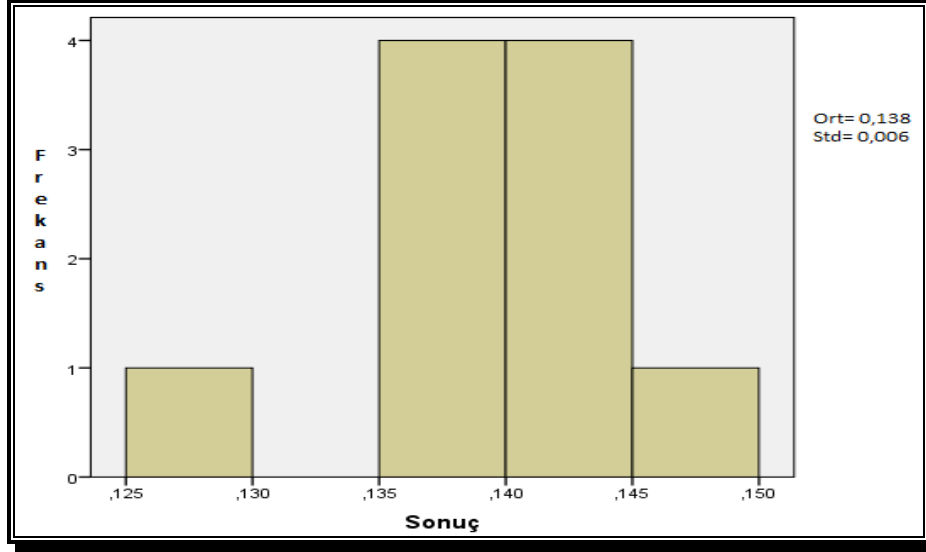
Fenolftalein ile titrasyon sonuçları Shapiro-Wilk testi için p değeri=0.550' di. Bu değer 0.05' den büyük olduğundan “%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır”. SEA sistem ile titrasyon sonuçları Shapiro-Wilk testi için p değeri= 0.953' dü. Bu değer 0.05' den büyük olduğundan “%95 güvenle veriler normal dağılmaktadır”.

Çizelge 4.7 SEA sistem ile titrasyon (SEAT) ve fenolftalein ile titrasyon (FFT) sonuçlarının normallik dağılımı

Titrasyon çeşidi		Shapiro-Wilk		
		İstatistik	df	Sig.
Sonuç	SEAT	0.978	10	0.953
	FFT	0.940	10	0.550



Şekil 4.62 SEA ile titrasyon sonuç histogramı



Şekil 4.63 Fenolftalein ile titrasyon sonuç histogramı

İki veri grubunun da normal dağıldığı görüldüğünden verilerin karşılaştırılması için parametrik testlerden biri olan bağımsız örneklem t-testi uygulandı. Diğer taraftan grupların varyanslarının homojen dağılıp dağılmadığı da incelendi.

Bununla ilgili aşağıdaki hipotezler kuruldu;

H₀: %95 güvenle grupların varyansları homojendir.

H₁: %95 güvenle grupların varyansları homojen değildir.

Bağımsız örneklem t-testi ile iki grubun ortalamaları karşılaştırıldı.

Bağımsız örneklem t-testi için hipotezler;

H₀: %95 güvenle iki grubun ortalamaları birbirine benzerdir ($M_0 = M_1$).

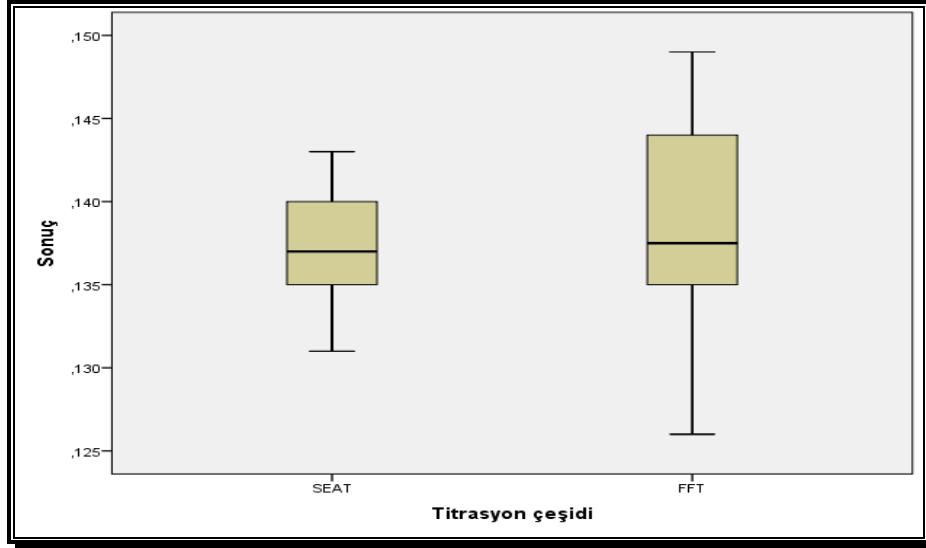
H₁: %95 güvenle iki grubun ortalamaları birbirine benzer değildir ($M_0 < > M_1$).

Levene testi iki yada daha fazla grubun varyanslarının homojenliğini test eder. Sig=0.146 olduğu için H₀ kabul edilir. Yani %95 güvenle grupların varyansları homojendir.

Çizelge 4.8 Levene testi ve t testi sonuçları

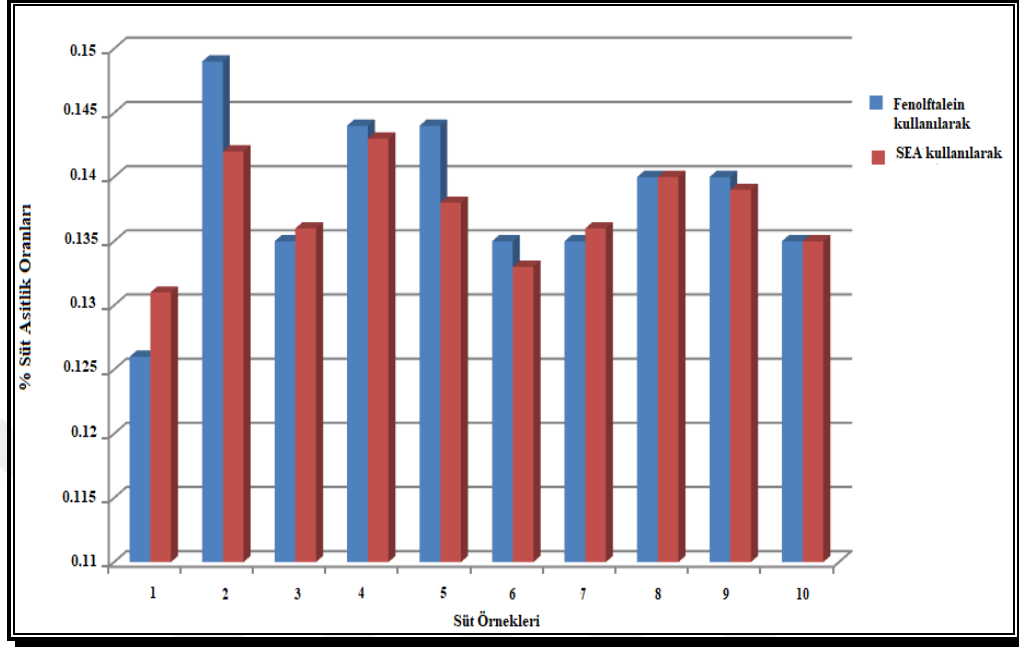
		Levene' s Testi		t - Testi						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Fark	Std.	%95 Güven Aralığı Farkı	
									Lower	Upper
Sonuç	Varyansların Homojenliği	2.308	0.146	-0.419	18	0.680	-.00100	.002386	-.006012	.004012
	Varyansların heterojenliği			-0.419	14.582	0.681	-.00100	.002386	-.006098	.004098

Varyanslar homojen olduğu için t-testine karar verirken birinci satırdaki değerler dikkate alındı. Görüldüğü gibi t-testinin "Sig.(2-tailed)" değeri $0.680 > 0.05$ olduğu için H_0 hipotezi kabul edildi [110]. Yani %95 güvenle iki farklı titrasyon yönteminin sonuçlarının ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur.



Şekil 4.64 SEA ile titrasyon (SEAT) ve fenolftalein ile titrasyon (FFT) sonuçlarının Box and Whiskers grafiği ile karşılaştırılması

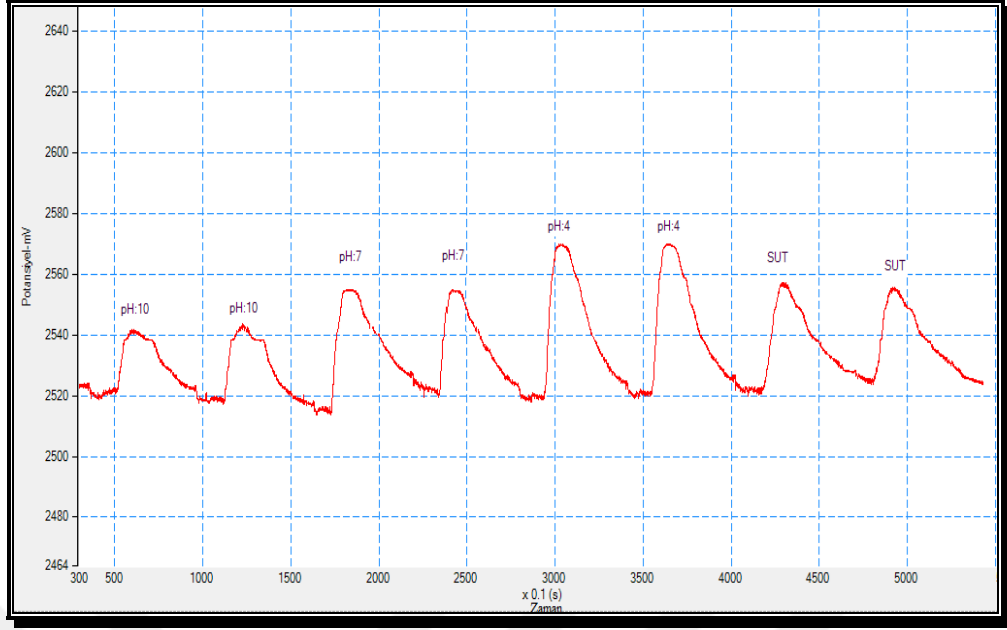
10 farklı süt örneğinin, SEA sistemi ve fenolftalein indikatörü kullanılarak yapılan titrasyonlardan hesaplanan % asitlik miktarlarının grafiksel olarak gösterimi Şekil 4.65’ de verildi.



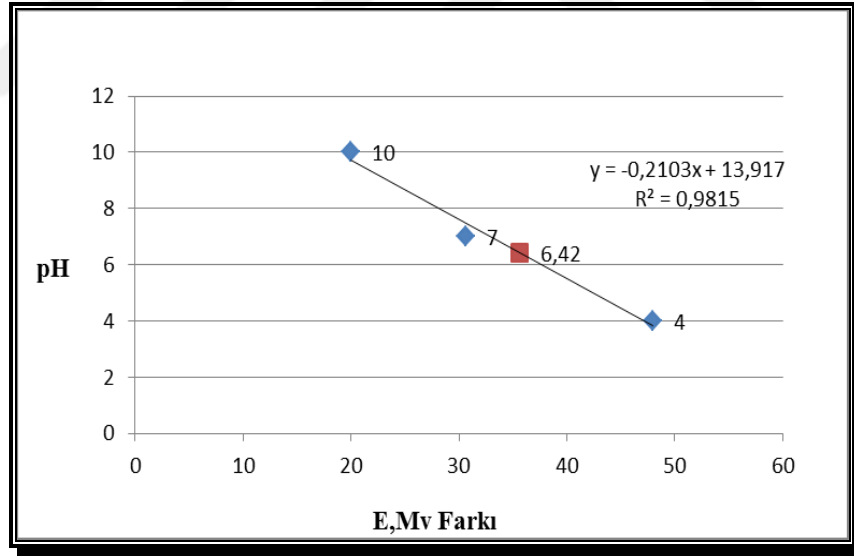
Şekil 4.65 Süt örneklerinin SEA ile titrasyon ve fenolftalein ile titrasyonu sonuçlarının şematik gösterimi

4.6.2 SEA Sistem Kullanılarak Sütte pH Tayini

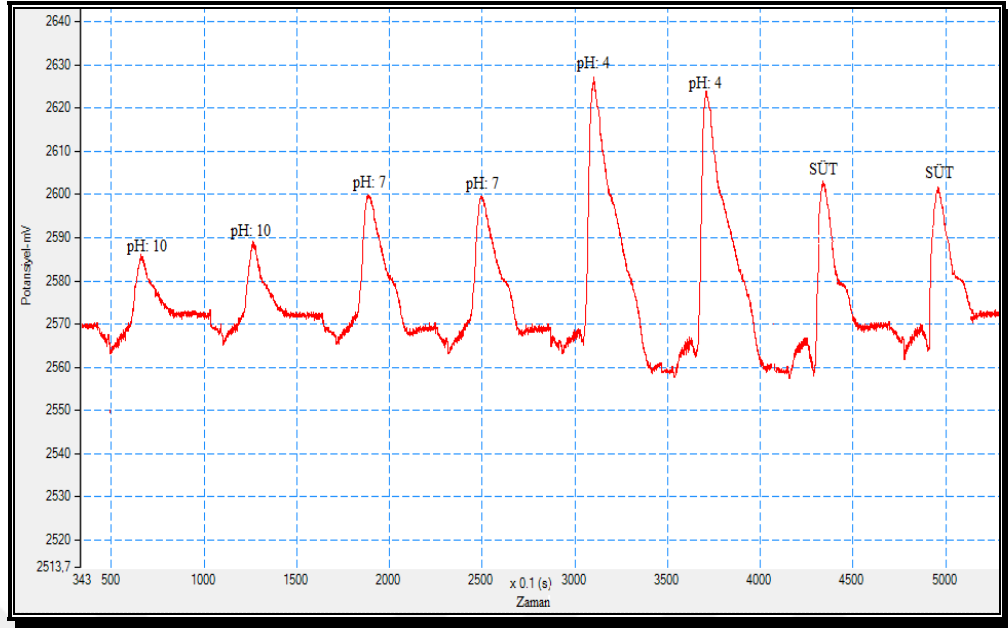
SEA sistemi hazırlanıp gerekli optimizasyonların yapılmasının ardından 10 farklı süt örneği akış sistemi içerisinde standart 4-7-10 pH tamponlar kullanılmak sureti ile analiz edildi (Şekil 4.66 - Şekil 4.84). Elde edilen pik yüksekliklerinden yola çıkılarak her bir süt örneği için pH değerleri hesaplandı (Şekil 4.67- Şekil 4.85).



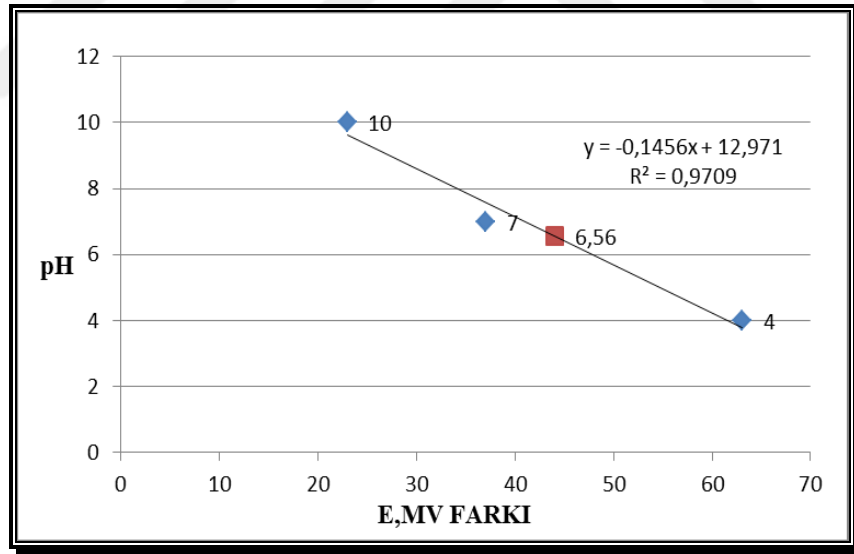
Şekil 4.66 1.Süt örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



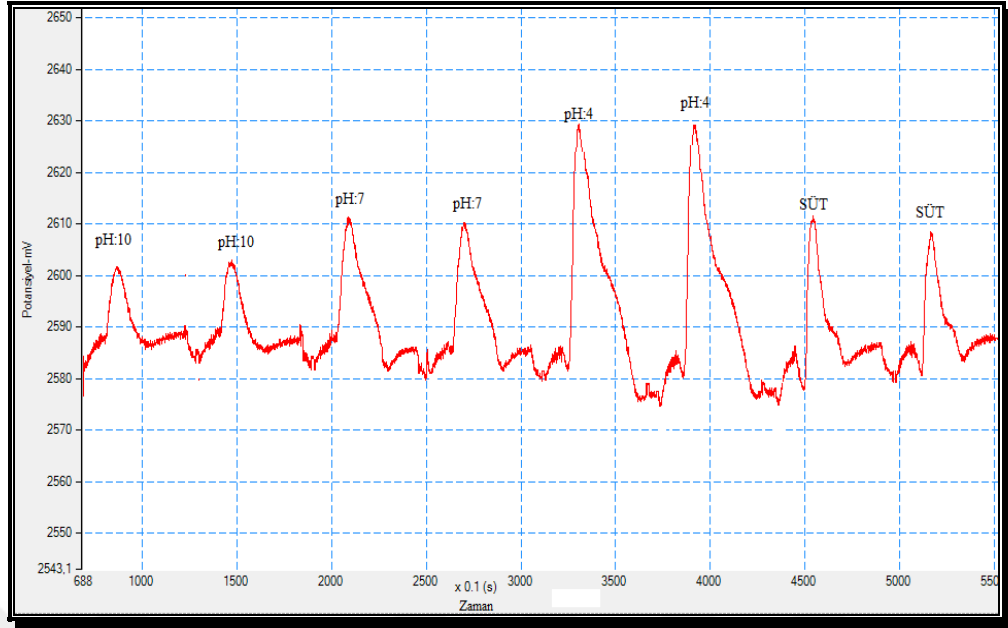
Şekil 4.67 1.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



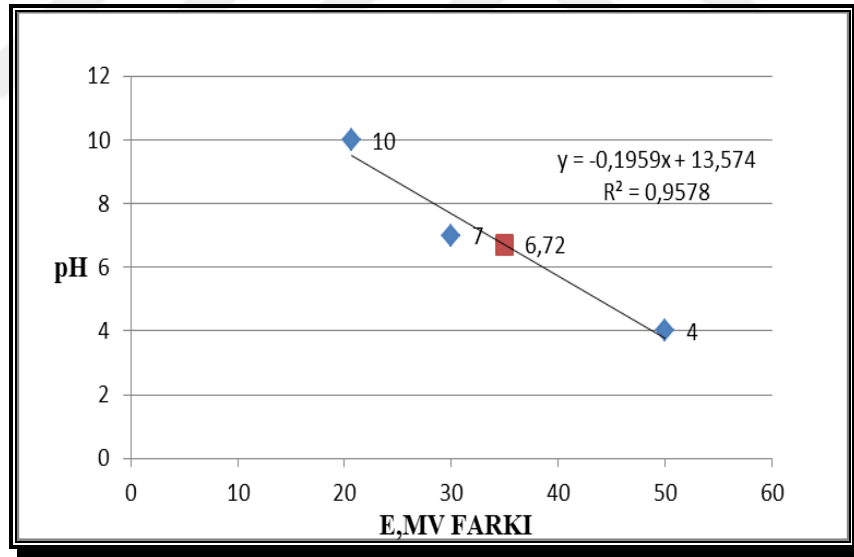
Şekil 4.68 2.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



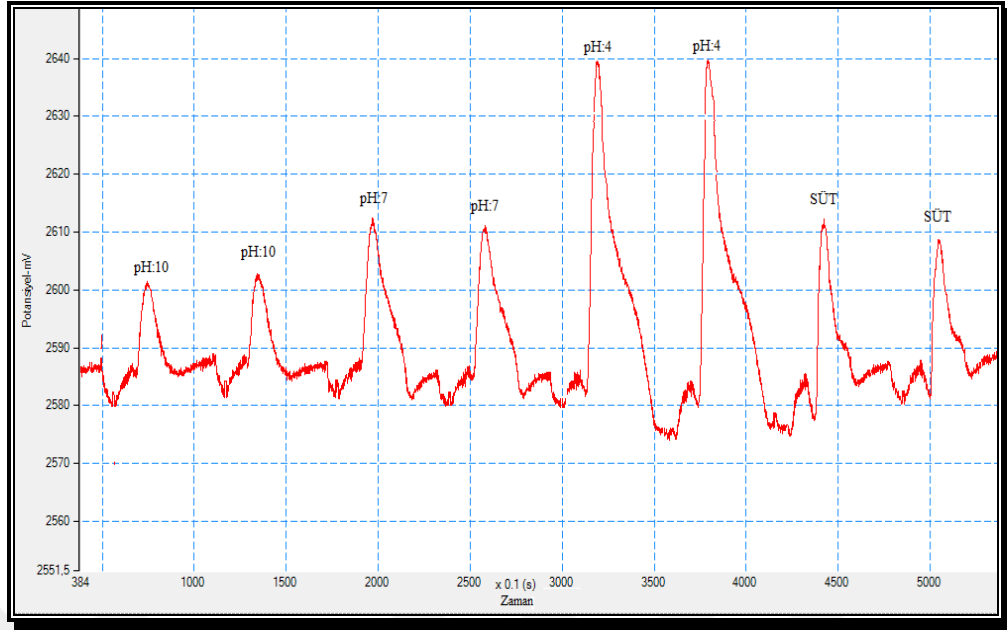
Şekil 4.69 2.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



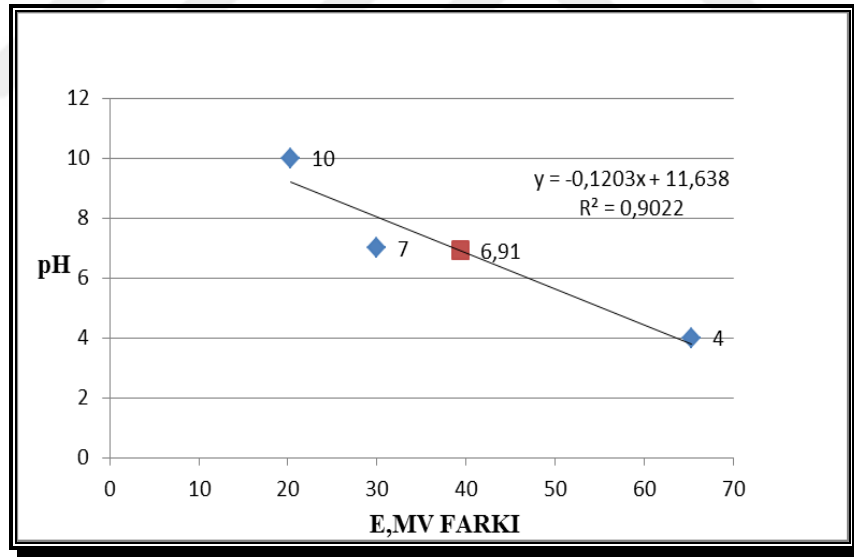
Şekil 4.70 3.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



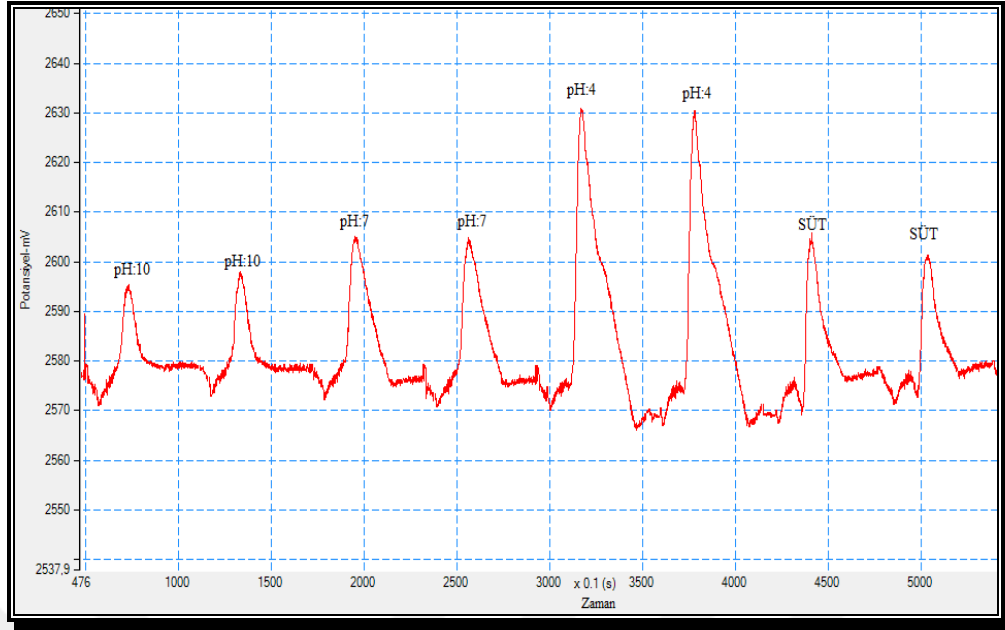
Şekil 4.71 3.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



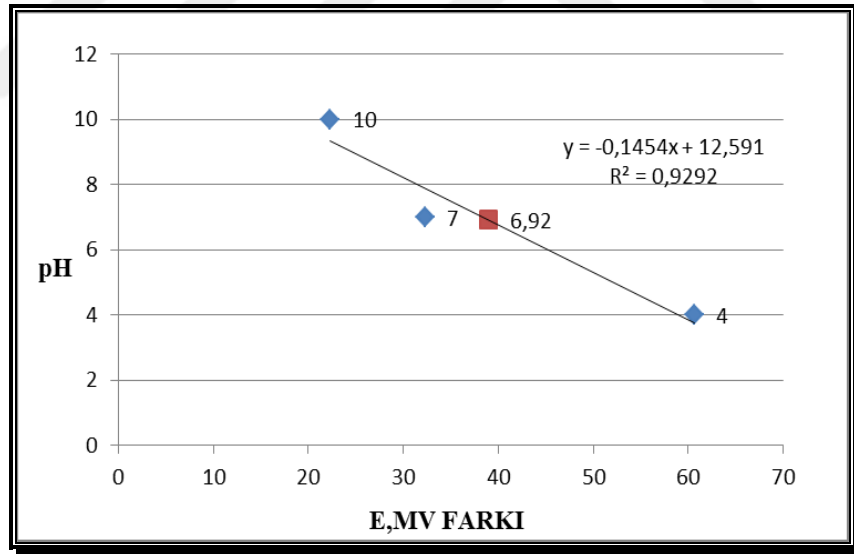
Şekil 4.72 4.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



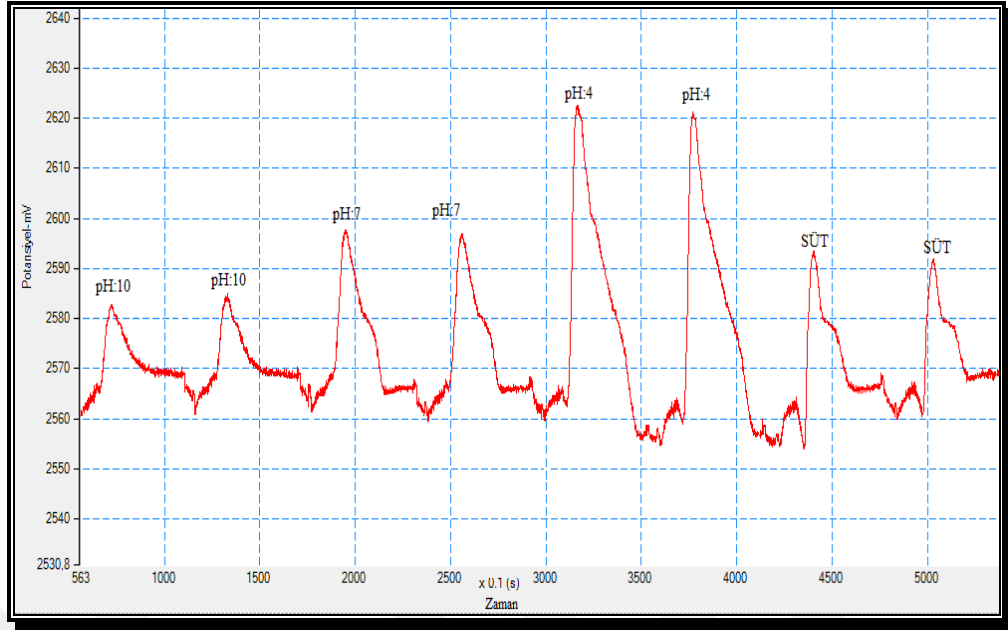
Şekil 4.73 4.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



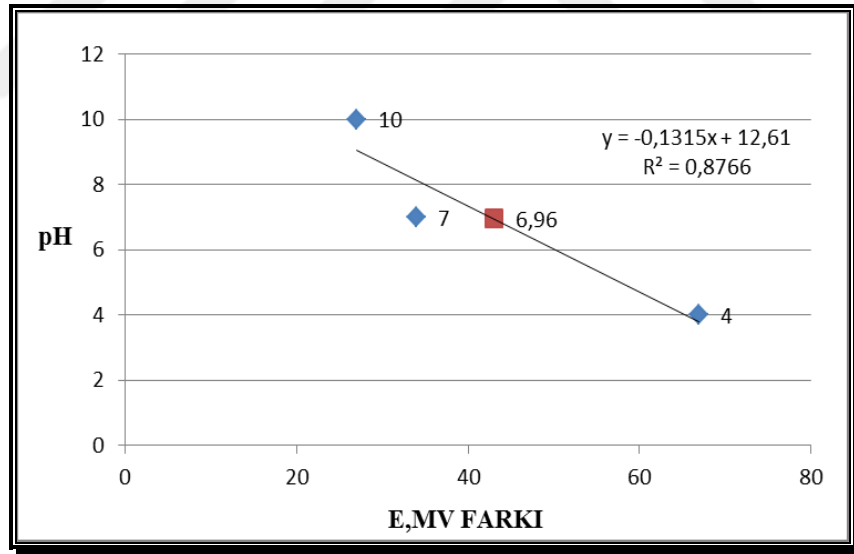
Şekil 4.74 5.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



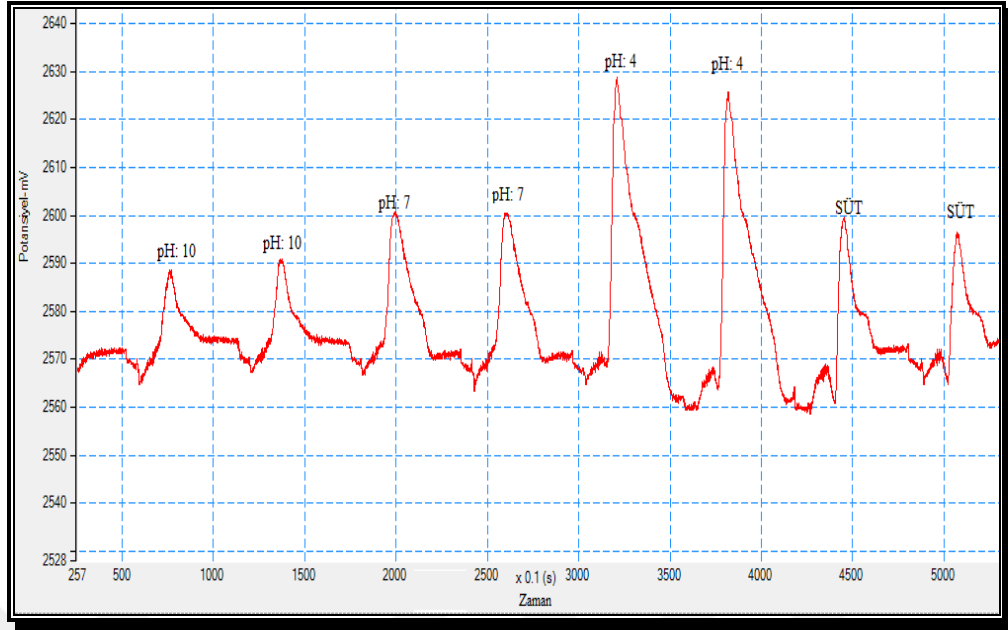
Şekil 4.75 5.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



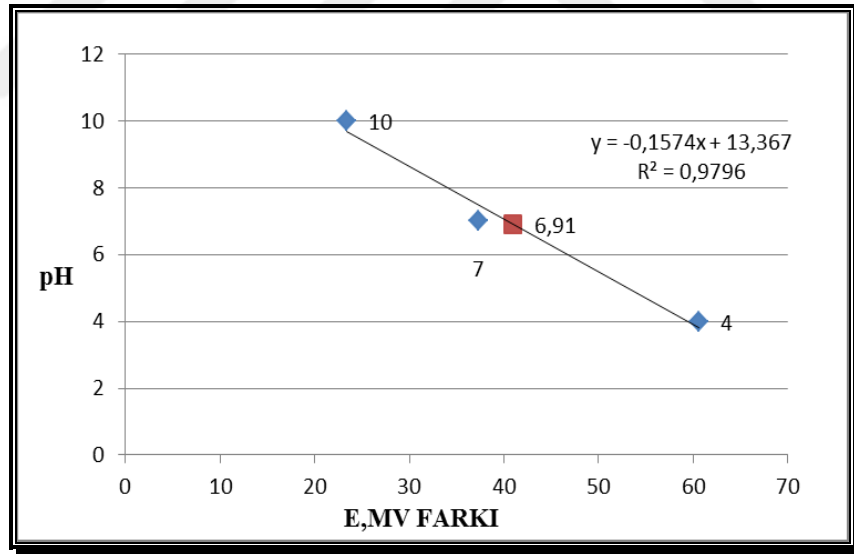
Şekil 4.76 6.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



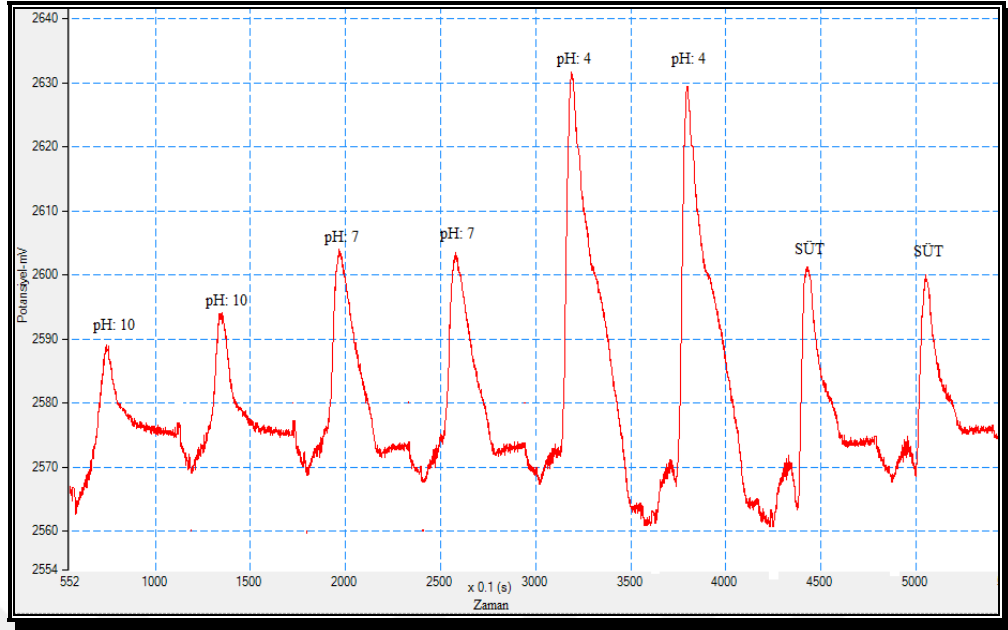
Şekil 4.77 6.Süt örneğinin SEA sistemi ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



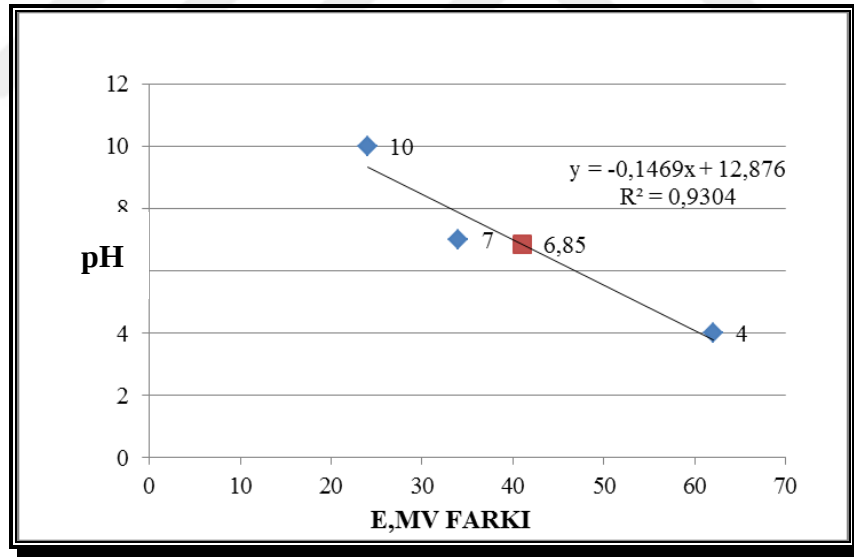
Şekil 4.78 7.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



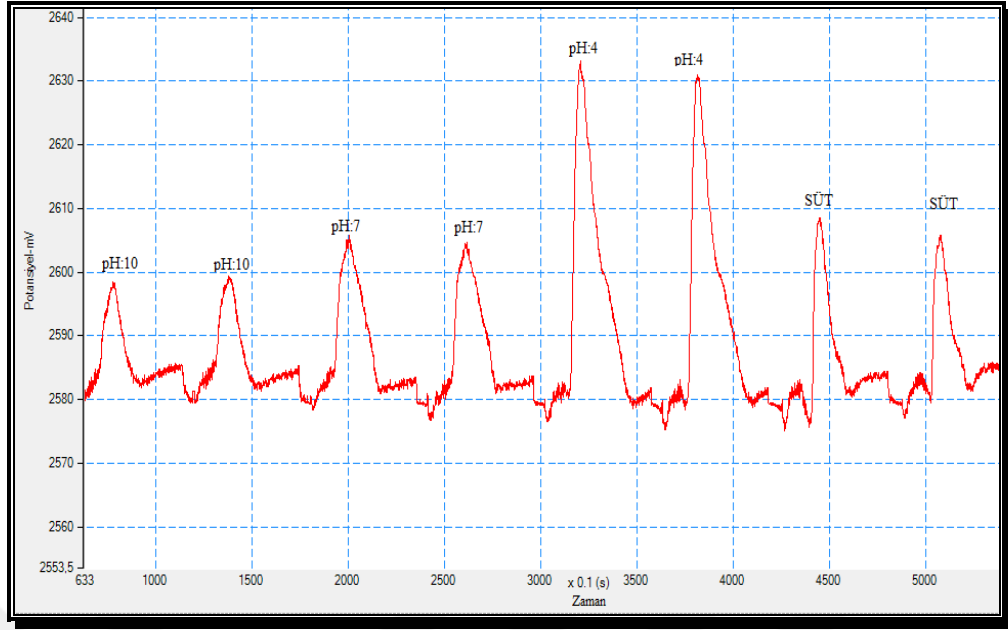
Şekil 4.79 7.Süt örneğinin SEA sistem ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



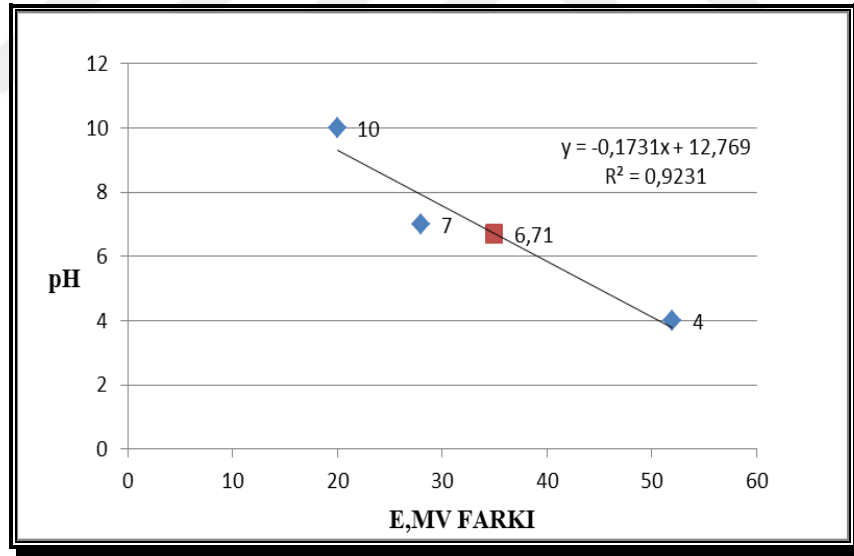
Şekil 4.80 8.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



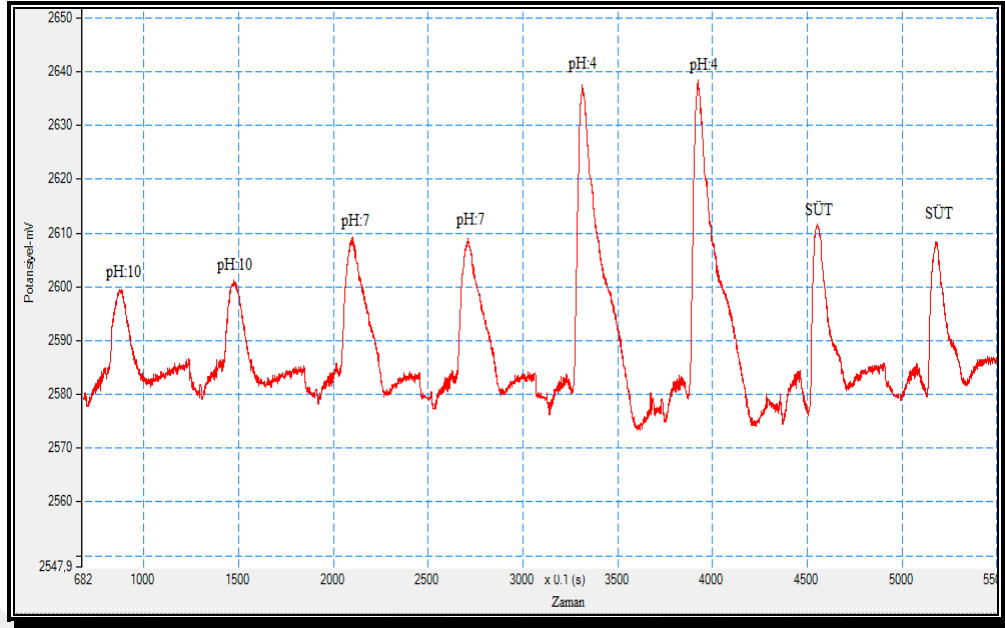
Şekil 4.81 8.Süt örneğinin SEA sistem ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



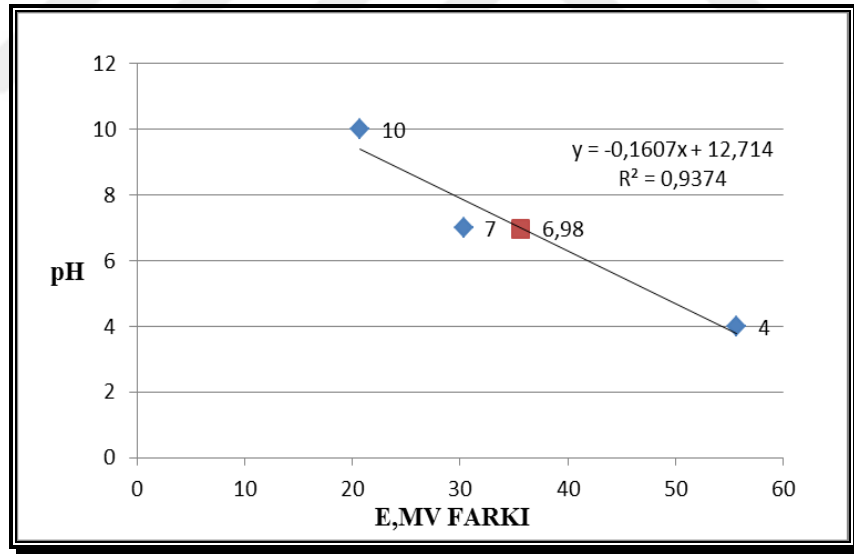
Şekil 4.82 9.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



Şekil 4.83 9.Süt örneğinin SEA sistem ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi



Şekil 4.84 10.Süt Örneği için SEA sisteminde pH ölçüm diyagramı



Şekil 4.85 10.Süt örneğinin SEA sistem ile bulunan pH değerinin grafiksel gösterimi

Aynı süt örneklerinin pH değerleri cam elektrot ile de ölçüldü. SEA sistemin kullanılarak ölçülen pH değerleri ile cam elektrot ile bulunan pH değerleri Çizelge 4.9’ da özetlendi.

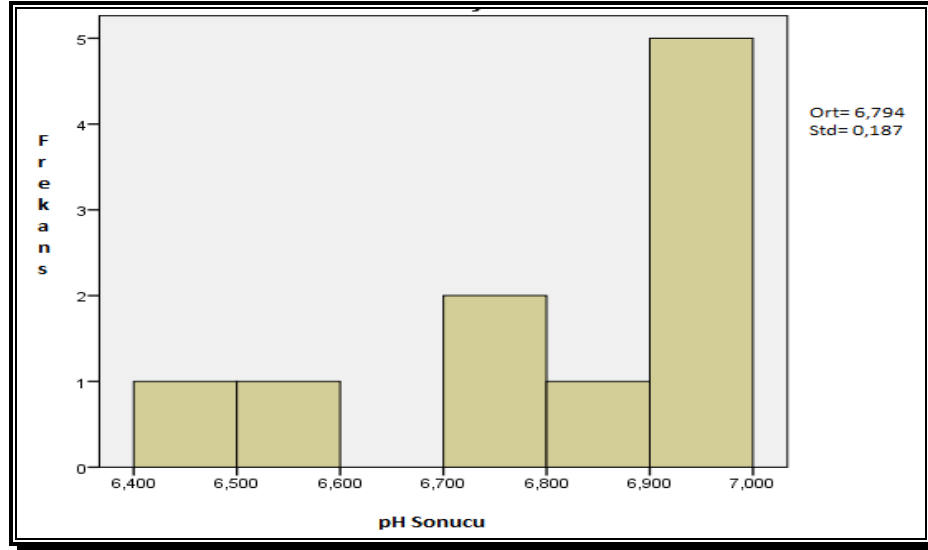
Çizelge 4.9 Süt örneklerinde SEA sistem kullanılarak elde edilen pH değerler ile cam elektrot kullanılarak elde edilen pH değerleri

Örnek	SEA Sistem pH	Cam Elektrot pH	Standart Sapma	Doğru Denklemi
Süt Örneği-1	6.42 ± 0.0804	6.53	0.0778	$y = -0.2103x + 13.917$ $R^2 = 0.9815$
Süt Örneği-2	6.56 ± 0.0495	6.49	0.0495	$y = -0.1456x + 12.971$ $R^2 = 0.9709$
Süt Örneği-3	6.72 ± 0.0796	6.83	0.0778	$y = -0.1959x + 13.574$ $R^2 = 0.9578$
Süt Örneği-4	6.91 ± 0.0256	6.87	0.0283	$y = -0.1203x + 11.638$ $R^2 = 0.9022$
Süt Örneği-5	6.92 ± 0.0286	6.88	0.0283	$y = -0.1454x + 12.591$ $R^2 = 0.9292$
Süt Örneği-6	6.96 ± 0.0707	6.86	0.0707	$y = -0.1315x + 12.61$ $R^2 = 0.8766$
Süt Örneği-7	6.91 ± 0.0167	6.89	0.0141	$y = -0.1574x + 13.367$ $R^2 = 0.9796$
Süt Örneği-8	6.85 ± 0.0849	6.73	0.0849	$y = -0.1469x + 12.876$ $R^2 = 0.9304$
Süt Örneği-9	6.71 ± 0.0778	6.82	0.0778	$y = -0.1731x + 12.769$ $R^2 = 0.9231$
Süt Örneği-10	6.98 ± 0.06531	6.89	0.0636	$y = -0.1607x + 12.714$ $R^2 = 0.9374$

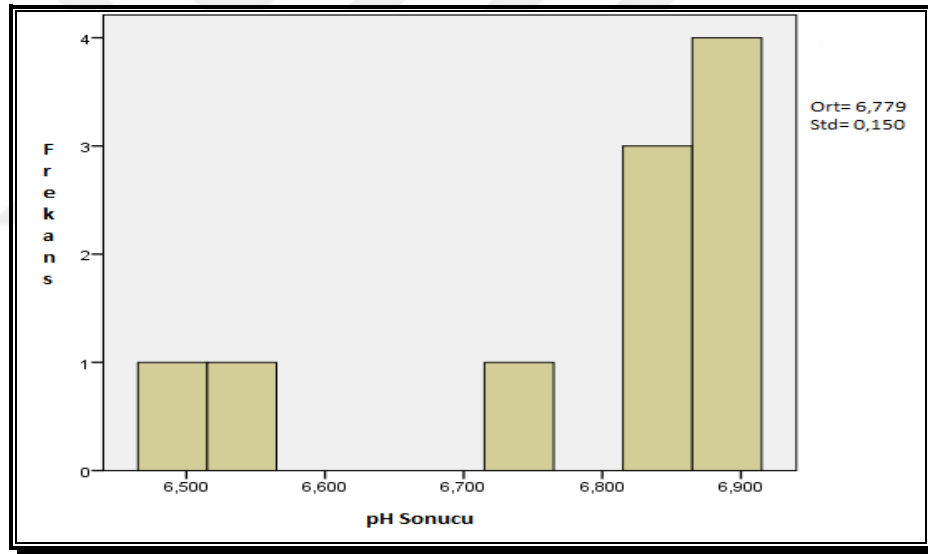
Çizelge 4.9’ da yer alan sonuçların istatistiksel analizi SPSS programı yardımıyla yapıldı. SEA sistemde pH ölçüm sonuçları ile cam elektrot ile bulunan pH ölçüm sonuçlarının normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Buna göre normal dağılım testi sonuçları Çizelge 4.10’ da gösterildi.

Çizelge 4.10 Shapiro-Wilk testi ile SEA yöntemi ile pH analizi ve cam elektrot ile pH analizi sonuçlarının normal dağılım testi

pH Ölçüm Yöntemi		Shapiro-Wilk		
		İstatistik	df	Sig.
Sonuç	SEA Yöntemi	0.870	10	0.099
	Cam Elektrot	0.743	10	0.003



Şekil 4.86 SEA sistem ile yapılan pH ölçüm sonuçlarının normal dağılımı



Şekil 4.87 Cam elektrot ile yapılan pH ölçüm sonuçlarının normal dağılımı

Bunun için aşağıdaki hipotezler öne sürüldü;

H_0 : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

H_1 : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

SEA için p value $0.099 > 0.05$ olduğu için H_0 kabul edildi. Yani; %95 güvenle veriler normal dağılmaktadır. Cam elektrot için p value $0.003 < 0.05$ olduğundan H_0 red edildi. Yani; %95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır (Şekil 4.86 ve Şekil 4.87). Burada ikinci veri seti normal dağılmıyor olması, birinci veri setinin ise normal dağılıyor olsa

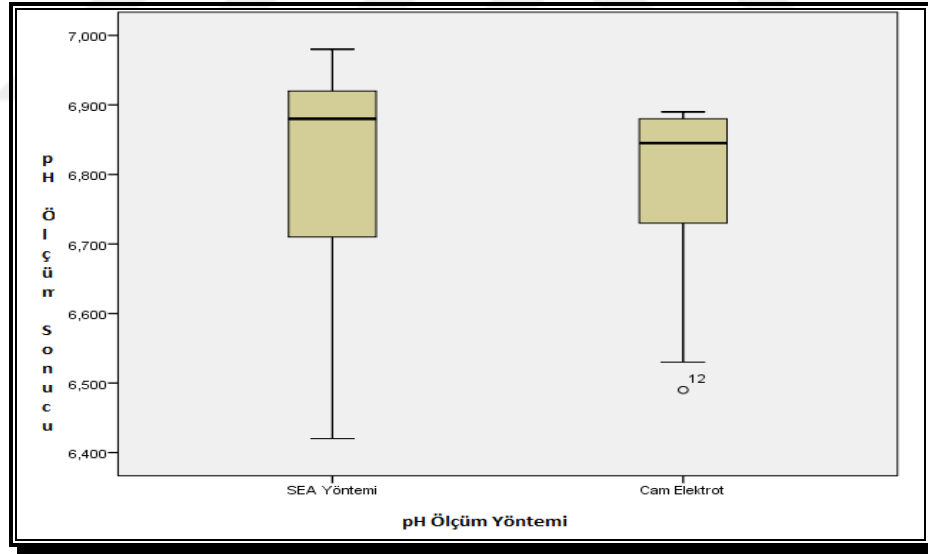
bile veri örneklem büyüklüğünün 30'dan az olması sebebi ile bağımsız t-testinin non-parametrik karşılığı olan Mann-Whitney U-Testi uygulanarak karşılaştırma yapıldı. Bu test iki bağımsız grup için elde edilen puanların birbirinden anlamlı bir şekilde farklılık gösterip göstermediğini test etmek için uygulanır. Mann Whitney U-Testi grupların ortanca (medyan) değerlerini karşılaştırır. Sürekli değişkenlerin, iki grup içerisinde değerlerini sıralı hale dönüştürür. Böylece iki grup arasındaki sıralamanın farklı olup olmadığını değerlendirilir [110].

Bunun için aşağıdaki hipotezler öne sürüldü;

H_0 : İki titrasyon yöntemi sonuçlarının dağılımı birbirine eşittir

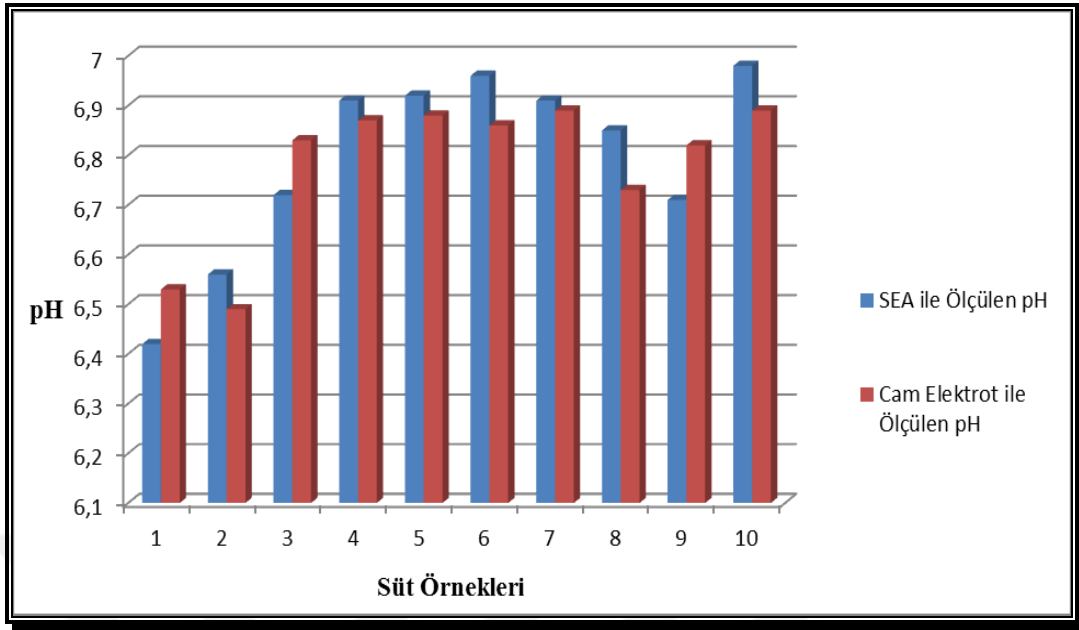
H_1 : İki titrasyon yöntemi sonuçlarının dağılımı birbirine eşit değildir.

Test sonucunda p değeri 0.436 olarak bulundu. P değeri $0.436 > 0.05$ olduğundan H_0 kabul edilir. Yani iki yöntemin sonuçları eşit dağılmaktadır. İki yöntemin sonuçları arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Şekil 4.88).



Şekil 4.88 SEA ile pH tayini sonuçlarının cam elektrot ile pH tayini sonuçları ile Box and Whiskers grafiği ile karşılaştırılması

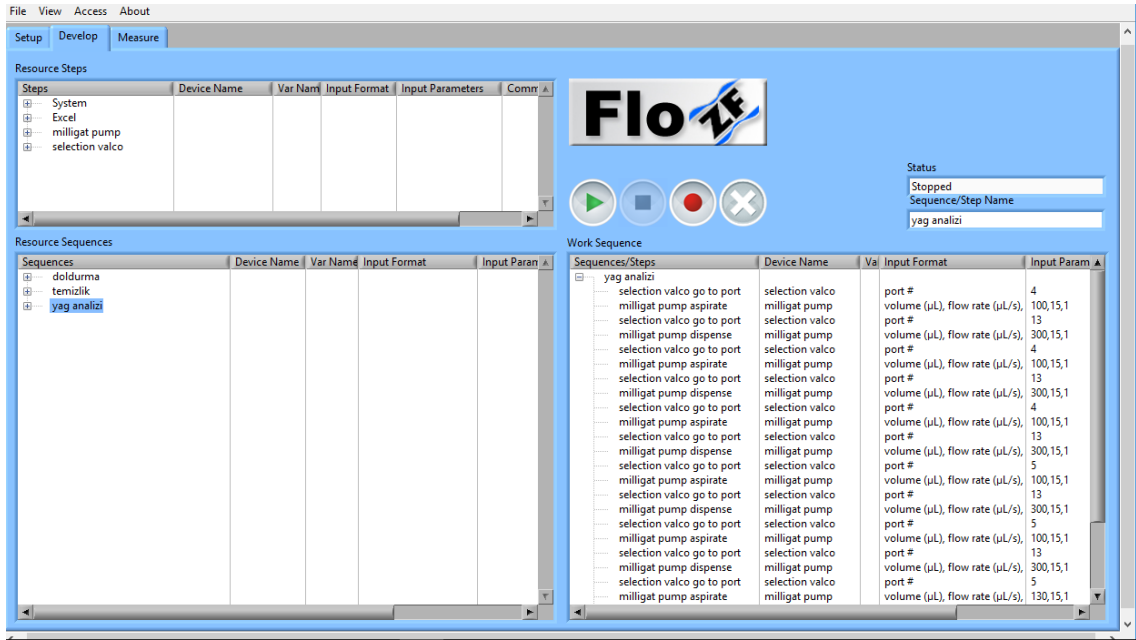
10 farklı süt örneğinin SEA sistemi kullanılarak yapılan pH sonuçlarının ve cam elektrot kullanılarak elde edilen pH sonuçlarının grafiksel olarak gösterimi Şekil 4.89' da özetlendi.



Şekil 4.89 Süt örneklerinde SEA sistem ile ölçülen pH değeri ve cam elektrot ile ölçülen pH değerlerinin şematik gösterimi

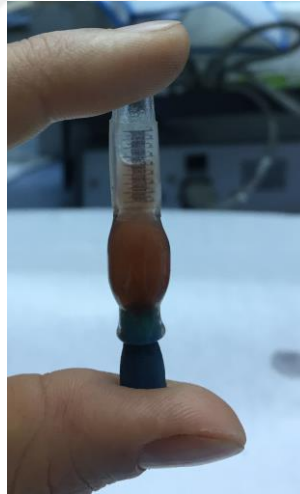
4.6.3 SEA Sistem Kullanılarak Sütte Yağ Tayini

SEA sistem kullanılarak sütte yağ tayini yapmak amacıyla Funke Gerber süt bütirometresinden %97 oranında küçük hacimle tasarlanan mini süt bütirometresi SEA sisteme entegre edildi. Mini bütirometreye sırayla 300 μ L sülfürik asit, 330 μ L süt örneği, 30 μ L amil alkol eklendi. SEA sistem ile yağ analizinde taşıyıcı kullanılmadı. Sistem tamamen boş iken 3. kanal amil alkol, 4. kanal sülfürik ve 5. kanal süt ile dolduruldu. Flozf programı reaktanların hat boyunca karışmasını önleyecek şekilde programlandı (Şekil 4.90). Sistem aspirate modunda çektiği reaktanı ana hatta yolladığı ve ana hattın hacmi, taşıyıcı çeken boru ile birlikte 192.33 μ L olduğu için reaktanlar sülfürik asit ve süt miktarı 3'e bölünerek bütirometreye gönderildi. Sülfürik asit çekimi bittiğinde sistemin tamamen boş olup süt ile karşılaşmayacağından emin olduğunda sistemin süt örneğini çekmesi sağlandı.



Şekil 4.90 SEA sütte yağ analizi için hazırlanmış olan Flozf programı

Son olarak, mini bütürometre 10 dakika 1100 devirde santrifüj edilip süt yağı hesaplandı (Şekil 4.91). İşlem 3 kez tekrarlandı.



Şekil 4.91 Tasarlanan mini bütürometre ile süt yağı tayini

Her bir süt örneği Gerber yöntemi ile 3' er kez analiz edildi (Şekil 4.92). Analiz sonucunda elde edilen tüm veriler Çizelge 4.11' de özetlendi.



Şekil 4.92 Gerber yöntemi ile süt yağı tayini

Çizelge 4.11 Süt örneklerinde SEA sistem ile elde edilen yağ miktarları ile Gerber yöntemi ile elde edilen yağ miktarları

Örnek	Gerber Yöntemi (%Yağ)	SEA Sistem (%Yağ)
Süt Örneği-1	2.6±0.016	2.9±0.068
Süt Örneği-2	3.8±0.008	3.7±0.092
Süt Örneği-3	3.7±0.009	3.6±0.014
Süt Örneği-4	3.5±0.007	3.7±0.045
Süt Örneği-5	3.6±0.012	3.7±0.029
Süt Örneği-6	3.8±0.006	3.8±0.052
Süt Örneği-7	3.8±0.005	3.9±0.063
Süt Örneği-8	3.7±0.032	3.9±0.058
Süt Örneği-9	2.3±0.027	2.1±0.023
Süt Örneği-10	3.6±0.025	3.5±0.049

SEA sistemde 10 farklı süt örneğinin yağ oranı tayini yapıldı. Örneklerin yağ oranı aynı zamanda Gerber yöntemi ile de kontrol edildi. Sonuçlar SPSS programı yardımıyla istatistiksel olarak analiz edildi (Çizelge 4.12). Öncelikle mini bütirometre ile elde

edilen sonuçlar ve Gerber yöntemi ile elde edilen sonuçların doğrusallığı ayrı ayrı olarak Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi.

Çizelge 4.12 Shapiro-Wilk testi ile SEA sistemi ve Gerber yöntemi ile yağ analizi sonuçlarının normal dağılım testi

Yağ Tayini		Shapiro-Wilk			
		İstatistik	İstatistik	df	Sig.
Sonuç	Gerber Yağ Tayini	0,345	0,691	10	,001
	SEA Yağ Tayini	0,314	0,724	10	,002

Gerber yöntemi ile yağ tayini sonuçları için hipotezler;

H_0 : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

H_1 : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

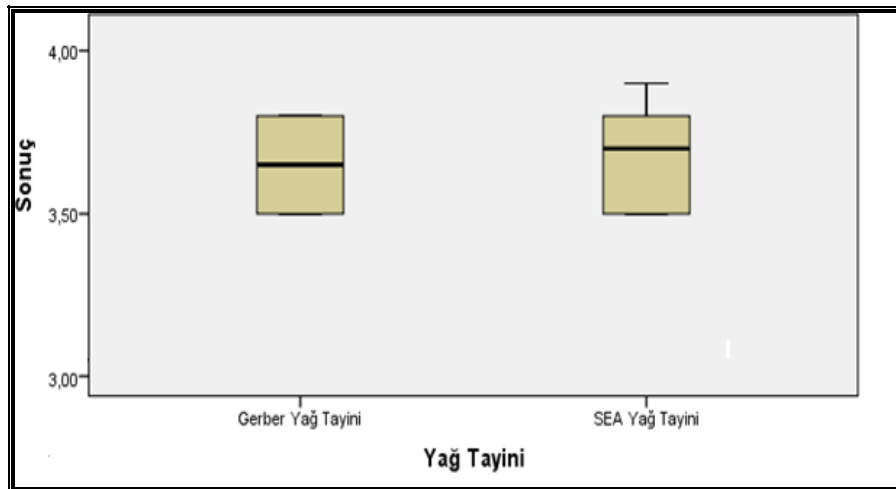
Shapiro-Wilk testi için p değeri=0.001 olduğundan ve veri 0.05' den küçük olduğundan “%95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır”.

SEA sistem ile yağ tayini analiz sonuçları için hipotezler;

H_0 : %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

H_1 : %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

Shapiro-Wilk testi için p değeri=0.002 olduğundan ve veri 0.05' den küçük olduğundan “%95 güvenle veriler normal dağılmamaktadır”.



Şekil 4.93 SEA sistem ve Gerber yöntemi ile yağ analizi sonuçlarının Box and Whiskers grafiği ile karşılaştırılması

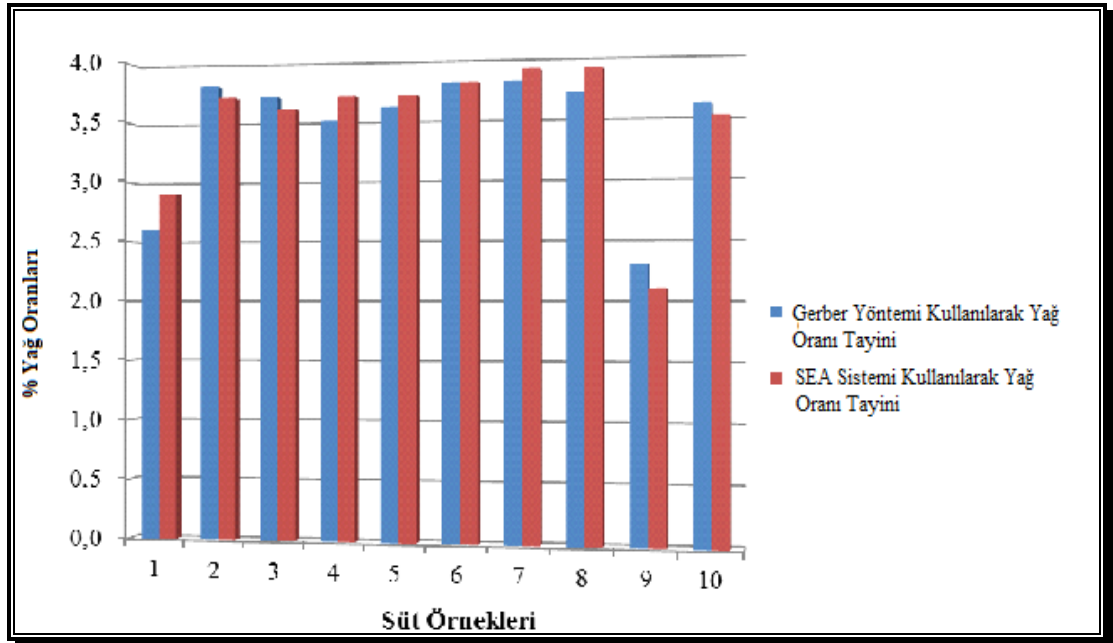
Burada her iki veri setinin normal dağılmıyor olması sebebi ile bağımsız t-testinin non-parametrik karşılığı olan Mann-Whitney U-testi uygulanarak karşılaştırma yapıldı. Bu test iki bağımsız grup için elde edilen verilerin birbirinden anlamlı bir şekilde farklılık gösterip göstermediğinin test edilmesi amacıyla uygulanır. Mann Whitney U-testi, grupların ortanca (medyan) değerlerini karşılaştırır. Sürekli değişkenlerin, iki grup içerisinde değerlerini sıralı hale dönüştürür. Böylece iki grup arasındaki sıralamanın farklı olup olmadığını değerlendirir [110].

H_0 : İki yağ tayini yöntemi sonuçlarının dağılımları arasında fark yoktur.

H_1 : İki yağ tayini yöntemi sonuçlarının dağılımları arasında fark vardır.

Mann Whitney U-testi ile P değeri 0.739 olarak hesaplanmıştır. $0.739 > 0.05$ olduğundan H_0 kabul edilir. Yani iki yöntemin sonuçları eşit dağılmaktadır. İki yöntemin sonuçlarının dağılımı arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Şekil 4.93).

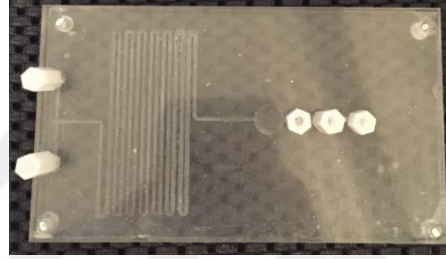
10 farklı süt örneğinin Gerber yöntemi kullanılarak elde edilen % yağ oranları ile SEA sistem kullanılarak elde edilen % yağ oranlarının grafiksel olarak gösterimi Şekil 4.94' de özetlendi.



Şekil 4.94 Gerber yöntemi ve SEA sistem ile yağ analizi sonuçlarının şematik gösterimi

4.7 pH, Toplam Asitlik ve Yağ Tayini İçin Lab-on-çip Tasarımı

Sütte pH ve toplam asitlik tayinlerinin otomotize edilmesi pratikte yaygın bir şekilde kullanılması için önemlidir. Bu amaçla, pH ve toplam asitlik parametrelerinin ölçümünü sağlayan bir kullan-temizle kullan lab-on-çip geliştirilmesi sağlandı. pH ve toplam asitlik tayini için 6-11 cm ebatlarında, üzerinde 1 mm boyutlarında oyuklar bulunan fiberglass bir lab-on-çip tasarlandı (Şekil 4.95). Lab-on-çip üzerinde; pH sensör ve referans elektrotların bağlanacağı iki farklı bağlantı noktası bulunmaktadır. Ayrıca taşıyıcı fazın ve örneğin ekleneceği iki farklı giriş noktası ile tüm reaktanların atılacağı bir çıkış noktası bulunmaktadır.



Şekil 4.95 pH ve toplam asitlik analizleri için tasarlanmış olan lab-on-çip

Sütte yağ analizinin yerinde yapılması amacıyla fiberglass malzemeden 25 ve 15 μL hacimlerde iki boşluk ve bunu bağlayan 2.5 cm bağlantı hattından oluşan kullan-temizle-kullan bir lab-on-çip tasarlandı. (Şekil 4.96).



Şekil 4.96 Sütte yağ analizinin yerinde yapılabilmesi için tasarlanan lab-on-çip

Lab-on-ip üzerine reaktanların ekleneceği iki giriş noktası eklendi. Reaktantlar eklendikten sonra otomatik olarak santrifüjleme yapan ve okumaya izin veren bu sistemlerle ilgili çalışmalar doktora sonrası araştırma konusu olarak ngrld.



SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada; bileşim, oranları ve prosesleri birbirinden farklı üç tane pH elektrot tasarlandı. Bunlar quinhidron ve trimetilhidrokinon temelli olup grafit katkılı elektrotlardır. Yapılan elektrotların potansiyometrik performans özellikleri olan pH değişimlerine karşı potansiyometrik davranışı, tekrarlanabilirliği, cevap zamanı parametreleri durgun ortamda bilgisayar kontrollü potansiyometrik sistem ile test edildi. Potansiyometrik özellikleri en iyi olduğu düşünülen elektrotun çalışma ömrü SEA akış sisteminde incelendi. Tüm elektrotlar pH 2-12 aralığında doğrusal çalışmakta ve birbirlerine benzer sonuçlar göstermekteydi. Elektrotların pH 2-12 aralığında potansiyometrik doğru denklemleri sırasıyla $y = -51.773x + 1479.2$ ($R^2 = 0.9944$), $y = -51.7818x + 1331.4$ ($R^2 = 0.9796$), $y = -52.545x + 1299.9$ ($R^2 = 0.9966$) şeklindeydi. Şekil 4.5' den gözlenebileceği gibi, trimetilhidrokinon kullanılarak hazırlanan pH elektrot (karışım-3) pH 2-12 aralığında Nernst davranışı sergilemekteydi. Tüm elektrotların pH 2-12 aralığında gösterdikleri potansiyometrik davranışları ve eğim değerleri birbirine yakın olsa da elektrotun duyarlılığının bir ölçüsü olan eğim değeri (bir birimlik pH değişimi için mV farkı) trimetilhidrokinon temelli olan karışım-3 ile hazırlanmış olan elektrotta daha yüksektir. Karışım-3 ile hazırlanmış olan elektrotun pH değişimlerine karşı hazırlanan diğer elektrotlara kıyasla daha duyarlı olduğunu göstermekteydi. Karışım-3 ile hazırlanmış olan elektrotun ortalama cevap zamanı (t_{95}) 20 s' den daha azdır. Bu durum trimetilhidrokinon kullanılarak hazırlanan pH elektrot yüzeyi ile çözelti arasında oluşan dengenin çok hızlı kurulduğunu göstermektedir. Quinhidron temelli hazırlanmış olan pH elektrotun (karışım-1) cevap zamanı (t_{95}) 50 s düzeylerindedir.

Elektrotların pH 4 ve pH 7 tampon çözeltilerine ard arda daldırılmak suretiyle gösterdikleri ortalama tekrarlanabilirlikleri sırasıyla pH 4 için 2550.2 ± 132 , pH 7 için 2460.6 ± 1.26 ; pH 4 için 2599.4 ± 1.07 , pH 7 için 2449.3 ± 1.16 ; pH 4 için 2600 ± 0 pH 7 için 2436 ± 0 şeklindeydi. Karışım-1 ile hazırlanmış olan pH elektrotun tekrarlanabilirliğinin standart sapması karışım-2' ye oranla daha yüksekti. Karışım-3 ile hazırlanmış elektrotun tekrarlanabilirlik standart sapması 0' a yakındı. Bu durum trimetilhidrokinon kullanılarak hazırlanan elektrotun tekrarlanabilirlik özelliğinin oldukça iyi olduğunu göstermekteydi. Tüm parametreler incelendiğinde karışım-3 ile çalışmanın daha uygun olacağı kanısına varıldı [15].

Diğer taraftan, SEA sistemde akış hücresine monte edilen elektrotun kaçınıcı enjeksiyondan sonra performansında değişiklik gösterdiği önemli bir parametredir. Bunu belirlemek amacıyla; karışım-3 kullanılarak SEA sistemde 100 kere enjeksiyon yapıldı. Pik değerinin 2600 mV civarında olduğu, küçük düşüşler yaşansa da bir sonraki enjeksiyonda yine aynı değerlere çıktığı gözlemlendi. Ancak 93. enjeksiyondan sonra ortalama 5 mV' luk bir düşüş oluşmaya başladığı gözlemlendi. Elektrotun potansiyometrik davranışında düşüş gözlemlendiğinde, elektrot yüzeyinden ince bir kesit alınması veya yüzeyin zımparalanması elektrotun eski performansına dönmesini sağlamaktaydı.

Literatüre bakıldığında, Glanc-Gostkiewicz M. vd. [16] yapmış oldukları çalışmada metal oksit (RuO_2) bazlı pH elektrotun duyarlılığını 30 mV/pH olarak tespit etmişlerdir. Hosseini M. vd. [17] triacetylcellulose membran bazlı yaptıkları pH sensörün pH aralığını 4-12 olarak, elektrotun cevap süresini 1 dakikaya yakın olarak tespit etmişlerdir. Kahlert H. vd. [18] quinhidron/grafit temelli yaptıkları pH elektrotu FIA sistemde kullanmışlar, 50 μL 0.1 M KCl enjeksiyonunda elektrotun 50.6 mV/pH hassasiyet ile sonuç verdiğini tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmada geliştirilen trimetilhidrokinon kullanılarak pH elektrotun hassasiyeti (52.55 mV/pH), cevap zamanı ($t_{95} < 20 \text{ s}$), ve uzun kullanım ömrü (100 enjeksiyon) dikkate alındığında; geliştirilen pH elektrot ile elde edilen sonuçların yukarıda ifade edilen literatür çalışmalarından elde edilen sonuçlardan daha üstün olduğunu göstermektedir.

Elde edilen pH elektrotların hareketli ortamda analizde kullanılabilmesi için akış hücresi tasarlandı. Hareketli ortamda ölçümler için geliştirilen 1 cm eninde, 5.3 cm boyundaki polikarbonat malzemeden hazırlanan akış hücresine, referans elektrot ve kompozit pH elektrot yerleştirildi. SEA sistemi etkin bir titrasyon yapılabilmesi amacıyla üç farklı şekilde tasarlandı. Sistemlerin hacmi ayrı ayrı hesaplanıp, Flozf

programlanması yapılırken bu hesaplamalardan faydalanılarak deneysel çalışmanın programlama basamağı şekillendirildi. Etkin bir titrasyon yapılabilmesi için kullanılan akış yollarından 1 cm uzunluğunda olan mini kolon ile tasarlanan yolun düzgün bir Gauss eğrisi oluşturduğu, baseline dönüşünün hızlı ve pik aralığının ortalama bir seviyede olduğu gözlemlendi. Ayrıca pik boyunun diğer yollara göre daha yüksek olup ortalama 60 mV seviyelerinde olduğu gözlemlendi.

SEA sisteminde en önemli sorun olan sistem optimizasyonu gerçekleştirildi. Bu amaçla; taşıyıcı faz, örnek derişimi, akış hızı, enjeksiyon hacmi optimize edilerek tüm çalışmalar bu doğrultuda şekillendirildi. Sonuçlar incelendiğinde; taşıyıcı faz olarak 10^{-3} M NaOH' in, örnek derişimi olarak 10^{-1} M asetik asit çözeltisinin, örnek hacmi olarak 15 μ L hacmin ve akış hızı olarak 15 μ L/s hızın kullanılmasında daha düzgün Gauss eğrileri elde edildi. Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında bu optimizasyon parametreleri temel alındı. Philip J. Fletcher ve Jacobus F. van Staden [32] yaptıkları çalışmada SEA sistemi optimize ederken 167 μ L hacimde örnek kullanımını uygun bulmuşlardır. Mevcut çalışma, literatür ile kıyaslandığında daha düşük örnek hacmi ile uygun sonuçlar elde edildiği gözlemlendi.

SEA sistemde 10 farklı süt örneğinin toplam asitlik tayini yapıldı. Örnekler aynı zamanda fenolftalein indikatörü kullanılarak klasik yöntemle titre edildi. Her iki sonuç SPSS programı yardımıyla analiz edildi. Öncelikle fenolftalein ile titrasyon ve SEA sistem ile titrasyon sonuçlarının normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Normal dağılım gösterdiği tespit edilen her iki veri setinin karşılaştırılması t-testinin kullanıma karar verildi [110] t-testi ile %95 güvenle iki farklı titrasyon yönteminin sonuçlarının ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı. Sonuçların, literatürle [34] kıyaslandığında daha düşük miktarlardaki örnek hacmi ile daha düşük standart sapma oranları gösterdiği tespit edildi.

10 farklı süt örneğinin pH değerleri, SEA sistem ve cam elektrot yardımıyla ölçüldü. Her iki sonuç SPSS programı ile analiz edildi. pH sonuçlarının normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. İkinci veri setinin normal dağılmıyor olması, birinci veri setinin ise normal dağılıyor olsa bile veri örneklem büyüklüğünün 30'dan az olması sebebi ile bağımsız t-testinin non-parametrik karşılığı olan Mann-Whitney U-Testi uygulanarak karşılaştırma yapıldı [110]. İki yöntemin sonuçları arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

Sütte yağ tayini için mini bir bütirometre tasarlandı. Bu bütirometre sisteme entegre edildi. 10 farklı süt örneğinin yağ oranı SEA sistem kullanılarak bulundu. Aynı sütlerin yağ miktarları Gerber yöntemi ile de tayin edildi. Sonuçlar SPSS programı yardımıyla analiz edildi. Yağ tayini sonuçlarının normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Burada her iki veri setinin normal dağılmıyor olması sebebi ile bağımsız t-testinin non-parametrik karşılığı olan Mann-Whitney U-testi uygulanarak karşılaştırma yapıldı [110]. İki yöntemin sonuçlarının dağılımı arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

Literatür incelendiğinde [36] bulunan sonuçların genel olarak yapılan diğer çalışmalara göre daha düşük örnek hacmi ile elde edildiği tespit edildi. Ayrıca yapılan çalışmalarda genelde HPLC, spektrofotometre gibi temel bir dedektör kullanıldığı [27], [28], [29], [37] potansiyometrik bir dedektör kullanılmadığı görüldü. Temel dedektörlerin oluşturulan sistemin maliyetini arttıracacağı da düşünülürse yapılan bu tez çalışmasında sanayiye yönelik maliyeti azaltılmış, aynı zamanda sonuçlarının doğruluğu temel yaklaşımlarla aynı olan bir otoanaliz yöntemin geliştirildiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; mevcut çalışmada elektrokimyasal bir elektrot, yeni bir yaklaşım olan SEA sistemde kullanılarak sütte toplam asitlik, pH ve yağ oranı parametreleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar, halihazırda kullanılan yöntemlerle elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. Bununla birlikte, diğer yöntemlere kıyasla elektrokimyasal bir elektrotun kullanılmasından kaynaklı; kolay ve kısa sürede sonuç alınmasına olanak sağlaması, sağlam, kararlı olması, analiz edilecek ürüne göre rahatça geliştirilebilmesi, uzun ömürlü olması ve aynı anda birden fazla elementin analiz edilmesine olanak sağlaması [47] gibi avantajları ile beraber SEA sistemin kullanılmasından kaynaklı; mikrolitre seviyelerinde çalışmaya imkan tanınması, deneyi otomatize etmesi böylece insan kaynaklı hataları minimize etmesi ve bir anda birden fazla deneye olanak tanınması [111] gibi avantajları sebebi ile geliştirilen sistem mevcut klasik yöntemlere göre fark yaratmaktadır. Ancak sistem; optimizasyonunun dikkatli yapılması, sistemde direkt olarak kuvvetli asit ve bazlarla çalışılmanın sistemi zamanla deforme etmesi, mini bütirometrenin analizden önce temizlenmesinde yaşanan zorluklar gibi dezavantajları bulunmaktadır. Ayrıca pH ve referans elektrotların hazırlanmasında insan kaynaklı hatalar oluşabilmekte bu da çalışmada tekrarlanabilirliği düşürmekte ve çalışmanın uzamasına neden olmaktadır.

Çalışmanın endüstride yaygın bir şekilde kullanımını sağlamak ve daha pratik yaklaşımlar geliştirmek amacıyla sütte pH, toplam asitlik ve yağ parametreleri için lab-on-çipler tasarlandı. Sütte pH ve toplam asitlik için tasarlanan lab-on-çipin SEA sisteme entegre edilmesiyle sistemin otomasyonunun etkin bir şekilde sağlanacağı düşünülmektedir. Ayrıca sütte yağ analizinin yerinde ve birkaç dakikada yapılmasını sağlayacak lab-on-çip ile üreticiden alınan sütün yağ oranı hakkında bilgi edinilebilecektir. Lab-on-çip tasarımlarına başlanmış olmakla birlikte çalışmanın pratik kısmı doktora sonrası çalışmalarında devam ettirilecektir.

Çalışmada elde edilen veriler sayesinde süt analizleri için geliştirilen yöntemin etkinliği ve otomasyona uygun olması nedeniyle halihazırda sanayide kullanılan yöntemlerin yerine kullanılabileceği, bu sayede sanayinin en temel sorunlardan olan hammadde alımı ve üretim prosesleri aşamalarında kalite kontrol parametrelerinin analizinden kaynaklı hata ve onun neden olduğu maliyet kayıplarına çözüm sunacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Metin, M., (2005). Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi, 6. Baskı, Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir.
- [2] T.C. Resmi Gazete, Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği, (23964), 14.2.2000, 1-13.
- [3] Tekelioğlu, O. ve Çimen M., (2011). “Yaz Mevsimi Başlangıcında Makineli Sağımla Elde Edilen Sütlerde Asitlik Analizi”, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 6(3):23-26.
- [4] Yıldırım, S. ve Çimen M., (2009). “Biochemical Factors Affecting Taste of Milks from Machine Milking”, Asian Journal of Chemistry, 21(3): 2457-2460.
- [5] Ayar, A. ve Sert, D., (2006). “Sütün Tamponlama Kapasitesi ve Önemi”, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- [6] Coşkun, H. ve Çağlar, A., (1997). “Süt Teknolojisinde pH' nın Önemi, Süt ve Süt Ürünlerinde Ölçülmesi”, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(1): 161-169.
- [7] Omurtag, A.C., (1973). Süt ve Mamülle ile Margarin ve Sıvı Yağların Analiz Metodları, A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yayınları, 2. Baskı, Ankara.
- [8] Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar, A., (1993). Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 252, Erzurum
- [9] Hu, W., Hasebe, K. ve Tanaka, K., (2002). “Ion Chromatographic Determination of Total Acidity in Aqueous Solutions”, Analytical Sciences, 18:1383-1385.
- [10] Baldo, M.A., Daniele, S., Bragato, C. ve Mazzocchin, G.A., (2001). “Voltammetric Determination of The Total Acid Content in Ethanol-Water Mixtures: Application to Distilled Beverages”, Electroanalysis, 13:8-9.
- [11] Takamura, K., Fuse, T., Arai, K. ve Kusu, F., (1999). “A Review of a New Voltammetric Method for Determining Acids”, Journal of Electroanalytical Chemistry, 468:53–63.
- [12] Maskula, S., Nyman, J. ve Ivaskar, A., (2000). “Titration of Strong and Weak Acids by Sequential Injection Analysis Technique”, Talanta, 52:91–99

- [13] Kasırğa, O., Çimen, M., İnal, T. ve Gayretli, D., (2014). “Diyarbakır İlinden Kasım Ayında Elde Edilen İnek Sütlerinin Dünya Sağlık Örgütü Standartlarına Uygunluğunun Belirlenmesi, İstanbul Aydın Üniversitesi Dergisi, 24:13-17.
- [14] Morf, W.E., (1981). The Principles of Ion-Selective Electrodes and of Membrane Transport, First Edition, Elsevier Science, New York.
- [15] Teixeira, M.F.S., Ramos L.A., Neves, E.A ve Cavaleheiro E.T.G., (2002). “A Solid Fe_2O_3 Based Carbon-Epoxy Electrode for Potentiometric Measurements of pH”, Portugaliae Electrochimica Acta, 20:139-149
- [16] Glanc-Gostkiewicz, A., Sophocleous, M., Atkinson, J.K. ve Garcia-Breijo, E., (2013), “Performance of Miniaturised Thick-Film Solid State pH Sensors”, M. Sensors and Actuators A., 202:2–7.
- [17] Hosseini, M., Heydari, R. ve Alimoradi, M., (2014). “A Novel pH Optical Sensor Using Methyl Orange Based on Triacetylcellulose Membranes as Support”, Spectrochimica Acta, 128:864–867.
- [18] Kahlert, H., Pırksen, J.R., Isildak, I., Andac, M., Yolcu, M., Behnert, J. ve Scholz, F., (2005). “Application of a New pH-Sensitive Electrode as a Detector in Flow Injection Potentiometry”, Electroanalysis, 17(12): 1085–1090.
- [19] Infante, C.M.C., Masini, J.C. ve Santos, A.C.V., (2011). “Development of a Spectrophotometric Sequential Injection Analysis (SIA) Procedure for Determination of Ammonium: a Response Surface Methodology (RSM) Approach, Microchemical Journal, 98:97–102.
- [20] Staden, J.F. ve Stefan, R.I., (2004). “Chemical Speciation by Sequential Injection Analysis: an Overview, Talanta, 64:1109–1113.
- [21] Kansiz, M., Gapes, J.R., McNoughton, D., Lendl B. ve Christion K., (2001). “Mid-infrared Spectroscopy Coupled to Sequential Injection Analysis for the On-line Monitoring of the Acetone-Butanol Fermentation Process”, Analytica Chimica Acta, 438:175-186.
- [22] Economou, A., (2005). “ Sequential-Injection Analysis (SIA): A Useful Tool for On-line Sample Handling and Pre-Treatment”, Trends in Analytical Chemistry, 24(5):416-425.
- [23] Silva, M.S.P., Galhardo, C.X. ve Masini, J.C., (2003). “Application of Sequential Injection-Monosegmented Flow Analysis (SI-MSFA) to Spectrophotometric Determination of Sulfide in Simulated Waters Samples”, Talanta, 60(1):45-52.
- [24] Themelis, D.G., Economou, A., Tsiomlektsis, A. ve Tzanavaras, P.D., (2004).” Direct Determination of Phosphate in Urine by Sequential-Injection Analysis with Single On-Line Dilution–Calibration Method and Photometric Detection” Analytical Biochemistry, 330:193–198
- [25] Staden, J.F. ve Tlowana, S.I., (2002). “On-Line Separation, Simultaneous Dilution and Spectrophotometric Determination of Zinc in Fertilisers with a Sequential Injection System and Xylenol Orange as Complexing Agent”, Talanta, 58:1115-1122.
- [26] Oms, M.T., Cerdà, A., Cladera, A., Cerdà, V. ve Forteza, R., (1996). “Gas Diffusion Techniques Coupled Sequential Injection Analysis for Selective Determination of Ammonium, Analytica Chimica Acta, 318:251-260.

- [27] Anthemidis, N.A., Zachariadis, G.A. ve Stratis, J.A., (2005). "Determination of Arsenic (III) and Total Inorganic Arsenic in Water Samples Using an On-Line Sequential Insertion System and Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, 547:237–242.
- [28] Nielsen, S.C. ve Hansen, E.H., (2000). "Interfacing Flow Injection Analysis (Sequential Injection Analysis) and Electro-Thermal Atomic Absorption Spectrometry Determination of Trace-Levels of Cr (VI) Via On-Line Pre-Concentration by Adsorption in a Knotted Reactor and by Liquid-Liquid Extraction", *Analytica Chimica Acta*, 422:47–62.
- [29] Theodoridis, G., Zacharis, C.K., Tzanavaras, P.D., Themelis, D.G. ve Economou, A., (2004). "Automated Sample Preparation Based on The Sequential Injection Principle Solid-Phase Extraction on a Molecularly Imprinted Polymer Coupled On-Line to High-Performance Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography*, 1030:69–76.
- [30] Min, R.W., Nielsen, J. ve Villadsen, J., (1996). "On-Line Monitoring of Glucose and Penicillin by Sequential Injection Analysis", *Analytica Chimica Acta*, 320:199-205
- [31] Silva, M.B., Crispino, C.C., Reis, B.F. ve Braz, J., (2010). "Automatic Photometric Titration Procedure Based on Multicommutation and Flow-Batch Approaches Employing a Photometer Based on Twin LEDs", *Braz. Chem. Soc.*, 21(10):1854-1860.
- [32] Fletcher, P.J. ve Staden, J.F., (2003). "Determination of Carbonate and Hydrogencarbonate by Titration Using Sequential Injection Analysis, *Analytica Chimica Acta*, 485:187–194.
- [33] Vieira, J.A., Raimundo, I.M., Reisc, B.F, Montenegro, C.B.S.M ve Araújo, A.N., (2003). "Monosegmented Flow Potentiometric Titration for the Determination of Chloride in Milk and Wine", *J. Braz. Chem. Soc.*, 14(2):259-264.
- [34] Jakmunee, J., Rujirallal, T. ve Grudpan, K., (2006). "Sequential Injection Titration with Spectrophotometric Detection for the Assay of Acidity in Fruit Juices, *Analytical Sciences*, 22(1):157-160.
- [35] Staden, J.F., Mashamba, M.G. ve Stefan, R.I., (2002). "An On-Line Potentiometric Sequential Injection Titration Process Analyser for the Determination of Acetic Acid", *Anal Bioanal Chem*, 374:141–144.
- [36] Silva, J.E., Pimentel, M.F., Silva, V.L., Montenegro, C.B.S.M. ve Araújo, A.N., (2004). "Simultaneous Determination of pH, Chloride and Nickel in Electroplating Baths Using Sequential Injection Analysis, *Analytica Chimica Acta*, 506:197–202.
- [37] Ayyıldız, H. F., (2010). Otomatikleştirilmiş Akış Enjeksiyon Sistemleriyle Yağ Analiz Metotlarının Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- [38] Erdem, K.A., (1996). Elektrokimyasal Sensörlerin Tasarımı ve Uygulamaları, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [39] Wang, J., (2006). *Analytical Electrochemistry*, Third Edition, John Wiley and Sons Publishing, New Jersey.

- [40] Skoog, D.A. ve West, D.M., (1991). Fundamentals of Analytical Chemistry, Seventh Edition, Saunders College Publishing, Florida.
- [41] Berkem, A.R., (1993). Elektrokimya, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3764, İstanbul.
- [42] Gündüz, T., (2012). İnrümental Analiz, 11.Baskı, Gazi Kitapevi, Ankara.
- [43] T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, (2012). Kimya Teknolojisi, Ankara.
- [44] Beşergil, B., Potansiyometri, <http://www.bayar.edu.tr/besergil/ea>, 13 Mayıs 2015.
- [45] Settle, F.A., (1997). Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, First Edition, Prentice-Hall Inc., New Jersey.
- [46] Beşergil, B., Elektrotlar, <http://www.bayar.edu.tr/besergil/eak>, 7 Ocak 2016.
- [47] Kellner, R., Mermet, J.M., Otto, M., Valcàrcel, M. ve Widmer, H.M., (2004). Analytical Chemistry, Second Edition, Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- [48] Cogay, S., (2011). Transistörler (Transistor) Nedir, Tarihçesi, Çeşitleri, Özellikleri ve Standartları, Mesleki Terminoloji Sunum Raporu, Yıldız Teknik Üniversitesi Elektrik Elektronik Fakültesi, İstanbul.
- [49] Chemical Sensors Research Group, Field Effect Transistors (FETs) as Transducers in Electrochemical Sensors, <http://csrg.ch.pw.edu.pl/tutorials/isfet/>, 20 Ekim 2016.
- [50] Dalkıran, B., (2009). Lariat Crown Bileşiminin İyonofor Olarak Kullanıldığı Civa (II) İyon-Seçici Elektrot Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [51] Lee, Y.K. ve Rhim, S.K., (1989). “Construction of Cabon Paste Coated Wire Ion-Selective Electrode for Chloride and Its Application to Environmental Water Analysis Bull”, Korean Chem. Soc., 10(6): 485-488.
- [52] Buck, R.P. ve Lindner, E., (1994). “Recomendations for Nomenclature of Ion-Selective Electrodes”, International Union of Pure and Applied Chemistry, 66:2527-2536.
- [53] Lindner, E. ve Umezawa, Y., (2008). “Performance Evaluation Criteria for Preparation and Measurement of Macro and Micro Fabricated Ion-Selective Electrode”, Pure Appl. Chem., 80(1):85-104.
- [54] Zareh, M. M., (1994). “Fabrication of an Ion-Selective Electrode for Determination of Propylhexedrine”, Mikrochim. Acta, 116:239-246.
- [55] Sim, J. H., Lee, K. M., Cho, D. H., Nam, H. ve Cha, G. S., (2001). “Lithium Ion-Selective Electrode with Improved Lifetime”, Korean Chem. Soc., 22(7):765-768.
- [56] Yetik, A., (2012). Kobalt (II) İyon Seçici Elektrot Geliştirilmesi ve Performans Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, 19 Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- [57] Yolcu, M., (2001). Yeni Aza Crown-Eter Nötral İyonoforları ile Katyon-Seçici Elektrotlar ve Potansiyometrik Performans Karakteristikleri, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

- [58] Miller, G.D., Jarvis, J.K. ve McBean, L.D., 2000, Handbook of Dairy Foods and Nutrition, Second Edition, CRC Press, Newyork.
- [59] Tayar, M. ve Şen, M.K.C., (1995). Hayvansal Ürünler Teknolojisi, 1, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- [60] Yurtbilir, S., (2008). Süt Kabulünde Kalite Kontrolü, <http://www.gidacilar.net/>, 16 Mart 2016.
- [61] Şahinler Kimya, Kalibreli ve Termometreli Piknometre, www.sahinlerkimya.com, 20 Ekim 2016.
- [62] Türk Ticaret Net, Laboratuvar Cihazları, <https://www.turkticaret.net/Firma>, 20 Ekim 2016.
- [63] Beykaya, M., (2010). Sivas İlindeki Bazı Süt İşletmelerine Gelen Sütlerin Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- [64] Hitpages, Çiğ Sütün Kalite Kriterleri, <https://www.hitpages.com/doc/>, 16 Mart 2016.
- [65] Chang, R., (1998). Kimya, 6. Baskı, Beta Yayıncılık, Kırklareli.
- [66] Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlioğlu, M., Başpınar, N. ve Tiftik, A. M., (2013). Biyokimya, 5. Baskı, Nobel Yayıncılık, Ankara.
- [67] Yuqing, M., Jianrong, C. ve Keming, F., (2005). “New Technology for the Detection of pH, The Journal of Biochemical and Biophysical Methods”, 63:1-9.
- [68] Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıdalarda pH ve Toplam Asitlik Tayini, <http://gida.erciyes.edu.tr/dosyalar/dokumanlar>, 21 Mart 2016.
- [69] Erdik, E.V. ve Sarıkaya, Y., (1993). Temel Üniversite Kimyası, 6. Baskı, Özkan Matbaacılık, Ankara
- [70] Chemistry Land, Test Matrix Pictures, <http://www.chemistryland.com/>, 11.04.2016.
- [71] Van Den Berg, J.C.T., (1988). Dairy Technology in the Tropics and Subtropic, First Edition, Centre for Agricultural Publishing and Documentation (Pudoc), Wageningen.
- [72] Kurt, A., (1977). Süt Teknolojisine Giriş, 2. Baskı, Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum.
- [73] King Saud University, Food Analysis, <http://fac.ksu.edu.sa/sites/default/>, 8 Kasım 2016.
- [74] Kenyon College Department of Biology, The Role of Bacteria in the Health Potential of Yogurt, <https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/>, 8 Kasım 2016.
- [75] Benjakul, P. ve Chuenarrom, C., (2011). “Association of Dental Enamel Loss with the pH and Titratable Acidity of Beverages”, Journal of Dental Sciences, 6:129-133.
- [76] Cairns, A.M., Watson, M., Creanor, S.L. ve Foye R.H., (2002). “The pH and Titratable Acidity of a Range of Diluting Drinks and Their Potential Effect on Dental”, Journal of Density, 30:313-317.

- [77] Jensen, R.G., (1995). Handbook of Milk Composition, Second Edition, Academic Press, California.
- [78] Walstra, P., Geurts, T.j., Noomen, A., Jellema, A. ve Boekel, M.A.J.S., (1999). Dairy Techonology: Principles of Milk Properties and Processes, First Edition, Marcel Dekker Inc., Newyork.
- [79] Yüksel, F., Çiğ Sütlerin Teknolojik İşleme Uygunluğunun Belirlenmesi Amacıyla Yapılan Analizler, <http://gida.erciyes.edu.tr/dosyalar/dokumanlar/>, 25 Ağustos 2016.
- [80] Arslan, S., (2005). Fonksiyonel Beyaz Peynir Üretiminde Süt Yağı Yerine Bazı Alternatif Maddelerin Kullanımı ve Bunların Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [81] T.C. Resmi Gazete, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği. (27143), 16.2.2009,1-5.
- [82] T.C. Resmi Gazete, Türk Gıda Kodeksi Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği. (25784), 12.4.2005,1-3.
- [83] T.C. Resmi Gazete, Türk Gıda Kodeksi Koyulaştırılmış Süt ve Süttozu Tebliği. (25784), 12.4.2005,1-4.
- [84] Jensen, R.G., Ferries, A.M. ve Lammi-Keefe, C.J., (1991). “Symposium: Milk-Fat Composition, Function and Potential for Change, Journal Dairy Science, 74:3228-3243.
- [85] Gresti, J., Bugaut, M., Maniogui, C. ve Bezard, J., (1993). “Composition of Molecular Species of Triacylglycerols in Bovine Milk Fat”, Journal Dairy Science, 76:1850–1869.
- [86] Karay, N., Lopez, C., Lesieur, P. ve Ollivon, M., (2004). “Dromedary Milk Fat: Thermal and Structural Properties 1. Crystalline Forms Obtained by Slow Cooling”, Lait, 84:399-416.
- [87] Deductive Seasoning, Coconut Oil, <http://www.deductiveseasoning.com/>, 17 Eylül 2016.
- [88] Kaylegian, K.E. ve Lindsay, R.C. (1995). Handbook of Milk Fat Fractionation Technology and Applications, First Edition, AOCS Press, Champaign.
- [89] Maniongui, C., Gresti, J., Bugaut, M., Gauthier, S. ve Bézard, J., (1991). “Determination of Bovine Butterfat Triacylglycerols by Reversed-Phase Liquid Chromatography and Gas Chromatography, Journal of Chromatography, 543:81-103.
- [90] T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, (2007). Gıda Teknolojisi: Gıdalarda Yağ Tayini, Ankara.
- [91] Kolev, S.D. ve Mckelvie, I.D., (2009). “Comprehensive Analytical Chemistry-Advances in Flow Injection Analysis and Related Techniques”, Elsevier B.V., Newyork.
- [92] Oxio Lab Tools, Sequential Injection Analysis, <http://www.ideiam.com/>, 20 Ekim 2016.

- [93] Çoldur, F., (2010). Potansiyometrik Çoklu Mikrosensör Sisteminin Tasarımı ve Uygulamaları, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- [94] Tarhan, İ., (2011). Hüyük Maddelerin Bazı Biyokimyasal Kaynaklardan Ekstraksiyonu ve Akış Enjeksiyon Sistemleriyle Tayin Metotlarının Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- [95] Yadigaroglu, Ç., (2002). “Akış Enjeksiyon Analiz Tekniğinin Temel Prensipleri ve Uygulamaları”, Yüksek Lisans Semineri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- [96] Karlberg, B. ve Pacey, G.E., (1989). “Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry-Flow Injection Analysis, a Practical Guide”, Elsevier Science B.V., 10:372.
- [97] Ruzicka, J. ve Hansen, E.H., (1998). Flow Injection Analysis, Second Edition, Wiley Interscience Publication, USA
- [98] Tzanavaras, P.D., (2012). “Sequential Injection Analysis: A Useful Analytical Tool in Drug Dissolution Testing”, *Pharmaceutica Analytica Acta*, 2153-2435.
- [99] Fang, Z., (1996). “Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry”, *J. Am. Chem. Soc.*, 118 (20), pp 4918–4918.
- [100] Kuşçu, M., (2008). Akış-Enjeksiyon Analizi ile Su Numunelerinden Kurşunun Giderilmesi ve Özenleştirilmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- [101] Calatayud, J.M., (1996). Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals Automation in The Laboratory, First Edition, CRC Press, London.
- [102] Staden, J.F. ve McCormack, T., (1998). “Sequential-Injection Spectrophotometric Determination of Amino Acids Using 2,4,6-Trinitrobenzenesulphonic Acid”, *Analytica Chimica Acta*, 369(1–2):163–170.
- [103] Fletcher, P.J. ve Staden, J.F., (2003). “Determination of Ethanol in Distilled Liquors Using Sequential Injection Analysis with Spectrophotometric Detection”, *Analytica Chimica Acta*, 499(1):123-128.
- [104] March, J.G., Simonet B.M., Grases F. ve Salvador A., (1998). “Indirect Determination of Phytic Acid in Urine”, *Analytica Chimica Acta*, 367(1-3), 63-68.
- [105] Staden, J. F., ve Merwe, T. A. (1998). Spectrophotometric Determination of Nitrite in Cured Meats with Sequential Injection Analysis”, *South African Journal of Chemistry*, 51(2):109-113.
- [106] Schindler, R., Watkins, M., Vonach R., Lendl B., Kellner, R. ve Sara, R., (1998). “Automated Multivariate Calibration in Sequential Injectio –Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Sugar Analysis”, *Analytical Chemistry*, 70(2):226-231.
- [107] Silva, F.V., Souza, G.B., Ferraz, L.F.M., ve Nogueira, A.R., (1999). “Determination of Chloride in Milk Using Sequential Injection Automated Conductimetry”, *Food Chemistry*, 67(3):317-322.

- [108] Pe'rez-Olmos, R., Soto, J.C, Za'rate, N., Arau'jo, A.N., Lima, J.L.F.C. ve Saraiva, M.L.M.F.S., (2005). "Application of Sequential Injection Analysis (SIA) to Food Analysis", Food Chemistry, 90:471–490.
- [109] Kahlert, H., Pörksen, J.R., Behnert, J. ve Scholz, F., (2005). "FIA Acid-Base Titrations with a New Flow-Through pH Detector", Anal Bioanal Chem., 382:1981-1986.
- [110] Eymen, E., (2009). SPSS 15.0 Veri Analiz Yöntemleri, İstatistik Merkezi Yayınları, 1 , Ankara.
- [111] Lenghor, N., Jakmunee, J., Vilen, M., Sara, R., Christian, G. D. ve Grudpan, K., (2002). "Sequential Injection Redox or Acid-Base Titration for Determination of Ascorbic Acid or Acetic Acid", Talanta, 58:1139-1144.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Alime Gül GÖNEŞ
Doğum Tarihi ve Yeri : 05.03.1982 / Isparta
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : alimegones@gmail.com

EĞİTİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2012
Lisans	Gıda Mühendisliği	İstanbul Teknik Üniversitesi	2005
Lise	Fen Bilimleri	Isparta Süleyman Demirel Fen Lisesi	2000

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2009	Ekonomi Bakanlığı	Ürün Denetmeni
2006	Başakşehir Belediyesi	Halkla İlişkiler Sorumlusu
2006	Aksuvital Doğal Ürünler	Gıda Mühendisi
2005	Kolaylar Tarım Ürünleri	Gıda Mühendisi
2004	İstanbul Halk Ekmek	Stajyer
2003	Pakize Tarzi Laboratuvarları	Stajyer