T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OTOMATİKLEŞTİRİLMİŞ AKIŞ ENJEKSİYON SİSTEMLERİYLE YAĞ ANALİZ METOTLARININ GELİŞTİRİLMESİ

Hamide Filiz AYYILDIZ

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Ekim, 2010

ÖZET

DOKTORA TEZİ

OTOMATİKLEŞTİRİLMİŞ AKIŞ ENJEKSİYON SİSTEMLERİYLE YAĞ ANALİZ METOTLARININ GELİŞTİRİLMESİ

Hamide Filiz AYYILDIZ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin KARA

2010, 442 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Hüseyin KARA
Prof. Dr. Adnan KENAR
Prof. Dr. Erol PEHLİVAN
Prof. Dr. M. Musa ÖZCAN
Yrd. Doç. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

Sunulan bu tez çalışmasında; ayçiçeği, mısır, soya, kanola, yer fıstığı gibi yemeklik yağlardaki serbest yağ asidi (%FFA), peroksit sayısı (PV) ve anisidin sayısı (AV) tayinleri için -standart metotlara alternatif olacağı düşünülen- yeni akış enjeksiyon analiz (FIA) metotları geliştirilmiştir.

Yağ analizleri için; yönlendirme valfleri ve uygun reaksiyon hücrelerinin sisteme adaptasyonu ile HPLC sistemi modifiye edilerek, sistem bağlantıları değiştirilmeksizin tüm yağ analizleri için kullanılabilecek etkin, yeni bir FIA sistemi oluşturulmuştur. Tayinlerde; numune ve reaktif miktarları mikrolitre seviyesinde tutulmuş ve yağ numuneleri herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan enjekte edilmiştir.

Deney parametrelerinin optimize edilmesinde; taşıyıcı fazın cinsi, yüzdesi ve akış hızı, numune ve reaktif hacmi, reaktif konsantrasyonu, reaksiyon hücresi, enjeksiyon şekli, reaksiyon süresi ve sıcaklık gibi parametrelerin etkileri incelenmiş, optimum değerler tespit edilmiştir.

Doğruluk, tekrarlanabilirlik, tayin limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), seçicilik, lineer bölge ve ölçüm aralığı, sağlamlık, hassasiyet gibi validasyon parametreleri kullanılarak %FFA, PV ve AV tayinleri için yeni geliştirilen FIA metodunun validasyonu gerçekleştirilmiştir.

Validasyon çalışmaları sonucunda; n-propanol taşıyıcı fazı kullanılarak, PHP indikatörlüğünde gerçekleştirilen otomatikleştirilmiş %FFA tayinlerinde LOD ve

LOQ değerleri, % oleik asit cinsinden, analizleri gerçekleştirilen yağlar için sırasıyla *4.03x* 10^{-3}*-5.64x* 10^{-3} ve *1.22x* 10^{-2} *- 9.46x* 10^{-2} aralığında bulunmuştur.

Otomatikleştirilmiş PV tayinleri için meq O_2/kg yağ cinsinden belirlenen LOD ve LOQ değerleri analizleri gerçekleştirilen yağlar için sırasıyla *7.09x* 10^{-3}*-0.*47 ve *2.15x* 10^{-2} *-1.42* aralığında bulunmuştur.

Otomatikleştirilmiş AV tayinleri için belirlenen LOD ve LOQ değerleri analizleri gerçekleştirilen yağlar için sırasıyla 0.04-0.32 ve 0.13-0.95 aralığında bulunmuştur.

Standart metotlara kıyasla, %FFA, PV ve AV tayinleri için tarafımızdan geliştirilen otomatikleştirilmiş FIA metotları ile daha doğru ve tekrarlanabilirliği yüksek sonuçlar elde edilmiş, istatistiksel F ve t testleri kullanılarak gerçekleştirilen karşılaştırma sonucunda, %95 güven seviyesinde metotlar arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Bazı temel yağ analizleri için geliştirilen yeni FIA sistemi ve metotlarının; çevre açısından potansiyel tehlike oluşturabilecek çözücülerin kullanımını azaltması, düşük maliyetle, hızlı analizlerin gerçekleştirilmesine olanak sağlaması gibi üstün özellikleri sebebiyle "iyileştirme ve ilerleme" sağlamaya yönelik iyi bir metot olduğu düşünülmekte, diğer yağ analizleri için de rahatlıkla kullanılabilecek metotların yağ sektöründe uygulanabilirlik kazanması umut edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Yemeklik yağlar, Akış enjeksiyon analiz (FIA), Serbest yağ asidi (FFA), Peroksit sayısı (PV), Anisidin sayısı (AV), Optimizasyon, Validasyon

ABSTRACT

Ph.D THESIS

IMPROVEMENT OF OIL ANALYSIS METHODS BY AUTOMATED FLOW INJECTION SYSTEMS

Hamide Filiz AYYILDIZ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

Advisor: Prof. Dr. Hüseyin KARA

2010, 442 Pages

Jury
Prof. Dr. Hüseyin KARA
Prof. Dr. Adnan KENAR
Prof. Dr. Erol PEHLİVAN
Prof. Dr. M. Musa ÖZCAN
Assoc. Prof. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

In this thesis study, new flow injection analysis (FIA) methods -expected to be an alternative to standard methods- have been developed for free fatty acid (%FFA), peroxide value (PV) and anisidine value (AV) in some edible oils such as sunflower, corn, canola, soybean, peanut.

For oil analysis, an HPLC system was modified by adding selection valves and appropriate reaction coils and new and effective system can be used for the analysis of all the oil without changing the links were established. Quantities of sample and reagents used in the analysis are kept at the microliter level and the oil samples were directly injected into the system.

In the optimization of experimental parameters, the effect of many parameters such as carrier phase type, percentage and flow rate, sample and reagent volume, reagent concentration, reaction cells, injection type were investigated and optimum values are determined.

Validation studies for FIA developed new methods were performed by using some validation parameters widely used such as the accuracy, repeatability, limit of determination (LOD), the measurement limit (LOQ), selectivity, linear region and the measuring range, robustness, sensitivity.

As a result of validation studies, LOD and LOQ values, % oleic acid, for the automated FFA% analysis is used as an indicator of PHP were calculated in the range of $4.03x\ 10^{-3}$-$5.64x\ 10^{-3}$ and $1.22x\ 10^{-2}$ - $9.46x\ 10^{-2}$ respectively.

For the automated PV analysis, LOD and LOQ values, meq O_2/kg oil, were calculated in the range of $7.09x\ 10^{-3}$-0.47 and $2.15x\ 10^{-2}$ - 1.42 respectively.

For the automated AV analysis, LOD and LOQ values were calculated in the range of *0.04-0.32* ve *0.13-0.95* respectively.

Compared with standard methods, more accurate and high reproducible results were obtained with automated FIA methods developed by us and as a result of statistical comparisons performed by using F and t tests it was determined that the methods were not statistically significant in 95% confidence level.

The new FIA system and the methods developed for the some edible oil analysis (%FFA, PV and AV) are considered to be a good method of ensuring the "improvement and progress" due to their superior properties such as reducing the use of solvents potential danger for the environment, allowing the realization of rapid analysis with low cost and it is hoped that the methods easily be thought to develop for other oil analysis can be applicable in oil industry.

Keywords: Edible oils, Flow injection analysis (FIA), Free fatty acid (FFA), Peroxide value (PV), Anisidin value (AV), Optimization, Validation

ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Hüseyin KARA danışmanlığında hazırlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Doktora Tezi olarak sunulan bu çalışma, S.Ü. BAP tarafından 08101029 nolu proje ile desteklenmiştir.

Çalışmada; hayatımızda vazgeçilmez bir yere sahip olan yemeklik yağların kalitesini belirlemede ve kontrolünü sağlamada kullanılan yağ analizlerinden; *serbest yağ asidi (%FFA), peroksit sayısı (PV) ve anisidin sayısı (AV)* tayinleri akış enjeksiyon analiz (FIA) sistemleri kullanılarak otomatikleştirilmiş ve geliştirilen metot, ülkemizin kalkınmasında küçük de olsa bir pay sahibi olabileceği düşüncesiyle kullanıma sunulmuştur. Şimdiye kadar kullanılan standart metotlara kıyasla; daha hızlı, ucuz ve çevre dostu olduğu düşünülen FIA sistemleri ile gerçekleştirilen çalışmanın, literatüre kazandıracağı katkıların yanı sıra, ülkemizdeki tüm bitkisel yağ sanayi sektörleri için de yol gösterici olacağı düşünülmektedir. Metodun sektörde uygulanabilirliği başlatıldığı taktirde; düşük maliyetli, yüksek katma değerli ürünlerin elde edilebileceğine, dolayısıyla ülke ekonomisine katkıda bulunabileceğine inanılmaktadır.

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmanın konu seçiminden tez oluşumuna kadar her safhasında bilfiil katkıda bulunan, ilgi, sevgi, sabır ve yardımını benden esirgemeyen ve böyle kapsamlı ve kaliteli bir çalışmayı tamamlayabilme imkânı sağlayan, tecrübe ve bilgisinden yararlanmaktan büyük haz duyduğum danışmanım hocam Sayın Prof. Dr. Hüseyin KARA beyefendiye saygı ve şükranlarımı bildirir, kazandırdığı bakış açısı sayesinde edindiğim mesleki görgü ve bilgi birikimimin yanı sıra "naif" bir kalbe sahip olmayı da bizzat yaşayarak öğrenmemi sağladığı için kendisine minnetlerimi sunarım.

Ayrıca; tez süresince her daim yanımda olan, sıkıntı ve sevinçlerimi benimle paylaşan, güler yüzleri tatlı sözleriyle desteklerini benden esirgemeyen ve gerektiği zamanlarda yardımıma koşan çalışma grubu arkadaşlarımdan başta Arş. Gör. Fatma Nur Arslan, Uzman Mustafa Topkafa ve Yüksek Kimyager A. Gökçen Saraç olmak üzere, Yrd. Doç.Dr. Semahat Küçükkolbaşı, Arş.Gör.Dr. Fatih Durmaz, Arş.Gör.Dr. Orhan Gezici ve Arş.Gör. İsmail Tarhan`a da sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Burada isimlerini sayamadığım, tezim süresince desteklerini ve dualarını benden esirgemeyen çok kıymetli arkadaşlarıma ve yakınlarıma da teşekkürü bir borç bilirim.

Ve… Bu tezin asıl sahipleri olan iki muhterem insana, sevgili anne ve babacığıma… Bugünlere gelmem için verdikleri emek, umut ve cesaret için hassaten teşekkür eder, gözlerindeki sevgi, dudaklarındaki dua ve kalplerindeki sıcaklığın hiçbir zaman eksilmemesi dileğiyle sonsuz şükran ve minnetlerimi sunarım.

Bakışlarında rahmet, kalplerinde merhamet taşıyan iki güzel insan; bu tezi size atfediyorum. Lütfen kabul buyurun. Allah sizleri başımdan eksik etmesin!

Minnet duygularımla…

Hamide Filiz AYYILDIZ
KONYA-2010

"Durmak ölüm, taklit uşaklıktır, çalışmak ve yetişmek ise hayat ve hürriyettir"

L.Y. Rauke

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **vi**

ÖNSÖZ ..... **viii**

İÇİNDEKİLER ..... **x**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xiv**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **xxvi**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xxxvii**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Yağın Tanımı ve Önemi 3
1.2. Yağın Temel Bileşenleri 7
1.3. Yağların Rafinasyonu 9
1.4. Yağ Analizleri ve Önemi 13

2. YEMEKLİK YAĞLARDA OKSİDASYON **16**

2.1. Yağlarda Bozulma 16
2.2. Oksidasyonun Oluşumu ve Önemi 17
2.3. Otooksidasyon Olayının Mekanizması ve Hidroperoksitlerin Oluşumu 20
2.4. Oksidasyon Kinetiği 24
2.5. Oksidasyonu Etkileyen Faktörler 25
2.6. Yağlarda Oksidasyonun Önlenmesi İçin Alınabilecek Önlemler 27
2.7. Yağlarda Meydana Gelen Oksidasyon Ürünlerinin Standartlardaki Yeri 28

3. OTOMATİKLEŞTİRİLMİŞ ANALİZ SİSTEMLERİ **29**

3.1. Otomatik Analiz Sistemlerinin Tipleri 30
3.2. Akış Enjeksiyon Analizleri (FIA) 32
3.2.1. Akış Enjeksiyonun Tanımı 32
3.2.2. Akış Enjeksiyon Sistemlerinin Gelişimi 33
3.2.3. FIA`ya Etki Eden Önemli Faktörler 36
3.2.4. FIA`da Dedeksiyon 40
3.2.5. FIA`nın Avantajları 40
3.2.6. FIA`nın Uygulamaları 41

4. ANALİTİK YÖNTEM VALİDASYONU **43**

4.1. Validasyonun Tanımı ve Çeşitleri 43
4.2. Analitik Yöntem Validasyonunun Aşamaları 43
4.3. Validasyon Parametreleri 44
4.3.1. Doğruluk (Accuracy) 45
4.3.2. Kesinlik (Precision) ve Tekrarlanabilirlik (Repeatability) 45
4.3.3. Tayin Limiti (Limit of detection, LOD) 46
4.3.4. Ölçüm Limiti (Limit of quantitation,LOQ) 47
4.3.5. Seçicilik/Spesifik olma (Selectivity/Specificity) 47
4.3.6. Doğrusallık ve Lineer Ölçüm Aralığı (Linearity / Range) 47
4.3.7. Sağlamlık (Ruggedness/Robustness) 48
4.3.8. Hassasiyet (Sensivity) 48

5. KAYNAK ARAŞTIRMASI 50

5.1. Rafinasyon Sırasında Bitkisel Yağlarda Meydana Gelen Değişimler 50
5.2. Akış Enjeksiyon Analiz ve Diğer Yöntemlerle Yapılan Yağ Analizleri 55
5.3. Çalışmanın Amacı 67

6. MATERYAL VE METOT 68

6.1. Kullanılan Kimyasallar 68
6.2. Kullanılan Çözeltiler 69
6.2.1. Spektrofotometrik analizlerde kullanılan çözeltiler 69
6.2.2. Titrimetrik analizlerde kullanılan çözeltiler 70
6.2.3. Akış enjeksiyon analizlerinde (FIA) kullanılan çözeltiler 70
6.3. Kullanılan Yağlar 71
6.4. Kullanılan Cihazlar 73
6.5. Bitkisel Yağ Numuneleri Üzerinde Gerçekleştirilen Analizlerde Kullanılan Standart Metotlar 76
6.6. İstatistiksel Analiz Metotları 77

7. DENEYSEL KISIM 78

7.1. HPLC Sisteminin FIA Analizleri için Modifiye Edilmesi 83
7.2. Serbest Yağ Asidi (%FFA) Tayini 85
7.2.1. Manuel enjeksiyonlu %FFA tayini 87
7.2.1.1. Deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi 89
7.2.1.1.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisinin incelenmesi 90
7.2.1.1.2. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisinin incelenmesi 90
7.2.1.1.3. Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) etkisinin incelenmesi 91
7.2.2. Otomatik enjeksiyonlu %FFA Tayini 93
7.2.2.1. Deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi 95
7.2.2.1.1. Numune ve reaktif hacmi etkisinin incelenmesi 96
7.2.2.1.2. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisinin incelenmesi 97
7.2.2.1.3. Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) etkisinin incelenmesi 97
7.2.2.1.4. Sıcaklık etkisinin incelenmesi 98
7.2.2.2. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Çalışmaları 98
7.3. Peroksit Sayısı (PV) Tayini 99
7.3.1. Deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi 104
7.3.1.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisinin incelenmesi 104
7.3.1.2. Taşıyıcı faz cinsinin ve yüzdesinin etkisinin incelenmesi 105
7.3.1.3. Numune ve reaktif hacmi etkisinin incelenmesi 105
7.3.1.4. Reaktif yüzdesinin etkisinin incelenmesi 105
7.3.1.5. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisinin incelenmesi 105
7.3.1.6. Reaksiyon süresi etkisinin incelenmesi 105
7.3.2. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen PV Çalışmaları 106
7.4. Anisidin Sayısı (AV) Tayini 107
7.4.1. AV tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi 109
7.4.1.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisinin incelenmesi 110
7.4.1.2. Taşıyıcı faz cinsinin etkisinin incelenmesi 110
7.4.1.3. Numune ve reaktif hacmi etkisinin incelenmesi 110
7.4.1.4. Reaktif konsantrasyonu etkisinin incelenmesi 110
7.4.1.5. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisinin incelenmesi 111
7.4.1.6. Reaksiyon süresi etkisinin incelenmesi 111
7.4.2. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen AV Çalışmaları 111
7.5. %FFA PV ve AV Tayinleri için FIA Metodunun Valide Edilmesi 111
7.6. %FFA PV ve AV Tayinleri için FIA Metotlarının Standart Metotlarla Karşılaştırılması 112

8. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 113

8.1. Bitkisel Yağlar Üzerinde Gerçekleştirilen Fiziksel ve Kimyasal Analizler..... 113
8.2. Spektrofotometrik Analizler 121
8.3. Titrimetrik Analizler..... 126
8.4. Akış Enjeksiyon Analizleri (FIA)..... 128
8.5. Serbest Yağ Asidi (%FFA) Tayini..... 130
8.5.1. Manuel enjeksiyonlu %FFA tayini 130
8.5.1.1. % FFA tayini için modifiye HPLC sisteminin kullanılışı..... 130
8.5.1.2. % FFA tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi. 131
8.5.1.2.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisi 131
8.5.1.2.2. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi..... 132
8.5.1.2.3. Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) etkisi 141
8.5.2. Otomatik enjeksiyonlu %FFA Tayini 160
8.5.2.1. % FFA tayini için modifiye HPLC sisteminin kullanılışı..... 160
8.5.2.2. % FFA tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi. 160
8.5.2.2.1. Numune ve reaktif hacmi etkisi..... 161
8.5.2.2.2. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi..... 165
8.5.2.2.3. Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) etkisi 173
8.5.2.2.4. Sıcaklık etkisi 181
8.5.2.3. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Çalışmaları..... 196
8.5.2.4. %FFA tayini için FIA metodunun valide edilmesi..... 239
8.5.2.5. %FFA tayini için FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırılması 255
8.6. Peroksit Sayısı (PV) Tayini 262
8.6.1. PV tayini için modifiye HPLC sisteminin kullanılışı..... 262
8.6.2. PV tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi..... 263
8.6.2.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisi 264
8.6.2.2. Taşıyıcı faz cinsinin ve yüzdesinin etkisi 264
8.6.2.3. Numune ve reaktif hacmi etkisi..... 276
8.6.2.4. Reaktif yüzdesinin etkisi 276
8.6.2.5. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi..... 296
8.6.2.6. Reaksiyon süresi etkisi 297
8.6.2.7. Sıcaklık etkisi 298
8.6.3. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen PV Çalışmaları 298
8.6.4. PV tayini için FIA metodunun valide edilmesi..... 307
8.6.5. PV tayini için FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırılması..... 320
8.6.6. Çalışmada Kullanılan Yağ Numunelerine Ait PV Değerlerinin $E\lambda_{232}$ Değerleri ile Uyumu..... 321
8.7. Anisidin Sayısı (AV) Tayini..... 325
8.7.1. AV tayini için HPLC sisteminin modifiye edilmesi 325
8.7.2. AV tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi 325
8.7.2.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisi 326
8.7.2.2. Taşıyıcı faz cinsinin etkisi 326
8.7.2.3. Numune ve reaktif hacmi etkisi..... 326
8.7.2.4. Reaktif konsantrasyonu etkisi..... 328
8.7.2.5. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi..... 328
8.7.2.6. Reaksiyon süresi etkisi 329
8.4.2.7. Sıcaklık Etkisi..... 329
8.7.3. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen AV Çalışmaları..... 329
8.7.4. AV tayini için FIA metodunun valide edilmesi 343
8.7.5. AV tayini için FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırılması 356
8.7.6. Çalışmada Kullanılan Yağ Numunelerine Ait AV Değerlerinin $E\lambda_{270}$ Değerleri ile Uyumu..... 358

9. SONUÇLAR VE ÖNERİLER..... 365

KAYNAKLAR **371**

EKLER **378**

EK-1. Bitki Adı ile Anılan Yemeklik Yağlar Tebliği (2010/17) 378
EK-2. Referans Yağ Numuneleri için Kullanılan Analiz Metotlarına Ait Kodlar 388

ÖZGEÇMİŞ **392**

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Yağların Bileşiminde Bulunan Bazı Temel Yağ Asitleri **(a)** stearik asit, **(b)** oleik asit, **(c)** linoleik asit, **(d)** linolenik asit 4

Şekil 1.2. Yağın Kimyasal Yapısı 4

Şekil 1.3. Bazı Yağlara Ait Yağ Asit Kompozisyon Değerleri 5

Şekil 1.4. Oleik, Linoleik ve Linolenik Asitten Oluşan Trigliserit Yapı 6

Şekil 1.5. Basit ve Karışık Trigliserit Yapılar 7

Şekil 1.6. Fiziksel ve Kimyasal Rafinasyon Kademeleri 10

Şekil 2.1. Yağlarda Genel Oksidasyon Döngüsü 18

Şekil 2.2. Lipaz Enzimi Yardımıyla Serbest Yağ Asitlerinin Oluşumu 19

Şekil 2.3. Elektromagnetik radyasyon ve Oksijen Varlığında Lipid Peroksi Radikalinin Oluşumu 22

Şekil 2.4. Lipid Peroksi Radikalinin Yağ Asidi ile Etkileşmesi Sonucu Hidroperoksit Oluşumu 23

Şekil 3.1. Klasik ve Otomatikleştirilmiş Analiz Yöntemleri 29

Şekil 3.2. Ayrı Akış Analizörü 30

Şekil 3.3. Sürekli Akış Analizörü 31

Şekil 3.4. İlk Akış Enjeksiyon (FI) Sistemi 34

Şekil 3.5. Günümüz Akış Enjeksiyon (FI) Sistemi 35

Şekil 3.6. Akış Enjeksiyon (FI) Sistemlerinin Çalışma Prensibinin Şematik Gösterimi 35

Şekil 3.7. Akış Enjeksiyon (FI) Sistemlerinde Türevlendirme Reaktifinin Kullanımı 36

Şekil 5.1. Akış Enjeksiyon Analizlerinde (FIA) Numune Hacminin Etkisi 37

Şekil 5.2. Akış Enjeksiyon (FI) Sistemlerinde Numunenin Dağılımı **(a)** Dağılıma Uğramayan Numune Bölgesi (Initial Concentration) **(b)** Dağılmaya Uğramaya Başlayan Numune Bölgesi **(c)** Dağılıma Uğrayan Numune Bölgesi (Gauss Şekli) 39

Şekil 7.1. FIA Deneylerinde Kullanılan Modifiye HPLC Sisteminin Fotoğrafı 84

Şekil 7.2. Manuel ve Otomatik Enjektörlü FIA Çalışmalarında Kullanılan Modifiye HPLC Sisteminin Şematik Gösterimi 84

Şekil 7.3. Manuel Enjeksiyon Bloğunun **(A)** numune yükleme, **(B)** numune enjeksiyonu Sırasındaki Konumları 87

Şekil 7.4. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Kullanılan Modifiye HPLC Sistemi 88

Şekil 7.5. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaksiyon Hücreleri 90

Şekil 7.6. Otomatik Enjeksiyon Bloğunun **(A)** numune yükleme, **(B)** numune enjeksiyonu Sırasındaki Konumları 94

Şekil 7.7. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Kullanılan Modifiye HPLC Sistemi **A:** taşıyıcı/çözücü tablası, **B:** degaz ünitesi, **C:** karıştırıcı, **D:** quaternary pompa, **E:** otomatik enjeksiyon portu, **F:** termostatlı kolon fırını, **G:** ticari 50 mL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **H:** 2-pozisyon, 6-portlu valf, **I:** UV/DAD dedektör, **İ-J:** 1 mL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.76 mm), **K:** 50 µL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **L:** Atık 94

Şekil 7.8. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaksiyon Hücreleri 97

Şekil 7.9. Otomatik Enjeksiyonlu PV Tayininde Kullanılan Modifiye HPLC Sisteminin Reaksiyon Öncesindeki Konumu/Bağlantıları 102

Şekil 7.10. Otomatik Enjeksiyonlu PV Tayininde Kullanılan Modifiye HPLC Sisteminin Reaksiyon Sonrasındaki Konumu/Bağlantıları 103

Şekil 8.1. Rafine Ayçiçek Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram..... 115

Şekil 8.2. Rafine Mısır Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram..... 116

Şekil 8.3. Rafine Soya Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram..... 117

Şekil 8.4. Rafine Kanola Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram..... 118

Şekil 8.5. Rafine Yer Fıstığı Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram..... 119

Şekil 8.6. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun UV-vis Spektrofotometre ile Belirlenmesi 122

Şekil 8.7. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun UV Dedektör ile Belirlenmesi 123

Şekil 8.8. BTB İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun UV-vis Spektrofotometre ile Belirlenmesi 124

Şekil 8.9. BTB İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun UV Dedektör ile Belirlenmesi 124

Şekil 8.10. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan **(a)** Reaksiyon Hücreleri (PEEK Tubingler) **(b)** PEEK Tubinglerin ve Sarıldıkları Materyalin Şematik Gösterimi 130

Şekil 8.11. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Reaksiyon Hücresi Etkisi Çalışmalarında Kullanılan Reaksiyon Hücreleri..... 133

Şekil 8.12. Ayçiçek Yağı Kullanılarak Yürütülen Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinin Gerçekleştirildiği Şartlar 133

Şekil 8.13. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** %FFA: 1.40 **(b)** %FFA: 0.74 **(c)** %FFA: 0.40 **(d)** %FFA: 0.07 135

Şekil 8.14. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Deneylerden Elde Edilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları 135

Şekil 8.15. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Deneylerinden Elde Edilen %FFA– Alan Grafikleri 136

Şekil 8.16. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** %FFA: 0.74 **(b)** %FFA: 0.40 **(c)** %FFA: 0.07 137

Şekil 8.17. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Deneylerden Elde Edilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları 138

Şekil 8.18. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Deneylerinden Elde Edilen %FFA– Alan Grafikleri 139

Şekil 8.19. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 3 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** %FFA: 1.40..... 140

Şekil 8.20. Mısır Yağı Kullanılarak Yürütülen Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinin Gerçekleştirildiği Şartlar 142

Şekil 8.21. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R1: 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP **(b)** R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP..... 143

Şekil 8.22. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları 143

Şekil 8.23. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP **(b)** R3: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 18.75 x 10^{-5} M PHP **(c)** R4: 5.00 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP..... 146

Şekil 8.24. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri 146

Şekil 8.25. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R5: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP **(b)** R6: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP **(c)** R5: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP 149

Şekil 8.26. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları..... 149

Şekil 8.27. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R8: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP **(b)** R9: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP **(c)** R10: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP 151

Şekil 8.28. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları..... 152

Şekil 8.29. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R1: 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP **(b)** R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP **(c)** R11: 1.25 x 10^{-3} M KOH + 6.25 x 10^{-5} M PHP **(d)** R12: 1.88 x 10^{-3} M KOH + 9.38 x 10^{-5} M PHP..... 154

Şekil 8.30. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 3 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları 155

Şekil 8.31. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 4 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler, R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP 156

Şekil 8.32. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 4 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafiği ve Grafiğe Ait Denklem & Korelasyon Katsayısı 157

Şekil 8.33. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde R2 Reaktifi Kullanılarak Farklı Reaksiyon Hücrelerinde (Coil) Gerçekleştirilen Mısır Yağı %FFA Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafiği ve Grafiğe Ait Denklem & Korelasyon Katsayısı 158

Şekil 8.34. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Mısır Yağı Kullanılarak (%FFA: 0.09 ± 1.71x10^{-3}) Farklı Reaktifler ile İncelenen Numune ve Reaktif Hacmi Etkisi Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R13: 1.0 x10^{-3} M KOH + 5.0 x10^{-5} M PHP **(b)** R14: 1.5 x10^{-3} M KOH + 7.5 x10^{-5} M PHP **(c)** R15: 2.0 x10^{-3} M KOH + 10.0 x10^{-5} M PHP **(d)** R16: 2.5 x10^{-3} M KOH + 12.5 x10^{-5} M PHP **(e)** R17: 3.0 x10^{-3} M KOH + 15.0 x10^{-5} M PHP **(f)** R18: 4.0 x10^{-3} M KOH + 20.0 x10^{-5} M PHP **(g)** R19: 5.0 x10^{-3} M KOH + 25.0 x10^{-5} M PHP 164

Şekil 8.35. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaksiyon Hücreleri 165

Şekil 8.36. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 50 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** ön karıştırma var **(b)** ön karıştırma yok 167

Şekil 8.37. 50 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı Üzerinde Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Optimizasyon Deneyleri 167

Şekil 8.38. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 200 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** ön karıştırma var **(b)** ön karıştırma yok 169

Şekil 8.39. 200 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı Üzerinde Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Optimizasyon Deneyleri 169

Şekil 8.40. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 500 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** ön karıştırma var **(b)** ön karıştırma yok 171

Şekil 8.41. 500 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı Üzerinde Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Optimizasyon Deneyleri 171

Şekil 8.42. PHP İndikatörlü Deneyler için Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu Etkisi Çalışmalarında Reaktif Çözeltisi Bileşenlerinden KOH için Kalibrasyon Grafiği Oluşturmada Elde Edilen Pikler 175

Şekil 8.43. PHP İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin KOH Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği 175

Şekil 8.44. PHP İndikatörlü Deneyler için Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu Etkisi Çalışmalarında Reaktif Çözeltisi Bileşenlerinden PHP için Kalibrasyon Grafiği Oluşturmada Elde Edilen Pikler 176

Şekil 8.45. PHP İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin PHP Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği 177

Şekil 8.46. BTB İndikatörlü Deneyler için Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu Etkisi Çalışmalarında Reaktif Çözeltisi Bileşenlerinden KOH için Kalibrasyon Grafiği Oluşturmada Elde Edilen Pikler 178

Şekil 8.47. BTB İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin KOH Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği 178

Şekil 8.48. BTB İndikatörlü Deneyler için Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu Etkisi Çalışmalarında Reaktif Çözeltisi Bileşenlerinden BTB için Kalibrasyon Grafiği Oluşturmada Elde Edilen Pikler 179

Şekil 8.49. BTB İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin BTB Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği 180

Şekil 8.50. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler 182

Şekil 8.51. PHP İndikatörlü Deneylerde Gerçek [PHP] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi 182

Şekil 8.52. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 50°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler 184

Şekil 8.53. PHP İndikatörlü Deneylerde Gerçek [PHP] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi 184

Şekil 8.54. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler 186

Şekil 8.55. PHP İndikatörlü Deneylerde Gerçek [PHP] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi 186

Şekil 8.56. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 20°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler 188

Şekil 8.57. BTB İndikatörlü Deneylerde Gerçek [BTB] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi 189

Şekil 8.58. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler 190

Şekil 8.59. BTB İndikatörlü Deneylerde Gerçek [BTB] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi 190

Şekil 8.60. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 60°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler 192

Şekil 8.61. BTB İndikatörlü Deneylerde Gerçek [BTB] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi 192

Şekil 8.62. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler 194

Şekil 8.63. BTB İndikatörlü Deneylerde Gerçek [BTB] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi 194

Şekil 8.64. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $0.09 \pm 1.71 \times 10^{-3}$ Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 197

Şekil 8.65. PHP İndikatörlü Deneylerde Gerçek [PHP] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi 198

Şekil 8.66. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 2.24x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 199

Şekil 8.67. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı %FFA Tayini 199

Şekil 8.68. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 1.70x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 201

Şekil 8.69. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini 202

Şekil 8.70. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 2.11x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 203

Şekil 8.71. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı %FFA Tayini 203

Şekil 8.72. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.07 ± 1.22x10^{-3} Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 205

Şekil 8.73. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı %FFA Tayini 205

Şekil 8.74. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.07 ± 2.15x10^{-3} Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 207

Şekil 8.75. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı %FFA Tayini 207

Şekil 8.76. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.04 ± 1.46x10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 209

Şekil 8.77. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı %FFA Tayini 209

Şekil 8.78. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.04 ± 4.23x10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 211

Şekil 8.79. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı %FFA Tayini 211

Şekil 8.80. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.13 ± 9.46x10^{-3} Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 213

Şekil 8.81. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı %FFA Tayini 213

Şekil 8.82. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.13 ± 4.23x10^{-3} Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 215

Şekil 8.83. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı %FFA Tayini 215

Şekil 8.84. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 7.94x10^{-3} Olan Mısır Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 217

Şekil 8.85. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı FFA Tayini 218

Şekil 8.86. Etanol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 7.85x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 219

Şekil 8.87. Etanol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı FFA Tayini 219

Şekil 8.88. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 6.19x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 222

Şekil 8.89. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı FFA Tayini 222

Şekil 8.90. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 6.41x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 224

Şekil 8.91. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı FFA Tayini 224

Şekil 8.92. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.07 ± 4.67x10^{-3} Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 226

Şekil 8.93. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı FFA Tayini 226

Şekil 8.94. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.07 ± 4.20x10^{-3} Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 228

Şekil 8.95. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı FFA Tayini 228

Şekil 8.96. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.04 ± 4.21x10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 230

Şekil 8.97. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı FFA Tayini 230

Şekil 8.98. Etil alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $0.04 \pm 5.00 \times 10^{-3}$ Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 232

Şekil 8.99. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı FFA Tayini 232

Şekil 8.100. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $0.13 \pm 9.89 \times 10^{-3}$ Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 235

Şekil 8.101. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı FFA Tayini 235

Şekil 8.102. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $1.62 \pm 3.47 \times 10^{-2}$ Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 237

Şekil 8.103. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı FFA Tayini 237

Şekil 8.104. %FFA: 0.04-1.21 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PHP İndikatörlü %FFA Tayini için Metodun Doğruluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Grafikler **(a)** Lineer Regresyon Grafiği, **(b)** %FFA Fark Çizimi, **(c)** Normal Olasılık Çizimi, **(d)** %FFA Hat Uyum Grafiği 250

Şekil 8.105. %FFA: 0.04-1.21 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PHP İndikatörlü %FFA Tayini için Metodun Doğruluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Grafikler **(a)** Lineer Regresyon Grafiği, **(b)** %FFA Fark Çizimi, **(c)** Normal Olasılık Çizimi, **(d)** %FFA Hat Uyum Grafiği 252

Şekil 8.106. Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayin Sonuçlarına Ait **(a)** Normal Dağılım Grafiği, **(b)** Normal Dağılım Grafiğinde $p<0.05$ Bölgeler, **(c)** Normal Dağılım Grafiğinde $p>0.05$ Bölgeler 256

Şekil 8.107. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesi **(a)** %1 NaI çözeltisi, **(b)** %2.5 NaI çözeltisi, **(c)** %5 NaI çözeltisi 266

Şekil 8.108. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (POLİNOMİYAL GRAFİK) 267

Şekil 8.109. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 267

Şekil 8.110. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (POLİNOMİYAL GRAFİK) 270

Şekil 8.111. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 270

Şekil 8.112. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (POLİNOMİYAL GRAFİK) 273

Şekil 8.113. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 273

Şekil 8.114. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi 277

Şekil 8.115. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen 2. Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi 277

Şekil 8.116. Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %25 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 278

Şekil 8.117. Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %45 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 279

Şekil 8.118. Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %60 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 280

Şekil 8.119. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi 282

Şekil 8.120. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen 2. Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi 282

Şekil 8.121. Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %25 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 283

Şekil 8.122. Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %45 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 284

Şekil 8.123. Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %60 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 285

Şekil 8.124. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Soya Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi 287

Şekil 8.125. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Soya Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen 2. Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi 287

Şekil 8.126. Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %25 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 288

Şekil 8.127. Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %45 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 289

Şekil 8.128. Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %60 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 290

Şekil 8.129. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi 292

Şekil 8.130. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen 2. Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi 292

Şekil 8.131. Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %25 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 293

Şekil 8.132. Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %45 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 294

Şekil 8.133. Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %60 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK) 295

Şekil 8.134. PV Tayinlerinin Gerçekleştirilmesinde Kullanılan Sistem Programlaması 298

Şekil 8.135. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** PV: 8.43 ± 5.05x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü..... 300

Şekil 8.136. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri..... 300

Şekil 8.137. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** PV: 11.76 ± 0.14 Olan Mısır Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü..... 302

Şekil 8.138. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri..... 302

Şekil 8.139. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** PV: 8.64 ± 2.71x10^{-2} Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü..... 304

Şekil 8.140. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri..... 304

Şekil 8.141. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** PV: 3.77 ± 2.15x10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü..... 306

Şekil 8.142. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri..... 306

Şekil 8.143. PV: 3.58-14.89 Aralığında Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PV Tayini için Metodun Doğruluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Grafikler, **(a)** Lineer Regresyon Grafiği, **(b)** Normal Olasılık Grafiği, **(c)** %FFA Hat Uyum Grafiği, **(d)** Artık Alan-Tahmini Alan Grafiği..... 316

Şekil 8.144. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla PV: 3.35-18.06 ± 0.14 Aralığında Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler..... 318

Şekil 8.145. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla PV: 2.71-11.01 ± 2.71x10^{-2} Aralığında Soya Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler..... 318

Şekil 8.146. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla PV: 2.99-6.12 ± 2.15x10^{-3} Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler..... 319

Şekil 8.147. Ayçiçek Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları AYC-1: PV= 3.58; AYC-2: PV= 4.26; AYC-3: PV= 5.20; AYC-4: PV= 6.81; AYC-5: PV= 8.43 322

Şekil 8.148. Ayçiçek Yağı Numuneleri için PV-Eλ232 Uyum Grafiği 322

Şekil 8.149. Soya Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları SOYA-1: PV= 1.52; SOYA-2: PV= 2.71; SOYA-3: PV= 5.08; SOYA-4: PV= 7.45; SOYA-5: PV= 11.01 323

Şekil 8.150. Soya Yağı Numuneleri için PV-$\mathbf{E\lambda_{232}}$ Uyum Grafiği 323

Şekil 8.151. Kanola Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları KANOLA-1: PV= 2.99; KANOLA-2: PV= 3.38; KANOLA-3: PV= 3.77; KANOLA-4: PV= 5.73 324

Şekil 8.152. Kanola Yağı Numuneleri için PV-$\mathbf{E\lambda_{232}}$ Uyum Grafiği 324

Şekil 8.153. AV Tayini için Numune ve Reaktif Hacmi Etkisinin Rafine ve Ham Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesi **(a)** 1µL numune hacmi, **(b)** 3µL numune hacmi, **(c)** 5µL numune hacmi, **(d)** 7µL numune hacmi 327

Şekil 8.154. AV Tayini için Numune ve Reaktif Konsantrasyonu Etkisinin Rafine ve Ham Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesi **(a)** 0.3 M p-anisidin çözeltisi, **(b)** 0.5 M p-anisidin çözeltisi, **(c)** 0.8 M p-anisidin çözeltisi 328

Şekil 8.155. Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: $6.63 \pm 9.55 \times 10^{-2}$ Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 331

Şekil 8.156. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri 331

Şekil 8.157. Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: $7.15 \pm 6.64 \times 10^{-2}$ Olan Mısır Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 334

Şekil 8.158. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri 334

Şekil 8.159. Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: $2.85 \pm 1.56 \times 10^{-2}$ Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 336

Şekil 8.160. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri 336

Şekil 8.161. Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: $3.24 \pm 1.32 \times 10^{-2}$ Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 338

Şekil 8.162. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri 338

Şekil 8.163. Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: $3.85 \pm 8.48 \times 10^{-2}$ Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü 340

Şekil 8.164. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri 340

Şekil 8.165. AV: 7.15-8.27 Aralığında Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile AV Tayini için Metodun Doğruluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Grafikler **(a)** Lineer Regresyon Grafiği, **(b)** AV Fark Çizimi, **(c)** Normal Olasılık Çizimi, **(d)** AV Hat Uyum Grafiği 352

Şekil 8.166. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 6.60-3.63 Aralığında Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler 354

Şekil 8.167. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 3.00-2.63 Aralığında Soya Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler 354

Şekil 8.168. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 2.76-3.73 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler 355

Şekil 8.169. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 3.92-3.78 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler 355

Şekil 8.170. Ayçiçek Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları AYC-1: AV= 6.60; AYC-2: AV= 5.86; AYC-3: AV= 5.12; AYC-4: AV= 4.37; AYC-5: AV= 3.63 359

Şekil 8.171. Ayçiçek Yağı Numuneleri için AV-$\mathbf{E\lambda_{270}}$ ve AV-ΔE Uyum Grafikleri 359

Şekil 8.172. Soya Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları SOYA-1: AV= 3.00; SOYA-2: AV= 2.93; SOYA-3: AV= 2.85; SOYA-4: AV= 2.70; SOYA-5: AV= 2.63 360

Şekil 8.173. Soya Yağı Numuneleri için AV-$\mathbf{E\lambda_{270}}$ ve AV-ΔE Uyum Grafikleri 360

Şekil 8.174. Kanola Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları KANOLA-1: AV= 3.00; KANOLA-2: AV= 3.24; KANOLA-3: AV= 3.49; KANOLA-4: AV= 3.73 361

Şekil 8.175. Kanola Yağı Numuneleri için AV-$\mathbf{E\lambda_{270}}$ ve AV-ΔE Uyum Grafikleri 361

Şekil 8.176. Yer Fıstığı Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları YER FISTIĞI-1: AV= 3.85; YER FISTIĞI-2: AV= 3.78; YER FISTIĞI-3: AV= 3.64; YER FISTIĞI-4: AV= 3.57 362

Şekil 8.177. Yer Fıstığı Yağı Numuneleri için AV-$\mathbf{E\lambda_{270}}$ ve AV-ΔE Uyum Grafikleri 362

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Doymamış Yağ Asitleri ile Serbest Radikallerin Reaksiyonlarının Hız Sabitleri 25

Tablo 6.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar 68

Tablo 6.2. FIA Metodu ile Gerçekleştirilen Yağ Analizlerinde Kullanılan Yağ Numunelerinin Standart Metotlar Kullanılarak Tespit Edilen %FFA, PV, AV Değerleri 72

Tablo 6.3. Deneylerde Kullanılan Cihazlar 73

Tablo 6.4. Deneylerde Kullanılan HPLC Sistemi Modülleri 74

Tablo 7.1. FAME Analizlerinde Kullanılan HKARA Metoduna Ait Parametre Değerleri 80

Tablo 7.2. AOCS Ca-5a-40 Metodu ile %FFA Tayininde Kullanılan Kimyasalların Özellikleri 86

Tablo 7.3. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaksiyon Hücrelerinin Özellikleri 91

Tablo 7.4. Manuel Enjeksiyonlu Deneylerde Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) Etkisini İncelemek Amacıyla Kullanılan Reaktifler 92

Tablo 7.5. Otomatik Enjeksiyonlu Deneylerde Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) Etkisini İncelemek Amacıyla Kullanılan Reaktifler 98

Tablo 7.6. TS-894 Metodu ile PV Tayininde Kullanılan Kimyasalların Özellikleri 101

Tablo 8.1. Çalışmada Kullanılan Yağ Cinslerinin Özgül Absorbans Tayinleri Sonucunda Elde Edilen Veriler 114

Tablo 8.2. Özgül Absorbans Tayinlerinde Kullanılan Yağ Numunelerinin Kütleleri 114

Tablo 8.3. Çalışmada Kullanılan Yağlar için HKARA Metodu ile Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Çalışmalarından Elde Edilen Yağ Asit Dağılımları (%) 120

Tablo 8.4. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler 122

Tablo 8.5. BTB İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler 123

Tablo 8.6. %FFA, PV, AV Tayinlerinin Gerçekleştirilmesi için Tespit Edilen Dalga Boyu Değerleri 125

Tablo 8.7. FIA Metodu ile Gerçekleştirilen Yağ Analizlerinde Kullanılan Yağ Numunelerinin Standart Metotlar Kullanılarak Tespit Edilen %FFA, PV, AV Değerleri 127

Tablo 8.8. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Denemelerinden Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri 136

Tablo 8.9. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Deneylerinden Elde Edilen %FFA– Alan Grafiklerine Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları 137

Tablo 8.10. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Denemelerinden Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri 138

Tablo 8.11. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Deneylerinden Elde Edilen %FFA– Alan Grafiklerine Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları 139

Tablo 8.12. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Mısır Yağı Kullanılarak Coil 1`de İncelenen Reaktif Konsantrasyonları 142

Tablo 8.13. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri 144

Tablo 8.14. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Mısır Yağı Kullanılarak Coil 2`de İncelenen Reaktif Konsantrasyonları 145

Tablo 8.15. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri 147

Tablo 8.16. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri..... 150

Tablo 8.17. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri..... 153

Tablo 8.18. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Mısır Yağı Kullanılarak Coil 3`de İncelenen Reaktif Konsantrasyonları 153

Tablo 8.19. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 3 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri 155

Tablo 8.20. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Mısır Yağı Kullanılarak Coil 4`de İncelenen Reaktif Konsantrasyonları 156

Tablo 8.21. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 4 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri 157

Tablo 8.22. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde R2 Reaktifi Kullanılarak Farklı Reaksiyon Hücrelerinde (Coil) Gerçekleştirilen Mısır Yağı %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri 159

Tablo 8.23. PHP ve BTB İndikatörleri ile Gerçekleştirilen Otomatik enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaktifler 162

Tablo 8.24. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Mısır Yağı Kullanılarak (FFA: 0.09 ± 1.71x10-3) Farklı Reaktifler ile İncelenen Numune ve Reaktif Miktarları 162

Tablo 8.25. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 50 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 168

Tablo 8.26. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 50 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 168

Tablo 8.27. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 200 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 170

Tablo 8.28. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 200 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 170

Tablo 8.29. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 500 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 172

Tablo 8.30. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 500 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 172

Tablo 8.31. PHP İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin KOH Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği Oluşumunda Elde Edilen Piklere Ait Veriler ve Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 176

Tablo 8.32. PHP İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin PHP Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği Oluşumunda Elde Edilen Piklere Ait Veriler ve Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 177

Tablo 8.33. BTB İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin KOH Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği Oluşumunda Elde Edilen Piklere Ait Veriler ve Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 179

Tablo 8.34. BTB İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin BTB Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği Oluşumunda Elde Edilen Piklere Ait Veriler ve Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 180

Tablo 8.35. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler 183

Tablo 8.36. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 183

Tablo 8.37. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 50°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler 185

Tablo 8.38. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 50°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 185

Tablo 8.39. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler 187

Tablo 8.40. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 187

Tablo 8.41. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 20°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler 188

Tablo 8.42. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 20°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 189

Tablo 8.43. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler 191

Tablo 8.44. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 191

Tablo 8.45. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 60°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler 193

Tablo 8.46. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 60°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 193

Tablo 8.47. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler 195

Tablo 8.48. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 195

Tablo 8.49. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 197

Tablo 8.50. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 198

Tablo 8.51. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 200

Tablo 8.52. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 200

Tablo 8.53. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 201

Tablo 8.54. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 202

Tablo 8.55. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 204

Tablo 8.56. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 204

Tablo 8.57. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 206

Tablo 8.58. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 206

Tablo 8.59. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 208

Tablo 8.60. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 208

Tablo 8.61. n-Ppropanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 210

Tablo 8.62. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 210

Tablo 8.63. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 212

Tablo 8.64. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 212

Tablo 8.65. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 214

Tablo 8.66. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 214

Tablo 8.67. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 216

Tablo 8.68. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 216

Tablo 8.69. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 217

Tablo 8.70. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 218

Tablo 8.71. Etanol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 220

Tablo 8.72. Etanol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 220

Tablo 8.73. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 223

Tablo 8.74. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 223

Tablo 8.75. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 225

Tablo 8.76. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 225

Tablo 8.77. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 227

Tablo 8.78. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 227

Tablo 8.79. Etil alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 229

Tablo 8.80. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 229

Tablo 8.81. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 231

Tablo 8.82. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 231

Tablo 8.83. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 233

Tablo 8 84. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 234

Tablo 8.85. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 236

Tablo 8.86. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 236

Tablo 8.87. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler 238

Tablo 8.88. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları 238

Tablo 8.89. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak FIA ile Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla %FFA: 0.04 ± $1.46x10^{-3}$ olan Kanola Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 242

Tablo 8.90. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak FIA ile Gerçekleştirilen BTB İndikatörlü %FFA Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla %FFA: 0.04 ± $4.21x10^{-3}$ olan Kanola Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 243

Tablo 8.91. %FFA: 0.04-1.21 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PHP İndikatörlü %FFA Tayini için Doğrusallığın Hesaplanması 250

Tablo 8.92. FIA ile Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla %FFA: 0.04 -1.21 ± $1.46x10^{-3}$ Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve Doğrusallık Hesaplamalarından Elde Edilen İstatistiksel Değerler 251

Tablo 8.93. %FFA: 0.04-0.82 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile BTB İndikatörlü %FFA Tayini için Doğrusallığın Hesaplanması 252

Tablo 8.94. FIA ile Gerçekleştirilen BTB İndikatörlü %FFA Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla %FFA: 0.04 -0.82 ± $4.21x10^{-3}$ Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve Doğrusallık Hesaplamalarından Elde Edilen İstatistiksel Değerler 253

Tablo 8.95. Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayin Sonuçlarının Normal Dağılıma Uygunluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Kolmogorov-Smirnov Testi Sonuçları 256

Tablo 8.96. FIA ve Standart Metotlar Kullanılarak Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinden Hesaplanan %FFA Değerleri 258

Tablo 8.97. FIA ve Standart Metotlar Kullanılarak Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinden Hesaplanan %FFA Değerleri 261

Tablo 8.98. %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde edilen Piklere Ait Veriler 268

Tablo 8.99. %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Polinom Denklemleri & Korelasyon Katsayıları 269

Tablo 8.100. %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 269

Tablo 8.101. %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde edilen Piklere Ait Veriler 271

Tablo 8.102. %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Polinom Denklemleri & Korelasyon Katsayıları 272

Tablo 8.103. %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 272

Tablo 8.104. %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde edilen Piklere Ait Veriler 274

Tablo 8.105. %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Polinom Denklemleri & Korelasyon Katsayıları 275

Tablo 8.106. %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 275

Tablo 8.107. %25 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları..... 278

Tablo 8.108. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları..... 279

Tablo 8.109. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları..... 280

Tablo 8.110. %25 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 283

Tablo 8.111. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 284

Tablo 8.112. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 285

Tablo 8.113. %25 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 288

Tablo 8.114. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 289

Tablo 8.115. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 290

Tablo 8.116. %25 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 293

Tablo 8.117. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 294

Tablo 8.118. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 295

Tablo 8.119. %45 HAc Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen Piklere Ait Veriler 301

Tablo 8.120. %45 HAc Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen Piklere Ait Veriler 303

Tablo 8.121. %60 HAc Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen Piklere Ait Veriler 305

Tablo 8.122. %60 HAc Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen Piklere Ait Veriler 307

Tablo 8.123. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla PV: 11.76 ± 0.14 olan Mısır Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 310

Tablo 8.124. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla PV: 8.43 ± 5.05x10-3 olan Ayçiçek Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 311

Tablo 8.125. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla PV: 9.82 ± 2.71x10-2 olan Soya Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 312

Tablo 8.126. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla PV: 3.77 ± $2.15x10^{-3}$ olan Kanola Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 313

Tablo 8.127. PV: 3.58-14.89 Aralığında Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PV Tayini için Doğrusallığın Hesaplanması 316

Tablo 8.128. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla PV: 3.58-14.89 ± 5.05x10-3 Aralığında Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve Doğrusallık Hesaplamalarından Elde Edilen İstatistiksel Değerler 317

Tablo 8.129. FIA ve Standart Metotlar Kullanılarak Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Hesaplanan PV Değerleri 320

Tablo 8.130. Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler 332

Tablo 8.131. Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 333

Tablo 8.132. Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler 335

Tablo 8.133. Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 335

Tablo 8.134. Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler 337

Tablo 8.135. Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 337

Tablo 8.136. Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler 339

Tablo 8.137. Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 339

Tablo 8.138. Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler 341

Tablo 8.139. Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları 342

Tablo 8.140. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 7.82 ± 6.64x10-2 olan Mısır Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 345

Tablo 8.141. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 5.86 ± 9.55x10-2 olan Ayçiçek Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 346

Tablo 8.142. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 2.63 ± $1.56x10^{-2}$ olan Soya Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 347

Tablo 8.143. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 3.48 ± $1.32x10^{-2}$ olan Ayçiçek Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 348

Tablo 8.144. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 3.85 ± $8.48x10^{-2}$ olan Yer Fıstığı Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler 349

Tablo 8.145. AV: 7.15-8.27 Aralığında Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile AV Tayini için Doğrusallığın Hesaplanması 352

Tablo 8.146. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 7.15-8.27 Aralığında Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve Doğrusallık Hesaplamalarından Elde Edilen İstatistiksel Değerler 353

Tablo 8.147. FIA ve Standart Metotlar Kullanılarak Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Hesaplanan AV Değerleri 357

Tablo 8.148. %FFA, PV ve AV Tayinleri için Geliştirilen FIA Metotlarında Kullanılabilecek Alternatif Şartlar 363

Tablo 9.1. %FFA Tayinlerinin Gerçekleştirilmesinde Kullanılan Standart ve FIA Metotlarının Karşılaştırılması 367

Tablo 9.2. PV Tayinlerinin Gerçekleştirilmesinde Kullanılan Standart ve FIA Metotlarının Karşılaştırılması 368

Tablo 9.3. AV Tayinlerinin Gerçekleştirilmesinde Kullanılan Standart ve FIA Metotlarının Karşılaştırılması 368

Tablo 9.4. %FFA PV ve AV Geliştirilen FIA Metotlarının Tüm Yemeklik Yağlar için Kullanılabilecek Parametre Değerleri 369

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

- x_i : Ölçülen değer
- $\overline{x}$: Ortalama değer
- ± : artı-eksi
- ∑ : Toplam
- **A** : Pik alanı
- **a.d.** : Asitlik derecesi
- **Ab** : AV tayininde çözücü absorbansı
- Ab_{232} : 232 nm dalga boyundaki absorbans değeri
- Ab_{269} : 269 nm dalga boyundaki absorbans değeri
- **As** : Yağ çözeltisinin p-anisidin ile reaksiyonundan sonraki absorbansı
- C_0 : Başlangıçtaki analit konsantrasyonu
- C_{max} : Maksimum analit konsantrasyonu
- **CV** : Varyasyon katsayısı
- **D** : Dağılma katsayısı
- **E** : Mutlak hata
- **Er** : Bağıl hata
- **h** : Pik yüksekliği
- $H^{\bullet}$: Hidrojen radikali
- **I.D.** : Loop ve/veya tubing sarılan borunun iç çapı
- **i.d.** : Loop ve/veya tubing iç çapı
- **k** : Orantı katsayısı
- K_{232} : 232 nm`de konjuge dienlerin ölçümü
- K_{269} : 269 nm`de konjuge trienlerin ölçümü
- **m** : Analitik eğrinin eğimi
- **n, N** : Ölçüm sayısı
- **p** : Olasılık fonksiyonu
- **R** : Tekrar yapılabilirlik
- **r** : Tekrarlanabilirlik
- **RSD** : Bağıl standart sapma
- **S** : Analitik sinyal
- s^2 : Varyans
- **Ss** : Analitik sinyalin standart sapması
- **w** : Yarı pik genişliği
- X_i : Ölçülen değer
- X_t : Gerçek değer, kabul edilen değer

Kısaltmalar

- **%FFA** : Serbest yağ asitleri (% oleik asit cinsinden)
- **A, Abs.** : Absorbans
- **AOAC** : The Association of Official Analytical Chemists
- **AOCS Ca-5a-40** : Serbest yağ asidi tayini için AOCS metodu
- **AOCS Cd 18-90** : Anisidin sayısı tayini için AOCS metodu
- **AOCS Cd 8b-90** : Peroksit sayısı tayini için AOCS metodu
- **AOCS** : American Oil Chemists Society
- **AOM** : Aktif oksijen metodu
- **AV** : Anisidin sayısı

- **BHA** : Bütillenmiş hidroksi anisol
- **BHT** : Bütillenmiş hidroksi toluen
- **BTB** : Bromtimol mavisi indikatörü
- **CRM** : Sertifikalı referans madde
- **DHA** : **D**ocosa**h**exaenoic **a**sit
- **dk** : Dakika
- **DPPP** : Difenil-1-prenilfosfin
- **EPA** : **E**icosa**p**entaenoic **a**sit)
- **FAME** : Fatty acid methyl esters, yağ asidi metil esterleri
- **FI** : Akış enjeksiyon
- **FIA** : Akış enjeksiyon analiz
- **FID** : Flame Ionization Detector, Alev iyonlaşmalı dedektör
- **h** : Saat
- **HDL** : Yüksek yoğunluklu lipoprotein
- **LDL** : Düşük yoğunluklu lipoprotein
- **LOD** : Tayin limiti
- **LOQ** : Ölçüm limiti
- **mAU** : Mili absorbans unit
- **MCR-ALS** : Multivariate Curve Resolution- Alternating Least Squares
- **MMT** : Metilsiklopentadienil manganez trikarbonil
- **$OH^{\bullet}$** : Hidroksil radikali
- **OMS** : Kokusuz mineral ispirto
- **PA-FI** : Paralel akış enjeksiyon
- **PHP** : Fenolftaleyn indikatörü
- **PRM** : Primer referans madde
- **PV** : Peroksit sayısı
- **$R^{\bullet}$** : Serbest radikal
- **R-H** : Yağ asidi
- **$ROO^{\bullet}$** : Lipid peroksi radikali
- **ROOH** : Hidroperoksit
- **s** : Saniye & Standart sapma
- **SI** : Sequential (ard arda) enjeksiyon
- **SIA** : Sequential (ard arda) enjeksiyon analizi
- **SR** : Spektral tekrar oluşum
- **TBARS** : 2-tiyobarbürik asit ile raksiyon veren maddeler
- **TBHQ** : Tersiyer bütil hidrokinon
- **TFA** : Trans yağ asitleri
- **TOTOX** : Total Oxidation Value, toplam oksidasyon değeri
- **TPP** : Trifenilfosfinin
- **TPPO** : Trifenilfosfin oksit
- **VK_3** : 2-metil-1,4-naftokinon
- **VLDL** : Very low-density lipoprotein, çok düşük yoğunluklu kolesterol
- **WRM** : Çalışma referans madde
- **TGK** : Türk gıda kodeksi

1. GİRİŞ

İnsanlar için en önemli besin maddelerinden biri olan yağlar, vücutta enerji kaynağı olarak kullanılmalarının yanı sıra; yağda eriyen vitaminlerin emilmesi, esansiyel yağ asitlerinin kaynağı olması, hücre membranlarının yapısında yer alması gibi oldukça etkili fonksiyonlara da sahiptir.

İnsan hayatında böylesi öneme sahip olan yağlar, insanların kullanımına sunulmadan önce, yağın kendine has doğal özelliklerini koruması ve bazı parametre değerlerine sahip olması gerekir. Bu sebeple; ham yağlar işlenmeden önce, üretim sırasında ve sonrasında birçok yöntem, alet ve ekipman kullanılarak çeşitli analizlere tabi tutulurlar. Serbest yağ asidi (%FFA), peroksit sayısı (PV), anisidin sayısı (AV) gibi tayinler, yemeklik yağ analizlerinden önemli birkaç tanesidir. Şimdiye kadar standart metotlar kullanılarak gerçekleştirilen bu analizler, yağın durum ve kalitesini tespit etmek amacıyla (yağın işlem basamağının hangi aşamasında olduğuna ve bu aşamadaki yağın durumuna göre işleme son verilip verilmemesi gerektiğine karar vermek), bir yağ firmasında günde yüzlerce kez yapılmak zorundadır.

Oldukça maliyetli olan ve genellikle titrasyon esasına dayanan "standart metotlar", oldukça uzun zaman alan, fazla miktarda numune ve çözücü (çevre sağlığı açısından potansiyel tehlike oluşturabilecek) sarfiyatı gerektiren ve yağ analizlerinin istenilen ölçüde gerçekleştirilebilmesi için gerekli ortam şartlarının sağlanmasında yetersiz kalan tekniklerdir. İstenmeyen bu özellikler, ancak reaksiyonların oluşumu için gerekli izolasyonun sağlanabileceği sistemlerin oluşturulmasıyla bertaraf edilebilir. Bu nedenle; standart metotlara alternatif olabilecek, zaman ve çözücü sarfiyatı açısından tasarruf sağlayacak, çevre dostu, yeni metotların geliştirilmesi, optimize ve valide edildikten sonra da uygulamaya geçirilmesi gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında; resmi metot olarak American Oil Chemists Society (AOCS), Association of Official Analytical Chemists (AOAC), the European Commission of Standardisation, British Standard Institution gibi kuruluşlar tarafından önerilen standart metotlara alternatif olacağı düşünülen ve pek çok avantaja sahip olan akış enjeksiyon analiz (FIA) metotları kullanılarak; Türkiye`de tüketimi diğer yağlara kıyasla daha yaygın olan *ayçiçeği, mısır, soya, kanola, yer fıstığı* gibi bitkisel yağların (gerek nihai ürün-rafine yağ, gerekse ara ürünler) serbest

yağ asidi (%FFA), peroksit sayısı (PV) ve anisidin sayısı (AV) gibi kalite-kontrol analizlerinin kısa zamanda, düşük maliyetle ve tekrarlanabilirliği yüksek sonuçlarla gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Akış enjeksiyon analiz (FIA) sistemleri; sulu ve susuz ortamdaki pek çok türün kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesinde kullanılan; mikro seviyede numune enjeksiyonu gerektiren, kesinliği yüksek sonuçların elde edilebildiği, son zamanlarda kullanımı oldukça yaygınlaşmış otomatikleştirilmiş sistemlerdir.

Kolay taşınabilirliği, az çözücü kullanımını gerektirmesi ve kısa zamanda, düşük maliyetle hızlı analizlerin gerçekleştirilmesine olanak sağlaması sebebiyle, sulu çözeltiler için oldukça sık kullanılan bu yöntem, son on yıla bakıldığında; yemeklik yağlar için de literatürde yer almaya başlamış, fakat gerçekleştirilen çalışmalar istatistiksel ve analitiksel açıdan oldukça yetersiz kalmıştır. Ayrıca; bu konuda yapılmış çalışmalar, sadece nihai (rafine yağlar) ürünler üzerinde gerçekleştirilmiş, ham yağ cinsi ve içerisinde bulunan yabancı madde miktarları göz önünde bulundurulmadığı gibi, rafinasyon kademelerinde oluşan ara ürünlere yönelik de herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu sebeple; sunulan bu tez çalışmasının, analitiksel ve istatistiksel olarak yeni ufuklar açacağı düşünülmekte, önceki çalışmaların geliştirilmesini sağlama, yapılacak çalışmalara ise yol gösterme açısından son derece etkili olacağı beklenmektedir.

Yemeklik yağ analizlerini otomatikleştirmeyi amaçlayan bu tez çalışmasında; atmosferik oksijenden ve ışıktan izole edilmiş bir akış enjeksiyon sistemi oluşturulmuş ve meydana gelmesi istenilen reaksiyonların tam olarak gerçekleşmesi için farklı özellikteki reaksiyon hücreleri, deneysel şartlara bağlı olarak sisteme adapte edilmiştir. Analiz edilecek yağ numunesinin fazla miktarda kimyasal ve çözücü sarfiyatı gerektiren herhangi bir ön işlemden geçirilmeden direk enjekte edilmesi de önerilen metodun üstünlüklerinden biridir. Mikro seviyede numune enjeksiyonu ve çözücü sarfiyatı ile gerçekleştirilen analizlere ait parametre değerlerinin optimizasyonu sağlandıktan ve metot valide edildikten sonra ise; FIA yöntemi ile elde edilen veriler, standart metotlar kullanılarak elde edilen verilerle istatistiksel olarak karşılaştırılarak, FIA metodunun üstünlüğü ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Yukarıda özetlenen hususlar sebebiyle; bazı temel yağ analizleri için geliştirilen akış enjeksiyon analiz metodunun, otomasyon-hız, çevre dostu olması gibi açılardan "iyileştirme ve ilerleme" sağlamaya yönelik bir metot olduğu düşünülmekte, yağ sanayi sektöründe uygulanabilirlik kazanması durumunda ise; ülkemize daha fazla katma değer getiren kaliteli ürün üretiminin sağlanacağına inanılmaktadır.

Sunulan tez çalışmasının amacına ve uygulanmasına yönelik yukarıda belirtilen hususlar göz önünde bulundurularak, tez içeriğinde yer alan teorik kısımda; öncelikle yemeklik yağların önemli özelliklerinden ve rafinasyonundan kısaca bahsedilmiş, ardından son yıllarda analitik kimyadaki en önemli gelişmelerden olan otomatikleştirilmiş sistemlere değinilmiştir. Otomatikleştirilmiş sistemler arasında yer alan ve sunulan tez çalışmasının içeriğini oluşturan akış enjeksiyon analizlerinin (FIA) önemi ve uygulanmasından da bahsedildikten sonra, analitik yöntem validasyonu ve kaynak araştırması kısımları eklenerek, teorik kısım tamamlanmıştır.

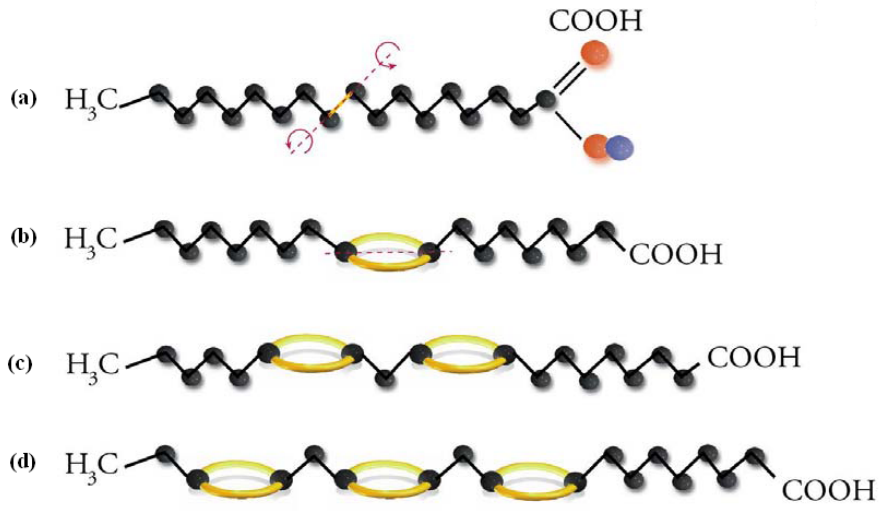
1.1. Yağın Tanımı ve Önemi

Yağlar, karbonhidratlar ve proteinler gibi insan vücudu için yaşamsal değeri olan ve insanların beslenmesinde önemli yer tutan temel ihtiyaç maddelerinden biridir *(Demirci, 2005)*. Özellikle doymuş yağ oranlarının düşük olması, hücre yapısı için gerekli olan serbest yağ asitlerini içermesi ve insan vücudunda A,D,E,K gibi yağda eriyen vitaminleri çözmesi gibi özellikleri ile bitkisel yağlar, insan sağlığına katkıları ve yüksek besin değerine sahip olmaları bakımından ayrı bir yere sahiptir *(Gadoth, 2008)*.

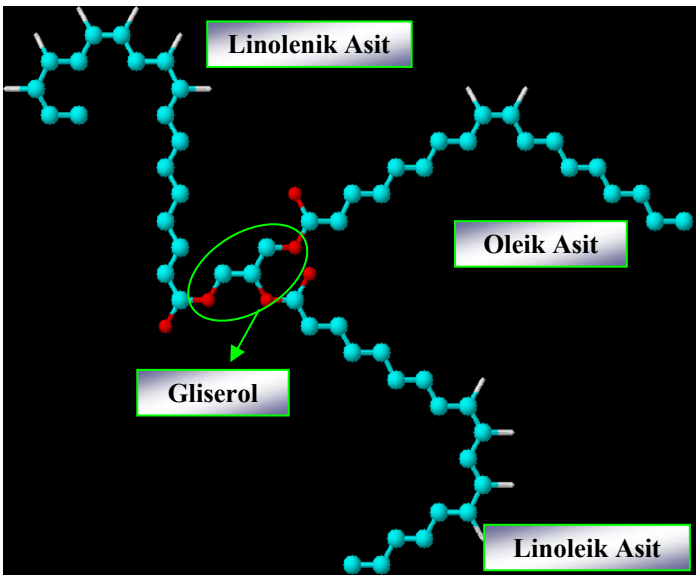
Yağlar; insanların sağlıklı beslenmesi, çocukların büyümesi, yaşlanma, fizyolojik tüm faaliyetlerin normal gelişmesi, hastalıklardan korunma ve tedavilerin başarılı olması gibi hayati konularda en önemli unsurların başında gelir. Sağlıklı beslenmenin temeli, kabaca beş önemli madde grubunun vücuda yeterli, uygun ve yüksek kalitede alınmasına dayanır. Bunlar; proteinler, yağlar, karbonhidratlar (şekerler), vitaminler ve minerallerdir.

İnsan beslenmesinde ve fizyolojik ihtiyaçların karşılanmasında yaşamsal önem taşıyan ve temel gıda maddeleri arasında ilk sıralarda yer alan yağlar, yağ asitleri ile gliserinin esterleşmesi sonucu oluşurlar. ***Şekil 1.2.***`de oleik, linoleik ve

linolenik asitten oluşan bir trigliseridin yapısı görülmektedir. Tüm gerçek yağların bileşiminde yağ asitleri bulunur ***(Şekil 1.1.)***. Bu bakımdan yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerini, bileşimlerindeki yağ asitleri belirler *(Baydar, 2000)*. Şekil 1.3.`de bazı yağlara ait yağ asit kompozisyon değerleri yer almaktadır.

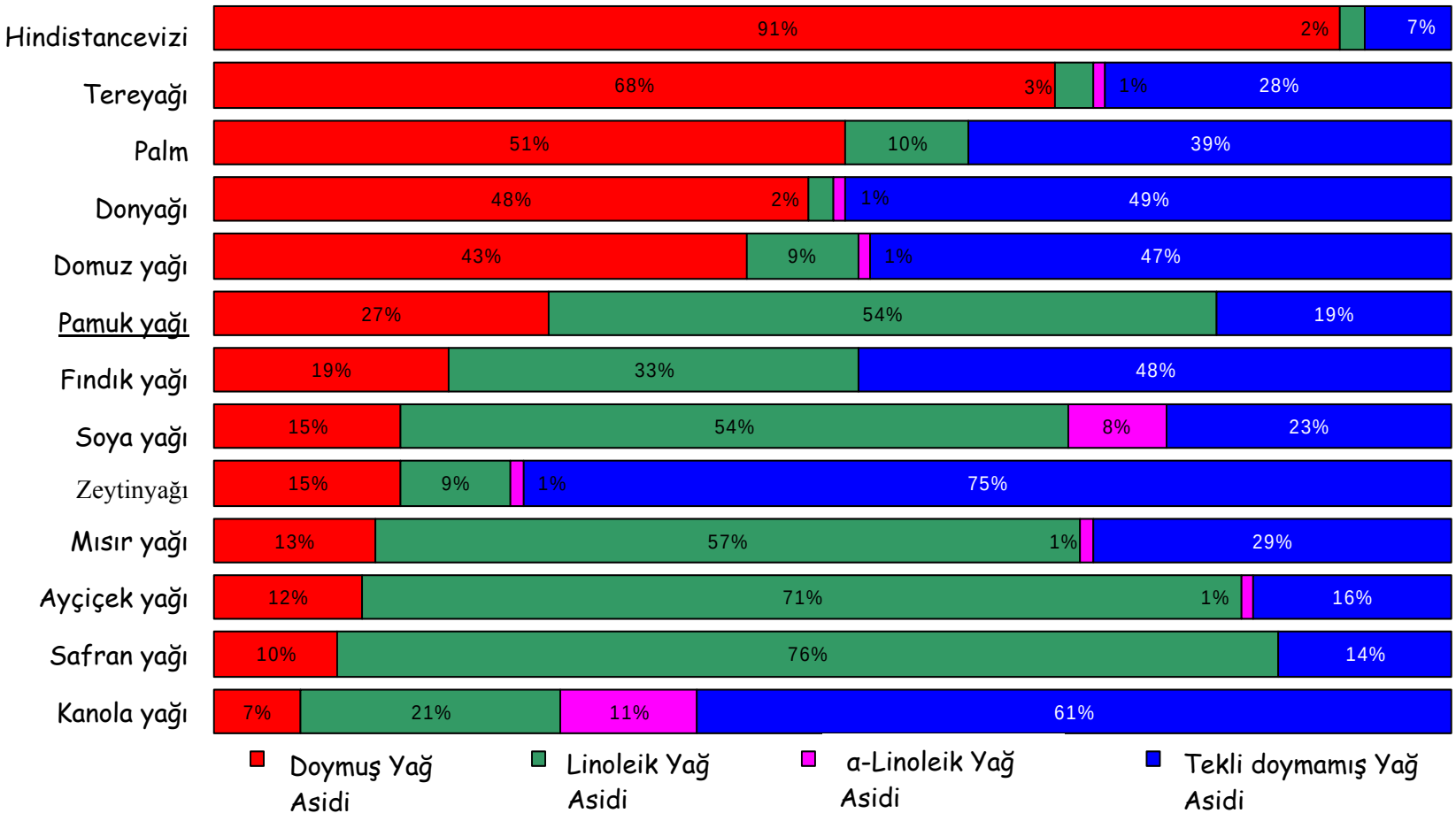


Şekil 1.1. Yağların Bileşiminde Bulunan Bazı Temel Yağ Asitleri **(a)** stearik asit, **(b)** oleik asit, **(c)** linoleik asit, **(d)** linolenik asit

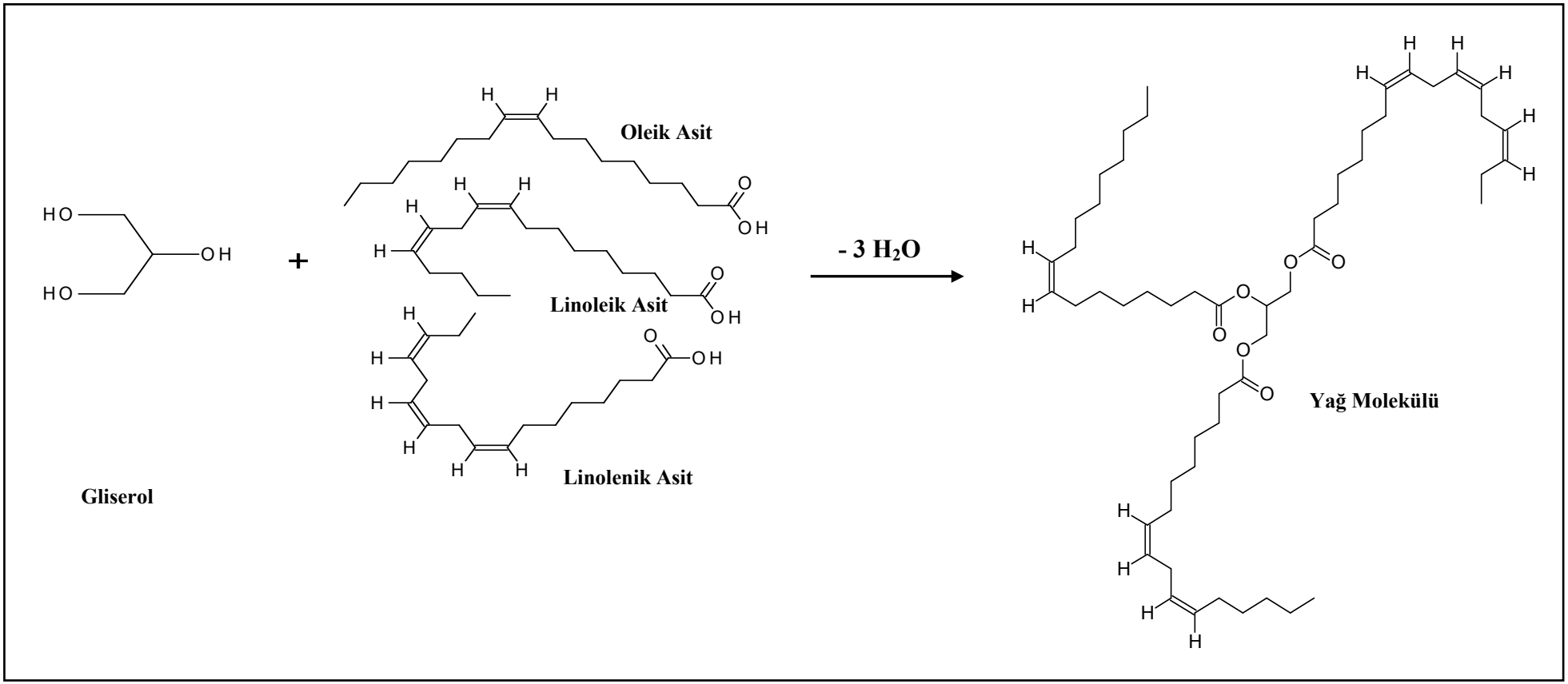


Şekil 1.2. Yağın Kimyasal Yapısı

Yağlar, yoğun bir kalori kaynağı olmak ve enerji ihtiyacının büyük bir kısmını zorunlu olarak karşılamanın yanında gliserin ve serbest yağ asitlerine kolayca parçalanabilir bir özelliktedir. Bütün yenebilen yağlar aynı iskelete sahiptirler. Farklı yağlardaki R_1, R_2, R_3 köklerindeki karbon sayısı, çift bağ miktar farklı olabilir.



Şekil 1.3. Bazı Yağlara Ait Yağ Asit Kompozisyon Değerleri, *% (Arslan, 2009)*



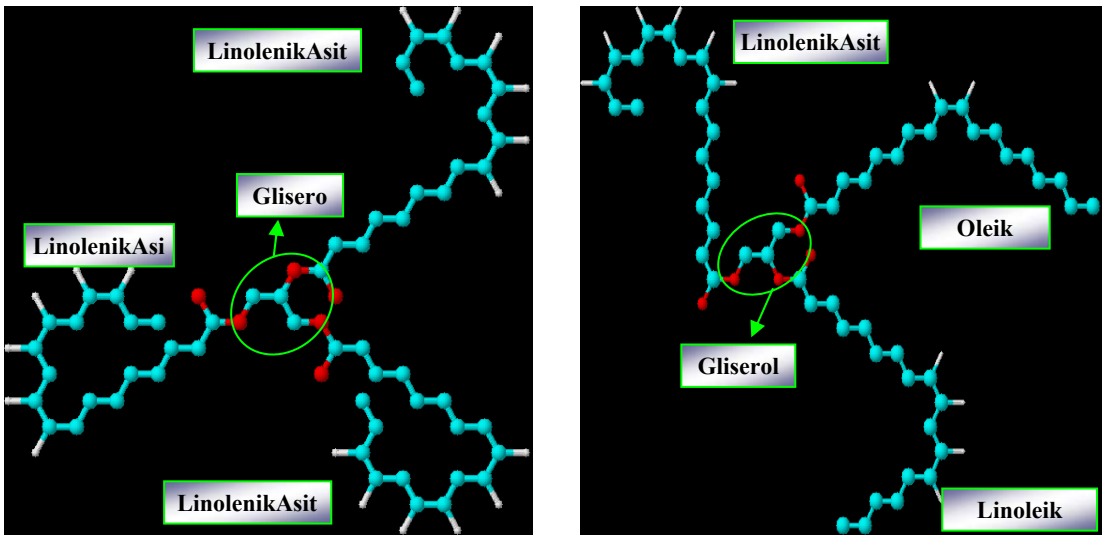
Şekil 1.4. Oleik, Linoleik ve Linolenik Asitten Oluşan Trigliserit Yapı *(Arslan, 2009)*

1.2. Yağın Temel Bileşenleri

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

- **trigliseridler**

Trigliseridler yapılarındaki yağ asitlerinin kompozisyonuna göre ikiye ayrılırlar. Trigliseridin yapısındaki yağ asitlerinin üçü de aynı ise "basit trigliserid" olarak isimlendirilir. Eğer iki veya üç farklı yağ asidinden oluşuyorsa bu tip trigliseridlere "karışık trigliserid" denir. Her iki trigliserid formülü ***Şekil 1.5.***`de sembolize edilmiştir.



BASİT TRİGLİSERİT **KARIŞIK TRİGLİSERİT**

Şekil 1.5. Basit ve Karışık Trigliserit Yapılar

- **mono ve digliseridler**

Mono ve digliseridler yağ asitleri ile gliserolün oluşturduğu mono ve dioesterlerdir. Mono ve digliseridler kıvam artırıcı (emülsifler) olarak önem arz eden bileşiklerdir. Bu amaçla gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Mono ve digliseridler, gliserol ile trigliseridlerin reaksiyon ortamında yağ asidi değişimi yoluyla veya gliserol ile yağ asitlerinin esterifikasyonu ile ticari ölçekte

üretilmektedir. Sindirim sisteminde trigliseridlerin normal parçalanması ile mono ve digliseridler meydana gelmektedir. Hayvansal ve bitkisel yağlarda ise çok az miktarlarda doğal olarak oluşurlar.

- **serbest yağ asitleri**

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

- **fosfatidler**

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

- **steroller**

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

- **yağ alkolleri**

Yemeklik yağların büyük bir kısmında uzun zincirli yağ alkollerinin önemi çok azdır. Bazı bitkisel sıvı yağlarda yağ asitleri ile yağ alkollerinin esterleri olan mumlar çok az miktarda bulunur. Ancak bazı marina yağlarında çok daha fazla mum içeriğine rastlanmıştır. Bunlar kara hayvanı yağlarında veya bitkisel sıvı yağlarda büyük bir öneme sahip değildir.

- **tokoferoller**

Tokoferoller, pek çok bitkisel yağda doğal olarak bulunan önemli izo bileşenlerdir. Bunlar bitkisel yağların oksidatif stabiliteleri yönünden yardımcı olan başlıca tabii antioksidanlar olarak kabul edilmektedir. Ayrıca yağda çözünün E vitamininin kaynağıdırlar.

1.3. Yağların Rafinasyonu

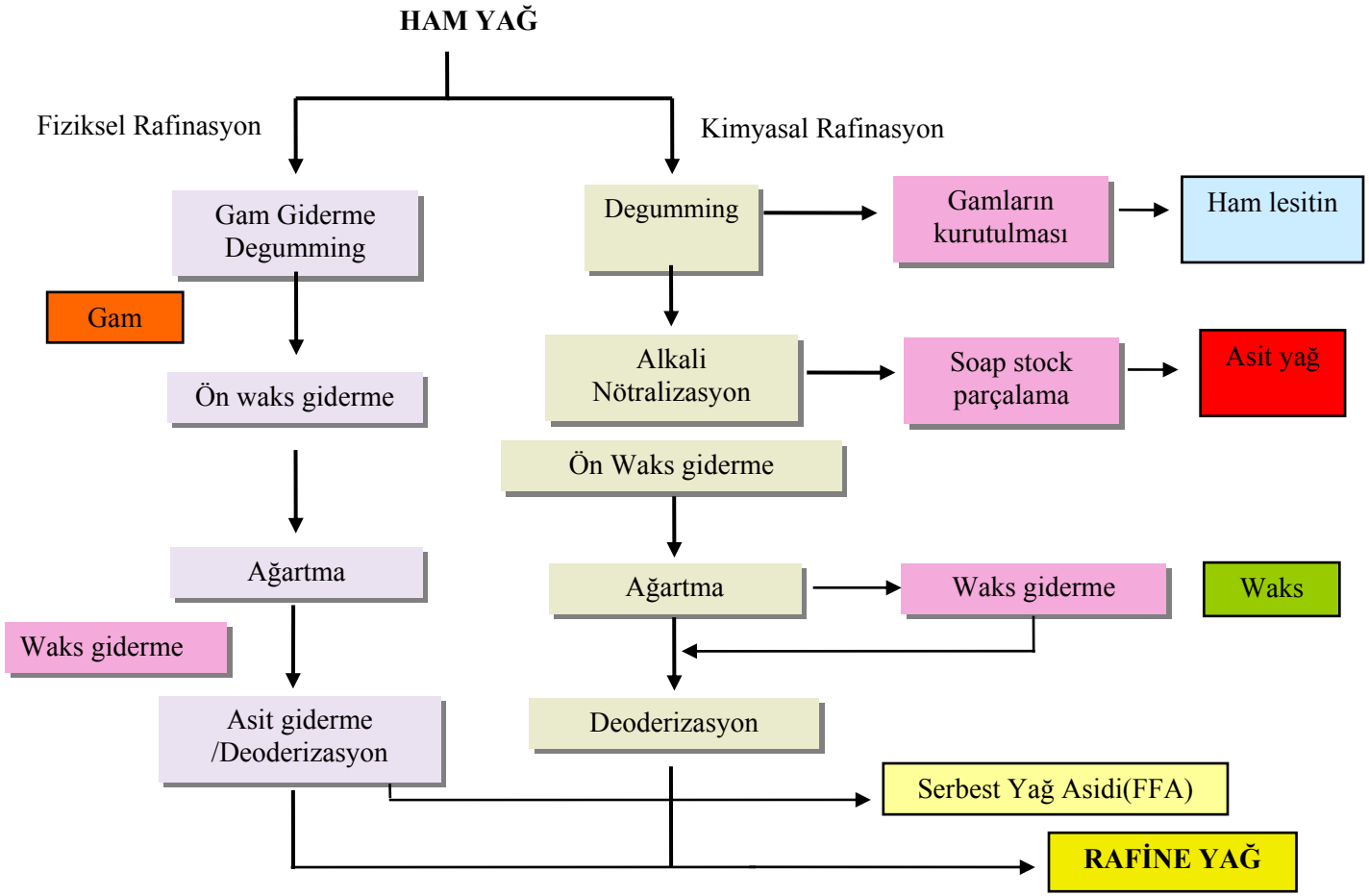
Yağların, insanların kullanımına sunulabilmeleri yani; yağın tüketime uygun özellikler kazanması için çeşitli faktörler sebebiyle ham yağda bulunan safsızlıkların dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmaları gerekmektedir, bu ise; yağların rafine edilmesi ile mümkündür. Rafinasyon işleminin esasını; yağın trigliserit yapısını bozmadan ve antioksidant görevi yapan ve E vitamininin sentezlendiği öncü moleküller olan doğal tokoferollere zarar vermeden, tüketime engel olan safsızlıkların uzaklaştırılması teşkil eder.

Ham yağlar ne kadar özenli ve temiz elde edilirse edilsin mutlaka rafinasyon işlemine tabii tutulmalıdır. Çünkü tüketici açık renkli, kokusuz, serbest yağ asidi bulunmayan ve berrak yağ satın almak ister. Rafine edilmeden tüketilen tek bitkisel yağ, iyi kalite zeytinlerden elde edilen zeytinyağıdır. Fakat kötü vasıfta olan zeytinyağları da rafine edilir. Türkiye'nin kırsal kesinimde ayçiçeği, susam, haşhaş vb. gibi hammaddelerden elde edilen yağların yerel halk tarafından rafine edilmeden de tüketildiği bilinmektedir.

Yağlarda rafinasyon işlemi kimyasal ve fiziksel olmak üzere iki yöntemle yapılmaktadır: Kimyasal rafinasyonda; degumming, nötralizasyon, ağartma, kışlandırma-vinterizasyon ve deoderizasyon kademeleri yer alırken, fiziksel rafinasyonda ise degumming, ağartma ve vinterizasyonu takiben son aşamada nötralizasyon ve deoderizasyon işlemleri birlikte yapılır ***(Şekil 1.6.)***.

Yağ Rafinasyonu

Kimyasal	***Fiziksel***
Degumming	Degumming
⇓	⇓
Nötralizasyon	Ağartma
⇓	⇓
Ağartma	Vinterizasyon
⇓	⇓
Vinterizasyon	Deoderizasyon / Nötralizasyon
⇓	
Deoderizasyon	



Şekil 1.6. Fiziksel ve Kimyasal Rafinasyon Kademeleri

✦ **Degumming (Musilaj Giderme)**

Rafinasyondaki ilk kademedir. Bu kademe, ham yağda bulunan ve uzaklaştırılmadığı takdirde rafinasyonda kayıplara sebep olan fosfolipidler, proteinler ve gumlar gibi maddelerin hidratlaştırılarak, yağdan uzaklaştırılmalarını içerir. Bu maddeler susuz yapıları nedeniyle ham yağda çözünen maddelerdir fakat hidratlandıkları zaman çözünürlükleri kaybolmaktadır. Hidratlanabilen fosfolipidler bu şekilde ham yağdan uzaklaştırılırken, hidratlanamayan fosfolipidler ise asitle muamele edilerek yağdan uzaklaştırılırlar *(Szydlowska-Czerniak, 2007)*.

Degumming işlemi sonunda elde edilen yağın, vakum altında kurutulmasıyla degummed yağ elde edilir. Bu işlemde 500-700 ppm fosfor (P) içeriği ile giren ham yağ, max 200 ppm P (*beklenen miktar 60-90 ppm P*) ile sistemden çıkar. İşlem sırasında separatörler yardımıyla ayrılan musilaj maddeleri lesitin eldesinde kullanılır.

Degumming kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:

- Fosfatidler
- Proteinler
- Nişasta
- Metaller
- …

Oluşan Maddeler:

- Fosforik asit esteri
- Serbest yağ asidi
- Fosfatitik asit
- …

✦ **Nötralizasyon (Asitlik Giderme)**

Rafinasyondaki ikinci kademedir. Bu kademe, serbest yağ asitlerinin bazlarla nötralizasyonunu içerir. Asitlik giderme (nötralizasyon) işleminde yaygın olarak kullanılan yöntem; serbest yağ asitlerinin (FFA), NaOH ile sabunlaştırılması sonucu oluşan sodyum sabunlarının soapstokla birlikte uzaklaştırılmasıdır. Soapstok; bitkisel ham yağların rafinasyonunda, serbest yağ asitlerinin NaOH ile nötralizasyonundan sonra yer alan yıkama işleminde ayrıştırılan yan üründür.

Nötralizasyon kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:

- Serbest yağ asitleri
- Fosforik asit
- Fosfolipid
- Fenolik Bileşikler
- Metaller

Oluşan Maddeler:

- Sabun
- Digliserid
- Su
- …

✦ **Ağartma**

Rafinasyondaki üçüncü kademe olan ağartma kademesi; ham yağın doğal olarak içerdiği renk verici pigmentlerinin ve yağa koyu renk veren diğer çeşitli maddeler başta olmak üzere; bu basamaktan önceki işlemlerde yeterince uzaklaştırılamamış fosfolipidler, oksidasyon ürünleri, iz metalleri, sabun kalıntıları gibi maddelerin uzaklaştırılmasını içermektedir. Ağartma işlemi; yağın oksidasyon kararlılığını azaltan ve tadını bozan bu maddelerin uygun bir adsorban madde üzerinde tutulması ve işlem tamamlandıktan sonra kullanılan adsorbanların filtrasyon yardımı ile yağdan uzaklaştırılmasını esas alır.

Ağartma kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:

- Renkli maddeler
- Fosfatidler
- Hidroperoksitler
- Metaller
- Sabun
- Fosforik asit

Oluşan Maddeler:

- Trans yağ asidi
- Keton ve aldehitler
- Konjuge dimer ve polimerler
- Polar maddeler
- FFA
- …

✦ **Vinterizasyon**

Rafinasyondaki dördüncü kademedir. Vinterizasyon; kademeli olarak soğutulan ve düşük sıcaklıklarda yavaş bir karıştırma eşliğinde bekletilen yağda

oluşan kristallerin süzülerek uzaklaştırılması işlemidir. Yağlarda bulunan doymuş trigliseritlerin; özellikle de stearinlerin, 8-10°C`de donarak yağa bulanık renk vermelerini önlemek amacıyla yapılır.

Vinterizasyon kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:

- Stearin
- Vakslar
- Parafin

Oluşan Maddeler:

- Perlit
- Katı parçacıklar
- …

✦ **Deoderizasyon**

Rafinasyon işleminin son kademesidir. Bu işlemin amacı yağa koku, tat-aroma, asitlik ve renk veren maddelerin 220-300^{o}C arasındaki sıcaklıklarda uzaklaştırılmasıdır *(Mounts, 1981)*. Deodorizasyon işlemi sırasında yağdan uzaklaştırılan maddeler; sabunlaşan maddeler (serbest yağ asitleri, kısmi gliseridler, metilik esterler, mumsu maddeler), sabunlaşmayan maddeler (parafinik hidrokarbonlar, olefinik ve poliolefinik maddeler, steroller, triterpenik alkoller) ve oksidatif tepkimeler sonucu oluşan ürünler (aldehitler, ketonlar, peroksitler) olmak üzere üç grup altında toplanır.

Deoderizasyon kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:

- Serbest yağ asitleri
- Karatenoidler
- Aldehit ve ketonlar
- Hidrokarbonlar
- Pestisitler

Oluşan Maddeler:

- Trans yağ asitleri
- Konjuge dimer ve polimerler
- Hidrokarbonlar
- Sabit renkli maddeler
- …

1.4. Yağ Analizleri ve Önemi

İnsan hayatında birçok önemli fonksiyonu bulunan yağların, insanların kullanımına sunulmadan önce, kendine has doğal özelliklerini koruması ve bazı parametre değerlerine sahip olması gerekmektedir. Bu sebeple; yağlar üretim

öncesinde, üretim sırasında ve üretim sonrasında, birçok yöntem, alet ve ekipman kullanılarak çeşitli analizlere tabi tutulmaktadırlar. Şimdiye kadar standart metotlar kullanılarak gerçekleştirilen bu analizler;

- yağın durum ve kalitesini belirlemek,
- yağın işlem basamağının hangi aşamasında olduğuna karar vermek,
- yağın durumuna göre işleme son verilip verilmeyeceğine karar vermek amacıyla yapılmaktadır.

✦ **Fiziksel yağ analizleri**

- erime noktası tayini
- renk tayini (iyot karşılaştırma yöntemiyle)
- özgül ağırlık tayini (piknometre veya hacim ölçülmesiyle)
- akma, damlama ve katılaşma noktası tayinleri
- yağın düşük sıcaklığa dayanıklılığı
- yağlarda kırılma indeksinin tayini (abbe veya zeiss refraktometresiyle)
- yağların ışık absorpsiyonu (UV spektrofotometresiyle)
- yağlarda viskozite tayini (ostwald, saybolt veya engler viskozimetrisiyle)

✦ **Kimyasal yağ analizleri**

- serbest yağ asitleri (%FFA) tayini
- peroksit sayısı (PV) tayini
- anisidin sayısı (AV) tayini
- iyot sayısı (IV) tayini
- yağ asit kompozisyonu tayini
- sabunlaşma sayısı tayini

Yukarıda yer alan kimyasal yağ analizlerinden, bu tez kapsamında yer alan serbest yağ asidi (%FFA), peroksit sayısı (PV) ve anisidin sayısı (AV) tayinlerinin öneminden kısaca bahsedilmiştir:

- **Serbest yağ asitleri (%FFA)**

Yağın üretimi, depolanması ve marketlenmesinde en sık belirlenen kalite parametrelerinden biridir. %FFA içeriği, trigliserid moleküllü ester bağlarından serbest bırakılan yağ asitlerinin yani hidroliz büyüklüğünün (parçalanmanın) bir ölçüsüdür. Yüksek %FFA içeriği, yağ kalitesinin düşük olduğunu gösterir.

Serbest yağ asitleri;

- ✓ yağların doğal yapısında bulunabileceği gibi (yağlı tohum ve meyvelerdeki lipaz enzimi etkisiyle),
- ✓ yağ asitlerinin ekstraksiyonu & rafinasyonu gibi işlemler sırasında (kötü işleme nedeniyle) hidroliz sonucu,
- ✓ pişirme, özellikle kızartma işlemleri sırasında,
- ✓ yağlık tohum & meyvelerin ve rafine yağların depolanması sırasında oluşabilir.

- **Peroksit sayısı (PV)**

Yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının ölçüsü olup, 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin meq cinsinden miktarıdır. Peroksitler, gıdalardaki oksidatif bozulmanın belirtecidirler, bu sebeple yağların üretiminden önce, üretim sırasında ve üretim sonrasında sıklıkla kontrol edilmelidirler.

- **Anisidin sayısı (AV)**

Birincil oksidasyon ürünleri olarak nitelendirilen ve oldukça kararsız bir yapıya sahip olan peroksitlerin bozunması sonucu meydana gelen aldehit, keton ve konjuge dien (ikincil oksidasyon ürünleri) gibi bozunma ürünlerinin miktarını belirlemede kullanılan önemli bir parametredir.

2. YEMEKLİK YAĞLARDA OKSİDASYON

2.1. Yağlarda Bozulma

Oksidatif kararlılık, bitkisel yağ kullanıcıları ve üreticileri için önemli bir kalite kontrol özelliğidir. Yağların oksidasyonu, doymamış yağ asitlerindeki çift bağlarda meydana gelen, çeşitli oksidasyonların gelişmesine veya *aldehitler, ketonlar, asitler* ve *alkoller* gibi bozunma reaksiyon ürünlerine yol açan bir bozulma sürecidir *(Sherwing, 1978)*. Birçok sebeple parçalanan bu bileşikler olumsuz bir biçimde yağ içeren besinlerin tadını, aromasını, besleyici değerini, kısacası tüm kalitesini etkilemektedirler. Meydana gelen bu bileşiklerin yoğunluğu; yiyecek çeşitlerine, yapılan işleme, paketlemeye ve depolama durumlarına bağlı olarak değişmektedir *(Kanner and Rosenthal, 1992).*

Yağlarda mikrobiyolojik bozulma dışındaki diğer bozulmalar 4 grupta incelenmektedir. Bunlar;

1. ***Hidroliz:*** Trigliseridin serbest yağ asitleri ve gliserole parçalanması şeklinde meydan gelen bu olay genel olarak "sabunsu" koku şeklinde karakterize edilir. Bu olayda istenmeyen kokular, daha çok kısa zincir uzunluğuna sahip yağ asitleri (6-12 C`lu) içeren trigliseridlerin hidrolizi ile ortaya çıkmaktadır. Dönüşümlü olarak meydana gelen hidroliz reaksiyonunu; mineral asitler, yüksek sıcaklık ve lipolitik enzimler katalizleyebilir.

2. ***Ransidite:*** Doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu ile çeşitli uçucu bileşiklerin oluşumu[(1)] olarak ifade edilen ransidite, gıda endüstrisinde yaygın kullanılan bir terimdir. Ransidite sonucu oluşan kötü tat, üründe arzulanmamaktadır.

3. ***Dönüşüm (Reversion):*** Koku ve kokunun değişimi olarak ifade edilen bu bozunma tipi ise; yağlı ürünlerde ve yağlarda bulunan yüksek derecedeki yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda ortaya çıkmaktadır. Ancak bu olayda oksidasyon çok ilerlemediğinden henüz ransidite gerçekleşmemiş, sadece istenmeyen tat ve aroma oluşmuştur. Bu olay özellikle linolenik asitli yağlarda daha çok ortaya çıkan bir değişimdir.

---

(1) Yenilebilen yağların oksidasyonu sıklıkla oksidasyon oranını yükselttiği için reaksiyon ilerlemeleri otooksidasyon diye tanımlanır.

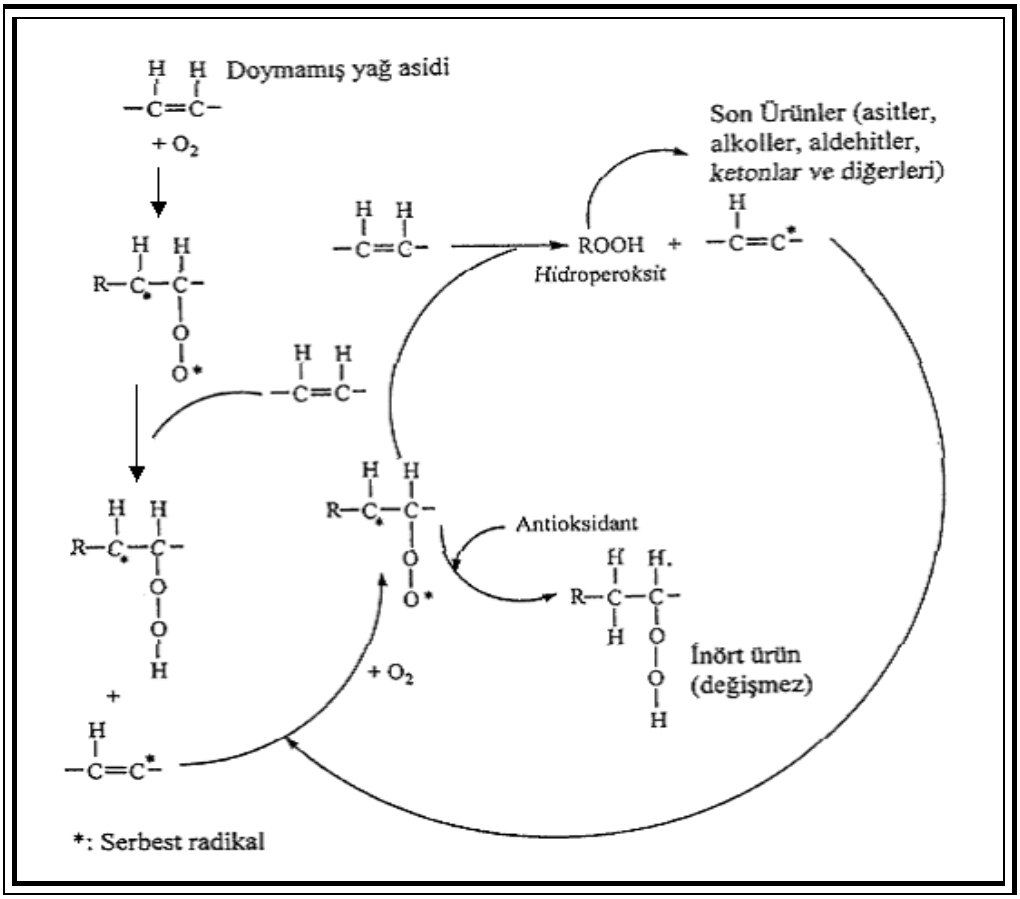
4. ***Polimerizasyon:*** Polimerizasyon doymamış yağ moleküllerinin (trigliseridlerin) aktif karbon atomu arasındaki çapraz bağlanma olarak ifade edilmektedir. Polimerler iki yağ asidi zincirinin doymamış kısımlarından oksijenle birbirine bağlanması sonucu meydana gelmektedir. Çapraz bağlantı ve oksijen köprüleri ile bağlanma durumunda siklik yapılar da oluşabilmektedir.

Antioksidant bileşikler ransidite ve polimerizasyonu engellemede veya azaltmada etkili olurken, hidroliz ve dönüşümde etkili olmamaktadırlar. Bu değişimlerin birine ya da birkaçına maruz kalan yağlarda *oksi yağlar*, *hidroksi asitler, gliserol* ve *diğer alkoller, aldehitler, ketonlar, laktonlar* oluşabilmektedir.

2.2. Oksidasyonun Oluşumu ve Önemi

Gliserid moleküllerinin çeşitli şekillerde hidrolizi sonucu yağ asitleri meydana gelir ve buna bağlı olarak da yağın serbest yağ asidi içeriği artar. Hidrolitik ransidite de denilen bu reaksiyon, enzim ve kataliz yardımıyla sulu ortamda gerçekleşmektedir. Oluşan serbest yağ asitlerinin ileri derecede çeşitli reaksiyonlara uğraması ise, yağın acıması ve tüketilemez duruma gelmesine neden olur. Bu reaksiyon sonucu meydana gelen uzun zincirli yağ asitleri (C16-C20) belirli bir sınırı aşmadıkça yağın koku ve tadında önemli bir değişiklik meydana gelmez, ancak; bütirik, hekzanoik, oktanoik ve dekanoik asitler gibi kısa zincirli yağ asitleri tatta çok önemli değişiklikler meydana getirmekte ve yağın acılaşmasına neden olmaktadır.

Atmosfer oksijeninin, yağ asidi molekülünün çift bağlarına tesir etmesiyle oluşan acılaşmaya ise oksidatif ransidite denir. Bu acılaşma sonucunda yağın tat ve aroması üzerinde önemli etkiye sahip ürünler meydana gelir. Okside olmuş yağların dumanlanma ve ateşlenme noktaları düşer. Buna bağlı olarak yağın kızartmalık kullanımı sınırlanır. Bu tip yağlar kullanılarak kızartılan ürünlerin renklerinde koyulaşmalar görülür ve istenmeyen koku ve aromalar oluşur. Ayrıca; okside olmuş yağların kızartmalık maksatlarla kullanımı esnasında yağda tıpkı su varmış gibi aşırı sıçrama meydana gelir. Mekanizması kademe kademe açıklanacak olan oksidasyonun genel oksidasyon döngüsü ***Şekil 2.1.*** `de görülmektedir.

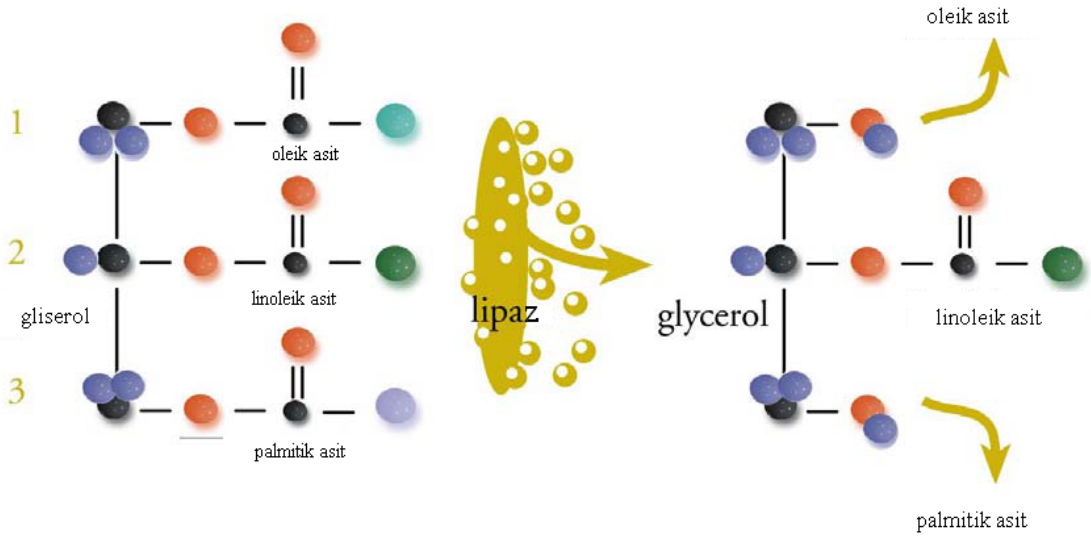


Şekil 2.1. Yağlarda Genel Oksidasyon Döngüsü

Hidrolitik reaksiyonların minimuma indirgenmesi; soğukta depolama, uygun taşıma, dikkatli ambalajlama ve sterilizasyon gibi işlemlerle mümkün bir hale getirilebilir, ancak; otooksidasyon olarak da bilinen oksidatif ransiditeyi önlemek için düşük sıcaklık derecelerinde depolama yeterli değildir. Çünkü otooksidasyon için ilk basamakta 4-5 kcal mol^{-1}, ikinci basamakta ise 6-14 kcal mol^{-1}`lük gibi düşük aktivasyon enerjilerine ihtiyaç vardır. Bu da kimyasal reaksiyonun kolayca gerçekleşmesinin yeterli olduğunu göstermektedir.

Yağdaki trigliseridlerden bir lipolitik enzim olan lipaz yardımıyla serbest yağ asitleri meydana gelir ***(Şekil 2.2.)***. Serbest yağ asitleri ve trigliseridler otooksidasyon veya lipoksigenaz enzimi ile okside olabilmektedir. Oksidasyon birinci derecede, yağlarda yaygın olarak bulunan yağ asitlerinden *oleik*, *linoleik* ve *linolenik asitler* üzerinden yürür. Bu üç doymamış yağ asidi farklı oranda oksidasyona uğramaktadırlar. Linoleik asidin oksidasyonu oleik asidin oksidasyonundan 64 kez, linolenik asidin oksidasyonu ise 100 kez daha hızlıdır. 100°C`de otooksidasyon hızı

stearat için 1 kabul edilirse, oleat için 11, linoleat için 114 ve linolenat için 179 olarak tespit edilmiştir. Bu demektir ki; çift bağ sayısı arttıkça oksidasyon hızı da artmaktadır.



Şekil 2.2. Lipaz Enzimi Yardımıyla Serbest Yağ Asitlerinin Oluşumu

Yağların yükseltgenme sonucu bozulması yanında, hidroliz sonucu bozulması çok fazla önemli değildir. Gerçekte yağların genel bozulması, bileşimlerindeki doymamış moleküllerin oksijenle yükseltgenmesi olup, bunun sonucunda aldehit, keton, hidroksi asitler, alkoller ve daha küçük moleküllü yağ asitlerinin meydana gelmesidir. Bu şekilde bozulmaya peroksidasyon da denir. Yükseltgenme ürünleri yağı hoşa gitmeyen biçime soktuğu gibi, yağların içerdikleri A, D ve E vitaminleri, karoten ve temel yağ asitleri gibi birçok önemli maddenin de oksidasyon sonucu parçalanmasına neden olmaktadır.

Yağların yükselgenerek bozulmasını ısı, ışık, nem ve bazı metaller katalize eder. Bakır ve demir tuzları, özellikle bu tip bozulma üzerinde çok etkilidir, bu sebeple; belirtilen katalizatörlerin gıda maddelerine karışması istenmez. Bu tip katalizörler nedeniyle meydana gelen bozulmalarda asit indeksi ve asetil indeksi artarken, çift bağ sayısının azalmasına paralel olarak iyot indeksi de düşer.

İnsan beslenmesinde ve gıda teknolojisi açısından çok önemli bir kaynak olan yağların, okside olarak bozulması ve tüketilemeyecek duruma gelmesi çok önemli bir konudur. Bu nedenle oksidasyon olayının önemi, mekanizmasının nasıl

yürüdüğü ve ne tür bileşiklerin oluştuğu konusunda detaylı bilgilere ihtiyaç vardır.

2.3. Otooksidasyon Olayının Mekanizması ve Hidroperoksitlerin Oluşumu

Yağ asitlerinde doymamışlık derecesi arttıkça oksidasyon stabilitesi azalır. Farklı derecede doymamışlığa sahip yağ asitlerinin oksidasyon hızlarındaki büyük farklılık ise; oksidasyon mekanizmasının tabiatına bağlı olarak değişmektedir.

Otooksidasyonun gerçekleşmesinde iki yol üzerinde durulmaktadır. Bunlardan birincisi *serbest radikal yolu*, diğeri ise ışığın etkisiyle başlayan *foto oksidasyon yoludur*. Her iki yolla da hidroperoksitler oluşmaktadır.

Otooksidasyonun birincil başlama ürünleri olan hidroperoksitler, oksidatif bozunmaya yol açan bir seri ikincil ürünlere dönüşürler. Serbest lipit radikallerinin rezonans kararlığından dolayı, reaksiyon genellikle, konjuge dien gruplarını içeren izomerik hidroperoksitlerin oluşumu ile sonuçlanan çift bağların pozisyonundaki kaymanın aracılığıyla devam eder *(Nawar, 1996)*.

A. Serbest Radikal Yolu

Yağlarda otooksidasyon, çifte bağlara komşu α-metilen gruplarında serbest radikallerin teşekkülünü gerçekleştiren zincirleme reaksiyon sonucu meydana gelmektedir. Bu reaksiyon yolu oksijen ve/veya kataliz varlığında başlar; sıcaklık, ışık, dış enerji kaynağı, yüksek enerjili radyasyon, metal iyonları ve metaloproteinler gibi etkenler sebebiyle hızlanır. Başlangıç basamağı henüz tam olarak açıklık kazanamayan otooksidasyon sürecinde; başlangıç aşamasında üretilen serbest radikal ($R^{\bullet}$) daha sonra lipid peroksi radikal ($ROO^{\bullet}$) formuna ***(Şekil 2.3.)***, lipid peroksi radikali ise; ileri aşamada hidroperoksit (ROOH) vermek üzere reakte olabilir ***(Şekil 2.4.)***. Yayılma-hızlanma aşaması, daha çok serbest radikal $R^{\bullet}$ sağlanmasıyla zincirin kendi kendine çoğalmasına sebep olur. Kendi kendine çoğalma zincir sonuçlandırma reaksiyonlarıyla durdurulabilir. Yağ moleküllerinde serbest radikallerin teşekkülü α-metilen grubu hidrojeninin oynaklığına bağlıdır *(Nas, 2001)*. Bu da çift bağların durumu ve etilenik karbon atomlarında yerine geçen grupların bulunup bulunmaması ile değişmektedir.

Yağ oksidasyonunda, oksidasyona bağlı tat ve kokunun belirmediği ilk safhada oksijen absorbsiyonu oldukça yavaştır. İşte bu ilk döneme başlangıç

(indüklenme) dönemi denir. Daha sonra çok daha hızlı oksijen alınma devresi başlar. Bu devredeki hızlı yükseltgenme olayı da bir süre sonra yavaşlar. Sıcaklık, nem, yağ ile temastaki hava miktarı, ışık, özellikle morötesi ışık, antioksidant ve peroksidanların bulunup bulunmayışı reaksiyonu etkileyen faktörlerdir. Oksijen alımı ve acılaşma daha çok yağın doymamışlığı ile ilgilidir.

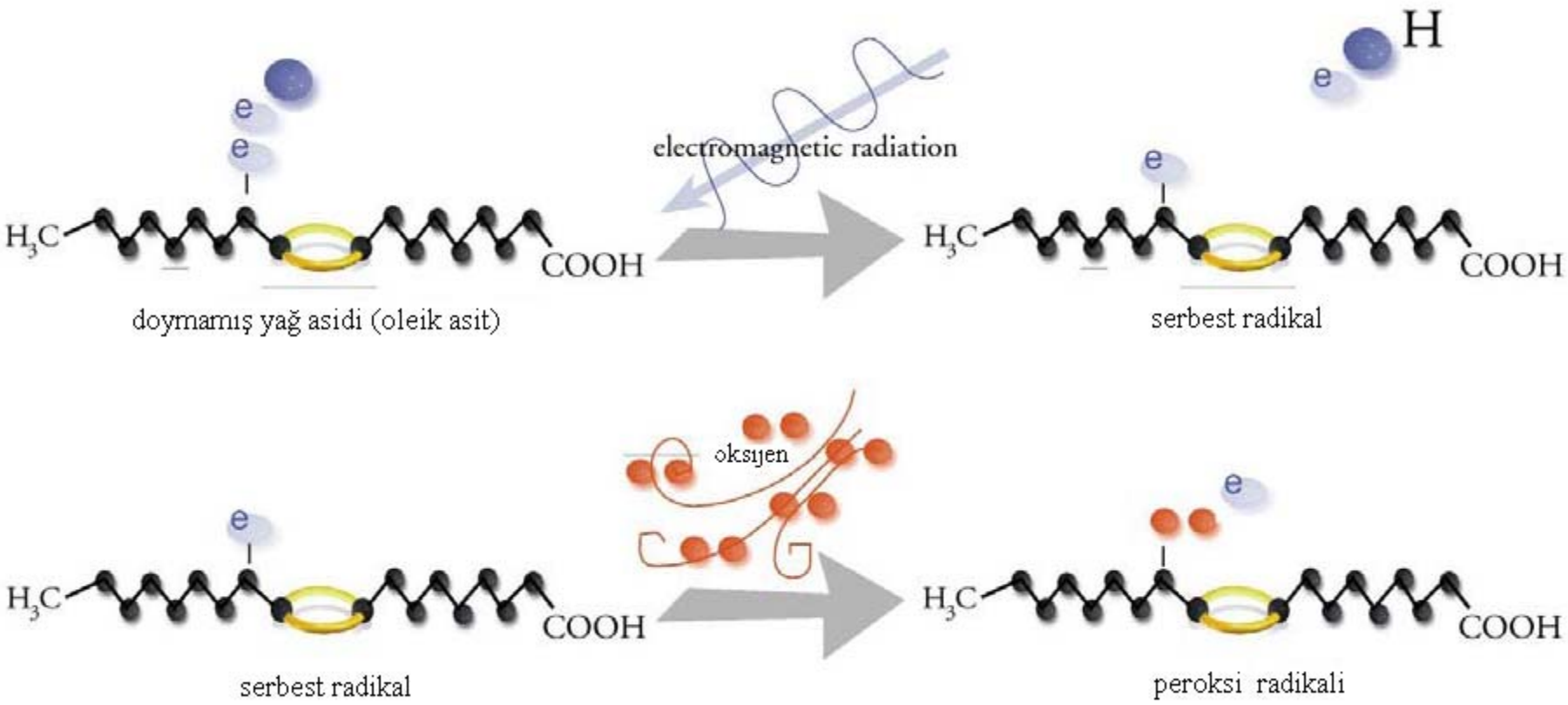
Otooksidasyonun başlangıç döneminde meydana gelen ürünler peroksit yapısında olduğundan bunların belirlenmesinde, potasyum iyodürden (KI) iyodu açığa (I_2) çıkarma yeteneği esas alınabilmektedir. Ara ürünlere ise hidroperoksitler denilmektedir. Oldukça uzun bir zamandan beri, otooksidasyon seviyesinin belirlenmesinde peroksit indeksi kullanılmaktadır.

B. Foto Oksidasyon Yolu

Foto oksidasyon olayı da serbest radikal mekanizmasına alternatif bir mekanizma değildir. Bu mekanizma ile de ışık ve ışığa hassas moleküllerin varlığında farklı hidroperoksitlerin oluştuğu bulunmuştur. Foto oksidasyon, ışık etkisinde singlet ve triplet oksijenlerin kullanılmasıyla gerçekleşmektedir. Oleik ve linoleik asit hidroperoksitlerinin oluşumu bu asitlerin yapısındaki çift bağların değişik pozisyonlarına oksijen girişi ile gerçekleşir. Bu mekanizmada singlet oksijenin ($^1O_2$) kullanılması triplet oksijenin ($^3O_2$) kullanılmasına göre reaksiyonu 1500 kez daha hızlandırır. Çünkü singlet oksijen triplet oksijene göre 36 kcal daha fazla enerji içerir ve reaksiyona girme kabiliyeti yüksektir *(Nas, 2001)*.

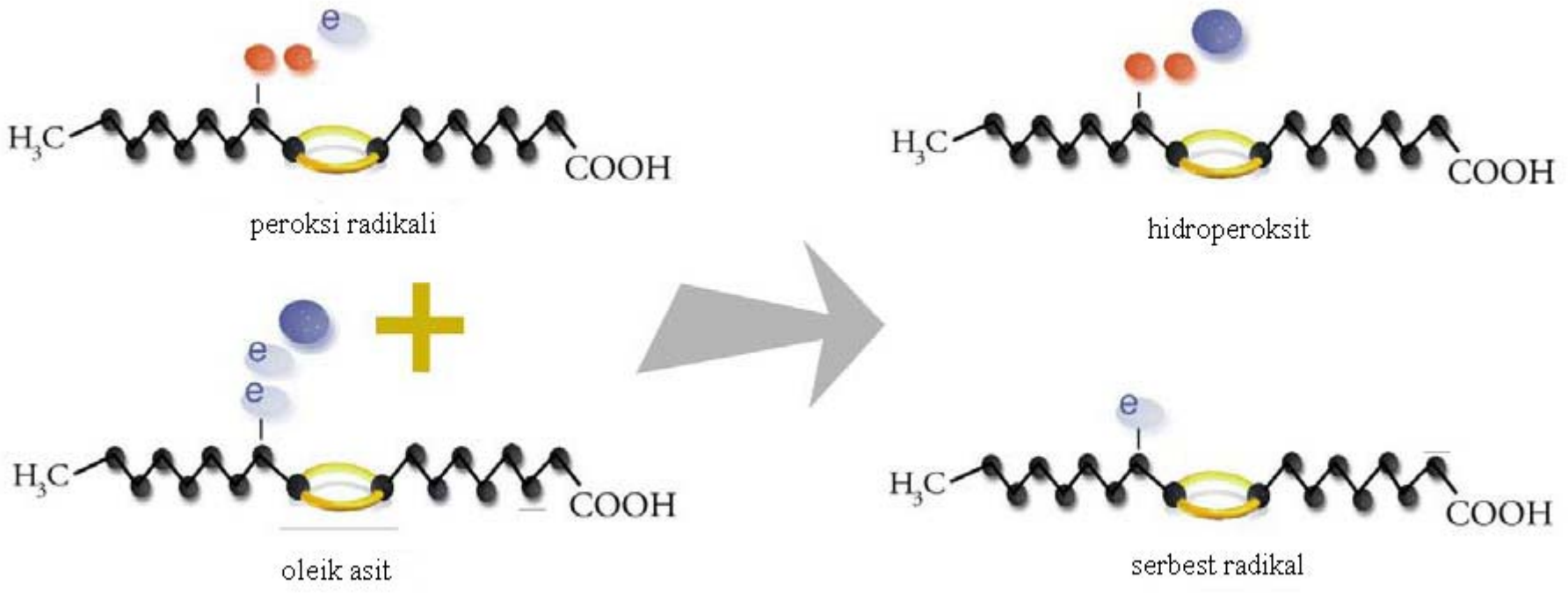
C. Lipoksigenaz Mekanizması

Lipoksigenaz enzimi bitkiler ve hayvanlar aleminde yaygın bulunmaktadır. Lipoksigenazla oksidasyon reaksiyonunun temel stokiyometrisi otooksidasyonla aynıdır. Doğal kaynaklardan izole edilen lipoksigenaz enzimi tarafından linoleik asit 9 ve 13 pozisyonlarından okside edilir. Trigliseridlerle reaksiyona giren lipoksigenaz izo enzimleri olmasına rağmen, lipoksigenazın genel substratı serbest yağ asitleridir.



(a)

Şekil 2.3. Elektromagnetik radyasyon ve Oksijen Varlığında Lipid Peroksi Radikalinin Oluşumu *(Amelio, 2003)*



Şekil 2.4. Lipid Peroksi Radikalinin Yağ Asidi ile Etkileşmesi Sonucu Hidroperoksit Oluşumu *(Amelio, 2003)*

D. Oksidasyon Sonrası Oluşan Sekonder (İkincil) Reaksiyon Ürünleri

Lipid hidroperoksitleri kararlı değildirler ve parçalanarak alkoksi serbest radikallere kırılabilirler. Serbest radikal mekanizmasında lipid hidroperoksitlerindeki oksijen atomu, karbon atomunun aktif kenarına kırılma yoluyla taşınır ve lipid hidroperoksitlerinden karbon atomuna komşu molekül ayrışması ile çok değişik ürünler meydana gelebilir. Serbest radikal otooksidasyonu ve foto oksidasyon ile oluşan hidroperoksitlerden aldehit, keton, alkol ve çeşitli hidrokarbonlar bileşikler ortaya çıkarken, hidrolitik reaksiyonlar sonucunda metil ketonlar, laktonlar ve esterler oluşmaktadır. Gliserid molekülünden parçalanma ve bunu takiben sıcaklık ve rutubet içeren ortamda kolaylıkla CO_2 molekülü ayrılarak keto asitler meydana gelmektedir. Metil ketonlar ekşi, meyvemsi, peynirsi, sirkemsi, parafmik nitelikte çeşitli tatların üründe oluşumuna sebep olur *(Nas, 2001)*.

2.4. Oksidasyon Kinetiği

Yağ oksidasyonu başlangıç fazı ve üstel faz diye sınıflandırılabilen iki belirgin faz halinde seyreder. Başlangıç fazı normalde çok düşük hızdadır. Fakat oksidasyon başlangıç fazını geçtiğinde üstel olarak artar. Bu nedenle yağ üstel fazda hızla bozulur.

Oksidasyon derecesi yağın adsorbe ettiği oksijen miktarı ile ölçüldüğünde, oksijenin adsorbe edilen miktarı başlangıç fazında çok yavaş, başlangıç fazından sonra ise üstel olarak artar ve oksijen alımı mümkün olduğu kadar artarak devam eder. Oksidasyon derecesi peroksit sayısı ile ölçüldüğünde, oksijen adsorbsiyonu miktarındaki gibi, aynı modeli takip eder. Fakat üstel fazın belli bir derecesinde hidroperoksitler parçalanmaya başlandığından peroksit sayısında azalma başlar.

Başlangıç fazı yağın oksidatif stabilitesi veya raf ömrünün ana indikatörüdür. Daha uzun bir başlangıç (indüksiyon) fazlı yağ ürünleri daha uzun raf ömrüne sahiptir. Doğal olarak ürünlerde bulunan veya ticari kullanılan antioksidantlar başlangıç periyodunu uzatır, fakat oluşan oksidasyonu tam olarak durduramaz. Antioksidantlarla yağın sınırsız korunumu mümkün değildir ve koruma için diğer gerekli ön tedbirler ihmal edilmemelidir. Bir kez yağ oksidasyonu üstel faza ulaştığında, yağ hızla bozulur ve oksidasyon durdurulamaz olur.

2.5. Oksidasyonu Etkileyen Faktörler

Pek çok farklı faktör yağ oksidasyonunu etkiler. Bazı faktörler oksidasyonu teşvik eder. Bunlar pro oksidant olarak tanımlanır. Bazı faktörler oksidasyonu geciktirir veya yavaşlatır. Bunlarda antioksidant olarak bilinirler. Oksidasyonu etkileyen tüm etmenler *dahili faktörler* ve *harici faktörler* olarak iki grupta sınıflandırılabilir.

Dahili Faktörler: *t*rigliseridlerin yapısı, yağda doğal olarak bulunan minör bileşenler, yağdaki kirlilikler ve yağa ilave edilen katkı maddelerini kapsamaktadır. Yağ oksidasyonunda etkili dahili faktörler aşağıda açıklanmıştır.

Yağ Asidi Bileşeni: Çift bağların sayısı, durumu ve geometrisi oksidasyon oranını etkiler *(Nawar, 1996)*. Çift bağların sayısı artarken oksijen ekli kenarlar ve oksidasyon sayısı da orantılı bir şekilde artmaktadır *(German ve ark., 1992)*. Bu sebeple; linoleik ve linolenik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerini içeren yağlar daha hızlı okside olurlar. Yağ asitlerinin doymamışlık derecesi onların serbest radikallerle reaksiyonunu etkiler. Yağ asitleri ile serbest radikallerin reaksiyon hız sabitleri ***Tablo 2.1.***`de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Doymamış Yağ Asitleri ile Serbest Radikallerin Reaksiyonlarının Hız Sabitleri

	ROO•	**RO•**	**•O_2•**	**•OOH**	**•OH**
Oleik Asit	0.1-1.0	$3.3x10^6$	düşük	düşük	$\sim 10^9$
Linoleik Asit	~ 60	$8.8x10^6$	düşük	düşük	$\sim 9.0x10^9$
Linolenik Asit	~ 120	$1.3x10^7$	düşük	$1.2x10^3$	$\sim 7.3x10^9$
Araşidonik Asit	~ 180	$2.0x10^7$	düşük	$1.7x10^3$	$\sim 10^{10}$

Antioksidanlar: yiyecek sistemlerinde lipid oksidasyonu sırasında reaksiyon hızını yavaşlatan ya da reaksiyonunun başlamasını geciktiren ürünler sınıfındandırlar. Yiyecekler canlı organizmalardan türetildiğinden dolayı antioksidanlar birçok yiyecekte bulunurlar. Yiyeceklerdeki temel antioksidanlar çeşitli halka sübsitientlerle polihidrik ya da monohidriktir *(Nawar, 1996)*. Yiyeceklerde yaygın olarak kullanılan fenolik antioksidanlar ise bir ya da iki hidroksil grubuna sahiptir ve orto ya da para pozisyonunda bir sübsitiye olmuş hidroksil grubuna sahiptir.

Yağların yapısında doğal minör bileşen olarak bulunan tokoferol ve benzeri bileşikler de antioksidan grubunda yer almaktadır; bu bileşikler, serbest radikalleri

yağ asidi zincirinden absorbe ederler ve tokokinon'u oluştururlar. Yağ asidi zincirinden tokoferole serbest radikallerin transferi trigliseritteki serbest radikal oluşumunu yavaşlatır. Bu işleviyle bileşikler antioksidant fonksiyonu sergiler.

Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve tersiyer bütil hidrokinon (TBHQ) gibi ticari antioksidantlar işlem sonunda yağ ve yağ ürünlerine ilave edilebilirler. Antioksidant mekanizmaları tokoferolle benzerlik gösteren bu katkı maddeleri, yapılarında bulunan fenolik gruplar sayesinde serbest radikalleri absorbe etme yeteneğine sahiptirler.

Metaller: Yağlara kontamine olabilen demir, nikel ve özelliklede bakır güçlü prooksidanttırlar. Yağ herhangi bir şekilde bakırla kontamine olursa hızla okside olur ancak bakır kontaminasyonu çok zayıf bir ihtimaldir. Demir, yağa işleme ekipmanları ve borulardan bulaşır. Nikel ise; hidrojenasyondan sonra katalist olan nikelin tamamen uzaklaştırılmaması sonucu yağda kalabilir *(Şimşek, 2008)*.

Kompleks Yapıcı Maddeler: yağların rafinasyonu sırasında ortama ilave edilen fosforik asit ve sitrik asit, yağdaki metallerle şelat oluşturarak onların prooksidant aktivitelerini önlerler.

Harici Faktörler: oksijen, ışık ve ısı başta olmak üzere, yağın oksidasyonunu artırmada etkili olan harici etkenlerdir.

Oksijen: oksijen oksidasyon mekanizmalarında da görüldüğü gibi oksidasyon için bir reaktiftir. Oksijensiz oksidasyon oluşmaz. Oksijen türleri ve kullanılabilirliği oksidasyon reaksiyonları için önemlidir. Bitkisel yağların hepsi, oksijen ile reaksiyona girebilen ve uzun süre bozunabilen yağ asitleri içerdiklerinden; N_2 ve CO_2 gibi inert gazlar kullanılarak, kontrollü ya da vakumlu paketleme yapılarak veya depolama tanklarının üzerinde inert örtü kullanılarak oksidasyon hızı düşürülebilir.

Enerji: Lipitlerin oksidatif reaksiyonu *ısı*, *ışık* ve *radyasyon* iyonlaşması oluşumundaki enerji tarafından etkilenebilirler. *Isı* oksidasyonu hızlandırır ve oksidasyon ürünlerinin modelini değiştirir. *Yüksek sıcaklık* yiyecek moleküllerini serbest radikallere dönüştürür ve ikincil oksidasyon ürünlerine hidroperoksit bozunmasını arttırır. Yüksek sıcaklıklar daha çok polimerizasyon temayülünü artırır. Örneğin kızartma yağlarındaki 180-250°C`lik ısılarda yağ oda sıcaklığındaki

oksidasyonun tabiatından farklı bir doğa sergiler. Bu sıcaklıkta daha fazla polimerize ürünler oluşur. Yağlarda daha koyu kırmızı renk, daha yüksek viskozite ve kolayca köpüklenme meydana gelir. Genelde 15°C sıcaklık artışında oksidasyon hızı iki katına çıkar. Benzer şekilde sıcaklık cis, trans/ trans, trans oranları gibi sterokimyasal ürün sınıfını da etkilemektedir. Ancak sıcaklık düşük aktivasyon enerjisinden dolayı tekli oksijen oksidasyon hızı üzerinde daha az etkiye sahiptir.

Nem: yağ oksidasyonunun hızı güçlü şekilde su aktivitesine bağlıdır. Kuru durumda metal katalizörler lipit oksidasyonunu katalizlemek için çok aktiftirler. Orta seviyelerdeki su miktarı metal katalizörlerin katalitik aktivitesini düşürerek ve kutuplu serbest radikallerin yeniden birleşmesini teşvik ederek antioksidan gibi davranır. Aynı zamanda su, hidroperoksitlerle hidrojen bağlarını oluşturmaktadır. Yüksek su aktivitesinde ise oksidasyon hızlanır.

Enzimler: enzimatik oksidasyon, bazı yağ asitlerine özgü olması ve peroksit oluşumunda seçicilik göstermesi sebebiyle kimyasal oksidasyondan ayrılır. Ayrıca radikallerin aktivasyonunda daha az enerjiye gerek duyulur. Aktivite gösterdikleri yağ asitleri 1-cis, 4-cis doymamışlığındaki pentadienlerdir. Bu nedenle enzimler; linoleik, linolenik ve araşidonik asidi okside edebilirler *(Şimşek, 2008)*.

Enzimatik oksidasyon reaksiyonlarında sadece hidroperoksitler oluşur. Oluşan hidroperoksitler bitkisel ve hayvansal dokularda hidroperoksit lipaz, lipoperoksidaz gibi enzimlerin aktivitesiyle parçalanırlar. Parçalanma reaksiyonları sonucu oksi-asitler, aldehitler, ketonlar, alkoller ve kısa zincirli yağ asitleri oluşmaktadır. Oluşan bu ürünler pek çok gıdada karakteristik tat ve aromayı etkilemektedirler.

2.6. Yağlarda Oksidasyonun Önlenmesi İçin Alınabilecek Önlemler

Yağlarda oksidasyonu önlemek veya oksidasyon hızını azaltabilmek için aşağıda sıralanan hususlara dikkat etmek gereklidir:

- Doymamış yağlara hidrojenasyon uygulamak
- Yağlara veya yağlı ürünlere çeşitli antioksidantlardan belirli oranlarda ilave etmek
- Yağ ve yağlı ürünleri uygun ambalajlama gereçleri ile vakum altında ambalajlayarak atmosferik oksijenden korumak

- Katalist görevi yapabilecek metalleri yağ ve yağlı ürünlere bulaştırmamak ve gerekirse uzaklaştırmak
- Yağlar ve yağlı ürünleri ışığın etkisinden korumak
- Yağlan ve yağlı ürünleri düşük sıcaklıklarda depolamak
- Yağların su ile temasını önlemek

2.7. Yağlarda Meydana Gelen Oksidasyon Ürünlerinin Standartlardaki Yeri

Yemeklik yağların oksidasyonu sonucunda oluşabilen çeşitli ürünlerin maksimum miktarları standartlarca belirtilmiştir. Yağlarda ve yağlı ürünlerde oksidasyon düzeyi ile alakalı olan serbest yağ asitleri yüzdesi, peroksit sayısı (meqg/kg) ve kreiss metodu ile acılık testinin nasıl yapılacağı ve bu parametrelerle ilgili sınır miktarları belirlenmiştir[(2)]. Çeşitli yemeklik yağların içerebileceği serbest yağ asitleri en çok % 0.3, peroksit sayısı en çok 10 meqg/kg önerilirken, Kreiss testinin menfi olması istenmektedir.

Ayrıca standartlarda yer almamakla birlikte 2-tiyobarbürik asit (TBARS) testi de oksidasyon derecesinin belirlenmesinde fazlaca kullanılmaktadır.

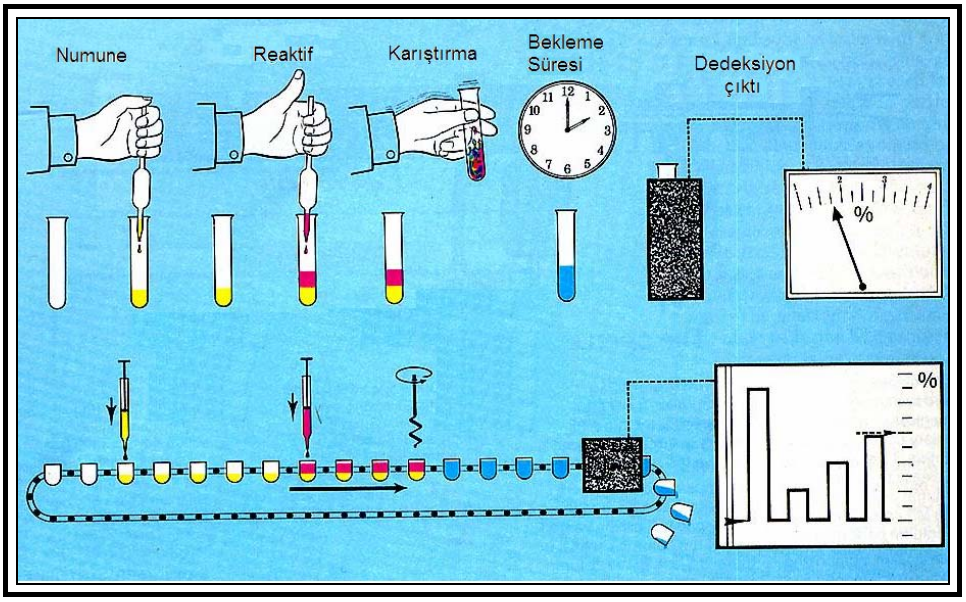
Oksidasyon; yemeklik katı ve sıvı yağların kalitesini olumsuz yönde etkileyen bir kimyasal reaksiyonlar serisidir. Bu reaksiyonlar sonunda, gliserid molekülleri parçalanarak serbest yağ asitleri oluşup asiditeyi artırabildiği gibi, doymamış yağ asitlerinin oksijenle yükseltgenmesiyle de çeşitli aldehit, keton, hidroksi asit, alkol ve küçük moleküllü yağ asitleri gibi yemeklik yağlarda istenmeyen bileşikler meydana gelebilmektedir. Bu olaylar, yağların kalitesinin bozulmasına, tadının acımasına hatta tüketilemez duruma gelmesine neden olmaktadır. Yağlarda görülen bütün bu olaylar, yağları ısı, ışık, nem, atmosferik oksijen, metal ve mikroorganizma etkisinden korumak, uygun antioksidantlar ilave etmek ve uygun ambalajlama materyalleri ile vakum altında ambalajlayarak düşük sıcaklıklarda muhafaza ederek engellenebilir.

---

(2) Yağlarda meydana gelen oksidasyon ürünlerinin standart değerlerine ilişkin veriler, çalışmada kullanılan yağların her biri için EKLER kısmında ayrıntılı olarak yer almaktadır.

3. OTOMATİKLEŞTİRİLMİŞ ANALİZ SİSTEMLERİ

Son kırk yılda analitik kimyadaki başlıca gelişmeler, kullanıcıların müdahalesini en aza indirerek analitik veri sağlayan otomatik analiz sistemlerinin piyasaya çıkması olmuştur. Başlangıçta teşhis ve bazı özelliklerin izlenmesi amacıyla kullanılan bu sistemler, günümüzde çeşitli endüstriyel işlemlerin kontrolü, hava, su, topraktaki çeşitli türlerin, ilaç ve zirai ürünlerin rutin analizi gibi pek çok alanda uygulama alanı bulmaktadır.



Şekil 3.1. Klasik ve Otomatikleştirilmiş Analiz Yöntemleri

Şekil 3.1.`de klasik analiz yöntemine ve otomatikleştirilmiş bir analiz yöntemine örnek verilmiştir. Klasik analiz yönteminde analizci numuneleri tek tek alır ve tüplerin içine koyar. Analizci numunelerin dedektörde dedekte edilebilir bir tür oluşturabilmesi için numunelerin üzerine uygun reaktif ilavesi yapar. Reaktif ile numunenin tamamen karışması için numune ile reaktifi belli bir süre karıştırır. Karıştırılan ve uygun türü oluşturulan analit dedektörde ölçülür. Dedektör analitin içeriğine bağlı olarak analitik verileri verir. Otomatik analiz sisteminde ise; numuneler bir otomatik numune verici tarafından sırasıyla numune kaplarına konur. Numune kaplarına konulan numuneler dedektörde ölçülebilir bir tür oluşturabilmesi için sistem numunelerin üzerine bir reaktif verici sayesinde reaktifleri ilave eder. İlave edilen reaktiflerden sonra uygun bir karıştırıcı ile numune ve reaktifler karıştırılır. Oluşturulan yeni tür dedektöre iletilerek dedektörde analitin içeriğine bağlı olarak analitik veriler elde edilir.

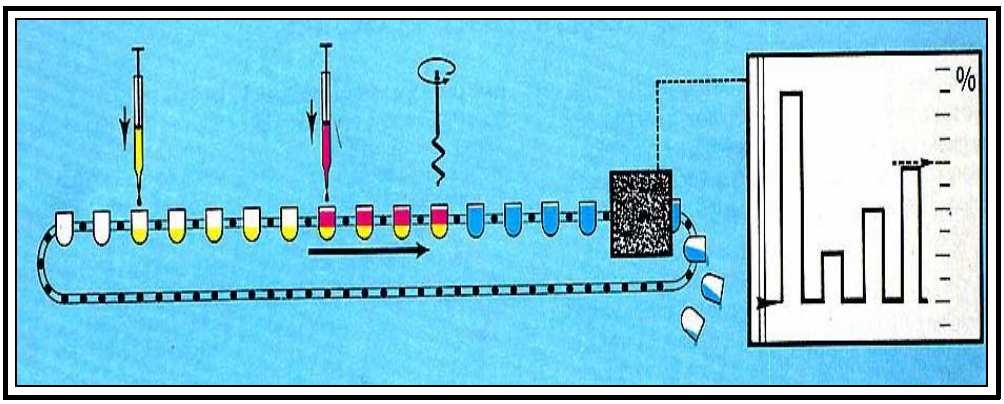
Otomatikleştirilmiş analitik sistemlerin temel hedeflerinden biri; yüksek verimli rutin analizler gerektiren laboratuvarların ihtiyaçlarını karşılamaktır. Bu sistemler ayrıca; test koşullarının kontrolünü iyi bir şekilde sağlayabilecek hassas örnekleme ve analitiksel koşulların kontrolünü de sağlamalıdırlar. Diğer kesikli (off-line) analiz sistemleri ile karşılaştırıldığında, otomatikleştirilmiş analitik sistemler yüksek bir doğruluk ve uzun süreli bir tekrarlanabilirliğe sahiptirler. Akış enjeksiyon analiz sistemi (FIA), sıralı enjeksiyon analiz sistemi (SIA) ve son versiyon olarak da sıralı enjeksiyon-lab on valf (µSI-LOV) enstrümanlarının, laboratuvar otomasyon araçlarının gereksinimlerini yüksek verimlilik, yüksek hassasiyet ve çok yönlülük gibi özellikleriyle etkili bir şekilde karşıladıkları kanıtlanmıştır *(Hsiang ve ark, 2003)*.

3.1. Otomatik Analiz Sistemlerinin Tipleri

Otomatik Analiz Sistemleri; ayrı akış analizörleri ve sürekli akış analizörleri olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Bazen bu iki sistemin bir araya gelmesiyle oluşturulan sistemler de analizlerde kullanılmaktadır. Ayrı ve sürekli sistemlerin her ikisi de bilgisayar kontrollüdür.

- **Ayrı akış analizörleri**

Ayrı akış analizörlerinde, numuneler cihaza tek tek alınır ve temel işlemlerin her birinin yapılması sırasında ayrı kaplar içinde saklanır ***(Şekil 3.2.)***. Sistem elemanları mekanik olarak çoğu zaman, şırıngalar, musluklar ve numuneler ve reaktif paketlerinin sistemin bir kısmından diğer kısımlarına taşıyan çok sayıda hareketli parça içerirler ve pahalıdırlar.

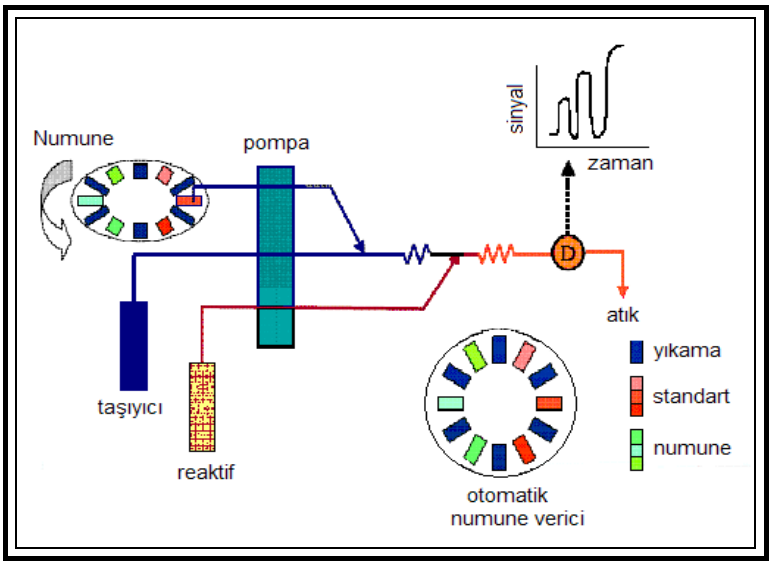


Şekil 3.2. Ayrı Akış Analizörü

Her numune için ayrı kap kullanılmasına dayandığı için, numuneler arasındaki karşılıklı bulaşma riski ortadan kalkmıştır. Yapılması gereken temel işlemler insan gücü ile yapılabileceği gibi, aynı yolları kullanarak işlemleri gerçekleştirebilen robotlar kullanılabilir *(Skoog, 1998)*.

- **Sürekli akış analizörleri**

Sürekli akış analizörlerinde, numune akış sisteminin bir parçasıdır ve numunenin enjeksiyonu veya numunenin akış sırsında ölçme sisteminden atılıncaya kadar bütün temel işlemler bu akış sistemi içinde gerçekleşir ***(Şekil 3.3.)***. Ayrı sistemlerde numune karışma riski bulunmazken sürekli sistemlerde numuneler arasındaki karşılıklı etkileşme, özellikle numunenin sisteme verilme hızı arttığı zaman söz konusudur. Burada numune bulaşmasını en aza indirmek için özel tedbirlere gerek duyulur.



Şekil 3.3. Sürekli Akış Analizörü

Modern sürekli akış analizörleri, mekanik olarak daha basit ve daha az pahalıdır. Gerçekten, sürekli sistemlerin bir çoğunda hareketli tek parça, peristaltik pompalar ve açma kapama musluklarıdır. Sürekli akış sistemleri sadece akışkan numuneleri kullanabilme kapasitesine sahip olduğu için, bazı temel işlemleri bu sistem ile yapmak mümkün değildir. Çünkü sürekli akış sistemleri sadece akışkan numunelerin kullanabilme kapasitesine sahiptir. Bu yüzden katı maddeler analiz edileceği zaman veya analiz sırasında öğütme, tartma, yakma, eritme, veya süzme gibi işlemler gerektiğinde, bu tür işlemlerde otomasyon sadece ayrı sistemlerle mümkündür.

3.2. Akış Enjeksiyon Analizleri (FIA)

Akış enjeksiyon analizi (FIA); akış esaslı teknikler katagorisinde yer alan dört teknikten biridir. Katagorideki diğer teknikler; hava bölmeli, sürekli akışlı ve sıralı enjeksiyonlu olmak üzere sıralanabilir.

FIA, fizikokimyasal özellikleri ile doğrudan tayin edilebilecek analitlerin enstrümental analizleri için çeşitli olanaklar sunan, dolaylı olarak seçicilik ve duyarlılık geliştirilmesi gereken diyaliz, gaz difüzyon, sıvı-sıvı ekstraksiyon, damıtma, iyon değiştirme, çöktürme gibi kromatografik ayırma dışında yer alan tekniklerin uygulanması için bir yol olan, kimyasal reaksiyonlar içeren sürekli ayırma prosesleri için bir araç olan ya da ölçülen enstrüman içindeki reaksiyon ürünlerinin kimyasal reaksiyon gelişimini tanımlamada otomatik gelişim sağlayan bir araç olarak geliştirilmiştir *(Valcárcel ve Luque de Castro, 1990; Zagatto ve ark. 2002)*.

3.2.1. Akış Enjeksiyonun Tanımı

Akış enjeksiyon analiz, geniş uygulaması olan tekniklerden biri olup, şimdiye kadar çok çeşitli aletlerle farklı amaçlar için kullanılmıştır. Sadece farklı aletlerle değil, aynı zamanda birçok ayırma ve zenginleştirme yöntemiyle de kombine edilerek kullanıldığı için FIA için sürekli değişen tanımlamalar yapılmıştır.

Akış enjeksiyon analiz (FIA) için ilk tanımlama *Ruzicka ve Hansen (1981)* tarafından yapılmıştır. Bu tanıma göre; *FIA, uygun bir hareketli faz içine bir sıvı örneğinin enjeksiyonunu esas almaktadır* (*Ruzicka ve Hansen, 1975)*. Enjekte edilen numune, hareketli faz içinde bir bölge (zone) oluşturur ve bu bölge numunenin akış hücresi içinden geçmesinin bir sonucu olarak absorbans, elektrot potansiyeli veya herhangi diğer bir fiziksel parametre cinsinden sürekli kaydedilir. Enjeksiyon teriminin tekniğin adına dahil oluşu, tekniğin bir reaktif akışı içine bir septum aracılığıyla numune enjeksiyonunda bir şırınga kullanımını gerektirmesindendir. Şimdilerde bu amaç için yönlendirme valfleri kullanılmaktadır.

Bu tanımlama, kısa bir süre sonra revize edilmiş ve teknik şu şekilde tanımlanmıştır: "FIA, akışın belli bir süre durdurulması ile gerçekleştirilen FIA`daki yeni gelişmeleri, birleştirilen bölgeleri, numune bölgelerini ve diğer gradient teknikleri takip etmek amacıyla sürekli akmakta olan bir faz içine enjekte edilen bir

numunenin dağılımıyla oluşan konsantrasyon gradientinden bilgi toplamaktır".

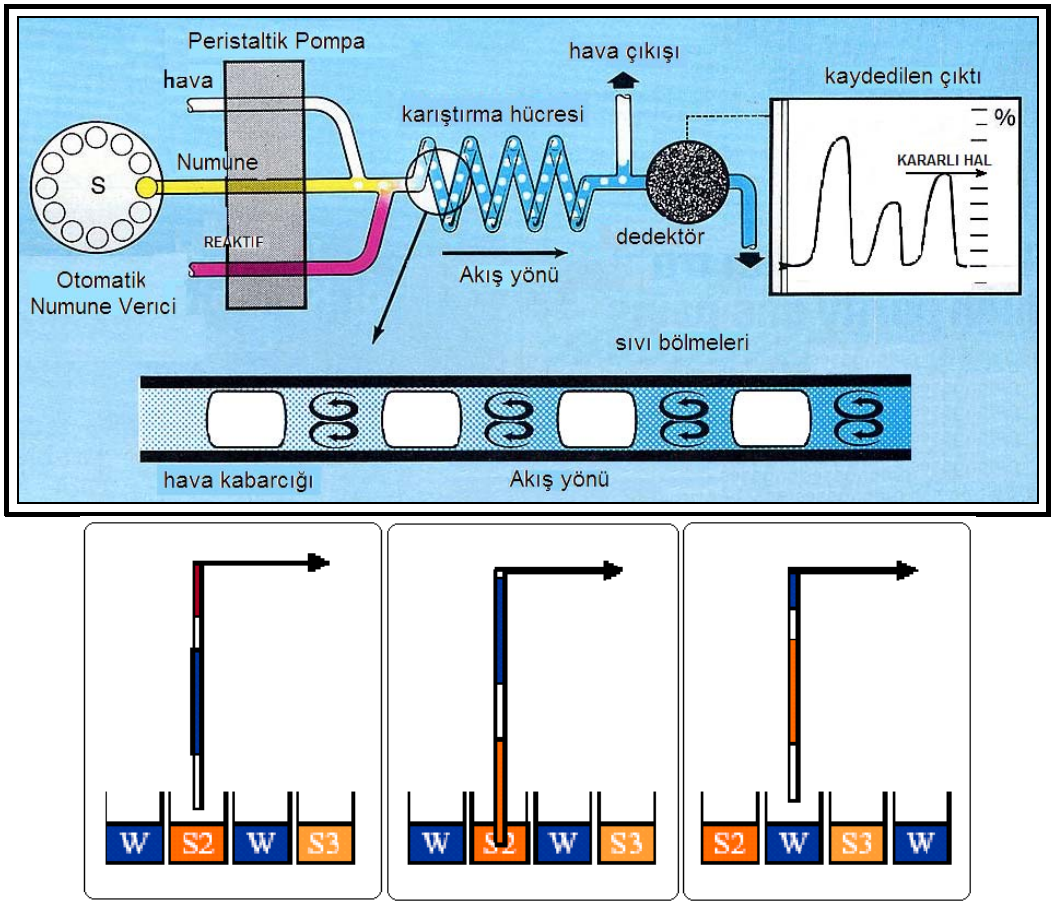
FIA ile ilgili çalışmaları ile tanınan *Fang ve ark. (1992)* *FIA`yı, termodinamik olmayan denge koşulları altındaki bir akış içinde, numune ve reaktif bölgelerinin tekrarlanabilir bir oluşumu* olarak ifade etmiştir (Fang ve ark. 1992).

Bilindiği gibi klasik analitik kimyada kullanılan analiz ve ayırma yöntemleri dengeyi esas almaktadır. Örneğin; gravimetri çökelme dengesini esas alırken, ekstraksiyon dağılma dengesine dayanır. FIA, yüksek performanslı sıvı kromatografisine (HPLC) çok benzemekle beraber, denge olayına dayanmaması bakımından HPLC`den ayrılmaktadır. Bunların yanı sıra; FIA çözme, reaksiyon oluşturma gibi kimyadaki temel işlemlerin yerini aldığı için bir çözelti hazırlama tekniği olarak da kullanılmaya başlanmıştır. Belirtilen bu gelişmeler nedeniyle *Fang ve ark. (1993),* FIA`nın tanımını biraz daha değiştirerek, *termodinamik dengenin olmadığı şartlar altında, hareketli bir faz içinde, numune ve reaktif bölgelerinin tekrarlanabilir ölçüde düzenlendiği bir akış enjeksiyon tekniğidir* şeklinde ifade etmişlerdir.

3.2.2. Akış Enjeksiyon Sistemlerinin Gelişimi

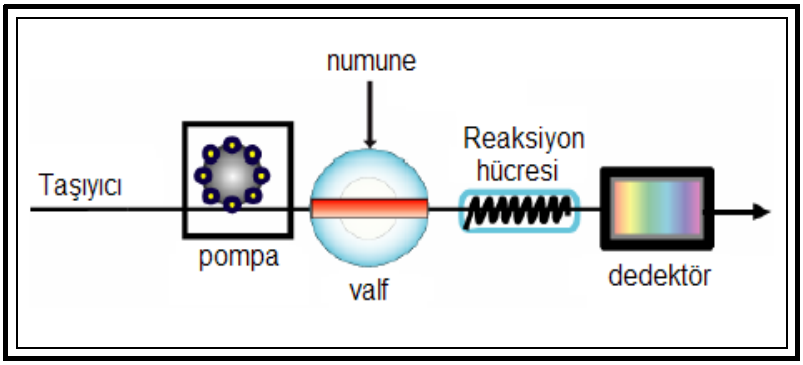
Akış enjeksiyon analiz (FIA) yöntemleri şu anki kullanım şekliyle, ilk olarak 1970`li yılların ortalarında Danimarka`dan *Ruzicka ve Hansen (1975)*, ABD`den ise *Stewart ve ark. (1976)* tarafından geliştirilmiştir. Akış enjeksiyon teknikleri 1970`lı yıllarda tıbbi teşhis amacıyla kan ve idrardaki türlerin otomatik ve rutin tayinleri için klinik laboratuvarlarda yaygın bir şekilde kullanılan, kesikli akış işlemlerinden yararlanılarak geliştirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri`nde tek bir firma tarafından üretilen sürekli akış sistemlerinde, numuneler birbirine yakın hava kabarcıkları içeren sulu bir çözelti ile dedektöre taşınmaktaydı *(Skoog, 1998).*

Hava kabarcıklarının amacı, aşırı dağılımı önlemek, numune ve reaktiflerin türbülent akımla karışma derecesini artırmak ve numuneler arasındaki karşılıklı kirlenmenin önüne geçmek amacıyla akış yollarının çeperlerini önlemekti ***(Şekil 3.4.).*** Ancak şu andaki akış analiz sistemini geliştirenler, aşırı dağılmayı ve karşılıklı kirlenmeyi neredeyse tamamen ortadan kaldıracak şekilde, hava kabarcığı içermeyen ve numune ile reaktiflerin birbiriyle kolayca karışmasını temin eden uygun şekilde tasarlanmış sistemleri bulmuşlardır.



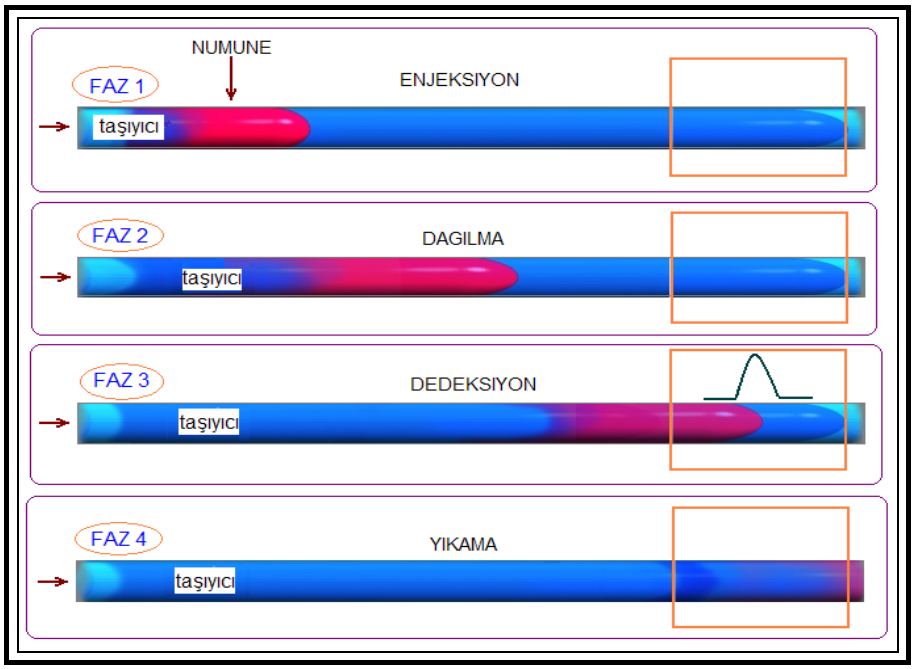
Şekil 3.4. İlk Akış Enjeksiyon (FI) Sistemi

Basit bir akış analizörü; dar bir tüp aracılığıyla taşıyıcı faz akışını sağlamak için kullanılan bir pompa, bir enjeksiyon valfi, numune bölgesinin dağıldığı ve taşıyıcı fazın bileşenleri ile reaksiyona girdiği bir mikro reaktör ve oluşan türlerin kaydedildiği bir dedektörden oluşmaktadır. FIA tekniği, dedeksiyon anında hiçbir zaman fiziksel dengeye ulaşmaz (akış homojenizasyonu). Ayrıca, dedeksiyon anında algılama için kimyasal denge gerekli değildir *(Elias veark. 2002)*. Günümüzde kullanılan en basit akış enjeksiyon analiz sistemi ise ***Şekil 3.5.***`de görülmektedir.



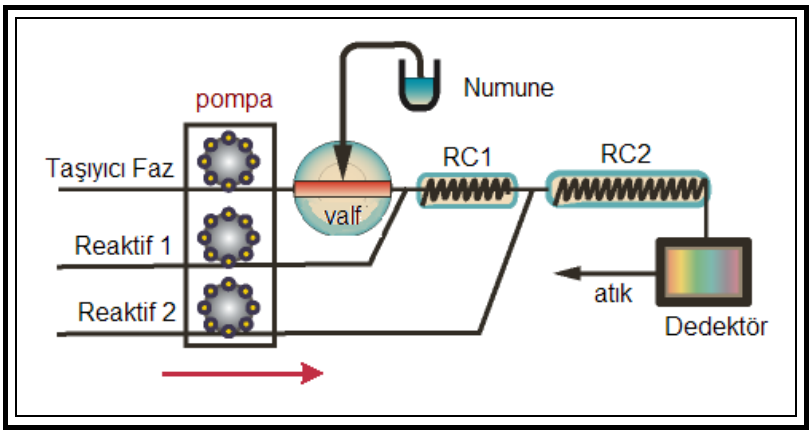
Şekil 3.5. Günümüz Akış Enjeksiyon (FI) Sistemi

Bu sistemlerde; **(i)** bir taşıyıcı sıvı içine numune enjekte edilir, **(ii)** numune akış yönünde ilerlerken, taşıyıcı faz içinde dağılır ve istenen ürün taşıyıcı faz-numune arasındaki ara yüzeyde oluşmaya başlar, **(iii)** oluşan ürün, taşıyıcı faz yardımıyla dedektöre iletilir, **(iv)** dedektör analitin içeriğine bağlı olarak değişimleri kaydeder ***(Şekil 3.6.)***.



Şekil 3.6. Akış Enjeksiyon (FI) Sistemlerinin Çalışma Prensibinin Şematik Gösterimi

Eğer analitimiz dedektör tarafından dedekte edilebilir bir formda değilse; taşıyıcı faz yardımıyla ilerleyen numuneye reaktif ilavesi yapılarak istenilen reaksiyonun oluşması sağlanır ***(Şekil 3.7.)***.



Şekil 3.7. Akış Enjeksiyon (FI) Sistemlerinde Türevlendirme Reaktifinin Kullanımı

Bu durumda; **(i)** bir taşıyıcı içine numune enjekte edilir, **(ii)** numune akış yönünde ilerlerken ortama reaktif ilavesi yapılır ve istenen ürün reaktifle-numune arasındaki ara yüzeyde oluşmaya başlar, **(iii)** oluşan ürün hareketli faz yardımıyla dedektöre iletilir, **(iv)** dedektör analitin içeriğine bağlı olarak kolorimetrik absorbans ya da floresans gibi fiziksel parametre değişimlerini kaydeder.

Akış enjeksiyon analizörü içinde gerçekleştirilen akışlar; ya *sürekli* ya da *programlanabilir akış teknikleri* ile taşınmaktadır. *Sürekli akış teknikleri*; akış enjeksiyon (FI) ve kromatografi cihazlarında olduğu gibi enjektörden dedektöre numune taşıma esnasında, taşıyıcının sürekli olarak ileri doğru hareket ettiği tekniklerdir. *Programlanabilir akış teknikleri* ise; ard arda enjeksiyon (SI) ve bundan türeyen ard arda enjeksiyon kromatografisini kapsar. Teknik; belirli bir hızda hareket eden taşıyıcı faz içine enjekte edilen numune ile, taşıyıcı ya da reaktif arasında meydana gelmesi istenen reaksiyonun oluşması için akışın belli bir süre durdurulması, reaksiyon tamamlandıktan sonra da akışın tekrar oluşturulması esasına dayanmaktadır *(Büke, 2006)*.

3.2.3. FIA`ya Etki Eden Önemli Faktörler

Akış Enjeksiyon Analiz (FIA) kavramı üç faktörün bileşimine bağlıdır *(Elo ve Manuel, 2007)*:

1. tekrarlanabilir numune enjeksiyon hacmi,

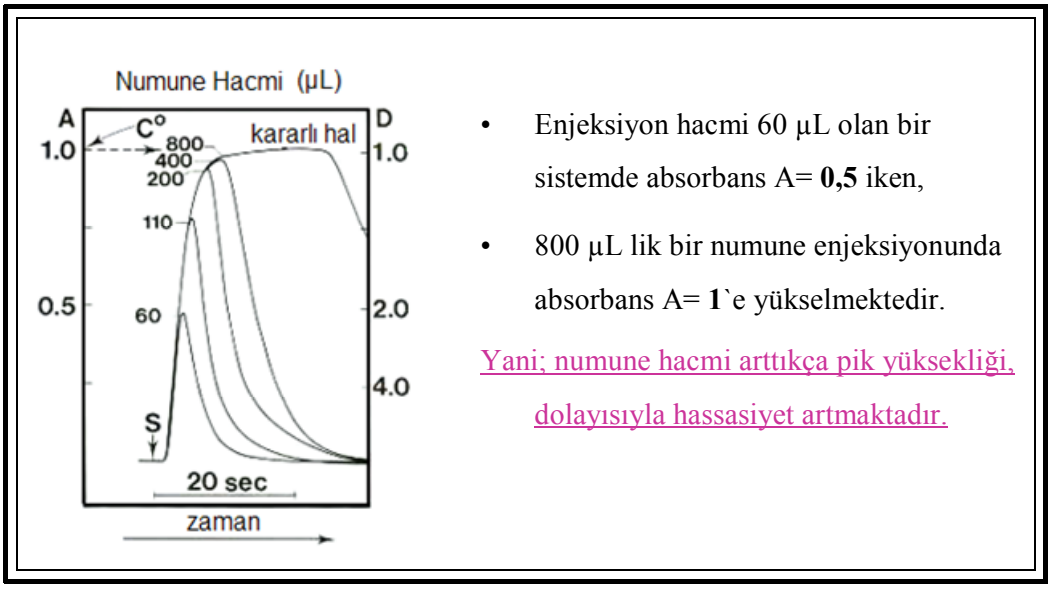
2. kontrol edilebilir numune dağılımı,

3. akış sistemi aracılığıyla enjekte edilen numunenin tekrar üretilebilir zamanlaması.

Bu işlemlerin kombinasyonuyla FIA`da kimyasal bir dengeye ulaşılmadan numunenin geçişindeki analite ait derişim değişimleri dedektörde sürekli gözlenebilen bir sinyal oluşturur.

✦ **Numune enjeksiyon hacmi**

Akış enjeksiyon metodunu diğer metotlardan ayıran en önemli özelliklerinden biri numune enjeksiyonudur. Mikro seviyelerde numune enjeksiyonun yapıldığı FIA`da, elde edilen pik yüksekliğinin ve ölçümdeki hassaslığın artmasında numune hacmi oldukça etkili bir faktördür. *Şekil 5.1.*`de görüldüğü gibi enjeksiyon hacmi artırıldıkça, kararlı bir hal oluşmaya başlamış, bu da hassasiyetin artmasını sağlamıştır *(Ruzicka and Hansen, 1998)*.



Şekil 5.1. Akış Enjeksiyon Analizlerinde (FIA) Numune Hacminin Etkisi

FIA`daki daha sonraki gelişmeler; numune enjeksiyonunun çok daha geniş bir çerçevede değerlendirilmesi gerektiğini ve FIA`nın temel konusunun; dengenin olmadığı şartlar altında analitiksel verilerin çıkarılması için başvurulan dağılım kontrolü olduğunu ortaya koymuştur.

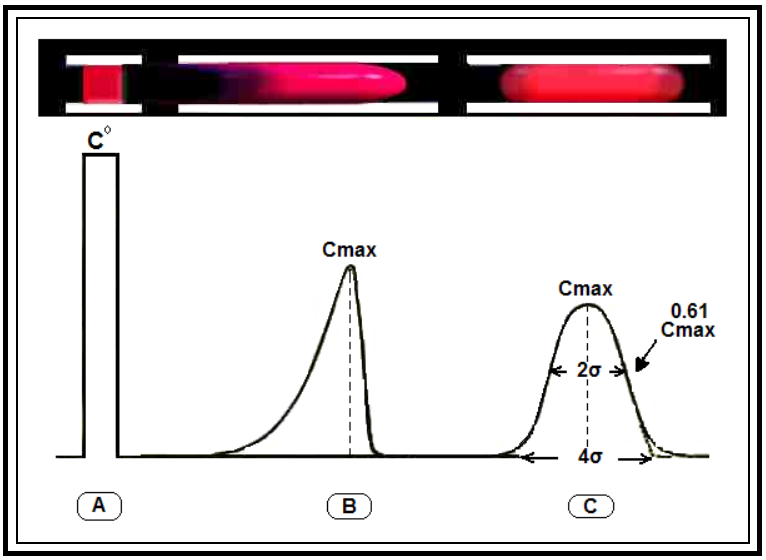
✦ **Numunenin kontrollü dağılımı**

Akış enjeksiyon (FI) sistemlerinin en önemli yönü olan kontrollü dağılma, numune bandının taşıyıcı akış içinde taşınması sırasında meydana gelir. Sürekli bir akış içine gönderilen numune bölgesinin dedektöre taşınması boyunca meydana gelen dağılımın tekrarlanabilirliği, tüm FI sistemlerindeki en önemli fiziksel olgudur. Gerçekleştirilen bir analizi optimize etmek için, FI sisteminde ne kadar numunenin

seyrelmiş olduğunu ve kimyasal reaksiyonların meydana gelmesi için gerekli zamanın ne kadar olduğunu bilmekte fayda vardır.

FIA`da dağılımın spesifik özellikleri, akış parametrelerinin ve akış kanallarının geometrik boyutlarının düzenlenmesi ile tekrar üretilebilir ve kontrol edilebilir olmasıdır. Taşıyıcı faz içine enjekte edilen bölgenin dağılımında aktif olan itici güçler *moleküler difüzyon* ve *konveksiyondur*. Fakat konveksiyon etkisi hakim olduğundan, moleküler difüzyon etkileri çoğu zaman ihmal edilebilir. Konveksiyon, hem kanalın radyal ekseni boyunca farklı noktalarda bulunan sıvı elemanların doğrusal akış hızlarındaki farklılıkların, hem de düz olmayan kanallar içinde akış yönüne dik merkezkaç kuvvetlerinin yarattığı ikincil akışın bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Enjekte edilen bölgenin bir içbükey parabolik yüzü ve bir dışbükey parabolik kuyruk kenarı, taşındığı uzaklıkla artan bir ölçüde taşıyıcı faz içine nufuz ederek gelişmektedir. Böylece, sabit bir kanalla spesifik şartlar altında gerçekleşen FIA`da, rol oynayan kuvvetler iyi bir şekilde kontrol altındadır, bu sebeple rastgele türbülans hiç meydana gelmez. Konsantrasyon-zaman ilişkileri için mükemmel tekrarlanabilirliğe sahip olan sonuçlar üst üste kaydedildiği zaman tek bir eğri oluşturmak üzere diğerleri çakışır. Bu, hem fiziksel hem de kimyasal dengenin olmadığı durumlarda, tekrarlanabilir okumanın sağlanmasına temel oluşturur. FIA`nın tipik dağılım prosesi ***Şekil 5.8.***`de görülmektedir. Sürekli bir akış içine enjekte edilen akım bölgesi, değişik derecelerde dağılım meydana getirmek için tekrarlanabilir bir şekilde uygulanabilir. Dağılmanın ölçüsünü belirleyen kantitatif bir kriter sağlamak için, dağılım katsayısı (D) terimi kullanılmakta ve enjekte edilen bölgenin dağılımdan önce ve sonra sıvı içinde meydana getirdiği konsantrasyonunun bir oranı olarak $D=C_0/C_{max}$ eşitliği ile tanımlanmaktadır (*Ruzicka ve Hansen, 1998*).

Burada; C_0 orijinal analit çözeltisinin taşıyıcı faz içine enjekte edildiği ve henüz dağılmanın gerçekleşmediği analit konsantrasyonudur. C_{max} ise; enjekte edilen analit çözeltisinin taşıyıcı sistem içinde ilerlemesi sırasında meydana gelen, dağılma devam ettiği sürece konsantrasyonu devamlı surette artan ve pikin tepe noktasında da maksimum konsantrasyonuna ulaşan analit konsantrasyonudur. Yani; C_0 analitin başlangıç konsantrasyonunu, C_{max} ise taşıyıcı faz içinde dağılan ve maksimum bir pik veren analit konsantrasyonunu göstermektedir.



Şekil 5.2. Akış Enjeksiyon (FI) Sistemlerinde Numunenin Dağılımı **(a)** Dağılıma Uğramayan Numune Bölgesi (Initial Concentration) **(b)** Dağılmaya Uğramaya Başlayan Numune Bölgesi **(c)** Dağılıma Uğrayan Numune Bölgesi (Gauss Şekli)

Dağılma katsayısı; C_0 derişimi bilinen bir çözeltinin sisteme enjekte edilmesi ve daha sonra bu çözeltinin akış hücresi içindeki absorbansının ölçülmesi ile kolaylıkla hesaplanabilir. Numune hacmi, akış hızı, sistem bağlantılarını oluşturan borular (tubing) ve reaksiyon hücrelerinin iç çapları ve uzunlukları dağılımı etkileyen faktörlerdir:

- fazla numune hacmi → D= 1.0 (analit, taşıyıcı içinde dağılmaz)
- az numune hacmi → D > 1.0 (analit, taşıyıcı içinde dağılır)
- kısa borular → difüzyon için kısa zaman = az dağılım
- uzun borular → difüzyon için uzun zaman = çok dağılım

Ruzicka ve Hansen, (1981), akış hızındaki bir azalmanın, dağılımı azalttığını bildirmiştir (*Ruzicka ve Hansen, 1975)*. Çünkü; akış hızının azalması, dedektöre taşınan numunenin alıkonma zamanını artırmaktadır. Bu aşamada numune ve reaktif arasındaki reaksiyon neredeyse dengeye ulaşır. Dolayısıyla, daha yavaş bir akış hızında, pikin tepe sinyali daha yüksek olacaktır. Fang ise; bu koşulların sadece konveksiyonun, moleküler difüzyon hızında olduğu çok düşük akış hızlarında geçerli olduğunu belirtmiştir (Fang ve ark. 1992).

Bir FIA sistemini oluşturan bileşenlerin geometrik boyutları ve yapılandırmaları dağılımı etkileyen önemli faktörlerdir. Numune bölgesinin dağılımı, açık dar bir tüp boyunca uzanan mesafenin karekökü ile artar. Bu kural sadece düz tüpler için geçerlidir. Tüpler, düzen oluşturmak için sarıldığı veya radyal karıştırma oluşturmak için düğümlendiği zaman, dağılım yoğunluğu sarmal ya da düğümün yarıçapına bağlı olarak farklı derecelerde azalmaktadır. Bu, radyal dağılımı destekleyen aksiyal dağılımı sınırlayan ikincil akışlardan kaynaklanmaktadır.

- **Tekrar üretilebilir zamanlama**

Özel bir yazılım ile, bir bilgisayar tarafından tüm bağlantıları ve parçaları kontrol edilebilen FIA sistemlerinde; numune ve reaktif noktalarına istenilen zamanda erişim sağlanabilmekte ve sisteminin fiziksel yeniden yapılandırılmasına gerek kalmadan, numune enjeksiyonu, karıştırma ve ayırma gibi işlemler zamanında tamamlanabilmektedir. Bu özellikleri sebebiyle FIA sistemleri, aynı şartlarda gerçekleştirilen deneyler için analit konsantrasyonu ile orantılı tekrar üretilebilir piklerin elde edilmesinde oldukça etkindirler *(Hsiang ve ark, 2003)*.

3.2.4. FIA`da Dedeksiyon

FIA kanallarının genel konumu on-line`dır ve sürekli bir modda gelişen adımlardan sonra oluşan türlerin uygun bir şekilde izlenmesi için bir dedektör sistemi önüne yerleştirilmiştir.

Bir akış enjeksiyon (FI) sistemi ve bir dedektör arasındaki ara yüzey, ticari ya da laboratuar yapımı bir akış hücresi iken, yüksek çözünürlüğe sahip dedektör için ara yüzey, tekrarlanabilirlik, doğruluk, duyarlılık ve seçicilik gibi analitiksel kalite parametreleri bağlantının nasıl gerçekleştiğine son derece bağlı olduğu için, birleştirilmiş bir sistemin performansı üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bir akış enjeksiyon (FI) sistemi, amaca uygun bir dedektöre veya dedektör olarak kullanılabilen birçok cihazla birleştirilerek kullanılmaktadır.

3.2.5. FIA`nın Avantajları

FIA, kimyasal analizlerin basitleştirilmesinde oldukça başarılı olmuştur. Bu başarının başlıca sebepleri, geleneksel manuel teknikler üzerinde FIA`nın şu avantajlara sahip olmasıdır:

- Otomasyon nedeniyle düşük işçilik maliyeti,
- Basitlik ve düşük maliyetli enstrümantasyon,
- Fazla miktarda numunenin analizlenmesi için düşük analiz maliyeti,
- Yüksek numune verme hızı,
- Numune hazırlama ve dedeksiyonda otomasyon,
- Mekaniksel performans nedeniyle yüksek hassasiyet,
- Kesikli sistemlere kıyasla yüksek kesinlik,
- Daha az numune, reaktif tüketimi ve daha az atık üretimi,
- Hemen hemen tüm laboratuvarlarda kullanılabilen enstrümantasyon imkanı.

(*Ruzicka ve Hansen, 2002*)

3.2.6. FIA`nın Uygulamaları

Birçok analiz için düzenleme organları tarafından düzeltilen spesifik metodolojilerin yanı sıra, numunelerin farklı doğası FIA metotlarının çok yönlü olmasını gerektirmektedir. Şimdiye kadar FIA metodu kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde; FIA`nın endüstri (*toprak, gübre, alaşım*), klinik (*serum, plazma, tam kan, üre*), çevre (*deniz suyu, atık su, sedimentler*), tarım (*bitkiler*), metalürji, jeoloji, gıda (*meyve suyu, şarap, süt ve süt ürünleri*), ilaç ve biyoteknoloji (*proteinler, amino asitler, amonyak, glikoz*) alanlarında birçok uygulaması olduğu görülmektedir *(Ruzicka ve Hansen, 1975; Ruzicka ve Hansen, 1981; Fang ve ark. 1991).*

Genellikle sulu çözeltilerde uygulaması bulunan tekniğin, doğruluk, uygulanabilirlik, hassaslık, seçicilik, duyarlılık, tespit aralığı ve numune verme hızı gibi özellikleri göz önünde bulundurulduğunda; sulu çözeltilerdeki analitiksel kalite değerlendirmeleri için şu sonuçlar ortaya çıkmıştır *(Valcarcel ve Luque de Castro, 1990).*

- FIA tekniğinin, otomatikleştirilmiş rutin analizler için uygunluğunu ve basitliğini doğrulayan birçok çalışma yayınlanmıştır.
- Uygulamaların kalitesi oldukça kabul edilebilir bir düzeydedir.
- Uygulamaların çoğu inorganik analizlerle ve fotometrik dedeksiyonla ilgilidir.

- Yakın gelecekte, FIA metodu ile gerçekleştirilen analizlerin kontrol laboratuvarlarında çok daha büyük bir uygulama kazanacağı beklenmektedir.
- Bu alandaki eğilimler, özellikle su analizlerinde bir ya da iki bileşiğin izlenmesi amacıyla organik analiz odaklı olmalıdır.
- FIA tekniği, ilaç analizlerinde otomasyonun gelişimine ciddi katkıları olan çok yönlü bir enstrümantal araç haline gelmiştir.

4. ANALİTİK YÖNTEM VALİDASYONU

4.1. Validasyonun Tanımı ve Çeşitleri

Validasyon; bir cihazın, metodun veya sistemin performansının belirlenen koşullara uygun olduğunu göstermek için yapılan işlemler olarak tanımlandığı gibi, bir ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğunun objektif olarak test edilerek yazılı delillerle kanıtlanması olarak da ifade edilmektedir.

Validasyonun; *tam*, *kısmi* ve *çapraz* olmak üzere üç farklı türü vardır ve hangi validasyon türünün uygulanacağı amaca göre belirlenir. Belirtilen validasyon türlerinin kısa açıklamaları aşağıda yer almaktadır:

- ***Tam Validasyon:*** Numune analizlerinde uygulanmak üzere, her bir analit için metot validasyon parametrelerinin oluşturulmasıdır.
- ***Kısmi Validasyon:*** Önceden valide edilmiş bir analitik metodun validasyonunda değişiklikler yapılmasıdır. Örneğin; analitik metodun valide edildiği laboratuvar ya da analistin veya alet/yazılım ortamının değiştirilmesi, ayrıca numune hazırlama tekniğinde değişiklikler yapılması durumlarında kısmi validasyon yeterli olmaktadır.
- ***Çapraz Validasyon:*** İki analitik metodun validasyon parametrelerinin karşılaştırılmasıdır. Aynı çalışmada iki ya da daha fazla analitik metot kullanılacağı zaman gerekmektedir.

4.2. Analitik Yöntem Validasyonunun Aşamaları

Spesifik bir analitik metot validasyonu 3 aşamada değerlendirilebilir:

1. Referans standart maddelerin hazırlanması
2. Analitik metot gelişimi/yürütülmesi için ön çalışma validasyonunun gerçekleştirilmesi (cihaz validasyonu ve optimizasyon)
3. Çalışma performansı ve kabul kriterlerini kapsayan çalışma validasyonunun gerçekleştirilmesi

Referans maddeler: bir ölçüm sırasında referans olarak kabul edilen maddelerdir. Referans maddeler;

- analitik kalibrasyon amacıyla[3],
- metot kalibrasyonu amacıyla,
- ölçüm cihazlarının performansını ölçmek amacıyla[4],
- laboratuvarlar arası karşılaştırmalarda,
- metot geliştirmek amacıyla,
- ölçüm izlenebilirliğinin sağlanması amacıyla birçok sebeple kullanılmaktadır.

Referans maddeler özelliklerine göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilirler:

- Primer Referans Maddeler (PRM)
- Sertifikalı Referans Maddeler (CRM)
- Çalışma Referans Maddeler (WRM)
  - ✦ Matriks Referans Maddeler
  - ✦ Saf Referans Maddeler

4.3. Validasyon Parametreleri

Bir analitik metodun validasyonu şu parametreler esas alınarak gerçekleştirilmektedir:

- ✳ Doğruluk (Accuracy)
- ✳ Kesinlik (Precision) ve Tekrarlanabilirlik (Repeatability)
- ✳ Tayin Limiti (Limit of detection, LOD)
- ✳ Ölçüm Limiti (Limit of quantitation, LOQ)
- ✳ Seçicilik/Spesifik olma (Selectivity/Specificity)
- ✳ Lineer Bölge ve Ölçüm Aralığı (Linearity/Range)
- ✳ Sağlamlık (Ruggedness/Robustness)
- ✳ Hassasiyet (Sensivity)

---

(3) *Analitik Kalibrasyon:* konsantrasyon ile ölçüm sinyali arasındaki bağıntı (genellikle kalibrasyon periyodu kısadır).

(4) *Ölçüm Cihazının Kalibrasyonu*: ölçüm cihazının; dalga boyu, absorbans, akış hızı gibi fiziksel parametrelerinin kalibrasyonu (genellikle kalibrasyon periyodu uzundur).

4.3.1. Doğruluk (Accuracy)

Doğruluk; tanımlanan koşullarda tespit edilen değerin, nominal veya bilinen gerçek değere yakınlık derecesidir. Doğruluk tayininde kullanılan gerçek değer iki yolla elde edilebilir.

1. *Referans bir yöntem ile sonuçların karşılaştırılması (Huber, 1993):* referans yöntemde sistematik hata olmadığı varsayılarak, bilinen doğru ile hazırlanan örnekler ile doğruluğun belirlenmesidir.

2. *Doğruluğun, bilinen konsantrasyonlara sahip bir örneğin analiziyle kontrol edilmesi (Huber, 1993):* analitin cihaza verilmesinden sonra alınan cevabın, saf çözücüye referans ilavesi ile okunan cevap ile karşılaştırılmasına bağlıdır. Bu doğruluk, örneğin hazırlanışındaki etkiyi ölçer. Genellikle; yaklaşık konsantrasyonda ilave edilen analitin geri kazanımı doğruluğun göstergesi olarak kabul edilir *(Shah ve ark., 1992)*. Deneme sonucunda bulunan değer, gerçeğe oranla yüzdesi alınarak belirtilir. Kabul edilebilir kriter, doğruluk için nominal değerden ± % 15`den fazla sapmanın olmamasıdır.

Mutlak Hata (E) : E = X_i - X_t X_i: ölçülen değer

X_t: gerçek değer, kabul edilen değer

Mutlak hata, binde bir oranında (ppt) gösterildiği gibi, % ile de gösterilmektedir *(Shah ve ark., 1992)*.

$$\textit{Bağıl Hata } (E_r) : Er = \frac{X_i - X_t}{X_t} x100$$

Bağıl hata (Er), mutlak hatadan (E) daha çok kullanılan bir değerdir.

4.3.2. Kesinlik (Precision) ve Tekrarlanabilirlik (Repeatability)

Yöntemin kesinliği, herhangi bir değerin tekrarlanabilme kabiliyeti veya bireysel test sonuçlarının birbirine yakınlığının bir derecesidir *(Anonim-1, 1995; Rodriguez, 1993)*. Kesinlik daha ileriki aşamalarda gün içi (deney içi) ve günler arası (deneyler arası) kesinlik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Yöntem kesinliği, standartların onayladığı bir dizi farklı ölçümün test sonuçlarına etkisidir. Kesinlik için kabul edilen kriter analizin tipine dayanır. Ayrıca kesinlik; analit konsantrasyonuna, analiz tekniğine bağlı olup bağıl standart sapma % 2 ve %20 den

fazlaya kadar çeşitlilik gösterebilir *(Hartmann, 1998)*. Ölçülen standartlardaki farklılık üç kategoride incelenebilmektedir. Bunlar: *tekrarlanabilirlik*, *orta kesinlik* ve *tekrar yapılabilirlik`tir*.

Tekrarlanabilirlik (r): aynı kişi tarafından aynı şartlarda kısa zaman zarfında sabit bir örneğin belli bir yöntem kullanılarak yapılan bir dizi işlemin, kesinliği olarak tanımlanır *(Ertaş, 1997)*.

Orta kesinlik: bir yöntemin tutarlılığının belirlenmesi için, uzun haftalar boyunca bir laboratuvarda o yöntemin sonuçlarının karşılaştırılmasıdır.

Tekrar yapılabilirlik (R): laboratuvarlar arası kesinlik değerini temsil eder. Bir analitik yöntemin tekrar yapılabilirliği; farklı analizcilerin farklı labarotuvarlarda gerçekleştirdikleri analizlerin aynı sonuçları vermesine bağlıdır *(Anonim-1, 1995).*

Kesinliğin tespit edilmesinde kullanılan bazı temel istatistiksel eşitlikler aşağıda yer almaktadır.

Eşitliklerde; **s:** standart sapma, $\bar{x}$**:** ortalama değer, x_i**:** ölçülen değer, **N:** ölçüm sayısını ifade etmektedir.

$$\textbf{Standart Sapma : } s = \sqrt{\frac{\sum\left(x_i - \bar{x}\right)^2}{N-1}} \qquad \textbf{Bağıl Standart Sapma : } RSD = \left(\frac{s}{\bar{x}}\right) x1000$$

$$\textbf{Varyans : } s^2 = \frac{\sum\left(x_i - \bar{x}\right)^2}{N-1} \qquad \textbf{Varyasyon Katsayısı : } CV = \left(\frac{s}{\bar{x}}\right) x100$$

4.3.3. Tayin Limiti (Limit of detection, LOD)

Tayin limiti (LOD); analitin analiz koşullarına, kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk değerlerine bağlı olarak analitik bir işlemle tayin edilebilecek en düşük konsantrasyon değeridir *(Shah ve ark., 1992)*. LOD, zemin gürültüsünden farklı olarak tespit edilen, fakat miktarı belirlenemeyen en küçük analit konsantrasyonu olarak da tanımlanmaktadır.

LOD`nin belirlenmesi aletli ve aletsiz olmak üzere yönteme göre değişir. Aletli işlemlerde; bilinen en düşük konsantrasyonda analit içeren örnek sonuçlarının kör sonuçlarıyla karşılaştırılmasıyla yani sinyal/gürültü oranı ile belirlenir ve genelde

sinyal/gürültü oranı 2:1 veya 3:1 olarak kabul edilir *(Ertaş, 1997)*. Tayin sınırının hesaplanmasında diğer bir yöntem, kör örneklerinin analizlenerek analitik geri zemin cevabının ölçülmesi ve bu değerin standart sapmasının 2 veya 3 gibi bir faktörle çarpılmasıdır.

4.3.4. Ölçüm Limiti (Limit of quantitation,LOQ)

Ölçüm limiti (LOQ); analitin analitik bir yöntemle uygun doğruluk ve kesinlikle tayin edilebilecek en düşük konsantrasyonudur *(Huber, 1993)*. Analitin bilinen miktarlarla azaltılmasıyla hazırlanan örnekler ölçülür ve kabul edilebilir kesinlik ve doğruluğa sahip en düşük miktar tespit edilir. Genellikle; varyasyon katsayısı ile varyasyon katsayısının % 15-20 yi aşan konsantrasyonlarıyla ifade edilen ölçüm limiti (LOQ), pek çok zaman da tayin limitinin (LOD) iki veya üç katı olarak kabul edilmektedir.

LOQ`nün tayini için yürütülen deneysel işlemler; belli bir sayıda kör örneği analiz ederek analitik geri zeminin ölçülmesi ve elde edilen değerlerin standart sapmasının 10 veya 20 gibi bir faktör ile çarpılmasıdır *(Sarrio, 1996)*.

4.3.5. Seçicilik/Spesifik olma (Selectivity/Specificity)

Spesifiklik ve seçicilik, aynı göstergeymiş gibi kabul edilip incelenen terimler olsalar da, aslında iki terim birbirinden farklıdır. Spesifiklik terimi genellikle tek analite cevap üreten bir yöntem için; seçimlilik terimi ise birbirinden ayrılabilen veya ayrılmayan kimyasal varlıklar için cevaplar üreten bir yöntem için kullanılır.

Bir analitik metodun seçiciliği; numunede başka bileşenlerin varlığında analitin ayrımı & tespitini sağlayabilme ve analite doğru şekilde cevap verebilme kabiliyetidir *(Çelik, 2007)*. Seçiciliğin üstünlüğü, kullanılan analiz yönteminin sadece etken maddeye özgü ve spesifik cevap vermesidir.

4.3.6. Doğrusallık ve Lineer Ölçüm Aralığı (Linearity / Range)

Bir analitik işlemin doğrusallığı; belirli bir aralıkta örnekte bulunan analizlenecek maddenin konsantrasyonunun oranıyla, direk etkili olan deneme sonuçlarının bir bileşenidir. Doğrusallık genellikle; değişik konsantrasyonlarda analit içeren örneklerin analizleri sonunda elde edilen sonuçlar arasındaki matematiksel

ilişkiye göre hesaplanan regresyon doğrusu eğiminin varyansıyla belirlenir. Oluşturulan kalibrasyon grafiği, 5-8 standart noktadan oluşmalı ve deneylerde kullanılacak konsantrasyon aralıklarının tümünü kapsamalıdır *(Shah, 1992)*.

Bir yöntemin ölçüm aralığı ise; kabul edilebilir doğruluk, kesinlik ve doğrusallık ile tanımlanabilen verilere sahip analitin, en düşük ve en yüksek düzeylerinin ifadesidir[(5)]. Ölçüm aralığı genellikle, analitik yöntemle elde edilen deney sonuçlarıyla aynı birimde gösterilir. Ölçüm aralığının belirlenmesi genellikle; muamele edilecek madde derişimiyle, deney sonuçlarının en küçük kareler yöntemiyle regresyon doğrusunun hesaplanmasıyla elde edilir. Bazı durumlarda denemeler ve örnek konsantrasyonları arasında orantı kurabilmek için deney verilerine, regresyon verilerine göre matematiksel bir dönüşüm uygulanabilir.

4.3.7. Sağlamlık (Ruggedness/Robustness)

Sağlamlık, çeşitli şartlar altında yöntemin analitik sonuçlarının kabul edilebilir doğruluk ve kesinliğini saptama kabiliyeti olarak tanımlanmaktadır. Sağlamlık, yöntemin bir veya birden daha fazla göstergesi değiştirildiğinde tekrar validasyona ihtiyacı olup olmadığına karar verilmesini sağlar. Farklı oda sıcaklığı, farklı labarotuvarlardaki nem, farklı tecrübeye sahip analizciler, farklı firma aletleri, farklı kaynaklardan belirteçler sağlamlığa etki eden faktörler arasında yer almaktadır. Bir metot deneysel koşullardaki değişimlerden ne kadar az etkileniyorsa o kadar sağlamdır.

4.3.8. Hassasiyet (Sensivity)

Hassasiyet (duyarlılık); deneysel işlemlerde konsantrasyondaki küçük değişimleri kaydetme kapasitesidir. Doğrusallık kısmında belirlenen regresyon doğrusu, duyarlılığın belirlenmesi için yeterlidir (kalibrasyon hassasiyeti). Regresyon doğrusunun eğimi, yöntemin hassasiyetini verir. Hassasiyeti belirlemede kullanılan bir diğer terim ise; LOD/LOQ (analitik hassasiyet)`dir.

Yukarıda da belirtildiği gibi; iki şekilde ifade edilen metot hassasiyeti için *(Rodriguez, 1993)*.

---

(5) Konsantrasyon ile cevap arasındaki ilişki doğrusal değilse, standardizasyon oluşturulacak kalibrasyon eğrisi yardımıyla sağlanabilir.

- *Kalibrasyon hassasiyeti (m)*: kullanılan cihazın özelliklerine bağlı olarak, analit konsantrasyonu ile alet sinyali arasındaki ilişkiye dayanır (analitik eğrinin eğimi).
- *Analitik hassasiyet (γ):* analitik eğrinin eğiminin (m), analitik sinyalin (S) ölçümünün standart sapmasına (s) bölünmesi ile elde edilir.

$$\textbf{AnalitikHassasiyet}: \frac{\mathbf{m}}{\mathbf{S_s}}$$

5. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Sunulan tez çalışmasına hazırlık olması ve tez süresi boyunca yapılan çalışmalara yön vermesi açısından edinilen kaynak araştırmasına ait bilgiler aşağıda iki kısım halinde özetlenmiştir. I. kısımda; *Rafinasyon Sırasında Bitkisel Yağlarda Meydana Gelen Değişimler ile İlgili Araştırmalar*, II. kısımda ise; *Akış Enjeksiyon Analiz ve Diğer Yöntemlerle Yapılan Yağ Analizleri ile İlgili Araştırmalar* yer almaktadır.

Yağların kalite-kontrol parametrelerini belirleyici pek çok yöntem bulunmakla birlikte, bunlardan oldukça az bir kısmında zahmetli, maliyetli, çevre dostu olmayan klasik yöntemlerden (standart metotlar) uzaklaşılabilmiştir. Bu sebeple; sunulan tez çalışmasının Türkiye yağ sanayi ve literatür açısından büyük bir boşluğu dolduracağı düşünülmektedir.

5.1. Rafinasyon Sırasında Bitkisel Yağlarda Meydana Gelen Değişimler

Yağın trigliserit yapısını bozmadan ve antioksidan görevi yapan ve E vitamininin sentezlendiği öncü moleküller olan doğal tokoferollere zarar vermeden, tüketime engel olan safsızlıkların uzaklaştırılması teşkil eder. Ancak, rafinasyon sırasında yağa uygulanan teknolojik işlemler, yağın bünyesinde istenmeyen bazı değişikliklere neden olabilmektedir *(Bayaz, 1992).*

(Helme, 1980), rafinasyon işlemi sırasında yağların asitlik, renk, koku ve tat gibi özellikleri düzeltilirken, yapısal özelliklerinde bazı değişiklikler meydana geldiğini vurgulamış, (*Gürcan, 2001)* ise; rafinasyon esnasında uzaklaştırılan ve oluşan maddeleri çalışmasında özetlemiştir.

Yağlar trigliseritlerin yanı sıra, trigliseritlerin hidrolizi sonucu meydana gelen serbest yağ asitlerini de içermektedir. Alkalilerle yapılan *kimyasal nötralizasyon* işleminde, serbest yağ asitleri NaOH veya diğer alkalilerle sabunlaştırılarak yağdan uzaklaştırılırlar (*Bernardini, 1973)*. *Fiziksel rafinasyon yönteminde* ise; serbest yağ asitleri, buhar destilasyonu ile, yağa yüksek sıcaklıkta ve vakum altında su buharı enjekte edilerek istenmeyen tat ve koku maddeleri ile birlikte ortamdan alınmaktadır (*Saygın, 1988).*

Zeytinyağlarında nötralizasyon işlemi klasik olarak alkali rafinasyonu ile

yapılmakla beraber, son yıllarda buhar destilasyonu da yaygın olarak kullanılmaktadır. Her iki yöntemle de zeytinyağının asitliğini % 0.01-0.03 düzeylerine düşürmek mümkündür *(Swern, 1979).* Ancak, deodorizasyon sıcaklığının 260 °C`lara yükselmesi ile trigliseritlerin bir kısmı hidroliz olmakta ve serbest yağ asidi miktarında tekrar artış meydana gelmektedir (*Jawad ve ark. 1983).*

Mounts ve ark. (1979), mısırözü yağının fiziksel rafinasyon aşamalarında serbest asitlik ve peroksit değişimlerini incelemişler, ham mısırözü yağı serbest asitlik değerlerini degumming, ağartma ve vinterizasyon aşamalan çıkışındaki yağlarda sırasıyla % 5.24, % 5.30, % 0.03 olarak belirlerken, vinterizasyon çıkışı yağda peroksit tespit edememişlerdir. Aynı çalışma grubu, sağlam ve zarar görmüş soya danelerinden elde ettikleri ham soya yağlarını laboratuvar şartlarında degumming işlemine tabi tutmuşlar ve işlem sonundaki serbest asitlik ve peroksit değerlerini belirlemişlerdir. Degumming işlemi, 300 g yağa %2-4 oranlarında su ilave edilmesiyle, 60 °C`de gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara göre, sağlam ve zarar görmüş danelerin yağlarının serbest asitlik ile peroksit değerleri sırasıyla % 0,27-1,0; % 1,1-1,7; 0,6-1,8 meqO_2/kg, 1,7-85,7 meqO_2/kg olarak bulunmuştur.

Bayaz, (1992) zeytinyağı örneklerine ait serbest asitlik değerlerinde meydana gelen değişmeleri incelemiş, gerek fiziksel gerekse kimyasal rafinasyon yöntemiyle elde edilen rafine zeytinyağı örnekleri serbest asit içeriklerinin, ağartma kademesinde az da olsa yükselme gösterdiğini ve bu artışın ağartma işleminde kullanılan ağartma toprağından kaynaklandığını belirtmiştir.

Swern, (1979) yaptığı çalışmada, ağartma işlemiyle yağın asitliğinde %0,05-0,10 oranında bir yükselme meydana geldiğini tespit etmiş, fakat serbest asitlik değerleri ortalamalarına ait Duncan test gruplarını incelediğinde, meydana gelen bu artışın istatistiksel açıdan önemli olmadığını bildirmiştir.

Swern, (1964) bitkisel sıvı yağların deoderizasyonu ile ilgili yaptığı çalışmada, serbest yağ asitleri ile istenmeyen tat-koku madde miktarları arasında bir ilişki olduğunu, serbest yağ asitliği %0,10`dan %0,02-0,04`e düştüğünde ise istenmeyen tat-koku maddelerinde önemsenir bir kaybolma meydana geldiğini bildirmiştir. *Swern, (1964)* ayrıca deoderizasyon kademesinin yeterli düzeyde yapılıp yapılmadığının tespitinde *serbest asit sayısı* ve peroksit değerinin birlikte

değerlendirilmesi gerektiğini de vurgulamıştır.

Bayaz, (1992) fiziksel ve kimyasal rafinasyon kademelerinde, zeytinyağının serbest asit içeriği ile peroksit değerinde oluşan değişmeler arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki olduğunu bildirmiş ve iki faktör arasındaki korelasyon katsayını R^2= 0,908 olarak tespit etmişlerdir.

Gümüşkesen, (1990), deodorizasyon işlemi ile yağdaki serbest yağ asitlerinin, uçucu tat ve koku maddelerinin giderileceğini ve peroksitlerin termal yıkılımına bağlı olarak yağın oksidatif stabilitesinin yükseleceğini belirtmiş, fakat bunun aksine yüksek sıcaklıkta, uzun süreyle ve yetersiz vakum altında yapılan deodorizasyon işleminin, uçucu olmayan karbonil miktarının artışına sebep olacağından oksidatif stabiliteyi azaltabileceğini de ifade etmiştir.

Yağların oksidasyon derecelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan peroksit değeri, oksidasyon sonucu yağda oluşan hidroperoksitlerle potasyum iyodürün reaksiyonu sonucu açığa çıkan iyodun kantitatif ölçümüne dayanmaktadır *(Swern, 1979).*

Bayaz, (1992), kimyasal rafinasyonun zeytinyağının özellikleri üzerine etkisini incelemiş, zeytinyağlarının rafinasyon öncesi oldukça yüksek olan peroksit değerlerinin, kimyasal rafinasyonun her aşamasında düştüğünü ve bu azalmanın rafine zeytinyağında %88 oranına ulaştığını tespit etmiştir.

Yoon ve ark. (1994), soya yağının ağartma, nötralizasyon ve deoderizasyon aşamaları sonundaki oksidatif kararlılıklarını incelemişler, doğal antioksidantların hasar görmesi sebebiyle, deoderizasyon çıkışı soya yağının diğer aşamalardan çıkan yağlara kıyasla oksidatif stabilitelerinin daha fazla düştüğünü bildirmişlerdir.

Kayahan, (1982), ağartma topraklan ile yapılan renk açma sırasında gliserit molekülünde yer alan doymamış yapıdaki yağ asitlerinde hem geometrik izomeri dönüşümünün olduğunu hem de zincir üzerindeki çift bağların yönü belli olmamak kaydı ile yer değiştiğini belirtmektedir.

Ostric ve ark. (1980), ağartma topraklarındaki pigment maddelerinin, sabun ve metal miktarlarını azalttığını, bunun sonucunda kaliteli ve stabil yağ elde edilebildiğini bildirmişler, fakat bunun yanı sıra ağartma işleminde konjuge dien

miktarının arttığını, tokoferol miktarının da azaldığını vurgulamışlardır. Aynı çalışma grubu; ağartma kademesinin, deoderizasyon çıkışı yağ kalitesine etkilerini incelemişler, sürekli ve kesikli sistemlerde nötralize edilmiş yağların peroksit sayısı değerleri sırasıyla 10,5 meqO_2/kg ve 6.9 meqO_2/kg iken, ağartma işleminden sonra 6,3 meqO_2/kg ve 5,3 meqO_2/kg değerlerine düştüğünü gözlemlemişlerdir. Deoderizasyon aşaması çıkışı yağlarda ise; her iki sistemde de peroksit tespit edememişlerdir.

Evans ve ark. (1960) yağda oksidatif tepkimeler sonucu oluşan hidroperoksitlerin 100 °C üzerindeki sıcaklıklarda parçalandığını, bu nedenle 100 °C ve üzeri sıcaklıklarda gerçekleştirilen renk açma ve deoderizasyon işlemlerinin zeytinyağının peroksit değerinde daha etkili bir azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. *Swern, (1979)* ise, deoderizasyon kademesi dışında rafinasyon kademelerinde peroksit değerinde meydana gelen azalmanın, peroksit bileşiklerinin yağdan uzaklaşması şeklinde olmayıp, ikincil ürünlere parçalanması şeklinde olduğunu belirtmiştir.

Peroksit değeri, sadece yağdaki peroksit bileşiklerinin konsantrasyonu ile ilgilidir. Bu nedenle; yağın ulaştığı toplam oksidasyon derecesi hakkında bilgi vermemektedir *(Ersoy, 1985)*. Bu sebeple; yağdaki peroksit parçalanma ürünlerinin de belirlenerek, yağların toplam oksidasyon derecelerinin saptanmasında peroksit değeriyle beraber anisidin değerinin de kullanılması önerilmektedir. Totox değeri olarak bilinen bu değer (Totox değeri= 2 x peroksit değeri + anisidin değeri) eşitliği ile hesaplanmaktadır *(Swern, 1979)*.

Bayaz, (1992), kimyasal rafinasyonun nötralizasyon kademesinde ham yağın p-anisidin değerinin önemli düzeyde değişmediğini belirtmiş, ağartma işlemi ile yükselen p-anisidin değerinin, deoderizasyon işlemi ile tekrar düştüğünü tespit etmiştir.

Renk açma işlemi ile p-anisidin değerinde meydana gelen yükselme, ortamdaki hidroperoksitlerin parçalanarak, ikincil oksidasyon ürünlerinin artması sonucunda meydana gelmektedir. Yağa istenmeyen tat ve koku veren ikincil oksidasyon ürünleri, trigliserit molekülündeki yağ asidi zincirlerine zayıf Van der Vals kuvvetleri ile bağlı olup, yüksek sıcaklıklarda bile düşük buhar basıncına

sahiptirler *(Saygın, 1988)*. Bu ürünler, deoderizasyon kademesinde, yüksek sıcaklık ve düşük basınçta, su buharının da sürükleyici etkisiyle yağlardan uzaklaştırılmakta, böylece yağdaki p-anisidin değeri düşürülmektedir *(Jawad ve ark. 1983)*.

Bayaz, (1992) hem kimyasal, hem de fiziksel rafinasyona tabi tutulan yağların totox değerlerinde sürekli bir azalma meydana geldiğini belirtmiş, istatistiksel açıdan önemli olduğunu saptadığı bu azalmanın, kimyasal ve fiziksel yöntemlerle yapılan rafinasyonlarda sırasıyla %79 ve %74 olduğunu tespit etmiştir.

Yoon ve ark. (1994) ağartılmış yağlarda bulunan monogliseritlerin, yağın oksidatif stabilitesini düşürdüğünü, deoderizasyon işlemi ile yağlardan uzaklaştırılan serbest yağ asitleri ve nemin ise; yağın oksidatif stabilitesini artırdığını bildirmişlerdir.

Sıvı yağların raf ömürlerinin belirlenmesinde aktif oksijen metodu (AOM) ve Ransımat cihazı yaygın olarak kullanılan metotlardandır. Her iki metotta da yüksek sıcaklıklar (100-140°C) kullanılmakta ve yağların oksidasyonu hızlandırılarak, raf ömürleri kısa bir zamanda belirlenebilmektedir. AOM`unda raf ömrü sonu peroksit değeri 100 meq$O_2$/kg`ayükseldiğnde, Ransımat metodunda ise yağın oksidasyonu sonucu oluşan uçucu maddelerin su içinde tutulması ile iletkenlikte meydana gelen hızlı bir artıştan bulunur *(Frank ve ark. 1982)*.

Moo ve ark. (1995), tavlamanın ve kimyasal rafinasyon aşamalarının soya yağının oksidatif stabilitesine etkilerini araştırmışlar, tavlanmamış soyadan elde edilen ham yağda fazla miktarda peroksit tespit etmişlerdir. Bu yağda Ransımat değeri 88,7 saat olarak belirlenirken, tavlanmış soyadan elde edilen ham yağda ise 44,7 saat olarak tespit edilmiştir. Araştırmada, kimyasal rafinasyon aşamalarının oksidatif stabiliteleri peroksit değerlerine göre ham yağ > degumming > nötralizasyon > deodorizasyon > ağartma, Ransımat değerlerine göre ise ham yağ > degumming > deodorizasyon > nötralizasyon > ağartma şeklinde sıralanmıştır.

Laubli ve ark. (1988*),* ransımat metodu ve AOM arasındaki ilişkiyi araştırmışlar, katı ve sıvı yağların oksidatif stabilite çalışmalarında uygun ve zahmetsiz bir metot olduğunu düşündükleri ransımat metodunun, yağların antioksidant ve pro-oksidant etkilerinin belirlenmesinde oldukça etkili olduğunu, ayrıca AOM değerleri ile iyi bir uyum sergilediğini bildirmişlerdir.

Kaya ve Tekin, (1992), ransımat metodunun prensiplerinden yararlanarak hızlandırılmış raf ömrü test cihazı kurmuşlar ve ayçiçeği yağının raf ömrünü araştırmışlardır. Çalışmada, peroksit değeri 7,5 meqO_2/kg olan *rafine ayçiçeği yağının raf ömrü değerlerini* 100°C, 110°C ve 120°C`lerde sırası ile 6,10; 3,25 ve 2,10 saat, *BHT katılmış ayçiçeği yağında* 9,20; 5,80; 3,25 saat ve *BHT ve sitrik asit katılmış ayçiçeği yağında* 10,50; 6,35; 3,46 saat olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar, BHT ve BHT-sitrik asit kullanıldığında raf ömrü sonunda önemli bir artış olduğunu tespit etmişler; BHT`nin oluşan radikalleri önleyici özellik gösteren bir antioksidant olduğunu, sitrik asidin ise bir antioksidant olmamasına rağmen metallerle kompleks yaparak metallerin oksidasyon etkilerini azalttığını bildirmişlerdir.

5.2. Akış Enjeksiyon Analiz ve Diğer Yöntemlerle Yapılan Yağ Analizleri

Yağ analizleri ile ilgili olarak 1990 yılında İspanya`da bir review yayınlanmıştır *(Luque de Castro ve Garcia-Mesa, 1990).* Bu çalışma; sıvı yağ analizleri için FI metotlarındaki gelişmeleri içermektedir. Gözden geçirilen çalışmaların çoğu; *serbest yağ asitleri (%FFA)*, *birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri (PV, AV, 2-TBARS... vb.)* ve *antioksidanların belirlenmesi* gibi analizleri içermekte, bazı çalışmalar ise acılık veren maddelerin, sterollerin, pestisitlerin, anilin ve gliserollerin belirlenmesi için kullanılan metotların otomasyonunda FI sistemlerinin ve FI-GC & FI-HPLC birleştirilmiş tekniklerinin kullanımına yer vermektedir. Bu review`de yer alan çalışmalardan, sunulan tez çalışmasının konusunu kapsayan kısımlara aşağıda detaylı olarak yer verilmiştir:

Serbest yağ asidi (%FFA) içeriği; zeytinyağlarının üretimi, depolanması ve satışa sunulması sürecinde, yağın kalitesinin belirlenmesi amacıyla sıklıkla kullanılan bir kontrol indisidir. Yağlarda serbest yağ asitlerinin oluşumu, hidroliz neticesinde ana trigliserit molekülündeki ester bağından yağ asitlerinin koparılmasından kaynaklanmaktadır. %FFA içeriği, özellikle nötralizasyon prosesi uygulanmayan sızma zeytin yağları için özel bir önem taşımaktadır. Diğer yemeklik yağlar, çeşitli proseslere tabi tutuldukları için daha düşük %FFA içeriğine sahiptirler *(Rossell ve Pritchard, 1991).* Yağlardaki yüksek %FFA içeriği, yağ kalitesinin düşük olduğunu göstermektedir.

%FFA içeriğinin belirlenmesinde kullanılan standart metotlar susuz

titrimetrik analizlere dayanmaktadır. Karakteristik bir örnek olan standart European Community metodu sırasıyla şu basamakları içermektedir; (a) beklenilen asidite değerine göre 2.5-20 g yağın tartımı (b) yağ numunesinin 50-150 mL 1:1 etanol-dietil eter çözeltisinde çözülmesi (c) çözülmüş numunenin fenolftaleyn indikatörü eşliğinde 0.1 M etanollü KOH ile titrasyonu. Bu işlem saatte sadece 7-8 numune analizine izin, zaman alıcı *(Linares ve ark. 1989)* ve fazla miktarlarda organik çözücü sarfiyatı gerektiren bir prosedürdür. *Ekstrom, (1981),* bu problemlerin üstesinden gelebilmek için; %FFA ile Cu^{+2} arasında meydana gelen bakır sabunu oluşumuna dayanan bir akış enjeksiyon (FI) metodu geliştirmiştir. Bakır iyonları ile %FFA`lar arasında gerçekleşmesi istenilen reaksiyonu oluşturmak için ekstraksiyonun kullanıldığı metotta; ölçümler, meydana gelen bakır sabununun oluşturduğu renkten faydalanarak gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacıların sıvı yağların %FFA içeriğini belirlemede kullandıkları alet; sekiz kanallı olup, bir karıştırıcı ve iki ekstraksiyon hücresine sahiptir. Çalışmada numune verme hızı 12-20 h^{-1} olarak tespit edilmiştir.

Linares ve ark. (1989), zeytinyağının %FFA içeriğini tespit etmek için öncelikle numuneyi organik bir çözücü ile seyreltmişler, daha sonra fenolftaleyn içeren bazik taşıyıcı faz içine enjekte etmişler ve absorbans değişiminden faydalanarak %FFA tayinini gerçekleştirmişlerdir. Oluşturulan sistem ile saatte 60 h^{-1} numunenin analizi gerçekleştirilmiştir.

Takamura ve ark. (1995), %FFA tayini için amperometrik dedeksiyonlu ve tek kanallı bir FI sistemi kullanmışlar, etanol-eter çözeltisi içerisinde ön seyreltme işlemine tabi tuttukları yağ numunesini, $LiClO_4$ içeren etanollü K vitamini çözeltisi içine enjekte etmişlerdir. Metotta; %FFA`lar K vitamininin kinon kısmına bir proton vererek, K vitaminin 3 indirgenme pikini pozitif potansiyele kaydırmıştır. Analiz, K vitamininin voltamogramındaki bu ön pikin gözlenmesine dayanmaktadır. Analizde, cam karbon çalışma elektrodu, Ag/AgCl referans elektrodu ve paslanmaz çelik yardımcı elektrodu olan wall jet 3 elektrokimyasal dedektörü kullanılmış, saatte 30 h^{-1} numunenin analizi gerçekleştirilmiştir *(Fuse ve ark. 1997).*

Peroksitler gıdalardaki oksidatif bozulmanın bir göstergesidir. Yemeklik yağlardaki bozulma üç yolla ilişkilidir; hidrolitik bozulma, oksidatif bozulma ve

ketonik bozulma *(Allen, 1994)*. *Hidrolitik bozulma* %FFA`ların oluşumuna sebep olurken, *oksidatif bozulma* doymamış yağ asitlerindeki oksijen ataklarından kaynaklanmaktadır ve kötü koku oluşumu ile sonuçlanır. *Ketonik bozulma* ise; yağdaki bakteri ataklarından meydana gelir ve ketonlarla, kısa zincirli doymuş yağ asitlerinin serbest kalmasına neden olur. Lipoksigenaz olarak adlandırılan enzimler olmasına rağmen, oksidatif bozulmadan kaynaklanan yağ bozulması otooksidasyon aracılığıyla ilerlemektedir.

Otooksidasyon; oleik, linoleik ve linolenik asitler gibi doymamış yağ asitleri ile ilişkilidir. Linoleik ve linolenik asit gibi konjuge çoklu doymamış yağ asitlerinin yüksek konsantrasyonlarını içeren yağlar çok daha hızlı okside olmaktadırlar. Otooksidasyon mekanizması şu basamakları içermektedir; kataliz, ısı, ışık, metal iyonları veya metallo proteinler varlığında oksijen ile birleşen lipid molekülleri (RH) serbest radikalleri ($R^{\bullet}$) oluştururlar. Oluşan serbest radikaller hidroperoksitlere (ROOH) dönüşen lipit peroksi radikallerini ($ROO^{\bullet}$) oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girerler (*Allen, 1994)*. Yağ kalitesini ve kararlılığını belirlemede kullanılan lipit peroksitlerine birincil oksidasyon ürünleri ismi verilmektedir. Kararsız bir yapıya sahip olan bu bileşikler bozunarak ikincil oksidasyon ürünleri olarak bilinen aldehitler, ketonlar ve konjuge dienlerin oluşumuna sebep olurlar (*Allen, 1994)*. Bu tür reaksiyonlar sebebiyle yağlarda peroksit sayısı analizi negatif çıkabilir, dolayısıyla oksidasyon derecesini belirlemek için ikincil oksidasyon ürünlerinin varlığını gösteren testler de yağlarda uygulanmalıdır.

Katı ve sıvı yağlardaki oksidatif bozulmanın değerlendirilmesi hem fiziksel hem de kimyasal olarak yapılabilmektedir. Oksidasyon derecesini tespit ederken aşağıdaki parametreler ölçülmektedir (*Rossell ve Pritchard, 1991);*

1. *Peroksit değeri (PV);* yağdaki hidroperoksitlerin ölçüsü olup, meq O_2/kg yağ olarak tanımlanmaktadır.
2. *Anisidin değeri (AV);* ikincil oksidasyon ürünlerinden 2-alkenallerin ölçüsüdür.
3. *2-Tiyobarbitürik asit ile raksiyon veren maddeler (TBARS);* malonik dialdehit başta olmak üzere, diğer aldehitlerin ve ikincil oksidasyon ürünlerinin ölçümüdür.
4. *232 nm'de absorbans K_{232}*; 232 nm`de dienoik konjuge oksidasyon ürünlerinin ölçümüdür.

5. *269 nm'de absorbans K_{269}*; 269 nm`de konjuge trienlerin ölçümüdür, trienlerden bazıları yağda doğal olarak bulunabilirler fakat çoğunlukla hidroperoksitlerin bozulması sonucu oluşmaktadırlar.

Peroksit sayısı (PV) da, %FFA içeriği gibi yağların üretimi, depolanması ve marketlenmesi süresince sıklıkla kullanılan yağ kalite kontrolü indislerinden biridir. Yağlardaki PV ölçümü için kullanılan standart metotlar; yağ peroksitleri tarafından KI'den koparılan iyodun ölçüldüğü iyodometrik titrasyona dayanmaktadır. Bu metotların doğruluk ve kesinliği; numuneyi ısı, ışık ve atmosferik oksijenden korumak ve zamanlamayı iyi ayarlamak gibi çeşitli deneysel faktörlere bağlıdır (*Rossell ve Pritchard, 1991).* PV tayini için European Community (*Official Journal of the European Communities),* tarafından önerilen metot şu basamakları içermektedir; (a) beklenilen peroksit değerine göre 0.3-5 g yağın tartımı (b) numunenin 10 mL kloroform içinde çözülmesi (c) çözeltinin 15 mL asetik asit ile asitlendirilmesi 1 mL doymuş KI çözeltisinin ilavesi (d) tam olarak 5 dk bekletme ve (e) 0.01 N sodyum tiyosülfat standart çözeltisi ile bekletilen çözeltinin titrasyonu. Bu prosedür; zaman alıcı olup, saatte 6-10 numune analizine izin vermektedir. PV tayini için yayınlanan FI metotları (*Garcia-Mesa ve ark. 1993; Nouros ve ark. 1999)* bu dezavantajların bazıları ile başa çıkabilmiştir.

Garcia-Mesa ve ark. (1993), zeytinyağının peroksit değerinin belirlemek için otomatikleştirilmiş bir metot önermişler, hekzan akışı ile karıştırarak ön seyreltme işlemine tabi tuttukları yağ numunesini, izopropil alkolde çözdükleri NaI çözeltisi içine enjekte etmişlerdir. Numune ile ilerleyen taşıyıcı faz arasındaki reaksiyonun oluşması için ortama asetik asit göndermişler ve reaksiyon neticesinde serbest kalan iyodür absorbansını 360, 400 ve 420 nm`de gözleyerek sonuçların elde edilmesinde kullanmışlardır. Bu metot, oldukça fazla okside olmuş zeytinyağları için uygulanabilmiş, saatte $15h^{-1}$ numune analizinin gerçekleştirilebildiği metotta her bir analiz için 1.0 -1.5 g numune kullanmışlardır.

Perez-Ruiz ve ark. (1993) PV tayini için oldukça hassas olan bir FI-florimetrik metodu geliştirmişlerdir. Metot, hidroperoksitler ve hematin vasıtasıyla lukofloksin `in fuloksin`e oksidasyonunu esas almaktadır. Analizlerde reatiflerin sulu çözeltileri kullanılmış ve peroksitler metanol ile ön ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Deneylerde 538 nm`de uyarma gerçekleştirilip, 550 nm`de ölçüm

gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen metot saatte 25 h^{-1} numunenin analizine olanak tanımaktadır.

Akasaka ve ark. (1996) ve *Akasaka ve Ohrui, (1998)* diğer bir FI-florimetrik metot tanımlamışlar, difenil-1-prenilfosfin (DPPP) buharı ile karıştırılmış metanol-*n*-bütanol taşıyıcısı içerisine numunelerini enjekte etmişlerdir. Enjeksiyondan sonra meydana gelen karışım, bir reaksiyon hücresi içinden geçirilerek, 80ºC`de istenilen reaksiyonun oluşması sağlanmıştır. DPPP oluşumundan dolayı 380 nm`de ölçülecek floresans yoğunluğundan önce (uyarma 352 nm`de) reaksiyon karışımı bir soğutma hücresi kullanılarak soğutulmuştur. Bu metotla, saatte $30h^{-1}$ numunenin analizi gerçekleştirilmiş, trilinolein hidroperoksit kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiği ile (lineer aralık 0.4-79 pmol, dedeksiyon limiti 0.2 pmol) çeşitli numune analizleri sağlanmıştır.

Pineiro-Avila ve ark. (1997) peroksitlerin belirlenmesinde bir akış enjeksiyon enzimatik metodu geliştirilmişler, organik hidroperoksitlerin H_2O_2`e bozunmasını katalizleyen yaban turpu peroksidazını (HRP) kullanmışlardır. Bu metotta önceden seyreltilmiş zeytinyağı numunesi, p-anisidin içeren toluen taşıyıcı fazı içine enjekte edilmiştir. Reaksiyon karışımı HRP immobilize edilmiş bir mini kolondan geçirildikten sonra 458 nm`de spektrofotometrik olarak dedekte edilmiştir.

Özetlenen review haricinde yer alan, FIA ve diğer metotlarla gerçekleştirilen yağ analizlerine ait çalışmalar detaylı bir şekilde aşağıda yer almaktadır.

Bonastre ve ark. (2004), zeytinyağının on-line kimyasal kalite kontrolü için akış enjeksiyon analize dayanan yeni bir metodoloji önermişlerdir. Bu sistem European Community`ye göre toplam asidite, peroksit sayısı ve UV spektrofotometrik ölçümlerini (K_{232} ve K_{270}) akış enjeksiyon yöntemi ile belirlemeye dayanır. Geliştirilen sistem analiz sıklığı, sistem dizaynı gibi özellikler bakımından üstün olmakla birlikte, elde edilen verilerden faydalanarak yağ kalitesini belirleme ve yağın sınıflandırılmasını sağlama gibi özelliklere de sahiptir. Depolama prosesi boyunca İspanya`dan elde edilen zeytinyağı numunelerine bu yaklaşımın uygulanmasında memnun edici sonuçlar elde edilmiştir.

Saad ve ark. (2007), palm yağı numunelerindeki serbest yağ asitlerinin tayini için susuz ortamda gerçekleştirilebilecek bir akış enjeksiyon (FI) titrimetrik metodu

tanımlamışlar, fenolftaleyn (PHP) ve bromtimol mavisini (BTB) indikatör olarak kullanarak tek ve iki yollu bir akış enjeksiyon (FI) sistemi geliştirmişlerdir. Metot, enjekte edilen serbest yağ asidinin (%FFA) taşıyıcı faz içinde yer alan KOH ile nötralleşmesinin bir sonucu olarak; kullanılan indikatörlerin asidik ve bazik ortamlardaki renklerinin (PHP indikatörü ile, pembe-renksiz-pembe; BTB indikatörü ile, mavi-sarı-mavi) farklılığından kaynaklanan absorbansta gözlenen değişime dayanmaktadır. Çalışmada; taşıyıcı ve reaktif konsantrasyonu, akış hızı, reaksiyon tüpü uzunluğu, karıştırma bölmesi büyüklüğü ve enjeksiyon hacmi gibi parametreler optimize edilmiştir. Tek yollu akışla gerçekleştirilen, PHP indikatörünün kullanıldığı çalışmalarda; PHP indikatörünün 0,4`ten daha büyük olduğu asitlik derecesindeki numuneler için uygun olduğu fakat yağ numunelerinin enjeksiyon öncesinde 2-propanolde çözülmesi gerektiği görülmüştür. Asitlik derecesi 0,4`ten daha düşük olan yağ numuneleri için BTB indikatörlü iki yollu akış sisteminin kullanılması tavsiye edilmiştir. Optimize edilen FIA metodunun tek yollu akış sistemi için 0,4-10,0 a.d. (asitlik derecesi), iki yollu akış sistemi için ise 0,11-0,50 a.d. aralığında lineer olduğu görülmüştür (palmitik asit cinsinden). Saatteki numune verme hızı; tek yollu akış sistemi için 35-74 h^{-1}, iki yollu akış sistemi için ise 21-46 h^{-1}`dir. Yaklaşık 50 farklı palm yağı numunesi bu akış sistemleriyle test edilmiş, elde edilen sonuçlar manuel titrasyon prensibine dayalı standart PORIM prosedüründen elde edilenlerle karşılaştırılmıştır. İki metot arasında oldukça iyi bir korelasyon elde edilmiş (r^2 en az 0,92), UV-Vis absorpsiyon spektrumları test edilen palm yağı numune absorbanslarının PHP kullanılan deneylerde 562 nm, BTB kullanılan deneylerde ise 627 nm dalga boyunda minimum olduğunu göstermiştir.

Fuse ve ark. (1997), sıvı ve katı yağların asit sayılarını belirlemek için elektrokimyasal dedeksiyonlu yeni bir akış enjeksiyon metodu geliştirmişlerdir. Çalışmada 3 mM VK_3 (2-metil-1,4-naftokinon) çözeltisi ve 38 mM $LiClO_4$ içeren etanol taşıyıcı faz olarak kullanılmış, akış sinyalleri -0.33 V da Ag/AgCl`e karşı gözlenmiştir. Bir numune çözeltisini hazırlamak için, ya yağ numunesi $VK_3$ çözeltisinde tamamen çözülmüş ya da bu çözelti içindeki çözelti içinden yağ asitleri ekstrakte edilmiştir. 14 numuneden alınan 5 µL`lik kısım, akış enjeksiyon sitemi içine enjekte edilmiştir. Asit değerleri akış sinyalleri baz alınarak belirlenmiş, sonuçlar potansiyometrik titrasyondan elde edilenlerle uyumlu bulunmuştur. Bağıl

standart sapma (RSD % 2 den daha az olup, saatteki numune verme hızı 60 h^{-1} olarak belirlenmiştir. Balık karaciğer yağları 8 hafta süreyle ölçülerek takip edilmiş, metodun asit sayısının belirlenmesinde basit ve hızlı bir metot olduğu kanıtlanmıştır.

Nouros ve ark. (1997) zeytinyağı asitliğinin belirlenmesi için otomatikleştirilmiş bir akış enjeksiyon titrimetrik metodu önermişlerdir. Çalışmada, 175 µL`lik bir zeytinyağı çözeltisi $7{,}5.10^{-4}$ KOH ve 4.10^{-5} M PHP indikatörü içeren n-propanol taşıyıcı fazı (titrant) içine enjekte edilmiştir. Numune bölgesi (zone) 1,1 mL Plexiglas bir karıştırma hücresinden geçerek 4,4 mL/dk lık bir akışla titrant içinde dağılmış, ve karıştırma işleminden sonraki absorbans 562 nm dalga boyunda sürekli olarak gözlenmiştir. Elde edilen negatif absorbans pikleri indikatörün asidik ve bazik bölgelerdeki geçişini [baz (pembe)- asit (renksiz)- baz (pembe)] göstermektedir. Miktar tayini hesaplanmasında pik genişlikleri hesaba alınmıştır. Pik genişlikleri %2,1 den daha az bağıl standart sapma (RSD) ile 31,7-97 s arasında ölçülmüş ve analitik aralık oleik asit cinsinden %0.15-8 (w/w) olarak tespit edilmiştir. Analiz başına 3-7 mL n-propanol harcamasının yapıldığı analizlerde, saatteki numune verme hızı 30-100 h^{-1} olarak belirlenmiştir. Ticari zeytinyağlarından elde edilen geri kazanımlar %97,9-101,6 (ortalama %99,5) olarak tespit edilmiştir. Metot 32 zeytinyağı numunesinin serbest yağ asidi içeriğinin belirlenmesinde kullanılmış; elde edilen sonuçlar, zaman alıcı ve çok fazla miktarda organik çözücü sarfiyatı gerektiren resmi European Community metodundan elde edilenlerle karşılaştırılmıştır (bağıl farklılık %0,3-3,6, ortalama %1,5). Ayrıca FT-IR metoduyla yapılacak bir karşılaştırma önerilen metodun kullanılması durumunda faydalı analitik aralığın daha düşük konsantrasyonlara yayılacağını ortaya çıkaracaktır.

Caňada ve ark. (2001), yemeklik yağlardaki serbest yağ asidini hızlı bir şekilde belirlemek için FT-IR`li bir akış enjeksiyon metodu geliştirmişlerdir. Metot, serbest yağ asitlerinin tamamen protonlarını kaybetmesine ve 1534 $cm^{-1}$`deki baseline noktasına karşı 1570 cm^{-1} de oluşan ν_{as} –(COO) bandının yoğunluğunun ölçülmesine dayanır. Proton kaybetme sonucunda, karboksilik asidin absorpsiyonu daha düşük bir frekansa doğru kayar. Böylece; esterlerden, ketonlardan ya da aldehitlerden gelen v-C=O (karbonil) gruplarının istenmeyen spektral girişimleri numunede ortaya çıkabilir. Optimum operasyon şartları, öncelikle numune akışının 2 propanol içinde %25 (w/w) toluen içeren bir taşıyıcı ile birleştirilmesi ardından aynı

çözücü karışımındaki 0,3 M KOH çözeltisi ile birleştirilerek, kısa bir reaksiyon süresinin (2s) ardından elde edilen çözeltinin ölçülmesi sonucunda elde edilmiştir. Böylece; proton kaybı çoktan tamamlanırken, yağın sabunlaşması da minimum bir değere indirilebilmiştir. Elde edilen kalibrasyon eğrisi %0-2,5 oleik asit aralığında lineerdir ve metodun varyasyon katsayısı %3,3 tür. Geliştirilen metot zeytinyağı, ayçiçeği yağı ve mısır yağlarındaki serbest yağ asidi miktarlarının belirlenmesinde kullanılmış, elde edilen sonuçlar European Community tarafından önerilen resmi metotlardan elde edilenlerle oldukça iyi bir uyum göstermiştir. Ayrıca; yüksek otomasyon derecesi ve numune çıktısı sebebiyle (40 h^{-1}) geliştirilen metot rutin uygulamalarda kalite kontrol için uygundur.

Pinto ve ark. (2006), yağ numunelerinin direkt analizine adapte edilebilen bir sıralı enjeksiyon analizi (SIA) tanımlamışlardır. Böylece; numune enjeksiyonundan sorumlu olan bir enjeksiyon valfinin akış sistemi ile birleştirilmesiyle bir SIA sistemi dizayn edilmiştir. Geliştirilen numune verme stratejisi ile akış sistemi dışında gerçekleştirilen ön işlemlerden ve akış sisteminde numune viskozitesinden kaynaklı problemlerden uzaklaşılmıştır. Geliştirilen SIA sistemi, yemeklik yağ numunelerindeki demirin Fe (III)`in belirlenmesinde uygulanmış ve organik ortamda tiyosülfatla Fe (III)`ün meydana getirdiği kırmızı renkli kompleksin oluşumuna dayanmıştır (510 nm). Metanol: kloroform (85:15) karışımı taşıyıcı faz olarak kullanılmış ve akış sisteminde yer alan karıştırma hücresi sayesinde spektrofotometrik dedeksiyonlu refraktif indekse gerek kalmamıştır. Önerilen metodoloji 4,2 mL`lik bir akış üretmiş, analiz başı 150 µL numune ve 0,95 mg tiyosülfat tüketilmiştir. Fe (III) için 25 mg/L`ye kadar lineer kalibrasyon eğrisi elde edilmiş, dedeksiyon limiti 0,31 mg/L olarak belirlenmiştir. Geliştirilen metot RSD<%3,5 ile (n=15) iyi bir kesinlik sergilemiş ve numune verme sıklığı 20 h^{-1}`dir. Elde edilen sonuçlar geri kazanım çalışmalarıyla (%96,5-104,5) ve iki tane AOCS referans numunesinin analizi ile değerlendirilmiştir.

Mariotti ve Macsini, (2001), sızma zeytinyağı numunesinin asitliğini direkt olarak belirlemek için otomatikleştirilmiş bir akış enjeksiyon titrasyonu önermişlerdir. 280 µL`lik yağ numunesi seyreltilmeden 1mM KOH (titrant ) ve $5.10^{-5}$ M PHP indikatörü içeren n-propanol taşıyıcı fazı içerisine (2 mL/dk) enjekte edilmiştir. 1,5 mL`lik karıştırma bölmesinde numune karışmış ve taşıyıcı fazla

reaksiyona girmiştir. Optik fiber spektrofotometreye bağlanan bir küre sayesinde 562 nm`de PHP absorbansında sürekli bir azalma görülmüş, elde edilen pik alanının "ΔAbs – zaman" numune asitliğinin logaritmasıyla lineer bir uyum içinde olduğu tespit edilmiştir. Metot ile birçok sızma zeytinyağı numunesi analiz edilmiş, standart metot ve önerilen metot arasındaki korelasyon eğrisi P= (0,02 ± 0,02) + (1,02 ± 0,03)O (r^2=0997, Sr= 0,033) olarak bulunmuştur. Doğruluk ve kesinlik ortalama hata olarak tanımlanmış (RSD), her ikisi de < 5% den daha az bulunmuştur. Standart metotlarla karşılaştırıldığında saatteki analiz sayısı, çözücü ve numune sarfiyatı sırasıyla 12-60, 7-8; 2-10, 100-150 ve 0,5, 10-20 mL olarak bulunmuştur. Bu özellikler ve basit prosedür yağlardaki serbest yağ asidinin belirlenmesinde önerilen metodun European Community resmi metoduna alternatif olabileceğini göstermiştir.

Muik ve ark. (2007), sekiz bitkisel yağın hızlanmış oksidatif bozulmasını FTIR ve FI-Raman spektroskopisi kullanarak gözlemlemişlerdir. Veri analizlerinde, iki boyutlu korelasyon spektroskopisi ve en küçük kareler (MCR-ALS) metodunu kullanılmıştır. FTIR ve FI-Raman verileri için heterospektral iki değişkenli korelasyonun kullanımı, netliği az olan spektral ayrım özelliklerinin yorumlanmasını kolaylaştırmış, böylece basitleştirilmiş iki değişkenli korelasyon eğrilerini elde etmek ve farklı kinetiğe sahip maddeleri belirlemek mümkün olmuştur. Sekiz farklı yağa ait oksidasyon deneylerinin eşzamanlı analizleri, MCR-ALS kullanılarak her iki spektrofotometrik teknik ile de gerçekleştirilmiş; verilerin tam çözümü mümkün olmamasına rağmen, yağların oksidasyon bozunması süresince meydana gelen spektral değişimler, beş değişkenli bileşim modeli ile yorumlanmıştır. İki değişkenli kemometrik yaklaşımla kullanılabilir sonuçlar elde edilmiştir.

Talpur ve ark. (2009), kızartma yağlarının peroksit sayılarını tayin etmek için basit bir UV spektrometrik metodu geliştirmişlerdir. Metot; trifenilfosfinin (TPP) trifenilfosfin oksit (TPPO) oluşturmak üzere, kızartma yağlarında bulunan hidroperoksitlerle stokiyometrik olarak reaksiyona girmesi ve ultraviyole bölgede (240 nm) kolaylıkla ölçülebilen bir absorpsiyon bandı vermesi esasına dayanmaktadır. Çalışmada, kanola yağı 180 ºC`de 12 saat boyunca kızartma işlemine tabi tutulmuş; işlem sonunda peroksit sayısı (PV), kilogram yağdaki aktif oksijen miktarı cinsinden 0.15`ten 11.66`ya değişmiştir. Önerilen metodun AOCS standart titrasyon metodu ile korelasyonu oldukça iyi bulunmuş (R^2=0.9952),

sonuçlar arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir. Bu sebeple; geliştirilen metodun kızartma yağlarındaki PV tayininde, titrasyon metoda alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Yu ve ark. (2007), doğal olarak viskoz yapıya sahip numunelerin orta-FTIR transmisyon analizini kolaylaştırmak için geliştirilmiş bir teknik olan Spektral tekrar oluşum (SR) tekniğini, yemeklik yağların peroksit sayısı (PV) tayini için daha önce önerilen basitleştirilmiş ve otomatikleştirilmiş FTIR metoduna uygulamışlardır. Metot; trifenilfosfinin (TPP) trifenilfosfin oksit (TPPO) oluşturmak üzere, yağlarda bulunan hidroperoksitlerle stokiyometrik olarak reaksiyona girmesi ve 542 nm`de kolaylıkla ölçülebilen bir absorpsiyon bandı vermesi esasına dayanmaktadır. Spektral tekrar oluşum (SR) prosedüründe yağ numunelerinin viskozitesi, seyreltici çözücü ile karıştırılarak azaltılmış, böylece transmisyon hücresi içine yapılan akışlar herhangi bir problem olmadan gerçekleştirilebilmiştir. Tayinde, metilsiklopentadienil manganez trikarbonil (MMT) içeren kokusuz mineral ispirto (OMS) içeren TPP reaktifi spektral belirteç olarak seyrelticiye eklenmiştir. Seyrelme oranı, spektrumda 1942 cm^{-1}`de yer alan MMT absorbans yoğunluğundan v(CO) spektrofotometrik olarak belirlenebildiği için, 25 mL TPP ile 10 mL yağın karıştırılmasını içeren numune hazırlama prosedürü, kesin bir tartım veya hacim alımı gerektirmemektedir. Kalibrasyon standartları, peroksit sayısı (PV) sıfır olan yağa TPPO`nun gravimetrik olarak eklenmesiyle hazırlanmıştır. 0-20 ve 0-2 meq/kg yağ aralığında PV değerine sahip iki seri ile yapılan doğrulama tayinleri, AOCS titrimetrik ve SR-temelli FTIR prosedürleri ile paralel olarak yürütülmüş, iki metot ile gerçekleştirilmiş ikili analiz sonuçları sonrakinin daha tekrarlanabilir ve hassas olduğunu göstermiştir. SR-temelli PV metodu, otomatik numune verici içeren FTIR sisteminde tamamlandığında, saatte 90 h^{-1} numunenin otomatik analizine imkân vermiştir.

Strochkova ve ark. (2001), yemeklik yağlarda peroksit sayısı (PV) tayini için hidroperoksitlerle KI oksidasyonuna ve serbest iyodun volumetrik titrasyonuna dayanan standart metotları, titrasyon işlemi olmaksızın gerçekleştirilen redoks-potansiyometrik iyodür tayinini kullanarak geliştirmişlerdir. Geliştirilen metotta, KI oksidasyonu ve redoks-potansiyometrik ölçümleri aynı elektrokimyasal hücre içerisinde gerçekleştirilmiştir. Yeni metodun tayin sınırı 0.16 meq/kg^{-1} olup, taze rafine edilmiş yağların analizlerine izin vermektedir. Metot; basit, zahmetsiz, zaman

alıcı olmayan bir metottur ve otomasyon için uygundur.

Ruíz ve ark. (2001), yemeklik yağlardaki peroksit sayısının belirlenmesi için sürekli bir akış sistemi ile FTIR spektroskopik tayinini baz alan otomatikleştirilmiş, hızlı ve oldukça yüksek kesinliğe sahip bir metot tanımlamışlardır. Numune akışı, trifenilfosfin (TPP) içeren hekzanolde bulunan %25 (v/v) toluenin oluşturduğu bir çözücü karışımıyla sağlanmıştır. Numunede bulunan hidroperoksitler, trifenilfosfin oksit (TPPO) vermek üzere sitokiyometrik oranda TPP ile reaksiyona girer. TPPO 542 cm^{-1}`de yoğun absorpsiyon bandına sahip bir özelliktedir. Reaksiyonun tamamlanması için çözücü karışımında %10 (m/v) luk bir TPP çözeltisi ve 100 cm`lik bir reaksiyon hücresi gereklidir. FTIR geçirgenlik spektrumları, 100µm ışık yoluna sahip, CsI pencereleriyle donatılmış bir akış hücresi kullanılarak kaydedilmiştir. Yağ standartlarına ilave edilen tersiyer bütil hidroperoksitin kullanılmasıyla ve 542 cm^{-1}`de oluşan bantların değerlendirilmesiyle 1-100 PV ($meqO_2$/kg yağ) aralığında bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Bağıl standart sapma (RSD) n=11 için %0,23 olarak hesaplanmıştır ve saatteki numune verme hızı 24 $h^{-1}$`dir. Geliştirilen sistem zeytinyağı ve mısır yağlarının peroksit sayılarının (PV) belirlenmesinde kullanılmış, organik çözücülerle titrasyon işlemine dayanan European Community standart metoduyla iyi bir uyum gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen metodun ıslak kimyasal metot olan standart metottan daha iyi olduğunu göstermiştir. Bu sebeple; yöntemin rutin analizler ve kalite kontrol analizleri için kullanılabileceği önerilmiştir.

Nouros ve ark. (1999), zeytinyağındaki peroksit değerini (PV) belirlemek için otomatikleştirilmiş bir akış enjeksiyon (PA-FI) spektrofotometrik metodu tanımlamışlardır. Kendileri tarafından yapılan PA-FI analizörü 10 tane bekletme hücresiyle birleştirilmiş ve her bir numune 5 dk bekletilerek ters bir akışın kullanılmasıyla saatte 83 h^{-1} numune analizi başarılmıştır. Dedeksiyon lipit peroksitler tarafından NaI`den koparılan iyodürün 360 nm`de gözlenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen PA-FI metodu ile zeytinyağı analizleri ön işlem ya da seyrelme gerektirmezler ve çözücü kullanımını minimize ederler (analiz başına 2 mL asetik asit 3,4 mL n-propanol kullanılmıştır). Kesinlik %2,0 den daha az bağıl standart sapmayla (RSD) oldukça iyi bulunmuştur (n=10 için). Metot, 2,5-80 PV aralığında lineerdir ve zeytinyağı analizleri için uygundur. Önerilen metottan elde

edilen sonuçlar, zaman alıcı ve oldukça fazla miktarda organik çözücü sarfiyatı gerektiren standart metottan elde edilenlerle karşılaştırılmış (ortalama %1, bağıl farklılık %0-5,6). Geliştirilen PA-FI analizörü, numune verme hızında herhangi bir kayıp meydana getirmeden uzun bekleme zamanı gerektiren metotların otomasyonu için kullanılabilir.

Labrinea ve ark. (2001), zeytinyağındaki anisidin değeri (AV) tayini için bir akış enjeksiyon (FI) spektrofotometrik analiz metodu geliştirmişlerdir. Metot; 2-propanol içindeki %10'luk (w/v) zeytinyağı numunelerinin, 40:1`lik kısmının 2-propanol/asetik asitte çözüle p-anisidin içine enjeksiyonundan ibarettir. Reaktifler FI analiz sitemi içerisinde iki yollu manifold kullanılarak karıştırılmış, dedeksiyon 350 nm dalga boyunda absorbansın sürekli olarak gözlenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Önerilen FI metodu yüksek numune verme özelliğine sahip olup, saatte 110 numunenin analizini başarmıştır. Çözücü kullanımı (her analiz için 2 mL 2-propanol ve 0.4 mL asetik asit) minimuma indirilmiş olup, manuel spektrofotometrik metot ile (25 zeytinyağı numunesinin analizi için 0.5- 6.8 bağıl fark) karşılaştırılabilmektedir. Kesinlik ölçüsü olan bağıl standart sapma (R.S.D., n=7) %1'den daha azdır. Metodun 6-85 AV değerleri arasında lineer olduğu ve bozulan zeytinyağlarının analizinde kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Wai ve ark. (2009), palm oleinlerdeki toplam oksidasyon değerinin (TOTOX) belirlenmesi için bir triiyodür (I_3^-) potansiyometrik dedektör kullanarak peroksit sayısı (PV) ve anisidin sayısı (AV)`nın ard arda belirlenmesine dayanan bir akış enjeksiyon analizörü geliştirmişlerdir. PV ve AV parametreleri bir yönlendirme valfinin kullanılmasıyla ard arda belirlenmiş, yağ ve reaktiflerin karışması kısa süreli bir karıştırma işlemi ile (30s) etkili bir şekilde gerçekleştirilmiştir. TOTOX değeri PV ve AV değerlerinin potansiyometrik okunmasıyla elde edilmiştir (TOTOX= 2PV + AV). Palm oleinin standart olarak kullanılmasıyla, metot 1,7-79 totox değeri arasında lineerlik sergilemiş, belirleme sınırı 1,64 olarak tespit edilmiştir. Numune verme sıklığı $60h^{-1}$ civarındadır. 20 yıllık olan ve ısıya maruz bırakılan palm olein numuneleri analiz edilmiş ve önerilen FIA metodu ile standart metotlar arsında iyi bir uyum gözlenmiştir (r^2= 0,9852).

5.3. Çalışmanın Amacı

Sunulan bu tez çalışmasında; yemeklik yağların durum ve kalitesini tespit etmede (yağın işlem basamağının hangi aşamasında olduğuna ve bu aşamadaki yağın durumuna göre işleme son verilip verilmemesi gerektiğine karar vermede) kullanılan ve şimdiye kadar standart metotlar ile gerçekleştirilen kalite-kontrol analizlerinden serbest yağ asidi (%FFA), peroksit sayısı (PV) ve anisidin sayısı (AV) tayinlerinin, tarafımızdan geliştirilen ve standart metotlara alternatif olacağı düşünülen FIA metodu ile *kısa zamanda*, *düşük maliyetle*, *tekrarlanabilirliği yüksek sonuçlarla* gerçekleştirilmesi ve metodun Türkiye`de tüketimi diğer yağlara kıyasla daha yaygın olan *ayçiçeği, mısır, soya, kanola, yer fıstığı* gibi bitkisel yağlar (gerek nihai ürün-rafine yağ, gerekse ara ürünler) için optimize edilmesi amaçlanmıştır.

6. MATERYAL VE METOT

6.1. Kullanılan Kimyasallar

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler; kromatografik saflıkta olup, Merck ve Sigma firmalarından temin edilmiştir ***(Tablo 6.1.)***.

Tablo 6.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Serbest Yağ Asidi (%FFA) Tayini	
Standart Metot ile %FFA	**FIA Metodu ile %FFA**
✦ NaOH ✦ Etanol ✦ Fenolftaleyn (PHP) indikatörü ✦ KOH ✦ Dietil eter	✦ n-propanol ✦ KOH ✦ Fenolftaleyn (PHP) indikatörü ✦ Bromtimol mavisi (BTB) indikatörü
Peroksit Sayısı (PV) Tayini	
Standart Metot ile PV	**FIA Metodu ile PV**
✦ $Na_2S_2O_3$ ✦ KI ✦ % 1`lik nişasta çözeltisi ✦ Kloroform ✦ Asetik asit ✦ Saf su	✦ n-propanol ✦ NaI ✦ Buzlu asetik asit
Anisidin Sayısı (AV) Tayini	
Standart Metot ile AV	**FIA Metodu ile AV**
✦ İzo-oktan (2,2,4-trimetilpentan) ✦ Buzlu asetik asit ✦ p-anisidin	✦ n-propanol Merck 101024 ✦ Buzlu asetik asit ✦ p-anisidin[6]
Yağ Asit Kompozisyonu Analizi	
✦ Hekzan ✦ Metanol	
Konjuge Dien ve Trien (Özgül Abs.) Tayini	
✦ İzo-oktan	

(6) AV tayinlerinde kullanılan p-anisidin, saflaştırıldıktan sonra kullanılmıştır.

6.2. Kullanılan Çözeltiler

Spektrofotometrik, titrimetrik ve akış enjeksiyon analizlerinde (FIA) kullanılmak üzere hazırlanan çözeltilerin hazırlanış yöntemleri aşağıda açıklanmıştır[7, 8].

6.2.1. Spektrofotometrik analizlerde kullanılan çözeltiler

- FIA ile yağ analizlerinde kullanılacak dalga boyu seçiminin belirlenmesi için gerçekleştirilen deneylerde;

%FFA tayini için; Farklı konsantrasyonlarda fenolftaleyn (PHP) indikatörü çözeltileri; n-propanol içinde çözülerek hazırlanan $1x10^{-2}$ M konsantrasyondaki PHP stok çözeltisinin uygun hacimlerde seyreltilmesi sonucu, farklı konsantrasyonlarda bromtimol mavisi (BTB) indikatörü çözeltileri ise; $1x10^{-3}$ M konsantrasyondaki BTB stok çözeltisinin uygun hacimlerde seyreltilmesi sonucu hazırlanmıştır.

PV tayini için; farklı konsantrasyonlarda NaI çözeltileri; hesaplanan miktarlarda tartılan NaI`ün, asetik asit içeren n-propanol içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.

AV tayini için; farklı konsantrasyonlarda p-anisidin çözeltileri; hesaplanan miktarlarda tartılan p-anisidinin, asetik asit içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.

- Kullanılan yağların oksidasyon ölçüsü hakkında bilgi edinmek ve AV değerlerini standart metotlarla tespit etmek amacıyla gerçekleştirilen deneylerde;

Oksidasyonun ölçüsü hakkında bilgi edinmek için kullanılan yağ çözeltisi; belirli miktarda tartılan yağ numunesinin, izo-oktan içinde çözülerek hacmin 100 mL`ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

AV değerlerini standart metotlarla tespit etmede kullanılan yağ çözeltisi; 25 mL balon jojeye 0.001 g hassaslıkta tartılan 0.5-4.0 g yağ numunesinin, izo-oktanda çözülerek hacmin 25 mL`ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

---

(7) Çözeltilerin hazırlanmasında ve deneyler sırasında kullanılan tüm cam malzemeler, deneysel çalışmalar öncesinde n-hekzan ile temizlenmiştir.

(8) Çözünmenin tam olarak gerçekleşmesi ve ortamdaki hava kabarcıklarının ortamdan uzaklaştırılması amacıyla; çözeltilerin hazırlanması sırasında ultrasonik banyo kullanılmıştır.

6.2.2. Titrimetrik analizlerde kullanılan çözeltiler

✦ Standart Çözeltiler; standart metot ile %FFA, PV ve AV tayinleri sırasında belli konsantrasyonda hazırlanarak kullanılan titrant çözeltilerinin gerçek konsantrasyon değerlerini tespit amacıyla, primer standart maddeler kullanılarak hazırlanan çözeltilerdir.

%FFA tayininde; yağ numunesinin tahmini %FFA içeriğine göre, titrant olarak kullanılan farklı konsantrasyonlardaki NaOH ve KOH çözeltilerinin gerçek konsantrasyon değerlerinin tespiti için, hesaplanan miktarlarda potasyum asit ftalat, $K(OOCC_6H_4COO)H$ tartılarak ultra saf suda çözülmüş ve 0.1 – 0.25 – 1.0 N konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır.

PV tayininde; yağ numunesinin tahmini PV değerine göre, titrant olarak kullanılan farklı konsantrasyonlardaki $Na_2S_2O_3$ çözeltilerinin gerçek konsantrasyon değerlerinin tespiti için, hesaplanan miktarlarda potasyum bikromat, $K_2Cr_2O_7$ tartılarak ultra saf suda çözülmüş ve 0.001 ve 0.002 N konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır.

✦ Titrant ve İndikatör Çözeltileri

%FFA tayini için; hesaplanan miktarda tartılan NaOH`ün %95`lik etanol içinde, KOH`in ise etil alkol-dietil eter (1:1) karışımında çözülmesiyle titrant çözeltisi hazırlanmıştır. 1 g fenolftaleynin 100 mL etil alkol içinde çözülmesiyle ise indikatör çözeltisi hazırlanmıştır.

PV tayini için; Hesaplanan miktarda tartılan $Na_2S_2O_3$`ın saf su içinde çözülmesiyle titrant çözeltisi hazırlanmıştır. 1 g nişastanın, bir miktar saf su içinde bulamaç haline getirilmesinden sonra, kaynatılmış 100 mL saf su içine ilave edilerek, çözülmesi sonucu indikatör çözeltisi hazırlanmıştır.

6.2.3. Akış enjeksiyon analizlerinde (FIA) kullanılan çözeltiler

✦ Taşıyıcı faz olarak kullanılan çözeltiler

%FFA tayininde; taşıyıcı faz olarak n-propanol kullanılmıştır.

AV tayininde; taşıyıcı faz olarak n-propanol kullanılmıştır.

PV tayininde; taşıyıcı faz olarak farklı yüzdelerde NaI çözeltileri kullanılmış ve çözeltiler; 1 g, 2.5 g ve 5 g NaI`ün 100 mL n-propanol içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır[9].

✦ Reaktif olarak kullanılan çözeltiler

%FFA tayini için; reaktif olarak kullanılan farklı yüzdelerdeki KOH ve indikatör (PHP-BTB) çözeltileri, hesaplanan miktarlarda tartılan KOH ve indikatörlerin, n-propanol içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.

PV tayini için; reaktif olarak kullanılan farklı yüzdelerdeki HAc çözeltileri, 25-45-60 mL buzlu asetik asidin 100 mL n-propanol içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.

AV tayini için; reaktif olarak kullanılan farklı yüzdelerdeki p-anisidin çözeltileri, hesaplanan miktarlarda tartılan p-anisidinin n-propanol içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.

6.3. Kullanılan Yağlar

Deneylerde kullanılan yağ numunelerinin seçiminde; Türkiye`de üretim ve tüketimi oldukça yaygın olan ve/veya olmaya başlayan ayçiçeği, mısır, soya, kanola, yer fıstığı gibi bitkisel yağlar tercih edilmiş ve nihai ürün-rafine yağ ve ara ürünlerden oluşan yağ numunelerinin temini; Helvacızade Gıda ve İthalat Madde Sanayi Ticaret A.Ş.`nden ve piyasadan sağlanmıştır.

Optimizasyon deneylerinde kullanılmak üzere; gerek yağ numunelerinin temin edildiği firma ve gerekse tarafımızdan standart metotlara göre analiz edilerek (en az üç tekrarlı olmak üzere) %FFA, PV ve AV içerikleri belirlenen yağ numuneleri, analizlerde kullanılıncaya kadar kahverengi cam şişelerde, + 4°C`de ve karanlıkta muhafaza edilmiştir. FIA analizlerinde kullanılan yağ numunelerinin standart metotlar kullanılarak tespit edilen %FFA, PV, AV değerleri ***Tablo 6.2.***`de görülmektedir.

[9] FIA ile %FFA ve AV tayinlerinde saf çözücüler kullanıldığı için, bu kısımda yer almamaktadırlar.

Tablo 6.2. FIA Metodu ile Gerçekleştirilen Yağ Analizlerinde Kullanılan Yağ Numunelerinin Standart Metotlar Kullanılarak Tespit Edilen %FFA, PV, AV Değerleri

ANALİZLER / YAĞLAR	%FFA Tayinleri için		PV Tayinleri için	AV Tayinleri için
	Manuel Enjeksiyonlu	**Otomatik Enjeksiyonlu**		
Mısır	%FFA: $0.09 \pm 1.8 \times 10^{-2}$ $0.25 \pm 2.2 \times 10^{-2}$ $0.50 \pm 2.9 \times 10^{-2}$ $0.75 \pm 3.8 \times 10^{-2}$ $1.00 \pm 4.2 \times 10^{-2}$ $1.50 \pm 4.3 \times 10^{-2}$ $2.00 \pm 6.7 \times 10^{-2}$ $2.42 \pm 6.9 \times 10^{-2}$	%FFA: $0.09 \pm 1.8 \times 10^{-2}$ $0.25 \pm 2.2 \times 10^{-2}$ $0.50 \pm 2.9 \times 10^{-2}$ $0.75 \pm 3.8 \times 10^{-2}$ $1.00 \pm 4.2 \times 10^{-2}$ $1.50 \pm 4.3 \times 10^{-2}$ $2.00 \pm 6.7 \times 10^{-2}$ $2.42 \pm 6.9 \times 10^{-2}$	PV: 1.25 ± 0.05 3.35 ± 0.12 5.45 ± 0.19 7.55 ± 0.21 9.66 ± 0.24 11.76 ± 0.25 13.86 ± 0.29 15.96 ± 0.33 18.06 ± 0.40	AV: 7.15 ± 0.09 7.37 ± 0.11 $7,60 \pm 0.12$ 7.82 ± 0.12 8.27 ± 0.13
Ayçiçek	%FFA: $0.07 \pm 1.2 \times 10^{-2}$ $0.40 \pm 2.3 \times 10^{-2}$ $0.74 \pm 3.7 \times 10^{-2}$ $1.40 \pm 4.0 \times 10^{-2}$	%FFA: $0.09 \pm 1.5 \times 10^{-2}$ $0.49 \pm 2.7 \times 10^{-2}$ $0.90 \pm 4.1 \times 10^{-2}$ $1.30 \pm 4.1 \times 10^{-2}$ $1.71 \pm 5.0 \times 10^{-2}$ $2.11 \pm 5.8 \times 10^{-2}$	PV: $3.58 \pm 1.9 \times 10^{-3}$ $5.20 \pm 3.3 \times 10^{-3}$ $6.81 \pm 3.8 \times 10^{-3}$ $8.40 \pm 5.0 \times 10^{-3}$ $10.05 \pm 1.9 \times 10^{-2}$ $11,66 \pm 2.1 \times 10^{-2}$ $13.28 \pm 2.4 \times 10^{-2}$ $14.89 \pm 2.2 \times 10^{-2}$ $16.51 \pm 2.8 \times 10^{-2}$	AV: $6.60 \pm 9.9 \times 10^{-2}$ $5.86 \pm 9.4 \times 10^{-2}$ $5.12 \pm 6.3 \times 10^{-2}$ $4.37 \pm 4.1 \times 10^{-2}$ $3.63 \pm 2.2 \times 10^{-2}$
Soya	-	%FFA: $0.07 \pm 1.4 \times 10^{-3}$ $0.29 \pm 4.9 \times 10^{-3}$ $0.52 \pm 1.1 \times 10^{-2}$ $0.75 \pm 1.6 \times 10^{-2}$ $0.98 \pm 1.8 \times 10^{-2}$ $1.21 \pm 2.1 \times 10^{-2}$	PV: $1.52 \pm 5.2 \times 10^{-3}$ $2.71 \pm 6.0 \times 10^{-2}$ $5.08 \pm 6.6 \times 10^{-2}$ $7.45 \pm 1.3 \times 10^{-2}$ $8.64 \pm 1.3 \times 10^{-2}$ $9.82 \pm 2.6 \times 10^{-2}$ $11.01 \pm 2.9 \times 10^{-2}$	AV: $3.00 \pm 3.6 \times 10^{-2}$ $2.93 \pm 3.6 \times 10^{-2}$ $2.85 \pm 3.1 \times 10^{-2}$ $2.78 \pm 2.8 \times 10^{-2}$ $2.70 \pm 2.4 \times 10^{-2}$ $2.63 \pm 1.6 \times 10^{-2}$
Kanola	-	%FFA: $0.04 \pm 1.1 \times 10^{-3}$ $0.37 \pm 2.3 \times 10^{-3}$ $0.65 \pm 2.0 \times 10^{-3}$ $0.82 \pm 5.1 \times 10^{-3}$ $1.10 \pm 9.0 \times 10^{-3}$ $1.21 \pm 1.3 \times 10^{-2}$	PV: $2.99 \pm 1.5 \times 10^{-3}$ $3.38 \pm 1.9 \times 10^{-3}$ $3.77 \pm 2.8 \times 10^{-3}$ $4.16 \pm 3.6 \times 10^{-2}$ $4.52 \pm 3.9 \times 10^{-2}$ $4.95 \pm 4.1 \times 10^{-2}$ $5.73 \pm 4.8 \times 10^{-2}$	AV: $2.76 \pm 1.0 \times 10^{-3}$ $3.00 \pm 3.1 \times 10^{-3}$ $3.24 \pm 8.6 \times 10^{-3}$ $3.49 \pm 1.2 \times 10^{-2}$ $3.73 \pm 2.6 \times 10^{-2}$
Yer Fıstığı	-	%FFA: $0.13 \pm 2.4 \times 10^{-3}$ $1.13 \pm 4.5 \times 10^{-2}$ $1.62 \pm 1.9 \times 10^{-2}$ $2.51 \pm 1.2 \times 10^{-2}$ $3.45 \pm 2.3 \times 10^{-2}$ $4.95 \pm 3.0 \times 10^{-2}$ $5.47 \pm 3.8 \times 10^{-2}$	-	AV: $3.85 \pm 8.6 \times 10^{-2}$ $3.78 \pm 7.9 \times 10^{-2}$ $3.64 \pm 7.0 \times 10^{-2}$ $3.57 \pm 5.9 \times 10^{-2}$

6.4. Kullanılan Cihazlar

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar, marka ve modelleriyle birlikte ***Tablo 6.3.***`de özetlenmiştir.

Tablo 6.3. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Marka, Model
✦ HPLC (High Performance Liquid Chromatography)	✦ Agilent 1200 Series
✦ GC (Gas Chromatography)	✦ Agilent 6890
✦ UV-vis Spektrofotometre	✦ Shimadzu 1601 Series
✦ Analitik Terazi	✦ GEC Avery
✦ Dijital Büret	✦ Jenkons Digitrate
✦ Mikro pipet takımı (2-20 μL ; 100-1000 μL)	✦ CLP Beta-pette
✦ Ultrasonik Banyo	✦ Ultrasonic lc30h
✦ Su Banyosu	✦ Clifton
✦ Solvent Süzme Düzeneği	✦ İLDAM
✦ Etüv	✦ Mido/2/AC
✦ Kronometre	✦ Kenko KK-613D
✦ pH Metre	✦ Jenvay
✦ Ultra Pure Saf Su Cihazı	✦ TKA

FIA ile yağ analizlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar; modifiye HPLC sistemi kullanılarak gerçekleştirildiği için, HPLC sisteminde yer alan parçalardan (modüllerden) ayrıntılı olarak bahsedilmeye çalışılacaktır ***(Tablo 6.4.)***.

Tablo 6.4. Deneylerde Kullanılan HPLC Sistemi Modülleri

Modül / Model	Görünüş & Özellikleri
✦ Degaz (gaz giderme) Ünitesi / G1379A	 akış hızı: <5 mL/dk iç hacmi: 1 mL
✦ Quaternary Pompa / G1311A	 gradient analizler için uygundur akış hızı aralığı: 0.001-10 mL/dk (kolon I.D.: 3.0 - 9.4 mm)
✦ İzokratik Pompa / G1310A	 izokratik analizler için uygundur akış hızı aralığı: 0.001-10 mL/dk (kolon I.D.: 2.1 - 9.4 mm)
✦ Manuel Enjektör / G1328B	  enjeksiyon aralığı: 5 µL – 20 mL looplar kullanılabilir

Modül / Model	Görünüş & Özellikleri
✦ Otomatik Numune Verici / G1328B	 enjeksiyon aralığı: 0.1 µL – 100 µL (5000 µL`ye kadar artırılabilir) numune kabı: vialler
✦ Termostatlı Kolon Fırını / G1316A	 sıcaklık aralığı: ~ 10°C - 80°C
✦ Yönlendirme Valfi	 2-pozisyon, 6-portlu valf
✦ VWD UV Dedektör / G1314A	 tek dalga boyu için programlanabilir (13 Hz veri hızıyla tek sinyal verir)

Modül / Model	Görünüş & Özellikleri
✦ Diode Array Dedektör (DAD) / G1315B	 çoklu dalga boyu için programlanabilir (20 Hz veri hızıyla 5 sinyal verir ve spektral analiz yapılabilir)
✦ Kontrolör (Software / ChemStation)	 Agilent Workstations ve kromatografik veri sistemi

Tablo 6.4.`de özetlenen sistem modüllerinin yanı sıra; gerek modüller içinde yer alan, gerekse bağlantı elemanı olarak kullanılan birçok parça daha sistemde mevcuttur. Ayrıca; analizlerde meydana gelecek reaksiyonların istenilen düzeyde oluşumu için de farklı uzunluk ve çaptaki reaksiyon hücrelerinin (loop) sisteme adaptasyonları yapılmıştır.

6.5. Bitkisel Yağ Numuneleri Üzerinde Gerçekleştirilen Analizlerde Kullanılan Standart Metotlar

Deneylerde kullanılan yağların genel özellikleri hakkında bilgi edinmek ve analizlerden elde edilen sonuçları daha iyi yorumlayabilmek amacıyla, ham ve rafine yağlar üzerinde önemli görülen bazı analizler gerçekleştirilmiştir. Analizlerde; AOCS, TSE gibi birimler tarafından standartlaştırılan metotlar kullanılmıştır[(10)].

Bitkisel yağların özelliklerini belirlemede kullanılan kriterlerden;

✦ *spesifik extinction (konjuge dien ve trien) tayini;* AOCS Ch-5-91 UV-vis spektrofotometrik metodu,

[(10)] Yağlar üzerinde gerçekleştirilen fiziksel ve kimyasal analizlerde kullanılan metotlar, her bir analizin açıklandığı bölümde ayrıntılı olarak verilmiştir.

- ✦ *yağ asit kompozisyonu tayini;* HKARA metodu *(Kara ve ark. 2001)*,
- ✦ *serbest yağ asidi (FFA) tayini;* AOCS Ca-5a-40 ve TS-894 metotları,
- ✦ *peroksit sayısı (PV) tayini;* AOCS Cd 8b-90 ve TS-894 metotları,
- ✦ *anisidin sayısı (AV) tayini;* AOCS Cd 18-90 ve TS-894 metotları,

kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

6.6. İstatistiksel Analiz Metotları

yemeklik yağlardaki %FFA, PV ve AV tayinleri için geliştirilen otomatikleştirilmiş FIA metodunun valide edilmesi ve standart metotlarla karşılaştırılmasında kullanılan istatistiksel analizler, *SPSS Inc.16.0, XLSTAT 2010, statistiXL, OriginLab 7.5, SigmaPlot 11.0,* gibi istatistik ve çizim programlarından faydalanılarak gerçekleştirilmiştir.

Metot validasyonunun gerçekleştirilmesinde kullanılan *kesinlik (tekrarlanabilirlik), tayin limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ)* gibi parametre değerlerinin hesaplanmasında; $\bar{x}$: ortalama değer, x_i: ölçülen değer, s: standart sapma, RSD: bağıl standart sapma, SEM: standart hata, s^2: varyans, CV: varyasyon katsayısı, N: ölçüm sayısı değerleri kullanılmış, *doğrusallık* hesaplamalarında ise; regresyon istatistikleri ve ANOVA (tek yönlü varyans analizi; one-way ANOVA) testinden faydalanılmıştır.

FIA metodunun, standart metotlarla karşılaştırılmasında; veri gruplarına ait ortalama değerlerin karşılaştırıldığı t testi ve veri gruplarına ait varyans değerlerinin karşılaştırıldığı F testi kullanılmıştır. F ve t testleri p=0.05 olasılık düzeyinde (%95 güven seviyesinde) gerçekleştirilmiştir.

7. DENEYSEL KISIM

Tezin amacına yönelik çalışmaların yürütülmesinde; *spektrofotometrik*, *titrimetrik* ve *akış enjeksiyon analizleri (FIA)* paralel olarak yürütülmüş, bunun yanı sıra; tayinlerde kullanılan yağ numunelerinin bazı temel özelliklerini belirlemek amacıyla da birçok fiziksel ve kimyasal analiz gerçekleştirilmiştir.

Deneylerde kullanılan ayçiçek, mısır, soya, kanola ve yer fıstığı yağları üzerinde gerçekleştirilen analizler ve analizlerin yürütülmesinde kullanılan metotlara ilişkin detaylı bilgiler aşağıda yer almaktadır[(11)].

- ***Özgül Absorbans (konjuge dien ve trien) tayini;***

Reaktifler:

Siklohekzan veya izo oktan

Deneyin Yapılışı:

Hassasiyetle tartılmış yaklaşık 1 g yağ numunesi, izo oktan ilavesi ile 100 mL`ye tamamlanmış ve kuvvetlice çalkalanmıştır. UV-vis spektrofotometrede numune ölçümüne geçilmeden önce; çözücü olarak kullanılan izo oktan küvetlere konularak sıfırlama yapılmıştır (baseline düzeltmesi). Daha sonra küvetlerden birine izo oktanda çözülerek hazırlanan numuneden konulmuş ve 232 ve 270[(12)] nm dalga boylarında 3`er kez okuma yapılarak, ortalama değerleri alınmıştır. Ölçülen dalga boyu değerlerindeki molar absorptivite katsayısı değerlerini belirlemek için aşağıdaki denklem kullanılmış ve okunan absorbans değerleri, konsantrasyon değerlerine bölünerek hesaplama yapılmıştır.

$$\mathbf{E\lambda = \frac{A\lambda}{cl}}$$

E: ölçülen dalga boyu değerindeki molar absorptivite katsayısı

A: ölçülen dalga boyu değerindeki optik yoğunluk (absorbans şiddeti)

c: yağ çözeltisinin konsantrasyonu (g/100 mL)

l: ölçüm yapılan küvetin kalınlığı (cm)

---

(11) T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından 12.05.2010 tarih ve 27579 sayılı resmi gazetede yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yemeklik Yağlar Tebliği" esasları da Ek-1.`de yer almaktadır.

(12) Ab_{232} ilk bozunma ürünleri olan konjuge dienleri, Ab_{270} ise ikincil bozunma ürünleri olan konjuge trienleri göstermektedir.

Hesaplanan absorptivite katsayısı (Eλ) değeri, 232 nm ve 270 nm dalga boylarındaki özgül absorbans değerlerinin hesaplanmasında kullanılır ve özgül absorbanstaki değişim (**Δ**E) aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanır.

$$\Delta E = \Delta\lambda m - \frac{(E\lambda m-4)+(E\lambda m+4)}{2}$$

λm: 270 nm dalga boyundaki özgül absorbans değeri

λm-4: 266 nm dalga boyundaki özgül absorbans değeri

λm+4: 274 nm dalga boyundaki özgül absorbans değeri[13]

- ***Yağ asit kompozisyonu tayini;*** bitkisel yağlardaki 10 ile 24 karbon arası yağ asitlerinin tespit edilmesi esasına dayanmaktadır.

  Cihazlar:

  Gaz Kromatografi Cihazı (FID Dedektörlü)

  Reaktifler:

  2 N metanollü KOH ve n-hekzan

  Yağ numunelerinin metil esterlerine dönüştürülmesi: 0.1 gr yağ numune santrifüj tüpüne alınarak, üzerine 2 N`lik metanollü KOH çözeltisinden 0.1 mL ilave edilmiş, ardından 10 mL de n-hekzan ilave edilen karışım 1 dk boyunca kuvvetlice çalkalanmıştır. Karıştırma işleminden sonra 10 dk santrifüjlenen çözeltinin üst fazı alınmış ve numunelerin yağ asit kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılmıştır. Metil esterlerine dönüştürülen yağ asitlerini tanımlamada FAME kısaltması kullanılmıştır.

  Deneyin Yapılışı:

  Yağ numunelerini gaz kromatografi analizleri için uygun bir hale getirmek amacıyla öncelikle yağ numuneleri metil esterlerine dönüştürülmüştür. Agilent 6890N Gaz Kromatografi cihazı ile gerçekleştirilen tayinler; otomatik enjektör kullanılarak gerçekleştirilmiş, 1 μL numune enjeksiyonunun yapıldığı analiz sonuçlarını daha iyi gözlemleyebilmek/yorumlayabilmek amacıyla, split (1:100)

[13] Özgül absorbans değerini tam olarak belirleyebilmek amacıyla, en yüksek absorbans yoğunluğunun gözlendiği 270 nm dalga boyu değerinin 4 birim sağında ve 4 birim solunda yer alan dalga boylarındaki özgül absorbans değerleri dikkate alınarak hesaplama yapılmaktadır.

modunda enjeksiyon olarak yapılmıştır. HP-88 (100m x 250 µm x 0.20 µm nominal) kapiler kolonu kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde iyi bir ayrım sağlamak ve mümkün olan en kısa sürede analizi sonuçlandırmak için, analizler uygun bir sıcaklık programı uygulanarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar FID dedektörü kullanılarak gözlenmiştir. Veri çözümlemelerinde Agilent ChemStation software programı kullanılmıştır.

Yağ asit kompozisyon tayinlerinde kullanılan HKARA metoduna ait parametre değerleri ***Tablo 7.1.***`de özetlenmiştir.

Tablo 7.1. FAME Analizlerinde Kullanılan HKARA Metoduna Ait Parametre Değerleri

HKARA METODU		
Enjeksiyon Bloğu	*Enjeksiyon Miktarı*	*1 µL*
	Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	*250 °C*
	Taşıyıcı Gaz	*Hidrojen*
	Mod	*Split 1:100*
Kolon Fırını	*Kolon*	*Agilent 112-88A7* *HP-88 Kapiler, 100m x 250 µm x 0.20 µm nominal*
	Taşıyıcı Gaz Akış Hızı	*0,36 mL/dk*
	Kolon Sıcaklık Programı	*50°C →→→ 10 dk* *50°C →→→ 240°C (4°C/dk)* *240°C →→→ 10 dk*
Dedektör	*Dedektör Sıcaklığı*	*250 °C*
	Hidrojen Gazı Akış Hızı	*40 mL/dk*
	Kuru Hava Akış Hızı	*400 mL/dk*

Çalışmada kullanılan bitkisel yağlar üzerinde gerçekleştirilen diğer kimyasal analizlerden;

- ***serbest yağ asidi (FFA) tayinleri***
- ***peroksit sayısı (PV) tayinleri***
- ***anisidin sayısı (AV) tayinleri***

için gerekli açıklamalar, her bir tayin için tez içeriğinde ayrılan kısımlarda ayrıntılı olarak yer almaktadır (***bkz. 7.2., 7.3., 7.4.***)

Çalışmada kullanılan yağların bazı temel özelliklerini tespit etmek amacıyla gerçekleştirilen yağ analizlerinin yanı sıra, FIA analizlerine yön vermesi ve yardımcı olması amacıyla titrimetrik ve spektroskopik analizler de gerçekleştirilmiştir.

FIA analizlerine paralel yürütülen diğer analizlerden;

✦ ***Spektrofotometrik Analizler*;** FIA tayinlerinin gerçekleştirileceği uygun dalga boyu değerlerinin tespit edilmesi ve deneylerde kullanılan yağ numunelerinin PV ve AV değerleri hakkında bilgi edinilmesi amacıyla, UV-vis spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

- *Uygun dalga boyu seçimine yönelik spektrofotometrik analizlerde*; %FFA, tayininde reaktif olarak kullanılan maddelerin, FIA tayinlerinde taşıyıcı faz olarak kullanılan n-propanol ortamında hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri kullanılmış, iki farklı indikatör (fenolftaleyn, PHP ve bromtimol mavisi, BTB) temelinde gerçekleştirilen tayinler için uygun dalga boyu değerleri belirlenmiştir.

UV-vis spektrofotometrenin yanı sıra UV dedektör ile de uygun dalga boyu belirleme çalışmaları gerçekleştirilmiş, spektrofotometrik analizler için hazırlanan çözeltilerin kullanılmasıyla yürütülen çalışmalar; taşıyıcı faz (UV-vis ölçümlerinde kullanılan çözücü) içine enjekte edilen reaktif çözeltisinin dedektöre ulaştığında spektrumunun alınmasıyla gerçekleştirilmiştir.

- *Yağ numunelerinin PV ve AV değerleri hakkında bilgi edinilmesine yönelik spektrofotometrik analizlerde*; yağlardaki oksidasyonun bir ölçüsü olarak değerlendirilen PV ve AV değerleri hakkında genel bir yaklaşım izleyebilmek, ayrıca yağ numunelerindeki AV içeriğini spektrofotometrik ölçümlere dayalı standart metotlar ile tespit etmek amacıyla, UV-vis spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bitkisel yağların bozunma derecelerinin tespiti amacıyla gerçekleştirilen özgül absorbans ölçümüne dayalı deneyler; izo-oktan içinde çözülen belli miktarda yağ numunesinin, 200-800 nm dalga boyu aralığında spektrumunun alınması ve *232*

nm ve *270 nm* dalga boylarındaki absorbans değerlerinin 3 tekrarlı okunması ile gerçekleştirilmiştir.

Standart metotlarla AV değerlerinin belirlenmesine yönelik deneyler; uygun reaktif (buzlu asetik asit) ve çözücü (izo-oktan) karışımında 1.00 g yağ içeren bir çözeltinin, 1 cm lik bir küvette 350 nm'deki optik yoğunluğunun ölçülerek, 100 katının alınması ile gerçekleştirilmiştir (100 mL`lik metoda göre).

✦ ***Standart Metot Analizleir*;** tayinlerde kullanılan yağ numunelerinin %FFA, PV ve AV değerlerini belirlemek amacıyla; AOCS, TSE gibi kuruluşlar tarafından belirlenen standart metotlar kullanılarak, en az üç tekrarla yürütülmüştür.

- *%FFA tayini için*; ***AOCS Ca-5a-40*** *ve* ***TS-894*** *metotları*
- *PV tayini için*; ***AOCS Cd 8b-90*** *ve* ***TS-894*** *metotları*
- *AV tayini için*; ***AOCS Cd 18-90*** *ve* ***TS-894*** *metotları kullanılmıştır.*[14]

✦ ***Akış Enjeksiyon Analizleri (FIA);*** resmi metotlara alternatif olarak düşünülen ve pek çok avantaja sahip olan FIA metodunun kullanılmasıyla gerçekleştirilen tayinler (%FFA, PV, AV); modifiye HPLC sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ***(Şekil 7.1.)***, yeni tekniklerin de denendiği çalışmalar, genel FIA prosedürüne uygun olarak yürütülmüştür[15]. Yağ analizleri için modifiye edilen HPLC sistemi ile farklı yağ analizleri gerçekleştirilirken; sistem bağlantılarında herhangi bir değişiklik yapılmamış, manuel ve/veya otomatik enjektör kullanılarak gerçekleştirilen tüm yağ analizleri, oluşturulan bu tek sistem üzerinde gerçekleştirilmiştir ***Şekil 7.2.***), bu husus sunulan çalışmanın en önemli üstünlükleri arasında yer almaktadır. Herbir yağ analizi için belirlenen optimum şartlar doğrultusunda; analizler sırasında izlenecek bağlantı noktaları sabitlenmiştir, böylece bir analizden diğerine geçiş sırasında herhangi bir zaman kaybı söz konusu değildir.

---

[14] %FFA, PV ve AV değerlerini belirlemek amacıyla yürütülen standart metot deneyleri, her bir tayine ilişkin standart metot uygulaması kısmında detaylı olarak verilmiştir.

[15] Her bir tayin için geliştirilen ve uygulanan FIA prosedürü, tayinlere ait bölümlerde detaylı olarak açıklanmıştır.

7.1. HPLC Sisteminin FIA Analizleri için Modifiye Edilmesi

Şekil 7.2.`den de görüleceği gibi; HPLC sistemi, çeşitli reaksiyon hücreleri ve bir yönlendirme valfi ile etkinleştirilerek FIA analizleri uygun bir hale getirilmiştir. Numune veya reaktif/numune/reaktif enjeksiyonundan sonra termostatlı fırından geçen çözelti karışımı, manuel enjeksiyonlu deneyler için laboratuar yapımı, otomatik enjeksiyonlu deneyler için ise ticari reaksiyon hücresinden **(G)** geçirilerek, istenilen reaksiyonun oluşması sağlanmıştır. %FFA analizlerinde; gerçekleşmesi istenilen reaksiyon oluşumu hızlı bir şekilde meydana geldiği için, karışım direk dedektöre gönderilerek analit miktarıyla orantılı bir sinyal elde edilmiş, reaksiyon oluşumu yavaş meydana gelen PV ve AV analizlerinde ise önce dedektörden geçirilen karışım, reaksiyonun meydana gelmesi için dedektör sonuna yerleştirilen reaksiyon hücrelerinde **(İ-J)** belli bir süre bekletilmiştir. Reaksiyon oluşumundan sonra ters akış prensibiyle dedektörden bir kez daha geçirilen karışımın reaksiyon öncesi ve sonrası verdiği sinyaller, yağ numunelerinin PV ve AV değerlerinin tespitinde kullanılmıştır. (**K)** harfi ile gösterilen 50 µL paslanmaz çelik loop ise; sistem bağlantılarını sağlamak ve sistemin HPLC olarak kullanılması istenildiğinde, analitik kolonu yerleştirmek amacıyla sisteme adapte edilmiştir.

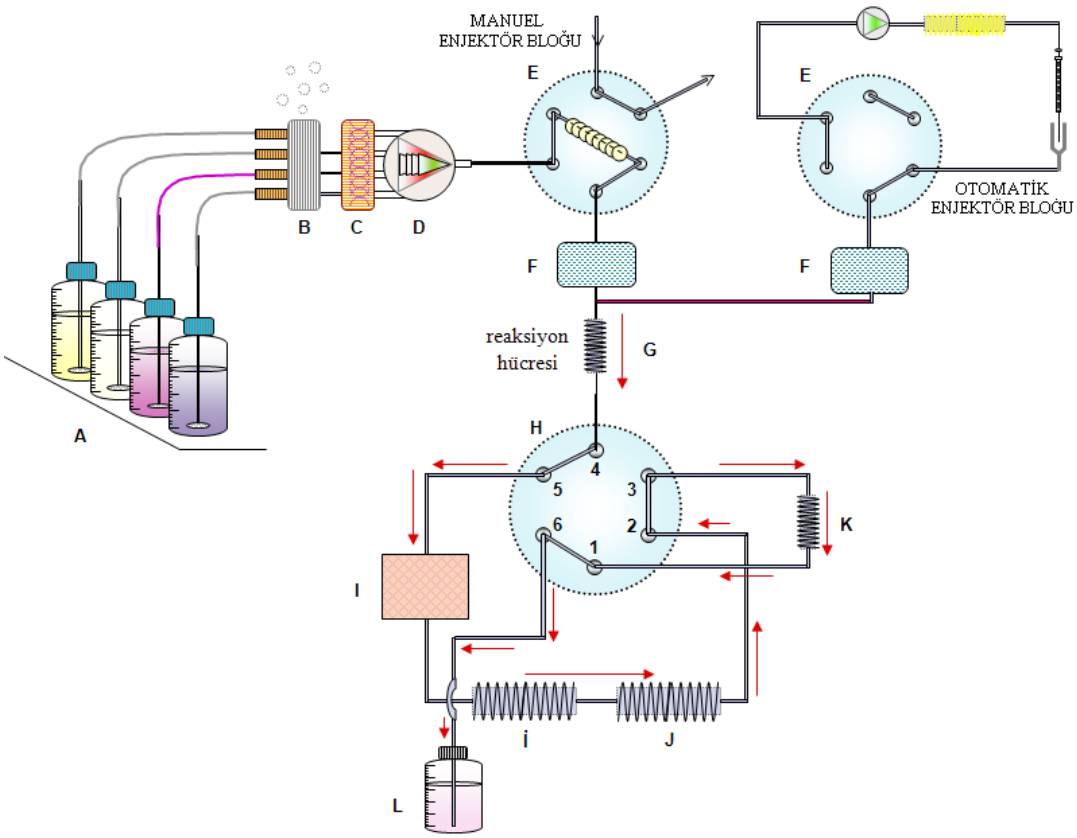
Tayinlerde uygulanan FIA prosedürü genel itibariyle şöyle özetlenebilir: **(i)** geliştirilen her bir tayin için (%FFA, PV, AV) gerekli deneysel şartların sağlanması, **(ii)** mikro seviyedeki yağ numunesinin uygun bir çözücü akışı içine enjekte edilmesiyle[16] veya on-line bir akış oluşturulmasıyla, numune ve taşıyıcı fazın karışımının sağlanması, **(iii)** yeterli dağılımın oluşmadığı durumlarda, uygun bir reaktif kullanılarak numuneye dedektörde gözlenebilecek bir özellik kazandırılması, **(iv)** analitin içeriğine bağlı fiziksel parametre değişimlerinin dedektör aracılığıyla kaydedilmesi, **(v)** elde edilen verilerden faydalanılarak, gerekli hesaplamaların yapılması.

---

(16) Taşıyıcı faz olarak, saf bir çözücü veya çözücü+reaktif karışımı kullanılabilir.



Şekil 7.1. FIA Deneylerinde Kullanılan Modifiye HPLC Sisteminin Fotoğrafı



Şekil 7.2. Manuel ve Otomatik Enjektörlü FIA Çalışmalarında Kullanılan Modifiye HPLC Sisteminin Şematik Gösterimi **A:** taşıyıcı/çözücü tablası, **B:** degaz ünitesi, **C:** karıştırıcı, **D:** quaternary pompa, **E:** manuel enjeksiyon portu/otomatik enjeksiyon portu, **F:** termostatlı kolon fırını, **G:** reaksiyon hücresi, **H:** 2-pozisyon 6-portlu valf, **I:** UV/DAD dedektör, **İ-J:** 1 mL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.76 mm), **K:** 50 µL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **L:** Atık

7.2. Serbest Yağ Asidi (%FFA) Tayini

Otomatikleştirilmiş akış enjeksiyon analiz (FIA) yöntemi ile yağ analiz metotlarının geliştirilmesini amaçlayan denemelere, yemeklik yağların kalite-kontrollerine ilişkin en sık yapılan parametre indislerinden biri olan %FFA tayini ile başlanması uygun görülmüştür.

Gerçekleştirilen %FFA tayinleri *standart metotlar* ve *geliştirilen FIA metotları* ile iki aşamalı olarak yürütülmüş; yağ numunelerinin %FFA içeriklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan standart metotlardan elde edilen veriler, metot karşılaştırma çalışmalarında da kullanılmıştır.

Standart metot ile %FFA tayinleri; susuz ortam titrasyonlarına dayalı tayinler, standart AOCS Ca-5a-40 ve TS-894 metotları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yağ numunelerinin tartımı içerdikleri tahmini %FFA değerlerine bağlı olarak yapılmış, yağlarda bulunan serbest yağ asitlerinin miktarı % oleik asit cinsinden hesaplanmıştır. Her iki metottan elde edilen sonuçların kullanılmasıyla ortalama %FFA değerleri belirlenen yağlar, FIA deneylerinde kullanılmıştır (STD<0.05). AOCS Ca-5a-40 metodu ile gerçekleştirilen %FFA tayinlerinde kullanılan kimyasalların özellikleri, yağların %FFA içeriğine bağlı olarak değişmektedir ***(Tablo 7.2).***

- ***AOCS Ca-5a-40 metoduna göre %FFA Prosedürü:***

Reaktifler:

Etanolde hazırlanmış 0.1 ve 0.25 N NaOH

% 95'lik Etanol

% 1'lik fenolftaleyn indikatörü (etanolde hazırlanmış)

Deneyin Yapılışı:

1 g numune hassasiyetle tartılmış ve 15 mL etil alkol ilave edilerek kuvvetlice çalkalanmıştır. 2-3 damla fenolftaleyn indikatörü damlatılmış ve 0.1 ve 0.25 N NaOH çözeltisi ile pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH sarfiyatı okunarak, aşağıdaki formülden gerekli hesaplama yapılmıştır.

$$\%FFA = \frac{VxNxM}{Gx10}$$ (oleik asit cinsinden)

V: titrasyonda harcanan NaOH miktarı (mL)

N: titrasyonda kullanılan NaOH normalitesi (yağlardaki tahmini %FFA içeriğine göre seçilmiştir)

M: serbest yağ asitlerinin molekül ağırlığı (282 g/formül-g)

G: numune ağırlığı (yağlardaki tahmini %FFA içeriğine göre seçilmiştir)

Tablo 7.2. AOCS Ca-5a-40 Metodu ile %FFA Tayininde Kullanılan Kimyasalların Özellikleri

%FFA Aralığı (% oleik asit)	**Numune Miktarı (g)**	**Etanol Miktarı (mL)**	**Baz Derişimi (N)**
0.0-0.2	56.4 ± 0.2	50	0.1
0.2-1.0	28.2 ± 0.2	50	0.1
1.0-30	7.05 ± 0.05	75	0.25
30-50	7.05 ± 0.05	100	0.25 veya 1.0
50-100	3.525 ± 0.001	100	1.0

✦ ***TS-894 metoduna göre %FFA Prosedürü:***

Reaktifler:

0.1 N etanollü KOH çözeltisi

Etil alkol-dietil eter (1:1)

% 1'lik fenolftaleyn indikatörü (etanolde hazırlanmış)

Deneyin Yapılışı:

5-10 g numune 0.01 g hassasiyetle tartılmış ve 50-150 mL etilalkol-dietil eter karışımı içinde çözülmüştür. 2-3 damla fenolftaleyn indikatörü damlatılmış ve 0.1 N etanollü KOH çözeltisi ile pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan KOH sarfiyatı okunarak, aşağıdaki formülden gerekli hesaplama yapılmıştır.

$$\%FFA = \frac{Vx2.8}{M}$$

V: titrasyonda harcanan KOH miktarı (mL)

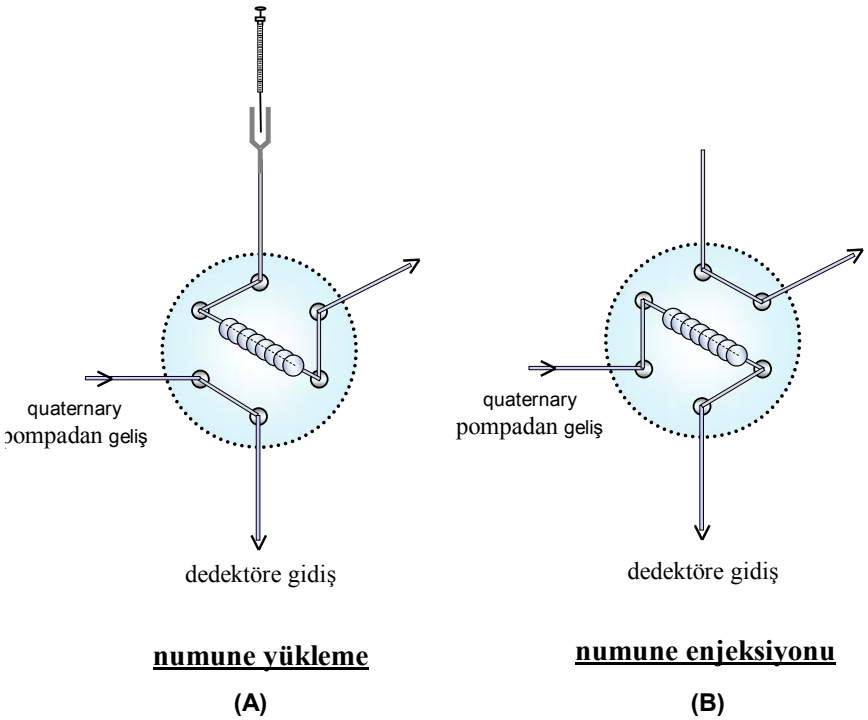
M: numune ağırlığı (yağlardaki tahmini %FFA içeriğine göre seçilmiştir)

***FIA metodu ile %FFA tayinleri*;** susuz ortam titrasyonlarına dayalı tayinler, geliştirilen FIA metotları ile manuel ve otomatik enjeksiyonlu olarak yürütülmüştür.

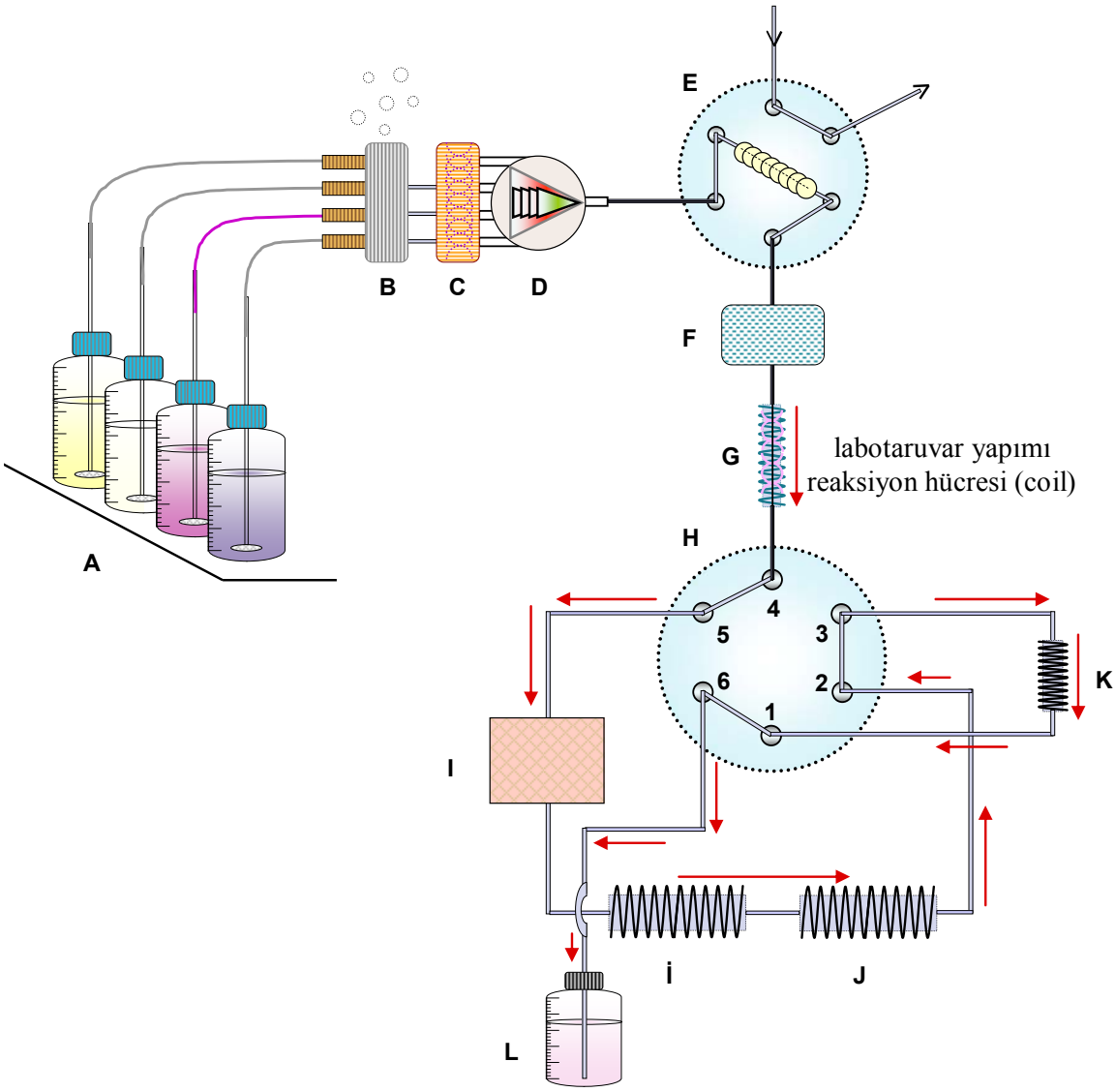
7.2.1. Manuel enjeksiyonlu %FFA tayini

%FFA tayini için bir ön çalışma niteliği taşıyan manuel enjeksiyonlu deneyler; mısır ve ayçiçek yağları kullanılarak, 20µL loop (0.25 mm I.D.) hacmine sahip manuel enjektör ile gerçekleştirilmiştir. Deney parametreleri tespit edilerek, modifiye HPLC sistemi üzerinde optimizasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Ardından, FIA metodunun yağ analizleri için kullanılabilirliğini kanıtlamak amacıyla validasyon çalışmaları yürütülmüş, istatistiksel hesaplamaların kullanılmasıyla FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırması da yapılmıştır.

Numune enjeksiyonunun gerçekleştirildiği manuel enjeksiyon bloğunun numune yükleme ve numune enjeksiyonu sırasındaki konumları ***Şekil 7.3.***`de yemeklik yağlardaki %FFA tayinlerinin gerçekleştirilmesi için oluşturulan modifiye HPLC sistemi de ***Tablo 7.4.***`de gösterilmiştir.



Şekil 7.3. Manuel Enjeksiyon Bloğunun **(A)** numune yükleme, **(B)** numune enjeksiyonu Sırasındaki Konumları



Şekil 7.4. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Kullanılan Modifiye HPLC Sistemi **A:** taşıyıcı/çözücü tablası, **B:** degaz ünitesi, **C:** karıştırıcı, **D:** quaternary pompa, **E:** manuel enjeksiyon portu, **F:** termostatlı kolon fırını, **G:** laboratuvar yapımı loop (i.d. 0.25mm, I.D. 1.5 cm), **H:** 2-pozisyon, 6-portlu valf, **I:** UV dedektör, **İ-J:** 1 mL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.76 mm), **K:** 50 µL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **L:** Atık

Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinleri için FIA prosedürü; n-propanol içinde çözülerek hazırlanmış 1.10^{-3} M KOH ve 5.10^{-5} M PHP içeren bazik çözelti taşıyıcı faz olarak kullanılmış, ayçiçek ve mısır yağı numuneleri, 20µL loop hacmine sahip enjeksiyon bloğu içine manuel olarak enjekte edilmiştir.

Sürekli akmakta olan taşıyıcı faz içinde belirli bir bölge (zone) oluşturan yağ numunesi içindeki serbest yağ asitleri (FFA), taşıyıcı faz içindeki baz ile reaksiyona

girmeye başlamış ve kullanılan reaksiyon hücresinin **(G)** de etkisiyle meydana gelen dağılımın gerçekleştiği bu bölgenin bazikliğinde bir azalma meydana gelmiştir. Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde indikatör olarak kullanılan fenolftaleyn (PHP); bazik ortamda pembe, asidik ortamda ise renksiz (berrak) özellik gösteren bir maddedir. Bu sebeple; reaksiyonun gerçekleştiği bölgede bazikliğin azalması, PHP indikatörünün renginde bir azalma meydana getirmiş ve absorbans değerinin düşmesine sebep olan bu durum, negatif pik olarak karşımıza çıkmıştır.

Absorbanstaki bu düşüş numune içindeki %FFA içeriği ile orantılı bir şekilde meydana gelmiş, sürekli akmaya devam eden taşıyıcı faz etkisiyle de, kısa bir süre sonra absorbans ilk değerine (taşıyıcı fazın sahip olduğu absorbans değerine) tekrar yükselmiştir. Yağ numunelerinin %FFA içerikleri tespit edilirken, elde edilen bu negatif piklerin yükseklik (h), yarı pik genişliği (w) ve altında kalan alandan (A) faydalanılmıştır. Dedektörde gözlenen negatif pikin şiddeti ve pik altında kalan alan; yağ numuneleri içerisinde bulunan %FFA miktarı ile orantılı olup, numune içindeki %FFA miktarı arttıkça gözlenen pikin absorbansında meydana gelen düşüş de o oranda artmıştır.

7.2.1.1. Deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi

HPLC sisteminin FIA deneylerine uygun biçimde modifiye edilmesinin ardından, deney parametreleri tespit edilmiş ve ayçiçek ve mısır yağı numuneleri kullanılarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde optimize edilen parametreler;

- taşıyıcı faz akış hızı,
- reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı),
- reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) dur.

Ayçiçek yağı kullanılarak gerçekleştirilen manuel enjeksiyonlu deneylerde %FFA değerleri 0.07-1.40 arasında değişen ayçiçek yağı numuneleri, mısır yağı kullanılarak gerçekleştirilen manuel enjeksiyonlu deneylerde ise; %FFA değerleri 0.09-2.42 arasında değişen mısır yağı numuneleri kullanılmış ve deneyler ***Bölüm. 7.1.1.***`de anlatılan prosedüre uygun olarak yürütülmüştür.

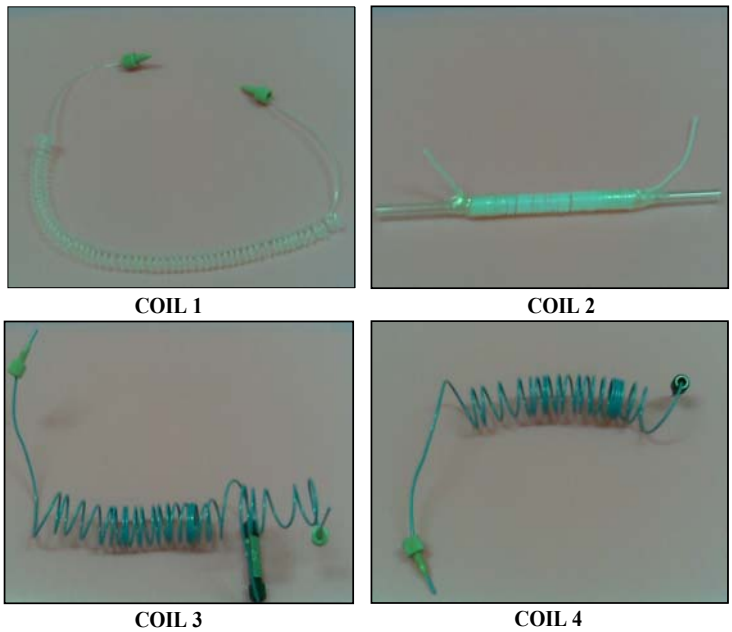
7.2.1.1.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisinin incelenmesi

En az on tekrarla gerçekleştirilen taşıyıcı faz akış hızı optimizasyon çalışmalarında; dört farklı %FFA değerine sahip (0.07 - 0.40 - 0.74 - 1.40 % oleik asit) ayçiçek yağı numuneleri kullanılmış, deneyler 0.1 - 0.5 - 1.0 - 2.0 - 3.0 mL/dk olmak üzere beş farklı akış hızında gerçekleştirilmiştir.

Mısır yağı kullanılarak gerçekleştirilen %FFA çalışmalarında ise; ayçiçek yağı ile elde edilen optimum akış hızı değeri kullanılmıştır.

7.2.1.1.2. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisinin incelenmesi

Farklı %FFA değerine sahip dört adet ayçiçek yağı (%FFA: 0.07 - 0.40 - 0.74 - 1.40) ve sekiz adet mısır yağı (%FFA: 0.09 - 0.25 - 0.50 - 0.75 - 1.00 - 1.50 - 2.00 - 2.42) numunelerinin kullanıldığı reaksiyon hücresi optimizasyon deneylerinde, farklı iç çapa sahip, farklı uzunluk ve geometride reaksiyon hücreleri (tubing) kullanılmış ve her bir reaksiyon hücresinin %FFA deneyleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Optimizasyon deneylerinde kullanılan reaksiyon hücrelerinin fotoğrafları ***Şekil 7.5.***`de, özellikleri ise ***Tablo 7.3.***`de verilmiştir[17].



Şekil 7.5. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaksiyon Hücreleri

[17] Ayçiçek yağı kullanılarak gerçekleştirilen deneylerde ilk üç coilin, mısır yağı kullanılarak gerçekleştirilen deneylerde ise tüm coillerin etkisi incelenmiştir.

Tablo 7.3. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaksiyon Hücrelerinin Özellikleri

Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Kullanılan Reaksiyon Hücreleri (COIL)	
COIL 1: 74 sarmal	
coil uzunluğu (l): 174 cm	*coilin sarıldığı tüp uzunluğu (L): 12 cm*
coil iç çapı (id): 0,50 mm	*coilin sarıldığı tüpün iç çapı (ID): 0,5 cm*
COIL 2: 42 sarmal	
coil uzunluğu (l): 71 cm	*coilin sarıldığı tüp uzunluğu (L): 7 cm*
coil iç çapı (id): 0,50 mm	*coilin sarıldığı tüpün iç çapı (ID): 0,3 cm*
COIL 3: 19 sarmal	
coil uzunluğu (l): 128 cm	*coilin sarıldığı tüp uzunluğu (L): 6 cm*
coil iç çapı (id): 0,25 mm	*coilin sarıldığı tüpün iç çapı (ID): 1,5 cm*
COIL 4: 23 sarmal	
coil uzunluğu (l): 168 cm	*coilin sarıldığı tüp uzunluğu (L): 6 cm*
coil iç çapı (id): 0,25 mm	*coilin sarıldığı tüpün iç çapı (ID): 1,5 cm*

7.2.1.1.3. Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) etkisinin incelenmesi

0.09-2.42 arası %FFA içeriğine sahip standart mısır yağı numuneleri kullanılarak, 2 mL/dk akış hızında gerçekleştirilen çalışmalar; reaktif konsantrasyonu etkisini daha iyi ortaya koyabilmek ve kıyaslama yapabilmek amacıyla, bir önceki bölümde bahsedilen reaksiyon hücresi çalışmaları ile paralel olarak yürütülmüştür.

Reaktif konsantrasyonu etkisi çalışmaları için farklı konsantrasyondaki çözeltilerin hazırlanmasında; gerçekleşmesi istenilen reaksiyon şartları ve reaksiyon hücrelerinin özellikleri göz önünde bulundurulmuştur. Mısır yağı numuneleri ile her bir reaksiyon hücresinde gerçekleştirilen deneyler için hazırlanıp/kullanılan reaktiflere ait bilgiler ***Tablo 7.4.***`de özetlenmiştir.

Tablo 7.4. Manuel Enjeksiyonlu Deneylerde Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) Etkisini İncelemek Amacıyla Kullanılan Reaktifler

Mısır Yağı %FFA Tayininde Kullanılan Reaktif Konsantrasyonları (n-propanol içinde çözülmüş KOH ve PHP)		
COIL 1	**R1:** 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP	
	R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP	
	R3: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 18.75 x 10^{-5} M PHP	
	R4: 5.00 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP	
COIL 2	**R2:** 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP	
	R3: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 18.75 x 10^{-5} M PHP	
	R4: 5.00 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP	
	PHP Konsantrasyonu Etkisi	**R5:** 2.50 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP
		R6: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP
		R7: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP
		R8: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP
		R9: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP
		R10: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP
COIL 3	**R1:** 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP	
	R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP	
	R11: 1.25 x 10^{-3} M KOH + 6.25 x 10^{-5} M PHP	
	R12: 1.88 x 10^{-3} M KOH + 9.38 x 10^{-5} M PHP	
COIL 4	**R2:** 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP	

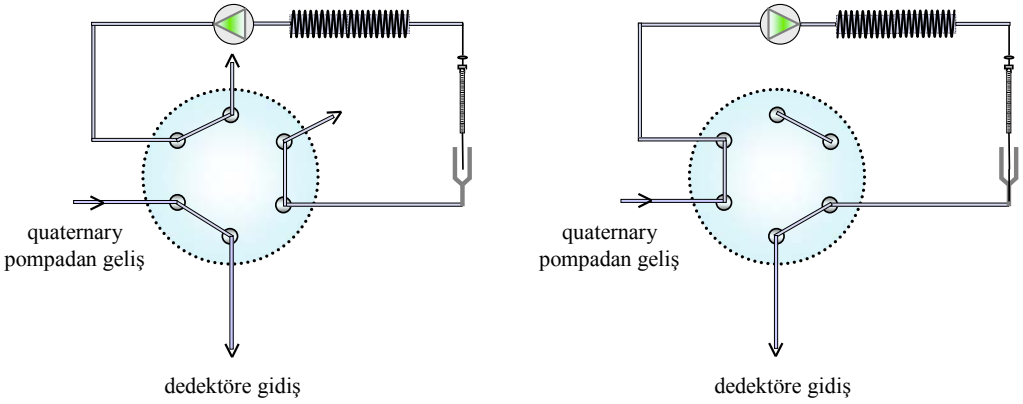
7.2.2. Otomatik enjeksiyonlu %FFA Tayini

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinleri; mısır, ayçiçek, soya, kanola ve yer fıstığı yağları kullanılarak, 0.1-100µL aralığında numune enjekte edebilecek özelliğe sahip otomatik numune verici ile gerçekleştirilmiştir. Deneyler için öncelikle HPLC sistemi FIA deneyleri için uygun biçimde modifiye edilmiş; deney parametrelerinin tespit edilmesiyle, optimizasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Ardından, FIA metodunun yağ analizleri için kullanılabilirliğini kanıtlamak amacıyla validasyon çalışmaları yürütülmüş ve istatistiksel hesaplamalar kullanılarak FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırması da yapılmıştır.

100 µL hacim kapasitesinde otomatik numune verici sisteminin kullanıldığı %FFA tayinlerinde; numune, taşıyıcı ve reaktif çözelti akışlarının istenilen şekilde yönlenmesini sağlamak amacıyla ise; kolon fırını içine yerleştirilen 2-pozisyon/6-portlu bir mikro valfden faydalanılmıştır. Sonuçların görselleştirilmesi ve değerlendirilmesinde; tek bir dalga boyundaki değişimleri gözlemleyebileceğimiz UV dedektör (190-600 nm) ve deney sırasında beş dalga boyundaki değişimlerin gözlenmesine izin veren, verilerin elde edilmesinden sonra ise tüm dalga boylarındaki değişimlerin gözlenebildiği hem UV hem de görünür bölgede çalışabilen diyode array dedektör, DAD (190-950 nm) kullanılmıştır.

Numune enjeksiyonunun gerçekleştirildiği otomatik enjeksiyon bloğunun numune yükleme ve numune enjeksiyonu sırasındaki konumları ***Şekil 7.6.***`da, yemeklik yağlardaki %FFA tayininin otomatik enjeksiyonla gerçekleştirildiği modifiye HPLC sistemi de ***Şekil 7.7.***`da gösterilmiştir.

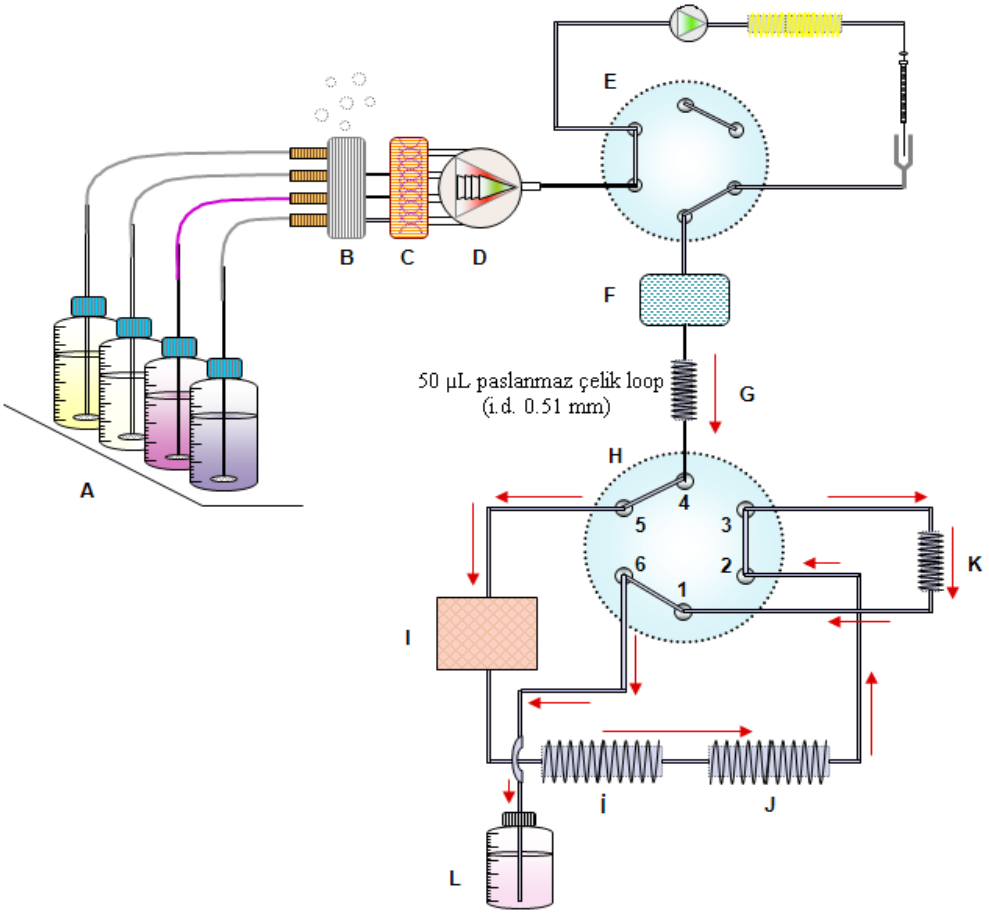
Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinleri için FIA prosedürü; n-propanol ya da etanol-dietil eter karışımının taşıyıcı faz olarak kullanıldığı %FFA tayinlerinde; reaktif olarak yine n-propanol veya etanol-dietil eter karışımı içinde çözülen uygun konsantrasyonlardaki baz (KOH) ve indikatör (PHP veya BTB) çözeltisi kullanılmıştır. Ayçiçeği, mısır, soya, kanola ve yer fıstığı yağı numuneleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda; numune herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan mikro litre düzeyinde enjekte edilmiştir. Ayrıca; kullanılan reaktif miktarını mikro seviyede tutmak ve oluşacak reaksiyonun istenilen düzeyde gerçekleşmesini sağlamak için de reaktif/numune/reaktif şeklinde bir enjeksiyon programı oluşturulmuştur.



numune yükleme **numune enjeksiyonu**

(A) **(B)**

Şekil 7.6. Otomatik Enjeksiyon Bloğunun **(A)** numune yükleme, **(B)** numune enjeksiyonu Sırasındaki Konumları



Şekil 7.7. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Kullanılan Modifiye HPLC Sistemi **A:** taşıyıcı/çözücü tablası, **B:** degaz ünitesi, **C:** karıştırıcı, **D:** quaternary pompa, **E:** otomatik enjeksiyon portu, **F:** termostatlı kolon fırını, **G:** ticari 50 mL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **H:** 2-pozisyon, 6-portlu valf, **I:** UV/DAD dedektör, **İ-J:** 1 mL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.76 mm), **K:** 50 µL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **L:** Atık

Sürekli akmakta olan taşıyıcı faz içinde belirli bir bölge (zone) oluşturan reaktif/numune/reaktif karışımı, gerek enjeksiyon programlaması gerekse sisteme adapte edilen reaksiyon hücresi sayesinde istenilen reaksiyonu hızlı bir şekilde meydana getirmiş (%FFA`larla, reaktif içindeki bazın reaksiyonu), bu sebeple düşük bir absorbansa sahip taşıyıcı faz sinyalinde ani bir yükseliş gözlenmiştir[18]. Manuel enjeksiyonlu deneylerin aksine; dedektörden pozitif piklerin gözlendiği çalışmalarda, pik absorbansının şiddeti; enjekte edilen yağ numunesinin hacmi, %FFA içeriği ve reaktif konsantrasyonu ile reaktif hacmine bağlı olarak değişmiştir. Yağ numunelerinin %FFA içerikleri tespit edilirken, elde edilen pozitif piklerin yükseklik (h), yarı pik genişliği (w) ve altında kalan alanlardan (A) faydalanılmıştır. Dedektörde gözlenen negatif şiddeti ve pik altında kalan alan; yağ numuneleri içerisinde bulunan %FFA miktarı ile ters orantılı olup, numune içindeki %FFA miktarı arttıkça gözlenen pikin absorbansı da o oranda azalmıştır.

7.2.2.1. Deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi

UV ve DAD dedektörle gerçekleştirilen tayinlerde; n-propanol taşıyıcı faz olarak, n-propanolde çözülerek hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki KOH + indikatör (PHP ve/veya BTB) içeren çözeltiler ise reaktif olarak kullanılmış; mikro seviyede tutulan numune ve reaktiflerin sisteme enjeksiyonu, yapılan programlama ile reaktif/numune/reaktif sıralamasıyla oluşturulan karışımın enjeksiyonu şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinine ilişkin optimizasyon çalışmaları mısır yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilmiş, optimize edilen parametre değerleri mısır yağının yanı sıra ayçiçek, soya, kanola, yer fıstığı yağı gibi yağların %FFA içeriklerinin tespit edilmesinde de gerektiğinde küçük değişiklikler yapılarak uygulanmıştır.

Deney parametrelerinin optimizasyonu için kullanılan standart yağların sahip olduğu %FFA değerlik aralıkları şöyledir:

---

(18) Yağ içindeki FFA`lar ve reaktif çözeltisindeki baz (KOH) arasında meydana gelen reaksiyon, indikatörlerde fiziksel değişimlere sebep olmuş [PHP; asidik ortamda (renksiz)-bazik ortamda (pembe), BTB asidik ortamda (sarı)-bazik ortamda (mavi)] ve absorbans değerinde ani bir artış görülmüştür.

- *ayçiçek yağı için*; **%FFA=*0.09 - 2.11*** (%oleik asit)
- *mısır yağı için*; **%FFA=*0.09 - 2.42*** (%oleik asit)
- *soya yağı;* **%FFA=*0.07 - 1.21*** (%oleik asit)
- *kanola yağı;* **%FFA=*0.04 - 1.62*** (%oleik asit)
- *yer fıstığı yağı;* **%FFA=*0.13 -6.53*** (%oleik asit)

Otomatik enjeksiyonlu %FFA deneylerinde; fenolftaleyn (PHP) çözeltisinin yanı sıra, bromtimol mavisi (BTB) çözeltisi de indikatör olarak kullanılmış, optimize edilen diğer parametrelerin değerlendirilmesi deneylerde kullanılan iki indikatör temelinde yapılmıştır. Bu sebeple; otomatik enjeksiyonla gerçekleştirilen %FFA tayinleri fenolftaleyn (PHP) ve bromtimol mavisi (BTB) ile gerçekleştirilen deneyler olmak üzere iki kısımda incelenmiştir.

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayininde mısır yağı numuneleri kullanılarak, hem fenolftaleyn (PHP) hem de bromtimol mavisi (BTB) indikatörlü deneyler için optimize edilen parametreler şunlardır;

- *Numune ve reaktif hacmi,*
- *Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı),*
- *Reaktif Konsantrasyonu (KOH ve indikatör konsantrasyonu),*
- *Sıcaklık*

Ayrıca; optimizasyon çalışmaları olarak nitelendirilmemekle birlikte; *farklı çözücü (n-propanol ve etil alkol-dietil eter karışımı)*, *farklı dedektör (UV ve DAD dedektör)* ve *enjeksiyon bloğunda yapılan ön karıştırma işlemi (karıştırmalı ve karıştırmasız)* etkileri de %FFA tayininde çalışılan parametreler arasındadır.

7.2.2.1.1. Numune ve reaktif hacmi etkisinin incelenmesi

Numune ve reaktif hacminin minimum düzeye indirilmeye çalışıldığı çalışmalarda; reaktif/numune/reaktif oranının farklı olduğu birçok çalışma gerçekleştirilmiş ve optimize değer belirlenmiştir.

7.2.2.1.2. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisinin incelenmesi

Paslanmaz çelikten yapılmış farklı özellikteki üç lopun kullanılmasıyla gerçekleştirilen çalışmalar; ön karıştırmalı ve ön karıştırmasız olarak yürütülmüş ve otomatik enjeksiyonlu tayinler üzerine reaksiyon hücresinin etkisi incelenmiştir.

Optimizasyon deneylerinde kullanılan reaksiyon hücreleri ***Şekil 7.8.***`de gösterilmiştir.



Şekil 7.8. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaksiyon Hücreleri

7.2.2.1.3. Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) etkisinin incelenmesi

Reaktif çözeltisini oluşturan her bir bileşenin (KOH ve indikatör konsantrasyonu) %FFA tayini üzerine tekli etkileri incelemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar; reaktif bileşenlerinden biri sabit tutulurken diğeri değiştirilerek yürütülmüş ve reaktif bileşenlerinin etkisi, iki farklı indikatör (PHP, BTB) çözeltisinin kullanıldığı deneyler için ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

- *Fenolftaleyn (PHP) indikatörü ile gerçekleştirilen %FFA deneylerinde; farklı* konsantrasyonlarda reaktifler hazırlanmış ve her bir reaktif için farklı numune hacmi denemeleri gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon deneylerinde kullanılan reaktiflerin özellikleri ***Tablo 7.5.***`de yer almaktadır.

- Bromtimol mavisi (BTB) indikatörü ile gerçekleştirilen %FFA deneylerinde; tıpkı fenolftaleyn (PHP) indikatörüyle gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi, farklı konsantrasyonlarda reaktifler hazırlanmış ve her bir reaktif için farklı numune hacmi denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Propanol içinde çözülerek hazırlanan reaktif bileşenlerinin ayrı ayrı etkilerini

görebilmek amacıyla; reaktif içindeki bileşenlerden birinin konsantrasyonu sabit tutulurken diğeri değiştirilmiş böylece reaktif bileşenlerinin tekli etkileri gözlenmeye çalışılmıştır. PHP indikatörlü deneylerde yapıldığı gibi, BTB indikatörlü deneylerde de reaktif bileşenlerinin konsantrasyonlarını belirleyebilmek amacıyla baz ve indikatör çözeltileri için ayrı ayrı kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş ve yeni hazırlanan reaktif bileşenlerinin konsantrasyonları bu grafikler kullanılarak tespit edilmiştir.

Tablo 7.5. Otomatik Enjeksiyonlu Deneylerde Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) Etkisini İncelemek Amacıyla Kullanılan Reaktifler

PHP İndikatörü ile %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaktifler		
Reaktif	**[KOH], mol/L**	**[PHP], mol/L**
R13	1.0×10^{-3}	5.0×10^{-5}
R14	1.5×10^{-3}	7.5×10^{-5}
R15	2.0×10^{-3}	10.0×10^{-5}
R16	2.5×10^{-3}	12.5×10^{-5}
R17	3.0×10^{-3}	15.0×10^{-5}
R18	4.0×10^{-3}	20.0×10^{-5}
R19	5.0×10^{-3}	25.0×10^{-5}

7.2.2.1.4. Sıcaklık etkisinin incelenmesi

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayini üzerine sıcaklığın etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda; PHP indikatörü kullanılan deneyler için üç (40°C - 50°C - 80°C), BTB indikatörü kullanılan deneyler için ise dört farklı sıcaklık değerinin (20°C - 40°C - 60°C - 80°C) etkisi incelenmiştir.

7.2.2.2. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Çalışmaları

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinleri için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları sonunda elde edilen optimum parametre değerleri kullanılarak, %FFA içeriği bilinmeyen ayçiçek, mısır, soya, kanola ve yer fıstığı yağı numuneleri için %FFA tayini çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca; %FFA değerleri bilinmeyen bu yağ numuneleri, standart metotlar kullanılarak da analiz edilmiş, elde edilen %FFA değerleri, FIA ve standart metotların karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

7.3. Peroksit Sayısı (PV) Tayini

Mısır, ayçiçek, soya ve kanola yağları kullanılarak gerçekleştirilen otomatik enjeksiyonlu PV tayinlerinde, öncelikle HPLC sistemi FIA deneyleri için uygun biçimde modifiye edilmiş; deney parametrelerinin tespit edilmesiyle, optimizasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, FIA metodunun PV tayinleri için kullanılabilirliğini kanıtlamak amacıyla validasyon çalışmaları yürütülmüş ve istatistiksel hesaplamalar kullanılarak PV tayini için, FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırması da yapılmıştır.

Standart metot ile %FFA tayinleri*;** susuz ortam titrasyonlarına dayalı tayinler, standart AOCS Cd-8b-90 ve TS-894 metotları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yağlardaki aktif oksijen miktarının ölçüsü olan peroksit sayısı değerleri (PV), 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin milieşdeğer gram miktarı olarak hesaplanmıştır. Uygulanan her iki standart metottan elde edilen ortalama PV değerleri belirlenen yağlar ***(Tablo 6.2.), FIA deneylerinde kullanılmıştır (STD<0.05).

✦ ***AOCS Cd-8b-90 metoduna göre PV Prosedürü:***

Reaktifler:

0.002 N $Na_2 S_2 O_3$ (sodyum tiyosülfat) çözeltisi
Doymuş KI (potasyum iyodür) çözeltisi
% 1 lik nişasta çözeltisi
Kloroform
Asetik asit
Saf su

Deneyin Yapılışı:

Hava ile teması önlenen numuneden 10 g numune hassasiyetle tartılmış ve 10 ml kloroform 15 ml asetik asit ilave edilerek kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından, 0.5 ml KI ilave edilmiş ve çözelti karanlıkta 3 dakika beklemeye bırakılmıştır (çözeltinin rengi kahveye dönmüştür). Bekletme işlemi tamamlandıktan sonra, 3 damla % 1 lik nişasta çözeltisi damlatılmış (çözeltinin rengi laciverte dönmüştür) ve 0.002 N ayarlı $Na_2S_2O_3$ çözeltisi ile renk berraklaşıncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan $Na_2S_2O_3$ sarfiyatı okunarak, aşağıdaki formülden gerekli hesaplama yapılmıştır.

$$\mathbf{PV = \frac{NxVx1000}{G} \quad meg / kg\ O_2}$$

V: titrasyonda harcanan $Na_2S_2O_3$ miktarı (mL)

N: titrasyonda kullanılan $Na_2S_2O_3$ normalitesi

G: numune ağırlığı

✦ ***TS-894 metoduna göre PV Prosedürü:***

Reaktifler:

0.002 N $Na_2 S_2 O_3$ (sodyum tiyosülfat) çözeltisi

Doymuş KI (potasyum iyodür) çözeltisi

% 1 lik nişasta çözeltisi

Kloroform

Asetik asit

Saf su

Deneyin Yapılışı:

Hava ile teması önlenen numuneden, tahmini PV değerine göre belirlenen miktar ***(Tablo 7.6.)*** hassasiyetle tartılmış ve 10 ml kloroform ilave edilerek kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından, numuneye sırayla 15 ml asetik asit ve 1 ml KI ilave edilmiş ve ağzı kapatılarak 1 dk çalkalanan çözelti, karanlıkta 5 dakika beklemeye bırakılmıştır (çözeltinin rengi kahveye dönmüştür). Bekletme işlemi tamamlandıktan sonra, çözeltiye 75 mL saf su ilave edilerek ayarlı $Na_2S_2O_3$ çözeltisi ***(Tablo 7.6.)*** ile titrasyona başlanmıştır. Çözeltinin renginde hafif açılma meydana geldiğinde; % 1 lik nişasta çözeltisinden 2 mL ilave edilmiş (çözeltinin rengi laciverte dönmüştür) ve ayarlı $Na_2S_2O_3$ çözeltisi ile[19] titrasyona renk berraklaşıncaya kadar devam edilmiştir. Harcanan $Na_2S_2O_3$ sarfiyatı okunarak, aşağıdaki formülden gerekli hesaplama yapılmıştır.

$$\mathbf{PV = \frac{V}{M} x2} \qquad \text{(0.002 N } Na_2S_2O_3 \text{ çözeltisi ile titre edilmiş ise)}$$

$$\mathbf{PV = \frac{V}{M} x10} \qquad \text{(0.001 N } Na_2S_2O_3 \text{ çözeltisi ile titre edilmiş ise)}$$

V: titrasyonda harcanan 0.002 N veya 0.001 N $Na_2S_2O_3$ miktarı (mL)

M: numune ağırlığı

[19] Tabloya göre 0.002 N veya 0.001 N $Na_2S_2O_3$ ile titre edilir.

Tablo 7.6. TS-894 Metodu ile PV Tayininde Kullanılan Kimyasalların Özellikleri

Beklenen PV	Alınacak Numune Miktarı (g)	$Na_2S_2O_3$ Normalitesi	PV Hesaplama Formülü
< 5	2.0	0.002 N	$PV = \frac{V}{M} x2$
5 - 10	1.6		
11 - 15	1.4		
16 - 20	1.2	0.001 N	$PV = \frac{V}{M} x10$
21 - 30	1.0		

Otomatik enjeksiyonlu peroksit sayısı (PV) tayinlerinde, bir önceki kısımda bahsedilen otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde kullanılan FIA sistemi kullanılmış, fakat PV tayinlerinde meydana gelen reaksiyonların yavaş cereyan etmesi sebebiyle; ancak belirli bir sürede oluşabilecek reaksiyonların oluşumu, dedektörden hemen sonra yerleştirilen 1`er mL`lik iki loop (reaksiyon hücresi) vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir.

Numune enjeksiyonunun gerçekleştirildiği otomatik enjeksiyon bloğunun numune yükleme ve numune enjeksiyonu sırasındaki konumları, ***Şekil 7.6.***`da görüldüğü gibidir. Yemeklik yağlardaki PV tayininin otomatik enjeksiyonla gerçekleştirildiği modifiye HPLC sistemi ise; reaksiyon öncesindeki ve sonrasındaki etkin bağlantı noktalarının farklı olması sebebiyle, ***Şekil 7.9.*** ve ***Şekil 7.10.***`da gösterilmiştir.

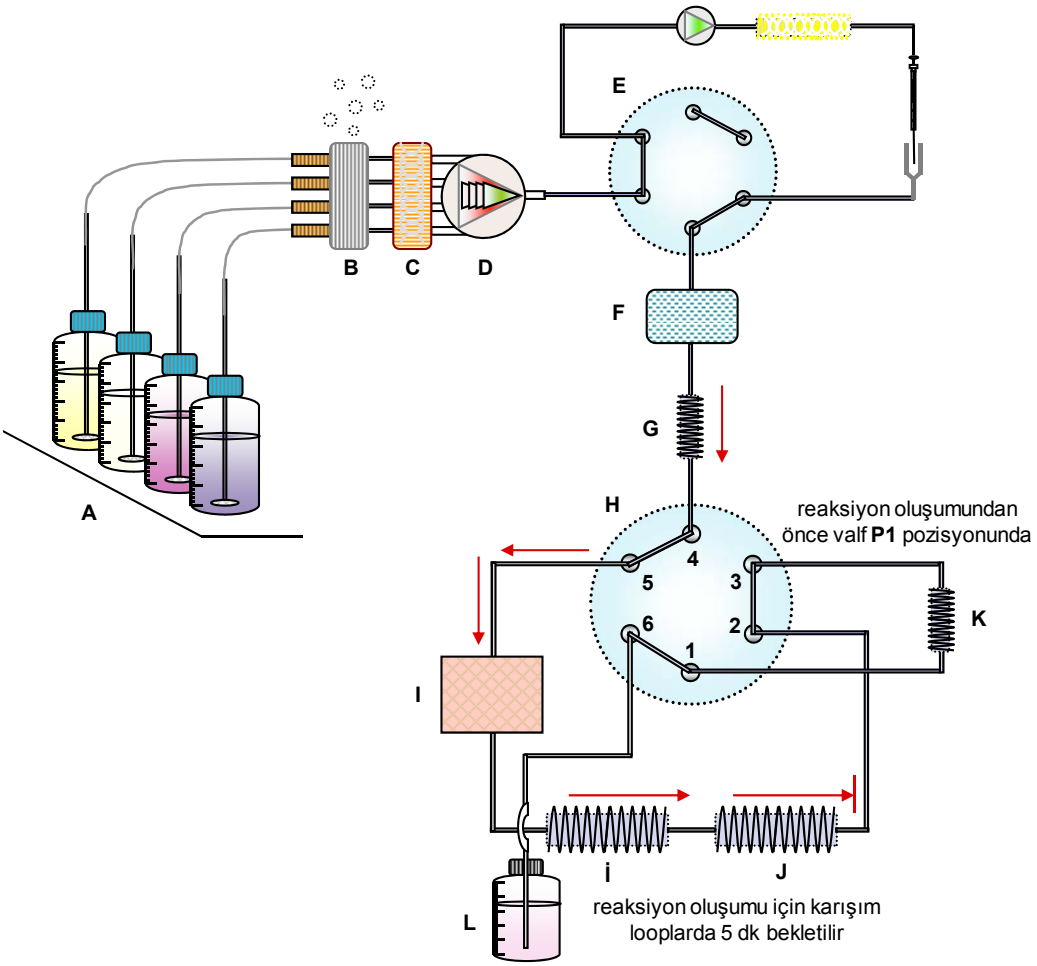
Otomatik enjeksiyonlu PV tayinleri için FIA prosedürü;

FIA ile PV tayininde; n-propanol içinde çözülerek hazırlanmış belli yüzdedeki NaI çözeltisi taşıyıcı faz olarak, n-propanol içinde çözülerek hazırlanmış belli yüzdedeki HAc çözeltisi ise reaktif olarak kullanılmış ve reaktif/numune/reaktif şeklinde bir enjeksiyon gerçekleştirilmiştir. Ayçiçeği, mısır, soya ve kanola yağlarının kullanıldığı, otomatik enjeksiyonlu deneylerde; enjeksiyonlar mikro litre mertebesinde yapılmış ve numune herhangi bir ön işleme tabi tutulmamıştır.

Tayin sırasında sürekli olarak sistemden geçirilen taşıyıcı faz, iyodürün çözeltiye verdiği renk sebebiyle belli bir absorbans şiddeti vermiştir. Sürekli akmakta olan bu taşıyıcı faz içine enjeksiyonu gerçekleştirilen reaktif/numune/reaktif karışımı

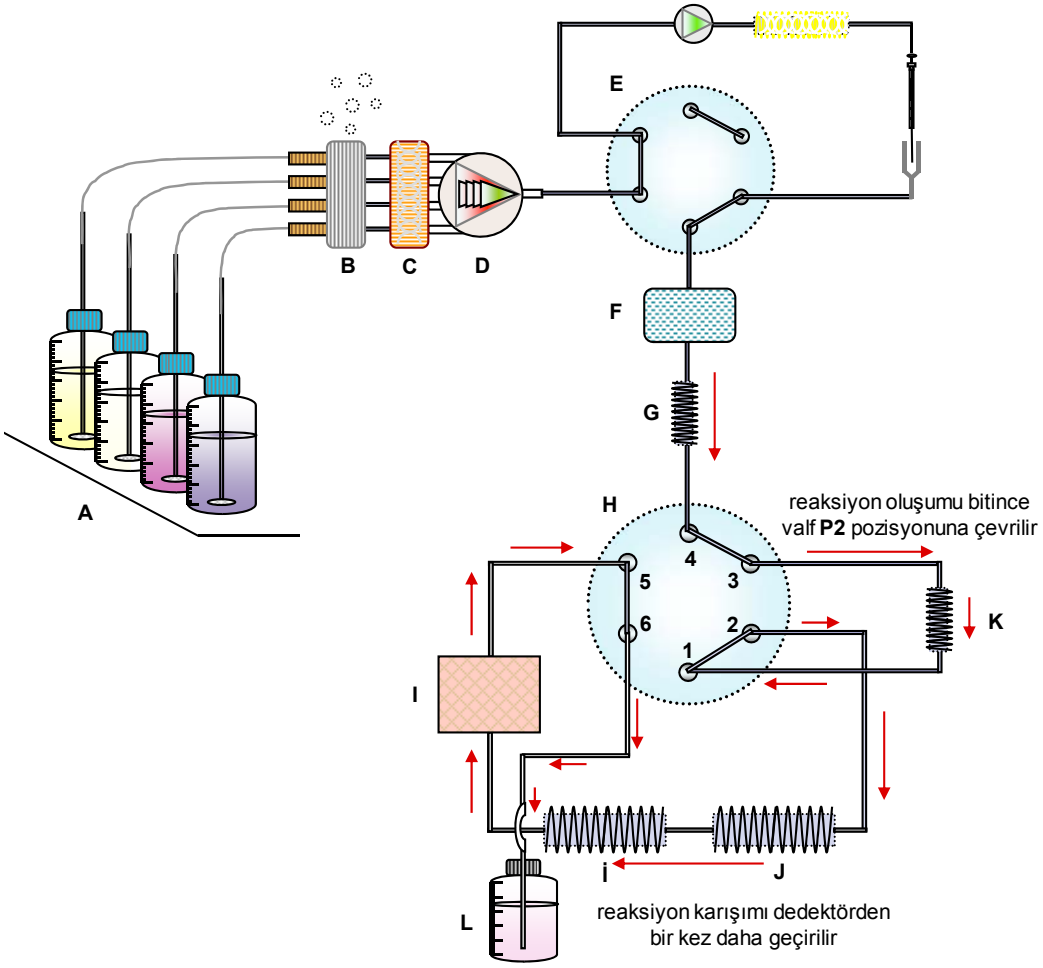
dedektörden geçirilerek reaksiyon oluşumundan önce bir sinyal elde edilmiş, daha sonra da karışım, oldukça yavaş cereyan eden reaksiyonun oluşması için dedektörün hemen çıkışına adapte edilen reaksiyon hücresinde belli bir süre bekletilmiştir[20].

Reaksiyon oluşumu tamamlandıktan sonra, bu kez ters akım uygulanmış ve karışımın tekrar dedektörden geçirilerek, okunması sağlanmıştır. Reaksiyon öncesi ve sonrası olmak üzere; iki kez dedektörden geçirilen karışım sebebiyle, enjekte edilen her bir yağ numunesi için iki farklı pik gözlenmiştir.



Şekil 7.9. Otomatik Enjeksiyonlu PV Tayininde Kullanılan Modifiye HPLC Sisteminin Reaksiyon Öncesindeki Konumu/Bağlantıları **A:** taşıyıcı/çözücü tablası, **B:** degaz ünitesi, **C:** karıştırıcı, **D:** quaternary pompa, **E:** otomatik enjeksiyon portu, **F:** termostatlı kolon fırını, **G:** 50 µL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **H:** 2-pozisyon, 6-portlu valf, **I:** UV dedektör, **İ-J:** 1 mL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.76 mm), **K:** 50 µL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **L:** Atık

(20) Karışımın bekletilmesi sırasında; taşıyıcı fazdaki iyodür, yağ numunesinde bulunan hidroperoksitler ile reaksiyona girmiş ve reaksiyon sonrasında analizi yapılan yağın PV değeriyle orantılı bir pik dedektörden gözlenmiştir.



Şekil 7.10. Otomatik Enjeksiyonlu PV Tayininde Kullanılan Modifiye HPLC Sisteminin Reaksiyon Sonrasındaki Konumu/Bağlantıları **A:** taşıyıcı/çözücü tablası, **B:** degaz ünitesi, **C:** karıştırıcı, **D:** quaternary pompa, **E:** otomatik enjeksiyon portu, **F:** termostatlı kolon fırını, **G:** 50 µL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **H:** 2-pozisyon, 6-portlu valf, **I:** UV dedektör, **İ-J:** 1 mL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.76 mm), **K:** 50 µL paslanmaz çelik loop (i.d. 0.51 mm), **L:** Atık

Dedektörde gözlenen pik şiddeti ve pik altında kalan alan; yağ numuneleri içerisinde bulunan PV değeri ile orantılı olup, numune içindeki PV miktarı arttıkça gözlenen pikin absorbansı da o oranda artmıştır.

Yağ numunelerinin PV değerleri tespit edilirken, aşağıdaki üç husus göz önünde bulundurulmuş, **(i)** ilk pikin yükseklik (h), yarı pik genişliği (w) ve altında kalan alan değerleri, **(ii)** ikinci pikin yükseklik (h), yarı pik genişliği (w) ve altında kalan alan değerleri, **(iii)** yukarıda belirtilen değerler yardımıyla hesaplanan ikinci pikin, ilk pikten çıkarılması ile elde edilen fark değeri.

Yapılan hesaplamalar doğrultusunda, ikinci pikten faydalanılarak elde edilen verilerin, PV değerleri bilinmeyen yağ numunelerinin PV değerlerinin tespit edilmesinde daha etkili olduğu görülmüş, bu sebeple; PV tayinine yönelik değerlendirme yapılırken, dedektörden gözlenen ikinci pikler dikkate alınmıştır.

7.3.1. Deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi

HPLC sisteminin PV deneylerine uygun biçimde modifiye edilmesinin ardından, deney parametreleri tespit edilmiş ve ayçiçek, mısır, soya ve kanola yağı numuneleri kullanılarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Deney parametrelerinin optimizasyonu için kullanılan standart yağların sahip olduğu PV değerlik aralıkları şöyledir:

- *ayçiçek yağı için*; ***PV=3.58 - 14.94*** meq O_2/kg yağ
- *mısır yağı için*; ***PV=3.35 - 18.06*** meq O_2/kg yağ
- *soya yağı;* ***PV=2.71 - 11.01*** meq O_2/kg yağ
- *kanola yağı;* ***PV=2.99 - 6.12*** meq O_2/kg yağ

Yukarıda PV aralık değerleri verilen yağlar kullanılarak gerçekleştirilen, otomatik enjeksiyonlu PV tayinlerinde optimize edilen parametreler ise;

- taşıyıcı faz akış hızı
- taşıyıcı faz cinsinin ve yüzdesinin etkisi
- numune ve reaktif hacmi etkisi
- reaktif yüzdesinin etkisi
- reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi
- reaksiyon süresi etkisi`dir.

7.3.1.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisinin incelenmesi

PV tayinleri üzerine akış hızı etkisinin incelendiği çalışmalarda; n propanolde çözülmüş farklı konsantrasyonlardaki NaI çözeltisi taşıyıcı faz olarak kullanılmış ve en az on tekrarla gerçekleştirilen akış hızı optimizasyon çalışmaları sonucunda, 3 mL/dk akış hızı değeri PV deneyleri için uygun bulunmuştur.

7.3.1.2. Taşıyıcı faz cinsinin ve yüzdesinin etkisinin incelenmesi

Taşıyıcı cinsinin etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda; n-propanol ve n-propanolde çözülmüş NaI çözeltileri taşıyıcı faz olarak kullanılmıştır. Taşıyıcı faz yüzdesi etkisinin incelendiği çalışmalarda ise; n-propanolde çözülmüş NaI`ün üç farklı yüzdede (%1; %2.5; %5) çözeltileri hazırlanmış ve NaI yüzdesinin PV tayini üzerine olan etkisi incelenmiştir.

7.3.1.3. Numune ve reaktif hacmi etkisinin incelenmesi

Numune ve reaktif hacminin minimum düzeye indirilmeye çalışıldığı çalışmalarda; reaktif/numune/reaktif şeklinde bir enjeksiyon gerçekleştirilmiş ve PV tayinleri için uygun reaktif/numune/reaktif oranı 30 µL/40 µL/30 µL olarak tespit edilmiştir.

7.3.1.4. Reaktif yüzdesinin etkisinin incelenmesi

Buzlu HAc çözeltisinin reaktif olarak kullanıldığı PV tayinlerinde; n-propanol içinde çözülerek, üç farklı yüzdede (***%25-%45-%60***) reaktif çözeltileri hazırlanmış ve PV tayininde kullanılan her bir yağ türü (ayçiçeği, mısır, soya, kanola) ile gerçekleştirilen analizler üzerine bu reaktiflerin etkileri incelenmiştir.

7.3.1.5. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisinin incelenmesi

PV tayininde meydana gelmesi istenilen reaksiyon oluşumu için en etkili reaksiyon hücresinin seçimine yönelik gerçekleştirilen çalışmalarda; farklı özellikte bir çok reaksiyon hücresinin PV tayini üzerine etkisi incelenmiş, deney şartları göz önünde bulundurularak 2 adet 1`er mL loop kullanımı uygun bulunmuştur[21].

7.3.1.6. Reaksiyon süresi etkisinin incelenmesi

Yağ analizleri arasında oldukça yavaş cereyan eden reaksiyonlardan birinin gerçekleştiği PV tayini deneylerinde; reaksiyon oluşumu için uygun sürenin tespiti için çalışmalar yürütülmüş ve bekletme süresi olarak 5dk`nın meydana gelmesi istenilen reaksiyonun oluşumu için yeterli olduğu tespit edilmiştir.

---

[21] Geliştirilen FIA yöntemi ile gerçekleştirilen yağ analizlerinin tek bir FIA sistemi üzerinde yürütülmesi düşünüldüğünden; PV tayinleri için kullanılan reaksiyon hücrelerinin sisteme adaptasyonu sırasında, sistemin diğer bağlantılarında herhangi bir değişiklik yapılmamıştır.

7.3.2. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen PV Çalışmaları

PV tayinleri için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları sonunda elde edilen optimum parametre değerleri kullanılarak, PV içeriği bilinmeyen ayçiçek, mısır, soya ve kanola yağı numuneleri için PV tayini çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca; PV değerleri bilinmeyen bu yağ numuneleri, standart metotlar kullanılarak da analiz edilmiş, elde edilen PV değerleri, FIA ve standart metotların karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

7.4. Anisidin Sayısı (AV) Tayini

Mısır, ayçiçek, soya ve kanola yağları kullanılarak gerçekleştirilen otomatik enjeksiyonlu AV tayinlerinde, PV tayini için modifiye edilen HPLC sistemi kullanılmış, deney parametrelerinin belirlenmesinin ardından, optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. FIA metodunun AV tayinleri için kullanılabilirliğini kanıtlamak amacıyla validasyon çalışmaları yürütülmüş ve istatistiksel hesaplamalar kullanılarak AV tayini için, FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırması yapılmıştır.

***Standart metot ile AV tayinleri*;** AOCS Cd-18-90 metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yağlardaki ikincil bozunma ürünlerinden olan aldehitlerin (prensip olarak 2-alkenaller ve 2, 4-dienaller) miktarını tayin etmek amacıyla gerçekleştirilen deneylerde kullanılan metoda göre anisidin sayısı (AV) değeri; uygun reaktif ve çözücü karışımında 1.00 g yağ içeren bir çözeltinin, 1 cm`lik bir küvette 350 nm`deki optik yoğunluğunun 100 katı olarak tarif edilmiştir (100 mL`lik metoda göre).

Standart metotlar kullanılarak en az on tekrarla gerçekleştirilen analizlerden AV değerleri belirlenen yağlar, FIA deneylerinde kullanılmıştır (STD<0.05).

✦ ***AOCS Cd-18-90 metoduna göre AV Prosedürü:***

Reaktifler:

izo-oktan (2,2,4-trimetilpentan)
Buzlu asetik asit (spektrofotometrik saflıkta)
% 1 lik nişasta çözeltisi
p-anisidin çözeltisi (0.25 g p-anisidinin/100 mL buzlu asetik asit)

Not: Standart metot ile AV tayinlerinde kullanılan p-anisidin, depolama sırasında oksidasyon sonucu kararma eğilimi gösteren bir maddedir. Bu sebeple; p-anisidin maddesi kullanılacağında rengi kontrol edilir ve saf haldeki krem rengini muhafaza etmiyorsa saflaştırılır. Saf haldeki p-anisidin kristalleri 0-4^{o}C arasında, karanlık bir yerde depolanmalıdır. Kristaller şiddetli ışığa maruz bırakılmamalı ve herhangi bir renk değişikliği olmadan kullanılmalıdır.

p-anisidinin Saflaştırılması:

4.0 g p-anisidin 75 °C`de 100 mL suda çözülmüş, ardından 0.2 g sodyum sülfit ve 2.0 g aktif karbon ilave edilerek, aynı sıcaklıkta 5 dk boyunca karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin ardından, elde edilen çözelti adi süzgeç kağıdından süzülmüştür. Süzüntü yaklaşık 0^oC'ye soğutulmuş ve bu sıcaklıkta bir gece boyunca beklemeye bırakılmıştır. Bekleme işlemi sonucunda elde edilen p-anisidin kristalleri, az miktarda saf suyla 0°C`de yıkanmış ve vakumlu etüvde kurutulduktan sonra, renkli bir cam şişeye konulmuştur. Saflaştırılan p-anisidin kristalleri, karanlıkta ve düşük bir sıcaklıkta (0-4^oC) saklamaya bırakılmıştır[22].

Deneyin Yapılışı:

Hava ile teması önlenen numuneden 0.5-4.0 g numune 0.001 hassaslıkta tartılmış ve izo-oktanda çözülerek, hacim 25 mL`ye tamamlanmıştır[23]. UV-vis spektrofotometrede gerçekleştirilen analizlerde; referans hücresine blank olarak çözücü (izo-oktan) konulmuş ve 350 nm`deki absorbansı (Ab) ölçülmüştür. İki adet test tüpü alınmış ve bir tanesine 5 ml yağ çözeltisi, diğerine ise 5 ml çözücü konulmuş ve her iki tüpe de tam 1 ml p-anisidin[24] reaktifi ilave edilerek, karıştırılmıştır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için 10 dk beklenmiş ve çözücü-p-anisidin karışımını içeren çözelti referans hücresi bölmesine konarak yağ çözeltisi-p-anisidin içeren çözeltinin 350 nm`deki absorbansı (As) ölçülmüştür. İki ölçüm arasındaki farktan faydalanarak yağ numunesindeki AV değeri aşağıdaki formülden hesaplanmıştır:

$$\mathbf{AV = \frac{25 \times (1.2A_s - A_b)}{m}}$$

A_s: yağ çözeltisinin p-anisidin ile reaksiyonundan sonraki absorbansı

A_b: çözücünün absorbansı

m: numune ağırlığı

Otomatik enjeksiyonlu anisidin sayısı (AV) tayinlerinde, bir önceki kısımda bahsedilen otomatik enjeksiyonlu PV tayinlerinde kullanılan FIA sistem bağlantıları ve rekasiyon hücreleri kullanılmıştır (***bkz. Şekil 7.9.*** ve ***Şekil 7.10.).***

---

(22) 350 nm`de blank olarak izo oktan veya n-hekzana karşı ölçülen absorbansı 0.2`den büyük olan p-anisidin çözeltileri reaktif olarak kullanılmamalıdır.

(23) AV tayininde kullanılan yağ numunesi tamamen berrak ve kuru olmalıdır.

(24) Aromatik bir amin olan p-anisidin yakıcıdır, bu sebeple kullanırken dikkatli olunmalı ve bir çeker ocak altında çalışılmalıdır. Ayrıca; p-anisidin, toksik ve kanserojenik kimyasallar sınıfındandır.

Otomatik enjeksiyonlu AV tayinleri için FIA prosedürü;

FIA ile AV tayininde; n-propanol taşıyıcı faz olarak, buzlu asetik asitte çözülmüş farklı yüzdelerdeki p-anisidin çözeltileri ise reaktif olarak kullanılmış ve reaktif/numune/reaktif şeklinde enjeksiyon gerçekleştirilmiştir. Ayçiçeği, mısır, soya, kanola ve yer fıstığı yağlarının kullanıldığı, otomatik enjeksiyonlu deneylerde; enjeksiyonlar mikro litre mertebesinde yapılmış ve numune herhangi bir ön işleme tabi tutulmamıştır.

FIA ile AV tayinleri için uygulanan prosedür, FIA ile PV tayinleri için uygulanan prosedüre oldukça benzemektedir. Dolayısıyla; sürekli akmakta olan taşıyıcı faz içine enjeksiyonu gerçekleştirilen reaktif/numune/reaktif karışımı; reaksiyon oluşumundan önce dedektörden geçirilmiş ve yavaş cereyan eden reaksiyonun (PV tayininde olduğu gibi) oluşması için dedektörün hemen çıkışına adapte edilen reaksiyon hücresinde belli bir süre bekletilmiştir. Reaksiyon oluşumu tamamlandıktan sonra ise, ters akım uygulanarak, karışımın tekrar dedektörden geçirilmiştir. Karışımın dedektörden iki kez geçirilmesi sebebiyle, enjekte edilen her bir yağ numunesi için iki farklı pik gözlenmiştir.

7.4.1. AV tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi

HPLC sisteminin AV deneylerine uygun biçimde modifiye edilmesinin ardından, deney parametreleri tespit edilmiş ve ayçiçek, mısır, soya, kanola ve yer fıstığı yağı numuneleri kullanılarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Deney parametrelerinin optimizasyonu için kullanılan standart yağların sahip olduğu AV değerlik aralıkları şöyledir:

- *ayçiçek yağı için*; AV=*6.60 - 3.63*
- *mısır yağı için*; AV =*7.15 - 7.82*
- *soya yağı;* AV =*3.00 - 2.63*
- *kanola yağı;* AV =*2.76 - 3.73*
- *yer fıstığı yağı;* AV =*2.76 - 3.73*

Yukarıda AV aralık değerleri verilen yağlar kullanılarak gerçekleştirilen, otomatik enjeksiyonlu AV tayinlerinde optimize edilen parametreler ise;

- ✦ taşıyıcı faz akış hızı
- ✦ taşıyıcı faz cinsinin etkisi
- ✦ numune ve reaktif hacmi etkisi
- ✦ reaktif konsantrasyonu etkisi
- ✦ reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi
- ✦ reaksiyon süresi etkisi`dir[25].

7.4.1.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisinin incelenmesi

AV tayinleri üzerine akış hızı etkisinin incelendiği çalışmalarda; n propanol ve izo propanol taşıyıcı faz olarak kullanılmış ve en az on tekrarla gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda; 3.0 mL/dk akış hızı değeri FIA deneylerinde kullanılmak üzere uygun bulunmuştur.

7.4.1.2. Taşıyıcı faz cinsinin etkisinin incelenmesi

Taşıyıcı faz cinsinin etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda; n-propanol ve izo-propanol taşıyıcı faz olarak denenmiş ve PV tayinlerinde n-propanol kullanılmıştır.

7.4.1.3. Numune ve reaktif hacmi etkisinin incelenmesi

Buzlu asetik asitte çözülmüş p-anisidin çözeltisinin reaktif olarak kullanıldığı AV tayini çalışmalarında; numune ve reaktif hacmi minimum düzeye indirilmeye çalışılmıştır. FIA ile yapılan diğer yağ analizlerinde olduğu gibi, reaktif/numune/reaktif şeklinde bir enjeksiyonun gerçekleştirildiği deneylerde, reaktif hacmi 30 µL`de sabit tutulmuş, numune hacmi ise 1, 3, 5, 7 µL olarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Denemeler sonucunda; uygun reaktif/numune/reaktif oranı 30 µL/40 µL/30 µL olarak belirlenmiştir.

7.4.1.4. Reaktif konsantrasyonu etkisinin incelenmesi

Buzlu asetik asitte çözülmüş p-anisidin çözeltisinin reaktif olarak kullanıldığı AV tayini çalışmalarında; üç farklı konsantrasyonda ***(0.3 M - 0.5 M - 0.8 M)*** reaktif

---

[25] FIA ile gerçekleştirilen AV tayinleri için sıcaklık çalışmaları gerçekleştirilmemiş, %FFA tayini için yürütülen sıcaklık çalışmalarından tespit edilen sıcaklık değeri (40°C), AV tayinlerinde de kullanılmıştır.

çözeltileri hazırlanmış ve bu reaktiflerin, AV tayini üzerine etkileri incelenmiştir.

7.4.1.5. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisinin incelenmesi

AV tayininde meydana gelmesi istenilen reaksiyon oluşumunu en etkili biçimde sağlayacak reaksiyon hücresinin seçimine yönelik gerçekleştirilen çalışmalarda; farklı özellikte bir çok reaksiyon hücresinin AV tayini üzerine etkisi, deney şartları göz önünde bulundurularak incelenmeye çalışılmıştır

7.4.1.6. Reaksiyon süresi etkisinin incelenmesi

Yağ analizleri arasında oldukça yavaş cereyan eden reaksiyonlardan birinin gerçekleştiği PV tayini deneylerinde; reaksiyon oluşumu için uygun sürenin tespiti için çalışmalar yürütülmüş, 3dk-5dk-10dk bekletme sürelerinin reaksiyon oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir.

7.4.2. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen AV Çalışmaları

AV tayinleri için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları sonunda elde edilen optimum parametre değerleri kullanılarak (taşıyıcı faz: n-propanol, reaktif: buzlu HAc`de çözülmüş 0.3 M p-anisidin çözetisi, enjeksiyon şekli: 30 µL/40 µL/30 µL, sıcaklık:40°C ve bekletme süresi: 5 dk) AV içeriği bilinmeyen ayçiçek, mısır, soya, kanola ve yer fıstığı yağı numuneleri için AV tayini çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca; AV değerleri bilinmeyen bu yağ numuneleri, standart metotlar kullanılarak da analiz edilmiş, elde edilen AV değerleri, FIA ve standart metotların karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

7.5. %FFA PV ve AV Tayinleri için FIA Metodunun Valide Edilmesi

Yağ analizlerinden; %FFA, PV ve AV tayinleri için geliştirilen/otomatikleştirilen FIA metotlarının, belirlenen amaca uygunluğunu belirlemek amacıyla; *kesinlik*, *doğruluk*, *lineer bölge* ve *ölçüm aralığı*, *tayin limiti* (LOD), *ölçüm limiti* (LOQ), *seçicilik/spesifik olma* ve *sağlamlık* gibi parametreler incelenerek, metotların validasyonu sağlanmıştır.

7.6. %FFA PV ve AV Tayinleri için FIA Metotlarının Standart Metotlarla Karşılaştırılması

Yemeklik yağlardaki %FFA, PV ve AV tayinleri için geliştirilen otomatikleştirilmiş FIA metotlarının performansını ve kullanılabilirliğini tam olarak kanıtlayabilmek amacıyla; belirtilen tayinlerinden elde edilen veriler, standart metotlardan elde edilen verilerle karşılaştırılarak, kullanımı önerilen FIA metotlarının kullanılabilirliği incelenmiştir.

Metotların karşılaştırmasında; öncelikle verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov Testi kullanılarak incelenmiş, numune sayısı çok fazla olmamasına rağmen; FIA ile her bir yağ analizi için elde edilen verilerin normal bir dağılım sergilediği görülmüştür. Metotlardan elde edilen veri gruplarının ortalama değerleri ($\overline{x}$) karşılaştırılarak t testi, veri gruplarının varyans değerleri (s^2) karşılaştırılarak da F testleri gerçekleştirilmiştir. Null ve alternatif hipotezler doğrultusunda yapılan testler; %95 güven seviyesinde (p=0.05), çift taraflı olarak gerçekleştirilmiş, *hesaplanan t ve F değerleri*, *kritik t ve F değerleri* ile karşılaştırılmıştır.

8. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

8.1. Bitkisel Yağlar Üzerinde Gerçekleştirilen Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Yemeklik yağların özelliklerinin belirlenmesi ve kalite-kontrollerinin sağlanması amacıyla birçok analiz gerçekleşmektedir.

FIA yönteminin bazı yağ analizleri için geliştirilmesini amaçlayan bu çalışmada; çalışma kapsamında yer almamasına rağmen, tayinlerde kullanılan yağların genel özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak, böylece tayinlerde elde edilen sonuçları daha iyi yorumlayabilmek amacıyla, önemli görülen bazı yağ analizleri ayçiçeği, mısır, soya, kanola, yer fıstığı yağları üzerinde gerçekleştirilmiştir. AOCS, TSE tarafından standartlaştırılan metotların kullanıldığı analiz şartları ***Bölüm 7***`de detaylı bir şekilde verilmiştir.

Çalışmada kullanılan yağ numunelerinin bazı fiziksel özelliklerini belirlemek amacıyla *özgül absorbans tayini* gerçekleştirilmiş, ayrıca; deneylerde kullanılan yağların birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri hakkında genel bir yargıya varılmıştır. Çalışmada kullanılan yağ cinslerinin özgül absorbanslarını belirlemede; 232 nm ve 270 nm dalga boyu değerlerinde ölçülen absorbans değerlerinin yanı sıra 266 nm ve 274 nm (270 ± 4) dalga boyu değerlerinde ölçülen absorbans değerlerinden de faydalanılmış ve deneysel kısımda da belirtilen aşağıdaki formül kullanılarak özgül absorbanstaki değişim (ΔE) değerleri tespit edilmiştir. Özgül absorbans tayinlerinden elde edilen veriler ***Tablo 8.1.***`de yer almaktadır[26].

Çalışmada kullanılan yağ numunelerinin kimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla yağ asit kompozisyonu (FAME) tayini de gerçekleştirilmiştir. Yağ asit kompozisyon (FAME) tayini çalışmaları; deneylerde kullanılan ayçiçek, mısır, soya, kanola ve yer fıstığı yağlarının ham ve rafine türleri için, GC-FID cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve her bir yağın ham ve rafine türleri için yüzde yağ asidi kompozisyonları birbirine yakın düzeyde tespit edilmiştir. Yağ asit kompozisyonu tayini çalışmalarından; rafine türdeki yağlar için elde edilen kromatogramlar ***Şekil 8.1.-Şekil 8.5.*** arasında, rafine ve ham türdeki yağlar için tespit edilen yağ asidi dağılımları ise ***Tablo 8.3.***`de özetlenmiştir.

---

[26] Özgül absorbans tayinlerinde kullanılan yağ çözeltileri, yaklaşık 1.0 g yağın 100 mL`ye seyreltilmesi ile hazırlanmıştır.

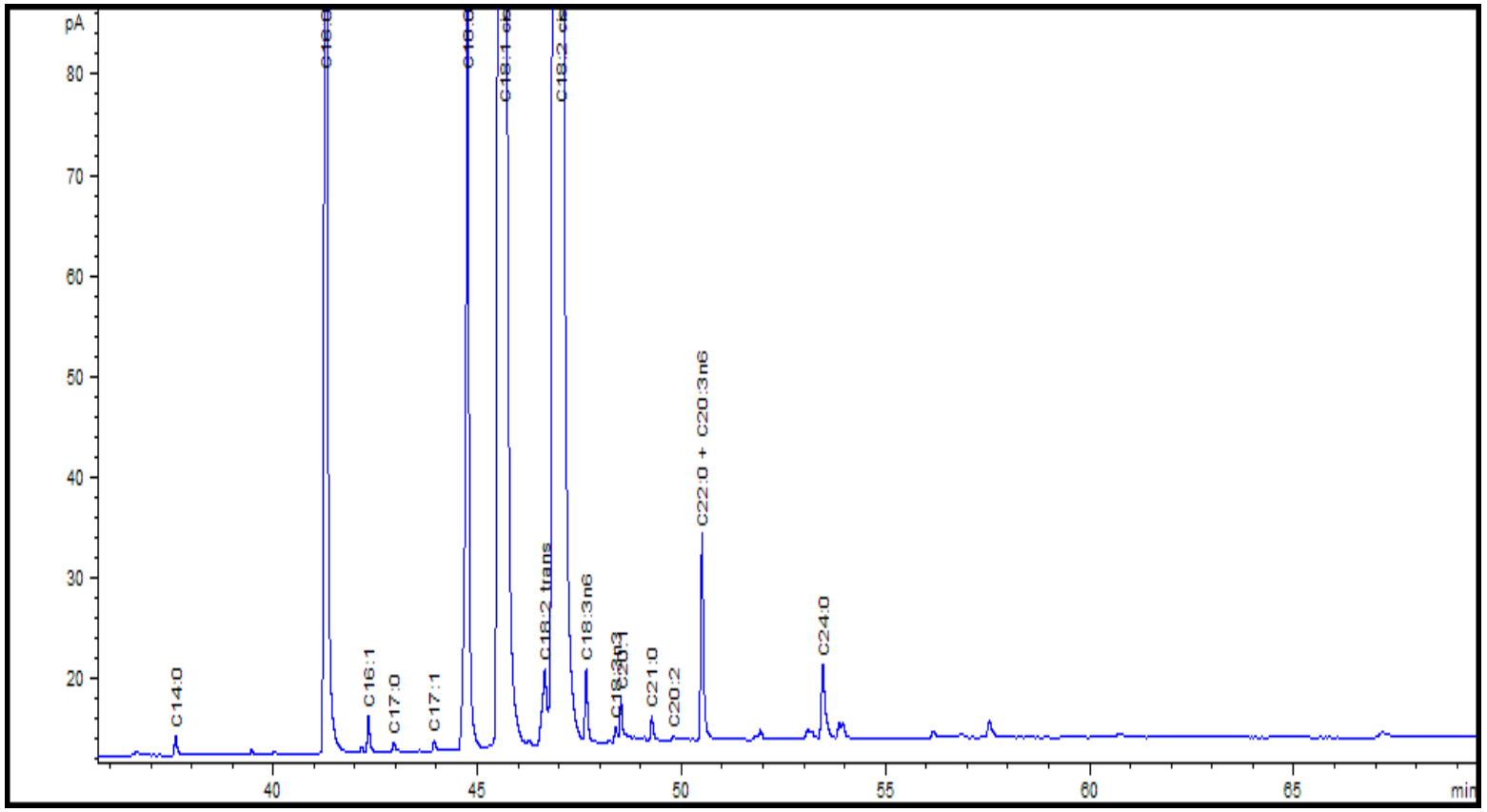
Tablo 8.1. Çalışmada Kullanılan Yağ Cinslerinin Özgül Absorbans Tayinleri Sonucunda Elde Edilen Veriler

Yağlar		Özgül Absorbans (Eλm)		Eλm-4 (266 nm)	Eλm+4 (274 nm)	ΔE
		232 nm	270 nm			
Ayçiçek	AYC - 1	2.37	1.79	1.77	1.32	0.24
	AYC - 2	2.61	1.05	0.98	0.81	0.16
	AYC - 3	2.52	1.17	1.08	0.89	0.18
	AYC - 4	2.74	0.59	0.57	0.48	0.07
	AYC - 5	2.94	0.33	0.32	0.29	0.02
Mısır	MSR - 1	1.49	1.43	1.32	1.16	0.19
	MSR - 2	1.58	1.33	1.23	1.09	0.17
	MSR - 3	1.49	1.09	1.01	0.91	0.13
	MSR - 4	1.41	0.84	0.78	0.71	0.09
	MSR - 5	1.46	1.22	0.50	0.49	0.72
Soya	SOYA - 1	1.86	0.69	0.68	0.53	0.09
	SOYA - 2	1.89	0.61	0.60	0.48	0.07
	SOYA - 3	1.85	0.50	0.48	0.39	0.06
	SOYA - 4	1.88	0.46	0.45	0.38	0.04
	SOYA - 5	1.69	0.23	0.22	0.21	0.01
Kanola	KANOLA - 1	1.54	0.37	0.39	0.31	0.02
	KANOLA - 2	1.72	0.39	0.41	0.33	0.02
	KANOLA - 3	1.93	0.44	0.43	0.36	0.04
	KANOLA - 4	2.23	0.67	0.48	0.41	0.22
Yer Fıstığı	YER FISTIĞI - 1	1.62	0.90	0.84	0.68	0.14
	YER FISTIĞI - 2	1.84	0.86	0.81	0.67	0.13
	YER FISTIĞI - 3	1.99	0.78	0.73	0.61	0.11
	YER FISTIĞI - 4	2.01	0.66	0.62	0.54	0.08

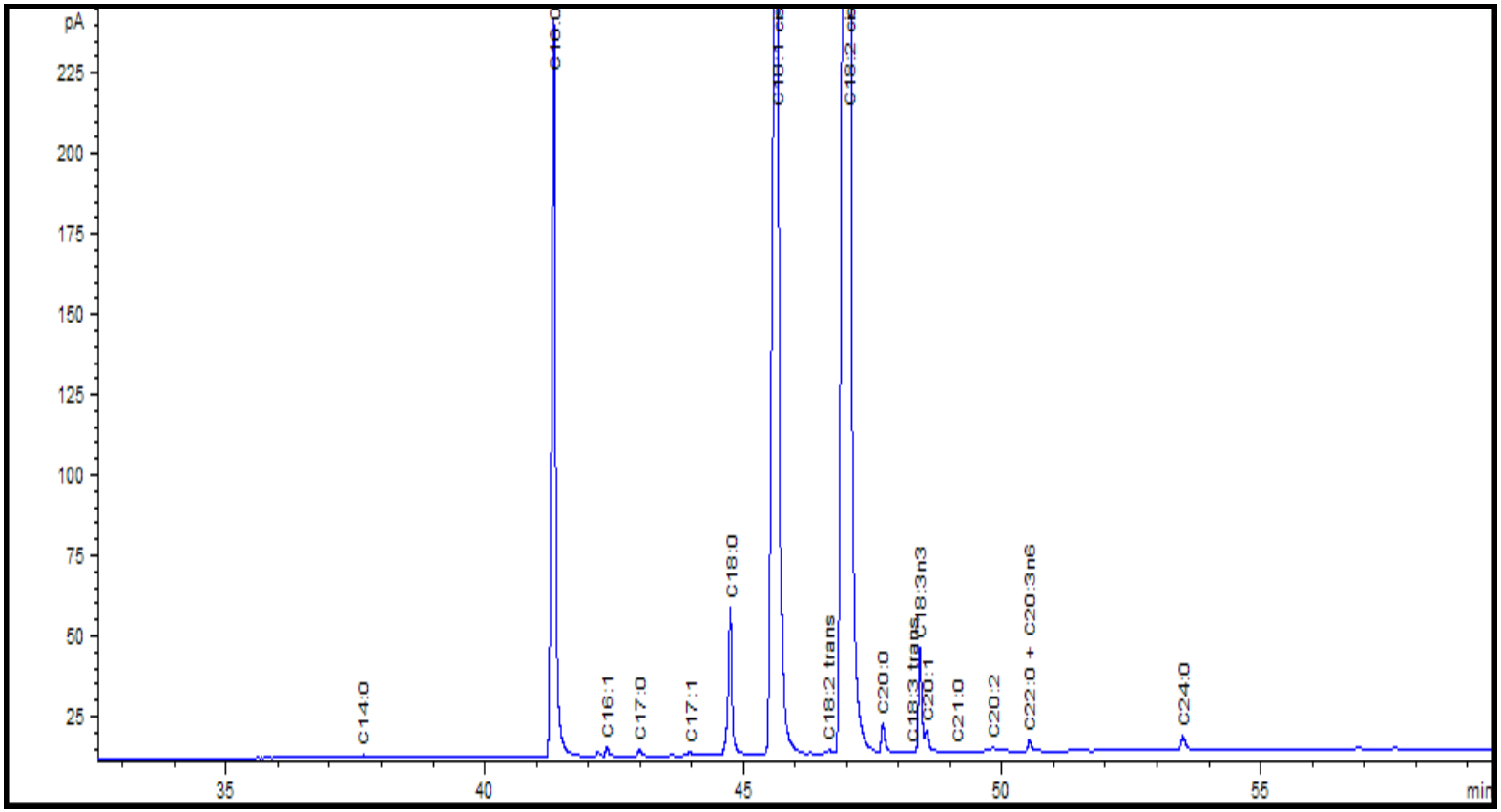
*m: Absorbans şiddetinin ölçüldüğü dalga boyu değeri

Tablo 8.2. Özgül Absorbans Tayinlerinde Kullanılan Yağ Numunelerinin Kütleleri

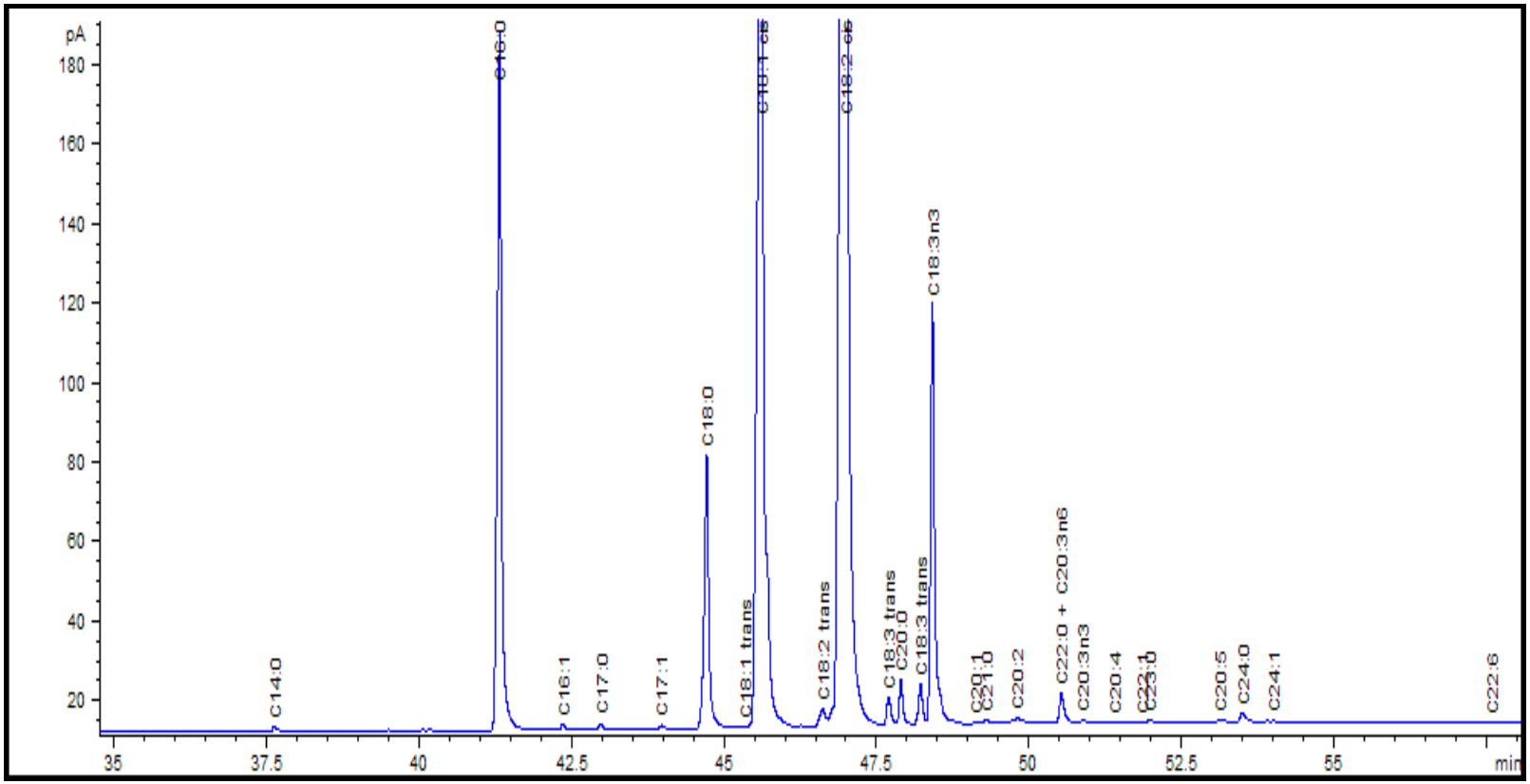
Yağ Numune Ağırlıkları (g)						
	No	**Ayçiçek**	**Mısır**	**Soya**	**Kanola**	**Yer fıstığı**
	1	1.1537	1.2465	1.0685	1.0838	1.3087
	2	1.2007	1.1531	1.0914	1.1143	1.2779
	3	1.1586	1.0376	1.0535	1.1390	1.0621
	4	1.0229	1.0083	0.9844	0.9302	1.0548
	5	1.0225	1.0952	1.0018	-	-



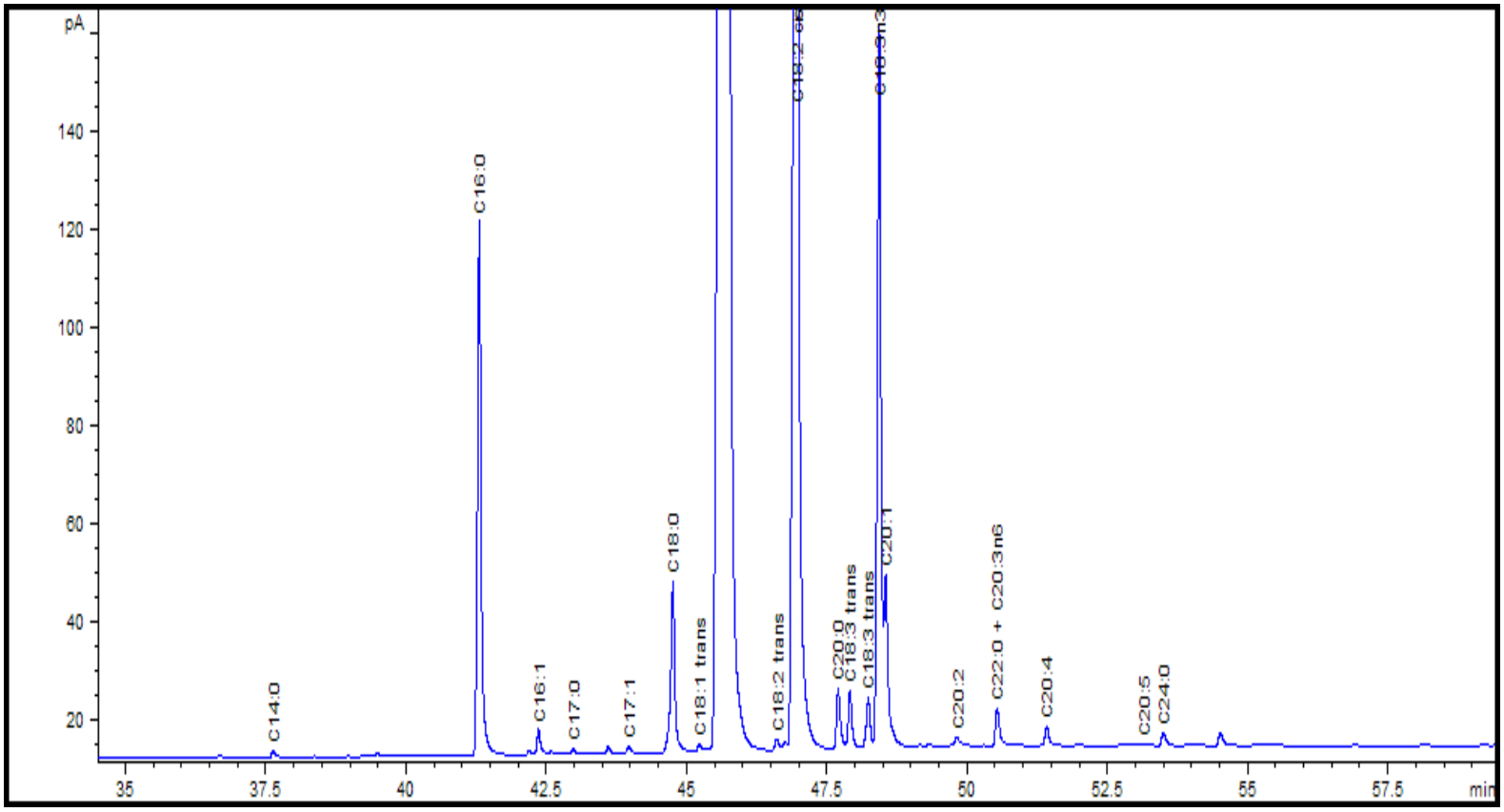
Şekil 8.1. Rafine Ayçiçek Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram



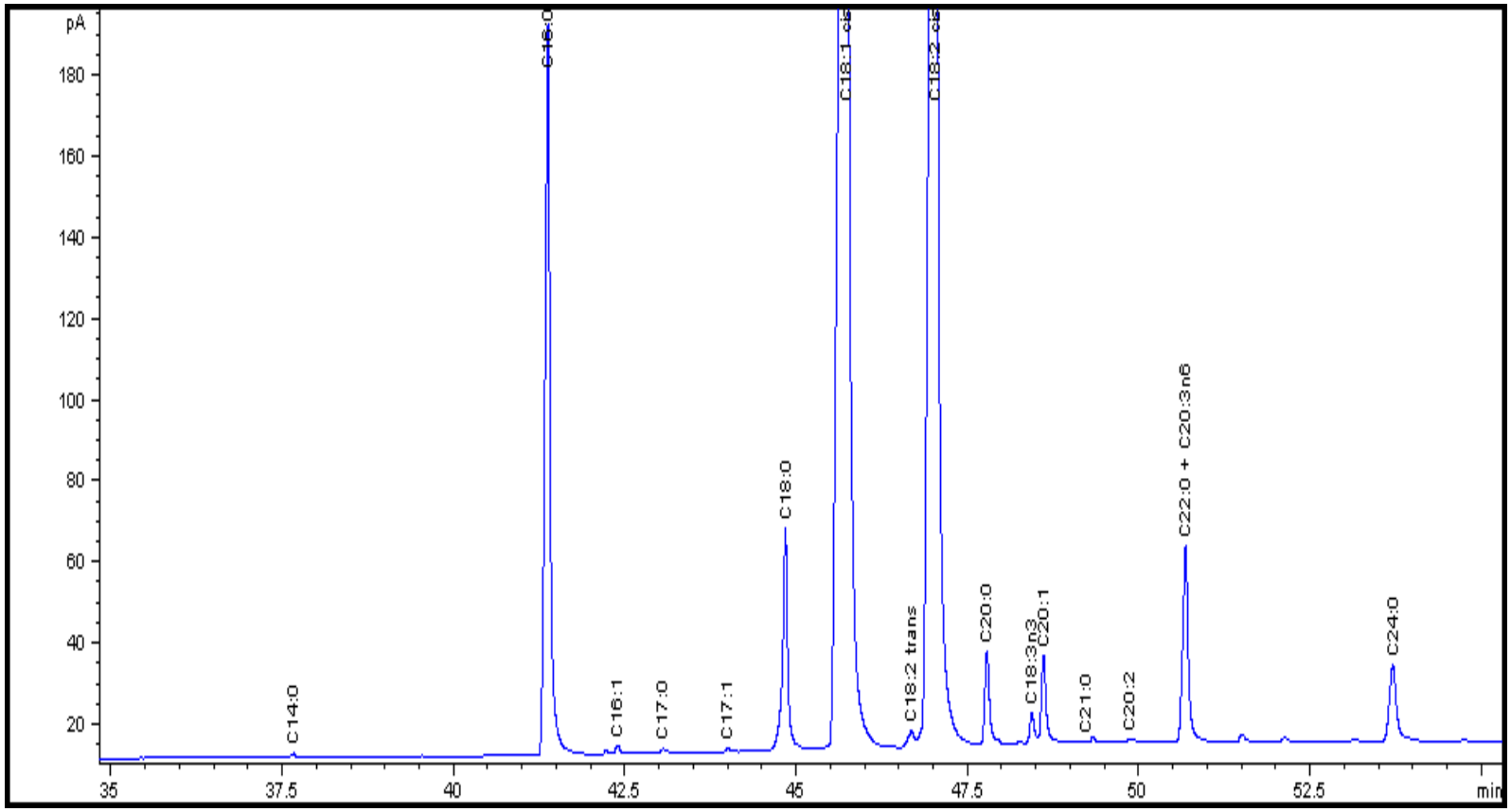
Şekil 8.2. Rafine Mısır Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram



Şekil 8.3. Rafine Soya Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram



Şekil 8.4. Rafine Kanola Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram



Şekil 8.5. Rafine Yer Fıstığı Yağı için Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Analizinden Elde edilen Kromatogram

Tablo 8.3. Çalışmada Kullanılan Yağlar için HKARA Metodu ile Gerçekleştirilen Yağ Asit Kompozisyonu Çalışmalarından Elde Edilen Yağ Asit Dağılımları (%)

Yağ Asit Kompozisyonu	Ham Ayçiçek	Rafine Ayçiçek	TGK [27] Ayçiçek Yağı	Ham Soya	Rafine Soya	TGK Soya Yağı	Ham Mısır	Rafine Mısır	TGK Mısır Yağı	Ham Kanola	Rafine Kanola	TGK Kanola Yağı (düşük erusik asitli)	Ham Yer Fıstığı	Rafine Yer Fıstığı	TGK Yer Fıstığı Yağı
C 14:0	0.07	0.07	-	0.07	0.07	-	0.04	0.04	-	0.05	0.05	-	0.07	0.05	
C 16:0	6.66	6.25	5.0-7.6	10.76	10.43	8.0-13.5	11.00	11.05	8.6-16.5	4.85	4.81	2.5-7.0	8.92	9.00	8.0-14.0
C 16:1	0.13	0.12	-	0.08	0.08	-	0.15	0.11	-	0.22	0.21	-	0.10	0.10	
C17:0	0.04	0.04	-	0.09	0.09	-	0.08	0.08	-	0.05	0.04	-	0.06	0.06	
C17:1	0.03	0.03	-	0.06	0.06	-	0.05	0.04	-	0.07	0.07	-	0.04	0.04	
C 18:0	3.69	3.55	2.7-6.5	4.32	4.43	2.0-5.4	2.25	2.24	-	1.85	1.78	0.8-3.0	3.67	3.00	1.0-4.5
C 18:1 (trans)	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.06	0.09	-	-	-	
C 18:1	27.34	29.61	14.0-39.4	22.57	22.94	17.0-30.0	26.23	26.22	20.0-42.2	60.12	59.71	51.0-70.0	42.60	42.00	35.0-69.0
C 18:2 (trans)	0.06	0.46	-	0.05	0.37	-	-	0.07	-	0.07	0.21	-	0.05	0.25	
C 18:2	59.15	58.13	48.3-74.0	53.11	52.42	48.0-59.0	57.56	57.51	34.0-65.6	22.01	21.89	15.0-30.0	37.40	38.00	12.0-43.0
C 18:3	0.11	0.06	-	7.67	6.44	4.5-11.0	1.32	1.32	-	7.12	6.47	5.0-14.0	0.35	0.34	
C 18:3 (trans)	-	-	-	0.05	1.31	-	-	0.01	-	0.12	1.01	-	-	-	
C 20:0	0.31	0.28	0.1-0.5	0.40	0.46	0.1-0.6	0.43	0.43	0.3-1.0	0.55	0.59	0.2-1.2	1.42	1.17	1.0-2.0
C 20:1	0.18	0.18	-	0.04	0.10	-	0.38	0.35	0.2-0.6	1.40	1.88	0.1-4.3	0.79	1.08	0.7-1.7
C 20:2	0.01	0.01	-	0.05	0.03	-	0.10	0.12	-	0.25	0.24	-	0.10	0.05	
C 22:0	0.77	0.76	0.5-1.1	0.30	0.31	-	0.15	0.16	-	0.50	0.43	-	1.77	2.74	1.5-4.5
C 22:1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.42	0.32	-	-	-	
C 24:0	0.62	0.39	0.5	0.35	0.40	0.5	0.25	0.25	-	0.27	0.16	-	1.10	1.45	0.5-2.5

[27] Yağ asit kompozisyonları incelenen yemeklik yağlar için elde edilen verileri standart değerlerle karşılaştırmak amacıyla, Türk Gıda Kodeksi (TGK) Yönetmeliği`nde yer alan değerler de tabloya ilave edilmiştir (yönetmelikte, ≤ 0.6 olan değerler tespit edilemeyen değer olarak verilmiştir).

8.2. Spektrofotometrik Analizler

FIA denylerinde hem uygun dalga boyu değerlerinin tespit edilmesi hem de deneylerde kullanılan yağ numunelerinin oksidasyon dereceleri hakkında bilgi edinilmesi amacıyla, UV-vis spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uygun dalga boyu değerlerinin belirlenmesi için her bir yağ analizinde (%FFA, PV, AV) kullanılan çözücü/reaktif türleri esas alınarak UV dedektör ile de spektrum taramaları yapılmıştır.

✦ ***Uygun dalga boyu seçimi;*** FIA ile yağ analizlerinin geliştirilmesi sırasında dedektör olarak UV ve DAD dedektörler kullanılmıştır. Üç boyutlu tarama yapabilen ve 190-950 nm dalga boyu aralığında çalışabilme özelliğine sahip olan DAD dedektör kullanıldığı zamanlarda, uygun dalga boyunu belirlemek son derece kolay olmuştur. Fakat; UV dedektör ile çalışıldığında, dalga boyu seçimi çok daha önemli bir hale gelmiştir.

FIA ile %FFA tayinlerinde kullanılan UV dedektör, 190-600 nm dalga boyu aralığında çalışabildiği ve görünür bölgede tam olarak etkinlik göstermediği için; uygun dalga boyu seçimlerinde, UV-vis spektrofotometreden alınan direk ölçümleri kullanmanın çok doğru olmayacağı sonucuna varılmış, bu sebeple; dalga boyu seçimlerinde, UV-vis spektrofotometre ve UV dedektörden elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirilmiştir.

UV-vis spektrofotometre ve UV dedektör ile gerçekleştirilen spektrum taramaları sonucunda, kullanılan kimyasal madde ve çözücülerle girişimin söz konusu olmadığı, en yüksek absorbansa sahip dalga boyu değeri tercih edilmiştir.

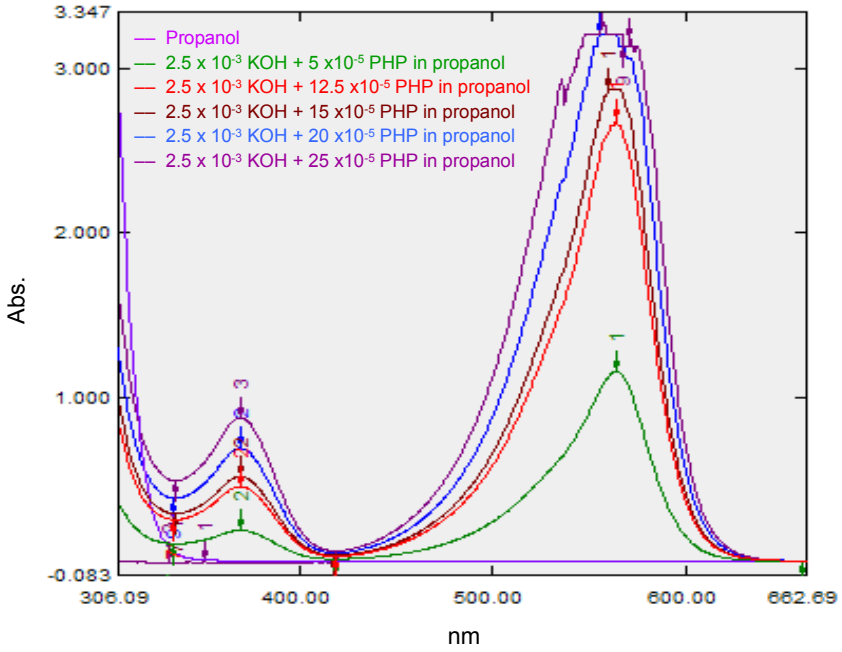
Her iki ölçümden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; UV dedektör ve UV-vis spektrofotometreden tespit edilen dalga boyu değerlerinin aynı olmadığı görülmüş ve FIA deneyleri UV dedektör kullanılarak gerçekleştirileceği için, tayinlerde UV dedektörden tespit edilen dalga boyu değeri kullanılmıştır.

FIA ile %FFA tayinleri için uygun dalga boyu tespitinde; deneylerde reaktif olarak kullanılan KOH ve indikatör olarak kullanılan PHP ve BTB`nin farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış ve spektrum taramaları

gerçekleştirilmiştir. İndikatörler, taşıyıcı faz olarak kullanılacak çözücü olan n-propanol içinde çözülerek hazırlanmıştır.

Tablo 8.4. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

PHP indikatörü % FFA Tayini	
	2.5×10^{-3} M KOH + 5.0×10^{-5} M PHP
	2.5×10^{-3} M KOH + 12.5×10^{-5} M PHP
	2.5×10^{-3} M KOH + 15.0×10^{-5} M PHP
	2.5×10^{-3} M KOH + 20.0×10^{-5} M PHP
	2.5×10^{-3} M KOH + 25.0×10^{-5} M PHP

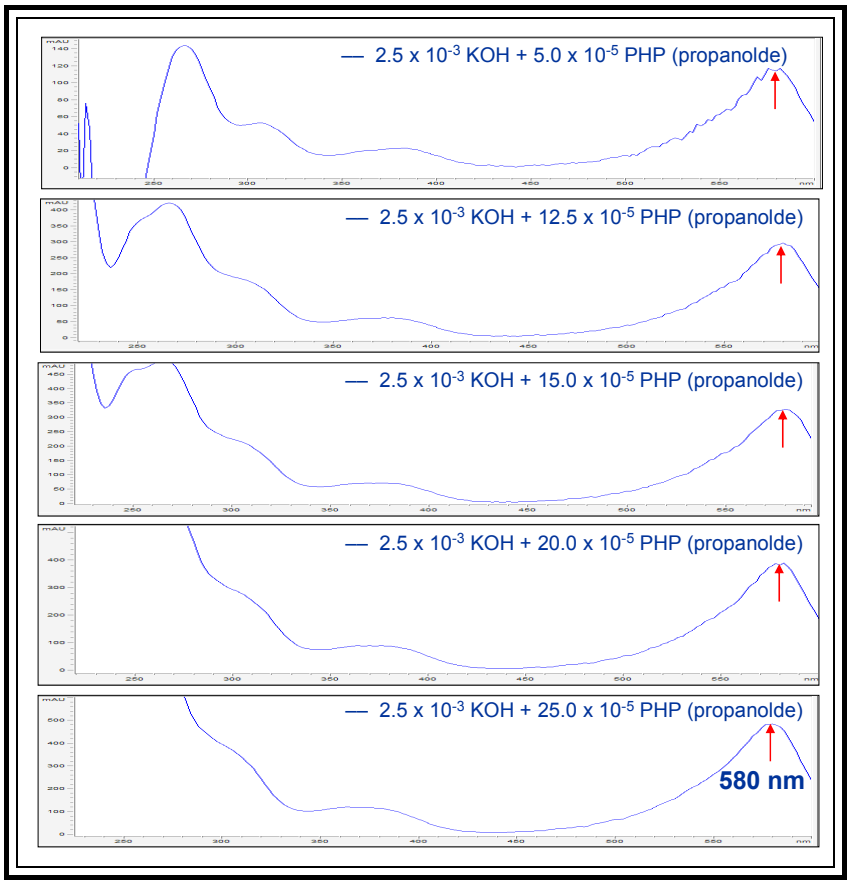


No	P/V	Dalga boyu (nm)	Absorbans (A)
1	↑	564.00	1.156
2	↑	369.50	0.190
3	↑	253.00	1.042
4	↑	209,50	2,550

Şekil 8.6. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun UV-vis Spektrofotometre ile Belirlenmesi

Şekil 8.6. ve ***Şekil 8.7.***`den görüldüğü üzere; UV-vis spektrofotometre ve UV dedektör ile alınan ölçümler, uygun dalga boyu değeri olarak aynı değeri

göstermemektedirler. Bu sebeple; UV dedektörden elde edilen 580 nm dalga boyu değerinde gerçekleştirilmesinin uygun olduğu sonucuna varılmıştır[28].

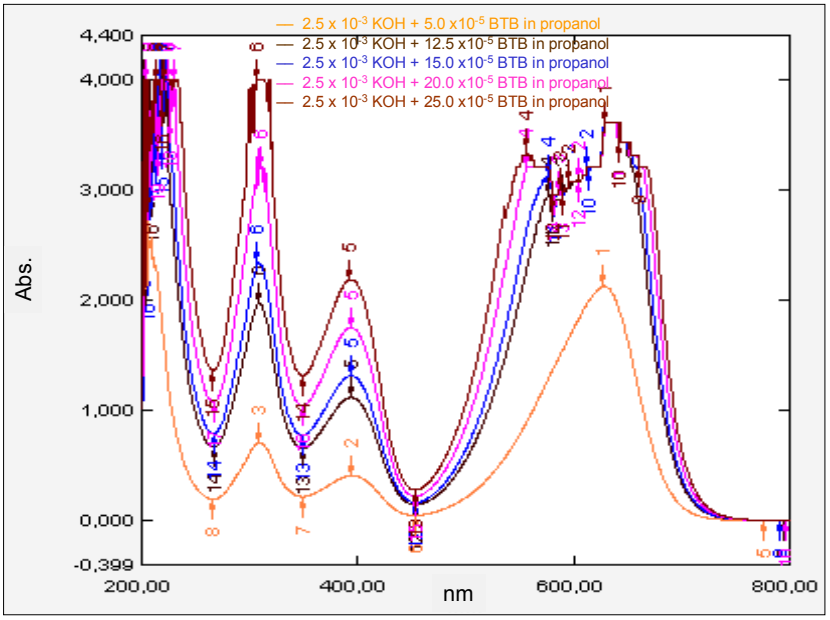


Şekil 8.7. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun UV Dedektör ile Belirlenmesi

Tablo 8.5. BTB İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

BTB indikatörü %FFA Tayini	
	2.5×10^{-3} M KOH + 5.0×10^{-5} M BTB
	2.5×10^{-3} M KOH + 12.5×10^{-5} M BTB
	2.5×10^{-3} M KOH + 15.0×10^{-5} M BTB
	2.5×10^{-3} M KOH + 20.0×10^{-5} M BTB
	2.5×10^{-3} M KOH + 25.0×10^{-5} M BTB

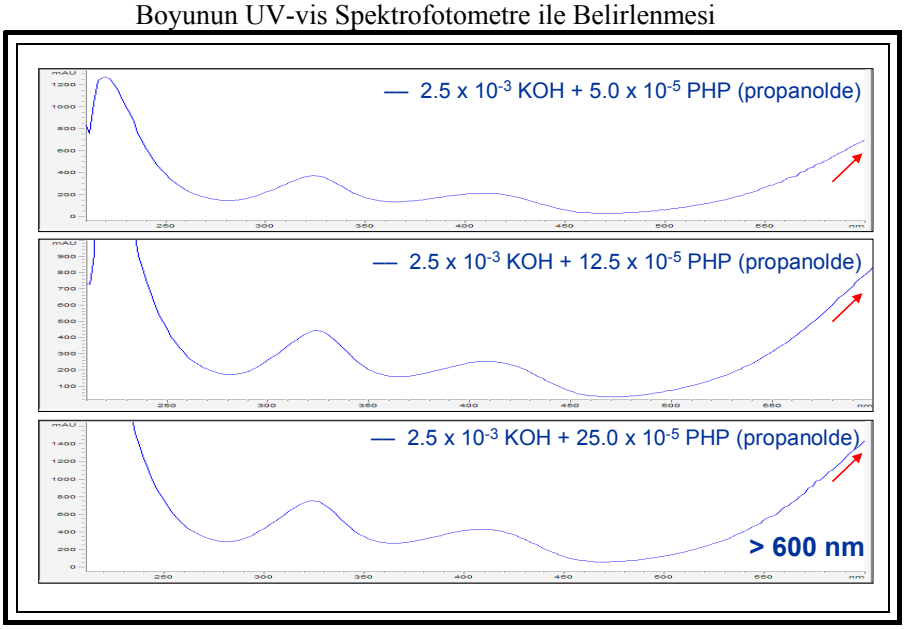
(28) DAD dedektör ile gerçekleştirilen %FFA tayinlerinde de, 580 nm dalga boyu değerinin uygun değer olduğu teyit edilmiştir.



No	P/V	Dalga boyu (nm)	Absorbans (A)
1	↑	628.50	3.612
2	↑	612.00	3.215
3	↑	590.00	2.960
4	↑	577.00	2.960

No	P/V	Dalga boyu (nm)	Absorbans (A)
5	↑	394.50	1.117
6	↑	308.50	1.971
7	↑	218.50	4.00
8	↑	201.00	4.00

Şekil 8.8. BTB İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun UV-vis Spektrofotometre ile Belirlenmesi



Şekil 8.9. BTB İndikatörü ile Gerçekleştirilen %FFA Tayinleri için Uygun Dalga Boyunun UV Dedektör ile Belirlenmesi

Şekil 8.8. ve ***Şekil 8.9.*** incelendiğinde, UV-vis spektrofotometreden alınan ölçümlerde; piklerin birbirinden belirli ölçüde farklandığı, en yüksek absorbans değerine sahip dalga boyunun 628 nm olduğu görülmüştür. UV dedektörden alınan

ölçümlerde ise; >600 nm`den daha yüksek bir dalga boyu değerinin uygunluğu görülmesine rağmen, UV dedektör maksimum 600 nm dalga boyunda çalışabildiği için, uygun dalga boyu değeri tam olarak belirlenememiştir. Bu sebeple; BTB indikatörünün kullanıldığı %FFA tayinlerinde; UV dedektör ile çalışıldığında 600 nm, DAD dedektör ile çalışıldığında ise 628 nm dalga boyu değerleri kullanılmıştır.

FIA ile %FFA tayinlerinin gerçekleştirildiği dalga boyu değerlerinin belirlenmesi için gerçekleştirilen ölçümler, FIA ile PV ve AV tayinlerinin yürütüleceği uygun dalga boyunun belirlenmesi için de gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar sonucunda; UV-vis spektrofotometre ve UV ve/veya DAD dedektörler kullanılarak her bir tayin (%FFA, PV, AV) için tespit edilen dalga boyu değerleri ***Tablo 8.6.***`da özetlenmiştir.

Tablo 8.6. %FFA, PV, AV Tayinlerinin Gerçekleştirilmesi için Tespit Edilen Dalga Boyu Değerleri

	UV-vis Spektrofotometre ile	**UV ve/veya DAD Dedektör ile**
%FFA tayini için (PHP`li)	562 nm	580 nm
%FFA tayini için (BTB`li)	627 nm	>600 (UV) 627 nm (DAD)
PV tayini için	270 nm	360 nm
AV tayini için	300 nm	350 nm

✦ ***<u>Kullanılan yağ numunelerinin oksidasyon dereceleri hakkında bilgi edinilmesi amacıyla yürütülen analizler</u>;*** yağ numunelerinin özgül absorbanslarının ölçülmesi ile gerçekleştirilmiş (3 tekrarlı), 232 ve 270 nm dalga boylarındaki absorbans değerlerinin baz alınmasıyla yağların oksidasyon dereceleri hakkında bilgi sahibi olunmuştur.

Ölçümlerde; 232 nm dalga boyunda okunan absorbans (Abs_{232}), birincil oksidasyon ürünü olarak nitelendirilen hidroperoksitlerin derecesi hakkında, 270 nm dalga boyunda okunan absorbans (Abs_{270}) değeri de; ikincil oksidasyon ürünlerinin (aldehit ve ketonlar) dereceleri hakkında bilgi vermiştir.

Ayrıca; yağ numunelerindeki AV içeriklerinin standart metotla tespitinde de spektrofotometrik ölçümlerden faydalanılmış, yağlardaki ikincil bozunma ürünlerinin, p-anisidin (asetik asit çözeltisindeki) ile reaksiyonuna dayalı deneyler gerçekleştirilmiştir.

Gerekli işlemler ve ölçümler sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve aşağıdaki formülün kullanılmasıyla numunelerdeki AV değerleri tespit edilmiştir.

$$\mathbf{pAV = \frac{25\ x\ (1.2\ As - Ab)}{m}}$$

As= yağ çözeltisinin p-anisidin ile reaksiyonundan sonraki absorbansı.
Ab= yağ çözeltisinin absorbansı.
m= g cinsinden testte kullanılan madde miktarı

8.3. Titrimetrik Analizler

Tayinlere ilişkin deney parametrelerini optimize etmek ve metot karşılaştırmasında kullanmak amacıyla deneylerde kullanılan yağ numuneleri, gerek yağ numunelerinin temin edildiği firma, gerekse tarafımızdan standart metotlara göre analiz edilmiş (en az üç tekrarlı olmak üzere), %FFA, PV ve AV içerikleri belirlenmiştir.

Yağ numunelerinin %FFA, PV ve AV içeriklerini tespit etmede kullanılan standart metotlar, her bir tayine ilişkin deneysel kısımda ayrıntılı olarak açıklanmış (***bkz.. Bölüm 7.2., Bölüm 7.3., Bölüm 7.4.***), analizler sonucunda elde edilen %FFA, PV ve AV değerleri ve standart sapmaları ***Tablo 8.7.***`de özetlenmiştir.

Tablo 8.7. FIA Metodu ile Gerçekleştirilen Yağ Analizlerinde Kullanılan Yağ Numunelerinin Standart Metotlar Kullanılarak Tespit Edilen %FFA, PV, AV Değerleri

ANALİZLER / YAĞLAR	%FFA Tayinleri için		PV Tayinleri için	AV Tayinleri için
	Manuel Enjeksiyonlu	**Otomatik Enjeksiyonlu**		
Mısır	**%FFA:** $0.09 \pm 7.80 \times 10^{-3}$ $0.25 \pm 1.27 \times 10^{-2}$ $0.50 \pm 4.03 \times 10^{-2}$ $0.75 \pm 1.48 \times 10^{-2}$ $1.00 \pm 4.24 \times 10^{-2}$ $1.50 \pm 6.36 \times 10^{-2}$ $2.00 \pm 6.79 \times 10^{-2}$ $2.42 \pm 5.23 \times 10^{-2}$	**%FFA:** $0.09 \pm 7.80 \times 10^{-3}$ $0.25 \pm 1.27 \times 10^{-2}$ $0.50 \pm 4.03 \times 10^{-2}$ $0.75 \pm 1.48 \times 10^{-2}$ $1.00 \pm 4.24 \times 10^{-2}$ $1.50 \pm 6.36 \times 10^{-2}$ $2.00 \pm 6.79 \times 10^{-2}$ $2.42 \pm 5.23 \times 10^{-2}$	**PV:** $1.25 \pm 5.60 \times 10^{-3}$ $3.35 \pm 5.70 \times 10^{-3}$ $5.45 \pm 1.03 \times 10^{-2}$ $7.55 \pm 1.03 \times 10^{-2}$ $9.66 \pm 1.95 \times 10^{-2}$ $11.76 \pm 2.92 \times 10^{-2}$ 13.86 ± 0.42 15.96 ± 0.57 18.06 ± 0.64	**AV:** $7.15 \pm 6.80 \times 10^{-3}$ $7.37 \pm 1.07 \times 10^{-2}$ $7{,}60 \pm 1.15 \times 10^{-2}$ $7.82 \pm 1.37 \times 10^{-2}$ $8.27 \pm 1.67 \times 10^{-2}$
Ayçiçek	**%FFA:** $0.07 \pm 4.20 \times 10^{-3}$ $0.40 \pm 1.41 \times 10^{-2}$ $0.74 \pm 1.20 \times 10^{-2}$ $1.40 \pm 2.19 \times 10^{-2}$	**%FFA:** $0.09 \pm 2.10 \times 10^{-3}$ $0.49 \pm 6.60 \times 10^{-3}$ $0.90 \pm 1.23 \times 10^{-2}$ $1.30 \pm 1.59 \times 10^{-2}$ $1.71 \pm 2.05 \times 10^{-2}$ $2.11 \pm 2.55 \times 10^{-2}$	**PV:** $3.58 \pm 4.20 \times 10^{-3}$ $5.20 \pm 1.12 \times 10^{-2}$ $6.81 \pm 1.28 \times 10^{-2}$ $8.40 \pm 1.70 \times 10^{-2}$ $10.05 \pm 1.92 \times 10^{-2}$ $11{,}66 \pm 2.18 \times 10^{-2}$ $13.28 \pm 2.47 \times 10^{-2}$ $14.89 \pm 2.32 \times 10^{-2}$ $16.51 \pm 2.84 \times 10^{-2}$	**AV:** $6.60 \pm 8.10 \times 10^{-3}$ $5.86 \pm 6.40 \times 10^{-3}$ $5.12 \pm 5.30 \times 10^{-3}$ $4.37 \pm 4.10 \times 10^{-3}$ $3.63 \pm 2.20 \times 10^{-3}$
Soya	-	**%FFA:** $0.07 \pm 1.40 \times 10^{-3}$ $0.29 \pm 4.90 \times 10^{-3}$ $0.52 \pm 1.13 \times 10^{-2}$ $0.75 \pm 1.16 \times 10^{-2}$ $0.98 \pm 1.52 \times 10^{-2}$ $1.21 \pm 1.68 \times 10^{-2}$	**PV:** $1.52 \pm 5.20 \times 10^{-3}$ $2.71 \pm 6.00 \times 10^{-2}$ $5.08 \pm 6.60 \times 10^{-2}$ $7.45 \pm 1.30 \times 10^{-2}$ $8.64 \pm 1.32 \times 10^{-2}$ $9.82 \pm 1.66 \times 10^{-2}$ $11.01 \pm 1.90 \times 10^{-2}$	**AV:** $3.00 \pm 3.51 \times 10^{-2}$ $2.93 \pm 1.68 \times 10^{-2}$ $2.85 \pm 1.69 \times 10^{-2}$ $2.78 \pm 2.80 \times 10^{-3}$ $2.70 \pm 2.40 \times 10^{-3}$ $2.63 \pm 1.30 \times 10^{-3}$
Kanola	-	**%FFA:** $0.04 \pm 1.10 \times 10^{-3}$ $0.37 \pm 2.30 \times 10^{-3}$ $0.65 \pm 2.00 \times 10^{-3}$ $0.82 \pm 5.10 \times 10^{-3}$ $1.10 \pm 9.00 \times 10^{-3}$ $1.21 \pm 1.30 \times 10^{-2}$	**PV:** $2.99 \pm 7.90 \times 10^{-3}$ $3.38 \pm 9.70 \times 10^{-3}$ $3.77 \pm 8.80 \times 10^{-3}$ $4.16 \pm 1.09 \times 10^{-2}$ $4.52 \pm 1.41 \times 10^{-2}$ $4.95 \pm 1.61 \times 10^{-2}$ $5.73 \pm 1.85 \times 10^{-2}$	**AV:** $2.76 \pm 1.00 \times 10^{-3}$ $3.00 \pm 7.93 \times 10^{-2}$ $3.24 \pm 1.61 \times 10^{-2}$ $3.49 \pm 2.29 \times 10^{-2}$ $3.73 \pm 2.68 \times 10^{-2}$
Yer Fıstığı	-	**%FFA:** $0.13 \pm 2.40 \times 10^{-3}$ $1.13 \pm 4.50 \times 10^{-2}$ $1.62 \pm 1.09 \times 10^{-2}$ $2.51 \pm 1.22 \times 10^{-2}$ $3.45 \pm 2.30 \times 10^{-2}$ $4.95 \pm 3.05 \times 10^{-2}$ $5.47 \pm 3.48 \times 10^{-2}$	-	**AV:** $3.85 \pm 1.64 \times 10^{-2}$ $3.78 \pm 1.82 \times 10^{-2}$ $3.64 \pm 8.70 \times 10^{-3}$ $3.57 \pm 8.10 \times 10^{-3}$

8.4. Akış Enjeksiyon Analizleri (FIA)

Standart metotların sahip olduğu birçok dezavantajın bertaraf edilebildiği FIA sistemlerinin kullanıldığı bu çalışmada; öncelikle atmosferik oksijenden ve ışıktan izole edilmiş bir "akış enjeksiyon sistemi" oluşturulmuş, tayinlerin gerçekleşmesi için uygun adaptasyonlar yapılmış ve reaksiyonlar için istenilen ortamlar sağlanmıştır.

Yağların kalite-kontrolünü belirlemek amacıyla gerçekleştirilen tayinler incelendiğinde; her bir tayinin farklı ortam şartları (sıcaklık, pH, farklı çözücü vb…) ve sistem adaptasyonları gerektirdiği görülmektedir. Bu sebeple; gerçekleştirilmesi düşünülen her bir tayin için farklı adaptasyon ve bağlantılar oluşturulmalıdır. Her bir tayin için farklı bağlantı sistemlerinin oluşturulacağı düşünüldüğünde ise; geliştirilmesi ve uygulamaya geçirilmesi öngörülen akış enjeksiyon sistemlerinin üstünlüğü tam olarak ortaya konulmamış olur. Bu tayinlerin her birini günde onlarca defa (yaklaşık 80-100 arası) gerçekleştiren tesisler için; bu sistemleri oluşturmak ve gerektiğinde bağlantıları değiştirmek çok kolay olmayacak, zaman ve insan emeğinden de tasarruf sağlanamayacaktır. Bu sebeple; sunulan bu çalışmada, belirtilen yağ analizlerinin (%FFA, PV ve AV) gerçekleştirilmesi için tek bir FIA sistemi oluşturulmuştur.

FIA prensiplerine uygun olarak yürütülen deneylerde, yağların sahip olduğu karakteristik özellikler dikkate alınarak, FIA ile yağ analizlerindeki reaktif kullanımı, numune enjeksiyonu konusunda yeni teknikler geliştirilmiştir.

Geliştirilen her bir tayin için gerekli şartlar sağlandıktan sonra, mikro seviyedeki yağ numunesi uygun taşıyıcı faz akışı içine enjekte edilmiş veya taşıyıcı fazla numunenin on-line olarak karışmasını sağlayacak bir akış oluşturulmuştur. Numunenin taşıyıcı faz içinde yeterli dağılımı oluşturabildiği çalışmalarda herhangi bir reaktif ilavesine gerek duyulmamış, yeterli dağılımın gözlenmediği durumlarda ise; uygun bir reaktif kullanılarak numunenin dedektörde gözlenebilecek bir özellik kazanması sağlanmıştır. Analitin içeriğine bağlı fiziksel parametre değişimlerini kaydeden dedektör aracılığıyla görselleştirilen sonuçlar değerlendirilerek, metodun valide edilmesinde ve metot karşılaştırmasında kullanılmıştır.

Çalışmalar sırasında geliştirdiğimiz bazı yeni teknikler sayesinde oldukça zahmetli olan yağ analizleri, kolayca gerçekleştirilebilmiştir. Bu yeni teknikleri şöyle sıralamak mümkündür; **(i)** tayinlerde kullanılacak çözücü, kimyasal ve numune sarfiyatını minimum seviyede tutabilmek amacıyla yeni bir enjeksiyon tekniği geliştirilmiştir. Bu amaçla; mikro seviyedeki yağ numunesinin enjeksiyonu, yine mikro seviyede olan iki reaktif çözeltisi arasına yapılmış (reaktif/numune/reaktif); böylece oldukça viskoz bir yapıya sahip yağ numuneleri içerisinde reaksiyona girme özelliği gösterecek türlere, hem akış yönünde hem de akışa ters yönde reaksiyona girebilme özelliği kazandırılmıştır. Taşıyıcı faz ile beraber reaktiflerin, enjeksiyondan önce veya sonra sisteme gönderilmesi esasına dayalı FIA analizlerine kıyasla, daha yüksek ve simetrik pikler elde edilebilmiştir. **(ii)** deneylerin gerçekleştirilmesi sırasında kullanılan yağ numuneleri herhangi bir ön işleme tabi tutulmamış, direk olarak sisteme enjekte edilmiştir. Gerek zamandan, gerekse çözücü ve kimyasal kullanımından kaçınılmasını sağlayan bu husus, geliştirilen yöntemin en üstün özelliklerinden birisidir. **(iii)** yağ analizlerinin gerçekleştirilmesinde tek bir FIA sistemi oluşturulmuş ve tüm tayinler bu sistemde gerçekleştirilmiştir. Yağ firmalarında günde sayıları yüzleri aşan bu tayinler göz önünde bulundurulduğunda, geliştirilen bu otomatikleştirilmiş sistemin üstünlüğü çok daha iyi anlaşılabilir.

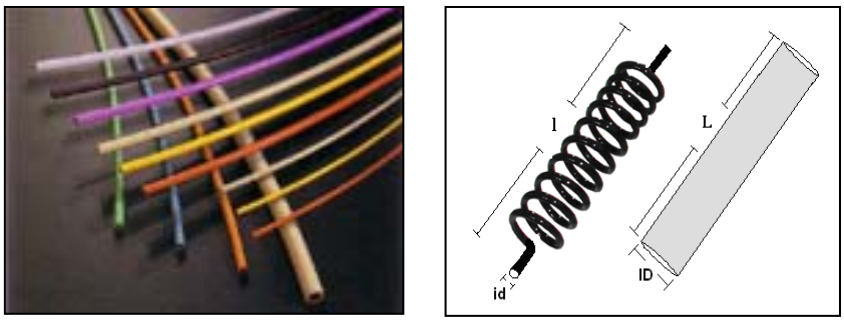
Yukarıda özetlenmiş amaca yönelik gerçekleştirilen prosedürü genel olarak 5 basamakta sınıflandırmak mümkündür: **(1)** akış enjeksiyon analiz deneylerinde kullanılacak HPLC sisteminin tayinlere uygun biçimde modifiye edilmesiyle, akış enjeksiyon analizör sisteminin oluşturulup/geliştirilmesi, **(2)** akış enjeksiyon analiz yöntemi kullanılarak gerçekleştirilecek tayinler için deney parametrelerinin belirlenmesi ve seçilen bitkisel yağlar için optimize edilmesi, **(3)** optimize edilen parametre değerlerinin kullanılmasıyla, %FFA, PV ve AV tayinlerine ilişkin analizlerin gerçekleştirilmesi, **(4)** akış enjeksiyon analiz yönteminin %FFA, PV ve AV tayinleri için valide edilmesiyle, yöntemin kullanılabilirliğinin ve üstünlüğünün ortaya konulması, **(5)** geliştirilen FIA yönteminden elde edilen %FFA, PV ve AV tayin sonuçlarının, standart metotlardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılması.

8.5. Serbest Yağ Asidi (%FFA) Tayini

8.5.1. Manuel enjeksiyonlu %FFA tayini

8.5.1.1. % FFA tayini için modifiye HPLC sisteminin kullanılışı

Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinleri, akışın istenilen şekilde yönlendirilmesini sağlayacak valf sisteminin ve istenilen reaksiyonun gerçekleşebilmesi için gerekli reaksiyon hücrelerinin (coil) siteme adaptasyonu ile gerçekleştirilmiştir[29]. Reaksiyon hücresi olarak kullanılan coiller (PEEK tubing), istenilen uzunlukta kesilerek kullanılabilen, hacim ve zaman hesaplamalarının kolayca yapılabilmesi için renklerine göre kodlanmış, hem çelik hem de diğer bağlantılara rahatlıkla adapte olabilen esnek tüplerdir. Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde kullanılan mavi (i.d. 0.25 mm) ve turuncu (i.d. 0.50 mm) renklerdeki coiller (PEEK tubing) laboratuarda hazırlanmış, türbülans oluşturarak reaksiyonun istenilen ölçüde gerçekleştirilebilmesi için silindirik bir materyale sarmal şekilde sarılarak kullanılmıştır ***(Şekil 8.10.)***.



(a) **(b)**

Şekil 8.10. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan **(a)** Reaksiyon Hücreleri (PEEK Tubingler) **(b)** PEEK Tubinglerin ve Sarıldıkları Materyalin Şematik Gösterimi

(29) Sistem, istenildiğinde HPLC istenildiğinde FIA sistemi olarak kullanılacak özellikte bulunmaktadır. Denemelerde sistem HPLC olarak kullanılmadığından, kolon çıkarılarak kullanılmıştır.

8.5.1.2. % FFA tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi

8.5.1.2.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisi

Taşıyıcı faz akış hızı; meydana gelmesi istenen reaksiyonun oluşumu, elde edilecek piklerin şekli, büyüklüğü ve birbirinden istenilen ölçüde ayrılması ile bire bir ilişkilidir. Bu sebeple taşıyıcı faz akış hızı, gerek kromatografi deneylerinde gerekse FIA deneylerinde genellikle optimize edilen ilk parametre olmuştur. FIA deneylerinden elde edilen piklerin, kromatografik deneylerden elde edilenler gibi dik ve simetrik olmaları istenir. FIA deneylerinden elde edilen pikler analitin taşıyıcı/reaktif ile hangi ölçüde reaksiyona girdiğini gösteren bir ölçüttür. Meydana gelmesi istenilen reaksiyon tam olarak oluşmadığında yani dağılım istenilen ölçüde gerçekleşmediğinde; dedektörde gauss eğrisi şeklindeki pikler yerine, dikdörtgen şeklinde pikler gözlenmektedir. Bazı sonuçların yorumlanmasında elde edilecek dikdörtgen şeklindeki pikler de kullanılabilir, gauss şeklindeki piklerin kullanılmasıyla yapılan yorumlar daha fazla tercih edilmektedir.

Farklı FFA değerine sahip (%FFA: 0.07 - 0.40 - 0.74 - 1.40) dört adet ayçiçek yağı numunesinin kullanıldığı taşıyıcı faz akış hızı optimizasyon çalışmaları; 0.1- 0.5- 1.0- 2.0- 3.0 mL/dk olmak üzere beş farklı akış hızında gerçekleştirilmiş ve %FFA tayinleri için uygun akış hızı değeri 2 mL/dk olarak tespit edilmiştir. Farklı %FFA değerine sahip yağ numuneleri ile gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarında; taşıyıcı faz ve reaksiyon hücresi (PEEK tubing) birlikte incelendiği için, analizlerden elde edilen sonuçlar reaksiyon hücresi etkisi kısmında toplu olarak verilmiştir (***bkz. 10.5.1.2.2.***)

Optimum akış hızı değerinin tespitinde; elde edilen piklerin şekli, büyüklüğü ve birbirinden belirli ölçüde farklanmaları dikkate alınmış, 2 mL/dk`dan daha düşük akış hızı değerlerinde istenilen reaksiyonun tam olarak gerçekleşmediği ve elde edilen piklerin oldukça yayvanlaştığı, 2 mL/dk`dan daha büyük akış hızı değerlerinde ise; elde edilen piklerin alan ve yüksekliklerinin azaldığı görülmüştür.

8.5.1.2.2. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi

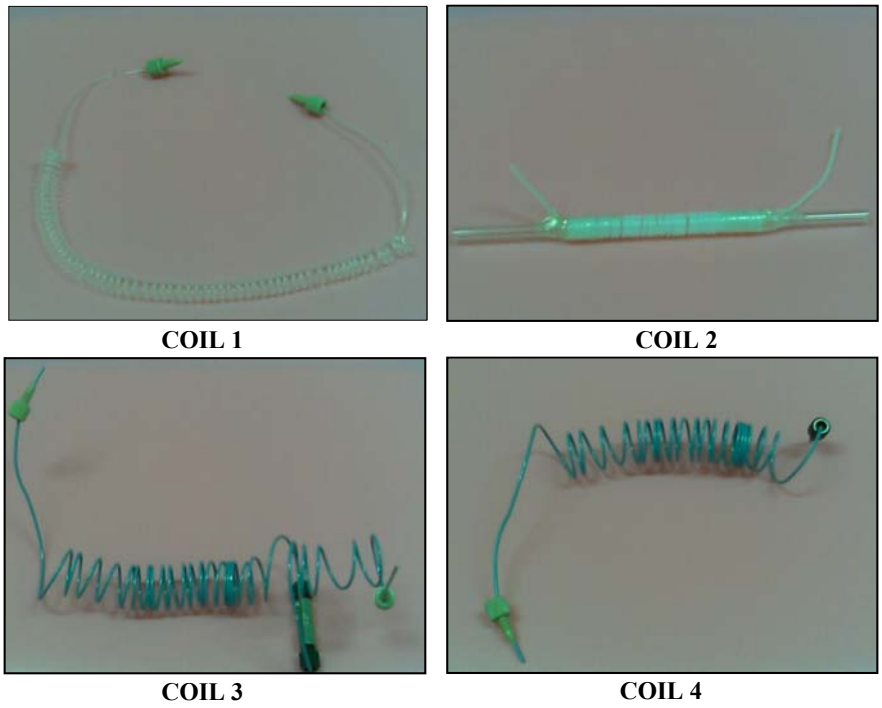
Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı); Prosedürde belirtilen reaksiyonun (enjekte edilen yağ numunesi ve taşıyıcı fazdaki baz arasındaki oluşması istenen reaksiyon) diğer yağ analizlerinde gerçekleşmesi istenen reaksiyonlara kıyasla daha hızlı meydana gelmesi, FFA tayininin gerçekleştirilmesinde kullanılacak reaksiyon hücresi seçimini bir nebze de olsa kolaylaştırmıştır. Fakat yağın kendine has doğal özellikleri, en önemlisi de viskozitesi meydana gelecek reaksiyon şartlarının oldukça iyi ayarlanmasını gerektirmektedir.

Reaksiyon hücresi seçimi için gerçekleştirilen deneylerde; reaksiyon hücresi olarak kullanılan farklı iç çaplardaki esnek tüpler (PEEK tubing), silindirik bir materyal üzerine sarmal biçimde sarıldıktan sonra kullanılmıştır.

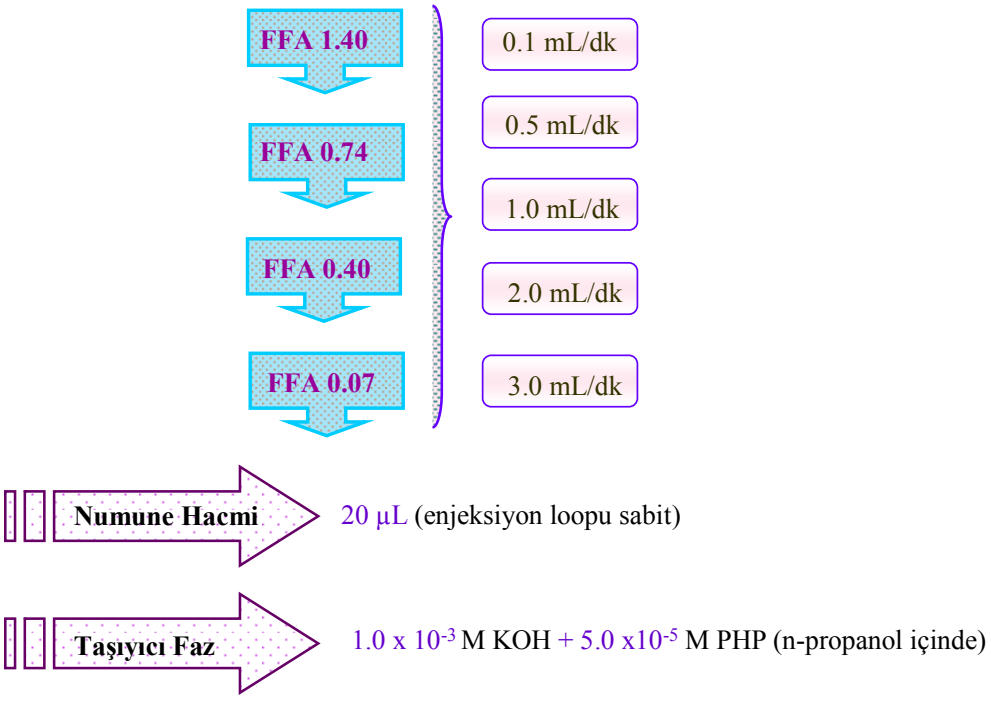
Reaksiyon hücresi seçiminde sarmal bir yapının oluşturulması; meydana gelmesi istenilen reaksiyonun oluşumunu hızlandırmış (türbülans etki oluşturarak) ve dağılımın istenilen ölçüde gerçekleşmesini sağlamıştır. Bunun yanı sıra; reaksiyon hücresi olarak kullanılan tüpün iç hacmi, iç çapı ve uzunluğu ile tüpün sarıldığı materyalin iç çapı da reaksiyon hücresi seçiminde son derece önemli etkenlerdendir.

Reaksiyonun istenilen ölçüde meydana gelmesi için; tüpün iç çapının, sarıldığı materyal iç çapına oranı 10 kat daha az olmalıdır, ancak bu şartlarda yeterli türbülans oluşur ve maddeler arası dağılım sağlanabilir. Diğer önemli bir faktör olan hücre uzunluğu ise; dağılımın istenilenden az ya da çok olmasını engelleyecek özellikte olmalıdır. Çünkü; dağılımın istenilenden az olması, reaksiyonun istenilen düzeyde meydana gelmemesine, çok olması ise elde edilen piklerin yayvanlaşmasına sebep olmaktadır. Optimizasyon deneylerinde kullanılan reaksiyon hücrelerinin fotoğrafları ***Şekil 8.11.***`de görülmektedir.

Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde; reaksiyon hücresi seçimine yönelik çalışmalar taşıyıcı faz akış hızı ile birlikte incelendiği için, her iki çalışmadan elde edilen sonuçlar toplu bir şekilde verilmiştir.



Şekil 8.11. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Reaksiyon Hücresi Etkisi Çalışmalarında Kullanılan Reaksiyon Hücreleri



Şekil 8.12. Ayçiçek Yağı Kullanılarak Yürütülen Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinin Gerçekleştirildiği Şartlar

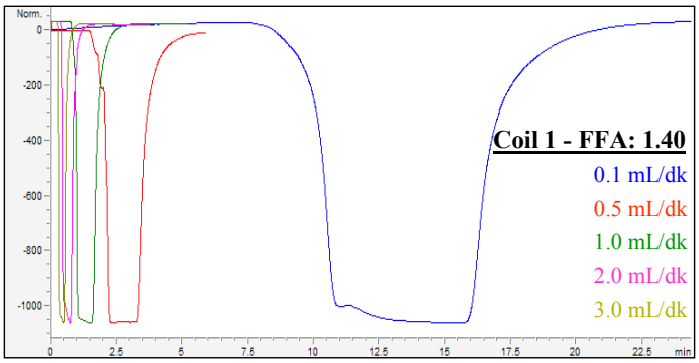
✦ ***Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak Yürütülen Taşıyıcı Faz Akış Hızı ve Reaksiyon Hücresi Optimizasyon Deneyleri***

Taşıyıcı faz akış hızı ve reaksiyon hücresi etkilerinin incelendiği çalışmalar sonucunda; farklı %FFA içeriğine sahip ayçiçek yağı numunelerinin, her bir coil ve akış hızındaki davranışları değerlendirilmiş ve analizlerden elde edilen piklerin alan, yükseklik ve yarı pik genişliği değerleri, akış hızına karşı grafiğe geçirilerek yorumlar yapılmıştır. Uygun taşıyıcı faz akış hızı ve reaksiyon hücresinin seçiminde, sadece bu grafiklerden faydalanılmamış, aynı zamanda farklı %FFA değerindeki yağ numunelerine ait piklerin birbirinden farklanabilmesi ve piklerin şekli/simetrisi de karar vermede etkili olmuştur.

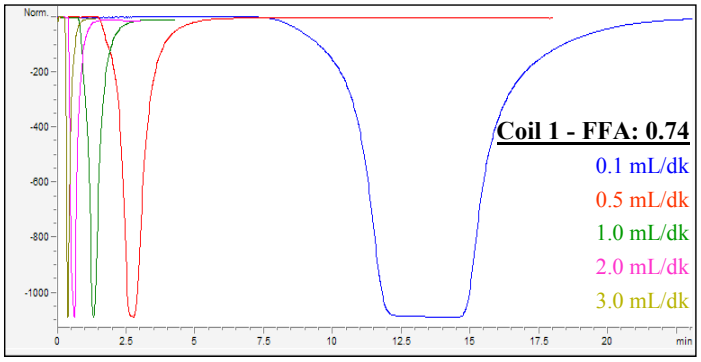
Farklı %FFA değerine sahip (%FFA: 0.07 - 0.40 - 0.74 - 1.40) dört adet ayçiçek yağı numunesinin kullanıldığı reaksiyon hücresi optimizasyon deneylerinde, kullanılan üç reaksiyon hücresinden (tubing) elde edilen sonuçlar, gerekli şekil ve tabloların kullanılmasıyla karşılaştırılmış ve yukarıda belirtilen hususlar göz önünde bulundurularak, manuel enjeksiyonlu %FFA tayinleri için en uygun reaksiyon hücresinin (coilin), coil 3 olduğuna karar verilmiştir.

Coil 1 ile gerçekleştirilen taşıyıcı faz akış hızı çalışmaları:

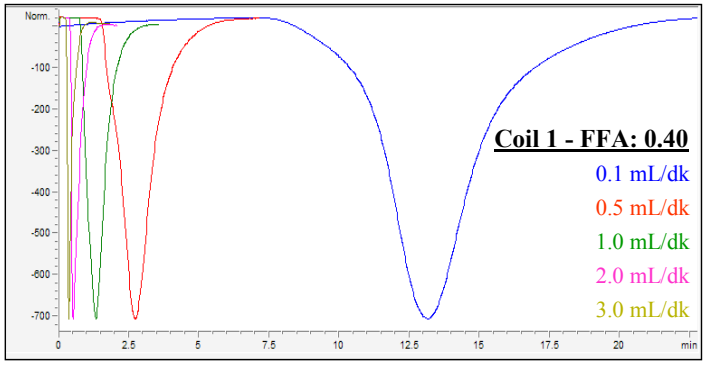
(a)



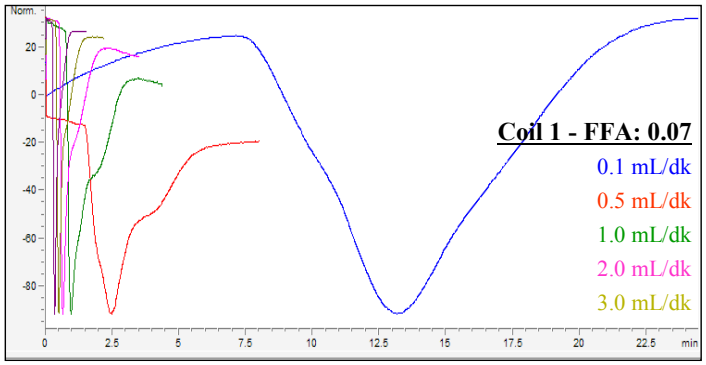
(b)



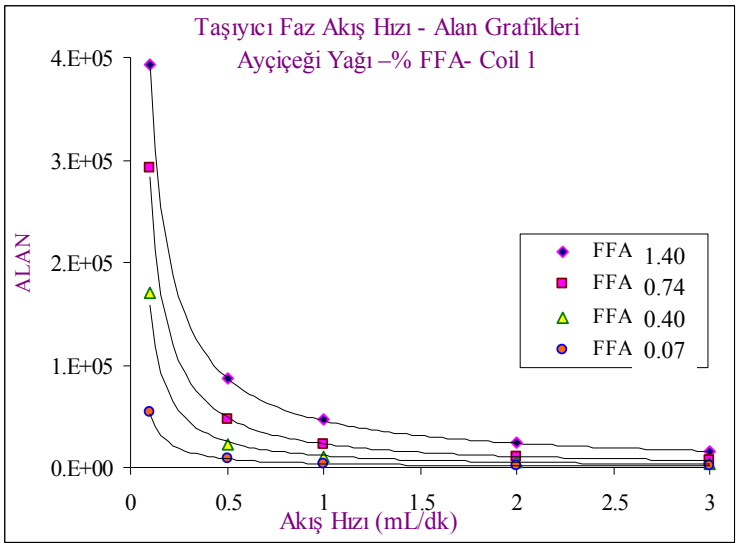
(c)



(d)



Şekil 8.13. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** %FFA: 1.40 **(b)** %FFA: 0.74 **(c)** %FFA: 0.40 **(d)** %FFA: 0.07



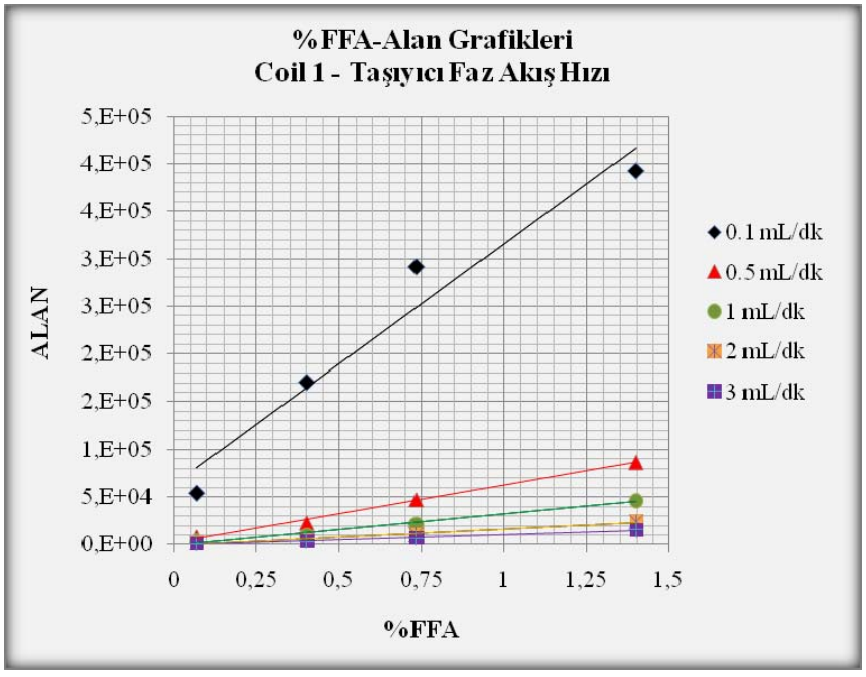
FFA	DENKLEM	R^2
1,40	$y = 45457x^{-0.9401}$	$R^2 = 0.9996$
0,74	$y = 22895x^{-1.0928}$	$R^2 = 0.9994$
0,40	$y = 11419x^{-1.1437}$	$R^2 = 0.9971$
0,07	$y = 3863.2x^{-1.1365}$	$R^2 = 0.9994$

Şekil 8.14. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Deneylerden Elde Edilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları

Tablo 8.8. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Denemelerinden Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

	COIL 1 & FFA: 0.40			COIL 1 & FFA: 0.07		
Akış Hızı (mL/dk)	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.1	171051	724.2	3.9368	54519.4	139.4	6.5162
0.5	22893.6	276	1.3823	8199.5	60.5	2.2579
1	10623.2	233.2	0.7594	3733.9	58.3	1.0204
2	5226.7	267.2	0.326	1746.4	88.8	0.3276
3	3538.6	316.4	0.1864	1159.7	99.4	0.1944

	COIL 1 & FFA: 1.40			COIL 1 & FFA: 0.74		
Akış Hızı (mL/dk)	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.1	392990.6	1072	6.1098	291938.6	1043.2	4.6642
0.5	86759.4	1052.8	1.3735	47186.5	768.1	1.0239
1	46467.5	1044.9	0.7412	22147.1	545	0.6773
2	24344	1014.1	0.4001	10677.1	544.2	0.327
3	15607	1002.6	0.2594	7197.5	692.1	0.1733

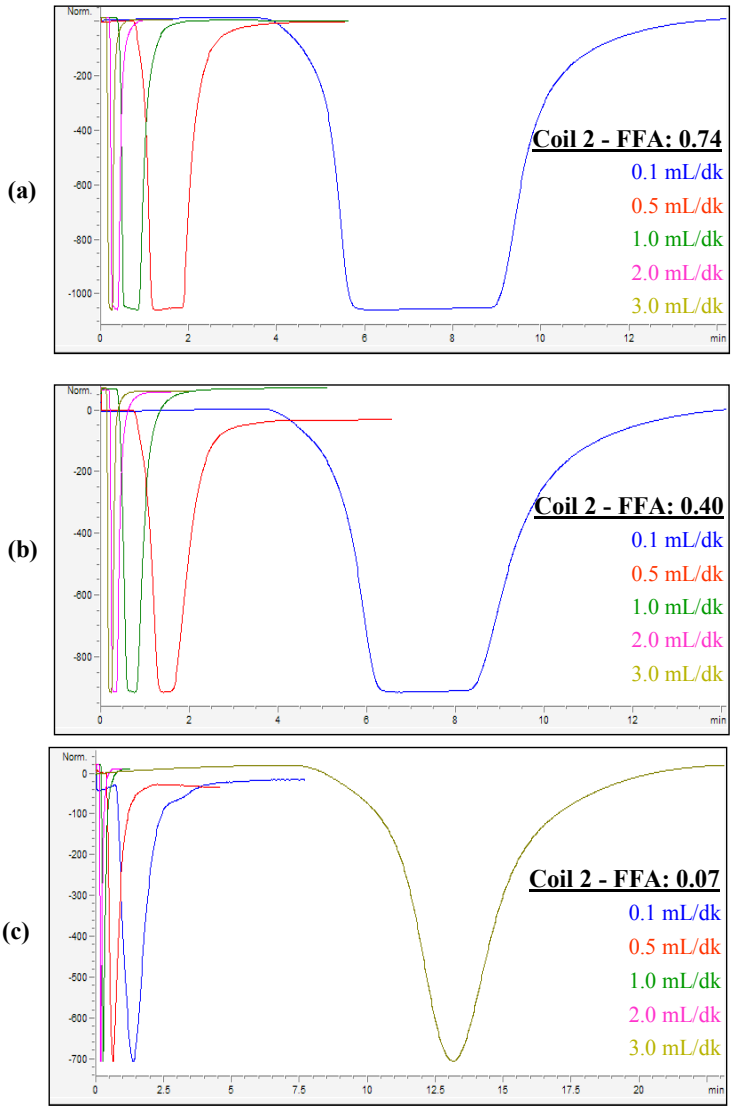


Şekil 8.15. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Deneylerinden Elde Edilen %FFA–Alan Grafikleri

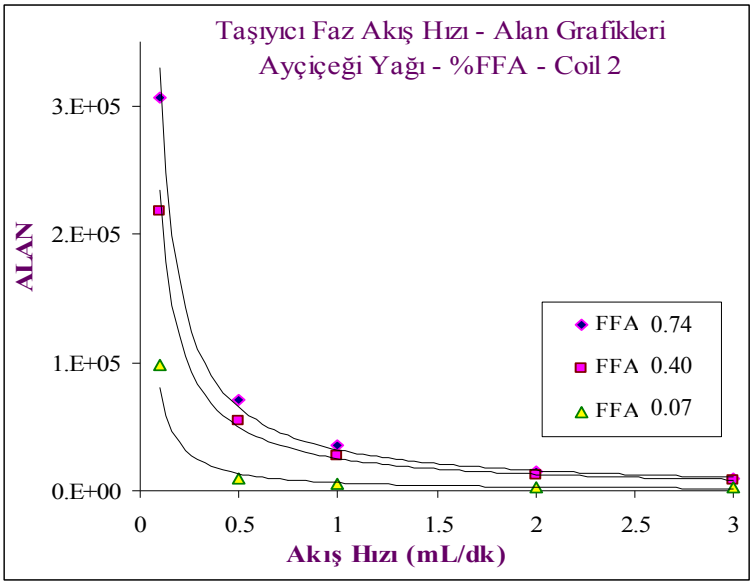
Tablo 8.9. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Deneylerinden Elde Edilen %FFA– Alan Grafiklerine Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları

Akış Hızı Değerleri (mL/dk)	Denklem	R^2
0.1	y = 25212x + 63273	R^2 = 0.951
0.5	y = 60317x + 1940,	R^2 = 0.995
1.0	y = 32855x - 674,3	R^2 = 0.989
2.0	y = 17346x - 809,1	R^2 = 0.983
3.0	y = 11079x - 346,1	R^2 = 0.988

Coil 2 ile gerçekleştirilen taşıyıcı faz akış hızı çalışmaları:



Şekil 8.16. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** %FFA: 0.74 **(b)** %FFA: 0.40 **(c)** %FFA: 0.07



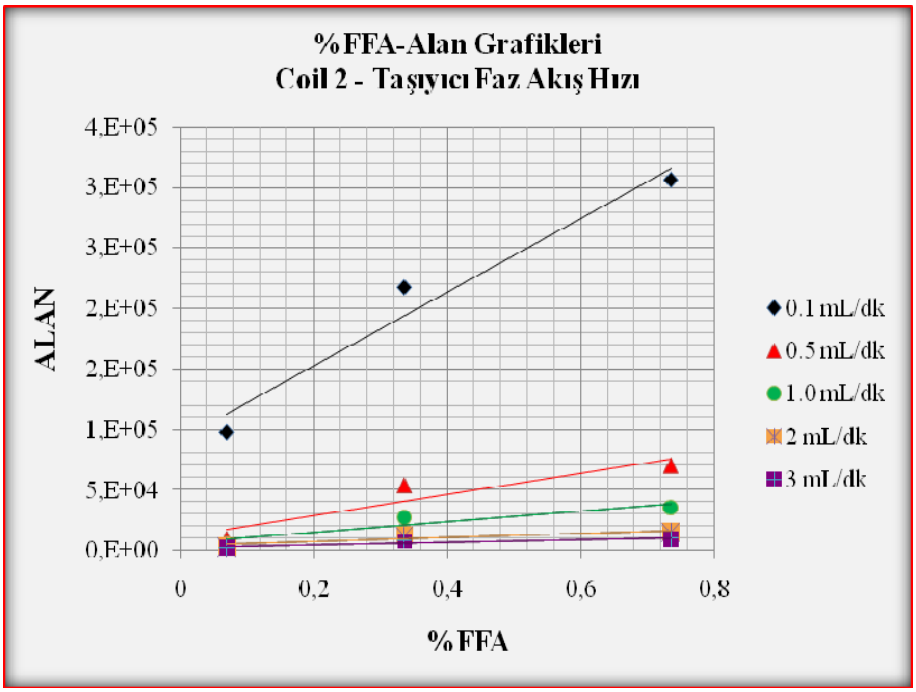
FFA	DENKLEM	R^2
0.74	$y = 31973x^{-1.0129}$	$R^2 = 0.9959$
0.40	$y = 25223x^{-0.9667}$	$R^2 = 0.9959$
0.07	$y = 6197.7x^{-1.1102}$	$R^2 = 0.9772$

Şekil 8.17. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Deneylerden Elde Edilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları

Tablo 8.10. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Denemelerinden Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

	COIL 2 & FFA: 0.74			COIL 2 & FFA: 0.40		
Akış Hızı (mL/dk)	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.1	305942.4	1060.7	4.807	217430.8	856.4	4.2313
0.5	70288.1	1059.8	1.1054	53843	908.8	0.9874
1.0	35398.9	1048.2	0.5628	27538.2	893	0.514
2.0	15297.4	1030.6	0.2474	12581.5	892.4	0.235
3.0	9714.4	1025.1	0.1579	8060	880.6	0.1526

	COIL 2 & FFA: 0.07		
Akış Hızı (mL/dk)	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.1	98201.9	528.8	3.0953
0.5	9760.8	169.8	0.9582
1.0	5301.7	200.3	0.4412
2.0	3119.9	378.3	0.1374
3.0	2195.1	388.4	0.0942



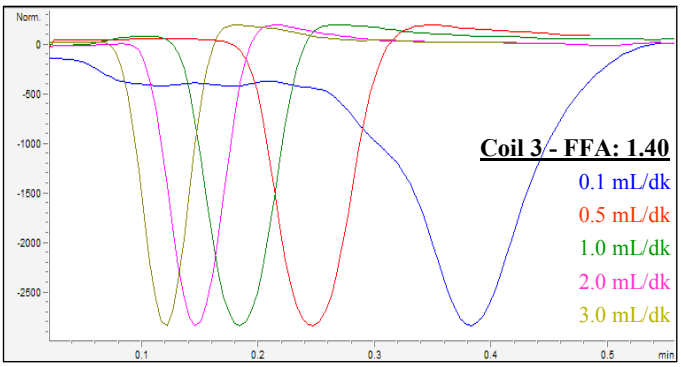
Şekil 8.18. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Deneylerinden Elde Edilen %FFA– Alan Grafikleri

Tablo 8.11. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Deneylerinden Elde Edilen %FFA– Alan Grafiklerine Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları

Akış Hızı Değerleri (mL/dk)	**Denklem**	**R^2**
0.1	y = 30524x + 91098	R^2 = 0.960
0.5	y = 87087x + 11509	R^2 = 0.867
1.0	y = 43241x + 6300,	R^2 = 0.859
2.0	y = 17404x + 3713,	R^2 = 0.830
3.0	y = 10742x + 2571	R^2 = 0.828

Coil 3 ile gerçekleştirilen taşıyıcı faz akış hızı çalışmaları:

(a)



Şekil 8.19. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 3 Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen Taşıyıcı Faz Akış Hızı Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** %FFA: 1.40

Yukarıda yer alan şekil ve tablolardan da görüldüğü üzere; farklı %FFA değerine sahip ayçiçek yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen taşıyıcı faz & reaksiyon hücresi etkilerinin incelendiği çalışmalar sonucunda, dik & simetrik piklerin elde edilebildiği ve piklere ait alan, yükseklik, yarı pik genişliği (alan öncelikli) değerlerinin kayda değer ölçülerde olduğu taşıyıcı faz akış hızı değeri ve reaksiyon hücresi belirlenmiştir.

Mısır yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen taşıyıcı faz akış hızı çalışmaları sonucunda; ayçiçek yağı numuneleri için tespit edilen 2 mL/dk akış hızı değerinin mısır yağı numuneleri için de uygun olduğu görülmüş ve %FFA tayinlerine 2 mL/dk akış hızı ile devam edilmiştir.

Mısır yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyon hücresi seçimi çalışmalarında ise; farklı %FFA değerine sahip (0.09 - 0.25 - 0.50 - 0.75 - 1.00 - 1.50 - 2.00 – 2.42) sekiz adet mısır yağı numunesi kullanılmış; reaksiyon hücresi olarak da farklı iç çapa, uzunluk ve geometriye sahip dört farklı reaksiyon hücresinin %FFA tayini üzerine etkileri incelenmiştir. Daha yüksek %FFA içeriğine sahip mısır yağı numuneleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda da, ayçiçek yağı numuneleri ile yürütülen çalışmalarda olduğu gibi, yine coil 3 uygun reaksiyon hücresi olarak seçilmiştir[30].

[30] Çalışmada kullanılan yağların sahip olduğu özellikler ve kaynaklarındaki farklılıklar sebebiyle, daha yüksek %FFA içeriğine sahip mısır yağı numuneleri için de aynı reaksiyon hücresi seçilmiştir.

Ayçiçek yağı numunelerinin kullanıldığı %FFA çalışmalarında; taşıyıcı faz akış hızı ve reaksiyon hücresi etkileri birlikte incelendiği gibi; mısır yağı numunelerinin kullanıldığı %FFA çalışmalarında da, reaktif konsantrasyonu ve reaksiyon hücresi çalışmaları paralel olarak yürütülmüştür. Bu sebeple; mısır yağı numuneleri ile %FFA tayininde, reaktif konsantrasyonu etkisinin incelendiği kısımda reaksiyon hücresi sonuçları da yer almaktadır.

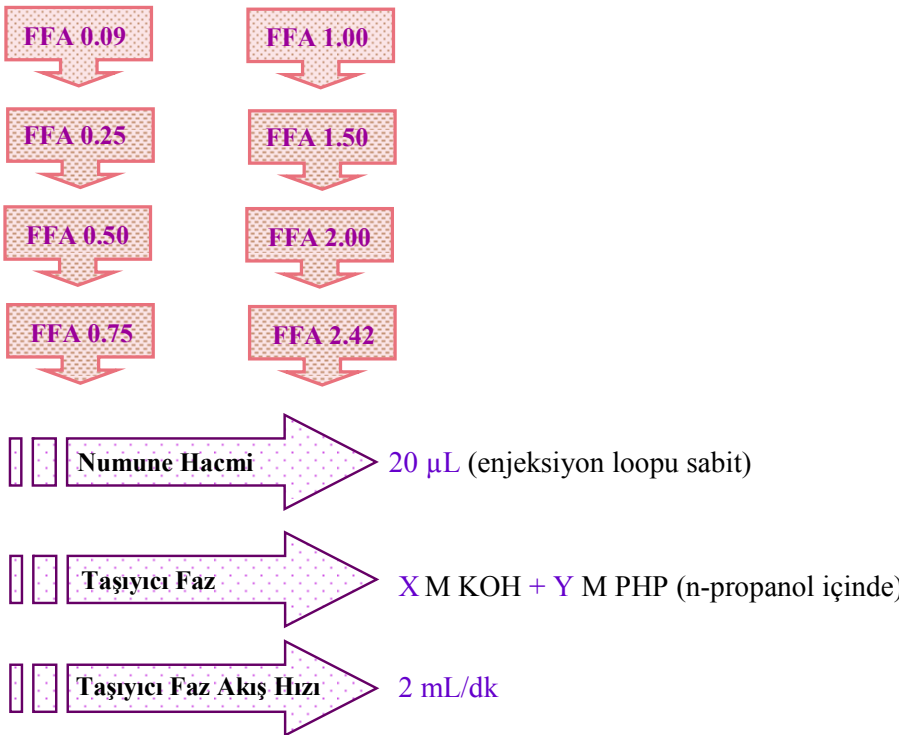
8.5.1.2.3. Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) etkisi

Reaktif kullanımı gerektiren tüm analizlerde; reaktif olarak kullanılan maddelerin miktar ve konsantrasyonları son derece önem taşımakta ve analizlerden elde edilecek sonuçların doğruluğunu ve kesinliğini etkilemektedir. Yağ analizlerinde meydana gelmesi istenilen reaksiyonlar göz önünde bulundurulduğunda ise; reaktif olarak kullanılacak madde ve/veya çözeltilerin miktar ve konsantrasyonları daha fazla ehemmiyet kazanır. Çünkü yağ analizlerinin birçoğu susuz ortam şartlarında gerçekleştirilmekte, yağın sahip olduğu viskoz yapı ise bu reaksiyonların istenilen ölçüde meydana gelmesini çoğu zaman engellemektedir. Yağ analizlerinin en önemlilerinden biri olan serbest yağ asidi (%FFA) tayininde de kullanılacak reaktiflerin hacim ve konsantrasyonları da oldukça önemlidir.

Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinleri için reaktif konsantrasyonunun etkisi, 0.09-2.42 arası %FFA içeriğine sahip standart mısır yağı numuneleri kullanılarak incelenmiş ve taşıyıcı fazın hem reaktif hem de taşıyıcı olarak kullanıldığı deneylerde, reaktifi oluşturan baz (KOH) ve indikatör (PHP) konsantrasyonları orantılı olarak artırılmıştır.

%FFA tayininde kullanılan reaktifler, yağ numunelerindeki serbest yağ asitleriyle reaksiyona girebilecek özellikte olmalı, konsantrasyonları ne yağ asitlerindeki azalışı göremeyeceğimiz kadar fazla, ne de yağ asitlerinin miktarını etkileyemeyecek kadar az olmalıdır. Bu durum; birebir karşılığı olmasa da, volumetrik titrasyonlarda kullanılan titrant konsantrasyonunun, analit konsantrasyonuna yakın tercih edilmesine benzetilebilir. Bu temelde yürütülen reaktif konsantrasyonu çalışmalarına ait sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

✦ ***Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu ve Reaksiyon Hücresi Optimizasyon Deneyleri***



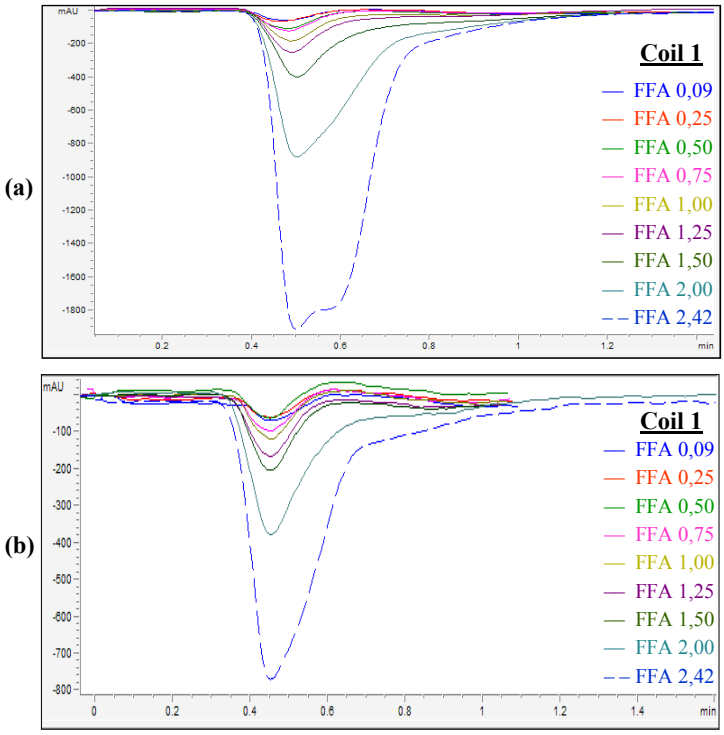
Şekil 8.20. Mısır Yağı Kullanılarak Yürütülen Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinin Gerçekleştirildiği Şartlar

Deneysel kısımda ***Tablo 7.4.***`de özetlenen reaktif konsantrasyonları ile her bir reaksiyon hücresi (coil) için ayrı ayrı yürütülen deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır:

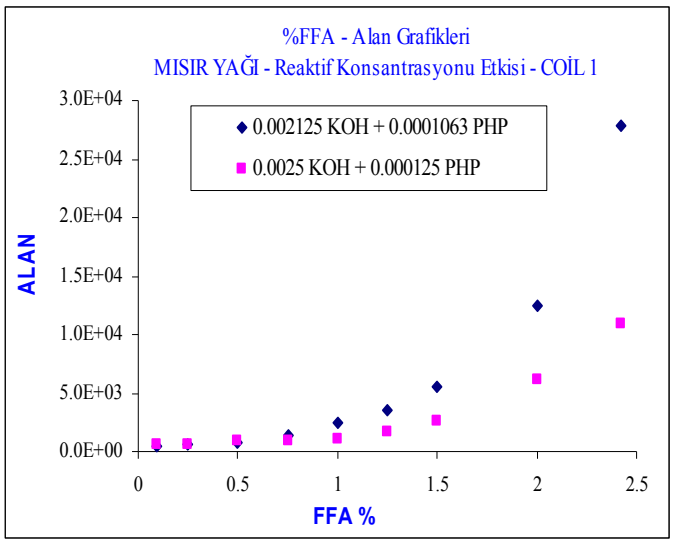
Coil 1 ile gerçekleştirilen reaktif konsantrasyonu çalışmaları:

Tablo 8.12. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Mısır Yağı Kullanılarak Coil 1`de İncelenen Reaktif Konsantrasyonları

COIL 1	**REAKTİF KONSANTRASYONLARI**	
	R1: 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP	
	R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP	
	R3: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 18.75 x 10^{-5} M PHP	pik gözlenemedi
	R4: 5.00 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP	pik gözlenemedi



Şekil 8.21. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R1: 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP **(b)** R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP



REAKTİF	DENKLEM	R^2
2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP	$y = 382.46e^{1.766x}$	$R^2 = 0.9982$
2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP	$y = 414.37e^{1.2745x}$	$R^2 = 0,9617$

Şekil 8.22. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları

Tablo 8.13. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 1 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

COIL 1 R1: 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	480.6	56.2	0.143
0.25	581.2	72.2	0.134
0.50	818.6	108.1	0.126
0.75	1439.8	129.8	0.185
1.00	2397.5	186.2	0.215
1.25	3573.8	263.1	0.226
1.50	5466.3	394.4	0.231
2.00	12455.3	876.3	0.237
2.42	27875.7	1915.1	0.243

COIL 1 R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	584.6	69.7	0.140
0.25	649	75.2	0.144
0.50	858.9	98.0	0.146
0.75	922.8	111.7	0.138
1.00	1033.7	132.5	0.130
1.25	1719.7	159.6	0.180
1.50	2567	207.4	0.206
2.00	6081	384.3	0.264
2.42	10693.4	756.6	0.240

Coil 1 ile gerçekleştirilen reaktif konsantrasyonu çalışmalarından elde edilen ve ***Şekil 8.21.***`de gösterilen deney sonuçlarından faydalanılarak çizilen grafikler ***Şekil 8.22.*** ve ***Tablo 8.13.***`deki veriler değerlendirildiğinde; gerek kullanılan reaksiyon hücresi (coil 1) reaktifler sebebiyle, farklı %FFA değerine sahip mısır yağı numunelerine ait gerekse piklerin birbirinden yeterince farklanmadığı ve elde edilen pik şekillerinin dik ve simetrik olmadıkları görülmektedir. R1 ve R2 reaktifleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda; reaktif bileşenlerini oluşturan baz (KOH) ve indikatör (PHP) konsantrasyonları, %FFA değerleri farklı yağ numunelerinin asitliklerini yeterince azaltabilecek konsantrasyonlarda olmadığından, özellikle daha düşük konsantrasyona sahip R1 reaktifi ile çalışıldığında yüksek %FFA içeriğine sahip yağ numunelerinin pikleri dikdörtgen şeklinde elde edilmiştir. R1 reaktifine kıyasla konsantrasyonu daha fazla olan R2 reaktifi ile çalışıldığında ise; pikler dikdörtgen bir görünüş sergilememiş, fakat bu kez de arkaya doğru bir kuyruklanma başlamıştır. R3 ve R4 reaktifleri ile kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda ise; reaktif konsantrasyonları, standart yağ numunelerindeki %FFA içeriklerine kıyasla oldukça konsantre kalmış ve yağ numunelerindeki %FFA azalışı, bu konsantre reaktifler yanında gözlenememiştir (herhangi bir pik gözlenememiştir).

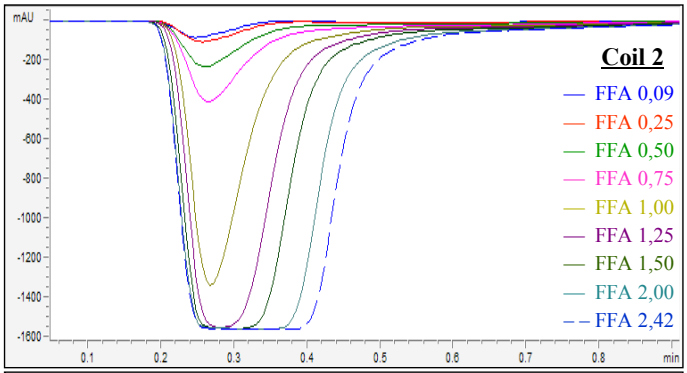
Reaksiyon hücresinin değiştirilmesi ve reaktif konsantrasyonlarında orantılı bir artışın yanı sıra ara değerlerin de kullanılmasıyla daha etkili sonuçlar alınacağı düşünülerek, Coil 2 ile reaksiyon konsantrasyonu çalışmalarına devam edilmiştir.

Coil 2 ile gerçekleştirilen reaktif konsantrasyonu çalışmaları:

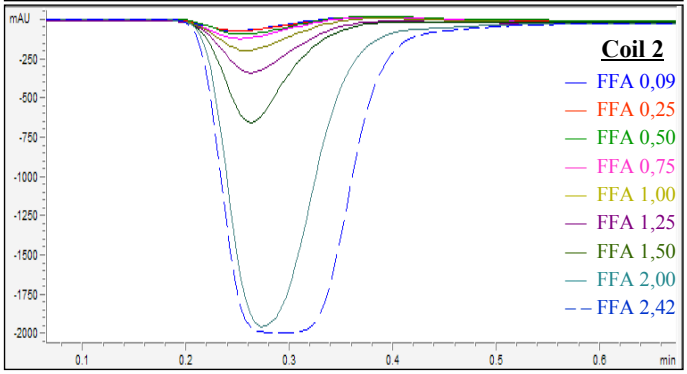
Tablo 8.14. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Mısır Yağı Kullanılarak Coil 2`de İncelenen Reaktif Konsantrasyonları

COIL 2		**R2:** 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP
		R3: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 18.75 x 10^{-5} M PHP
		R4: 5.00 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP
	PHP Konsantrasyonu Etkisi	**R5:** 2.50 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP
		R6: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP
		R7: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP
		R8: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP
		R9: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP
		R10: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP

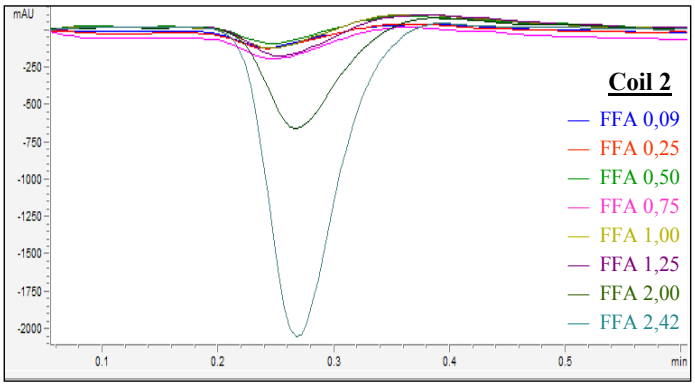
(a)



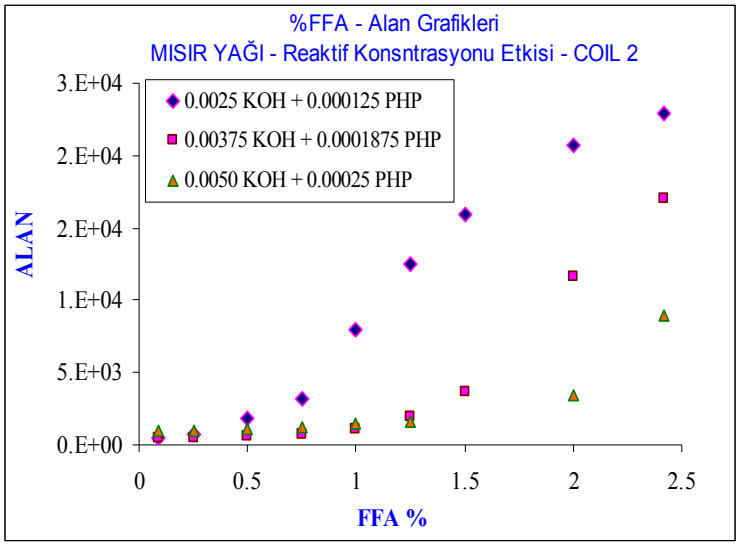
(b)



(c)



Şekil 8.23. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP **(b)** R3: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 18.75 x 10^{-5} M PHP **(c)** R4: 5.00 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP



REAKTİF	DENKLEM	R^2
0.0025 M KOH + 12,5.10^{-5} M PHP	y = -4708.6x3 + 17561x2 - 5933x + 890	R^2 = 0.9948
0.00375 M KOH + 18,75.10^{-5} M PHP	y = 349.73x3 + 3567.4x2 - 3930x + 1154.1	R^2 = 0,9887
0.0050 M KOH + 25.10-5 M PHP	y = 2250x3 - 5884.7x2 + 4557.8x + 327.39	R^2 = 0,9884

Şekil 8.24. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

Tablo 8.15. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

COIL 2 R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	435.8	85.4	0.085
0.25	772.0	106.8	0.120
0.50	1824.3	235.1	0.129
0.75	3140.9	413.0	0.127
1.00	8014.1	1333.9	0.100
1.25	12552.2	1555.0	0.134
1.50	15918.3	1555.8	0.170
2.00	20745.5	1566.3	0.221
2.42	22954.0	1566.4	0.244

COIL 2 R3: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 18.75 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	472.3	84.6	0.093
0.25	474.5	84.7	0.093
0.50	629.9	114.2	0.092
0.75	756.9	135.1	0.093
1.00	1059.7	207.7	0.085
1.25	1911.5	331.8	0.096
1.50	3719.6	665.0	0.093
2.00	11621.8	1958.6	0.099
2.42	17029.2	2003.2	0.142

COIL 2 R4: 5.00 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	967.0	161.1	0.100
0.25	941.1	161.0	0.097
0.50	1143.8	184.3	0.103
0.75	1207.3	210.4	0.096
1.00	1491.7	261.7	0.095
1.25	1590.1	278.2	0.095
2.00	3492.2	740.6	0.079
2.42	8955.4	2121.5	0.070

Coil 2 ile gerçekleştirilen reaktif konsantrasyonu çalışmalarından elde edilen sonuçlar ***(Tablo 8.15.)*** değerlendirildiğinde; coil 1 ile gerçekleştirilen deneylerde kullanılan R2 reaktifinin coil 2`de daha etkili olduğu görülmüş ve pikler istenildiği ölçüde birbirinden farklanmıştır, fakat deneylerde kullanılan reaksiyon hücresinin (coil 2), coil 1`e kıyasla daha kısa olması sebebiyle R2 reaktifi ile elde edilen pikler dik ve simetrik olarak elde edilememiş, reaksiyonun istenilen ölçüde meydana gelmediğini gösterir biçimde dikdörtgen şeklinde gözlenmiştir ***(Şekil 8.23.a.).*** R3 reaktifi kullanıldığında; pikler daha dik ve simetrik olarak elde edilebilmiş, fakat bu kez de farklı %FFA değerindeki yağ numunelerine ait pikler yeterince birbirinden farklanamamıştır ***(Şekil 8.23.b.).*** R2 ve R3 reaktiflerine göre daha konsantre olan R4 reaktifi kullanıldığında ise; %FFA değeri yüksek olan yağ numunelerine ait piklerde farklanma gözlenmiş ***(Şekil 8.23.c.),*** fakat daha düşük %FFA değerine sahip yağ numunelerinin piklerini farklandırmada R4 reaktifi etkili olamamıştır (reaktifin oldukça konsantre olması sebebiyle, küçük değişimler fark edilememiştir).

R2, R3 ve R4 reaktifleri ile coil 2`de gerçekleştirilen çalışmalardan, R2 ve R3 arasında bir reaktif konsantrasyonunun uygun olabileceği sonucuna varılmış ve bu iki reaktif içeriğindeki baz (KOH) konsantrasyonları sabit tutulup, indikatör (PHP) konsantrasyonlarının artırılmasıyla denemeler gerçekleştirilmiştir. Farklı indikatör (PHP) konsantrasyonlarında yürütülen çalışma sonuçları aşağıda yer almaktadır.

✦ ***İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Etkisini İncelemek Amacıyla Coil 2 ile gerçekleştirilen çalışmalar:***

R2 ve R3 reaktiflerindeki baz (KOH) konsantrasyonları sabit tutulup, indikatör konsantrasyonlarının değiştirilmesiyle 6 adet reaktif hazırlanmış ve %FFA tayini üzerine etkileri incelenmiştir. Hazırlanan reaktifler şunlardır:

R5: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP

R6: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP

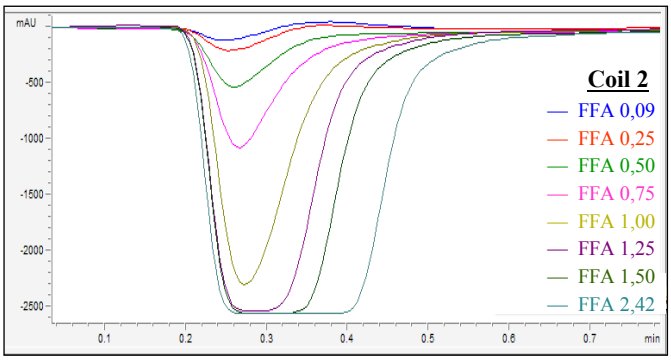
R7: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP

R8: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP

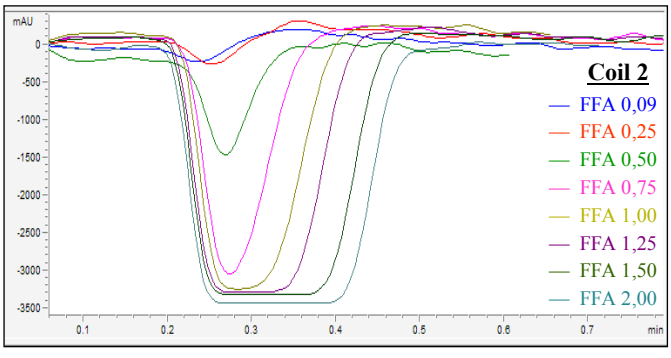
R9: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP

R10: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP

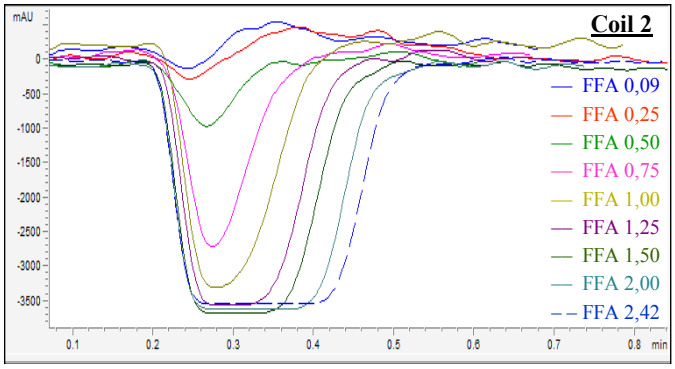
(a)



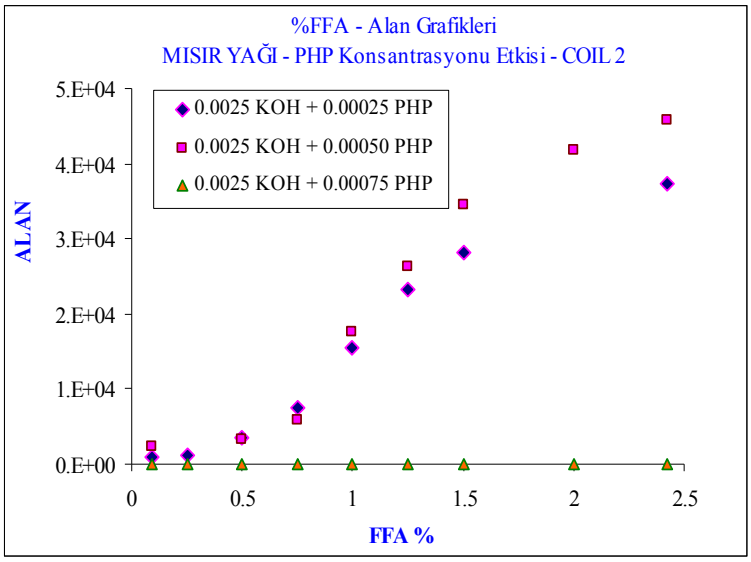
(b)



(c)



Şekil 8.25. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R5: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP **(b)** R6: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP **(c)** R5: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP



REAKTİF	DENKLEM	R^2
0.0025 M KOH + 25.10^{-5} M PHP	y = -9681.5x3 + 34086x2 - 11143x + 1758.4	R^2 = 0.9975
0.0025 M KOH + 50.10^{-5} M PHP	y = -11530x3 + 42158x2 - 17275x + 2945	R^2 = 0,9876
0.0025 M KOH + 75.10-5 M PHP	y = -0.0046x3 + 0.0281x2 + 0.0179x + 0.2425	R^2 = 0,985

Şekil 8.26. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları

Tablo 8.16. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

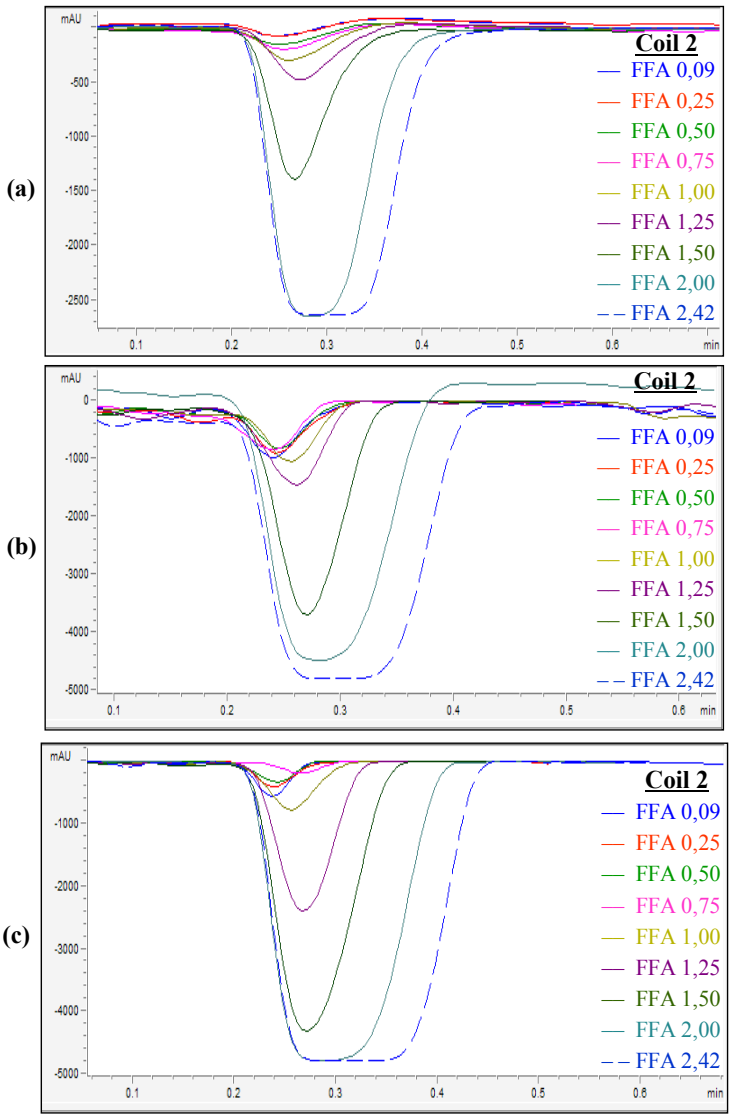
COIL 2 R5: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	968.2	166.7	0.097
0.25	1199.6	224.7	0.089
0.50	3574.8	518.2	0.115
0.75	7419.5	1074.8	0.115
1.00	15603.9	2301.5	0.113
1.25	23183.2	2547.3	0.152
1.50	28228.6	2562.0	0.184
2.42	37252.6	2556.3	0.243

COIL 2 R6: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	2365.2	428.3	0.092
0.50	3170.8	582.1	0.091
0.75	5871.3	1450.0	0.068
1.00	17610.1	3298.6	0.089
1.25	26355.7	3480.4	0.126
1.50	34493.8	3557.2	0.162
2.00	41719.9	3490.0	0.199

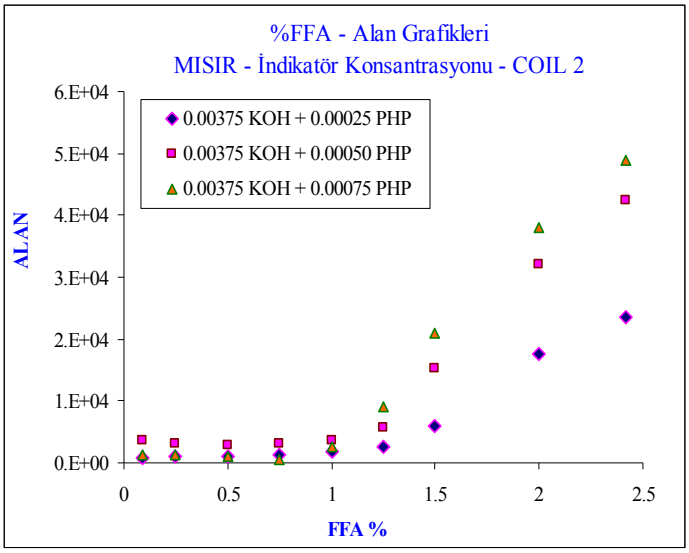
COIL 2 R7: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	3085.9	585.6	0.091
0.25	5003.7	760.5	0.110
0.50	4582.6	966.2	0.079
0.75	15878.9	2868.5	0.092
1.00	26561.2	3805.4	0.123
1.25	32835.1	3553.0	0.154
1.50	40312.5	3672.2	0.183
2.00	46857.1	3579.7	0.218
2.42	51005.4	3539.9	0.240

Coil 2 ile gerçekleştirilen çalışmaların devamını kapsayan, indikatör konsantrasyonunun etkisinin incelenmesi amacıyla yürütülen çalışmalar sonucunda; öncelikle R2 reaktifindeki baz (KOH) konsantrasyonunun sabit tutulması ve indikatör konsantrasyonunun orantılı bir şekilde artırılmasıyla hazırlanan reaktiflerin %FFA tayinleri üzerine etkisi incelenmiş, indikatör konsantrasyonu 25.00 x10^{-5} mol/L olan R5 reaktifi ile elde edilen sonuçların, diğerlerine kıyasla daha uygun olduğu görülmüştür ***(Şekil 8.25.a.).***

Coil 2 ile yapılan çalışmalarda hangi reaktifin daha etkili olduğuna karar verebilmek için; indikatör konsantrasyonu etkisinin incelendiği çalışmaların bir sonraki aşamasını teşkil eden, R3 reaktifindeki baz (KOH) konsantrasyonunun sabit tutulup, indikatör konsantrasyonunun orantılı bir şekilde artırılmasıyla hazırlanan reaktiflerin deneylerde kullanılmasına geçilmiştir.



Şekil 8.27. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R8: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP **(b)** R9: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP **(c)** R10: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP



REAKTİF	DENKLEM	R^2
0.00375 M KOH + 25.10^{-5} M PHP	y = -426.72x3 + 8210.7x2 - 8236.2x + 2242.8	R^2 = 0.9802
0.00375 M KOH + 50.10^{-5} M PHP	y = -3224.4x3 + 23253x2 - 22188x + 6673.2	R^2 = 0,9839
0.00375 M KOH + 75.10-5 M PHP	y = -7230.1x3 + 38137x2 - 31866x + 5744.7	R^2 = 0,9902

Şekil 8.28. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları

R3 reaktifindeki baz (KOH) konsantrasyonunun sabit tutulup, indikatör konsantrasyonunun orantılı bir şekilde artırılmasıyla hazırlanan reaktiflerin %FFA tayinleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar sonucunda; indikatör konsantrasyonu etkisinin incelendiği bir önceki grup deneylerinde de olduğu gibi, indikatör konsantrasyonu 25.00 x10^{-5} mol/L olan R8 reaktifi ile elde edilen sonuçların diğerlerine kıyasla daha uygun olduğu görülmüş, indikatör konsantrasyonu arttıkça pik şekillerinin bozulmaya başladığı tespit edilmiştir.

İndikatör konsantrasyonu etkisini incelemek amacıyla 6 farklı reaktifin kullanıldığı deneyler sonunda; gerek 2.50 x10^{-3} M KOH gerekse 3.75 x10^{-3} M KOH konsantrasyonuna sahip çözeltilerle hazırlanan reaktiflerden 25.00 x10^{-5} mol/L indikatör konsantrasyonuna sahip çözeltiler etkili bulunmuş, fakat birbirinden istenilen ölçüde farklanabilen pikler, dik ve simetrik olarak gözlenememiştir ***(Şekil 8.27.a.).***

Tablo 8.17. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen İndikatör (PHP) Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

COIL 2 R8: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	824.5	156.8	0.088
0.25	952.0	166.0	0.096
0.50	1032.7	195.5	0.088
0.75	1242.7	234.1	0.088
1.00	1747.6	340.1	0.086
1.25	2479.2	510.3	0.081
1.50	5837.6	1389.0	0.070
2.00	17480.3	2654.5	0.110
2.42	23494.1	2666.7	0.147

COIL 2 R9: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 50.00 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	3492.3	988.1	0.059
0.25	3089.8	905.2	0.057
0.50	2748.4	823.9	0.056
0.75	3216.1	847.7	0.063
1.00	3558.1	1057.0	0.056
1.25	5579.7	1472.7	0.063
1.50	15222.2	3716.3	0.068
2.00	32180.5	4769.9	0.112
2.42	42338.2	4777.1	0.148

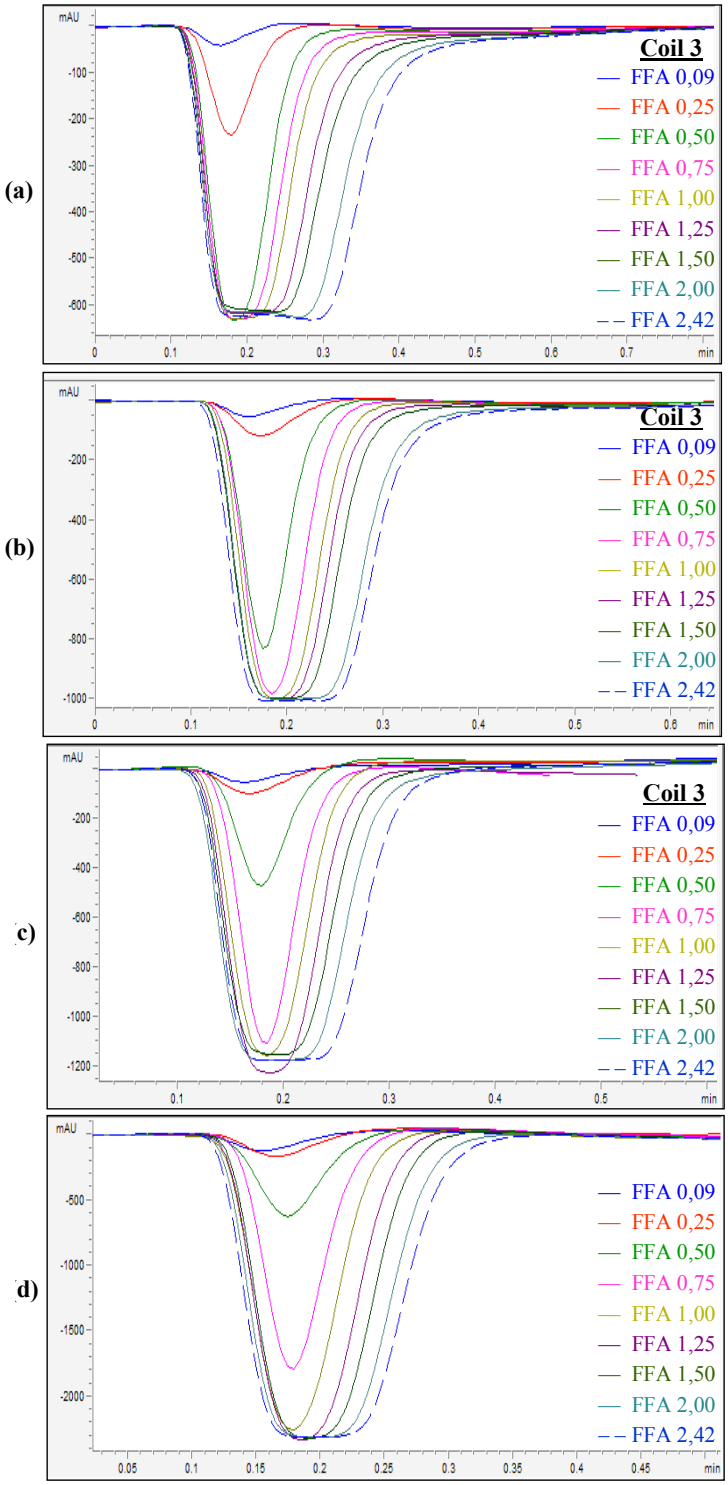
COIL 2 R10: 3.75 x 10^{-3} M KOH + 75.00 x 10^{-5} M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	1415.1	573.3	0.041
0.25	1186.0	411.3	0.048
0.50	971.1	339.5	0.048
0.75	530.3	192.0	0.046
1.00	2618.1	778.2	0.056
1.25	9046.9	2409.3	0.063
1.50	21056.2	4317.5	0.081
2.00	38034.2	4794.1	0.132
2.42	48798.1	4783.7	0.170

Bu hususlar doğrultusunda; reaktif çözeltilerinin hazırlanması için gerekli bazı (KOH) fazla kullanmamak amacıyla, daha düşük baz konsantrasyonuna sahip R5 reaktifinin kullanılmasının uygun olduğu sonucuna varılmış ve çalışmalara daha küçük iç çapa sahip bir reaksiyon hücresi ile devam edilmiştir.

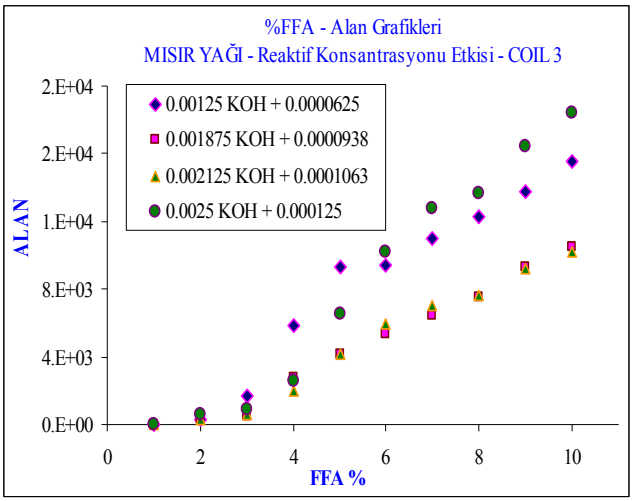
Coil 3 ile gerçekleştirilen reaktif konsantrasyonu çalışmaları:

Tablo 8.18. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Mısır Yağı Kullanılarak Coil 3`de İncelenen Reaktif Konsantrasyonları

COIL 3	**R1:** 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP
	R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP
	R11: 1.25 x 10^{-3} M KOH + 6.25 x 10^{-5} M PHP
	R12: 1.88 x 10^{-3} M KOH + 9.38 x 10^{-5} M PHP



Şekil 8.29. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 2 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R1: 2.12 x 10^{-3} M KOH + 10.63 x 10^{-5} M PHP **(b)** R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP **(c)** R11: 1.25 x 10^{-3} M KOH + 6.25 x 10^{-5} M PHP **(d)** R12: 1.88 x 10^{-3} M KOH + 9.38 x 10^{-5} M PHP



REAKTİF	DENKLEM	R^2
0.00125 M KOH + 6,25.10^{-5} M PHP	y = 1983.7x3 - 10049x2 + 19909x - 1818.9	R^2 = 0.9889
0.001875 M KOH + 9,38.10^{-5} M PHP	y = 118.42x3 - 1401.6x2 + 7329.8x - 695.88	R^2 = 0,9958
0.002125 M KOH + 10,63.10^{-5} M PHP	y = -356.7x3 + 25.241x2 + 6452.7x - 662.2	R^2 = 0,9897
0.0025 M KOH + 12,5.10^{-5} M PHP	y = -1417x3 + 3192.1x2 + 8416x - 939.4	R^2 = 0,9851

Şekil 8.30. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 3 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklem & Korelasyon Katsayıları

Tablo 8.19. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 3 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

COIL 3
R1: 2.12 x 10-3 M KOH + 10.63 x 10-5 M PHP

%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	657.1	150.5	0.073
0.25	716.5	171.2	0.070
0.50	954.3	223.2	0.071
0.75	1288.1	310.6	0.069
1.00	3143.5	920.2	0.057
1.25	7291.8	2091.2	0.058
1.50	9468.8	2298.8	0.069
2.00	12459.7	2354.5	0.088
2.42	13804.2	2361.4	0.097

COIL 3
R2: 2.50 x 10-3 M KOH + 12.50 x 10-5 M PHP

%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	255.4	60.8	0.070
0.25	503.9	116.4	0.072
0.50	2796.4	811.3	0.058
0.75	4202.9	984.4	0.071
1.00	5390.5	1001.6	0.090
1.25	6412.2	1001.1	0.107
1.50	7534	1001.1	0.125
2.00	9304.4	1006.5	0.154
2.42	10520.4	1011.6	0.173

COIL 3
R11: 1.25 x 10-3 M KOH + 6.25 x 10-5 M PHP

%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	341.7	70.6	0.081
0.25	632.9	128	0.082
0.50	1935.9	516.2	0.062
0.75	4141	1125.6	0.061
1.00	5892.8	1193.7	0.082
1.25	7065.2	1230.7	0.096
1.50	7661.3	1161.2	0.110
2.00	9167.2	1180.7	0.129
2.42	10206	1188.8	0.143

COIL 3
R12: 1.88 x 10-3 M KOH + 9.38 x 10-5 M PHP

%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	640.6	157.1	0.068
0.25	929.5	212.7	0.073
0.50	2571.1	668.2	0.064
0.75	6503.1	1855.8	0.058
1.00	10155.3	2292	0.074
1.25	12771.3	2393.1	0.089
1.50	13690.3	2338	0.098
2.00	16429.1	2324.2	0.118
2.42	18454.9	2332.1	0.132

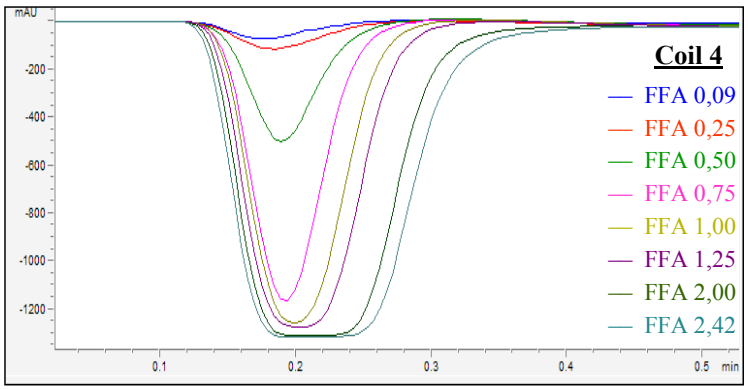
Coil 1 ve coil 2 ile yürütülen çalışmalarda da kullanılan R1 ve R2 reaktifinin yanı sıra, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan R11 ve R12 reaktiflerinin de kullanılmasıyla gerçekleştirilen deneyler sonucunda; düşük bir indikatör konsantrasyonuna sahip olmasına rağmen, yine 2.50 x10^{-3} M KOH konsantrasyonuna sahip R2 reaktifi ile en uygun sonuçlar elde edilmiştir ***(Şekil 8.29.b.)***. Önceki çalışmalarla birlikte bir değerlendirme yapılacak olursa; indikatör konsantrasyonunun reaktif çözeltisinde bulunan baz (KOH) konsantrasyonu kadar etkili olduğu görülmüş ve uygun bir coil olduğu düşünülen coil 3 ile çalışıldığında indikatör konsantrasyonunun biraz daha artırılması ile (R5 reaktifi düzeyinde) çok daha etkili sonuçlar alınabileceğine karar verilmiştir.

Coil 3`ün manuel enjeksiyonlu %FFA tayinleri için uygunluğuna karar verilmesine rağmen, yeni hazırlanan bir reaksiyon hücresinin daha R2 reaktifi ile etkinliği araştırılmak istenmiştir.

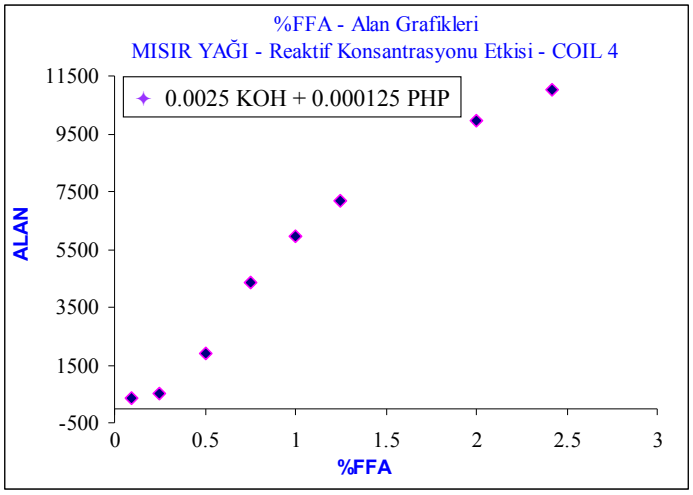
<u>Coil 4 ile gerçekleştirilen reaktif konsantrasyonu çalışmaları:</u>

Tablo 8.20. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Mısır Yağı Kullanılarak Coil 4`de İncelenen Reaktif Konsantrasyonları

COIL 4	**R2:** 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP



Şekil 8.31. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 4 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Pikler, R2: 2.50 x 10^{-3} M KOH + 12.50 x 10^{-5} M PHP



REAKTİF	DENKLEM	R^2
0.0025 M KOH + 12,5.10^{-5} M PHP	y = -631.89x3 + 1085.5x2 + 5812.4x - 627.03	R^2 = 0.9919

Şekil 8.32. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 4 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Deneylerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafiği ve Grafiğe Ait Denklem & Korelasyon Katsayısı

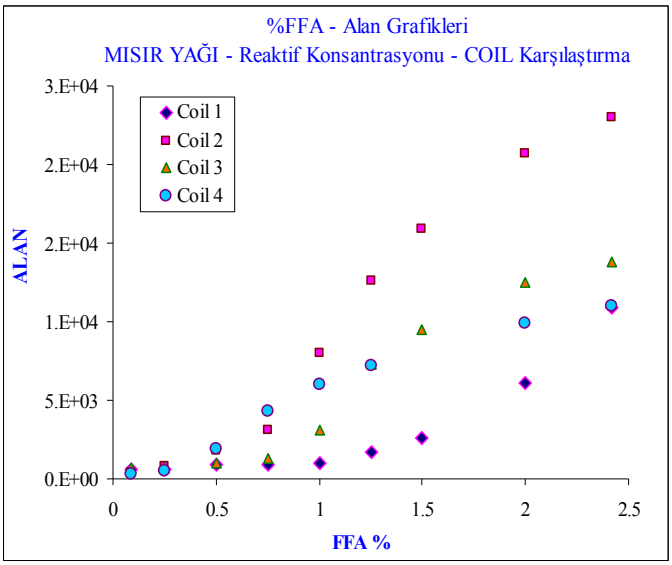
Tablo 8.21. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde Coil 4 Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaktif Konsantrasyonu Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

COIL 4 R2: 2.50 x 10-3 M KOH + 12.50 x 10-5 M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	329.9	77.9	0.070
0.25	524.0	117.4	0.074
0.50	1908.6	515.3	0.062
0.75	4337.0	1173.2	0.062
1.00	5962.1	1271.4	0.078
1.25	7205.5	1284.3	0.094
2.00	9936.9	1315.3	0.126
2.42	10997.7	1309.8	0.140

Coil 4 ile gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda; coil 3 kullanıldığında elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar alınmış ***(Şekil 8.31.),*** bu sebeple aynı iç çapa sahip bu reaksiyon hücrelerinden coil 3`e nazaran daha uzun olan coil 4`ün, elde edilecek piklerin yayvanlaşmasına sebep olabileceği düşüncesiyle kullanımına gerek duyulmamıştır.

R2 reaktifi ile farklı reaksiyon hücrelerinde gerçekleştirilen %FFA tayini çalışmaları:

Yukarıda detaylı bir şekilde açıklanan reaksiyon hücresi ve reaktif konsantrasyonu etkilerinin incelendiği çalışmalar sonucunda; aynı reaktif konsantrasyonuna çözeltiler kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyon hücresi (coil) çalışmaları karşılaştırılmaya çalışılmıştır.



Reaksiyon Hücresi	DENKLEM	R^2
COIL 1	y = 1142.1x3 - 1313.1x2 + 778.69x + 548.74	R^2 = 0.9996
COIL 2	y = -4708.6x3 + 17561x2 - 5933x + 890	R^2 = 0,9948
COIL 3	y = -3635.5x3 + 14255x2 - 8218.7x + 1552	R^2 = 0,9883
COIL 4	y = -631.89x3 + 1085.5x2 + 5812.4x - 627.03	R^2 = 0,9919

Şekil 8.33. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde R2 Reaktifi Kullanılarak Farklı Reaksiyon Hücrelerinde (Coil) Gerçekleştirilen Mısır Yağı %FFA Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Alan Grafiği ve Grafiğe Ait Denklem & Korelasyon Katsayısı

Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde kullanmak için uygun bulduğumuz R5 reaktifi bu karşılaştırmada yer almamasına rağmen; yine de R5 reaktifindeki baz (KOH) konsantrasyonunun bulunması sebebiyle bir kıyaslama yapılmıştır.

Her bir coilde R2 reaktifinin kullanılmasıyla gerçekleştirilen deneyler sonunda çizilen coil karşılaştırma grafiklerinde ***(Şekil 8.33.)***; coil 1`e ait eğrinin hem eğiminin hem de regresyon katsayısının oldukça büyük olduğu görülmektedir. Fakat daha önce de belirtildiği üzere; sonuçların değerlendirilmesinde bir çok husus göz

önünde bulundurulmalı ve tüm detaylar incelendikten sonra karar verilmelidir. Coil 1`de R2 reaktifi kullanılarak elde edilen piklere bakılacak olursa, iç çapı ve uzunluğu sebebiyle coil 1`in %FFA tayinleri için uygun olmadığı rahatlıkla görülebilir.

Tablo 8.22. Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayininde R2 Reaktifi Kullanılarak Farklı Reaksiyon Hücrelerinde (Coil) Gerçekleştirilen Mısır Yağı %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Piklerin Alan, Yükseklik ve Yarı Pik Genişliği Değerleri

COIL 1 R2: 2.50 x 10-3 M KOH + 12.50 x 10-5 M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	584.6	69.7	0.140
0.25	649.0	75.2	0.144
0.50	858.9	98.0	0.146
0.75	922.8	111.7	0.138
1.00	1033.7	132.5	0.130
1.25	1719.7	159.6	0.180
1.50	2567.0	207.4	0.206
2.00	6081.0	384.3	0.264
2.42	10893.4	756.6	0.240

COIL 2 R2: 2.50 x 10-3 M KOH + 12.50 x 10-5 M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	435.8	85.4	0.085
0.25	772.0	108.8	0.120
0.50	1824.3	235.1	0.129
0.75	3140.9	413.0	0.127
1.00	8014.1	1333.9	0.100
1.25	12552.2	1555.0	0.134
1.50	15918.3	1555.8	0.170
2.00	20745.5	1566.3	0.221
2.42	22954.0	1566.4	0.244

COIL 3 R2: 2.50 x 10-3 M KOH + 12.50 x 10-5 M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	640.6	157.1	0.068
0.25	929.5	212.7	0.073
0.50	2571.1	668.2	0.064
0.75	6503.1	1855.8	0.058
1.00	10155.3	2292.0	0.074
1.25	12771.3	2393.1	0.089
1.50	13690.3	2338.0	0.098
2.00	16429.1	2324.2	0.118
2.42	18454.9	2332.1	0.132

COIL 4 R2: 2.50 x 10-3 M KOH + 12.50 x 10-5 M PHP			
%FFA	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
0.09	329.9	77.9	0.071
0.25	524.0	117.4	0.074
0.50	1908.6	515.3	0.062
0.75	4337.0	1173.2	0.062
1.00	5962.1	1271.4	0.078
1.25	7205.5	1284.3	0.094
2.00	9936.9	1315.3	0.126
2.42	10997.7	1309.8	0.140

Gerek ayçiçek gerekse mısır yağları kullanılarak gerçekleştirilen optimizasyon deneyleri sonucunda; uygun taşıyıcı faz akış hızı: 2mL/ dk, uygun reaksiyon hücresi: coil 3 ve uygun reaktif konsantrasyonu: R5, 2.50 x 10^{-3} M KOH + 25.00 x 10^{-5} M PHP olarak bulunmuştur.

Manuel enjeksiyonla gerçekleştirilen deneyler, otomatik enjeksiyonla gerçekleştirilecek FIA analizlerine yön veren iyi bir çalışma olmuş ve gerek reaktif kullanımını azaltan, gerekse elde edilen sonuçların daha geniş bir aralıkta kullanımına olanak sağlayan otomatik enjektörlü sistemlere geçiş yapılmıştır.

8.5.2. Otomatik enjeksiyonlu %FFA Tayini

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinin gerçekleştirilmesinde kullanılan otomatik numune verici ile oluşturulan numune verme (100 µL`ye kadar) programları sayesinde, yağ numunelerinin enjeksiyonunda yeni teknikler geliştirilmiş ve insan müdahalesinin minimum düzeyde tutulduğu tayinlerden uygun ve kullanılabilir deney sonuçları elde edilebilmiştir.

8.5.2.1. % FFA tayini için modifiye HPLC sisteminin kullanılışı

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde, sisteme yerleştirilen (kolon fırını içine yerleştirilen 2-pozisyon/6-portlu bir mikro valfin 2 portu arasına adapte edilmiştir) paslanmaz çelikten yapılmış farklı iç çapa sahip looplar reaksiyon hücresi olarak kullanılmıştır[31].

Ayrıca; otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde deney sonuçlarının görselleştirilmesinde; UV dedektörün yanı sıra DAD dedektör ile de çalışmalar yürütülmüş ve dedektör etkinliği üzerine yorumlar yapılmıştır.

8.5.2.2. % FFA tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi

Manuel enjeksiyonlu deneylere kıyasla çok sayıda parametrenin optimize edildiği otomatik enjeksiyonlu deneylerde en önemli aparat şüphesiz ki otomatik numune verici olmuştur.

Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinden farklı bir yaklaşımla gerçekleştirilen deneylerde; n-propanol taşıyıcı faz olarak, n-propanolde çözülerek hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki KOH ve indikatör (PHP ve/veya BTB) içeren çözeltiler ise reaktif olarak kullanılmıştır. Bu sebeple; manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerindekinin aksine, otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde pozitif pikler elde edilmiş ve kullanılan baz (KOH) ve indikatör miktarları da mikro seviyeye indirilebilmiştir.

---

[31] Modifiye HPLC sisteminin kullanıldığı yağ analizlerinde, sistem bağlantılarında herhangi bir değişiklik yapılmamış, sadece akış yollarının değiştirilmesi ve/veya portatif parçaların sisteme ilavesi ile analizler yürütülmüştür.

Ayrıca; mikro seviyede tutulan numune ve reaktiflerin sisteme enjeksiyonu, yapılan programlama ile reaktif/numune/reaktif sıralamasıyla oluşturulan karışımın enjeksiyonu şeklinde gerçekleştirilmiş, böylece; reaksiyonun istenilen ölçüde oluşumu sağlanarak, elde edilen piklerin daha dik ve simetrik olmaları sağlanmış, sonuçların tekrarlanabilirliği artmıştır.

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinine ilişkin optimizasyon çalışmaları mısır yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilmiş, optimize edilen parametre değerleri mısır yağının yanı sıra Türkiye`de tüketimi yaygın olan ayçiçek, soya, kanola, yer fıstığı yağı gibi yağların %FFA içeriklerinin tespit edilmesinde de uygulanmıştır.

Deney parametrelerinin optimizasyonunda, farklı FFA değerine sahip yağ numunelerine ait piklerin birbirinden farklanması ve reaksiyon oluşumunun gerçekleştiğini gösteren gauss şeklinde piklerin daha dik simetrik olarak elde edilmesi baz alınmıştır.

Otomatik enjeksiyonlu %FFA deneyleri için yürütülen optimizasyon çalışmaları; fenolftaleyn (PHP) ve bromtimol mavisi (BTB) ile gerçekleştirilen deneyler olmak üzere iki kısımda incelenmiştir. Deneyler; manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinden tespit edilen 2 mL/dk akış hızında gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca; optimizasyon çalışmaları olarak nitelendirilmemekle birlikte; farklı çözücü (n-propanol ve etil alkol-dietil eter karışımı), farklı dedektör (UV ve DAD dedektör) ve enjeksiyon bloğunda yapılan ön karıştırma işlemi (karıştırmalı ve karıştırmasız) etkileri de %FFA tayininde çalışılan parametreler arasındadır.

8.5.2.2.1. Numune ve reaktif hacmi etkisi

Numune enjeksiyonunun gerçekleştirilmesinde; gerek reaktif miktarının minimum düzeyde tutulması, gerekse numune-reaktif arasındaki dağılımın istenilen ölçüde sağlanması amacıyla; enjektörle geliştirilen programlar sayesinde numune enjeksiyonuna ilişkin yeni teknikler geliştirilmiş, reaktif/numune/reaktif sıralamasına dayalı bir enjeksiyon yapılmıştır. Denylerin gerçekleştirilmesinde 50 µL loop kullanılmıştır.

Tayinler sonunda elde edilecek piklerin şekli ve istenilen reaksiyonun oluşumu numune hacmi ile yakından ilişkilidir. Otomatik enjeksiyonlu FFA tayinlerinde numune hacmi etkisi, reaktif hacmi ile birlikte incelenmiş ve istenilen reaksiyon oluşumunun en iyi olduğu, farklı FFA değerindeki yağ numunelerine ait pikleri farklandırmada etkili reaktif/numune/reaktif oranı tercih edilmiştir.

Tablo 8.23. PHP ve BTB İndikatörleri ile Gerçekleştirilen Otomatik enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaktifler

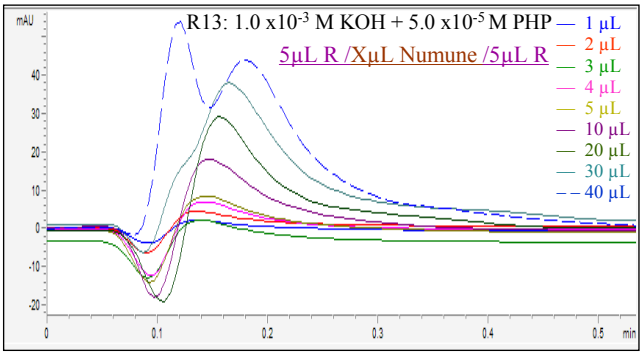
PHP & BTB indikatörlü %FFA tayinlerinde kullanılan reaktifler	REAKTİF KONSANTRASYONLARI		
	Reaktif	**[KOH], mol/L**	**[PHP], mol/L**
	R13	1.0×10^{-3}	5.0×10^{-5}
	R14	1.5×10^{-3}	7.5×10^{-5}
	R15	2.0×10^{-3}	10.0×10^{-5}
	R16	2.5×10^{-3}	12.5×10^{-5}
	R17	3.0×10^{-3}	15.0×10^{-5}
	R16	4.0×10^{-3}	20.0×10^{-5}
	R19	5.0×10^{-3}	25.0×10^{-5}

Tablo 8.24. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Mısır Yağı Kullanılarak (FFA: 0.09 ± 1.71x10-3) Farklı Reaktifler ile İncelenen Numune ve Reaktif Miktarları

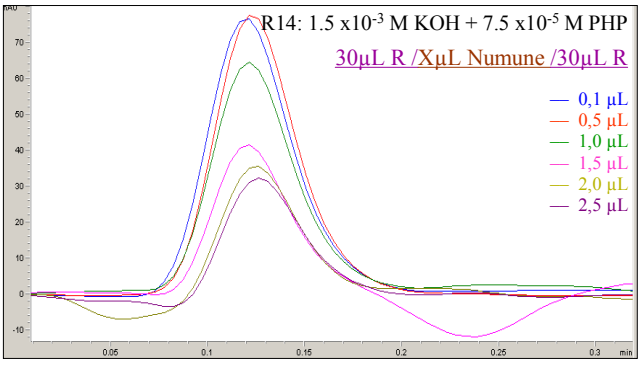
	Reaktif // Numune // Reaktif		
R13: 1.0×10^{-3} M KOH + 5.0×10^{-5} M PHP	5 µL 10 µL 15 µL	1-2-3-4-5 10-20-30-40 µL	5 µL 10 µL 15 µL
R14: 1.5×10^{-3} M KOH + 7.5×10^{-5} M PHP	30 µL	0,1-0,5-1-1,5-2-2,5 µL	30 µL
R15: 2.0×10^{-3} M KOH + 10.0×10^{-5} M PHP	30 µL	0,1-1-5-10-30 µL	30 µL
R16: 2.5×10^{-3} M KOH + 12.5×10^{-5} M PHP	30 µL	0,1-1-10 µL	30 µL
R17: 3.0×10^{-3} M KOH + 15.0×10^{-5} M PHP	30 µL	0,1-1-5 µL	30 µL
R18: 4.0×10^{-3} M KOH + 20.0×10^{-5} M PHP	30 µL	0,1-1-5 µL	30 µL
R19: 5.0×10^{-3} M KOH + 25.0×10^{-5} M PHP	30 µL	0,1-1-5 µL	30 µL

Hem PHP hem de BTB indikatörü ile gerçekleştirilen deneylerde ***Tablo 8.23.***`de belirtilen, konsantrasyonları orantılı bir şekilde hazırlanan reaktiflerin etkileri incelenmiştir. Örnek olması açısından; PHP indikatörü ile FFA: 0.09 ± 1.71×10^{-3} değerine sahip mısır yağı numunesi kullanılarak gerçekleştirilen numune ve reaktif hacmi optimizasyon deney sonuçları aşağıda verilmiştir.

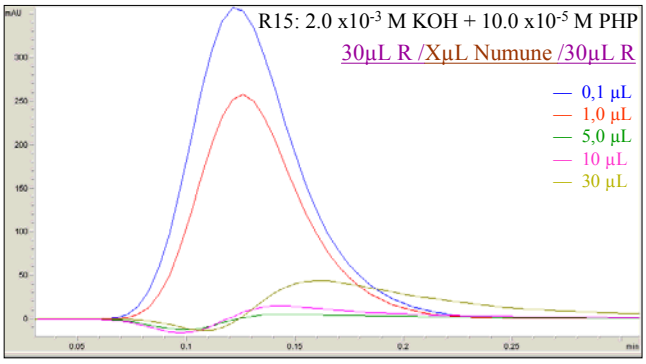
(a)



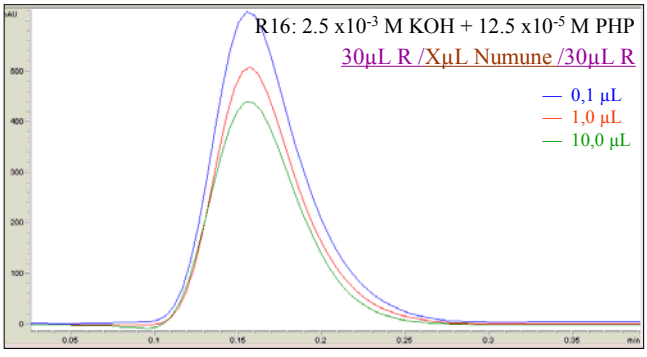
(b)

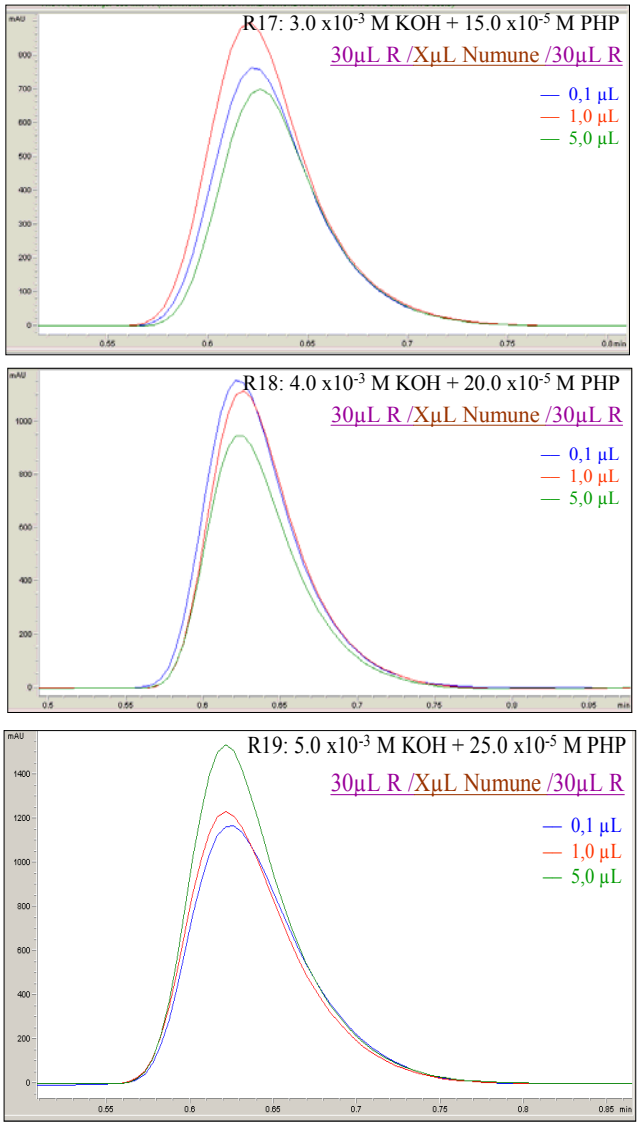


(c)



(d)





Şekil 8.34. PHP İndikatörü ile Gerçekleştirilen Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Mısır Yağı Kullanılarak (%FFA: 0.09 ± 1.71x10^{-3}) Farklı Reaktifler ile İncelenen Numune ve Reaktif Hacmi Etkisi Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** R13: 1.0 x10^{-3} M KOH + 5.0 x10^{-5} M PHP **(b)** R14: 1.5 x10^{-3} M KOH + 7.5 x10^{-5} M PHP **(c)** R15: 2.0 x10^{-3} M KOH + 10.0 x10^{-5} M PHP **(d)** R16: 2.5 x10^{-3} M KOH + 12.5 x10^{-5} M PHP **(e)** R17: 3.0 x10^{-3} M KOH + 15.0 x10^{-5} M PHP **(f)** R18: 4.0 x10^{-3} M KOH + 20.0 x10^{-5} M PHP **(g)** R19: 5.0 x10^{-3} M KOH + 25.0 x10^{-5} M PHP

PHP indikatörü ile gerçekleştirilen otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde, reaktif ve numune hacimlerinin etkilerinin incelendiği optimizasyon çalışmaları sonucunda; hem PHP hem de BTB indikatörleri temelinde yürütülen çalışmalar için kullanılabilecek en uygun reaktif/numune/reaktif hacim oranının **30µL reaktif / 1µL numune / 30µL reaktif** olduğu görülmüştür.

Manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde olduğu gibi konsantrasyon değerleri **R16:** 2.5 x10^{-3} M KOH + 12.5 x10^{-5} M PHP ***(Şekil 8.34.d.)*** ve **R17:** 3.0 x10^{-3} M KOH + 15.0 x10^{-5} M PHP ***(Şekil 8.34.e.)*** olan reaktiflerle dik ve simetrik pikler elde edilebilmiş ve reaktifler, farklı hacimlerde enjekte edilen numuneleri istenilen ölçüde farklandırabilmiştir. Fakat; R17 reaktifi ile gerçekleştirilen numune ve reaktif hacmi deneylerinde, farklı numune hacimleri için elde edilen pikler beklenilen sırada çıkmamış, en yüksek piki vermesi beklenilen 0.1 µL numune hacmine ait pik orta sırada yer almıştır. Bu sebeple; tıpkı manuel enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde olduğu gibi; **R16:** 2.5 x10^{-3} M KOH + 12.5 x10^{-5} M PHP reaktifinin baz (KOH) konsantrasyonu sabit tutulmuş ve indikatör konsantrasyonu artırılarak denemeler gerçekleştirilmiştir.

8.5.2.2.2. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi

Enjekte edilen yağ numuneleri ile reaktif arasındaki dağılımın istenilen ölçüde sağlanması açısından, kullanılacak reaksiyon hücresi oldukça önem arz etmektedir. Bu amaçla; deneylerde farklı hacimlere sahip üç loop (50µL-200µL-500µL hacme sahip) reaksiyon hücresi olarak kullanılmış ve tayin üzerine olan etkileri incelenmiştir. Kullanılan looplar; organik çözücüler, kuvvetli asit ve bazlar ile etkileşmesi neticesinde herhangi bir olumsuz etki göstermeyen ve sıcaklık değişimlerinden etkilenmeyen bir özelliğe sahiptir.

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinleri için reaksiyon hücresi optimizasyon deneylerinde kullanılan reaksiyon hücreleri ***Şekil 8.35.*** `de görülmektedir.



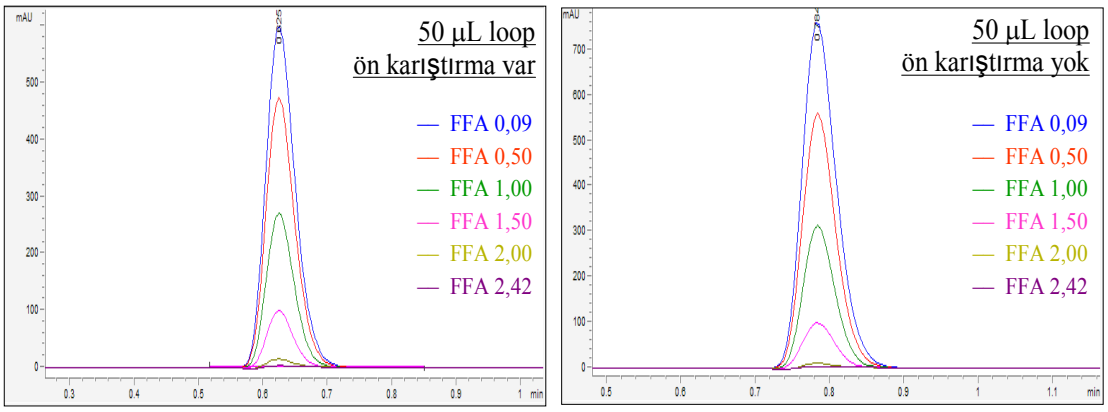
Şekil 8.35. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Kullanılan Reaksiyon Hücreleri

İstenilen reaksiyon oluşumunu gerçekleştirecek reaktif/numune/reaktif karışımının reaksiyon hücrelerine gönderilmesinden önce, reaksiyon oluşumu üzerine etkisi olabilecek bir husus daha değerlendirilmiş ve reaktif-numune-reaktif içeren kısım,

enjeksiyon bloğunda bir ön karıştırma yapıldıktan sonra, bir de yapılmadan reaksiyon hücresine gönderilerek, ön karıştırmanın reaksiyon oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir.

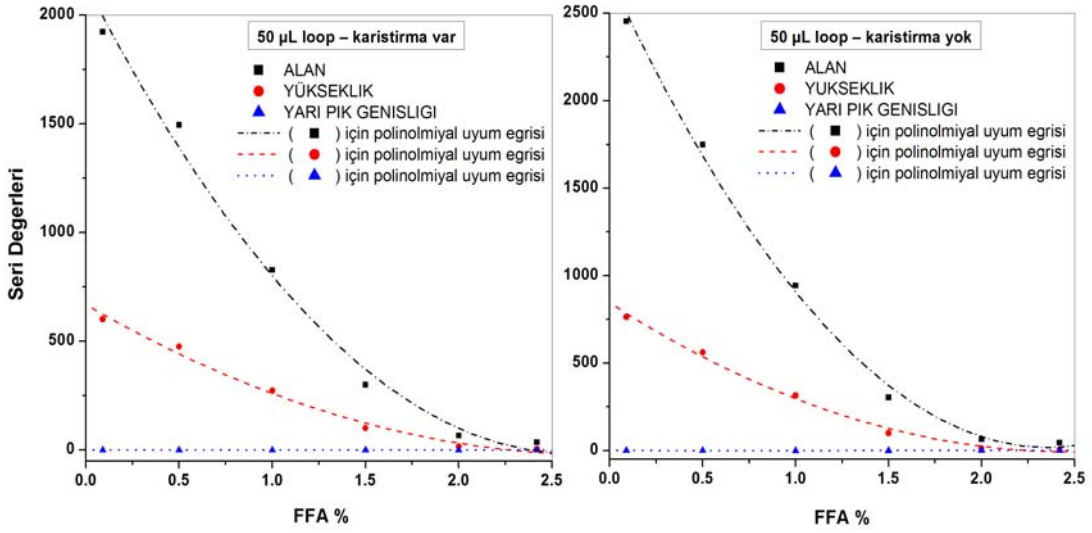
Reaksiyon hücresi etkisinin incelendiği çalışmalar; PHP indikatörü ile gerçekleştirilen %FFA tayinleri için yürütülmüş ve denemeler sonunda kullanımı uygun görülen reaksiyon hücresi (loop), BTB indikatörü kullanılarak gerçekleştirilen tayinlerde de herhangi bir problemle karşılaşılmadan kullanılmıştır. Mısır yağı numuneleri kullanılarak (%FFA: 0.09-2.42) enjeksiyon bloğunda ön karıştırmalı ve ön karıştırmasız olarak gerçekleştirilen, PHP indikatörünün kullanıldığı otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde; 50µL-200µL-500µL hacme sahip üç loop ile gerçekleştirilen reaksiyon hücresi çalışmalarına ait sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

50 µL loop ile gerçekleştirilen reaksiyon hücresi çalışmaları:



(a) **(b)**

Şekil 8.36. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 50 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** ön karıştırma var **(b)** ön karıştırma yok



Şekil 8.37. 50 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı Üzerinde Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Optimizasyon Deneyleri
Taşıyıcı: n-propanol, Numune Hacmi: 1 µL
Reaktif: 2.50x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)
Numune Enjeksiyonu: 30 µL reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Akış Hızı: 2 mL/dk
FFA: 0.09-2.42

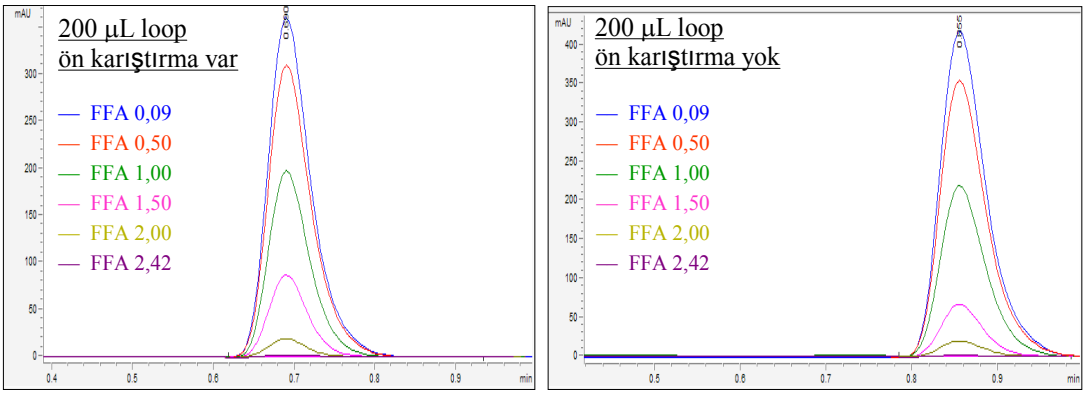
Tablo 8.25. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 50 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	50 µL LOOP REAKSİYON HÜCRESİ (karıştırma var)				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.625	1922.4	601.5	0.0489	0.769
0.50	0.626	1494.9	475.5	0.0498	0.769
1.00	0.627	827.8	272.7	0.0471	0.780
1.50	0.631	299.8	101.0	0.0463	0.748
2.00	0.636	66.7	16.4	0.0591	0.419
2.42	0.636	36.3	5.4	0.0900	0.236
	50 µL LOOP REAKSİYON HÜCRESİ (karıştırma yok)				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.784	2454.0	763.7	0.0491	0.756
0.50	0.786	1748.4	560.8	0.0495	0.769
1.00	0.786	943.1	314.1	0.0467	0.794
1.50	0.792	304.0	100.0	0.0471	0.749
2.00	0.796	63.8	12.3	0.0723	0.291
2.42	0.801	45.6	5.9	0.1031	0.222

Tablo 8.26. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 50 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

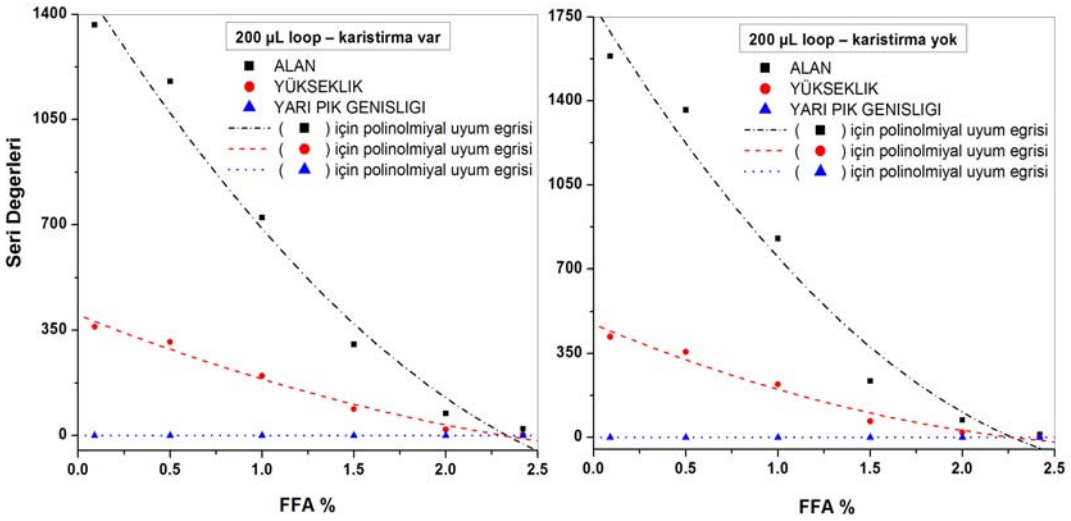
MISIR YAĞI % FFA TAYİNİ	**50 µL Loop Reaksiyon Hücresi (karıştırma var)**	**50 µL Loop Reaksiyon Hücresi (karıştırma yok)**
	polinom denklemi	**polinom denklemi**
Alan	$y = 318.7x^2 - 1656.7x + 2138.4$	$y = 483.87x^2 - 2279.7x + 2702.2$
	$R^2 = 0.9922$	**$R^2 = 0.9973$**
Yükseklik	$y = 89.818x^2 - 498.02x + 668.71$	$y = 137.65x^2 - 685.04x + 843.63$
	$R^2 = 0.991$	**$R^2 = 0.9953$**
Yarı pik genişliği	$y = 0.0177x^2 - 0.0306x + 0.0557$	$y = 0.0222x^2 - 0.0355x + 0.0562$
	$R^2 = 0.907$	**$R^2 = 0.9589$**

200 µL loop ile gerçekleştirilen reaksiyon hücresi çalışmaları:



(a) **(b)**

Şekil 8.38. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 200 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** ön karıştırma var **(b)** ön karıştırma yok



Şekil 8.39. 200 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı Üzerinde Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Optimizasyon Deneyleri
Taşıyıcı: n-propanol, Numune Hacmi: 1 µL
Reaktif: 2.50x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)
Numune Enjeksiyonu: 30 µL reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Akış Hızı: 2 mL/dk
FFA: 0.09-2.42

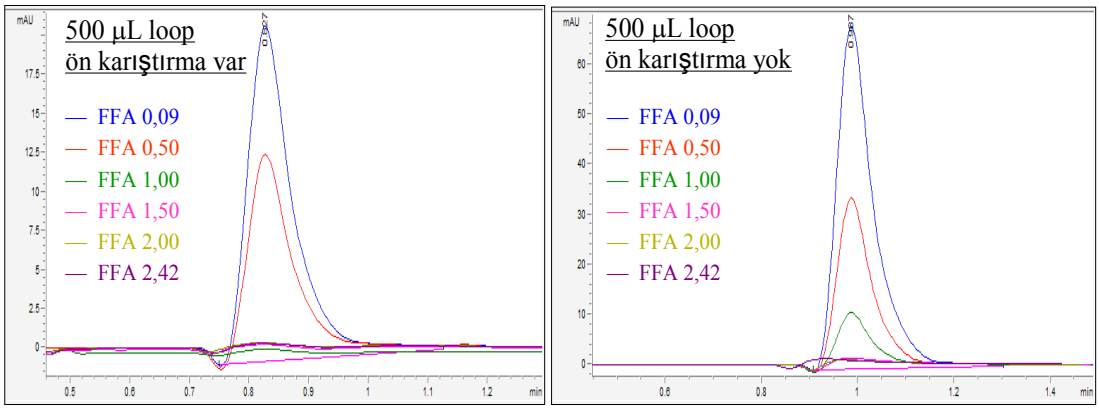
Tablo 8.27. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 200 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	200 µL LOOP REAKSİYON HÜCRESİ (karıştırma var)				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.690	1365.6	362.4	0.0571	0.677
0.50	0.699	1177.8	310.9	0.0573	0.677
1.00	0.700	723.5	198.6	0.0556	0.701
1.50	0.701	303.0	87.8	0.0534	0.750
2.00	0.704	72.9	19.9	0.0558	0.684
2.42	0.704	22.5	2.8	0.1115	0.282
	200 µL LOOP REAKSİYON HÜCRESİ (karıştırma yok)				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.855	1586.5	419.5	0.0572	0.672
0.50	0.854	1361.5	356.2	0.0577	0.669
1.00	0.861	826.4	221.2	0.0567	0.689
1.50	0.862	234.9	67.4	0.0538	0.738
2.00	0.867	72.5	20.2	0.0563	0.748
2.42	0.870	12.1	2.0	0.0900	0.440

Tablo 8.28. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 200 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

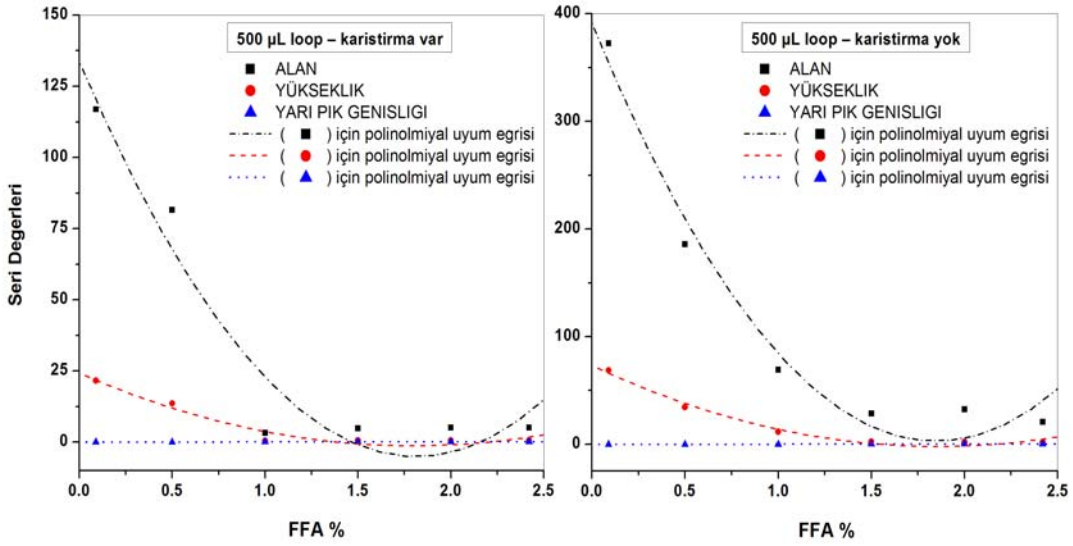
MISIR YAĞI %FFA TAYİNİ	**200 µL Loop Reaksiyon Hücresi (karıştırma var)**	**200 µL Loop Reaksiyon Hücresi (karıştırma yok)**
	polinom denklemi	**polinom denklemi**
Alan	$y = 138.2x^2 - 976.7x + 1525.6$	$y = 202.09x^2 - 1250.5x + 1797.4$
	$R^2 = 0.9829$	**$R^2 = 0.9743$**
Yükseklik	$y = 30.523x^2 - 244.23x + 401.44$	$y = 50.287x^2 - 322.03x + 472.14$
	$R^2 = 0.9855$	**$R^2 = 0.9776$**
Yarı pik genişliği	$y = 0.0242x^2 - 0.045x + 0.0676$	$y = 0.0148x^2 - 0.028x + 0.0639$
	$R^2 = 0.7572$	**$R^2 = 0.7468$**

500 µL loop ile gerçekleştirilen reaksiyon hücresi çalışmaları:



(a) **(b)**

Şekil 8.40. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 500 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(a)** ön karıştırma var **(b)** ön karıştırma yok



Şekil 8.41. 500 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı Üzerinde Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Optimizasyon Deneyleri
Taşıyıcı: n-propanol, Numune Hacmi: 1 µL
Reaktif: 2.50x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)
Numune Enjeksiyonu: 30 µL reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Akış Hızı: 2 mL/dk
%FFA: 0.09-2.42

Tablo 8.29. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 500 µL loop (0.76 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	500 µL LOOP REAKSİYON HÜCRESİ (karıştırma var)				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.827	116.9	21.6	0.0792	0.560
0.50	0.831	81.6	13.6	0.086	0.476
1.00	0.865	3.2	0.44	0.1204	0.566
1.50	0.866	4.8	0.60	0.1334	0.699
2.00	0.864	5.1	0.65	0.1318	0.635
2.42	0.861	5.1	0.62	0.1373	0.519
	500 µL LOOP REAKSİYON HÜCRESİ (karıştırma yok)				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.987	372.6	68.7	0.0808	0.585
0.50	0.991	185.8	34.4	0.0804	0.587
1.00	0.997	69.3	11.6	0.0855	0.513
1.50	1.000	28.7	2.6	0.1539	0.319
2.00	0.989	32.4	2.0	0.2678	0.198
2.42	0.997	20.7	1.9	0.1814	0.329

Tablo 8.30. Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayininde 500 µL loop (0.51 mm I.D.) Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen Reaksiyon Hücresi Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

MISIR YAĞI %FFA TAYİNİ	**500 µL Loop Reaksiyon Hücresi (karıştırma var)**	**500 µL Loop Reaksiyon Hücresi (karıştırma yok)**
	polinom denklemi	**polinom denklemi**
Alan	$y = 42.206x^2 - 153.04x + 133.66$	$y = 113.98x^2 - 420.71x + 390.97$
	$R^2 = 0.9422$	**$R^2 = 0.9754$**
Yükseklik	$y = 7.918x^2 - 28.456x + 24.232$	$y = 21.826x^2 - 81.041x + 73.021$
	$R^2 = 0.9552$	**$R^2 = 0.9857$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0133x^2 + 0.0599x + 0.0693$	$y = 0.0023x^2 + 0.0634x + 0.057$
	$R^2 = 0.9464$	**$R^2 = 0.6743$**

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinleri için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarından, reaksiyon hücresi seçimine yönelik çalışmalar sonucunda; en fazla pik alanı ve yüksekliğine sahip piklerin elde edilebildiği, farklı %FFA değerine sahip piklerin birbirinden yeterli ölçüde farklanabildiği, diğerlerine kıyasla en dik ve simetrik piklerin elde edilebildiği reaksiyon hücresinin 50 µL iç hacme sahip loop olduğu görülmüştür ***(Şekil 8.36. ve Şekil 8.37.)***. Bu sonucun; 50 µL hacme sahip lopun, diğer looplara kıyasla iç çapının daha küçük olmasından kaynaklandığı, numune bölgesinin istenilenden daha fazla bir dağılım sergilememesi sebebiyle de, daha dik ve simetrik pikler elde edilebildiği düşünülmektedir.

Ayrıca; reaksiyon hücresi seçimi için gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen piklerin alan, yükseklik ve yarı pik genişliklerinin %FFA değerine karşı grafiğe geçirilmesi ile elde edilen grafiklerin eğim değerlerine ve regresyon katsayılarına bakıldığında da ***(Tablo 8.26.)***; 50 µL hacme sahip loop için çizilen grafiğin daha yüksek eğime ve regresyon katsayısına sahip olduğu açıkça görülmektedir[32].

Reaksiyon hücresi seçimi için gerçekleştirilen optimizasyon deneyleri sonucunda; PHP indikatörü kullanılarak yürütülen %FFA çalışmaları için **50 µL hacme sahip lopun** reaksiyon hücresi olarak uygun olduğuna karar verilmiş ve BTB indikatörü ile yürütülen deneylerde de aynı loop reaksiyon hücresi olarak kullanılmıştır.

8.5.2.2.3. Reaktif konsantrasyonu (baz ve indikatör) etkisi

Reaktif ve numune hacmi kadar tayinlerde kullanılan reaktiflerin konsantrasyonları da son derece önemlidir. Daha önce de bahsedildiği gibi reaktifler n-propanol içinde çözülerek hazırlanmış, belirli konsantrasyonda KOH ve indikatör içeren çözeltilerdir. Dolayısıyla reaktif konsantrasyonu denildiğinde hem baz hem de indikatör konsantrasyonlarının ayrı ayrı değerlendirilmesi gerekmektedir.

Reaktif bileşenlerinin ayrı ayrı etkilerini görebilmek amacıyla; reaktif içindeki bileşenlerden birinin konsantrasyonu sabit tutulurken diğeri değiştirilmiş böylece reaktif

[32] Her bir seri değerinin etkisini inceleyebilmek amacıyla grafikler; alan, yükseklik ve yarı pik genişlikleri için ayrı ayrı çizilmiş fakat sonuçların yorumlanmasına yönelik en uygun serinin alan değerleri baz alınarak çizilmiş grafikler olduğu görülmüştür.

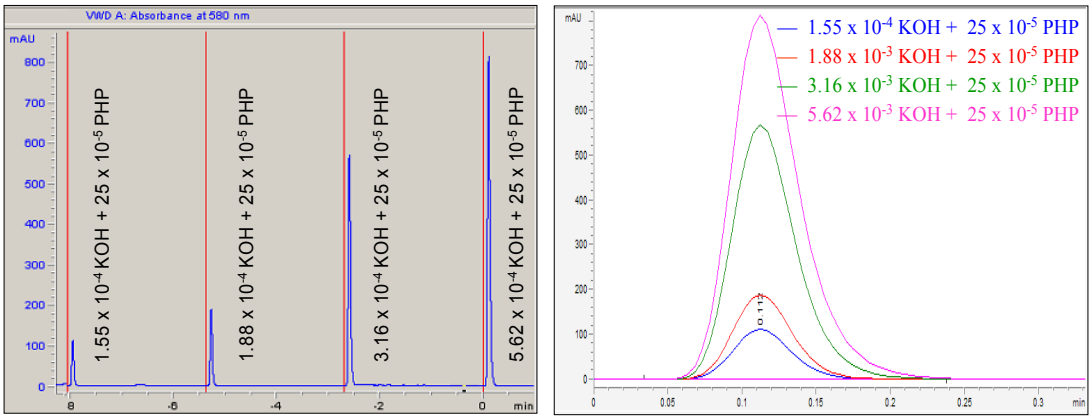
bileşenlerinin tekli etkileri gözlenmeye çalışılmıştır. Çalışmalar, 50 μL loop ile gerçekleştirilmiştir.

Reaktif ve numune hacmi çalışmalarında da belirtildiği üzere; çalışılan %FFA miktarlarını tayin etmede reaksiyon oluşumunu istenilen ölçüde sağlayacak ve elde edilen pikleri birbirinden farklandıracak uygun reaktif konsantrasyonunun 2.5 $x10^{-3}$ mol/L KOH ile 12.5 $x10^{-5}$ mol/L PHP (propanol içinde çözülmüştür) ve 3.0 $x10^{-3}$ mol/L KOH ile 15.0 $x10^{-5}$ mol/L PHP (propanol içinde çözülmüştür) reaktifleri kullanıldığı zaman meydana geldiği görülmüştür. Tayinlerdeki reaktif konsantrasyonları orantılı bir artış ve azalma gösterdiği için; her bir faktörün etkisini daha iyi anlayabilmek amacıyla KOH ve PHP konsantrasyon etkileri ayrı ayrı incelenmiştir. Reaktif konsantrasyonu etkisini belirleyebilmek için, doğal olarak reaktif içindeki baz ve indikatör konsantrasyonlarının bilinmesi gerekmektedir. Bu sebeple her yeni reaktifler hazırlandığında, reaktif bileşenlerinin konsantrasyonlarını belirleyebilmek amacıyla baz ve indikatör çözeltileri için ayrı ayrı kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş ve yeni hazırlanan reaktif bileşenlerinin konsantrasyonları bu grafikler yardımıyla tespit edilmiştir.

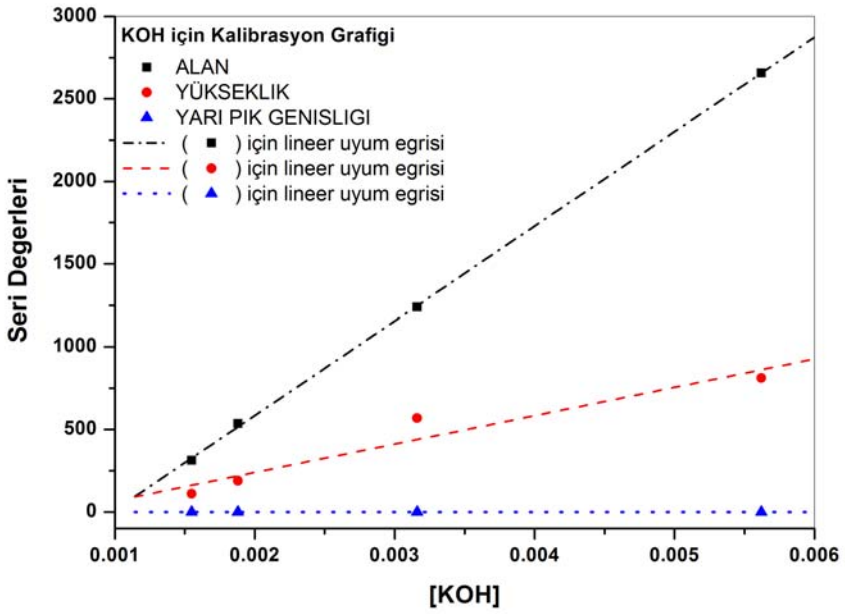
PHP`li deneylerde reaktif çözeltisi bileşenlerinden KOH için kalibrasyon grafiği oluştururken; PHP konsantrasyonu yüksek bir konsantrasyon değeri olan (yüksek FFA içerikli yağların tayininde kullanabilmek amacıyla) 25.0 $x10^{-5}$ mol/L konsantrasyonunda sabit tutulmuş, KOH konsantrasyonları değiştirilerek (1.55 x 10^{-3}; 1.88 x 10^{-3}; 3.16 x 10^{-3}; 5.62 x 10^{-3} mol/L) 4 farklı çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerden 25 μL`lik kısım taşıyıcı faz içine direk olarak enjekte edilmiş ve elde edilen piklerin ***(Şekil 8.42.)*** alan, yükseklik ve yarı pik genişlikleri değerlerinden faydalanarak kalibrasyon grafikleri çizilmiştir ***(Şekil 8.43.)***.

Manuel ve otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde uygun reaktif olarak belirlenen 2.50x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP reaktifine ait konsantrasyon değerlerini, her reaktif hazırlanışında sağlamak mümkün olmayacağından, metot geliştirmeye yönelik bu tez çalışmasında, hazırlanan her reaktifin bileşenlerini oluşturan konsantrasyon değerlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu sebeple; farklı konsantrasyondaki KOH konsantrasyonlarının kullanılmasıyla oluşturulan kalibrasyon

grafiği, hazırlanan her reaktifin KOH konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.



Şekil 8.42. PHP İndikatörlü Deneyler için Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu Etkisi Çalışmalarında Reaktif Çözeltisi Bileşenlerinden KOH için Kalibrasyon Grafiği Oluşturmada Elde Edilen Pikler

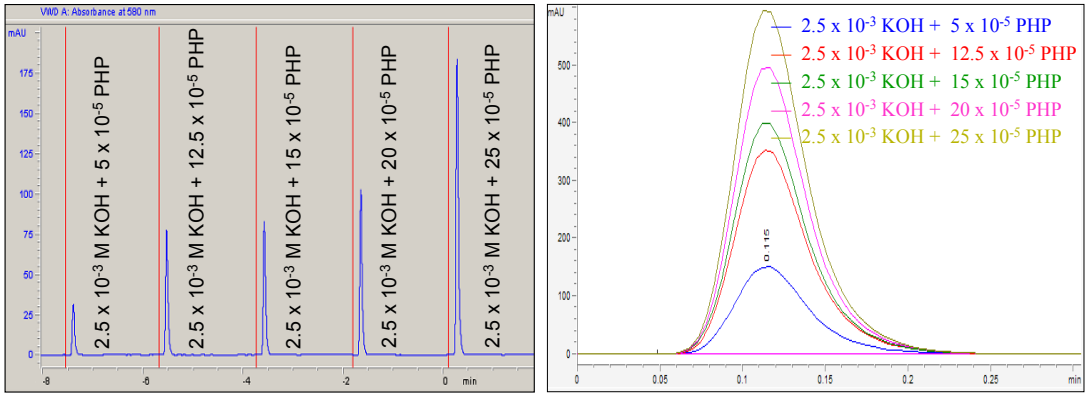


Şekil 8.43. PHP İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin KOH Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği
Taşıyıcı: n-propanol, Numune Hacmi: 25 µL direkt enjeksiyon
Standartlar: $1.55x10^{-3}$-$1.88x10^{-3}$-$3.16x10^{-3}$-$5.62x10^{-3}$mol/L (n-propanol içinde)
Akış Hızı: 2 mL/dk

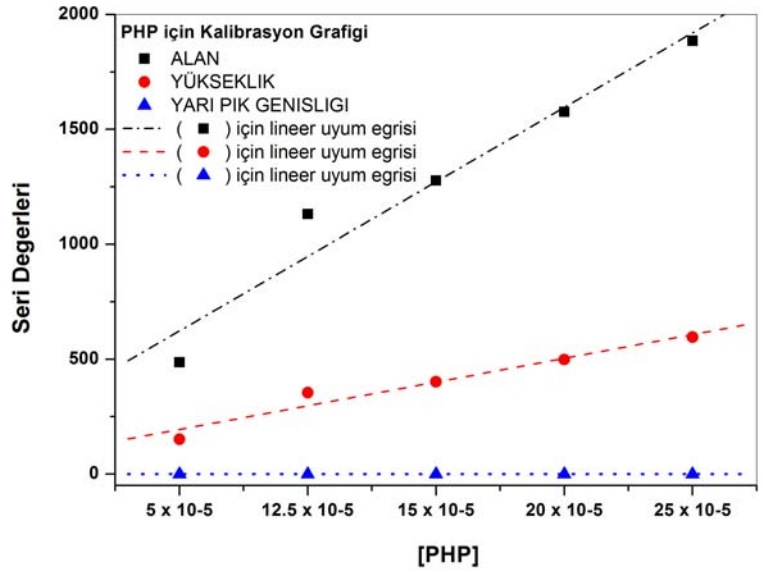
Tablo 8.31. PHP İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin KOH Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği Oluşumunda Elde Edilen Piklere Ait Veriler ve Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	[KOH] Kalibrasyon Grafiği Verileri				
[KOH]	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
1.55×10^{-3}	0.112	312.9	111.6	0.0429	0.829
1.88×10^{-3}	0.112	536.1	188.9	0.0433	0.817
3.16×10^{-3}	0.112	1240	568.8	0.0474	0.758
5.62×10^{-3}	0.112	2657.3	812.8	0.0498	0.707
lineer denklemi					
Alan			y = 572224x - 560.14		
			$R^2 = 0.9998$		
Yükseklik			y = 171831x - 103.99		
			$R^2 = 0.9301$		
Yarı pik genişliği			y = 1.7322x + 0.0406		
			$R^2 = 0.9248$		

PHP için kalibrasyon grafiği oluştururken; KOH konsantrasyonu 2.50×10^{-3} mol/L konsantrasyonunda sabit tutulmuş; PHP konsantrasyonu değiştirilerek, (5.0×10^{-5}; 12.5×10^{-5}; 15.0×10^{-5}; 20.0×10^{-5}; 25.0×10^{-5} mol/L) 5 farklı çözelti hazırlanmıştır. tayin üzerine olan etkisi incelenmeye çalışılmıştır. Oluşturulan kalibrasyon grafiği ***(Şekil 8.45.)***, hazırlanan reaktiflerin PHP konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.



Şekil 8.44. PHP İndikatörlü Deneyler için Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu Etkisi Çalışmalarında Reaktif Çözeltisi Bileşenlerinden PHP için Kalibrasyon Grafiği Oluşturmada Elde Edilen Pikler

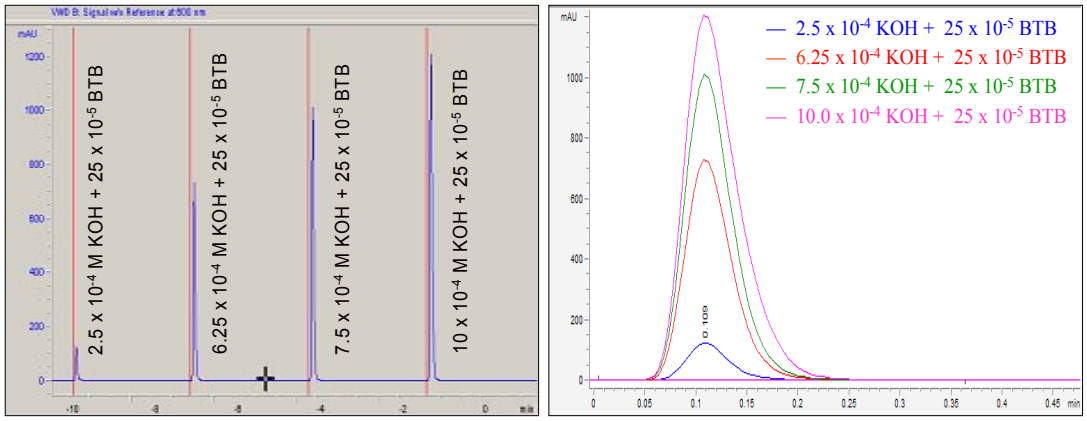


Şekil 8.45. PHP İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin PHP Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği
Taşıyıcı: n-propanol, Numune Hacmi: 25 µL direkt enjeksiyon
Standartlar:$5x10^{-5}$-$12.5x10^{-5}$-$15x10^{-5}$-$20x10^{-5}$-$25x10^{-5}$mol/L(n-propanol içinde)
Akış Hızı: 2 mL/dk

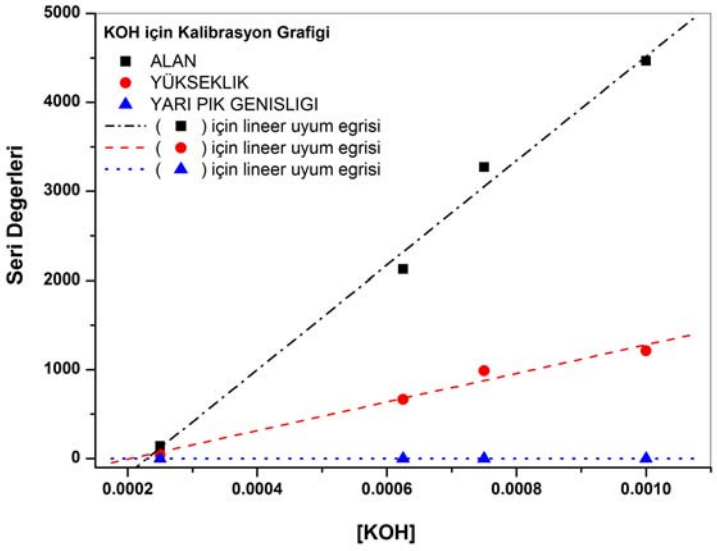
Tablo 8.32. PHP İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin PHP Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği Oluşumunda Elde Edilen Piklere Ait Veriler ve Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	[PHP] Kalibrasyon Grafiği Verileri				
[KOH]	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
5.0×10^{-5}	0.115	486.6	151.7	0.0491	0.691
12.5×10^{-5}	0.113	1131.4	354.4	0.0474	0.694
15.0×10^{-5}	0.114	1277.5	402.0	0.0487	0.697
20.0×10^{-5}	0.115	1576.1	498.6	0.0485	0.704
25.0×10^{-5}	0.114	1885.5	595.8	0.0486	0.728
lineer denklemi					
Alan			$y = 7.10^6 x + 202.43$		
			$R^2 = 0.9896$		
Yükseklik			$y = 2.10^6 x + 60.393$		
			$R^2 = 0.9905$		
Yarı pik genişliği			$y = -0.9348x + 0.0486$		
			$R^2 = 0.0125$		

BTB`li deneylerde Reaktif çözeltisi bileşenlerinden KOH için kalibrasyon grafiği oluştururken;*** BTB konsantrasyonu yüksek bir konsantrasyon değeri olan (yüksek %FFA`ları kolayca tayin edebilmek amacıyla) 25.0 $x10^{-5}$ mol/L konsantrasyonunda sabit tutulmuş, KOH konsantrasyonları değiştirilerek (2.50 $x10^{-4}$; 6.25 $x10^{-4}$; 7.50 $x10^{-4}$; 10.0 $x10^{-4}$ mol/L) 4 farklı çözelti hazırlanmıştır. Oluşturulan kalibrasyon grafiği ***(Şekil 8.47.), hazırlanan reaktiflerin KOH konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.



Şekil 8.46. BTB İndikatörlü Deneyler için Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu Etkisi Çalışmalarında Reaktif Çözeltisi Bileşenlerinden KOH için Kalibrasyon Grafiği Oluşturmada Elde Edilen Pikler

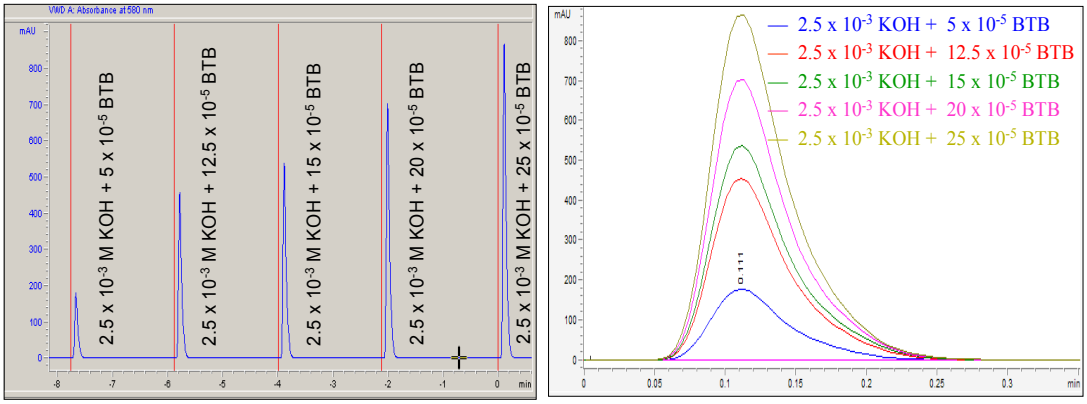


Şekil 8.47. BTB İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin KOH Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği
Taşıyıcı: n-propanol, Numune Hacmi: 25 µL direkt enjeksiyon
Standartlar: $2.5x10^{-4}$-$6.25x10^{-4}$-$7.5x10^{-4}$-$10x10^{-4}$ mol/L (n-propanol içinde)
Akış Hızı: 2 mL/dk

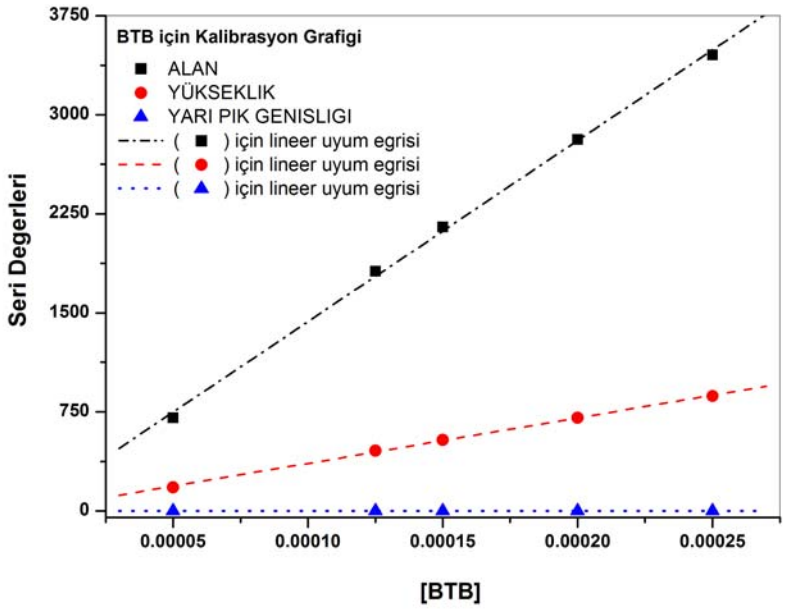
Tablo 8.33. BTB İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin KOH Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği Oluşumunda Elde Edilen Piklere Ait Veriler ve Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	[KOH] Kalibrasyon Grafiği Verileri				
[KOH]	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
2.50 x 10^{-4}	0.110	141.5	43.7	0.0494	0.642
6.25 x 10^{-4}	0.111	2125.7	663.4	0.0505	0.733
7.50 x 10^{-4}	0.112	3270.0	988.3	0.0517	0.719
10.00 x 10^{-4}	0.112	4468.8	1212.3	0.0561	0.614
lineer denklemi					
Alan	$y = 6.10^6 x - 1348.6$				
	$R^2 = 0.9914$				
Yükseklik	$y = 2.10^6 x - 327.88$				
	$R^2 = 0.977$				
Yarı pik genişliği	$y = 8.48x + 0.0464$				
	$R^2 = 0.8138$				

BTB için kalibrasyon grafiği oluştururken; KOH konsantrasyonu 2.50x10^{-4} mol/L konsantrasyonunda sabit tutulmuş; BTB konsantrasyonu değiştirilerek, (5.0 x10^{-5}; 12.5 x10^{-5}; 15.0 x10^{-5}; 20.0 x10^{-5}; 25.0 x10^{-5} mol/L) 5 farklı çözelti hazırlanmıştır. Oluşturulan kalibrasyon grafiği ***(Şekil 8.49.)***, hazırlanan reaktiflerin BTB konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.



Şekil 8.48. BTB İndikatörlü Deneyler için Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayinlerinde Yürütülen Reaktif Konsantrasyonu Etkisi Çalışmalarında Reaktif Çözeltisi Bileşenlerinden BTB için Kalibrasyon Grafiği Oluşturmada Elde Edilen Pikler



Şekil 8.49. BTB İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin BTB Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği
Taşıyıcı: n-propanol. Numune Haçmi: 25 µL direkt enjeksiyon
Standartlar: 5.0x 10^{-5}- 12.5x 10^{-5}-15.0x 10^{-5}-20.0x 10^{-5}-25.0x 10^{-5} mol/L (n-propanol içinde)
Akış Hızı: 2 mL/dk

Tablo 8.34. BTB İndikatörlü Deneyler için Reaktif Çözeltilerinin BTB Konsantrasyonunu Hesaplamada Kullanılan Kalibrasyon Grafiği Oluşumunda Elde Edilen Piklere Ait Veriler ve Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	[BTB] Kalibrasyon Grafiği Verileri				
[KOH]	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
5.0 x 10^{-5}	0.111	706.0	178.6	0.0578	0.561
12.5 x 10^{-5}	0.112	1815.4	456.0	0.0596	0.549
15.0 x 10^{-5}	0.111	2150.5	537.1	0.0584	0.551
20.0 x 10^{-5}	0.110	2813.5	704.6	0.0582	0.552
25.0x 10^{-5}	0.110	3454.2	868.9	0.0580	0.556
lineer denklemi					
Alan			$y = 1x\ 10^{7}x + 62.317$		
			$R^2 = 0.9987$		
Yükseklik			$y = 3x\ 10^{6}x + 15.746$		
			$R^2 = 0.999$		
Yarı pik genişliği			$y = -0.8696x + 0.0585$		
			$R^2 = 0.0087$		

PHP ve BTB indikatörlü %FFA tayinleri için gerçekleştirilen reaktif konsantrasyonları çalışmaları sonucunda elde edilen bilgiler şunlardır:

- BTB indikatörü ile gerçekleştirilen deneylerdeki baz konsantrasyonu, PHP indikatörü ile gerçekleştirilen deneylerdekine nazaran 10 kat daha az kullanılabilir. Çünkü; BTB indikatörü, PHP indikatörüne göre çok daha yüksek absorbans şiddetine sahiptir, bu da yağın %FFA içeriğine bağlı olmakla birlikte, daha yüksek pik yüksekliğine ve alanına sahip pikler elde etmeyi ve piklerin birbirinden farklandırılabilmesini sağlamaktadır.
- Reaktif çözeltilerini oluşturan gerek KOH, gerekse indikatör (PHP, BTB) konsantrasyonları oldukça önemlidir ve çözeltilerdeki KOH`un etkinliğini azaltabilecek özellikte olduğu düşünülen CO_2 sebebiyle reaktif çözeltilerinin taze olarak kullanılması gerektiği önerilmektedir.

8.5.2.2.4. Sıcaklık etkisi

Birçok reaksiyonun gerçekleştirilmesinde önemli bir faktör olan sıcaklık, yağ analizlerinde meydana gelen reaksiyonlar için çok daha fazla bir önem taşımaktadır. Çünkü yağlar oldukça viskoz bir yapıya sahiptirler ve istenilen reaksiyonların meydana gelmesi için viskozluklarının azaltılması gerekmektedir. Sıcaklık, viskozluğunun azaltılmasında kullanılabilecek etkenlerin başında geldiği için, optimize edilecek deneysel faktörlerden biri olarak seçilmiştir.

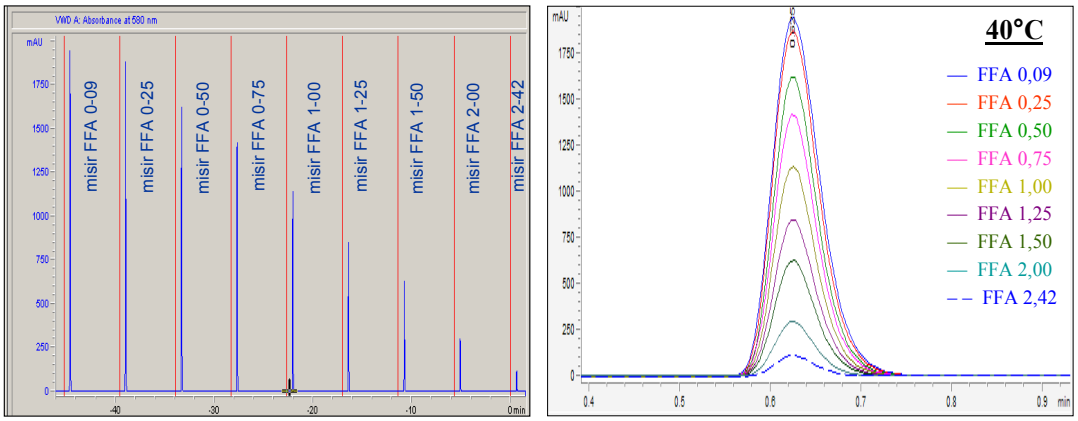
%FFA tayini üzerine sıcaklık etkisinin incelenmesinde; reaktif konsantrasyonu çalışmalarında uygunluğu tespit edilmiş reaktifler kullanılmış ve PHP indikatörlü tayinler için üç farklı sıcaklık değerinin (40°C - 50°C - 80°C). BTB indikatörlü tayinler için ise; dört farklı sıcaklık değerinin (20°C - 40°C - 60°C - 80°C) %FFA tayinleri üzerine etkileri incelenmiştir. PHP ve BTB indikatörlü %FFA tayinleri için yürütülen sıcaklık çalışmalarından elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

PHP indikatörlü %FFA tayinleri için gerçekleştirilen sıcaklık çalışmaları:

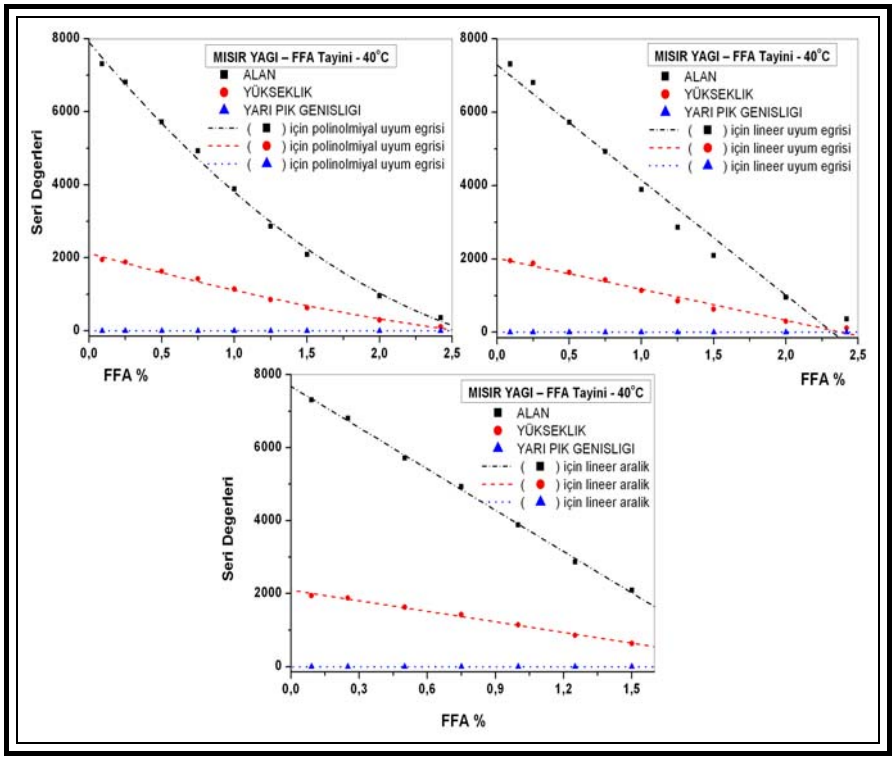
PHP indikatörlü %FFA tayinleri için yürütülen sıcaklık çalışmalarında; konsantrasyon değerleri, reaktif konsantrasyonu çalışmalarında oluşturulan

kalibrasyon grafikleri yardımıyla tespit edilmiş, 2.50 x 10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP konsantrasyonlarındaki reaktif çözeltisi kullanılmıştır.

40°C`de gerçekleştirilen PHP indikatörlü %FFA Tayinleri:



Şekil 8.50. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler



Şekil 8.51. PHP İndikatörlü Deneylerde Gerçek [PHP] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi
Taşıyıcı: n-propanol
Reaktif: 2.5 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Sıcaklık: 40°C

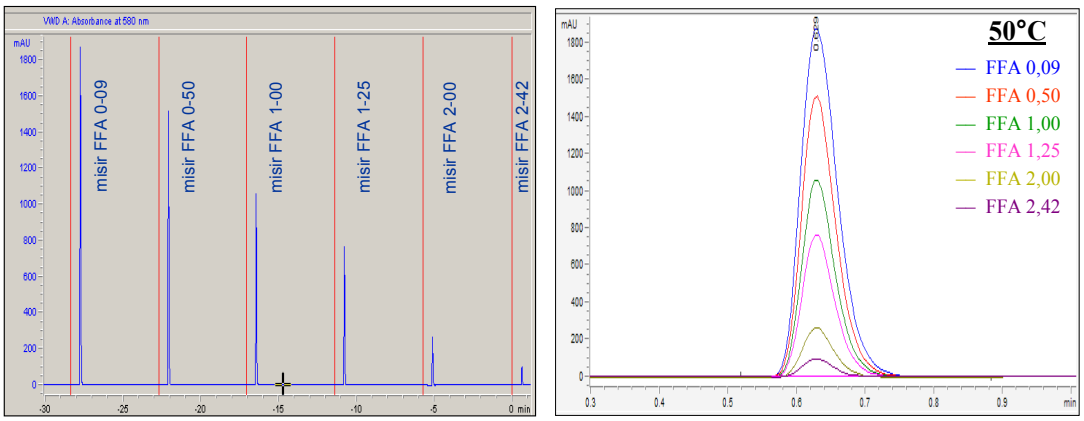
Tablo 8.35. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2. 5 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 40°C				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.625	7312.4	1948.7	0.0583	0.706
0.50	0.629	5720.5	1629.8	0.0541	0.72
1.00	0.630	3887.8	1142.8	0.0528	0.725
1.50	0.629	2091.0	629.7	0.0504	0.735
2.00	0.634	956.4	297.2	0.0492	0.753
2.42	0.634	363.2	114.7	0.0486	0.748

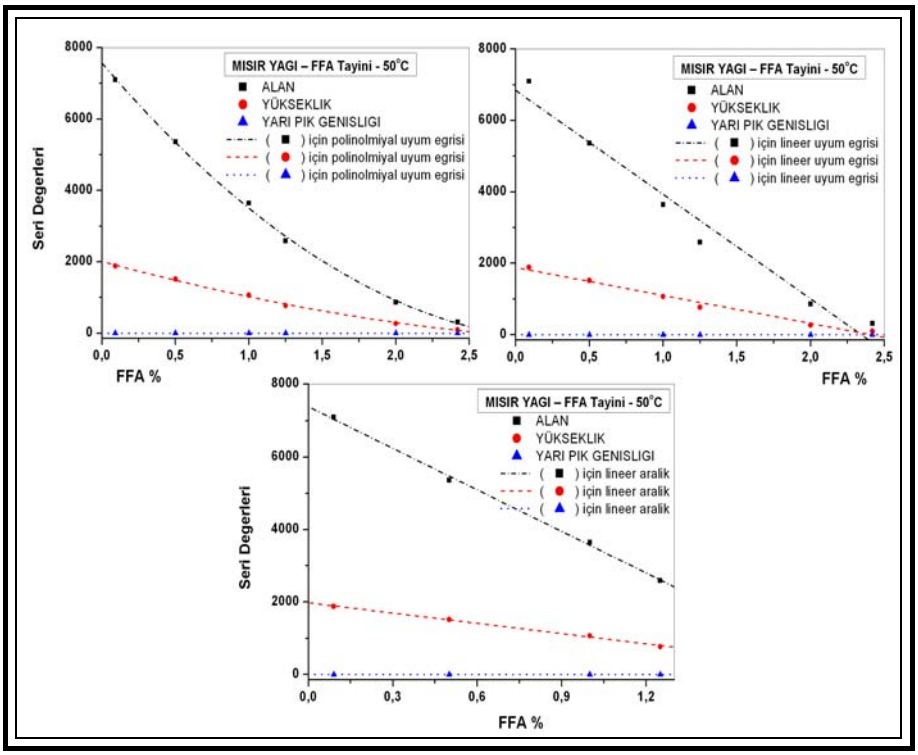
Tablo 8.36. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 40°C		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.50 %FFA)**
Alan	$y = -3055.5x + 7213.1$	$y = 666.44x^2 - 4727.4x + 7821.2$	$y = -3696.3x + 7608.3$
	$R^2 = 0.9783$	**$R^2 = 0.9983$**	**$R^2 = 0.9997$**
Yükseklik	$y = -823.22x + 1990.9$	$y = 113.85x^2 - 1108.8x + 2094.8$	$y = -941.97x + 2065.4$
	$R^2 = 0.9868$	**$R^2 = 0.995$**	**$R^2 = 0.9968$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0039x + 0.0571$	$y = 0.0015x^2 - 0.0077x + 0.0585$	$y = -0.0052x + 0.0579$
	$R^2 = 0.9205$	**$R^2 = 0.9797$**	**$R^2 = 0.9303$**

50°C`de gerçekleştirilen PHP indikatörlü %FFA Tayinleri:



Şekil 8.52. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 50°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler



Şekil 8.53. PHP İndikatörlü Deneylerde Gerçek [PHP] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 50°C

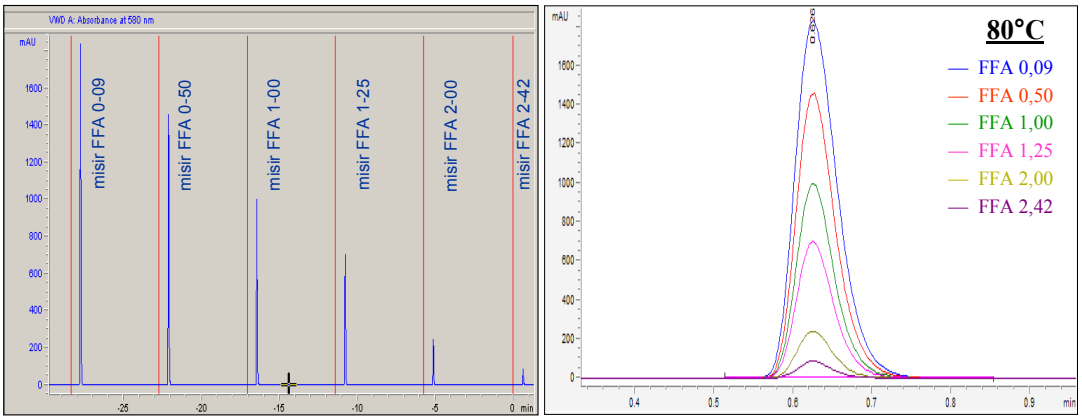
Tablo 8.37. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 50°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2. 5 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 50°C				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.629	7099.8	1881.8	0.0586	0.702
0.50	0.630	5361.6	1515.7	0.0544	0.715
1.00	0.629	3643.7	1065.2	0.0516	0.730
1.25	0.628	2589.8	769.1	0.0524	0.743
2.00	0.633	863.5	268.0	0.0492	0.755
2.42	0.636	311.0	98.1	0.0501	0.750

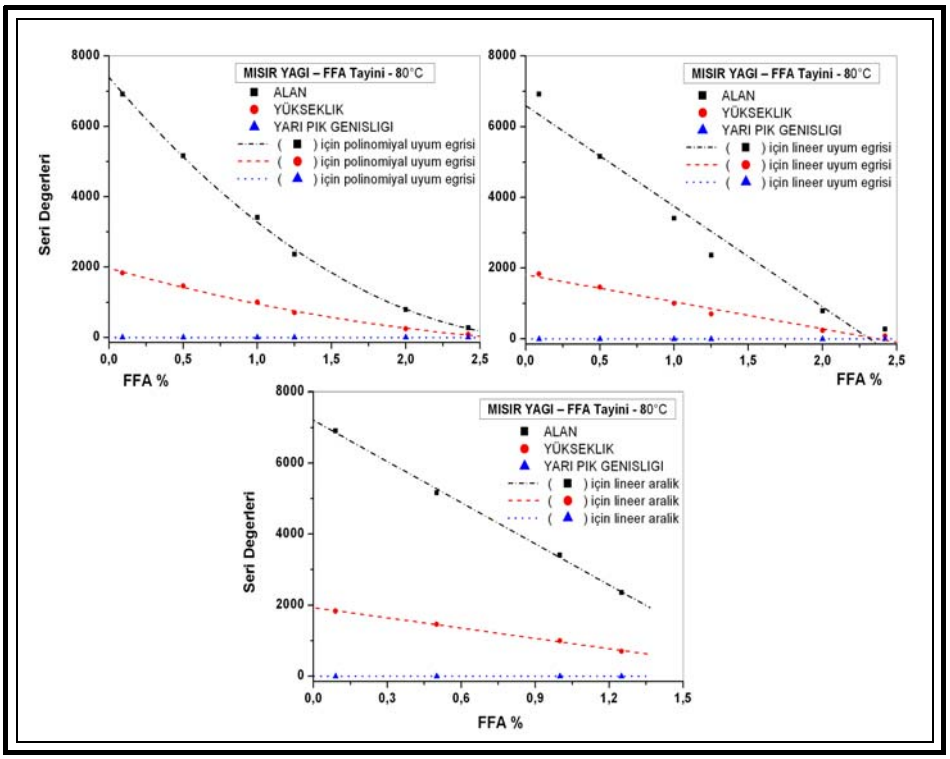
Tablo 8.38. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 50°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 50°C		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.25 %FFA)**
Alan	$y = -2918.9x + 6843.5$	$y = 741.13x^2 - 4806.2x + 7561.2$	$y = -3820.7x + 7386.5$
	$R^2 = 0.9702$	**$R^2 = 0.9988$**	**$R^2 = 0.9981$**
Yükseklik	$y = -782.62x + 1880$	$y = 133.86x^2 - 1123.5x + 2009.6$	$y = -946.02x + 1979.6$
	$R^2 = 0.9838$	**$R^2 = 0.9969$**	**$R^2 = 0.9972$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0035x + 0.0569$	$y = 0.0022x^2 - 0.009x + 0.059$	$y = -0.0056x + 0.0582$
	$R^2 = 0.808$	**$R^2 = 0.9529$**	**$R^2 = 0.8552$**

80°C`de gerçekleştirilen PHP indikatörlü %FFA Tayinleri:



Şekil 8.54. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler



Şekil 8.55. PHP İndikatörlü Deneylerde Gerçek [PHP] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 80°C

Tablo 8.39. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 80°C				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.626	6916.8	1834.6	0.06	0.7
0.50	0.624	5161.3	1460.9	0.0543	0.704
1.00	0.628	3411.4	999.8	0.0529	0.736
1.25	0.631	2361.2	699.9	0.0525	0.735
2.00	0.633	786.2	241.3	0.0497	0.729
2.42	0.639	271.5	85.2	0.0488	0.733

Tablo 8.40. PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 80°C		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.25 %FFA)**
Alan	y = -2847.5x + 6596.9	y = 820.58x^2 - 4937.2x + 7391.6	y = -3864.6x + 7206.6
	R^2 = 0.9623	**R^2 = 0.9987**	**R^2 = 0.9982**
Yükseklik	y = -765.65x + 1813.4	y = 159.46x^2 - 1171.7x + 1967.8	y = -965.37x + 1934.2
	R^2 = 0.9773	**R^2 = 0.9966**	**R^2 = 0.9974**
Yarı pik genişliği	y = -0.0042x + 0.0581	y = 0.0018x^2 - 0.0088x + 0.0599	y = -0.0061x + 0.0593
	R^2 = 0.8749	**R^2 = 0.9463**	**R^2 = 0.8305**

PHP indikatörlü %FFA çalışmaları için yürütülen sıcaklık çalışmalarından elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; düşük sıcaklık değerlerinde yağın viskozitesinin istenilen reaksiyonun oluşumunu sağlayacak ölçüde azaltılamadığı, bu sebeple özellikle yüksek %FFA içeriğine sahip yağ numuneleri için kullanılabilir piklerin elde edilemediği tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık değerlerinde çalışıldığında ise; elde edilen piklerin alan ve yüksekliklerinde azalmalar meydana geldiği ve bu durumun, farklı %FFA değerlerine sahip yağ numuneleri için elde

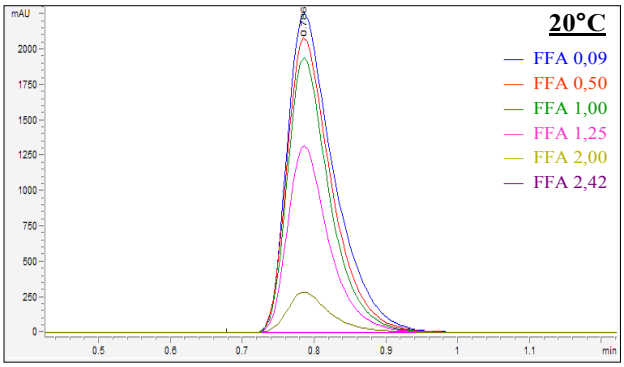
edilen piklerin de birbirinden yeterli ölçüde ayrılamamasına sebep olduğu belirlenmiştir[33].

Yukarıda belirtilen sebeplerden dolayı; reaksiyon oluşumunun istenilen düzeyde meydana gelebileceği ve piklerin farklanabilmesine izin verecek ölçüde büyük pik alan ve yüksekliklerinin elde edilebildiği değer olan 40°C, %FFA tayinleri için uygun sıcaklık değeri olarak kabul edilmiştir ***(Şekil 8.50., Tablo 8.36.)***.

BTB indikatörlü %FFA tayinleri için gerçekleştirilen sıcaklık çalışmaları:

BTB indikatörlü %FFA tayinleri için yürütülen sıcaklık çalışmalarında; konsantrasyon değerleri. reaktif konsantrasyonu çalışmalarında oluşturulan kalibrasyon grafikleri yardımıyla tespit edilmiş. 7.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB konsantrasyonlarındaki reaktif çözeltisi kullanılmıştır.

20°C`de gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA Tayinleri:

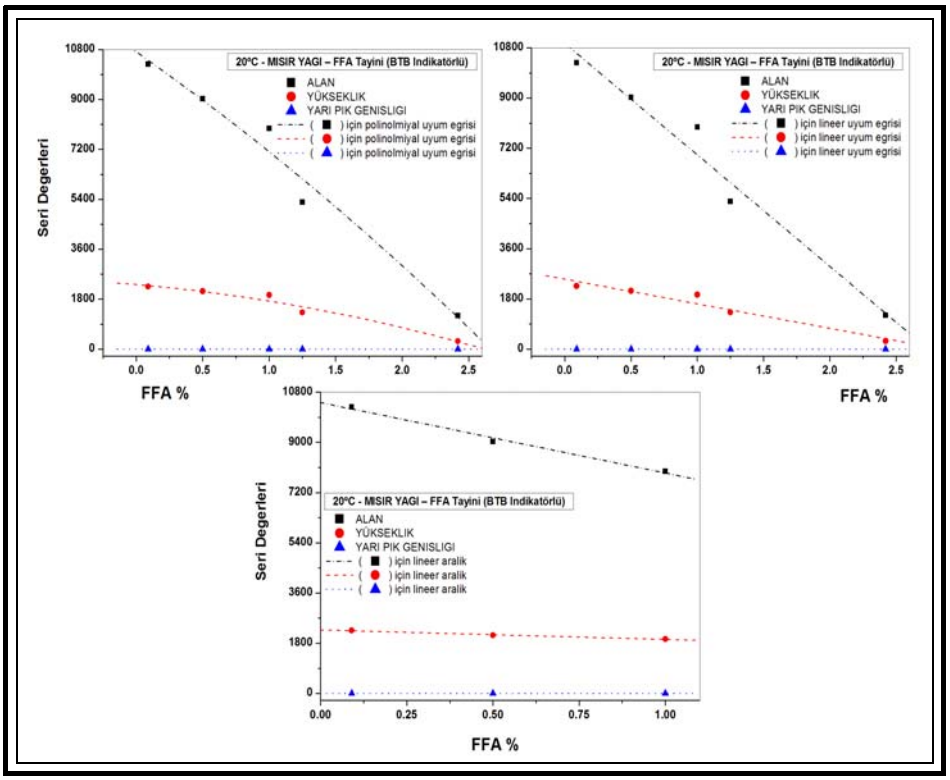


Şekil 8.56. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 20°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler

Tablo 8.41. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 20°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 20°C				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.786	10270.9	2257.4	0.0676	0.531
0.50	0.787	9031.1	2082.7	0.0666	0.580
1.00	0.786	7961.2	1946.5	0.0608	0.608
1.50	0.786	5294.7	1321.0	0.0599	0.614
2.42	0.794	1212.1	285.6	0.0641	0.574

[33] Reaksiyon oluşumları oldukça kısa sürede tamamlanan ve düşük baz konsantrasyonları kullanılan (10^{-3}-10^{-4} M) %FFA deneylerinde, sabunlaşma reaksiyonunun meydana gelmeyeceği düşünülmektedir.

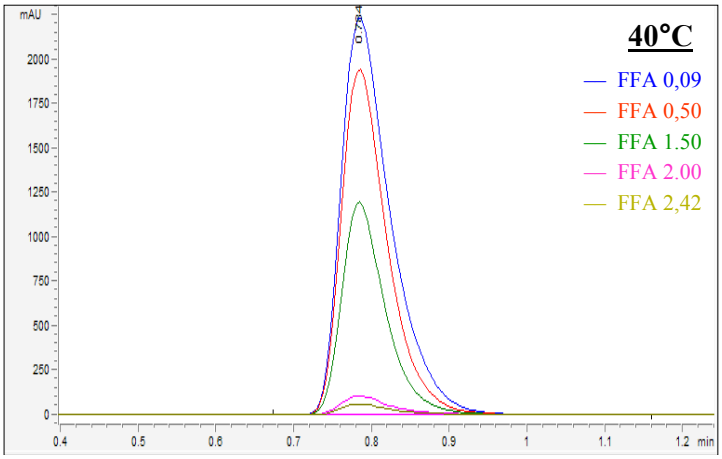


Şekil 8.57. BTB İndikatörlü Deneylerde Gerçek [BTB] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi
Taşıyıcı: n-propanol
Reaktif: $7.5x10^{-4}$ M KOH + $25.0x\ 10^{-5}$ M BTB (n-propanol içinde)
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Sıcaklık: 20°C

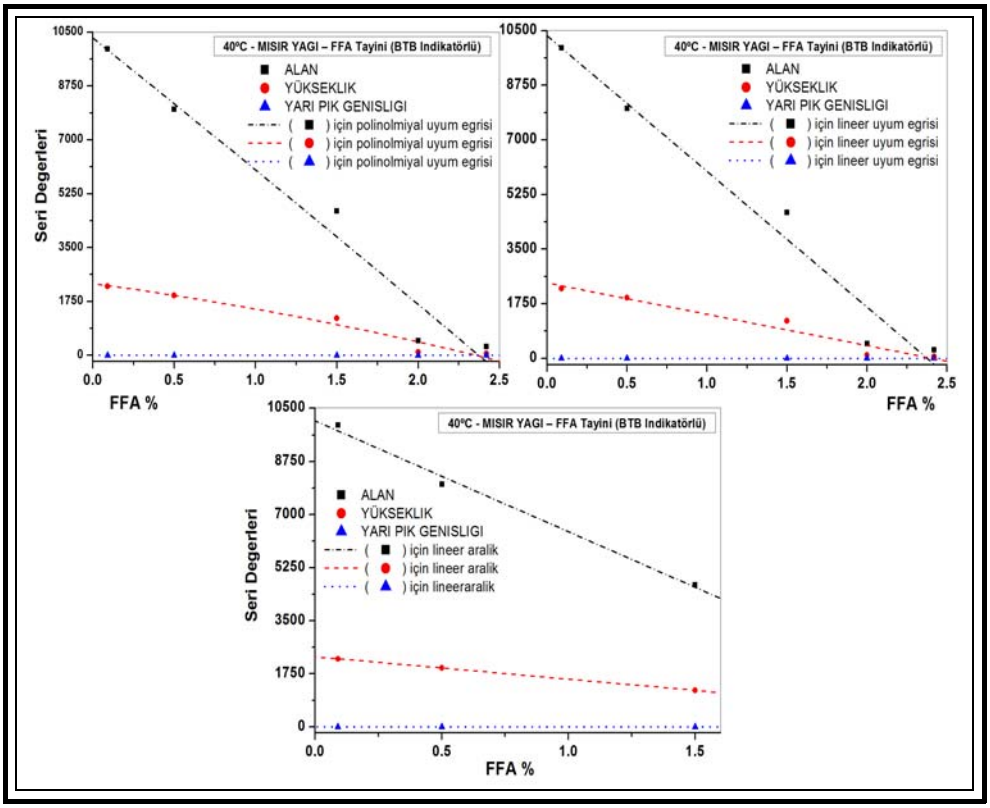
Tablo 8.42. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 20°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: $7.5x10^{-4}$ M KOH + $25.0x\ 10^{-5}$ M BTB Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 20°C			
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.00 %FFA)**
Alan	$y = -3929.6x + 11084$	$y = -655.89x^2 - 2265.5x + 10479$	$y = -2523.7x + 10425$
	$R^2 = 0.9805$	**$R^2 = 0.9945$**	**$R^2 = 0.9901$**
Yükseklik	$y = -860.94x + 2527.4$	$y = -272.84x^2 - 168.71x + 2275.6$	$y = -339.15x + 2275.3$
	$R^2 = 0.9428$	**$R^2 = 0.9914$**	**$R^2 = 0.9836$**
Yarı pik genişliği	$y = 0.003x + 0.7845$	$y = 0.003x^2 - 0.0045x + 0.7872$	$y = -7.10^{-5}x + 0.7864$
	$R^2 = 0.6152$	**$R^2 = 0.9209$**	**$R^2 = 0.0032$**

40°C`de gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA Tayinleri:



Şekil 8.58. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler



Şekil 8.59. BTB İndikatörlü Deneylerde Gerçek [BTB] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: $7.5x10^{-4}$ M KOH + $25.0x\ 10^{-5}$ M BTB (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 40°C

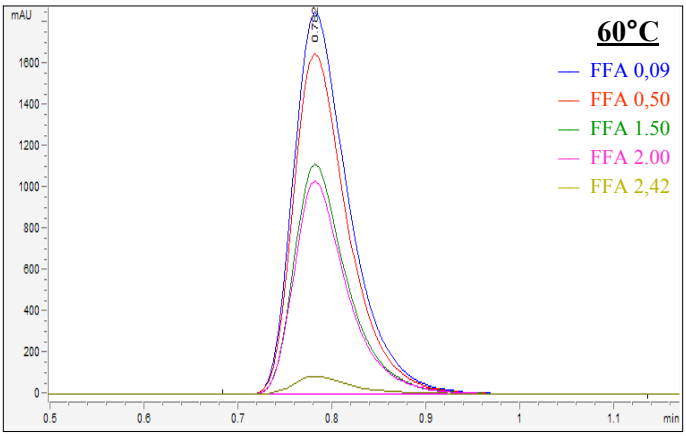
Tablo 8.43. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 40°C				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.784	9951.1	2240.4	0.0664	0.544
0.50	0.785	8001.1	1945.7	0.0625	0.608
1.50	0.786	4681.2	1201.1	0.0586	0.635
2.00	0.792	475.3	105.0	0.0659	0.540
2.42	0.792	277.1	60.6	0.0664	0.499

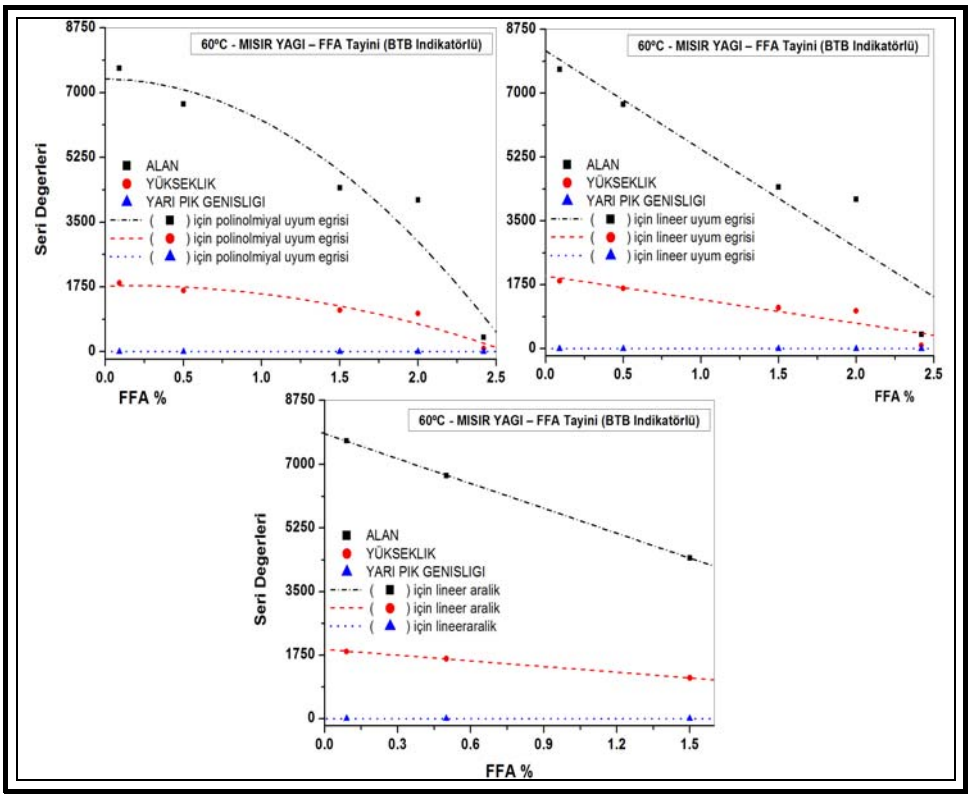
Tablo 8.44. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 40°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 40°C		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.50 %FFA)**
Alan	y = -4348.5x + 10339	y = -45.282x^2 - 4237x + 10306	y = -3659.5x + 10094
	R^2 = 0.969	**R^2 = 0.9691**	**R^2 = 0.9923**
Yükseklik	y = -1002.2x + 2415.4	y = -121.25x^2 - 703.62x + 2326.5	y = -3659.5x + 10094
	R^2 = 0.9535	**R^2 = 0.9581**	**R^2 = 0.9999**
Yarı pik genişliği	y = 0.0003x + 0.0635	y = 0.0052x^2 - 0.0125x + 0.0674	y = -0.0052x + 0.0661
	R^2 = 0.0084	**R^2 = 0.7463**	**R^2 = 0.9449**

60°C`de gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA Tayinleri:



Şekil 8.60. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 60°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler



Şekil 8.61. BTB İndikatörlü Deneylerde Gerçek [BTB] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 7.5×10^{-4} M KOH + 25.0×10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 60°C

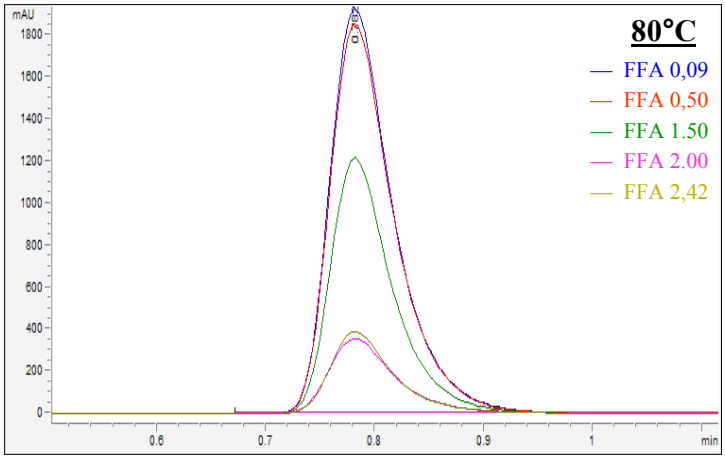
Tablo 8.45. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 60°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 60°C				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.782	7655.6	1852.3	0.0613	0.598
0.50	0.787	6693.0	1650.2	0.0604	0.614
1.00	0.787	4428.8	1118.0	0.0593	0.607
2.00	0.786	4097.6	1034.4	0.0593	0.608
2.42	0.788	387.3	87.5	0.0647	0.519

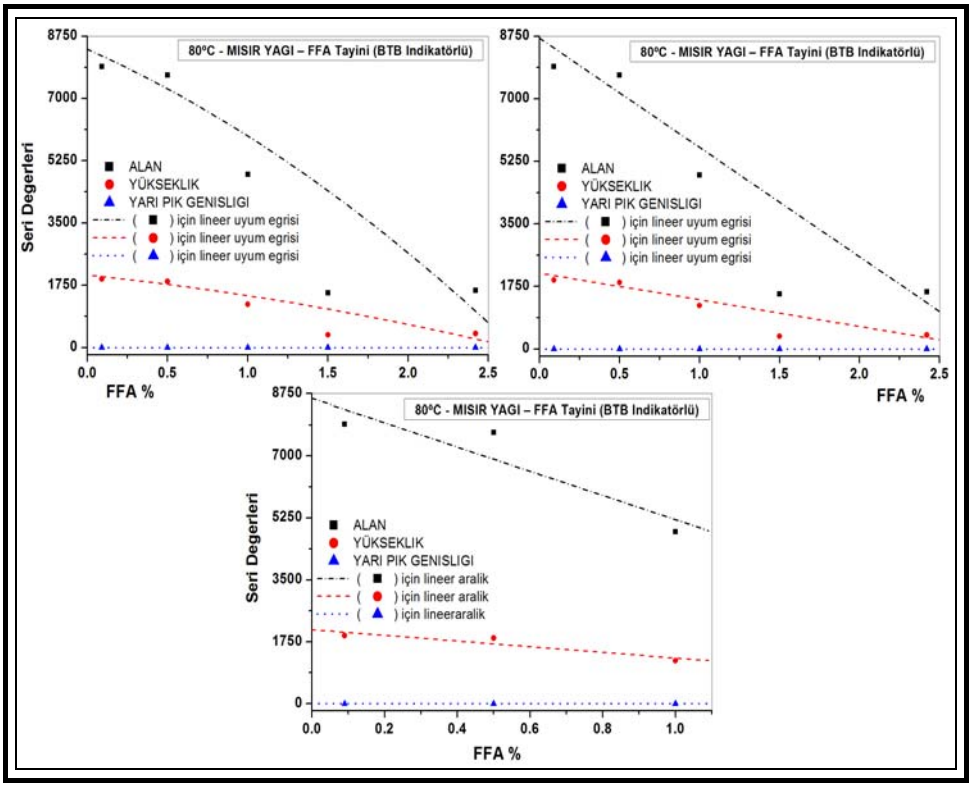
Tablo 8.46. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 60°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 60°C		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.00 %FFA)**
Alan	y = -3063.7x + 8028.6	y = -191.54x^2 - 2577.7x + 7851.8	y = -3581.4x + 8157.3
	R^2 = 0.9739	**R^2 = 0.9758**	**R^2 = 0.9708**
Yükseklik	y = -745.63x + 1970.2	y = -83.407x^2 - 534.01x + 1893.2	y = -816.22x + 1972.8
	R^2 = 0.9702	**R^2 = 0.9764**	**R^2 = 0.9617**
Yarı pik genişliği	y = 0.0013x + 0.0595	y = 0.0028x^2 - 0.0058x + 0.0621	y = -0.0022x + 0.0615
	R^2 = 0.2994	**R^2 = 0.9709**	**R^2 = 1**

80°C`de gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA Tayinleri:



Şekil 8.62. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen Pikler



Şekil 8.63. BTB İndikatörlü Deneylerde Gerçek [BTB] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 7.5×10^{-4} M KOH + 25.0×10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 80°C

Tablo 8.47. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 80°C				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.782	7898.3	1929.3	0.0609	0.603
0.50	0.783	7662.2	1858.3	0.0627	0.600
1.50	0.786	4865.4	1216.1	0.0598	0.608
2.00	0.793	1539.1	357.3	0.0648	0.592
2.42	0.790	1599.5	390.4	0.0624	0.589

Tablo 8.48. BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinde Yürütülen Sıcaklık Etkisi Çalışmalarından 80°C Sıcaklıkta Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop Sıcaklık: 80°C		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.50 %FFA)**
Alan	y = -3153x + 8187.5	y = 1112.9x^2 - 5976.6x + 9214.8	y = -3414.5x + 8618.3
	R^2 = 0.8472	**R^2 = 0.9014**	**R^2 = 0.8508**
Yükseklik	y = -770.98x + 1999.9	y = 269.42x^2 - 1454.5x + 2248.6	y = -801.82x + 2092.9
	R^2 = 0.844	**R^2 = 0.8969**	**R^2 = 0.8651**
Yarı pik genişliği	y = 0.0008x + 0.0613	y = -0.0006x^2 + 0.0023x + 0.0607	y = -0.0014x + 0.0619
	R^2 = 0.1373	**R^2 = 0.1786**	**R^2 = 0.1831**

PHP indikatörlü %FFA çalışmaları için yürütülen sıcaklık çalışma sonuçlarına ait yorumlarda da belirtildiği gibi; BTB indikatörlü %FFA çalışmalarının gerçekleştirileceği sıcaklık değeri de, istenilen reaksiyonun oluşumu için yağ viskozitesini ayarlayabilecek özellikte olmalı ve deneyler sonunda elde edilen pikler, verilerin doğru biçimde değerlendirilebilmesi için, pikleri yeterli ölçüde birbirinden farklandırabilecek belirli bir yükseklik ve alan değerine sahip olmalıdır.

Bu özellikler göz önünde bulundurularak; BTB indikatörlü %FFA çalışmalarının yürütüleceği uygun sıcaklık değeri, 40°C olarak belirlenmiştir[34] ***(Şekil 8.58., Tablo 8.44.)***.

8.5.2.3. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen Otomatik Enjeksiyonlu %FFA Çalışmaları

Otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinleri için; standart mısır yağı numuneleri ile gerçekleştirilen optimizasyon deneylerinden tespit edilen parametre değerlerinin kullanılmasıyla ayçiçek, soya, kanola ve yer fıstığı yağları üzerinde de %FFA çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmaların gerçekleştirildiği optimize deney şartları aşağıda sıralanmıştır:

- taşıyıcı faz: ***n-propanol ve etil alkol-dietil eter karışımı***
- taşıyıcı faz akış hızı: ***2 mL/dk***
- numune ve reaktif hacmi: ***30µL reaktif / 1µL numune / 30µL reaktif***
- dalga boyu: ***580 nm*** (PHP`li deneylerde), ***628 nm*** (BTB`li deneylerde)
- enjeksiyonda ön karıştırma: ***yok***
- reaktif konsantrasyonu (KOH ve indikatör konsantrasyonu):

  PHP indikatörlü deneyler için: ***2.5 x10^{-3} mol/L KOH ile 25.0 x10^{-5} mol/L PHP*** (n-propanol içinde çözülmüş),

  BTB indikatörlü deneyler için: ***7.5 x10^{-4} mol/L KOH ile 25.0 x10^{-5} mol/L BTB*** (n-propanol içinde çözülmüş) çözeltileri kullanılmıştır[35].
- reaksiyon hücresi (geometrisi ve iç çapı): ***50 µL loop (sarmal, 0.51 mm i.d.).***
- sıcaklık: ***40 °C***
- dedektör: ***DAD dedektör***

---

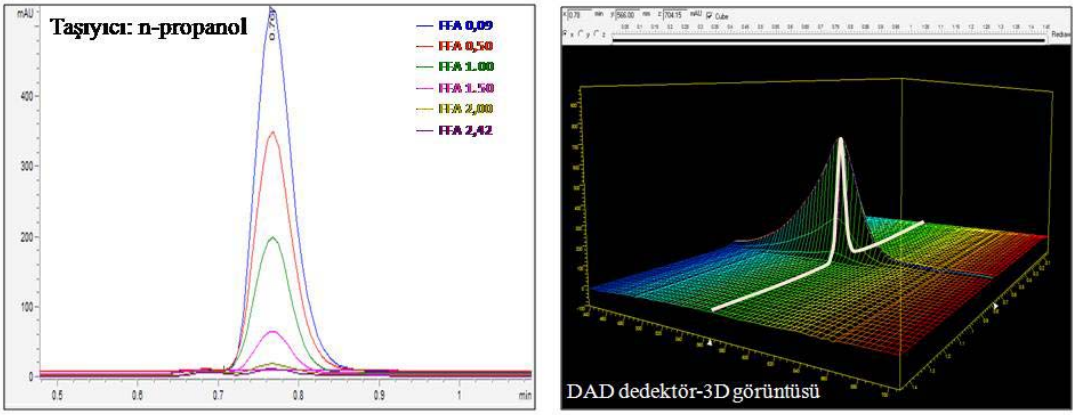
[34] BTB indikatörlü deneylerin yürütüleceği uygun sıcaklık değerinin 40°C olarak seçilmesinde, PHP indikatörlü deneylerle kıyaslama yapılması durumunda, önemli bir faktör olan sıcaklık değerinin aynı olmasının uygun olduğu düşüncesi de etkili olmuştur.

[35] Farklı bir çözücünün de deneyler üzerine olan etkisini incelemek amacıyla; belirtilen reaktifler etil alkol-dietil eter karışımında da hazırlanmış ve farklı çözücülerin de FFA tayini üzerine olan etkisi incelenmiştir.

Bazı bitkisel yağlar için gerçekleştirilen PHP indikatörlü %FFA tayinleri:

PHP indikatörlü %FFA tayinlerini gerçekleştirmede kullanılan bitkisel yağlar, tıpkı optimizasyon deneylerinde kullanılan mısır yağı numuneleri gibi standart yağ numuneleri olup; bu numuneler kullanılarak gerçekleştirilen tayinlerden elde edilen veriler ile her bir yağ için kalibrasyon grafiği oluşturulmuş ve bu grafikler ilerde %FFA değerleri bilinmeyen yağların %FFA içeriklerini tespit etmede kullanılmıştır.

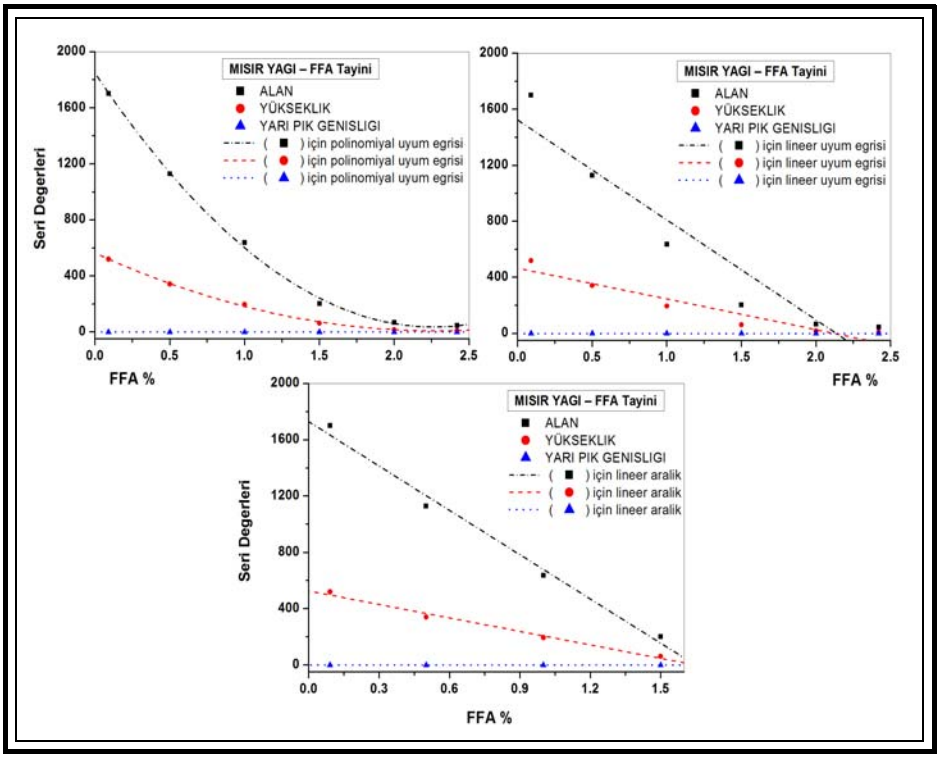
- ***Standart Mısır Yağı Numuneleri ile PHP`li %FFA Tayini:***



Şekil 8.64. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $0.09 \pm 1.71 \times 10^{-3}$ Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü

Tablo 8.49. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5×10^{-3} M KOH + 25.0×10^{-5} M PHP Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.767	1701.5	519.8	0.052	0.787
0.50	0.769	1128.4	341.6	0.050	0.814
1.00	0.770	637.1	195.4	0.050	0.906
1.50	0.774	202.9	62.2	0.050	0.876
2.00	0.764	67.7	16.6	0.062	0.657
2.42	0.765	45.8	10.8	0.062	0.574



Şekil 8.65. PHP İndikatörlü Deneylerde Gerçek [PHP] Tespit Edilen Reaktif ile Mısır Yağı FFA Tayininde Sıcaklık Etkisi

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 2.50 x10^{-3} M KOH + 25.0 x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

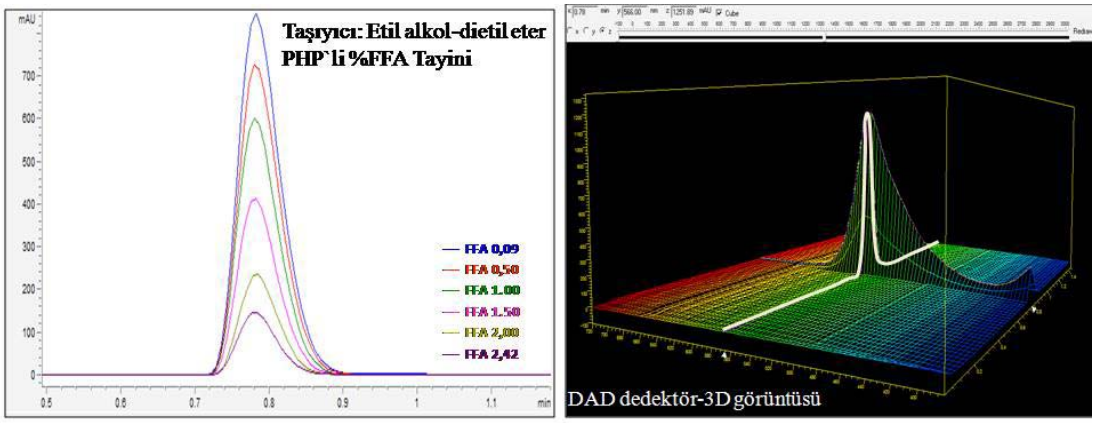
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

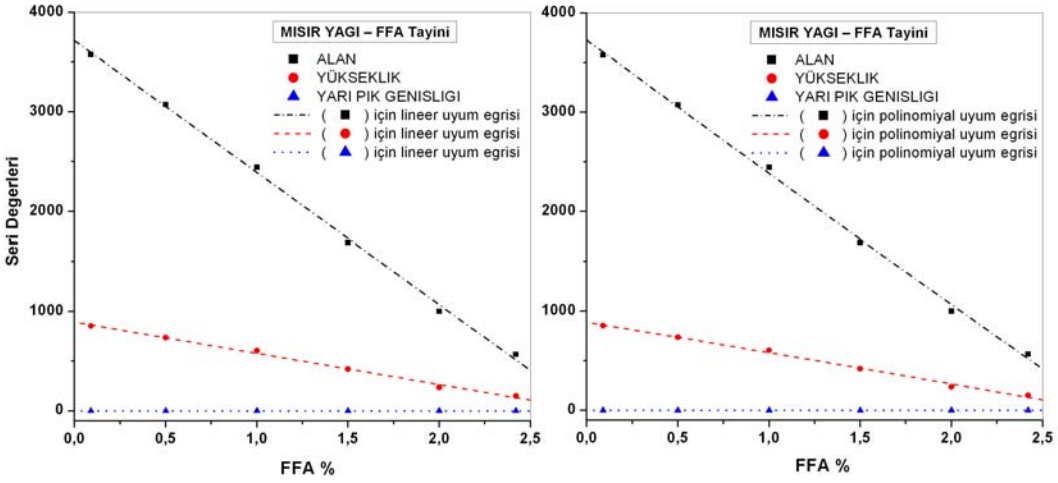
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.50. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

DAD DEDEKTÖR İLE MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop			
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.50 %FFA)**
Alan	y = -713.97x + 1524.2	y = 353.02x^2 - 1599.6x + 1846.4	y = -1049.2x + 1728
	R^2 = 0.9036	**R^2 = 0.9987**	**R^2 = 0.9885**
Yükseklik	y = -219.27x + 465.52	y = 106.61x^2 - 486.72x + 562.81	y = -319.47x + 526.54
	R^2 = 0.9064	**R^2 = 0.9986**	**R^2 = 0.9873**
Yarı pik genişliği	y = 0.0049x + 0.0482	y = 0.0049x^2 - 0.0073x + 0.0527	y = -0.0015x + 0.0518
	R^2 = 0.576	**R^2 = 0.8239**	**R^2 = 0.7322**



Şekil 8.66. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 2.24×10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.67. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı %FFA Tayini

Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter

Reaktif: 2.5×10^{-3} M KOH + 25.0×10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.51. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

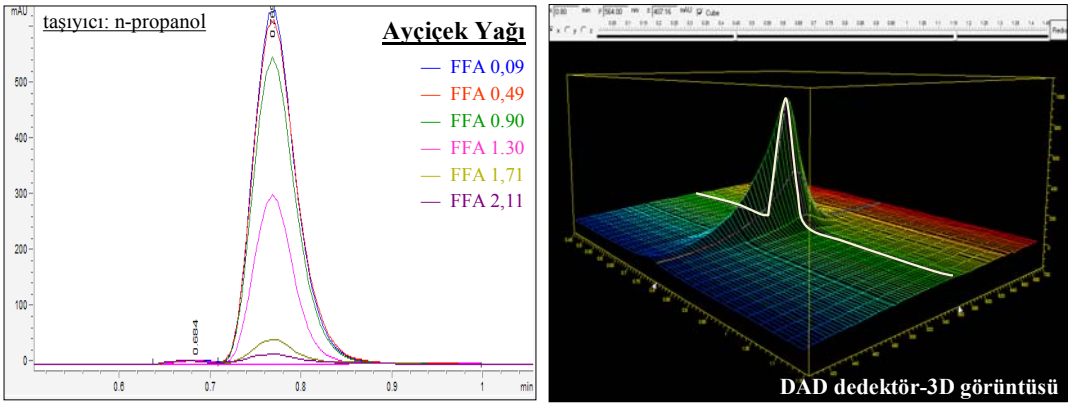
	DAD DEDEKTÖR İLE MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.782	3577.3	853.5	0.0629	0.660
0.50	0.784	3073.6	736.2	0.0647	0.656
1.00	0.783	2443.9	606.0	0.0611	0.684
1.50	0.785	1688.3	419.1	0.0671	0.693
2.00	0.787	1000.0	236.6	0.0619	0.757
2.42	0.791	567.1	149.1	0.0634	0.727

Tablo 8.52. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-2.42 %FFA)**
Alan	$y = -1324.5x + 3716.2$	$y = 14.286x^2 - 1360.3x + 3729.2$	$y = -1324.5x + 3716.2$
	$R^2 = 0.9982$	**$R^2 = 0.9982$**	**$R^2 = 0.9982$**
Yükseklik	$y = -313.29x + 892.22$	$y = -4.7222x^2 - 301.45x + 887.91$	$y = -313.29x + 892.22$
	$R^2 = 0.9951$	**$R^2 = 0.9952$**	**$R^2 = 0.9951$**
Yarı pik genişliği	$y = -5E-06x + 0.0635$	$y = -0.0007x^2 + 0.0017x + 0.0629$	$y = -5E-06x + 0.0635$
	$R^2 = 5.0x10^{-6}$	**$R^2 = 0.0342$**	**$R^2 = 5.0x10^{-6}$**

Gerek n-propanol, gerekse etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları kullanılarak mısır yağı numuneleri için gerçekleştirilen %FFA tayinleri sonunda; her iki taşıyıcı faz ile de yüksek korelasyon değerlerine sahip, kullanılabilir sonuçlar elde edilmiştir ***(Tablo 8.50., Tablo 8.52.)***.

- ***Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile PHP`li %FFA Tayini:***

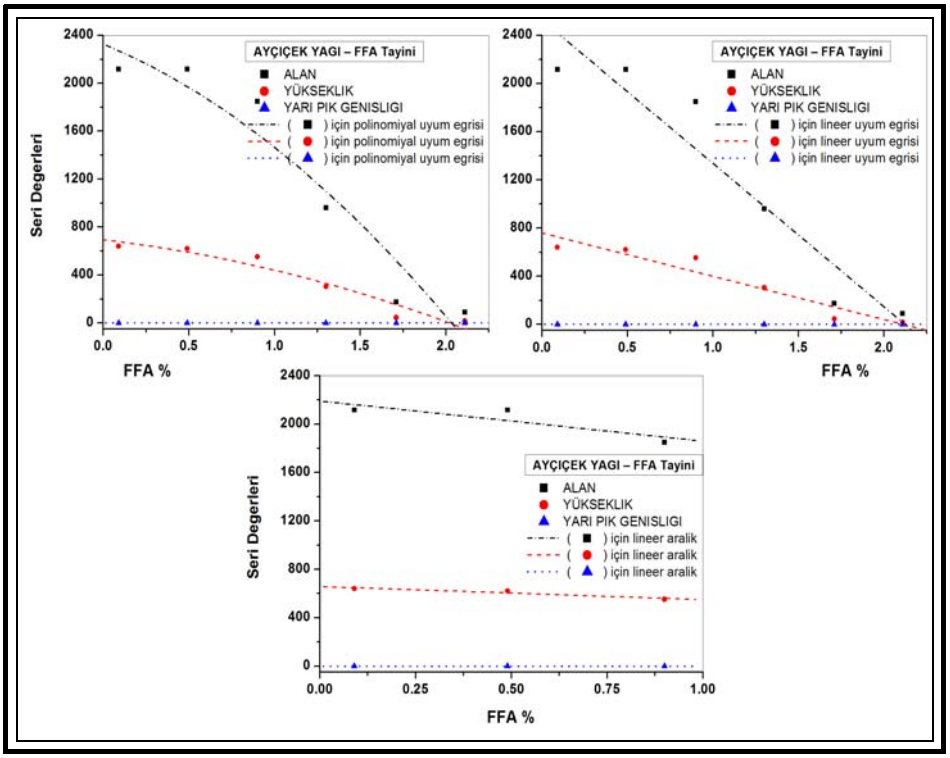


(a) **(b)**

Şekil 8.68. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $0.09 \pm 1.70 \times 10^{-3}$ Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü

Tablo 8.53. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE AYÇİÇEK YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.769	2117.4	640.3	0.0506	0.770
0.49	0.772	2116.6	620.4	0.0518	0.753
0.90	0.770	1850.0	552.3	0.0511	0.770
1.30	0.771	960.3	304.1	0.0488	0.822
1.71	0.775	174.4	45.5	0.0567	0.670
2.11	0.777	90.8	18.3	0.072	0.694



Şekil 8.69. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

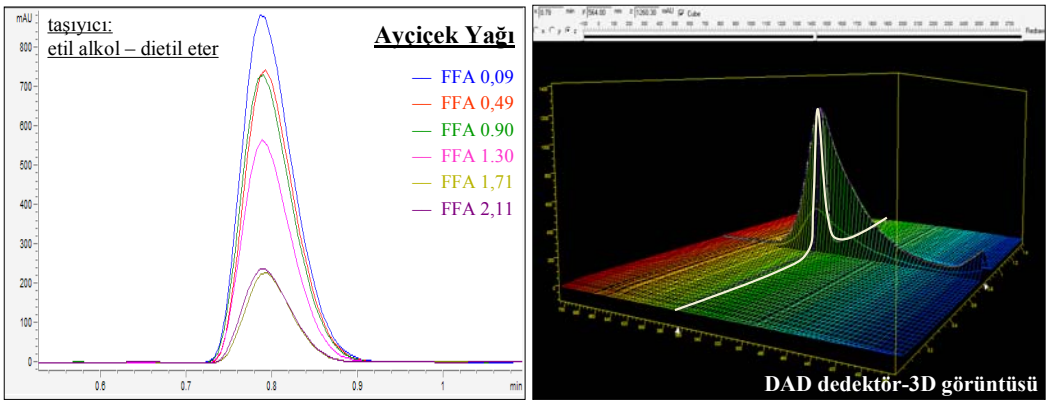
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop, Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 40°C

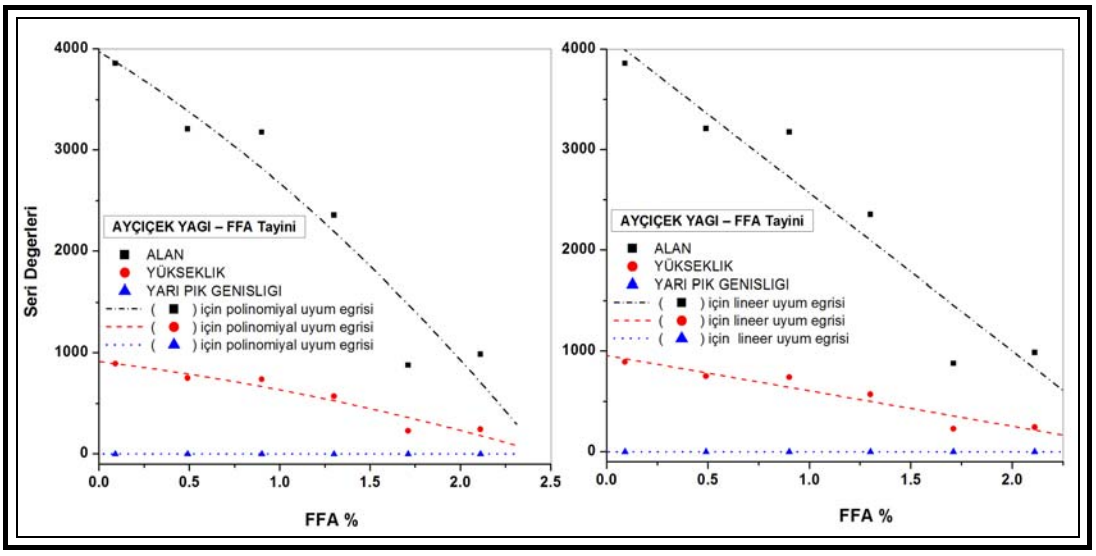
Tablo 8.54. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

DAD DEDEKTÖR İLE AYÇİÇEK YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop			
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-0.90 %FFA)**
Alan	y = -1192.8x + 2530.3	y = -273.16x^2 - 591.83x + 2329.6	y = -331.27x + 2191.8
	R^2 = 0.9131	**R^2 = 0.9297**	**R^2 = 0.7522**
Yükseklik	y = -359.82x + 759.29	y = -87.554x^2 - 167.21x + 694.95	y = -109.02x + 658.25
	R^2 = 0.9179	**R^2 = 0.9368**	**R^2 = 0.9091**
Yarı pik genişliği	y = 0.0085x + 0.0459	y = 0.0115x^2 - 0.0168x + 0.0543	y = 0.0006x + 0.0509
	R^2 = 0.5431	**R^2 = 0.8925**	**R^2 = 0.172**



(a) **(b)**

Şekil 8.70. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 2.11×10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.71. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı %FFA Tayini

Taşıyıcı: Etanol-dietil eter

Reaktif: 2.5×10^{-3} M KOH + 25.0×10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.55. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

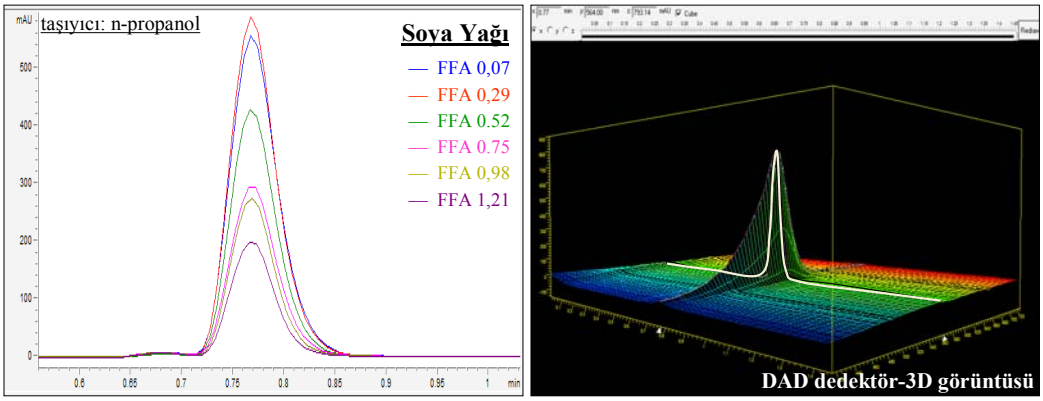
	DAD DEDEKTÖR İLE AYÇİÇEK YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.789	3859.7	893.1	0.0664	0.634
0.49	0.788	3209.7	751.4	0.0658	0.652
0.90	0.791	3176.3	740.6	0.066	0.651
1.30	0.792	2356.6	570.7	0.0688	0.687
1.71	0.794	879.2	228.4	0.0642	0.719
2.11	0.798	988.2	243.9	0.0675	0.683

Tablo 8.56. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE AYÇİÇEK YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.90-1.71 %FFA)**
Alan	$y = -1569.4x + 4137.9$	$y = -217.17x^2 - 1091.6x + 3978.3$	$y = -2845.x + 5842$
	$R^2 = 0.9122$	**$R^2 = 0.9183$**	**$R^2 = 0.973$**
Yükseklik	$y = -352.89x + 959.53$	$y = -59.198x^2 - 222.65x + 916.02$	$y = -634.5x + 1339$
	$R^2 = 0.9116$	**$R^2 = 0.9205$**	**$R^2 = 0.963$**
Yarı pik genişliği	$y = 0.0002x + 0.0662$	$y = 3E\text{-}05x^2 + 0.0002x + 0.0662$	$y = -0.002x + 0.069$
	$R^2 = 0.0142$	**$R^2 = 0.0143$**	**$R^2 = 0.150$**

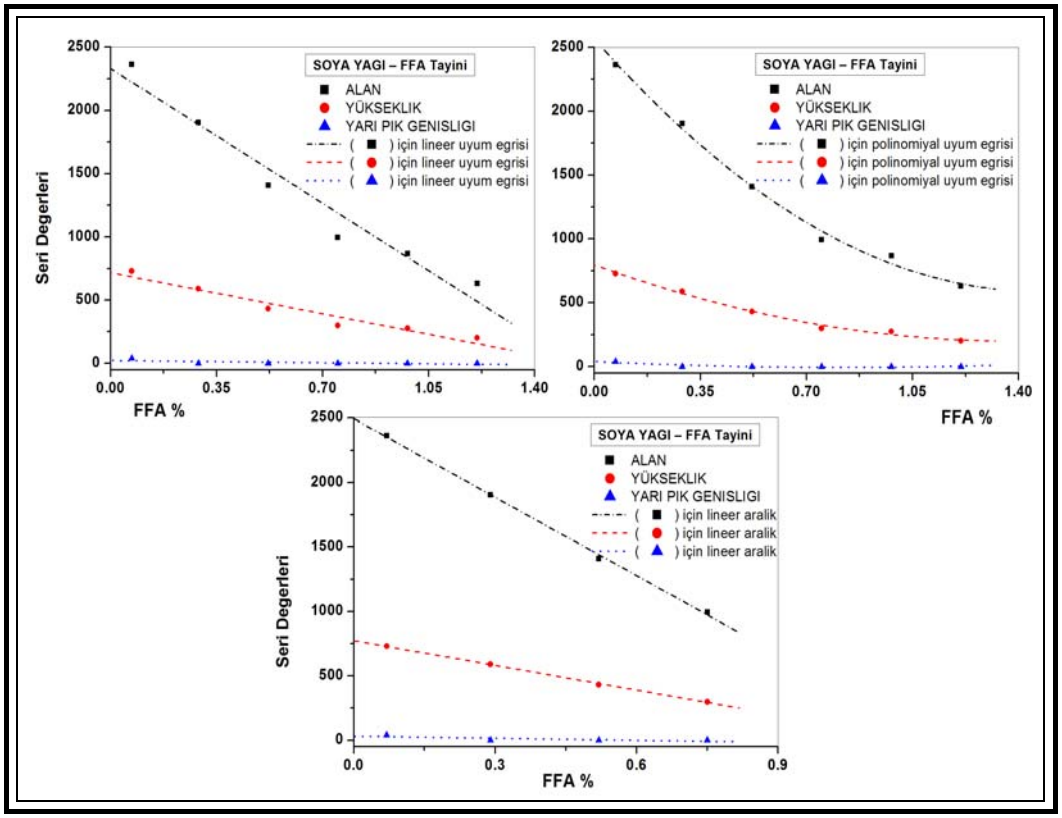
Farklı taşıyıcı fazlar kullanılarak mısır yağı numuneleri ile gerçekleştirilen %FFA tayin sonuçlarının değerlendirilmesinde yapılan yorumlar, ayçiçek yağı numuneleri ile yürütülen %FFA tayinleri için de uyuşmaktadır ***(Tablo 8.53., Tablo 8.55.)***. Dolayısıyla; hem n-propanol, hem de etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları, ayçiçeği yağı numunelerinin %FFA tayinlerinde kullanılabilir.

- ***Standart Soya Yağı Numuneleri ile PHP`li %FFA Tayini:***



(a) **(b)**

Şekil 8.72. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $0.07 \pm 1.22 \times 10^{-3}$ Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.73. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı %FFA Tayini

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 2.5×10^{-3} M KOH + 25.0×10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

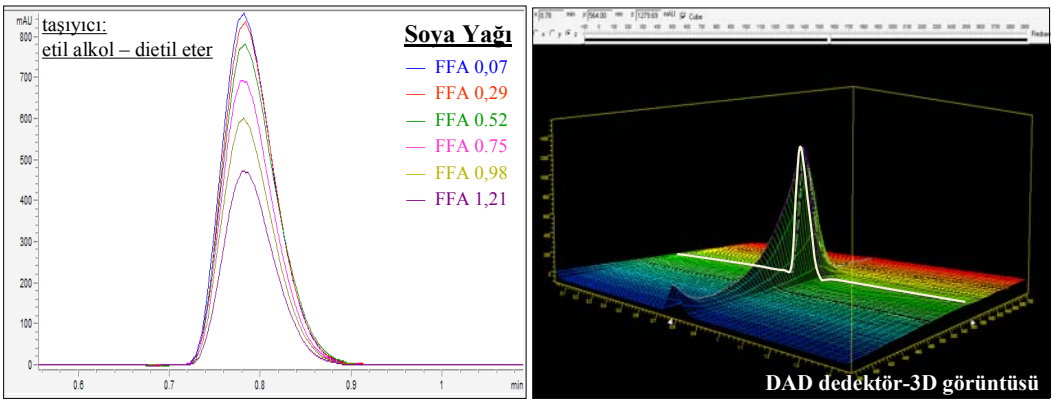
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.57. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE SOYA YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.07	0.769	2364.0	730.0	0.0497	0.776
0.29	0.767	1904.3	589.7	0.0497	0.799
0.52	0.768	1408.8	431.1	0.0521	0.794
0.75	0.773	995.1	298.9	0.0528	0.789
0.98	0.772	867.6	275.9	0.0487	0.816
1.21	0.775	631.7	201.7	0.0505	0.822

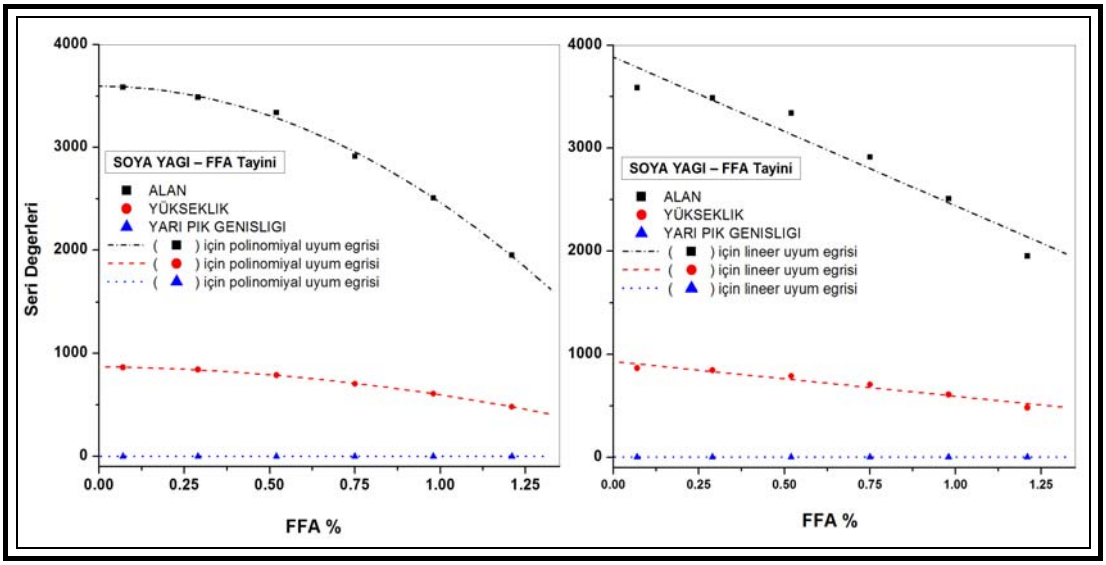
Tablo 8.58. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE SOYA YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.07-0.75 %FFA)**
Alan	$y = -1527x + 2331.5$	$y = 890.04x^2 - 2657.3x + 2555.5$	$y = -2018.5x + 2489.6$
	$R^2 = 0.9586$	**$R^2 = 0.9948$**	**$R^2 = 0.9988$**
Yükseklik	$y = -465.55x + 716.84$	$y = 299.85x^2 - 846.36x + 792.29$	$y = -636.8x + 771.6$
	$R^2 = 0.9475$	**$R^2 = 0.9911$**	**$R^2 = 0.9989$**
Yarı pik genişliği	$y = -25.031x + 22.604$	$y = 68.611x^2 - 112.17x + 39.867$	$y = -52.561x + 31.431$
	$R^2 = 0.4286$	**$R^2 = 0.7857$**	**$R^2 = 0.5999$**



(a) **(b)**

Şekil 8.74. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.07 ± 2.15x10^{-3} Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.75. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı %FFA Tayini

Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter

Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.59. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

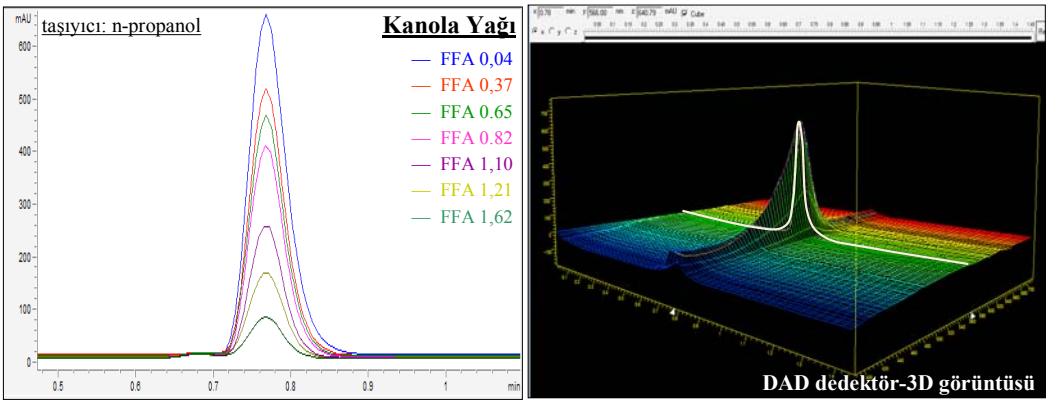
	DAD DEDEKTÖR İLE SOYA YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.07	0.781	3586.8	865.0	0.0644	0.683
0.29	0.783	3488.3	844.4	0.0622	0.674
0.52	0.787	3339.3	789.4	0.0654	0.661
0.75	0.786	2913.3	705.7	0.0642	0.670
0.98	0.786	2508.9	609.5	0.0620	0.675
1.21	0.789	1950.8	482.2	0.0632	0.703

Tablo 8.60. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE SOYA YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.52-1.21 %FFA)**
Alan	$y = -1446.6x + 3883.2$	$y = -1140.3x^2 + 1.5691x + 3596.3$	$y = -2004.3x + 4407.8$
	$R^2 = 0.9333$	**$R^2 = 0.9976$**	**$R^2 = 0.9944$**
Yükseklik	$y = -338.65x + 931.07$	$y = -239.87x^2 - 34.006x + 870.72$	$y = -446.4x + 1031.9$
	$R^2 = 0.9468$	**$R^2 = 0.9995$**	**$R^2 = 0.9906$**
Yarı pik genişliği	$y = -338.65x + 931.07$	$y = -0.0016x^2 + 0.001x + 0.0638$	$y = -0.0039x + 0.067$
	$R^2 = 0.0975$	**$R^2 = 0.1258$**	**$R^2 = 0.6166$**

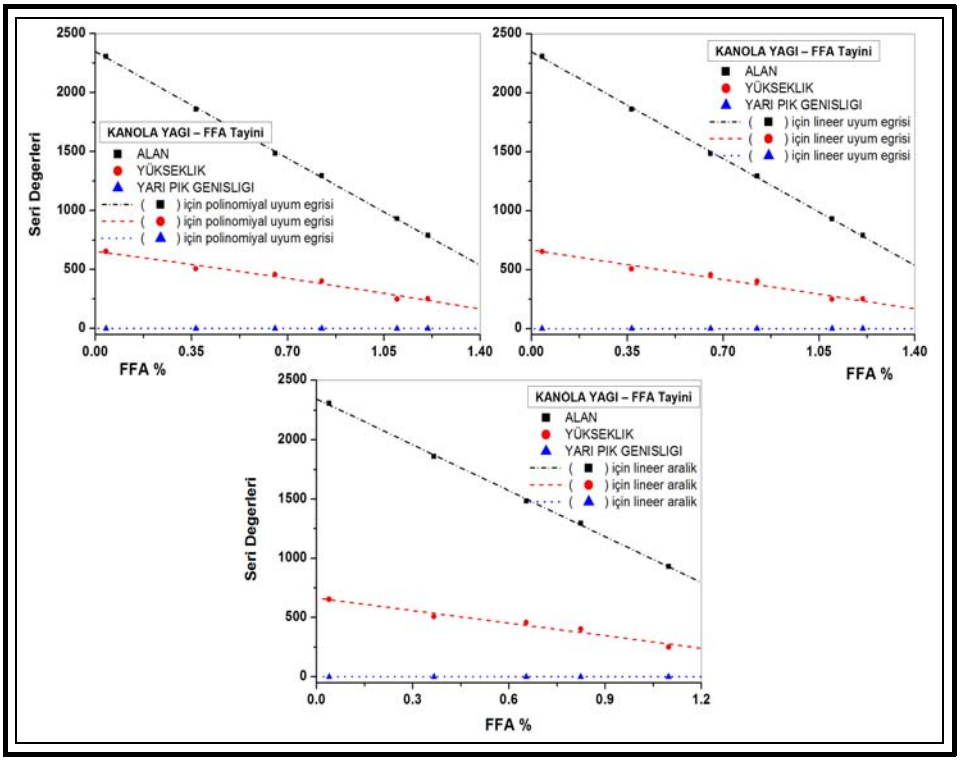
n-propanol ve etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları kullanılarak, soya yağı numuneleri ile gerçekleştirilen %FFA tayin sonuçları incelendiğinde; n-propanol ile elde edilen lineer regresyon sonuçlarının daha iyi olduğu görülmüş, ***(Tablo 8.58., Tablo 8.60.)*** fakat; etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazı ile de kullanılabilir sonuçlar elde edilmiştir.

- ***Standart Kanola Yağı Numuneleri ile PHP`li %FFA Tayini:***



(a) **(b)**

Şekil 8.76. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.04 ± 1.46x10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.77. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı %FFA Tayini

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

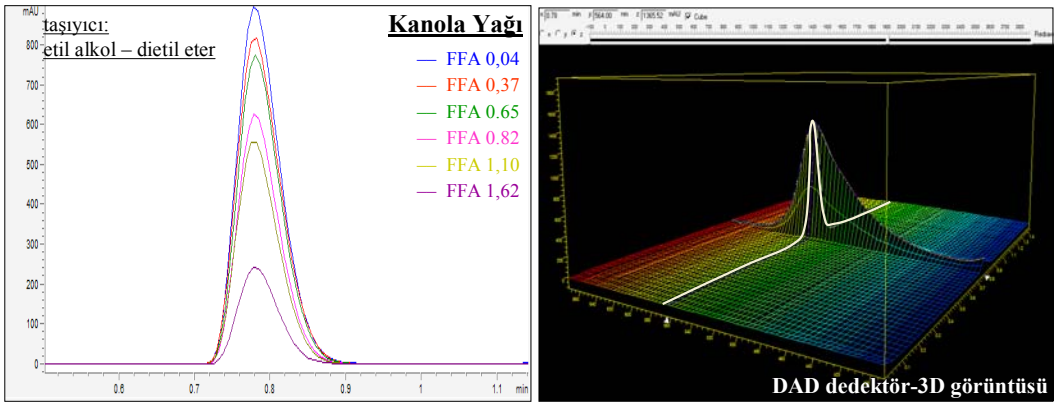
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.61. n-Ppropanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE KANOLA YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.04	0.768	2308.8	653.2	0.0552	0.734
0.37	0.771	1861.0	507.3	0.0501	0.810
0.65	0.769	1484.8	457.6	0.0499	0.821
0.82	0.767	1295.6	403.1	0.0515	0.820
1.10	0.774	931.0	250.0	0.0499	0.918
1.21	0.770	791.2	252.6	0.0505	0.868

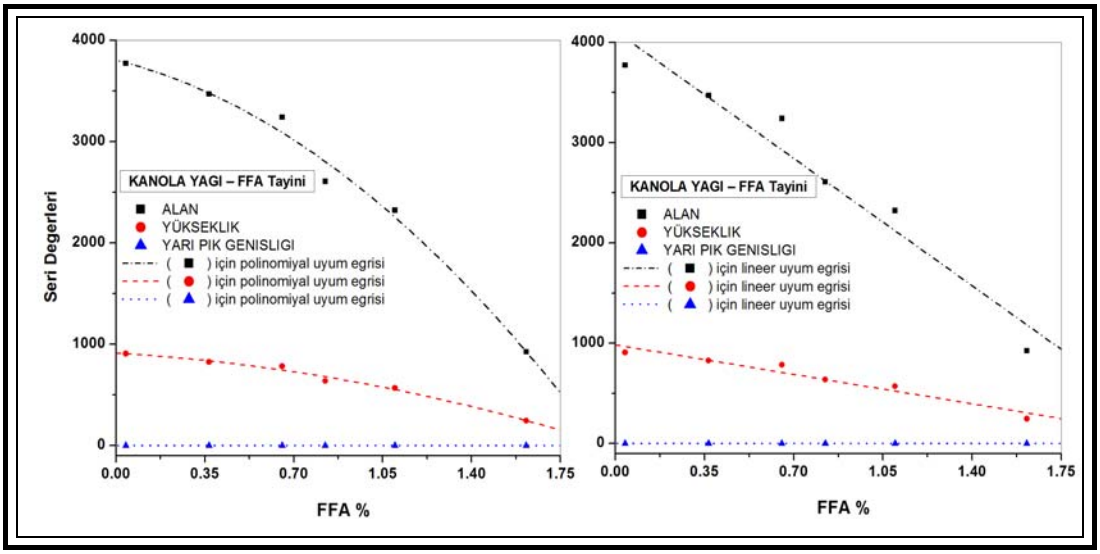
Tablo 8.62. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE KANOLA YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.04-1.21 %FFA)**
Alan	$y = -1288.3x + 2345.3$	$y = 50.842x^2 - 1352.9x + 2357.3$	$y = -1288.3x + 2345.3$
	$R^2 = 0.9995$	**$R^2 = 0.9997$**	**$R^2 = 0.9995$**
Yükseklik	$y = -345.53x + 661.98$	$y = -30.026x^2 - 307.37x + 654.9$	$y = -345.53x + 661.98$
	$R^2 = 0.9744$	**$R^2 = 0.9753$**	**$R^2 = 0.9744$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0031x + 0.0534$	$y = 0.0073x^2 - 0.0123x + 0.0551$	$y = -0.0031x + 0.0534$
	$R^2 = 0.4476$	**$R^2 = 0.7434$**	**$R^2 = 0.4476$**



(a) **(b)**

Şekil 8.78. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.04 ± 4.23x10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.79. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı %FFA Tayini

Taşıyıcı: Etanol-dietil eter

Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.63. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

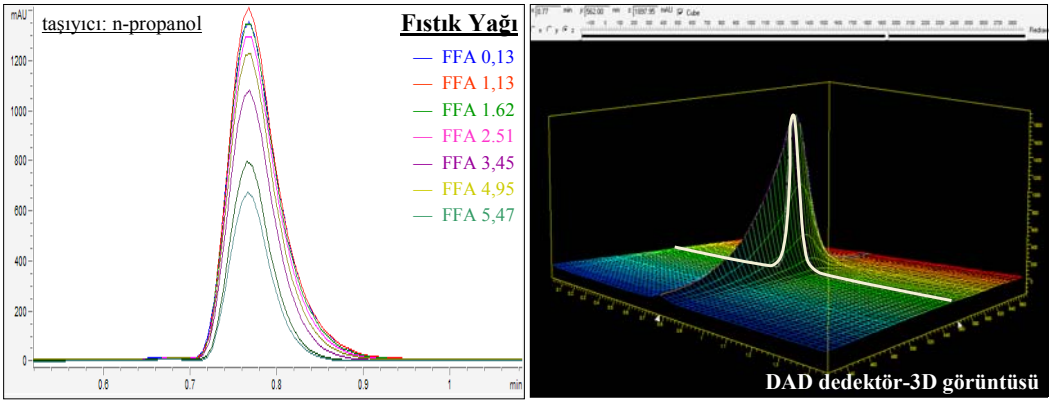
	DAD DEDEKTÖR İLE KANOLA YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.04	0.780	3773.5	907.6	0.0645	0.659
0.37	0.782	3471.7	826.0	0.065	0.667
0.65	0.783	3242.1	783.3	0.0643	0.669
0.82	0.782	2608.5	636.7	0.0638	0.671
1.10	0.785	2323.3	569.1	0.0636	0.681
1.62	0.789	925.6	245.3	0.0629	0.741

Tablo 8.64. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE KANOLA YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.04-0.65 %FFA)**
Alan	y = -1814.9x + 4114.3	y = -714.86x^2 - 627.01x + 3806.8	y = -865.39x + 3801.2
	R^2 = 0.9476	**R^2 = 0.9876**	**R^2 = 0.9983**
Yükseklik	y = -419.3x + 982.52	y = -164.11x^2 - 146.61x + 911.93	y = -203.18x + 910.69
	R^2 = 0.9478	**R^2 = 0.9873**	**R^2 = 0.9799**
Yarı pik genişliği	y = -0.0012x + 0.065	y = -0.0005x^2 - 0.0005x + 0.0648	y = -0.0003x + 0.0647
	R^2 = 0.8334	**R^2 = 0.8655**	**R^2 = 0.0586**

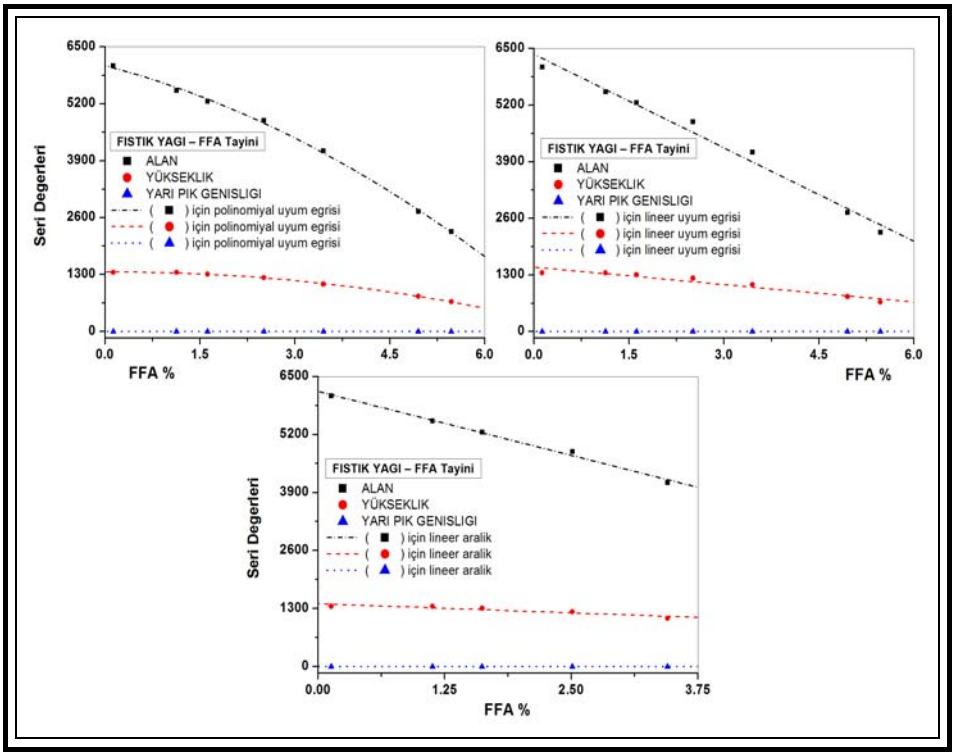
n-propanol ve etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları kullanılarak, kanola yağı numuneleri ile gerçekleştirilen %FFA deneylerinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; gerek elde edilen piklerin alan ve yükseklik değerlerindeki farklanmalar ***(Şekil 8.76.)***, gerek lineer regresyon katsayısının yüksekliği, gerekse yüksek %FFA içeriğine sahip numuneler için lineerlik sergilemesi sebebiyle ***(Tablo 8.62., Tablo 8.64.)***, kanola yağı numuneleri %FFA tayinlerinde (PHP indikatörlü), taşıyıcı faz olarak n-propanol kullanımının daha uygun olduğu düşünülmektedir.

- ***Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile PHP`li %FFA Tayini:***



(a) **(b)**

Şekil 8.80. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.13 ± 9.46x10^{-3} Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.81. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı %FFA Tayini

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

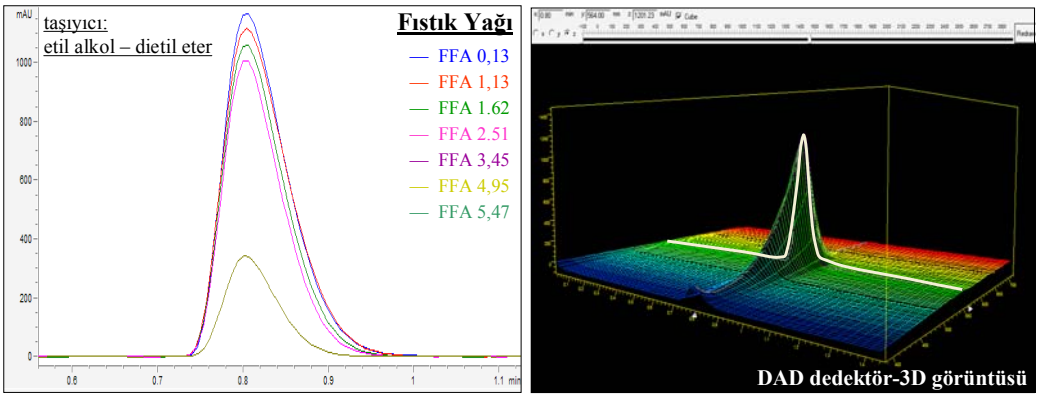
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.65. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE YER FISTIĞI YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.13	0.772	6070.0	1402.6	0.0619	0.604
1.13	0.769	5505.0	1348.1	0.0616	0.619
1.62	0.768	5254.9	1304.9	0.0610	0.632
2.51	0.768	4817.8	1229.3	0.0597	0.658
3.45	0.770	4122.6	1080.4	0.0565	0.687
4.95	0.776	2734.7	801.3	0.0518	0.752
5.47	0.778	2277.0	676.8	0.0512	0.762

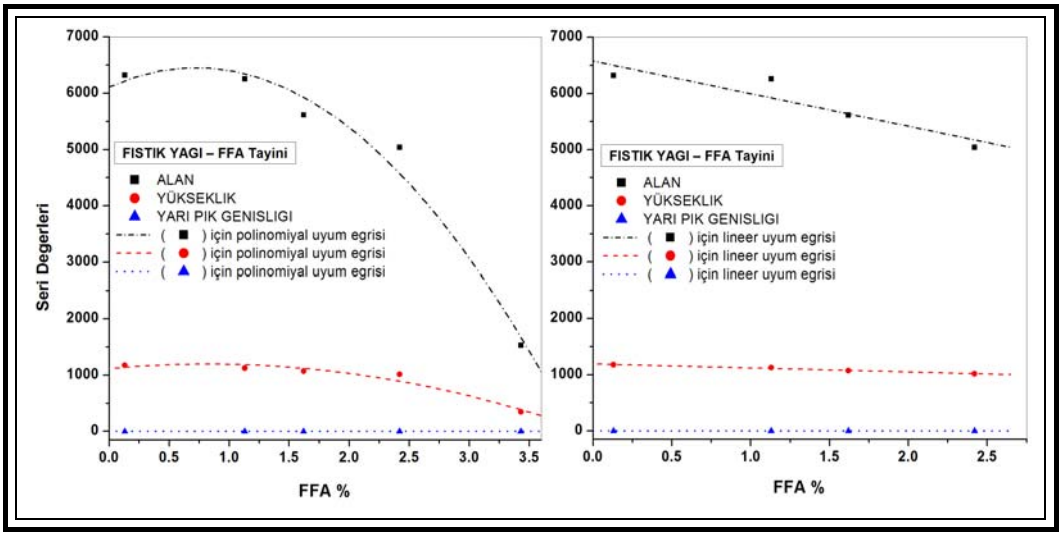
Tablo 8.66. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE YER FISTIĞI YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.13-3.45 %FFA)**
Alan	y = -644.71x + 7621	y = -67.485x^2 + 30.135x + 6203.8	y = -458.2x + 6986.9
	R^2 = 0.9483	**R^2 = 0.9795**	**R^2 = 0.9768**
Yükseklik	y = -124.84x + 1744.7	y = -19.954x^2 + 74.696x + 1325.7	y = -76.32x + 1578.3
	R^2 = 0.9137	**R^2 = 0.9837**	**R^2 = 0.9326**
Yarı pik genişliği	y = -0.002x + 0.0677	y = -0.0003x^2 + 0.0011x + 0.0613	y = -0.0013x + 0.0652
	R^2 = 0.8936	**R^2 = 0.9564**	**R^2 = 0.8309**



(a) **(b)**

Şekil 8.82. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.13 ± 4.23x10^{-3} Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.83. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı %FFA Tayini

Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter

Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.67. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

DAD DEDEKTÖR İLE YER FISTIĞI YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Taşıyıcı: Etil-alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop					
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.13	0.804	6319.5	1175.5	0.0807	0.527
1.13	0.811	6257.8	1124.2	0.0849	0.542
1.62	0.812	5613.5	1071.0	0.0791	0.561
2.42	0.807	5040.7	1015.2	0.0759	0.579
3.43	0.831	1529.9	344.8	0.074	0.671

Tablo 8.68. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için PHP İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

DAD DEDEKTÖR İLE YER FISTIĞI YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etil Alkol-Dietil Eter Reaktif: 2.5x 10^{-3} M KOH + 25.0x 10^{-5} M PHP Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop			
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (1.13-2.42 %FFA)**
Alan	$y = -1397.6x + 7392.5$	$y = -652.93x^2 + 947.33x + 6111$	$y = -921.31x + 7225.1$
	$R^2 = 0.7819$	**$R^2 = 0.9775$**	**$R^2 = 0.9708$**
Yükseklik	$y = -232.2x + 1351.6$	$y = -119.13x^2 + 195.63x + 1117.8$	$y = -83.059x + 1213.3$
	$R^2 = 0.7282$	**$R^2 = 0.9479$**	**$R^2 = 0.9847$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0027x + 0.0836$	$y = -0.0009x^2 + 0.0007x + 0.0818$	$y = -0.0067x + 0.0915$
	$R^2 = 0.6277$	**$R^2 = 0.7143$**	**$R^2 = 0.9109$**

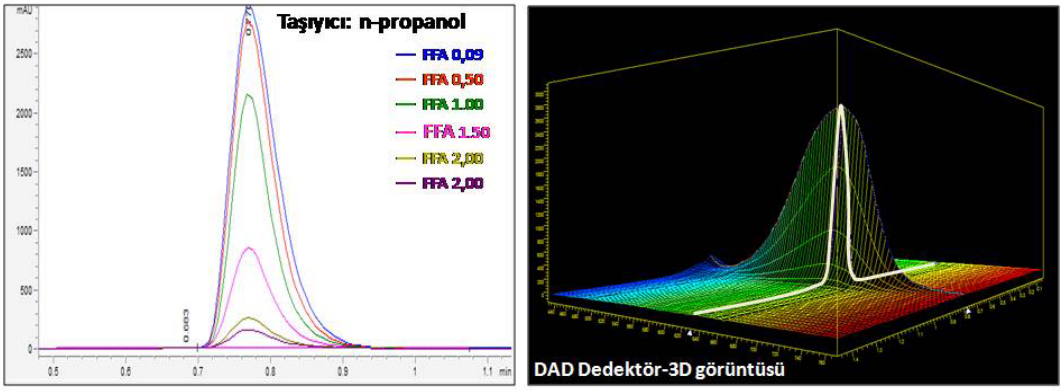
n-propanol ve etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları kullanılarak, yer fıstığı yağı numuneleri ile gerçekleştirilen %FFA deneylerinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; tıpkı kanola yağı numuneleri ile yürütülen %FFA tayinlerindeki olduğu gibi, n- propanol taşıyıcı fazı ile gerçekleştirilen tayinlerden daha uygun sonuçlar elde edilmiş; farklı %FFA değerine sahip yağ numuneleri oldukça iyi bir farklanma ile birbirlerinden ayrılabildiği gibi ***(Şekil 8.80.)***, regresyon katsayısı değerleri de oldukça yüksek bir şekilde elde edilmiştir ***(Tablo 8.66.)***. Bu sebeple; yer

fıstığı yağı numuneleri ile gerçekleştirilen %FFA tayinlerinde (PHP indikatörlü), taşıyıcı faz olarak n-propanol kullanımının daha uygun olduğu düşünülmektedir.

Bazı bitkisel yağlar için gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA tayinleri:

BTB indikatörlü %FFA tayinlerini gerçekleştirmede kullanılan bitkisel yağlar, tıpkı optimizasyon deneylerinde kullanılan mısır yağı numuneleri gibi standart yağ numuneleri olup, bu numuneler kullanılarak gerçekleştirilen tayinlerden elde edilen veriler ile her bir yağ için kalibrasyon grafiği oluşturulmuş ve bu grafikler ilerde %FFA değerleri bilinmeyen yağların %FFA içeriklerini tespit etmede kullanılmıştır.

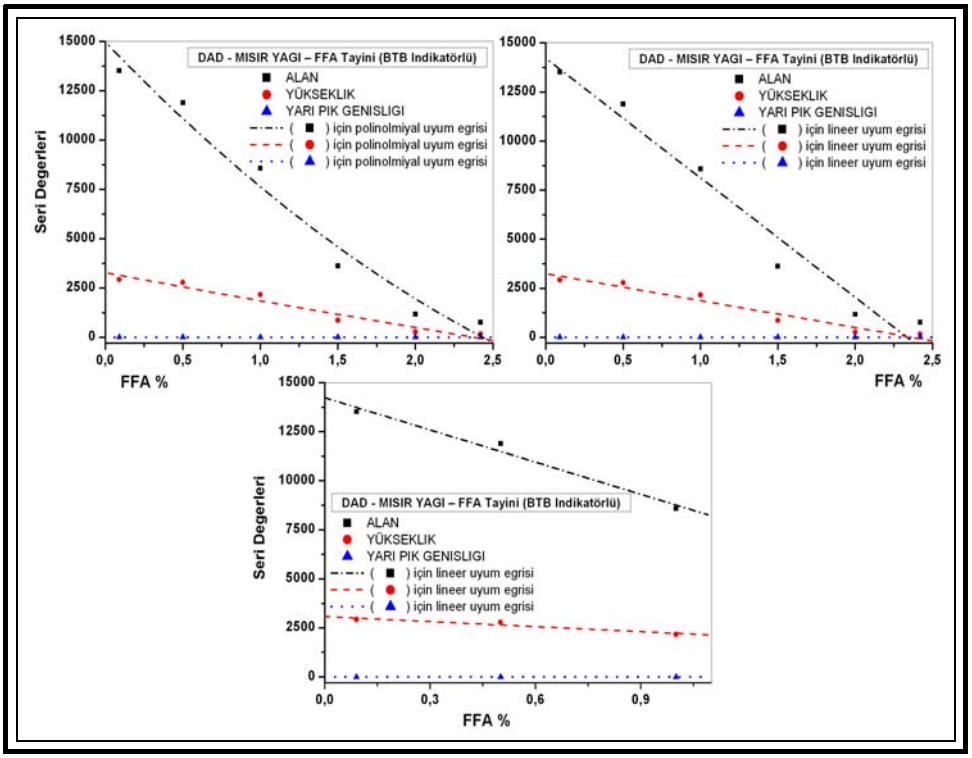
- ***Standart Mısır Yağı Numuneleri ile BTB`li %FFA Tayini:***



Şekil 8.84. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 7.94x10^{-3} Olan Mısır Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü

Tablo 8.69. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.770	13522.7	2923.8	0.0700	0.576
0.50	0.771	11891.9	2783.6	0.0658	0.615
1.00	0.769	8578.7	2161.4	0.0603	0.642
1.50	0.776	3620.8	860.6	0.0631	0.649
2.00	0.775	1172.3	258.7	0.0669	0.593
2.42	0.772	761.4	162.9	0.0685	0.583



Şekil 8.85. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı FFA Tayini

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 7.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)

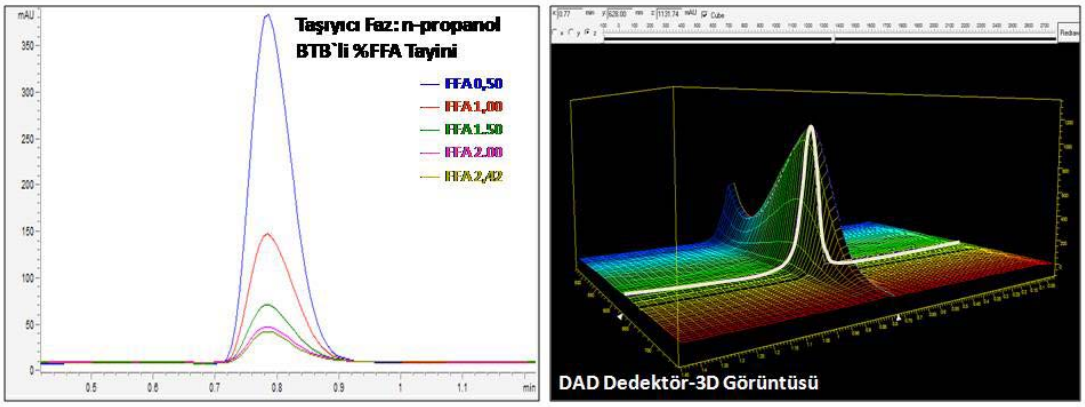
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

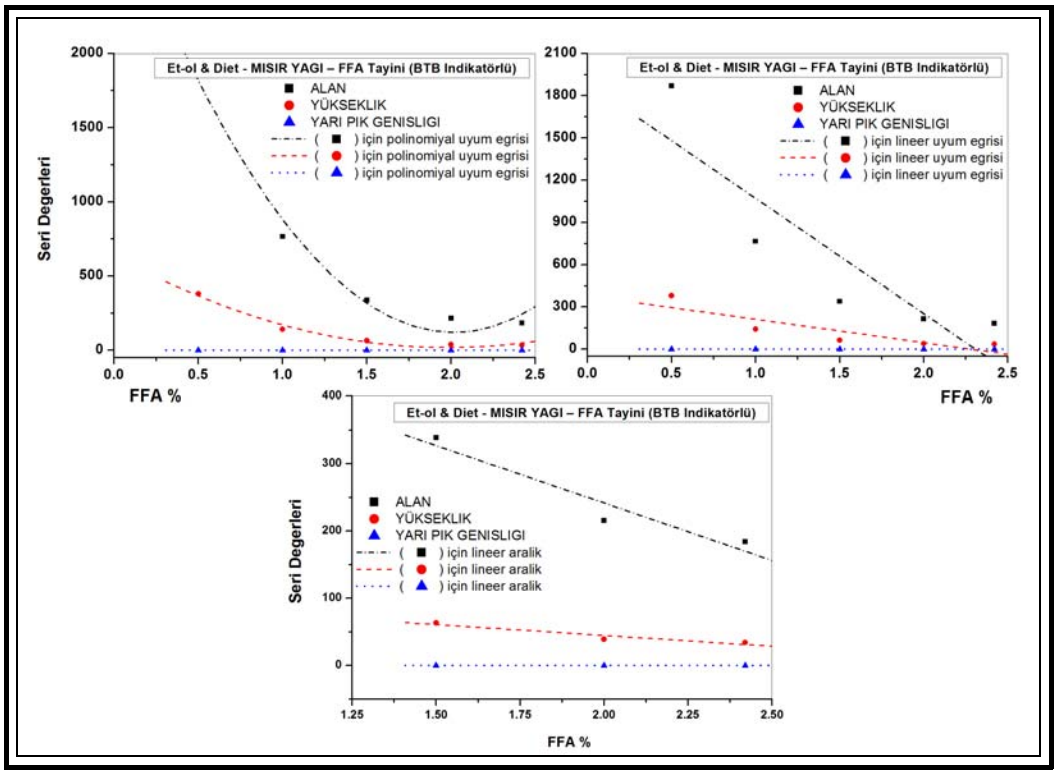
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.70. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.00 %FFA)**
Alan	y = -6089.2x + 14213	y = 836.21x^2 - 8186.9x + 14976	y = -5476.1x + 14233
	R^2 = 0.9654	**R^2 = 0.9732**	**R^2 = 0.9814**
Yükseklik	y = -1371x + 3241.1	y = 33.816x^2 - 1455.8x + 3272	y = -852.48x + 3074.8
	R^2 = 0.9497	**R^2 = 0.95**	**R^2 = 0.9166**
Yarı pik genişliği	y = -5E-05x + 0.0658	y = 0.0056x^2 - 0.0142x + 0.071	y = -0.0107x + 0.071
	R^2 = 1.0x10^{-4}	**R^2 = 0.8467**	**R^2 = 0.9996**



Şekil 8.86. Etanol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 7.85x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.87. Etanol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı FFA Tayini

Taşıyıcı: Etanol-Dietil Eter

Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.71. Etanol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.774	6307.8	1454.1	0.0666	0.651
0.50	0.784	1868.7	379.9	0.0754	0.656
1.00	0.787	766.1	141.1	0.0905	0.609
1.50	0.789	339.1	63.5	0.089	0.619
2.00	0.793	215.7	39.2	0.0918	0.609
2.42	0.794	184.2	34.3	0.0896	0.616

Tablo 8.72. Etanol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Mısır Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

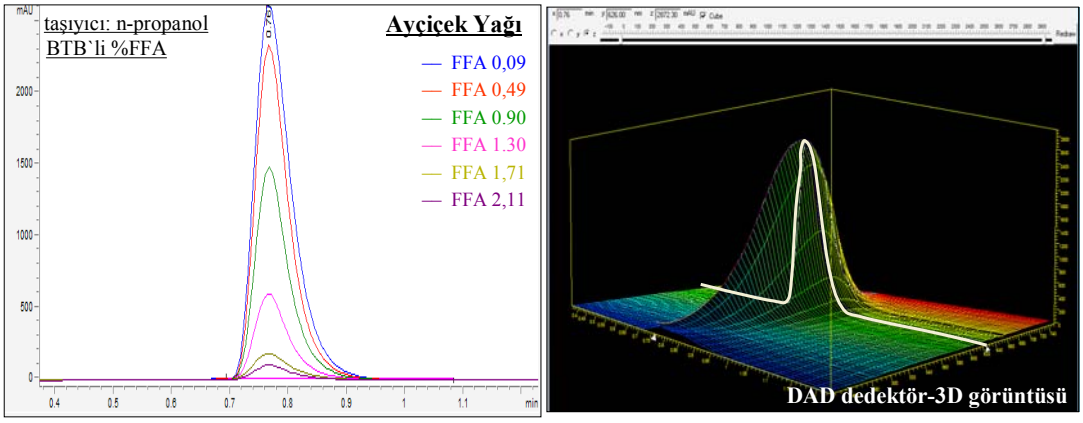
	DAD DEDEKTÖR İLE MISIR YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etanol-dietil eter Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (1.50-2.42 %FFA)**
Alan	y = -818.92x + 1890	y = 738.85x^2 - 2977.6x + 3119.8	y = -170.83x + 583.45
	R^2 = 0.7872	**R^2 = 0.9855**	**R^2 = 0.9237**
Yükseklik	y = -165.78x + 377.61	y = 158.09x^2 - 627.67x + 640.75	y = -32.269x + 109.34
	R^2 = 0.7637	**R^2 = 0.9787**	**R^2 = 0.9034**
Yarı pik genişliği	y = 0,0063x + 0,078	y = -0.0093x^2 + 0.0336x + 0.0624	y = 0.0008x + 0.0885
	R^2 = 0.5086	**R^2 = 0.8604**	**R^2 = 0.0637**

n-propanol ve etil alkol-dietil taşıyıcı fazları kullanılarak, mısır yağı numuneleri için BTB indikatörü ile yürütülen %FFA tayinleri sonunda elde edilen verilerin PHP indikatörü ile yürütülen deney sonuçlarından farklı bir yaklaşım izlediği görülmüştür. Şöyle ki; n-propanol`e göre daha yüksek bir absorbans şiddeti gösteren etil alkol-dietil karışımı, BTB indikatörü ile gerçekleştirilen %FFA deneylerinde daha düşük bir konsantrasyonda kullanılmış, bu sebeple elde edilen

veriler n-propanolden elde edilenlere kıyasla daha düşük çıkmıştır. Bir diğer önemli husus da BTB indikatörünün, PHP indikatörüne göre daha yüksek absorbans şiddetine sahip olması, bu sebeple de [KOH]`un BTB indikatörlü deneylerde 10 kat daha az bir konsantrasyonda kullanılmasıdır.

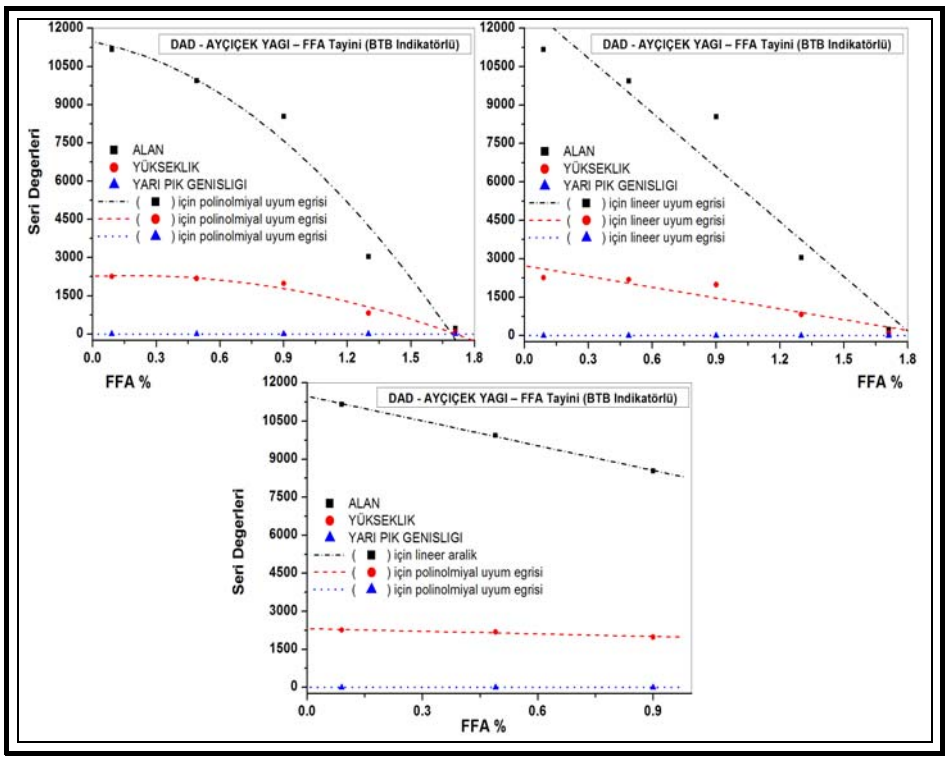
Yukarıda belirtilen hususlar doğrultusunda, BTB indikatörü ile gerçekleştirilen deneylerden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; farklı %FFA değerine sahip mısır yağı numunelerine ait pikleri farklandırmada n-propanol taşıyıcı fazının daha uygun olduğu görülmüş ***(Şekil 8.84.)***, alan, yükseklik ve yarı pik genişlikleri baz alınarak ayrı ayrı çizilen grafik denklemleri de bu uygunluğu kanıtlamıştır ***(Tablo 8.70.)***. Bu sebeple; mısır yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilecek BTB indikatörlü %FFA tayinleri için n-propanol taşıyıcı fazının kullanımının daha uygun olduğu düşünülmektedir.

- ***Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile BTB`li %FFA Tayini:***



(a) **(b)**

Şekil 8.88. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $0.09 \pm 6.19 \times 10^{-3}$ Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.89. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı FFA Tayini

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 7.5×10^{-4} M KOH + 25.0×10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

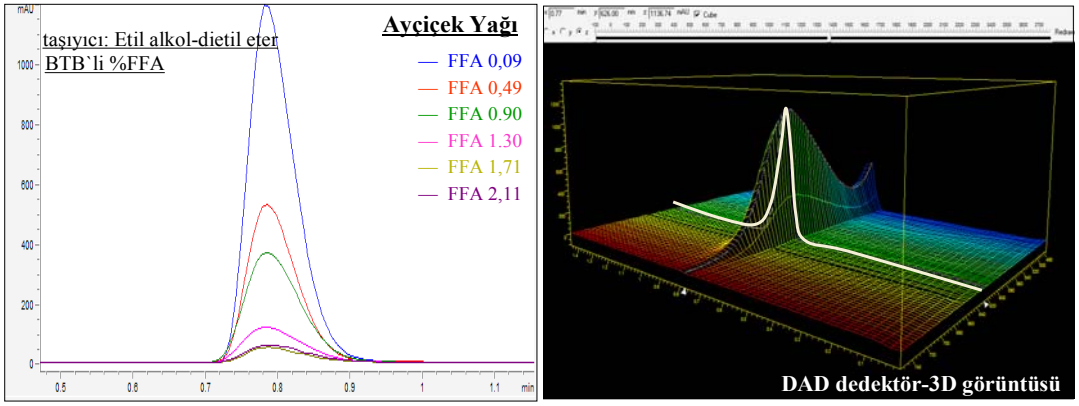
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.73. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE AYÇİÇEK YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.770	11171.4	2259.6	0.0777	0.594
0.49	0.770	9940.1	2179.9	0.0712	0.637
0.90	0.769	8538.7	1985.8	0.0662	0.679
1.30	0.763	3040.3	819.1	0.0593	0.775
2.11	0.786	229.9	90.4	0.0397	0.669

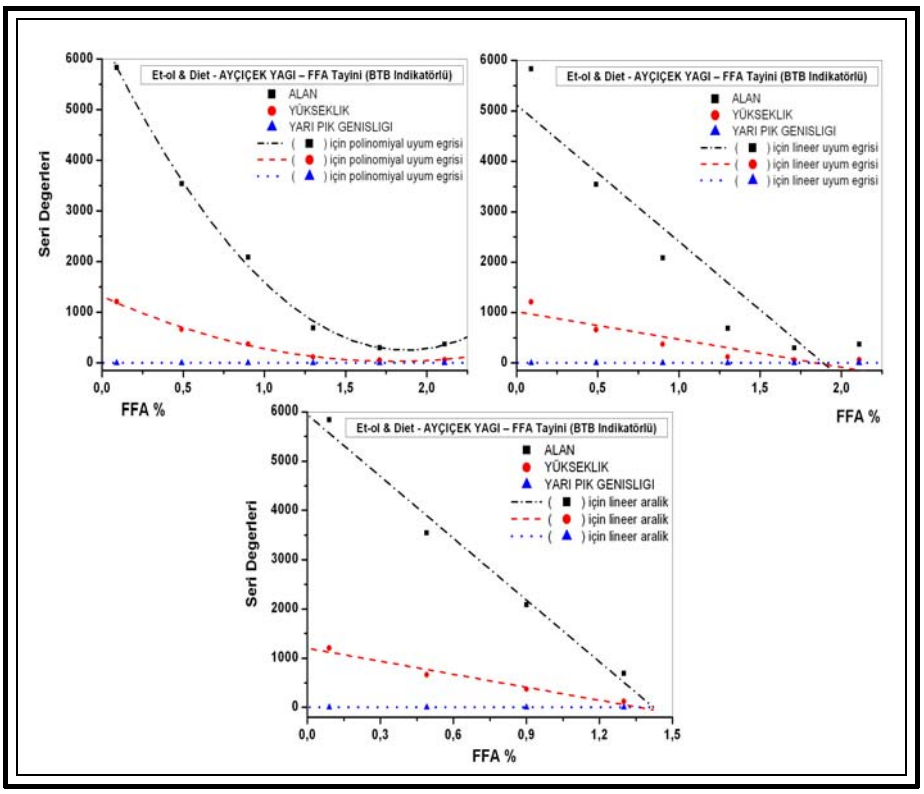
Tablo 8.74. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE AYÇİÇEK YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL . Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-0.90 %FFA)**
Alan	y = -7131.5x + 12990	y = -3181.4x^2 - 1416.4x + 11459	y = -3261.5x + 11497
	R^2 = 0.9302	**R^2 = 0.9724**	**R^2 = 0.9986**
Yükseklik	y = -1412.1x + 2735.3	y = -995.66x^2 + 376.51x + 2256.4	y = -339.2x + 2309.5
	R^2 = 0.873	**R^2 = 0.972**	**R^2 = 0.945**
Yarı pik genişliği	y = -0.0218x + 0.0824	y = -0.0123x^2 + 0.0004x + 0.0765	y = -0.0142x + 0.0787
	R^2 = 0.909	**R^2 = 0.9754**	**R^2 = 0.9944**



(a) **(b)**

Şekil 8.90. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.09 ± 6.41×10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.91. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı FFA Tayini
Taşıyıcı: Etil Alkol-Dietil Eter
Reaktif: 2.5×10^{-4} M KOH + 25.0×10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.75. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

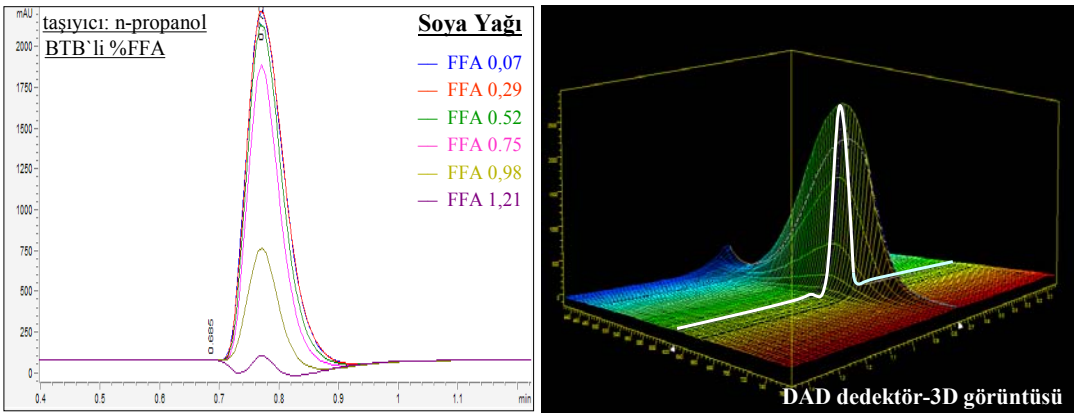
	DAD DEDEKTÖR İLE AYÇİÇEK YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.09	0.784	5834.4	1208.1	0.0723	0.568
0.49	0.792	3540.0	660.0	0.0774	0.630
0.90	0.800	2085.4	371.4	0.0875	0.629
1.30	0.800	690.1	118.7	0.0969	0.612
1.71	0.807	298.9	51.7	0.0965	0.616
2.11	0.806	371.6	59.8	0.1036	0.576

Tablo 8.76. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE AYÇİÇEK YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Reaktif: 2.5x10^{-4} M KOH + 25 x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL . Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.09-1.30 %FFA)**
Alan	y = -2720.7x + 5129.5	y = 1763.8x^2 - 6601x + 6425.7	y = -4184.2x + 5951.4
	R^2 = 0.8708	**R^2 = 0.998**	**R^2 = 0.984**
Yükseklik	y = -553.53x + 1020.5	y = 402.04x^2 - 1438x + 1316	y = -881.27x + 1203.3
	R^2 = 0.8424	**R^2 = 0.9968**	**R^2 = 0.963**
Yarı pik genişliği	y = 0.0158x + 0.0717	y = -0.0035x^2 + 0.0235x + 0.0691	y = 0.0208x + 0.069
	R^2 = 0.9521	**R^2 = 0.9684**	**R^2 = 0.9826**

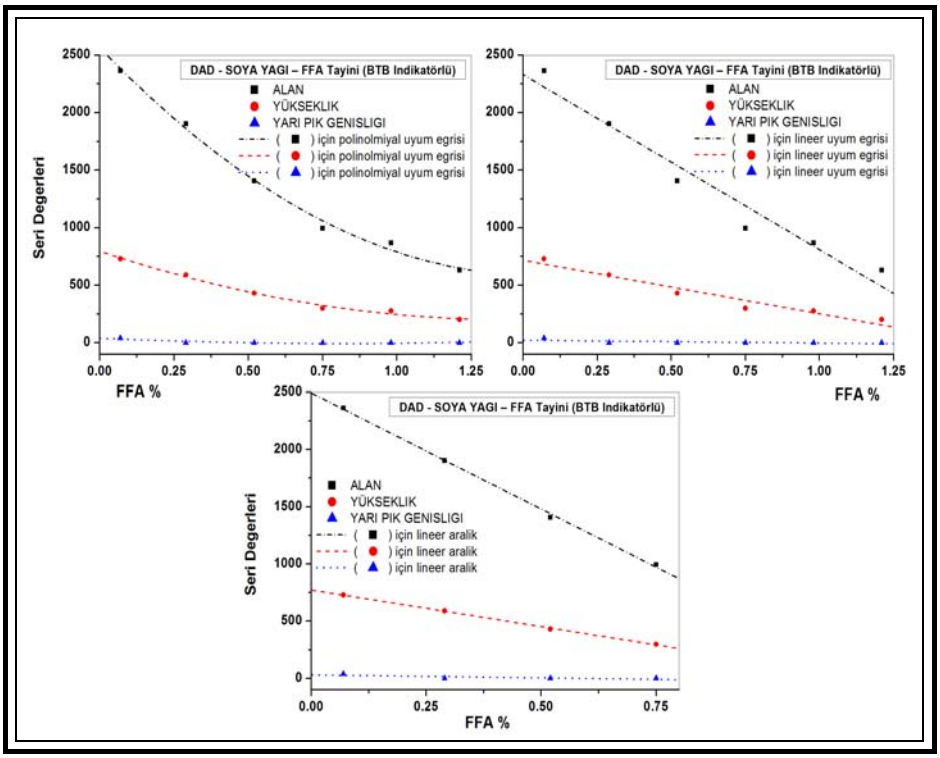
n-propanol ve etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları ile ayçiçek yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA tayinleri sonunda; tıpkı mısır yağı numuneleri için gerçekleştirilen %FFA deneylerinde olduğu gibi, n-propanol taşıyıcı fazının farklı %FFA değerine sahip yağ numunelerine ait pikleri farklandırmada ***(Şekil 8.88.)*** daha uygun olduğu görülmüştür ***(Tablo 8.74.)***.

- ***Standart Soya Yağı Numuneleri ile BTB`li %FFA Tayini:***



(a) **(b)**

Şekil 8.92. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: $0.07 \pm 4.67 \times 10^{-3}$ Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



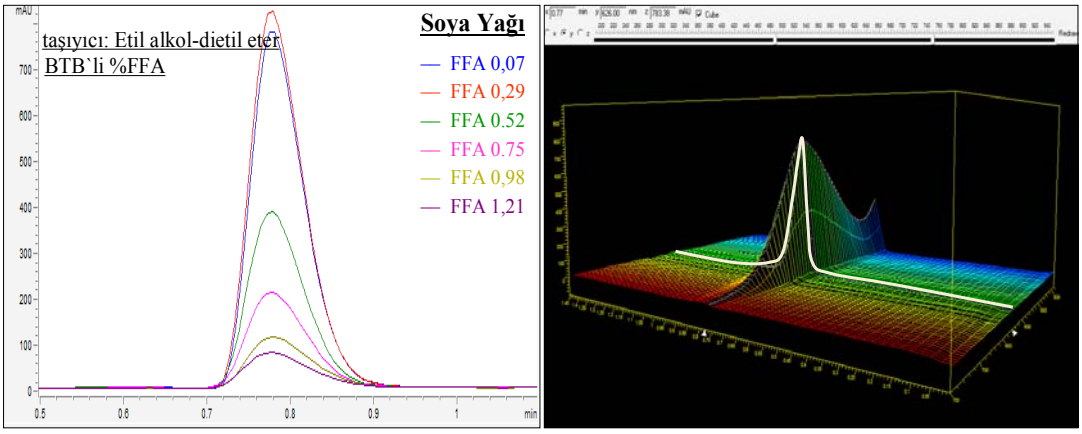
Şekil 8.93. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Ayçiçek Yağı FFA Tayini
Taşıyıcı: n-propanol
Reaktif: 7.5×10^{-4} M KOH + 25.0×10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.77. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE SOYA YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.07	0.770	9793.2	2179.4	0.0749	0.667
0.29	0.772	9839.8	2189.1	0.0749	0.655
0.52	0.772	8626.9	2085	0.0643	0.671
0.75	0.771	7037.4	1836.5	0.0587	0.717
0.98	0.770	3058.2	769.2	0.0604	0.842
1.21	0.782	274.9	114.0	0.0381	0.798

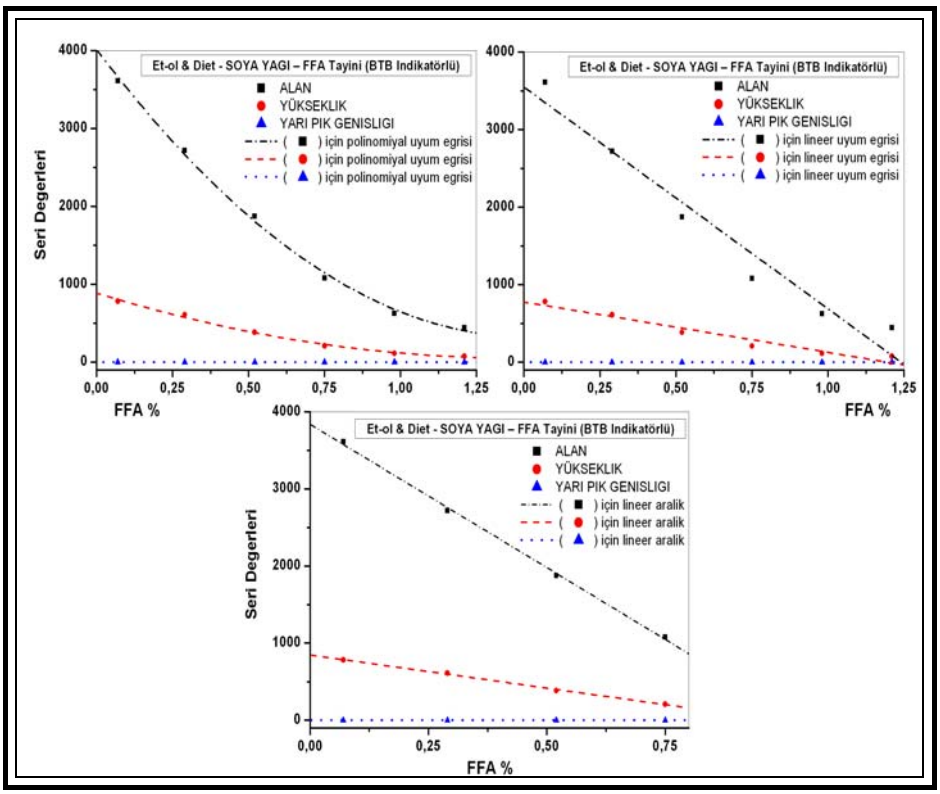
Tablo 8.78. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE SOYA YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL . Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.29-0.75 %FFA)**
Alan	y = -8712.5x + 11971	y = -8661.6x^2 + 2287.7x + 9791.5	y = -6145.6x + 11703
	R^2 = 0.8923	**R^2 = 0.9901**	**R^2 = 0.994**
Yükseklik	y = -1859x + 2709.4	y = -2465.5x^2 + 1272.1x + 2089	y = -773.25x + 2439.7
	R^2 = 0.8183	**R^2 = 0.978**	**R^2 = 0.9471**
Yarı pik genişliği	y = -0.0292x + 0.0804	y = -0.0214x^2 - 0.002x + 0.075	y = -0.0355x + 0.0845
	R^2 = 0.8413	**R^2 = 0.8913**	**R^2 = 0.9692**



(a) **(b)**

Şekil 8.94. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.07 ± 4.20x10^{-3} Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.95. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı FFA Tayini

Taşıyıcı: Etil Alkol-Dietil Eter
Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.79. Etil alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

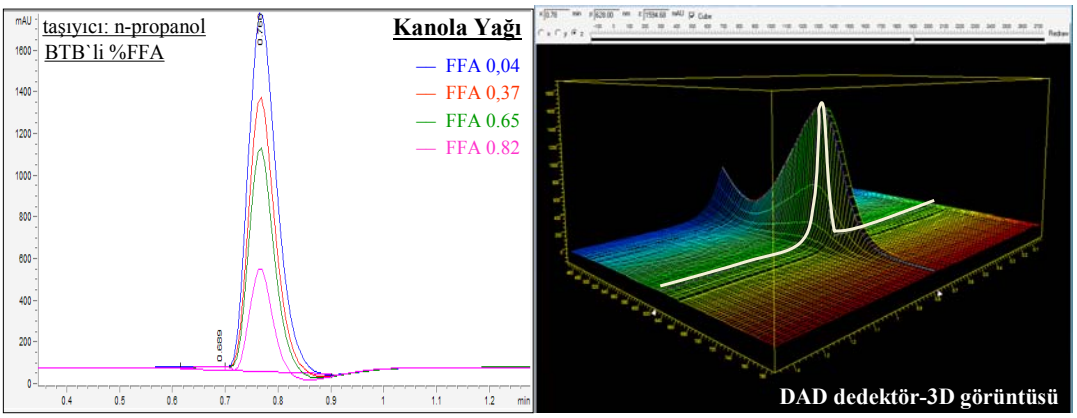
	DAD DEDEKTÖR İLE SOYA YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.07	0.778	3613.3	783.0	0.0718	0.620
0.29	0.782	2720.0	610.0	0.0722	0.625
0.52	0.786	1875.6	384.4	0.0813	0.669
0.75	0.791	1079.5	208.1	0.0865	0.641
0.98	0.792	626.4	113.0	0.0924	0.615
1.21	0.796	445.9	77.9	0.0954	0.602

Tablo 8.80. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Soya Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE SOYA YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.07-0.75 %FFA)**
Alan	y = -2871.4x + 3550.1	y = 1761.9x^2 - 5109.1x + 3993.4	y = -3704.3x + 3829.7
	R^2 = 0.957	**R^2 = 0.9969**	**R^2 = 0.9993**
Yükseklik	y = -650.73x + 775.94	y = 416.17x^2 - 1179.3x + 880.65	y = -855.39x + 844.52
	R^2 = 0.9496	**R^2 = 0.9927**	**R^2 = 0.9973**
Yarı pik genişliği	y = 0.023x + 0.0686	y = 7.10^{-5} x^2 + 0.0229x + 0.0687	y = 0.0233x + 0.0685
	R^2 = 0.9673	**R^2 = 0.9673**	**R^2 = 0.9117**

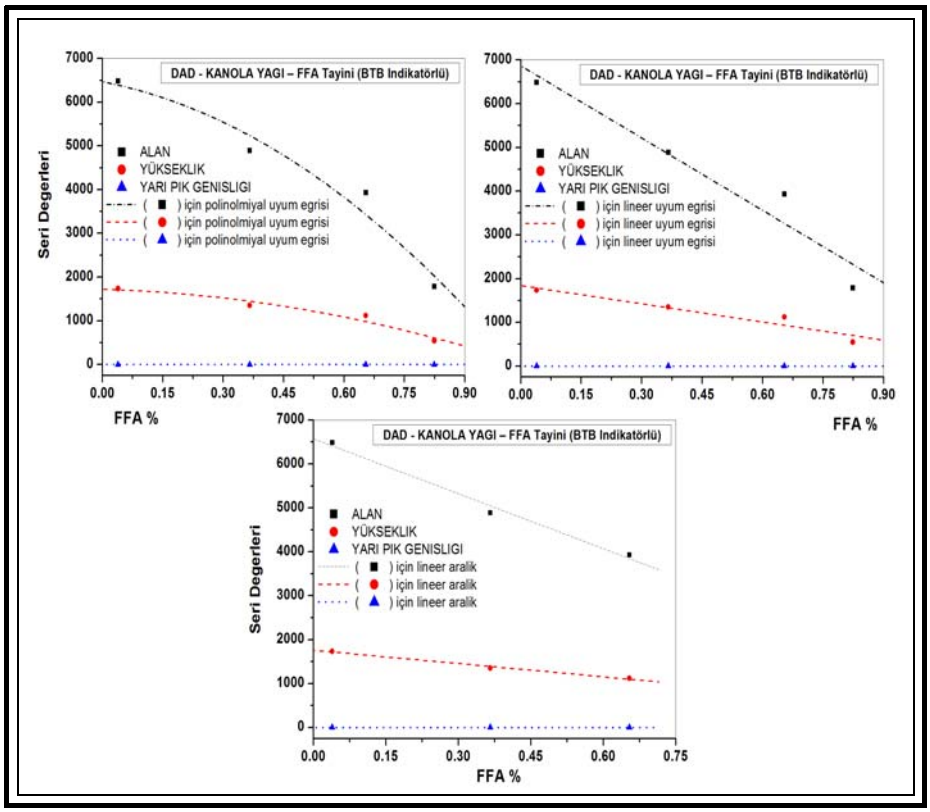
n-propanol ve etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları ile soya yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA tayinleri sonunda; her iki taşıyıcı faz ile de uygun sonuçlar elde edildiği ***(Şekil 8.92., Şekil 8.94.)***, bu sebeple; hem n-propanol hem de etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazlarının soya yağı numuneleri için kullanılabileceği tespit edilmiştir ***(Tablo 8.78., Tablo 8.80.)***.

- ***Standart Kanola Yağı Numuneleri ile BTB`li %FFA Tayini:***



(a) **(b)**

Şekil 8.96. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.04 ± 4.21×10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.97. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı FFA Tayini

Taşıyıcı: n-propanol

Reaktif: 7.5×10^{-4} M KOH + 25.0×10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)

Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk

Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif

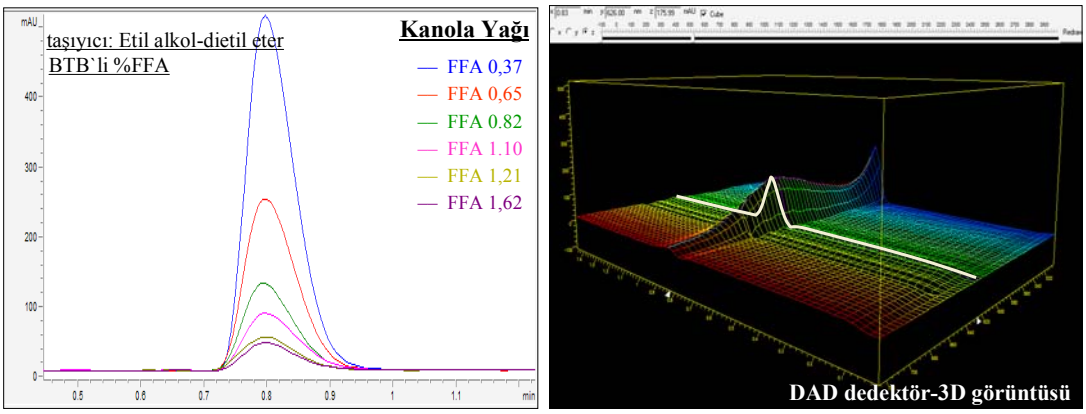
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.81. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

DAD DEDEKTÖR İLE KANOLA YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop					
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.04	0.766	6486.0	1735.1	0.0576	0.726
0.37	0.767	4890.0	1353.6	0.0602	0.794
0.65	0.763	3930.2	1119.7	0.0585	0.822
0.82	0.773	1785.9	544.7	0.0546	0.865

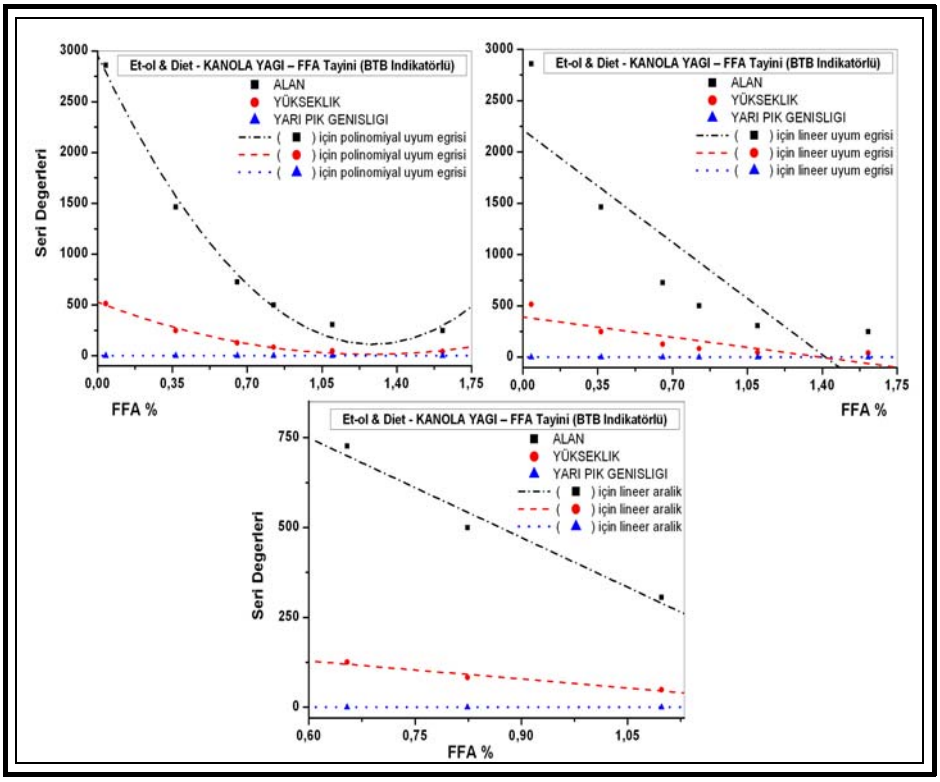
Tablo 8.82. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

DAD DEDEKTÖR İLE KANOLA YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL . Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop			
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.04-0.65 %FFA)**
Alan	y = -5561.7x + 6887	y = -4583.6x^2 - 1669.8x + 6471.2	y = -4208.9x + 6589.2
	R^2 = 0.9343	**R^2 = 0.9649**	**R^2 = 0.9909**
Yükseklik	y = -1398.7x + 1845.7	y = -1350.7x^2 - 251.83x + 1723.1	y = -1013.2x + 1760.8
	R^2 = 0.9183	**R^2 = 0.9595**	**R^2 = 0.9919**
Yarı pik genişliği	y = -0.0033x + 0.0593	y = -0.0273x^2 + 0.0199x + 0.0568	y = 0.0017x + 0.0582
	R^2 = 0.2282	**R^2 = 0.9898**	**R^2 = 0.1481**



(a) **(b)**

Şekil 8.98. Etil alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.04 ± 5.00x10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.99. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı FFA Tayini
Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter
Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.83. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

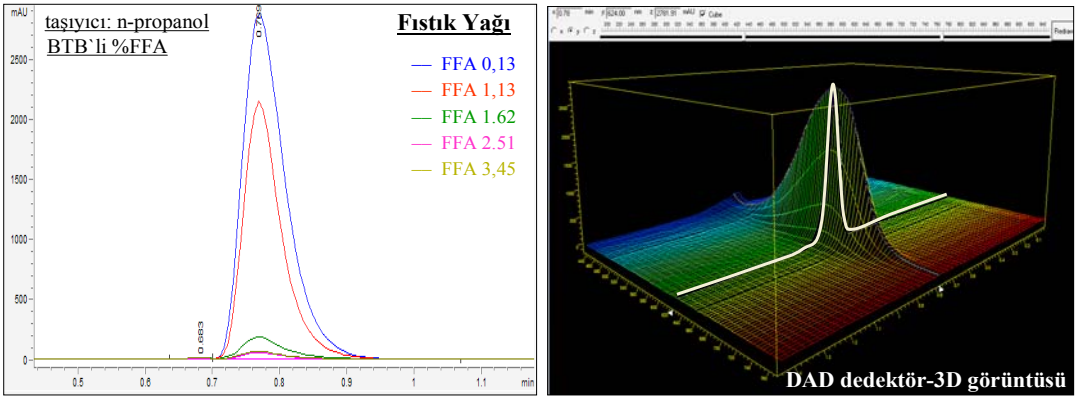
	DAD DEDEKTÖR İLE KANOLA YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: Etilalkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.37	0.797	2858.1	513.6	0.0927	0.598
0.65	0.799	1463.0	248.7	0.098	0.646
0.82	0.792	726.0	125.6	0.0963	0.616
1.10	0.796	499.7	82.4	0.1011	0.642
1.21	0.800	305.9	48.8	0.1044	0.705
1.62	0.801	247.5	40.9	0.1009	0.649

n-propanol ve etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları ile kanola yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA tayinleri sonunda; her iki taşıyıcı faz ile de uygun pikler elde edildiği ***(Şekil 8.96., Şekil 8.98.)*** görülmüş, fakat alan, yükseklik ve yarı pik genişliği değerleri baz alınarak çizilen grafik denklemlerinden n-propanol taşıyıcı fazı ile elde edilen verilerin daha lineer bir yaklaşım izlediği tespit edilmiştir ***(Tablo 8.82., Tablo 8 84.)***. Bu sebeple; BTB indikatörü kullanılarak gerçekleştirilecek kanola yağı numuneleri %FFA tayinleri için n-propanol taşıyıcı fazının kullanımının daha uygun olacağı tespit edilmekle birlikte, etil alkol-dietil eter karışımının da kullanılabileceği düşünülmektedir.

Tablo 8 84. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Kanola Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

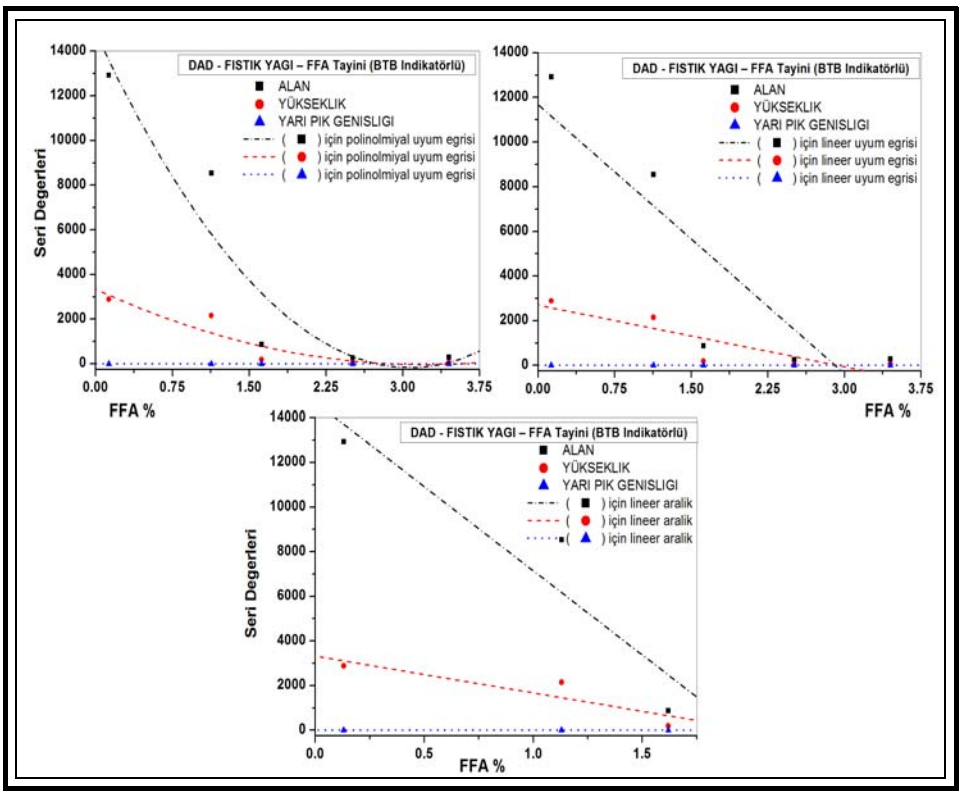
DAD DEDEKTÖR İLE KANOLA YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: Etanol-Dietil Eter Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**1. lineer aralık denklemi (0.37-0.82 %FFA)**	**1. lineer aralık denklemi (0.82-1.62 %FFA)**
Alan	y = -1992.5x + 2931.8	y = 2601.9x^2 - 7141.1x + 5053.7	y = -4675.2x + 4556.1	y = -601,73x + 1158,9
	R^2 = 0.7686	**R^2 = 0.9835**	**R^2 = 0.9992**	**R^2 = 0.8346**
Yükseklik	y = -357.9x + 520.66	y = 482.55x^2 - 1312.8x + 914.2	y = -854.84x + 821.41	y = -105,83x + 200,01
	R^2 = 0.7574	**R^2 = 0.9831**	**R^2 = 0.9964**	**R^2 = 0.8115**
Yarı pik genişliği	y = 0.0075x + 0.0917	y = -0.0094x^2 + 0.0261x + 0.084	y = 0.009x + 0.0902	y = 0,0054x + 0,0943
	R^2 = 0.642	**R^2 = 0.8085**	**R^2 = 0.5895**	**R^2 = 0.2791**

- ***Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile BTB`li %FFA Tayini:***



(a) **(b)**

Şekil 8.100. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 0.13 ± 9.89x10^{-3} Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



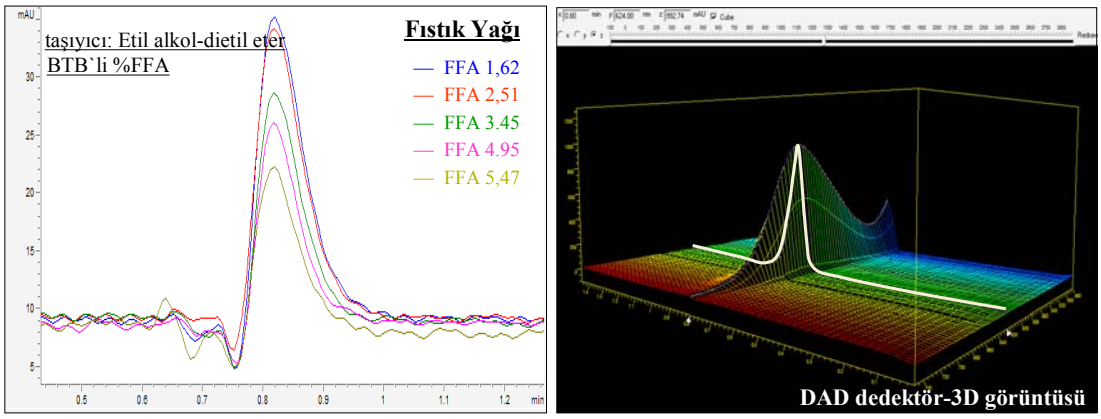
Şekil 8.101. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı FFA Tayini
Taşıyıcı: n-propanol
Reaktif: 7.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.85. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE YER FISTIĞI YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 7.5x10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: n-propanol Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Pik simetrisi**
0.13	0.769	12925.9	2882.0	0.0703	0.592
1.13	0.771	8538.7	2149.1	0.0604	0.638
1.62	0.771	877.3	186.7	0.0783	0.584
2.51	0.774	256.9	51.5	0.0832	0.616
3.45	0.772	289.9	65.2	0.0658	0.592

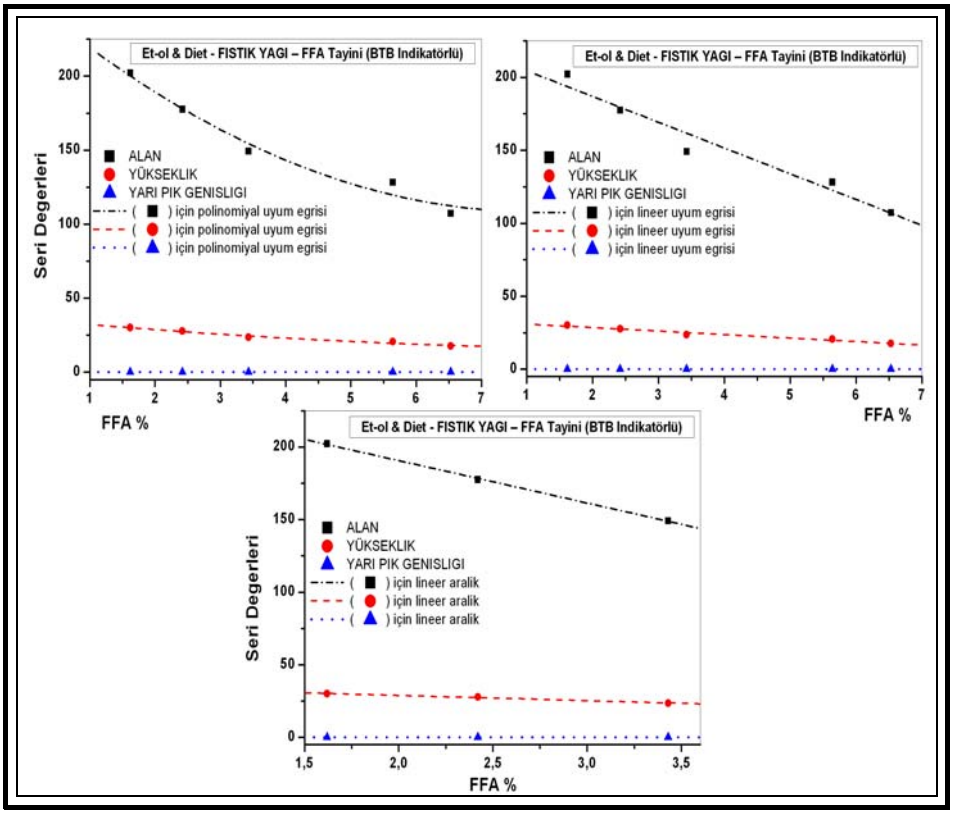
Tablo 8.86. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE YER FISTIĞI YAĞI – %FFA TAYİNİ Taşıyıcı: n-propanol Reaktif: 7.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Numune hacmi: 1 µL , Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (0.13-1.62 %FFA)**
Alan	y = -4016.2x + 11678	y = 1591.6x^2 - 9769.2x + 14808	y = -7541.1x + 14687
	R^2 = 0.7692	**R^2 = 0.9033**	**R^2 = 0.882**
Yükseklik	y = -919.88x + 2693.3	y = 328.55x^2 - 2107.4x + 3339.3	y = -1650.3x + 3323.6
	R^2 = 0.7551	**R^2 = 0.862**	**R^2 = 0.8087**
Yarı pik genişliği	y = 0.0011x + 0.0697	y = -0.0026x^2 + 0.0104x + 0.0646	y = 0.0031x + 0.0667
	R^2 = 0.0231	**R^2 = 0.1624**	**R^2 = 0.0698**



(a) **(b)**

Şekil 8.102. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen **(a)** %FFA Çalışmalarından Elde Edilen Pikler **(b)** %FFA: 1.62 ± 3.47x10^{-2} Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.103. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı FFA Tayini
Taşıyıcı: Etil Alkol-Dietil Eter
Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB (n-propanol içinde)
Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop. Akış Hızı: 2 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 1 µL Numune // 30 µL Reaktif
Sıcaklık: 40°C

Tablo 8.87. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen Piklere Ait Veriler

	DAD DEDEKTÖR İLE YER FISTIĞI YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL . Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop					
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
1.62	0.818	202.2	30.1	0.112	22.717	0.411
2.42	0.820	177.6	27.8	0.1066	20.566	0.459
3.45	0.818	149.2	23.6	0.1054	16.877	0.443
4.95	0.822	128.3	20.7	0.1031	15.775	0.444
5.47	0.836	107.3	17.5	0.1023	14.758	0.524

Tablo 8.88. Etil Alkol-Dietil Eter Taşıyıcı Fazı Kullanılarak DAD Dedektör ile Yer Fıstığı Yağı için BTB İndikatörlü %FFA Tayini Çalışmalarından Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafikleri ve Grafiklere Ait Denklemler & Korelasyon Katsayıları

	DAD DEDEKTÖR İLE YER FISTIĞI YAĞI – %FFA TAYİNİ Reaktif: 2.5x 10^{-4} M KOH + 25.0x 10^{-5} M BTB Taşıyıcı: Etil alkol-dietil eter Numune hacmi: 1 µL . Sıcaklık: 40°C Reaksiyon Hücresi: 50 µL loop		
	lineer denklemi	**polinom denklemi**	**lineer aralık denklemi (1.62-3.45 %FFA)**
Alan	$y = -23.201x + 236.45$	$y = 1.5842x^2 - 34.599x + 253.63$	$y = -28.973x + 249.54$
	$R^2 = 0.9803$	**$R^2 = 0.9848$**	**$R^2 = 0.9993$**
Yükseklik	$y = -3.1358x + 35.229$	$y = 0.0106x^2 - 3.212x + 35.344$	$y = -3.5605x + 36.163$
	$R^2 = 0.9793$	**$R^2 = 0.9793$**	**$R^2 = 0.9772$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0022x + 0.1139$	$y = 0.0007x^2 - 0.0071x + 0.1213$	$y = -0.0036x + 0.1171$
	$R^2 = 0.8826$	**$R^2 = 0.9648$**	**$R^2 = 0.8707$**

n-propanol ve etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazları ile yer fıstığı yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen BTB indikatörlü %FFA tayinleri sonunda; gerek n-propanol gerekse daha düşük absorbans şiddetine sahip olmasına rağmen etil alkol-dietil eter taşıyıcı fazı ile daha kullanılabilir özellikte pikler elde edilmiş ***(Şekil 8.102.)***, ayrıca lineer regresyon katsayılarının da daha yüksek olduğu görülmüştür ***(Tablo 8.88.)***. Fakat yine de; hem n-propanol hem de etil alkol-dietil eter taşıyıcı

fazlarının, yer fıstığı yağı numunesi %FFA tayinlerinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

PHP ve BTB indikatörleri kullanılarak, standart yağ numuneleri ile gerçekleştirilen %FFA tayinlerinden elde edilen sonuçların genel bir değerlendirmesi yapılacak olursa; gerek kullanılan yağ numunelerinin yapısal özellikleri ve kaynaklarındaki farklılıklar, gerekse indikatörlerin sahip olduğu farklı özellikler sebebiyle, taşıyıcı faz olarak kullanılan çözücü ya da çözücü karışımlarının uygunluğu değişebilmektedir. Çalışmadaki yağ analizlerinin, FIA metotlarını kullanarak, tek bir sistem ve tek bir taşıyıcı faz kullanımı ile geliştirilmesi düşünüldüğünden, analizlerde taşıyıcı faz olarak n-propanol kullanımının uygun olduğuna karar verilmiştir.

8.5.2.4. %FFA tayini için FIA metodunun valide edilmesi

Duyarlılığı ve simetriyi en üst seviyeye çıkarmak, *tayin ve ölçüm limitlerini düşürmek*, *geniş bir doğrusal dinamik aralık oluşturmak*, *doğruluk ve kesinlik derecelerini yükseltmek* gibi amaçlarla, standart yağ numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen metot geliştirme ve optimizasyon çalışmalarının ardından; %FFA, tayinleri için geliştirilen FIA metodunun kullanılabilirliğini ve performansını kanıtlamak amacıyla validasyon çalışmalarına başlanmıştır.

Yemeklik yağların kalite-kontrollerini belirlemede kullanılan temel analizlerden %FFA, PV ve AV tayinlerinin, geliştirilen FIA metotları ile uygulanmasını içeren bu tez çalışmasında; geliştirilen/optimize edilen FIA metodunun validasyon parametrelerinin oluşturulmasında tam validasyon yöntemi kullanılmıştır.

FIA metoduna yönelik validasyon çalışmalarında; standart metotlara göre analiz edilmiş, %FFA değerleri belli standart yağ numuneleri (saf çalışma referans maddeleri) kullanılmış ve bitkisel yağların analizinde kullanılmak üzere geliştirilen FIA metodunun yeni bir yöntem olması sebebiyle; validasyon prosedürü, tam validasyon esas alınarak gerçekleştirilmiştir.

FIA ile %FFA tayinine ilişkin validasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır:

%FFA Tayini için FIA Metodunun Doğruluğu:

%FFA tayini için FIA metodunun doğruluğunun test edilmesinde; kalibrasyon eğrisinin aralıklarını kapsayan ve %FFA değerleri (%oleik asit cinsinden) 0.04-0.64-0.82 olan üç kanola yağı numunesi kullanılmış[36], PHP ve BTB indikatörleri kullanılarak gerçekleştirilen beş tekrarlı deneylerden elde edilen sonuçların ortalamaları (X_i) ve gerçek %FFA değerleri (X_t) baz alınarak hesaplanan bağıl hata (E_r) yardımıyla, FIA metodunun doğruluğu tespit edilmeye çalışılmıştır.

- ***PHP`li %FFA Tayinleri için;***

- %FFA: $0.0400 \pm 1.46\text{x}10^{-3}$ olan kanola yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; $X_i = 0.0401$[37] (N=5)

$$\textbf{Bağıl Hata } (E_r): \quad E_r = \frac{0.0401 - 0.0400}{0.0400} \text{x}100 \longrightarrow E_r = 0.20$$

- %FFA: $0.6500 \pm 1.46\text{x}10^{-3}$ olan kanola yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; $X_i = 0.6571$ (N=5)

$$\textbf{Bağıl Hata } (E_r): \quad E_r = \frac{0.6571 - 0.6500}{0.6500} \text{x}100 \longrightarrow E_r = 1.09$$

- %FFA: $0.8200 \pm 1.46\text{x}10^{-3}$ olan kanola yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; $X_i = 0.8173$ (N=5)

$$\textbf{Bağıl Hata } (E_r): \quad E_r = \frac{0.8173 - 0.8200}{0.8200} \text{x}100 \longrightarrow E_r = 0.33$$

- ***BTB`li %FFA Tayinleri için;***

- %FFA: $0.0400 \pm 4.21\text{x}10^{-3}$ olan kanola yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; $X_i = 0.0405$ (N=5)

$$\textbf{Bağıl Hata } (E_r): \quad E_r = \frac{0.0405 - 0.0400}{0.0400} \text{x}100 \longrightarrow E_r = 1.20$$

---

(36) Kanola yağı numuneleri %FFA değerleri için standart sapmalar; PHP indikatörlü deneyler için $1.46\text{x}10^{-3}$, BTB indikatörlü deneyler için ise $4.21\text{x}10^{-3}$`dür.

(37) Bağıl hata (E_r) değerini tam olarak ifade edebilmek için, ölçülen ortalama %FFA değerleri (X_i) ve gerçek %FFA değerleri (X_t) virgülden sonra 4 hane şeklinde gösterilmiştir.

- %FFA: 0.6500 ± $4.21x10^{-3}$ olan kanola yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; X_i= 0.6558 (N=5)

$$\textbf{\textit{Bağıl Hata (}}E_r\textbf{\textit{) :}}\ E_r = \frac{0.6558 - 0.6500}{0.6500} x100 \longrightarrow \boldsymbol{E_r = 0.89}$$

- %FFA: 0.8200 ± $4.21x10^{-3}$ olan kanola yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; X_i= 0.8304 (N=5)

$$\textbf{\textit{Bağıl Hata (}}E_r\textbf{\textit{) :}}\ E_r = \frac{0.8304 - 0.8200}{0.8200} x100 \longrightarrow \boldsymbol{E_r = 1.27}$$

olarak bulunmuştur. Bir metodun doğruluğundan bahsedilmesi için, tekrarlı deneyler sonucunda ölçülen ortalama değerin, gerçek değerin ± %5 sınırı içinde olması gerektiğine göre; PHP indikatörlü deneylerdeki doğruluk derecesi daha iyi olmakla birlikte, hem PHP hem de BTB indikatörleri ile gerçekleştirilen %FFA tayinleri için FIA metodunun doğruluğu kanıtlanmıştır.

<u>%FFA Tayini için Kesinlik ve Tekrarlanabilirlik:</u>

%FFA tayini için FIA metodunun kesinliğini test etmek için; %FFA değeri 0.04 ± $1.46x10^{-3}$ olan kanola yağı numunesi kullanılmış ve beş tekrarlı deneylerle ardı ardına üç gün boyunca analiz edilen numune için elde edilen sinyaller istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

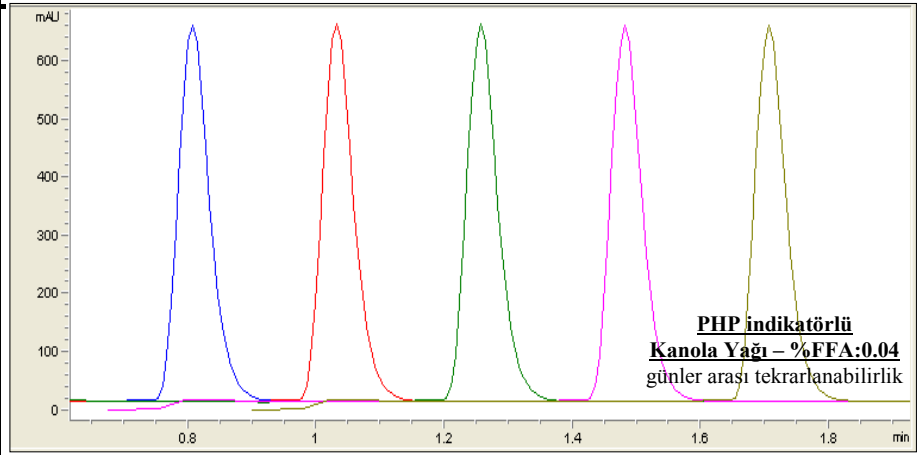
Kesinliğin ölçüsü olan tekrarlanabilirliğin hesaplanmasında; standart sapma (s), bağıl standart sapma (RSD), varyans (s^2) ve varyasyon katsayısı (CV) terimleri kullanılmış, ayrıca her bir seri değeri için güven aralıkları (p: 0.05) belirlenmiştir.

PHP`li %FFA tayinleri için gün içi ve günler arası istatistiksel veriler ***Tablo 8.89.***`da, BTB`li %FFA tayinleri için gün içi ve günler arası istatistiksel veriler ise ***Tablo 8.90.***`da yer almaktadır.

Tablo 8.89. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak FIA ile Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla %FFA: 0.04 ± 1.46×10^{-3} olan Kanola Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Kanola Yağı_PHP İndikatörlü %FFA Tayini için İstatistiksel Değerler **%FFA: 0.04 ± 1.46×10^{-3}**	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	2311.98	655.72	0.06	2314.16	655.70	0.06	2314.02	649.24	0.06
Standart Sapma (s)	2.14	2.88	0.00	1.62	2.31	0.00	0.72	15.14	0.00
Bağıl Standart Sapma (RSD)	0.93	4.38	6.09	0.70	3.52	13.34	0.31	23.32	9.99
Standart Hata (SEM)	0.96	1.29	0.00	0.73	1.03	0.00	0.32	6.77	0.00
Varyans (s^2)	4.58	8.27	0.00	2.63	5.32	0.00	0.52	229.20	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.09	0.44	0.61	0.07	0.35	1.33	0.03	2.33	1.00
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 2.04	± 2.74	± 0.00	± 1.55	± 2.20	± 0.00	± 0.68	± 14.42	± 0.00

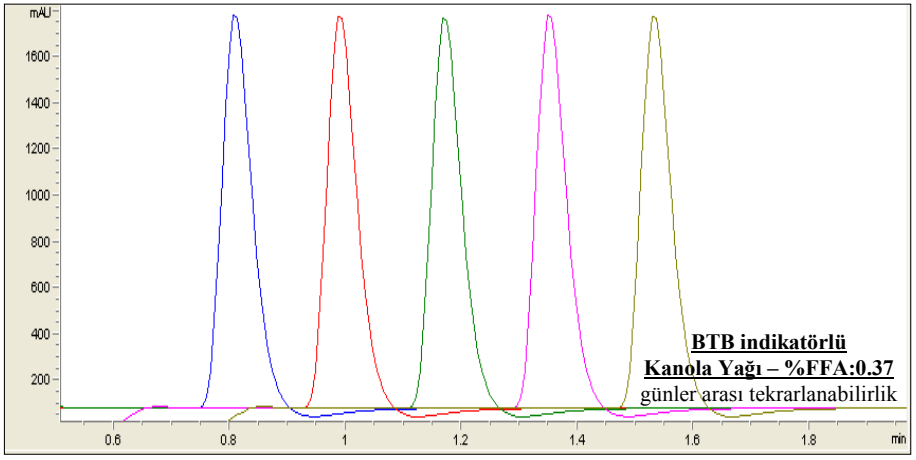
	Günler Arası Kesinlik		
	(n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	2313.39	653.55	0.06
Standart Sapma (s)	1.81	8.91	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	0.78	13.63	10.30
Standart Hata (SEM)	0.47	2.30	0.00
Varyans (s^2)	3.27	79.34	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.08	1.36	1.03
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 1.72	± 8.48	± 0.00



Tablo 8.90. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak FIA ile Gerçekleştirilen BTB İndikatörlü %FFA Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla %FFA: 0.04 ± 4.21×10^{-3} olan Kanola Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Kanola Yağı_BTB İndikatörlü %FFA Tayini için İstatistiksel Değerler **%FFA: 0.04 ± 4.21×10^{-3}**	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	6436.80	1733.72	0.06	6442.50	1731.24	0.06	6437.38	1730.16	0.06
Standart Sapma (s)	33.66	18.33	0.00	22.05	12.22	0.00	5.60	15.82	0.00
Bağıl Standart Sapma (RSD)	5.23	10.58	15.75	3.42	7.06	10.37	0.87	9.14	14.63
Standart Hata (SEM)	15.05	8.20	0.00	9.86	5.46	0.00	2.50	7.07	0.00
Varyans (s^2)	1132.91	336.16	0.00	486.31	149.25	0.00	31.34	250.14	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.52	1.06	1.58	0.34	0.71	1.04	0.09	0.91	1.46
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 32.06	± 17.46	± 0.00	± 21.01	± 2.20	± 11.64	± 5.33	± 15.07	± 0.00

	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	6438.89	1731.71	0.06
Standart Sapma (s)	21.88	14.58	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	3.40	8.42	12.90
Standart Hata (SEM)	5.65	3.76	0.00
Varyans (s^2)	478.62	212.54	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.34	0.84	1.29
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 20.84	± 13.89	± 0.00



%FFA Tayini için Tayin Limiti (LOD) ve Ölçüm Limit (LOQ):

Otomatik enjeksiyonla gerçekleştirilen %FFA tayinlerine ait deney sonuçlarının değerlendirilmesi belirtildiği üzere; geliştirilen metodun şartlarına bağlı olarak, yağın %FFA içeriği arttıkça elde edilen piklerin şiddeti azalmaktadır[38]. Bu sebeple; tayin ve ölçüm limiti hesaplamalarında bu husus göz önünde bulundurulmuştur.

FIA yöntemi ile %FFA tayini için LOD ve LOQ hesaplanırken, üç farklı yöntem kullanılmış ve elde edilen LOD değerlerinin birbirinden çok farklı olmadıkları görülmüştür[39].

1. yöntem: %FFA değeri 0 olan yağ numunesi temin edilse bile, bu değeri muhafaza etmek çok mümkün olmayacağından; LOD ve LOQ değerinin tespitinde, blank değerine oldukça yakın %FFA değerine sahip yağ numuneleri kullanılmış ve hesaplamalarda elde edilen piklerin alan değerleri dikkate alınmıştır. Beş tekrarla gerçekleştirilen analizler sonucunda hesaplanan standart sapma değerinin 3 katına tekabül eden alan değeri LOD değerinin hesaplanmasında, standart sapma değerinin 10 katına tekabül eden alan değeri ise, LOQ değerinin hesaplanmasında kullanılmış ve ortalama alanlara karşılık gelen %FFA değerleri, her bir yağ numunesi için ayrı ayrı çizilen kalibrasyon grafiklerinin denklemleri yardımıyla hesap edilmiştir. Diğer tayinlerin tersine FIA ile %FFA tayinleri için LOD ve LOQ değerleri hesaplanırken; blank için belirlenen alan değerlerinden, standart sapma değerleri (LOD için 3*s, LOD için 10*s) çıkarılmıştır. Bu durum, daha öncede belirtildiği gibi; %FFA tayinlerinde konsantrasyon arttıkça, gözlenen pik alanlarının azalmasından kaynaklanmaktadır.

2. yöntem: yine %FFA içeriği, blank değerine oldukça yakın kanola yağı numunesi kullanılmış (%FFA: 0.04) ve LOD değeri hesaplamasında daha sık kullanılan 1. yöntemin doğruluğu test edilme çalışılmıştır. 2. yöntem ile

---

(38) Birçok yöntemde, analit konsantrasyonu arttıkça gözlenen sinyalin şiddeti de artmaktadır. Bu sebeple; LOD değerinin mümkün oldukça küçük olması istenir. Yağlardaki %FFA tayini için geliştirilen FIA yönteminde ise; %FFA içeriği arttıkça gözlenen sinyalin şiddeti düşmektedir. Dolayısıyla; LOD değerinin büyük olması, FIA yönteminin üstünlüğünü ortaya koyacaktır.

(39) FIA ile %FFA tayinleri için LOD değerleri, çalışmada kullanılan her bir yağ numunesi için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

gerçekleştirilen hesaplamalarda; elde edilen piklerin yükseklik değerleri esas alınmıştır.

Beş tekrarla gerçekleştirilen analizler sonucunda gözlenen gürültü sinyalinin (mAU cinsinden) standart sapmasının 3 katı LOD değerinin hesaplanmasında, 10 katı ise LOQ değerinin hesaplanmasında kullanılmıştır[40].

3. yöntem: bu yöntemde, %FFA çalışmalarında kullanılan her bir yağ numunesi için oluşturulan kalibrasyon grafikleri kullanılmış (Alan-%FFA) ve grafik denklemlerinin eğim, kesim değerleri ile denklem için hesaplanan varyasyon katsayısı (CV) değerleri kullanılarak alanların ardından da %FFA değerlerinin standart sapmaları hesaplanmıştır. Hesaplanan standart sapma değerlerinin 3 katına tekabül eden %FFA değerleri LOD değeri (3*s), standart sapma değerlerinin 10 katına tekabül eden %FFA değerleri ise, LOQ değeri (10*s) olarak kabul edilmiştir.

FIA ile %FFA tayinleri için LOD ve LOQ değerlerinin tespitinde kullanılan yağ numuneleri aşağıda listelenmiştir:

PHP indikatörlü %FFA tayinlerinde kullanılan yağların %FFA değerleri ve standart sapmaları aşağıda verilmiştir.

- **Taşıyıcı Faz olarak; n-propanolün kullanıldığı deneyler için;**

✳ mısır yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.09 \pm 1.70 \times 10^{-3}$

✳ ayçiçek yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.09 \pm 1.71 \times 10^{-3}$

✳ soya yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.07 \pm 1.22 \times 10^{-3}$

✳ kanola yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.04 \pm 1.46 \times 10^{-3}$

✳ yer fıstığı yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.13 \pm 9.46 \times 10^{-3}$

- **Taşıyıcı Faz olarak; etil alkol-dietil eterin kullanıldığı deneyler için;**

✳ mısır yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.09 \pm 2.24 \times 10^{-3}$

✳ ayçiçek yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.09 \pm 2.11 \times 10^{-3}$

✳ soya yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.07 \pm 2.15 \times 10^{-3}$

✳ kanola yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.04 \pm 1.81 \times 10^{-3}$

[40] LOD ve LOQ değerlerinin tespitinde kullanılan mAU değerlerine karşılık gelen %FFA değerleri, yükseklik-%FFA kalibrasyon grafiğine ait denklem yardımıyla tespit edilmiştir.

✳ yer fıstığı yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.13 \pm 4.23x10^{-3}$

BTB indikatörlü %FFA tayinlerinde kullanılan yağların %FFA değerleri ve standart sapmaları aşağıda verilmiştir.

- **Taşıyıcı Faz olarak; n-propanolün kullanıldığı deneyler için;**

✳ mısır yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.09 \pm 7.94x10^{-3}$

✳ ayçiçek yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.09 \pm 6.19x10^{-3}$

✳ soya yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.07 \pm 4.67x10^{-3}$

✳ kanola yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.04 \pm 4.21x10^{-3}$

✳ yer fıstığı yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.13 \pm 9.89x10^{-3}$

- **Taşıyıcı Faz olarak; etil alkol-dietil eterin kullanıldığı deneyler için;**

✳ mısır yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.09 \pm 7.85x10^{-3}$

✳ ayçiçek yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.09 \pm 6.41x10^{-3}$

✳ soya yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.07 \pm 4.20x10^{-3}$

✳ kanola yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.04 \pm 5.00x10^{-3}$

✳ yer fıstığı yağı ile %FFA tayini için ⟶ %FFA: $0.13 \pm 3.47x10^{-3}$

Daha önce de belirtildiği gibi; üç yöntemle elde edilen LOD ve LOQ değerleri birbirlerine oldukça yakın olarak bulunmuştur. Bu sebeple; aşağıda LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanmasında daha güvenilir olduğu düşünülen 3. yöntemden elde edilen sonuçlar verilmiştir.

*PHP ve BTB indikatörlü %FFA tayinleri için "**oleik asit cinsinden"** hesaplanan LOD ve LOQ değerleri şöyledir:*

- **Taşıyıcı Faz olarak; n-propanolün kullanıldığı deneyler için;**

❖ ***Mısır Yağı ile %FFA Tayini için LOD ve LOQ;***

- PHP`li FFA tayinleri için; ⟶***LOD= 5.64x 10^{-3}***
- PHP`li FFA tayinleri için; ⟶***LOQ= 1.71x 10^{-2}***

- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 2.62x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 7.94x\ 10^{-2}$

❖ ***Ayçiçek Yağı ile %FFA Tayini için LOD ve LOQ;***

- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 5.60x\ 10^{-3}$
- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 1.70x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 2.04x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 6.19x\ 10^{-2}$

❖ ***Soya Yağı ile %FFA Tayini için LOD ve LOQ;***

- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 4.03x\ 10^{-3}$
- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 1.22x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 1.54x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 4.67x\ 10^{-2}$

❖ ***Kanola Yağı ile %FFA Tayini için LOD;***

- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 4.81x\ 10^{-3}$
- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 1.46x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 1.39x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 4.21x\ 10^{-2}$

❖ ***Yer fıstığı Yağı ile %FFA Tayini için LOD;***

- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 3.12x\ 10^{-2}$
- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 9.46\ x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOD = 3.26x\ 10^{-2}$
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow LOQ = 9.89x\ 10^{-2}$

- **<u>Taşıyıcı Faz olarak; etil alkol-dietil eterin kullanıldığı deneyler için;</u>**

◈ ***<u>Mısır Yağı ile %FFA Tayini için LOD ve LOQ;</u>***

- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOD= 7.41x 10^{-3}***
- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOQ= 2.24x 10^{-2}***
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOD= 2.59x 10^{-2}***
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOQ= 7.85x 10^{-2}***

◈ ***<u>Ayçiçek Yağı ile %FFA Tayini için LOD ve LOQ;</u>***

- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOD= 6.96x 10^{-3}***
- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOQ= 2.11x 10^{-2}***
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOD= 2.12x 10^{-2}***
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOQ= 6.41x 10^{-2}***

◈ ***<u>Soya Yağı ile %FFA Tayini için LOD ve LOQ;</u>***

- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOD= 7.09x 10^{-3}***
- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOQ= 2.15x 10^{-2}***
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOD= 1.39x 10^{-2}***
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOQ= 4.20x 10^{-2}***

◈ ***<u>Kanola Yağı ile %FFA Tayini için LOD;</u>***

- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOD= 5.98x 10^{-3}***
- PHP`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOQ= 1.81x 10^{-2}***
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOD= 1.65x 10^{-2}***
- BTB`li FFA tayinleri için; $\longrightarrow$ ***LOQ= 5.00x 10^{-2}***

- ***Yer Fıstığı Yağı ile %FFA Tayini için LOD;***

  - PHP`li FFA tayinleri için; ⟶ ***LOD= 1.40x 10^{-2}***
  - PHP`li FFA tayinleri için; ⟶ ***LOQ= 4.23 x 10^{-2}***
  - BTB`li FFA tayinleri için; ⟶ ***LOD= 0.11***
  - BTB`li FFA tayinleri için; ⟶ ***LOQ= 0.35***

%FFA Tayini için FIA Metodunun Seçiciliği/Spesifikliği:

Bir metodun seçiciliğini artırmak için, uygun çalışma koşulları tespit edilmelidir. FIA metodunun seçiciliğini artırmak için de öncelikle; taşıyıcı faz bileşimi, akış hızı, sıcaklık, dalga boyu gibi uygun deneysel şartlar belirlenmiş ve standart yağ numuneleri kullanılarak FIA yöntemi ile gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen piklerin alıkonma zamanları PHP li %FFA tayinleri için; 0.625±0.003 dk, BTB li %FFA tayinleri için ise; 0.785±0.003 dk olarak tespit edilmiştir. Daha sonraki safhalarda hazırlanıp, analiz edilen yağ ve/veya yağ karışımlarının analizlerinde de aynı alıkonma zamanları elde edilmiş ve bu alıkonma zamanlarında herhangi bir kirlilik veya yabancı pik gözlenmemiştir. Bu sebeple; %FFA tayini için FIA yöntemi özgün ve seçicilik kriterlerine uygun bulunmuştur.

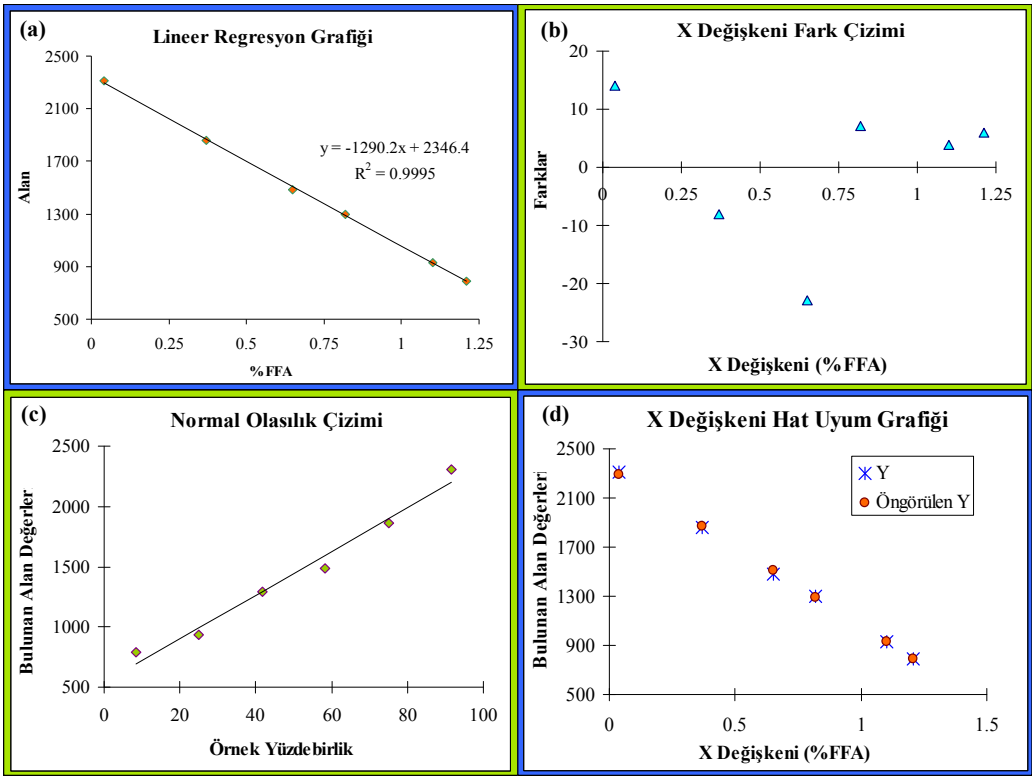
%FFA Tayini için Doğrusallık ve Lineer Ölçüm Aralığı:

PHP ve BTB indikatörleri ile gerçekleştirilen %FFA tayinlerinde kullanılan her bir yağ cinsi için farklı %FFA aralıklarına sahip kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş, optimizasyon çalışmalarının yürütülmesinde de bu grafiklerden faydalanılmıştır. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesinde; polinomiyal ve lineer denklemlerden faydalanılmış, ayrıca her bir yağ için lineer aralık değerleri tespit edilmiştir ***(bkz. 8.5.2.3.).***

FIA ile %FFA tayini için doğrusallık, belirli %FFA aralığındaki kanola yağı numuneleri kullanılarak test edilmiş ve istatistiksel hesaplama sonuçları ***Tablo 8.92. ve Tablo 8.94.***`de özetlenmiştir.

Tablo 8.91. %FFA: 0.04-1.21 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PHP İndikatörlü %FFA Tayini için Doğrusallığın Hesaplanması

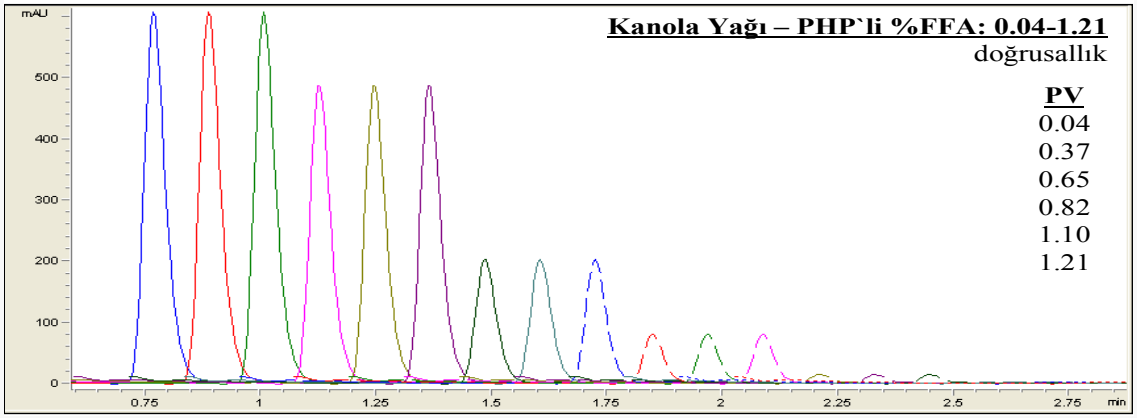
		PHP`li %FFA Tayininde Doğrusallık				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
0.04	0.768	2308.8	653.2	0.0552	84.86	0.734
0.37	0.771	1861.0	507.3	0.0501	89.069	0.81
0.65	0.769	1484.8	457.6	0.0499	88.903	0.821
0.82	0.767	1295.6	403.1	0.0515	88.489	0.82
1.10	0.774	931.0	250.0	0.0499	77.970	0.918
1.21	0.770	791.2	252.6	0.0505	83.830	0.868



Şekil 8.104. %FFA: 0.04-1.21 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PHP İndikatörlü %FFA Tayini için Metodun Doğruluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Grafikler **(a)** Lineer Regresyon Grafiği, **(b)** %FFA Fark Çizimi, **(c)** Normal Olasılık Çizimi, **(d)** %FFA Hat Uyum Grafiği

Tablo 8.92. FIA ile Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla %FFA: 0.04 -1.21 ± 1.46x10^{-3} Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve Doğrusallık Hesaplamalarından Elde Edilen İstatistiksel Değerler

FIA ile PHP İndikatörlü %FFA Tayininde Doğrusallık Hesapları	
Regresyon İstatistikleri	
Gözlem Sayısı (N)	6
Eğim (a)	-1290.2
Kesim (b)	2346.4
Regresyon Katsayısı (r)	0.9997
Belirlilik Katsayısı (R^2)	0.9995
Standart Hata (SEM)	14.91



ANOVA	***df***	***SS***	***MS***	***F***
Regresyon	1.00	1633870.84	1633870.84	7347.51
Fark (artık)	4.00	889.48	222.37	
Toplam	5.00	1634760.32		

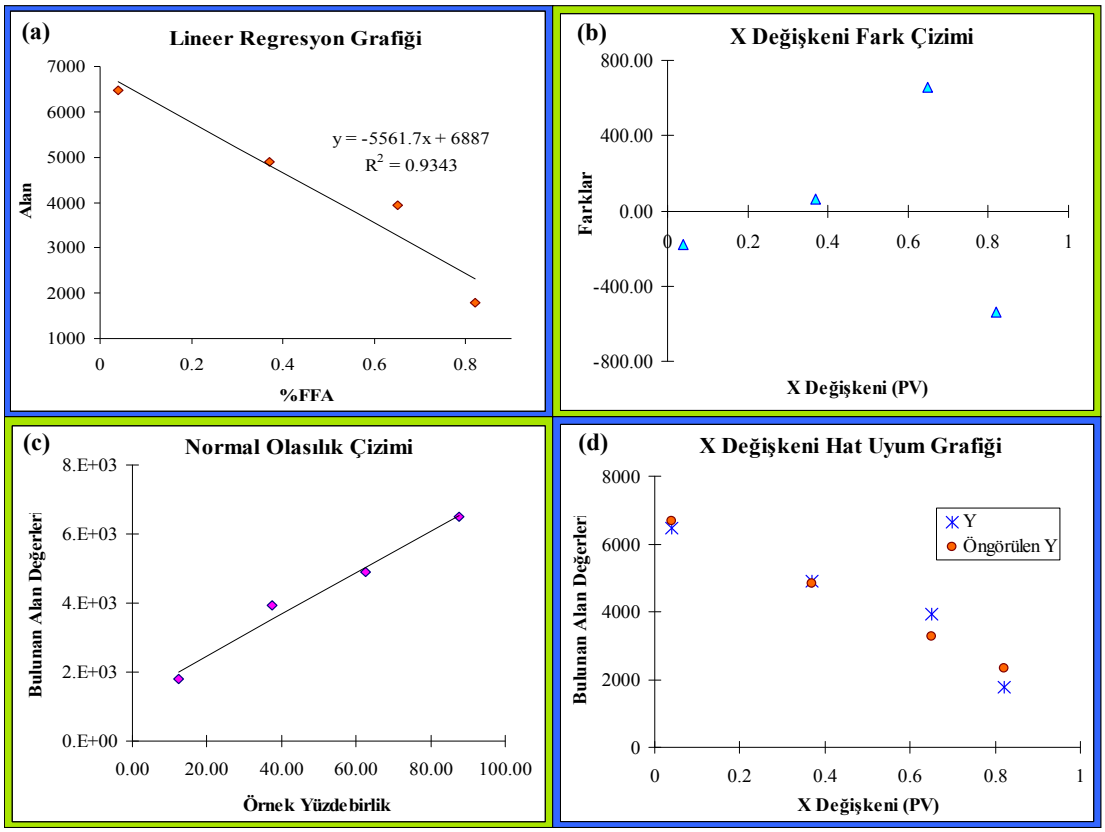
Regresyon Katsayıları	***Katsayılar***	***Standart Hata***	***t Stat***	***P-değeri***
Kesim	2346.41	12.15	193.17	0.00
X Değişkeni (PV)	-1290.23	15.05	-85.72	0.00

Olasılık Değerleri	
Yüzdebirlik	***Y (Alan)***
8.33	791.20
25.00	931.00
41.67	1295.60
58.33	1484.80
75.00	1861.00
91.67	2308.80

Fark (artık) Değerleri	***Gözlem***	***Öngörülen Y (Alan)***	***Farklar (artık)***	***Standart. Farklar (artık)***
	1	2294.80	14.00	1.05
	2	1869.03	-8.03	-0.60
	3	1507.76	-22.96	-1.72
	4	1288.42	7.18	0.54
	5	927.16	3.84	0.29
	6	785.23	5.97	0.45

Tablo 8.93. %FFA: 0.04-0.82 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile BTB İndikatörlü %FFA Tayini için Doğrusallığın Hesaplanması

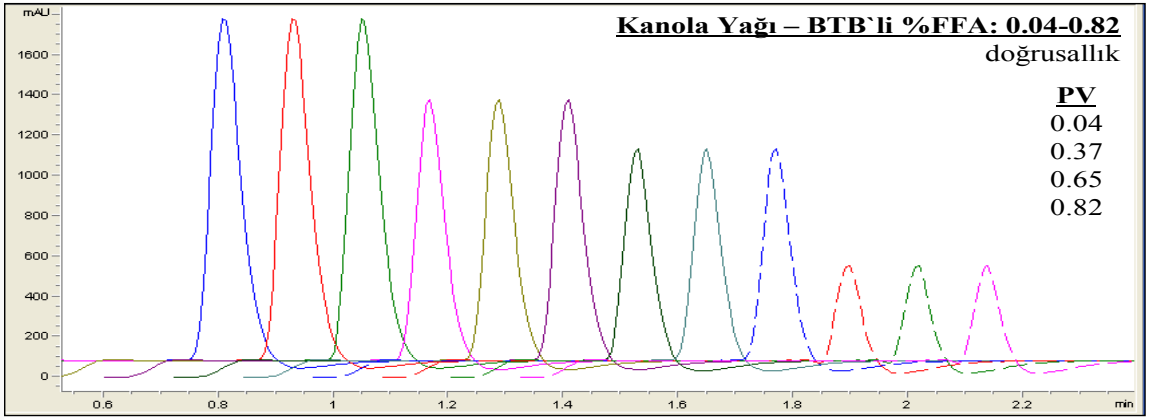
		BTB`li %FFA Tayininde Doğrusallık				
%FFA	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
0.04	0.766	6486	1735.1	0.0576	90.234	0.726
0.37	0.767	4890	1353.6	0.0602	83.24	0.794
0.65	0.763	3930.2	1119.7	0.0585	80.237	0.822
0.82	0.773	1785.9	544.7	0.0546	65.179	0.865



Şekil 8.105. %FFA: 0.04-1.21 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PHP İndikatörlü %FFA Tayini için Metodun Doğruluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Grafikler **(a)** Lineer Regresyon Grafiği, **(b)** %FFA Fark Çizimi, **(c)** Normal Olasılık Çizimi, **(d)** %FFA Hat Uyum Grafiği

Tablo 8.94. FIA ile Gerçekleştirilen BTB İndikatörlü %FFA Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla %FFA: 0.04 -0.82 ± 4.21×10^{-3} Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve Doğrusallık Hesaplamalarından Elde Edilen İstatistiksel Değerler

FIA ile BTB İndikatörlü %FFA Tayininde Doğrusallık Hesapları	
Regresyon İstatistikleri	
Gözlem Sayısı (N)	6
Eğim (a)	-5561.7
Kesim (b)	6887
Regresyon Katsayısı (r)	0.9666
Belirlilik Katsayısı (R^2)	0.9343
Standart Hata (SEM)	616.8817



ANOVA	***df***	***SS***	***MS***	***F***
Regresyon	1.00	10820150.20	10820150.20	28.43
Fark (artık)	2.00	761086.05	380543.02	
Toplam	3.00	11581236.25		

Regresyon Katsayıları	***Katsayılar***	***Standart Hata***	***t Stat***	***P-değeri***
Kesim	6887.02	579.18	11.89	0.01
X Değişkeni (PV)	-5561.69	1043.02	-5.33	0.03

Olasılık Değerleri	
Yüzdebirlik	***Y (Alan)***
12.50	1785.90
37.50	3930.20
62.50	4890.00
87.50	6486.00

Fark (artık) Değerleri	***Gözlem***	***Öngörülen Y (Alan)***	***Farklar (artık)***	***Standart. Farklar (artık)***
	1	6664.55	-178.55	-0.35
	2	4829.19	60.81	0.12
	3	3271.92	658.28	1.31
	4	2326.43	-540.53	-1.07

%FFA Tayini için FIA Metodunun Sağlamlığı:

Sağlamlığın değerlendirilmesinin tek amacı; sistem uygunluk parametrelerinin incelenerek, analitik yöntem her uygulandığında, yöntemin valide olduğunun kanıtlanmasıdır. Bir başka deyişle; sağlamlık testlerinden elde edilen bilgiler, yöntemin uygulanabilir olduğu koşulların tanımlanmasını sağlar. Sağlamlığın tespitinde kullanılan tipik varyasyon örneklerinden bazıları şunlardır: pH, sıcaklık, akış hızı vb…

FIA ile %FFA tayininde; taşıyıcı faz akış hızı, numune & reaktif hacmi, reaksiyon hücresi, sıcaklık gibi birçok parametrenin %FFA tayini üzerine etkileri incelenmiş ve incelemeler sırasında FIA yönteminin tekrarlanabilirlik, doğrusallık gibi önemli validasyon parametrelerini sağladığı belirlenmiştir. Dolayısıyla; %FFA tayini için FIA yöntemi sağlamlık açısından güvenilir bulunmuştur.

%FFA Tayini için FIA Metodunun Hassasiyeti:

%FFA tayini için FIA metodunun hassasiyeti; çalışmada kullanılan yağ cinslerinin her biri için çizilen kalibrasyon grafikleri yardımıyla, kalibrasyon hassasiyeti (m) hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Kalibrasyon hassasiyeti; PHP ve BTB indikatörü kullanılarak gerçekleştirilen %FFA tayinleri için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

- ***PHP`li FFA tayinleri için;***

Mısır yağı için:→ y = **-3055.5x** + 7213.1

Ayçiçek yağı için:→ y = **-1192.8**x + 2530.3

Soya yağı için:→ y = **-1527**x + 2331.5

Kanola yağı için:→ y = **-1288.3**x + 2345.3

Yer fıstığı yağı için:→ y = **-644.71**x + 7621

- ***BTB`li FFA tayinleri için;***

Mısır yağı için:→ y = **-4348.5**x + 10339

Ayçiçek yağı için:→ y = **-7131.5**x + 12990

Soya yağı için:→ y = **-8712.5**x + 11971

Kanola yağı için:→ y = **-5561.7**x + 6887

Yer fıstığı yağı için:→y = **-4016.2**x + 11678

Kalibrasyon hassasiyeti için eğim değerlerine bakıldığında;

- PHP`li FFA tayinlerinde FIA metodunun, mısır yağı numuneleri için daha hassas olduğu, BTB`li FFA tayinlerinde ise; FIA metodunun, soya yağı numuneleri için daha hassas olduğu söylenebilir.

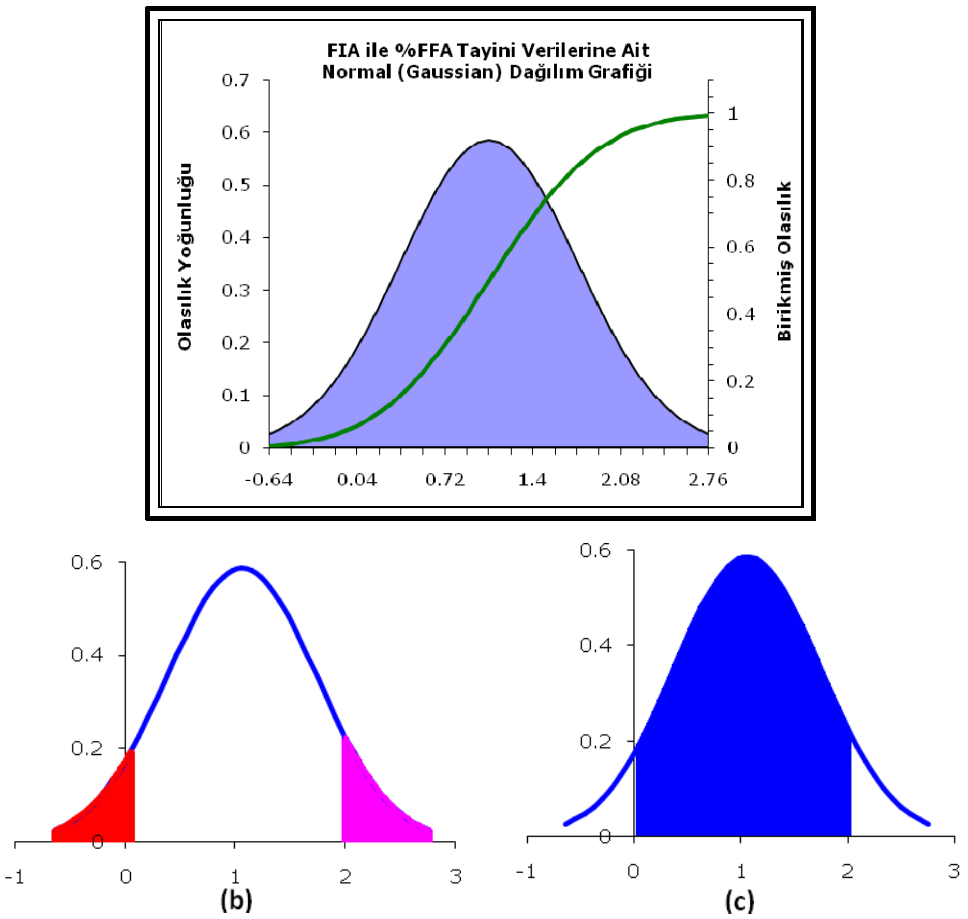
8.5.2.5. %FFA tayini için FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırılması

Önerilen bir metodun kullanılabilirlik kazanabilmesi için, metodun performansını ve üstünlüğünü gösteren validasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi, bunun yanı sıra; yeni metodun, daha önce kullanımda olan standart metotlarla istatistiksel olarak karşılaştırılması gerekmektedir. Bu sebeple; bitkisel yağlardaki %FFA içeriğinin tespiti için geliştirilen FIA yöntemi valide edildikten sonra, %FFA tayinleri için şimdiye kadar kullanılmakta olan standart metotlarla istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

%FFA tayini için FIA ve standart metot karşılaştırması yapılırken, t ve F testleri dikkate alınmış ve istatistiksel hesaplamaların gerçekleştirilmesinde; *SPSS Inc. 16.0*, *XLSTAT 2010*, *statistiXL*, *OriginLab 7.5*, *SigmaPlot 11.0*, gibi programlardan faydalanılmıştır.

Farklı %FFA değerine sahip 10 adet mısır yağı numunesi için FIA ve standart metotlar kullanılarak yürütülen tayinlerden elde edilen verilerden faydalanılarak gerçekleştirilen t ve F testlerine geçilmeden önce Kolmogorov-Smirno testi ile verilerin normal dağılıp dağılmadığı kontrol edilmiş ***(Tablo 8.95.)***, daha sonra bağımsız iki örnek-t testi ve F testleri uygulanmıştır.

Kolmogorov-Smirno testi sonuçlarına göstermek amacıyla; mısır yağı numunesi için gerçekleştirilen PHP indikatörlü %FFA tayinlerinden elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu ***Şekil 8.106.***`den görülebilir.



Şekil 8.106. Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayin Sonuçlarına Ait **(a)** Normal Dağılım Grafiği, **(b)** Normal Dağılım Grafiğinde $p<0.05$ Bölgeler, **(c)** Normal Dağılım Grafiğinde $p>0.05$ Bölgeler

Tablo 8.95. Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayin Sonuçlarının Normal Dağılıma Uygunluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Kolmogorov-Smirnov Testi Sonuçları

Kolmogorov-Smirnov Test

		FIA	Standart metot
N (numune sayısı)		10	10
Normal Parametreler [(a)]	$\overline{X}$	0.993	0.999
	s	0.675	0.676
En uç farklılıklar	Mutlak	0.152	0.149
	Pozitif	0.152	0.149
	Negatif	-0.127	-0.119
Kolmogorov-Smirnov Z		0.479	0.472
Asimetrik Sinyal (çift taraflı)		0.976	0.979

[(a)] TEST DAĞILIMI NORMALDİR ($p>0.05$)

Verilerin normal dağılıma uygunluğu tespit edildikten sonra ise t ve F testlerinin uygulamasına geçilmiştir. Bunlardan t testi; karşılaştırılan yöntemlerle elde edilen veri gruplarının ortalama değerleri ($\overline{X}$) göz önünde bulundurularak, F testi ise; veri gruplarının varyans değerleri göz önünde bulundurularak gerçekleştirilen testlerdir. Null ve alternatif hipotezler[41] doğrultusunda yapılan testler; %95 güven seviyesinde (p=0.05), çift taraflı olarak gerçekleştirilmiş[42], *hesaplanan t ve F değerleri*, *kritik t ve F değerleri* ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar neticesinde; geliştirilen FIA metodu kullanılarak elde edilen verilerle, standart metottan elde edilen veriler arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

%FFA tayinleri için FIA ve standart metotlardan elde edilen iki bağımsız gruba ait ortalama değerlerinin karşılaştırılmasında; öncelikle tanımlayıcı istatistiksel değerler tespit edilmiş, daha sonra aşağıdaki formüller yardımıyla t değeri hesaplanmıştır. t değerinin hesaplanmasından sonra ise; serbestlik derecesine göre oluşturulmuş tablolardan kritik t ve F değerleri bulunmuş ve hesaplanan değerlerle karşılaştırılarak, hipotezlerden hangisinin uygun olduğuna karar verilmiştir.

$$t = \frac{\overline{X}_1 - \overline{X}_2}{s_b\sqrt{\frac{1}{N_1}+\frac{1}{N_2}}} \qquad s_b = \sqrt{\frac{(N_1-1)s_1^2 + (N_2-1)s_2^2}{N_1+N_2-2}}$$

t : deneysel verilerden hesaplanan t değeri

$\overline{X}_1$: 1. metottan elde edilen verilerin ortalama değeri

$\overline{X}_2$: 2. metottan elde edilen verilerin ortalama değeri

s_b : birleşik standart sapma

N_1 : 1. gruptaki veri sayısı

N_2 : 2. gruptaki veri sayısı

(41) *Null (sıfır/ başlangıç) hipotezi:* veri parametresine belli bir değer atanarak gruplar arası farklılığın anlamlı olmadığını ileri süren hipotezdir (H_0).

Alternatif hipotez: null hipotezinin doğruluğu hakkında şüphe uyandığında, kıyas yapmak için ortaya sunulan ikinci hipotezdir (H_A).

(42) Karşılaştırılan yöntemlerden elde edilen sonuçların büyüklüğüne ilişkin bir tahmin ya da bilgi mevcut olmadığı için test denemeleri çift taraflı olarak gerçekleştirilmiştir.

FIA ve standart metotlar ile gerçekleştirilen, PHP ve BTB indikatörlü %FFA tayinleri için yapılan t ve F testlerine ait sonuçlar, *mısır yağı numuneleri için* elde edilen verilerden faydalanılarak aşağıda özetlenmiştir[43].

- ***PHP indikatörlü mısır yağı numuneleri için %FFA tayinleri için t testi***

FIA ve standart metotlar kullanılarak gerçekleştirilen tayinlerden elde edilen verilerin karşılaştırılmasında aşağıdaki null ve alternatif hipotezleri kullanılmıştır:

H_0: $\overline{X}_1 = \overline{X}_2$

H_A: $\overline{X}_1 \neq \overline{X}_2$

Oluşturulan hipotezlere göre; H_0, FIA ile standart metot verilerine ait ortalamalar arasında anlamlı olarak (%95 güven seviyesinde) bir fark olmadığını ileri sürerken, H_A, FIA ile standart metot verilerine ait ortalamalar arasında anlamlı bir fark olduğunu savunmaktadır.

Tablo 8.96. FIA ve Standart Metotlar Kullanılarak Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen PHP İndikatörlü %FFA Tayinlerinden Hesaplanan %FFA Değerleri

%FFA Değerleri			
	FIA metodu ile (N=5)	**Standart metot ile (N= 5)**	
$\overline{X}_1$ *: 1.08* *s:* 5.4x 10^{-2}	1.02	1.12	$\overline{X}_1$ *: 0.98* *s: 0.11*
	1.07	1.09	
	1.02	0.92	
	1.08	0.86	
	1.15	1.06	
	FARKLI YAĞ NUMUNELERİ İÇİN KARŞILAŞTIRMA		
	0.34 ± 6.0x 10^{-3}	0.36 ± 3.5x 10^{-2}	
	1.53 ± 2.2x 10^{-2}	1.53 ± 4.5x 10^{-2}	
	2.05 ± 3.2x 10^{-2}	2.08 ± 6.9x 10^{-2}	
	0.06 ± 1.5x 10^{-3}	0.06 ± 5.5x 10^{-3}	
	0.32 ± 5.7x 10^{-3}	0.33 ± 3.0x 10^{-2}	
	1.40 ± 1.8x 10^{-2}	1.39 ± 4.3x 10^{-2}	
	1.03 ± 1.0x 10^{-2}	1.02 ± 4.2x 10^{-2}	
	1.78 ± 2.6x 10^{-2}	1.78 ± 6.5x 10^{-2}	
	0.73 ± 9.9x 10^{-3}	0.74 ± 4.0x 10^{-2}	
	0.69 ± 8.2x 10^{-3}	0.70 ± 3.7x 10^{-2}	

(43) FIA yöntemi kullanılarak yürütülen tayinlerden elde edilen veriler, n-propanol taşıyıcı fazı kullanılarak gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarında oluşturulan kalibrasyon grafikleri yardımıyla bulunmuştur.

İki metottan elde edilen deneysel verilerin ***(Tablo 8.96.)*** kullanılmasıyla, çift taraflı olarak hesaplanan ($\frac{N-1}{p}$ = 0.025 dikkate alınarak) ***t değeri: 1.59*** olarak, ***kritik t değeri (tablodan) ise 2.78*** olarak belirlenmiştir (p=0.05). Çift taraflı p değeri ise; 0.16 olarak hesaplanmıştır[44].

Yukarıdaki bilgiler doğrultusunda, %95 güven seviyesinde H_0 hipotezinin reddedilemeyeceği açıkça görülmektedir. Şöyle ki;

$$\mathbf{t}_{\mathbf{hesaplanan}} : 1.59 < \mathbf{t}_{\mathbf{kritik}} : 2.78$$

olduğundan hesaplanan t değeri, dağılım grafiğinde kabul bölgesine düşmektedir. Aynı durum, p değeri dikkate alındığında da geçerlidir. Bu sebeple; $\overline{X}_1 = \overline{X}_2$ olduğunu ileri süren H_0 hipotezi reddedilemez, yani; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının ortalaması birbirinden anlamlı olarak farklı değildir.

- ***PHP indikatörlü mısır yağı numuneleri için %FFA tayinleri için F testi***

Varyans analizi temelinde gerçekleştirilen ve iki farklı yöntemin (metodun) kesinliklerinin karşılaştırılması amacıyla kullanılan F testinde; metotlardan elde edilen veri gruplarının varyansları oranlanır[45] ve belirlenen güven seviyesinin (olasılık fonksiyonu) dikkate alınmasıyla tespit edilen kritik F değeri ile karşılaştırılır.

PHP indikatörlü mısır yağı numuneleri %FFA tayinleri için yukarıda belirtilen açıklama doğrultusunda; FIA ve standart metotların kesinliğinin karşılaştırılmasında kullanılan F testi şöyle gerçekleştirilmiştir:

t testinde olduğu gibi, F testi için de iki hipotez ileri sürülmüş, bunlardan sıfır (null) hipotezinde; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının varyans değerleri p=0.05 olasılık düzeyinde (%95 güven seviyesinde) eşit kabul edilirken, alternatif hipotezde bu eşitliğin söz konusu olmadığı söylenmiştir.

---

(44) Tablodan okunan kritik t değeri ile hesaplanan istatistiksel t değerinin işaretleri, karşılaştırma yapabilmek için aynı olmalıdır. Bu sebeple kritik t değeri -2.12 olarak ele alınmıştır.

(45) İstatistiksel F değerinin hesaplanmasında; genellikle büyük varyans değeri paya, küçük varyans değeri ise paydaya yazılır.

H_0: $s_1^2 = s_2^2$

H_A: $s_1^2 \neq s_2^2$

FIA ve standart metotlardan elde edilen deneysel verilerin ***(Tablo 8.96.)*** kullanılmasıyla, çift taraflı olarak hesaplanan ***F değeri: 0.23*** olarak, ***kritik F değeri (tablodan) ise 15.44*** olarak belirlenmiştir (p=0.05). Çift taraflı p değeri ise; 0.27 olarak hesaplanmıştır.

Buna göre; %95 güven seviyesinde H_0 hipotezinin reddedilemeyeceği açıkça görülmektedir. Şöyle ki;

$\mathbf{F_{hesaplanan}}$ **:** 0.23 < $\mathbf{F_{kritik}}$ **:** 15.44

olduğundan hesaplanan F değeri, dağılım grafiğinde kabul bölgesine düşmektedir. Aynı durum, p değeri dikkate alındığında da geçerlidir. Bu sebeple; $s_1^2 = s_2^2$ olduğunu ileri süren H_0 hipotezi reddedilemez, yani; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının varyansları birbirinden anlamlı olarak farklı değildir.

- ***<u>BTB indikatörlü mısır yağı numuneleri için %FFA tayinleri için t testi</u>***

PHP indikatörlü %FFA tayinleri için olduğu gibi, BTB indikatörlü %FFA tayinleri için de öncelikle Kolmogorov-Smirno testi ile verilerin normal dağılıp dağılmadığı kontrol edilmiş ve normal olarak dağıldığı görülen veriler üzerinde bağımsız iki örnek-t testi ve F testleri uygulanmıştır.

İki metottan elde edilen deneysel verilerin ***(Tablo 8.97.)*** kullanılmasıyla, çift taraflı olarak hesaplanan ($\frac{N-1}{p}$ = 0.025 dikkate alınarak) ***t değeri: -2.23*** olarak, ***kritik t değeri (tablodan) ise 2.78*** olarak belirlenmiştir (p=0.05). Çift taraflı p değeri ise; 0.07 olarak hesaplanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda, %95 güven seviyesinde H_0 hipotezinin reddedilemeyeceği açıkça görülmektedir. Şöyle ki;

$\mathbf{t_{hesaplanan}}$: 2.23 < $\mathbf{t_{kritik}}$: 2.78 olduğundan hesaplanan t değeri, dağılım grafiğinde kabul bölgesine düşmektedir. Bu sebeple; $\overline{X}_1 = \overline{X}_2$ olduğunu ileri süren H_0 hipotezi reddedilemez, yani; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının ortalaması birbirinden anlamlı olarak farklı değildir.

Tablo 8.97. FIA ve Standart Metotlar Kullanılarak Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen BTB İndikatörlü %FFA Tayinlerinden Hesaplanan %FFA Değerleri

%FFA Değerleri			
	FIA metodu ile (N=5)	**Standart metot ile (N= 5)**	
$\overline{X}_1$ ***: 1.08*** ***s: 5.5x 10^{-2}***	1.09	1.20	$\overline{X}_1$ ***: 1.23*** ***s: 0.12***
	1.11	1.17	
	1.13	1.10	
	1.08	1.38	
	1.01	1.26	
	FARKLI YAĞ NUMUNELERİ İÇİN KARŞILAŞTIRMA		
	$1.30 \pm 2.9x\ 10^{-2}$	1.29 ± 0.03	
	$2.20 \pm 4.4x\ 10^{-2}$	2.21 ± 0.06	
	$2.14 \pm 4.2x\ 10^{-2}$	2.16 ± 0.05	
	$1.38 \pm 3.2x\ 10^{-2}$	1.34 ± 0.03	
	$1.99 \pm 3.9x\ 10^{-2}$	1.20 ± 0.03	
	$1.70 \pm 3.6x\ 10^{-2}$	1.71 ± 0.04	
	$2.13 \pm 4.0x\ 10^{-2}$	2.16 ± 0.04	
	$1.67 \pm 3.5x\ 10^{-2}$	1.69 ± 0.04	
	$0.21 \pm 1.2x\ 10^{-2}$	0.21 ± 0.01	
	$0.61 \pm 1.4x\ 10^{-2}$	0.66 ± 0.02	

- ***<u>BTB indikatörlü mısır yağı numuneleri için %FFA tayinleri için F testi</u>***

FIA ve standart metotlardan elde edilen deneysel verilerin ***(Tablo 8.97.)*** kullanılmasıyla, çift taraflı olarak hesaplanan ***F değeri: 0.21*** olarak, ***kritik F değeri (tablodan) ise 15.44*** olarak belirlenmiştir (p=0.05). Çift taraflı p değeri ise; 0.23 olarak hesaplanmıştır.

Buna göre; %95 güven seviyesinde H_0 hipotezinin reddedilemeyeceği açıkça görülmektedir. Şöyle ki;

$\mathbf{F_{hesaplanan}}$ **:** $0.21 < \mathbf{F_{kritik}}$ **:** 15.44

olduğundan hesaplanan F değeri, dağılım grafiğinde kabul bölgesine düşmektedir. Aynı durum, p değeri dikkate alındığında da geçerlidir. Bu sebeple; $s_1^2 = s_2^2$ olduğunu ileri süren H_0 hipotezi reddedilemez, yani; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının varyansları birbirinden anlamlı olarak farklı değildir.

8.6. Peroksit Sayısı (PV) Tayini

UV (190-600 nm) ve DAD dedektör (190-950 nm) kullanılarak elde edilen otomatik enjeksiyonlu %FFA deney sonuçları değerlendirildiğinde; sabit slit aralığına (6.5 nm) sahip UV dedektörün aksine, beş slit aralığının (1. 2. 4. 8. 16 nm) programlanabildiği, daha yüksek basınçlarda çalışılmasına izin veren, daha yüksek duyarlılığa ve minimum baseline gürültüsüne sahip DAD dedektörün, peroksit sayısı (PV) ve anisidin sayısı (AV) tayinlerinde kullanılmasının daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

8.6.1. PV tayini için modifiye HPLC sisteminin kullanılışı

FIA ile PV tayinlerinin gerçekleştirilmesinde; %FFA tayinleri için kullanılan modifiye HPLC sistemi kullanılmış, PV tayinlerinde meydana gelen reaksiyonların istenilen ölçüde gerçekleşmesinde ise; dedektör sonuna yerleştirilen 1`er mL`lik iki adet loptan faydalanılmıştır.

Sisteme ilave edilen reaksiyon hücrelerinin seçimi ve adaptasyonu, deney şartları göz önünde bulundurularak yapılmış (taşıyıcı faz akış hızı, reaksiyon hücresinin hacmi, sıcaklık vb.) kolon fırını içine yerleştirilen 2-pozisyon/6-portlu bir mikro valfin iki portu arasına adapte edilmiş 50µL`lik loop da sistemde kalmaya devam etmiştir. Reaksiyon hücresi olarak görev yapacak lopların yerleştirildiği kısım da son derece önemlidir. Otomatik enjeksiyonlu peroksit sayısı (PV) tayinleri; meydana gelmesi istenilen reaksiyon karışımının, reaksiyon öncesi ve sonrasında dedektörden geçirilmesi ve elde edilen iki pike ait verilerden faydalanılarak PV değerlerinin belirlenmesi şeklindedir. Bu sebeple; sisteme adapte edilen 1mL`lik iki adet reaksiyon hücresi DAD dedektörün hemen çıkışına yerleştirilmiş; reaksiyon oluşumundan önce dedektörden geçirilerek (back-flushing off) ölçümü alınan karışım, reaksiyonun oluşması için adapte edilen reaksiyon hücrelerinde optimize edilen sürede bekletilmiştir. Reaksiyon oluşumu tamamlandıktan sonra ise; karışım ters akış prensibi (back-flushing on) ile dedektörden bir kez daha geçirilmiş ve elde edilen iki pik baz alınarak değerlendirmeler yapılmıştır.

8.6.2. PV tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi

Otomatik numune verici kullanılarak yürütülen PV tayinlerinde; yağ numunelerinin enjeksiyonu. tıpkı otomatik enjeksiyonlu %FFA tayinlerinde olduğu gibi reaktif/numune/reaktif sıralaması şeklinde gerçekleştirilmiş, böylece numune ve reaktif miktarları mikro seviyede tutulabilmiştir.

Asidik ortamda gerçekleştirilen PV tayinlerine ilişkin optimizasyon çalışmalarında; bazı temel parametre değerlerini (akış hızı. taşıyıcı faz yüzdesi vb.) belirlemede standart ayçiçek yağı numuneleri (PV değerleri belirli) kullanılmış, yağlara göre farklılık arz edebileceği düşünülen diğer parametre deneyleri (reaktif yüzdesi vb.) ise; PV tayini gerçekleştirilen ayçiçek, soya, kanola yağları için ayrı ayrı yürütülmüştür.

Diğer FIA deneylerinde olduğu gibi PV tayinlerinin gerçekleştirildiği çalışmalarda da; farklı PV değerine sahip yağ numunelerine ait piklerin birbirinden farklandırılması ve elde edilen gauss şeklindeki piklerin dik ve simetrik olması esas alınmıştır.

Numune içeren karışımın, reaksiyon öncesinde ve sonrasında alınan iki ölçümünden elde edilen piklerden faydalanılarak gerçekleştirilen tayinlerde; reaksiyon sonrasında alınan ölçümden elde edilen ikinci pikin, sonuçların yorumlanmasında daha etkili olduğu görülmüştür. Çünkü; gözlenen ilk pik (reaksiyondan önce), numune içeren bölgenin dedektöre ulaşana kadar, taşıyıcı fazdaki dağılımından ve yağın kendine özgü karakteristik renginden kaynaklanmaktadır. Bu sebeple; farklı PV değerlerine sahip yağ numuneleri için gözlenen ilk piklerin sinyal özellikleri birbirine oldukça benzerlik göstermekte ve PV tayinlerine ait sonuçların yorumlanmasında etkili olmamaktadır. Gözlenen ikinci pikler (reaksiyondan sonra) ise; optimize edilen sürede bekletilen numune-reaktif karışımının meydana getirdiği reaksiyon sonunda elde edildiği için, farklı PV değerine sahip yağ numuneleri için farklılık göstermekte ve sonuçların yorumlanmasında etkin bir şekilde kullanılmaktadır. PV tayinlerinde ayrıca; gözlenen pikler için elde edilen sinyal değerlerinin arasındaki mutlak farkların alınmasıyla da değerlendirmeler yapılmıştır.

PV tayinleri için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları; yapılan spektrofotometrik çalışmalar sonucunda belirlenen 360 nm dalga boyu gerçekleştirilmiştir.

8.6.2.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisi

Oldukça yavaş cereyan eden PV tayinleri için önemli faktörlerden biri olan taşıyıcı faz akış hızı; meydana gelmesi istenilen reaksiyonun oluşumunda oldukça önemli bir role sahiptir.

Dört farklı akış hızında (0.5 - 1.0 - 2.0 - 3.0 mL/dk) gerçekleştirilen taşıyıcı faz akış hızı çalışmalarında; dik ve simetrik piklerin elde edilebildiği ve farklı PV değerine sahip yağ numunelerinin piklerini belirli ölçüde farklandırabilen akış hızı değeri 3 mL/dk olarak tespit edilmiştir.

3 mL/dk`dan daha düşük akış hızlarında; elde edilen piklerde yayvanlaşmalar görülmüş. 3 mL/dk`dan daha yüksek akış hızlarında ise; meydana gelecek basınç yükselmesinden dolayı sistem bağlantıları zarar göreceğinden çalışılmamıştır.

8.6.2.2. Taşıyıcı faz cinsinin ve yüzdesinin etkisi

Taşıyıcı faz cinsi etkisinin incelendiği çalışmalarda; n-propanol ve n-propanolde çözülmüş NaI çözeltisinin taşıyıcı faz olarak PV tayini üzerine etkileri incelenmiştir.

n-propanolün (3mL/dk) taşıyıcı faz olarak kullanıldığı tayinlerde;

✦ n-propanolde çözülmüş farklı yüzde karışımlarındaki buzlu asetik asit ve NaI çözeltileri reaktif olarak kullanılmış ve reaktif/numune/reaktif şeklinde bir enjeksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaktif çözeltisi içinde yer alan NaI sebebiyle; reaksiyon numune enjeksiyonundan hemen sonra başlamış, bu sebeple meydana gelmesi istenen reaksiyondan önce ve sonra elde edilen piklerden yola çıkılarak yapılacak olan FIA ile PV tayinleri için istenilen amaca yönelik sonuçlar elde edilememiştir.

n-propanolde çözülmüş NaI çözeltisinin (0.6mL/dk) taşıyıcı faz olarak kullanıldığı tayinlerde ise;

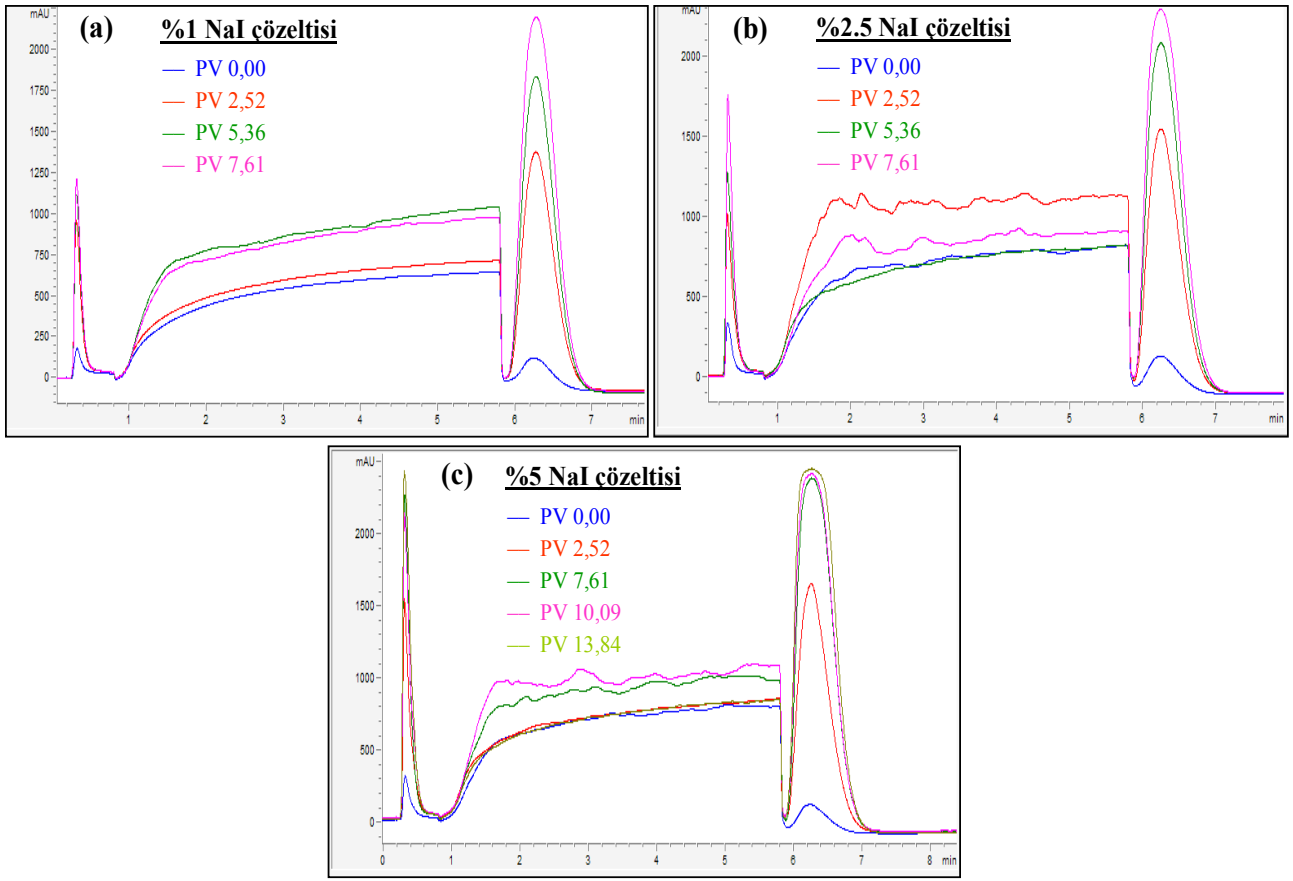
✦ izokratik pompa vasıtasıyla sisteme gönderilen buzlu asetik asit (3mL/dk)

reaktif olarak kullanılmış, fakat gerek düzenli bir basınç değişimi gözlenememesi, gerek reaktif sarfiyatının oldukça fazla olması, gerekse tek bir taşıyıcı faz temelinde (n-propanol) analizlerin gerçekleştirilmesinin istenmesi sebebiyle çalışmalara izokratik pompa devreden çıkarılarak devam edilmiştir. Bunun için;

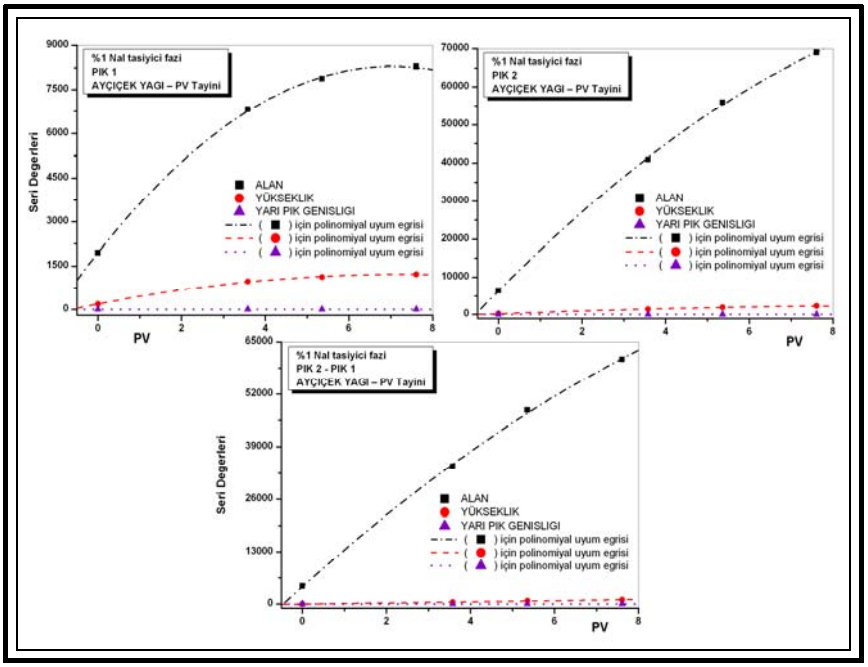
n-propanolde çözülmüş NaI çözeltisi (3mL/dk) yine taşıyıcı faz olarak. n-propanolde çözülmüş farklı yüzde karışımlarındaki asetik asit (**%25-%45-%60**) çözeltileri ise reaktif olarak kullanılmış ve reaktif/numune/reaktif şeklinde bir enjeksiyon gerçekleştirilmiştir. Kullanılan taşıyıcı fazın ve enjeksiyon şeklinin yağ numunelerindeki PV değerlerinin tayininde oldukça etkili olduğu görülmüştür.

Taşıyıcı faz yüzdesi etkisinin incelendiği çalışmalarda ise; PV tayinleri için taşıyıcı faz olarak kullanımı uygun görülen *n-propanolde çözülmüş NaI çözeltisi* kullanılmış ve %1 - %2.5 - %5 olmak üzere üç farklı yüzdede hazırlanan NaI çözeltilerinin PV tayinleri üzerine etkileri incelenmiştir. Temel parametre olarak kabul edilen taşıyıcı faz yüzdesi etkisi, ***PV=0.00 - 13.84*** **± 5.05x 10^{-3}** meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart yağ numuneleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve deneyler sonunda belirlenen uygun taşıyıcı faz yüzdesi değeri, diğer bitkisel yağların PV tayinlerinin gerçekleştirilmesinde de kullanılmıştır.

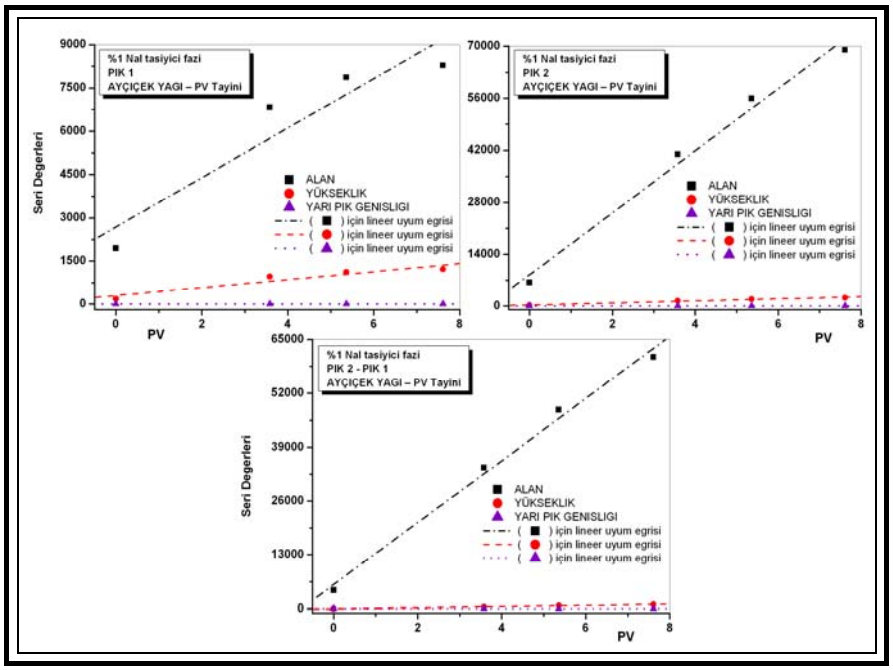
Standart ayçiçek yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen taşıyıcı faz yüzdesi etkisi çalışmalarından elde edilen sonuçlar, ***Şekil 8.107.***`deki pikler ve ***Tablo 8.98.-Tablo 8.106.*** arasında yer alan veriler yardımıyla değerlendirilmeye çalışılmıştır.



Şekil 8.107. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesi **(a)** %1 NaI çözeltisi, **(b)** %2.5 NaI çözeltisi, **(c)** %5 NaI çözeltisi



Şekil 8.108. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (POLİNOMİYAL GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif



Şekil 8.109. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.98. %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde edilen Piklere Ait Veriler

		%1 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 1				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
0.00	0.320	1947.0	185.1	0.1753	8.791	0.253
3.58	0.314	6824.2	966.4	0.1014	6.233	0.317
5.36	0.314	7875.1	1123.5	0.1008	2.436	0.308
7.61	0.316	8281.3	1216.3	0.0984	2.564	0.332
		%1 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 2				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
0.00	6.243	6402.2	203.4	0.5247	28.908	0.805
3.58	6.269	40932.6	1440.1	0.4476	37.385	0.723
5.36	6.271	55904.0	1913.8	0.4628	17.295	0.725
7.61	6.274	68968.4	2266.3	0.495	21.352	0.738

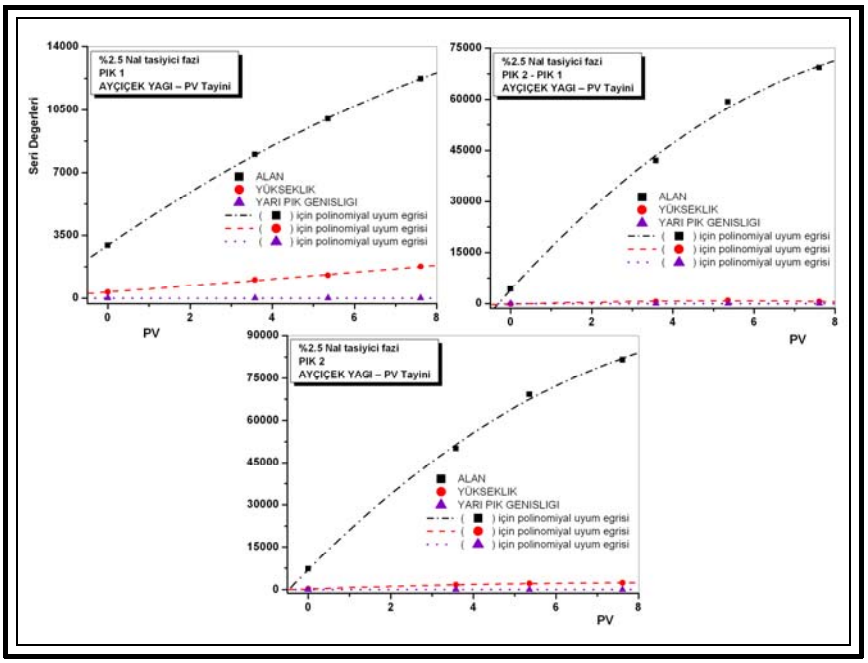
%1 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 2 – PİK 1			
PV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
0.00	6402.2	203.4	0.5247
3.58	40932.6	1440.1	0.4476
5.36	55904.0	1913.8	0.4628
7.61	68968.4	2266.3	0.495

Tablo 8.99. %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Polinom Denklemleri & Korelasyon Katsayıları

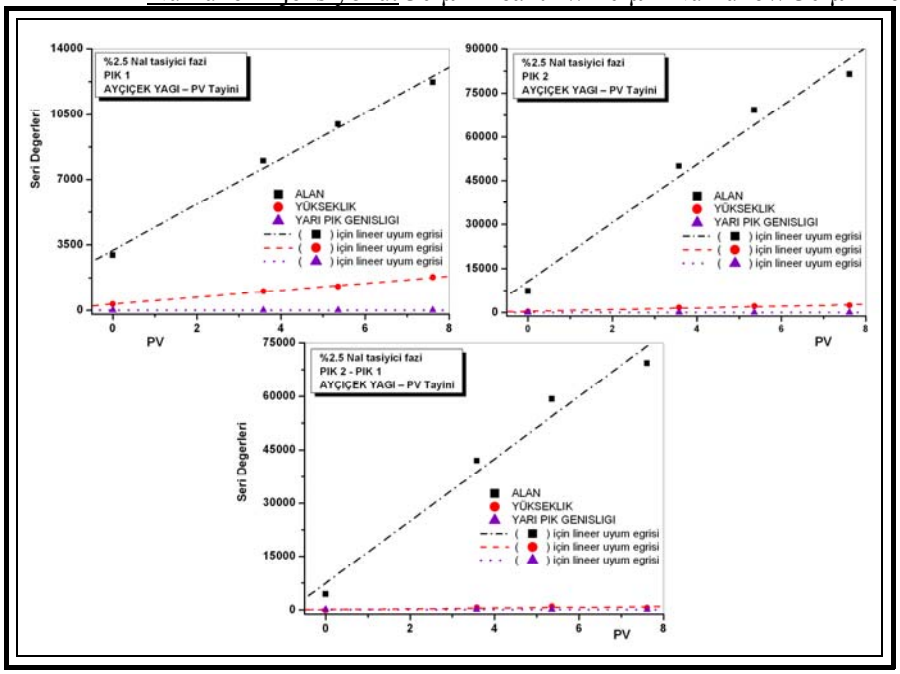
	AYÇİÇEK YAĞI %1 NaI taşıyıcı yüzdesi		
	PİK 1 polinom denklemi	**PİK 2 polinom denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 polinom denklemi**
Alan	$y = -128.02x^2 + 1802.7x + 1956.6$	$y = -388.54x^2 + 11216x + 6305.9$	$y = -260.52x^2 + 9413.6x + 4349.3$
	$R^2 = 0.9997$	**$R^2 = 0.9996$**	**$R^2 = 0.9995$**
Yükseklik	$y = -19.492x^2 + 282.68x + 187.96$	$y = -19.499x^2 + 420.6x + 200.54$	$y = -0.0063x^2 + 137.92x + 12.577$
	$R^2 = 0.999$	**$R^2 = 0.9997$**	**$R^2 = 0.9953$**
Yarı pik genişliği	$y = 0.0023x^2 - 0.0271x + 0.1744$	$y = 0.004x^2 - 0.0342x + 0.5237$	$y = 0.0017x^2 - 0.007x + 0.3493$
	$R^2 = 0.9837$	**$R^2 = 0.9783$**	**$R^2 = 0.9999$**

Tablo 8.100. %1 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	AYÇİÇEK YAĞI %1 NaI taşıyıcı yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	$y = 855.87x + 2690.7$	$y = 8342.7x + 8533.9$	$y = 7486.8x + 5843.2$
	$R^2 = 0.8864$	**$R^2 = 0.9874$**	**$R^2 = 0.9926$**
Yükseklik	$y = 138.51x + 299.74$	$y = 276.39x + 312.35$	$y = 137.88x + 12.613$
	$R^2 = 0.8974$	**$R^2 = 0.9721$**	**$R^2 = 0.9953$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0102x + 0.1613$	$y = -0.0044x + 0.5006$	$y = 0.0058x + 0.3394$
	$R^2 = 0.7652$	**$R^2 = 0.1678$**	**$R^2 = 0.6635$**



Şekil 8.110. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (POLİNOMİYAL GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif



Şekil 8.111. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.101. %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde edilen Piklere Ait Veriler

		%2.5 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 1				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
0.00	0.316	2942.7	340.7	0.1208	1.349	0.28
3.58	0.309	8009.6	1017	0.1089	2.171	0.232
5.36	0.310	9977.6	1275.5	0.1093	3.44	0.239
7.61	0.316	12226.6	1767.3	0.0997	3.602	0.229
		%2.5 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 2				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
0.00	6.246	7264.2	235.1	0.5149	3.33	0.729
3.58	6.249	49991.6	1634.9	0.4857	13.552	0.654
5.36	6.251	69235.6	2171.8	0.5119	23.871	0.678
7.61	6.254	81502.1	2383.4	0.407	24.011	0.69

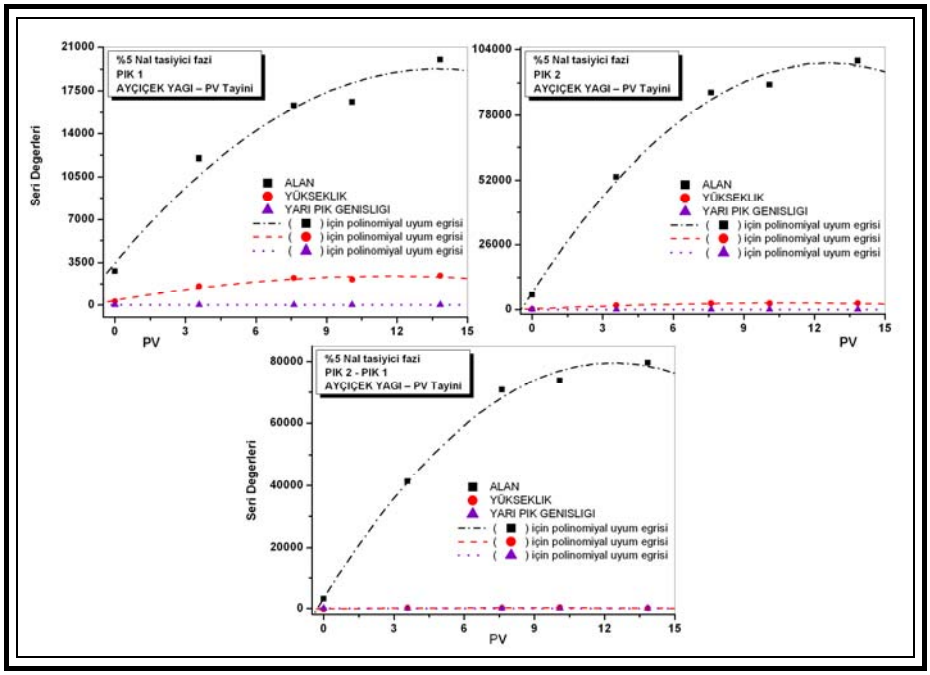
%2.5 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 2 – PİK 1			
PV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
0.00	4321.5	-105.6	0.3941
3.58	41982	617.9	0.3768
5.36	59258	896.3	0.4026
7.61	69275.5	616.1	0.3073

Tablo 8.102. %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Polinom Denklemleri & Korelasyon Katsayıları

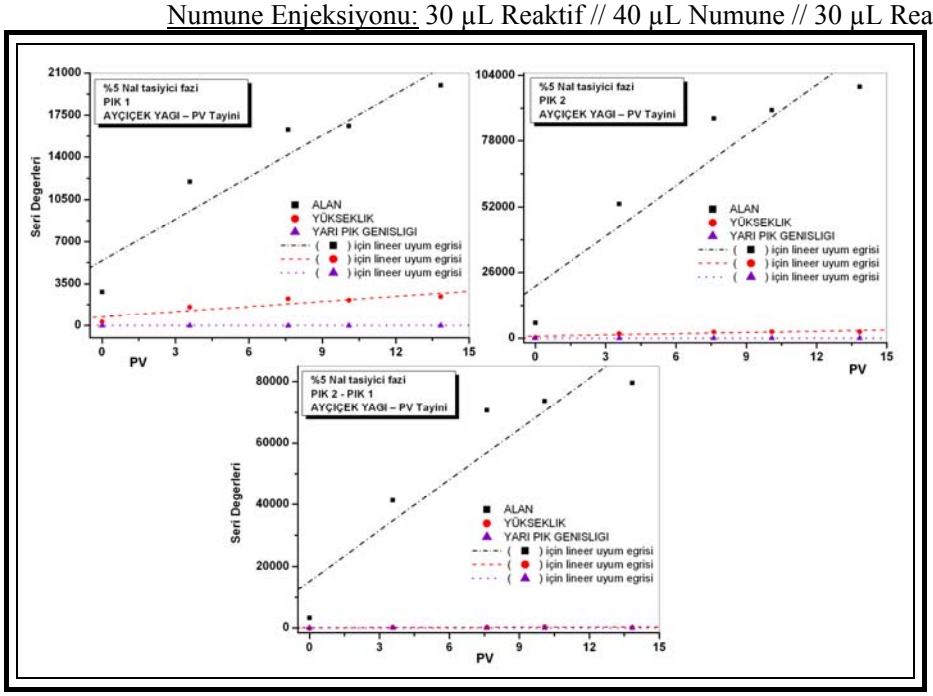
AYÇİÇEK YAĞI %2.5 NaI taşıyıcı yüzdesi			
	PİK 1 polinom denklemi	**PİK 2 polinom denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 polinom denklemi**
Alan	$y = -46.014x^2 + 1567.1x + 2949.7$	$y = -634.37x^2 + 14687x + 7007$	$y = -588.35x^2 + 13120x + 4057.3$
	$R^2 = 0.9999$	**$R^2 = 0.9982$**	**$R^2 = 0.9976$**
Yükseklik	$y = 1.7919x^2 + 171.33x + 346.67$	$y = -29.87x^2 + 512.86x + 227.11$	$y = -31.662x^2 + 341.53x - 119.56$
	$R^2 = 0.9972$	**$R^2 = 0.9981$**	**$R^2 = 0.9703$**
Yarı pik genişliği	$y = -1E\text{-}05x^2 - 0.0025x + 0.1204$	$y = -0.0031x^2 + 0.0112x + 0.5105$	$y = -0.0031x^2 + 0.0138x + 0.3901$
	$R^2 = 0.9385$	**$R^2 = 0.7816$**	**$R^2 = 0.7562$**

Tablo 8.103. %2.5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

AYÇİÇEK YAĞI %2.5 NaI taşıyıcı yüzdesi			
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	$y = 1226.7x + 3213.5$	$y = 9994.8x + 10645$	$y = 8768.1x + 7431.2$
	$R^2 = 0.9919$	**$R^2 = 0.9758$**	**$R^2 = 0.9726$**
Yükseklik	$y = 184.59x + 336.4$	$y = 291.94x + 398.4$	$y = 107.35x + 62.004$
	$R^2 = 0.9966$	**$R^2 = 0.9418$**	**$R^2 = 0.6482$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0026x + 0.1205$	$y = -0.0117x + 0.5282$	$y = -0.0091x + 0.4078$
	$R^2 = 0.9384$	**$R^2 = 0.5574$**	**$R^2 = 0.4551$**



Şekil 8.112. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (POLİNOMİYAL GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif



Şekil 8.113. PV Tayini Üzerine Taşıyıcı Faz Yüzdesi Etkisinin %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.104. %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde edilen Piklere Ait Veriler

		%5 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 1				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
0.00	0.318	2805.2	308.8	0.125	1.312	0.262
3.58	0.309	11985.6	1551	0.1062	4.484	0.245
7.61	0.311	16310.5	2244.4	0.1068	4.512	0.314
10.09	0.307	16589.3	2112.6	0.1136	4.302	0.235
13.84	0.306	19980.6	2414.3	0.1226	6.099	0.232

		%5 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 2				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
0.00	6.247	6028.4	197.4	0.509	2.82	0.7
3.58	6.253	53310.8	1712.1	0.4553	19.942	0.665
7.61	6.259	87069.2	2435.5	0.4261	24.084	0.62
10.09	6.269	90287.9	2459.4	0.4343	23.414	0.727
13.84	6.266	99537.5	2508.7	0.4689	30.382	0.672

%5 NaI taşıyıcı yüzdesi PİK 2 – PİK 1			
PV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
0.00	3223.2	-111.4	0.384
3.58	41325.2	161.1	0.3491
7.61	70758.7	191.1	0.3193
10.09	73698.6	346.8	0.3207
13.84	79556.9	94.4	0.3463

Tablo 8.105. %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Polinom Denklemleri & Korelasyon Katsayıları

	AYÇİÇEK YAĞI %5 NaI taşıyıcı yüzdesi		
	PİK 1 polinom denklemi	**PİK 2 polinom denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 polinom denklemi**
Alan	$y = -83.052x^2 + 2292.4x + 3479.2$	$y = -577.62x^2 + 14556x + 7061.4$	$y = -494.57x^2 + 12264x + 3582.3$
	$R^2 = 0.9701$	**$R^2 = 0.9938$**	**$R^2 = 0.9956$**
Yükseklik	$y = -14.764x^2 + 344.74x + 379.8$	$y = -20.205x^2 + 436.68x + 266.62$	$y = -5.4406x^2 + 91.941x - 113.18$
	$R^2 = 0.9668$	**$R^2 = 0.9861$**	**$R^2 = 0.8683$**
Yarı pik genişliği	$y = 0.0004x^2 - 0.005x + 0.1232$	$y = 0.0012x^2 - 0.0201x + 0.5096$	$y = 0.0009x^2 - 0.0151x + 0.3864$
	$R^2 = 0.8919$	**$R^2 = 0.9975$**	**$R^2 = 0.9814$**

Tablo 8.106. %5 NaI Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	AYÇİÇEK YAĞI %5 NaI taşıyıcı yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	$y = 1154.9x + 5420.4$	$y = 6644.9x + 20563$	$y = 5490x + 15142$
	$R^2 = 0.8897$	**$R^2 = 0.8779$**	**$R^2 = 0.8719$**
Yükseklik	$y = 142.53x + 724.89$	$y = 159.95x + 738.88$	$y = 17.423x + 13.989$
	$R^2 = 0.8141$	**$R^2 = 0.7711$**	**$R^2 = 0.3212$**
Yarı pik genişliği	$y = 2E\text{-}05x + 0.1147$	$y = -0.0031x + 0.4806$	$y = -0.0031x + 0.3659$
	$R^2 = 0.0002$	**$R^2 = 0.2651$**	**$R^2 = 0.416$**

8.6.2.3. Numune ve reaktif hacmi etkisi

Minimum düzeyde numune ve reaktif hacmi kullanımına yönelik çalışmalarda; reaktif/numune/reaktif oranının farklı olduğu birçok çalışma gerçekleştirilmiş ve optimize oran değerleri **30µL reaktif / 40µL numune / 30µL reaktif** olarak bulunmuştur.

n-propanolde çözülmüş NaI çözeltisinin (3mL/dk) taşıyıcı faz olarak kullanıldığı PV tayinlerinde. reaktif / numune / reaktif hacmi oranları incelenirken; otomatik numune verici içinde bulunan 100 µL loop hacmi göz önünde bulundurulmuştur. Reaktif hacminin 30 µL`de sabit tutulduğu çalışmalarda; 40 µL`den daha az numune hacimlerinde, parklı PV değerlerine sahip yağ numunelerine ait piklerde farklılaşmalar gözlenmemiş, bu sebeple sonuçların değerlendirilmesinde kullanılamamıştır. 30 µL`den daha az reaktif hacminin kullanıldığı çalışmalarda ise; numune hacmi 40 µL`nin üzerine çıktığında reaksiyon oluşumu tam olarak gerçekleşmemiş, bu sebeple dik ve simetrik pikler elde edilememiştir. Bu değerlendirmeler neticesinde; numune enjeksiyonu için uygun oranın **30µL reaktif / 40µL numune / 30µL reaktif** olduğuna karar verilmiştir.

8.6.2.4. Reaktif yüzdesinin etkisi

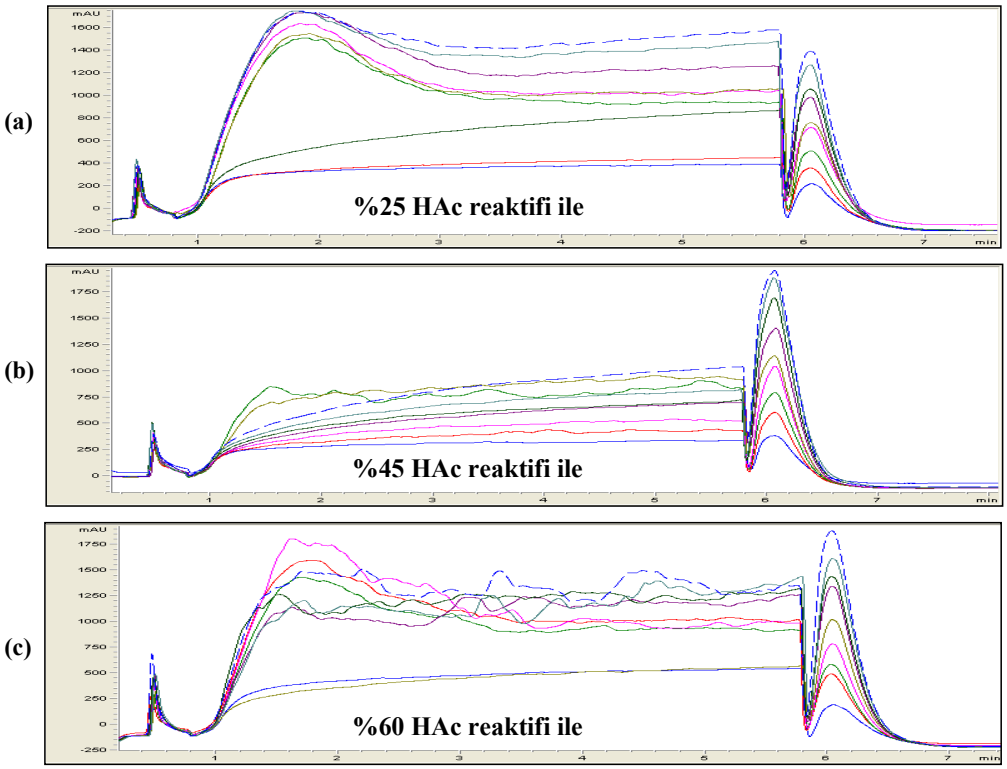
Asidik ortamda meydana gelen PV tayinlerine reaktif yüzdesi (buzlu HAc) etkisinin incelendiği çalışmalarda; reaktif yüzdesinin istenilen reaksiyonun meydana gelmesinde oldukça etkili olduğu görülmüş ve kullanılan her bir yağ türü için reaktif yüzdesinin etkisi ayrı ayrı incelenmiştir.

Gerçekleştirilen çalışmalarda; reaktif çözeltisi olarak; n-propanolde çözülmüş farklı yüzdelerdeki asetik asit (***%25-%45-%60***) çözeltileri kullanılmış ve PV tayinlerinin yürütülmesi için uygun reaktif yüzdesinin, kullanılan yağ türüne göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonucun; kullanılan yağ türlerinin kaynaklarına ve sahip oldukları farklı özelliklere bağlı olduğu düşünülmektedir.

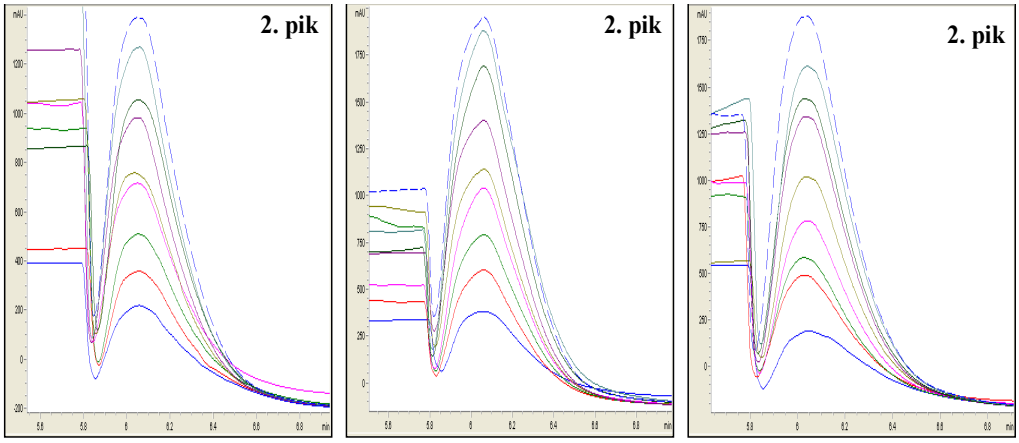
Ayçiçek, mısır, soya ve kanola yağları üzerinde gerçekleştirilen reaktif yüzdesi etkisi çalışmalarından elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır:

- ***Ayçiçek Yağı için Reaktif Yüzdesi Etkisinin İncelenmesi:***

Reaktif olarak %25 - %45 -%60 yüzdelerdeki asetik asit çözeltilerinin etkilerinin incelendiği çalışmalar; ***PV=3.58-14.94*** meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart yağ numuneleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 8.114. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi

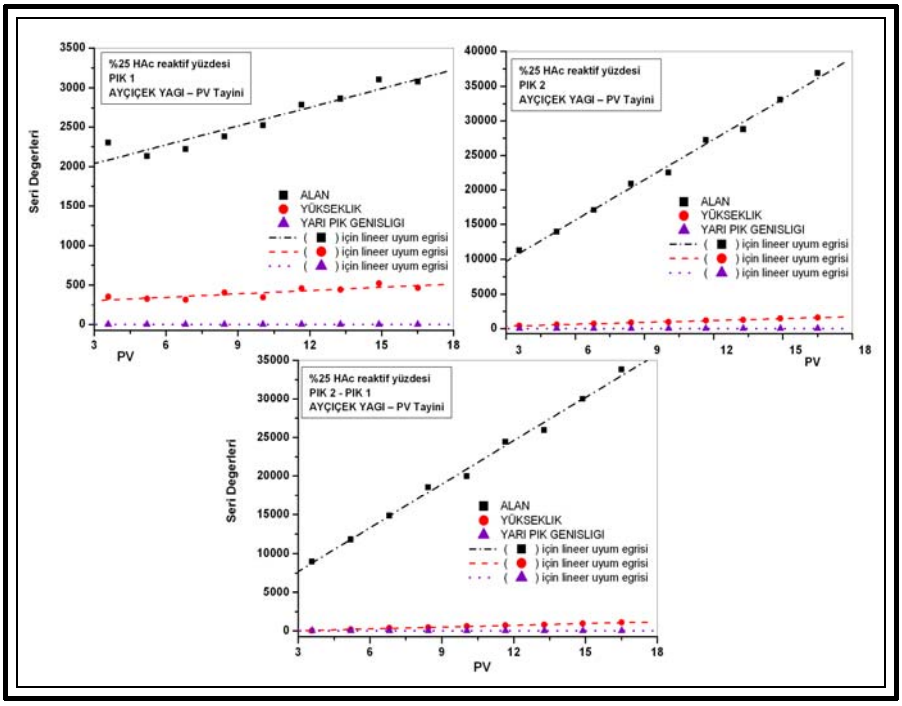


(a) **%25 HAc reaktifi ile** Ayçiçek Yağı - PV Tayini

(b) **%45 HAc reaktifi ile** Ayçiçek Yağı - PV Tayini

(c) **%60 HAc reaktifi ile** Ayçiçek Yağı - PV Tayini

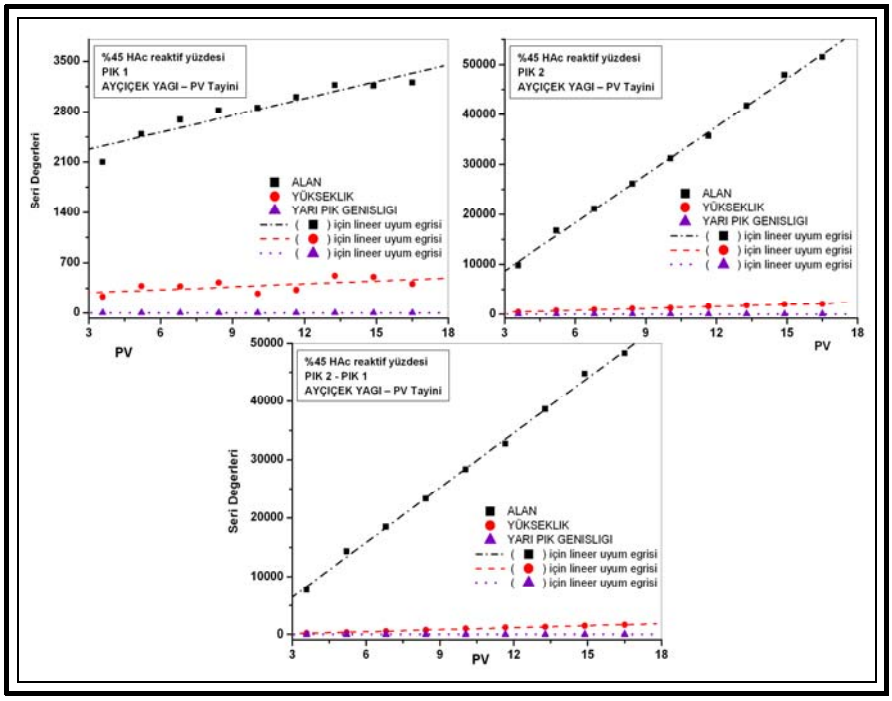
Şekil 8.115. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen 2. Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi



Şekil 8.116. Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %25 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.107. %25 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

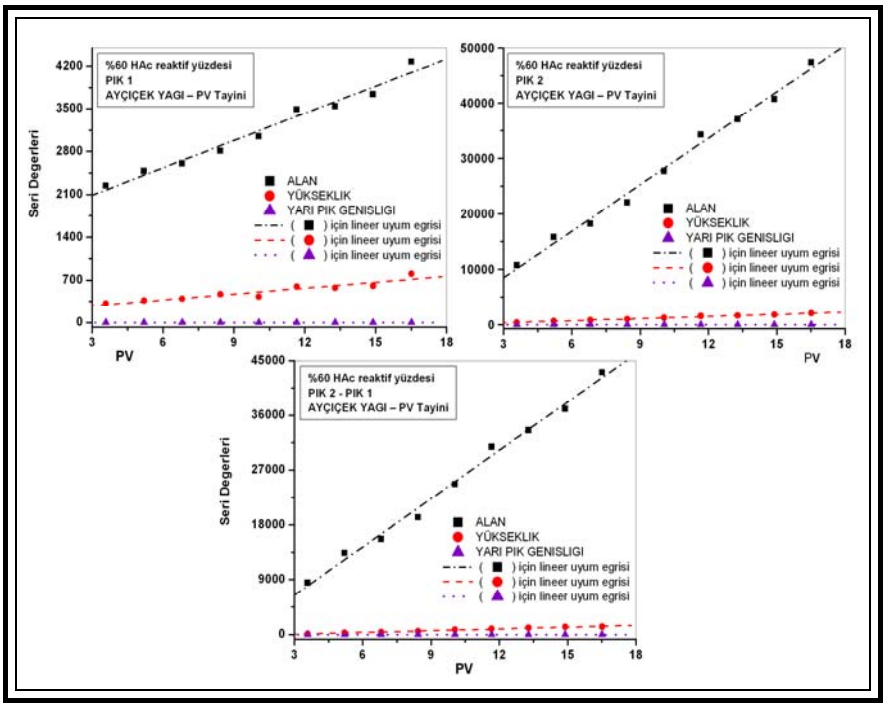
	AYÇİÇEK YAĞI %25 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 79.327x + 1801.5	y = 1954.9x + 3875.3	y = 1875.6x + 2073.8
	R^2 = 0.9061	**R^2 = 0.9943**	**R^2 = 0.9942**
Yükseklik	y = 13.898x + 266.32	y = 90.657x + 82.058	y = 76.759x - 184.27
	R^2 = 0.7261	**R^2 = 0.9955**	**R^2 = 0.9935**
Yarı pik genişliği	y = -0.0004x + 0.1104	y = -0.0081x + 0.4626	y = -0.0077x + 0.3522
	R^2 = 0.0818	**R^2 = 0.5412**	**R^2 = 0.538**



Şekil 8.117. Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %45 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.108. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	AYÇİÇEK YAĞI %45 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 78.304x + 2043.4	y = 3208.4x - 905.77	y = 3130.1x - 2949.2
	R^2 = 0.9023	**R^2 = 0.9977**	**R^2 = 0.9979**
Yükseklik	y = 13.258x + 247.53	y = 129.05x + 1.0856	y = 115.79x - 246.45
	R^2 = 0.367	**R^2 = 0.9902**	**R^2 = 0.9944**
Yarı pik genişliği	y = -0.0006x + 0.1068	y = -0.0044x + 0.3726	y = -0.0038x + 0.2658
	R^2 = 0.0298	**R^2 = 0.7722**	**R^2 = 0.3524**



Şekil 8.118. Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %60 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.109. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	AYÇİÇEK YAĞI %60 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 149.1x + 1639.2	y = 2795.7x + 142.02	y = 2646.6x - 1497.2
	R^2 = 0.9751	**R^2 = 0.9917**	**R^2 = 0.9921**
Yükseklik	y = 32.449x + 180.73	y = 129.69x - 52.871	y = 97.242x - 233.6
	R^2 = 0.8907	**R^2 = 0.9925**	**R^2 = 0.9842**
Yarı pik genişliği	y = -0.0017x + 0.1213	y = -0.0038x + 0.4214	y = -0.0021x + 0.3001
	R^2 = 0.7047	**R^2 = 0.4699**	**R^2 = 0.2248**

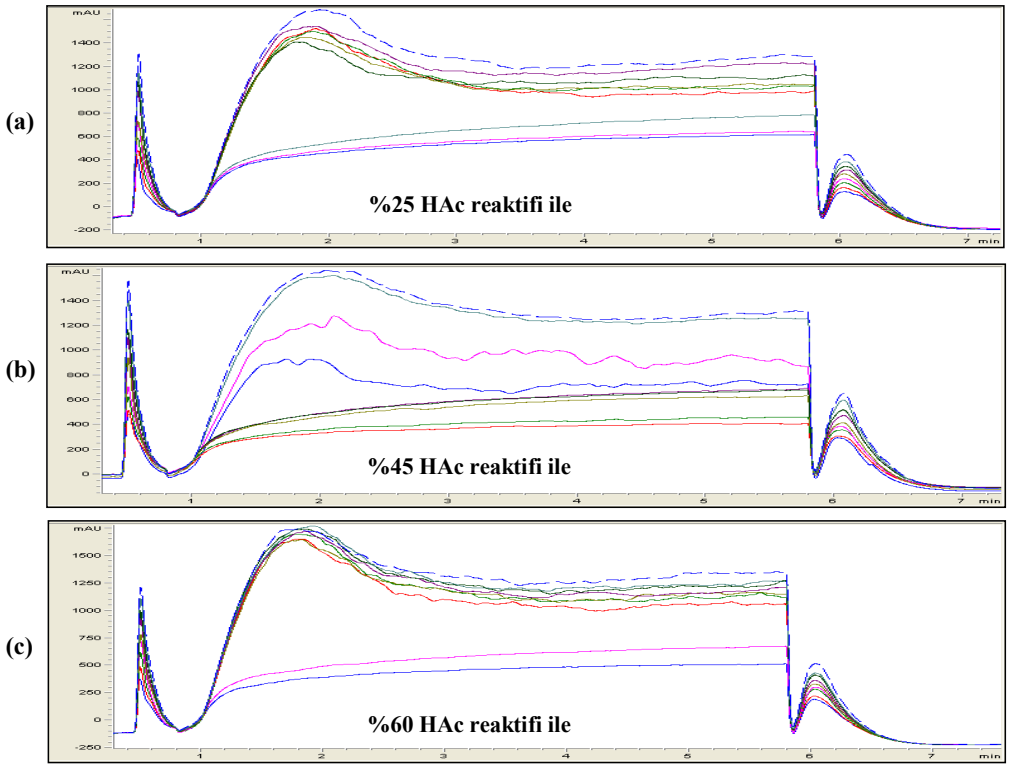
PV=3.58 - 14.94 meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart ayçiçek yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen reaktif yüzdesi etkisi çalışmaları sonucunda; elde edilen piklerin (özellikle 2. pik dikkate alınmıştır) şekil & simetrileri ***(Şekil 8.114., Şekil 8.115.)*** ve piklerin alan, yükseklik ve yarı pik

genişlikleri için ayrı ayrı çizilen grafik denklemlerinden eğim değerleri ve regresyon katsayıları ***(Tablo 8.107., Tablo 8.108., Tablo 8.109.)*** göz önünde bulundurulduğunda; %45 HAc reaktifi ile elde edilen pik simetrilerinin, %25 ve %60 HAc reaktifleri ile elde edilenlere kıyasla daha iyi olduğu görülmüş ve farklı PV değerine sahip yağ numuneleri birbirlerinden yeterli ölçüde farklanmışlardır. Bu sebeple; ayçiçek yağı ile yürütülen PV tayinleri için, %45 HAc reaktifini kullanmanın daha uygun olacağına karar verilmiştir. Reaktif karşılaştırmasının bir sonucu olarak yapılan bu değerlendirmenin yanı sıra, %45 ve %60`lık HAc çözeltileri ile de yüksek eğim değerleri ve regresyon katsayıları elde edildiği göz ardı edilmemelidir. Bu sebeple; diğer yağların PV tayinlerinden sonra sabit bir reaktif konsantrasyonun belirlenmesinin uygun olacağı düşünülmektedir.

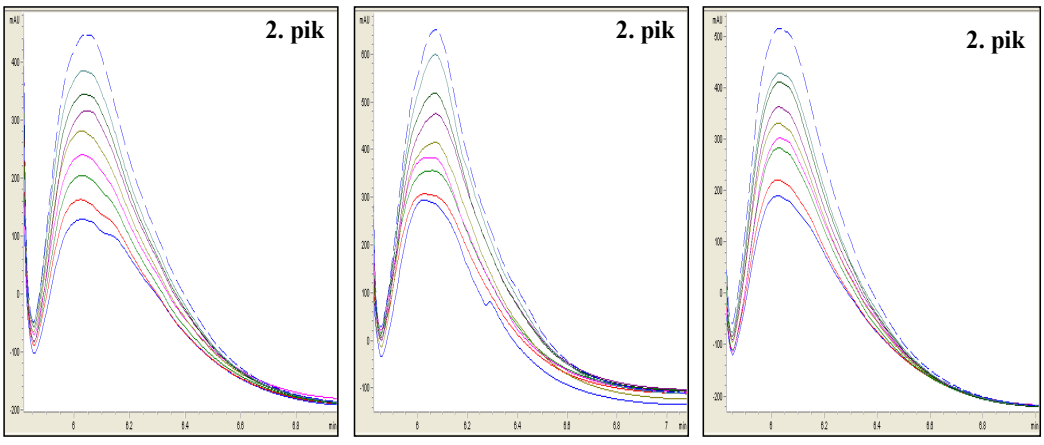
PV tayinlerinden elde edilen sonuçların yorumlanmasında özellikle 2. piklere ait veriler dikkate alınmıştır. PV tayinlerinde elde edilen 1. pik tayinler sırasında gerçekleşmesi istenilen reaksiyonun oluşumundan önce gözlenmekte ve absorbans şiddeti, reaktif/numune/reaktif karışımındaki maddelerin özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. PV tayinlerinde elde edilen 2. pik ise; reaksiyon oluşumundan sonra (5 dakika bekleme süresi) gözlenmekte dolayısıyla; yağ numunelerindeki doymamış bağların, asidik ortamda, taşıyıcı fazdaki iyodürler (oksitlenmeden dolayı iyoda dönüşmektedir) ile etkileşmesi neticesinde pik şiddetlerinde artmalar görülmektedir. Bu sebeple; daha fazla şiddete sahip 2. pikler için farklı PV değerine sahip yağ numunelerine ait piklerin farklanması ve tayin sonuçlarına ilişkin yorumların yapılması da daha kolay ve uygun olacaktır.

- ***Mısır Yağı için Reaktif Yüzdesi Etkisinin İncelenmesi:***

Reaktif olarak %25 - %45 -%60 yüzdelerdeki asetik asit çözeltilerinin etkilerinin incelendiği çalışmalar; ***PV=3.35 - 18.06*** meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart yağ numuneleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 8.119. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi

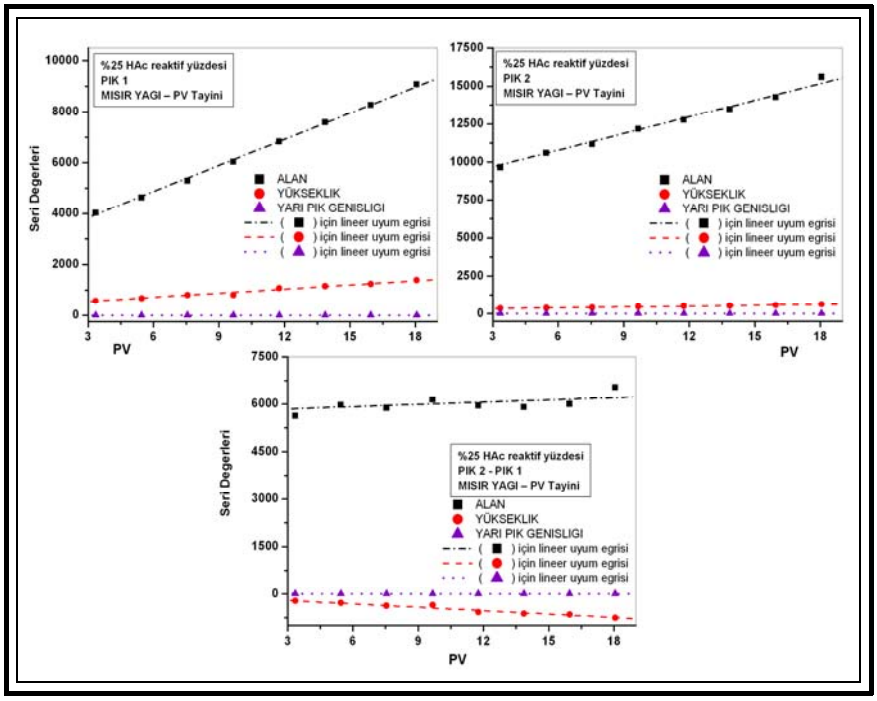


(a) **%25 HAc reaktifi ile** Mısır Yağı - PV Tayini

(b) **%45 HAc reaktifi ile** Mısır Yağı - PV Tayini

(c) **%60 HAc reaktifi ile** Mısır Yağı - PV Tayini

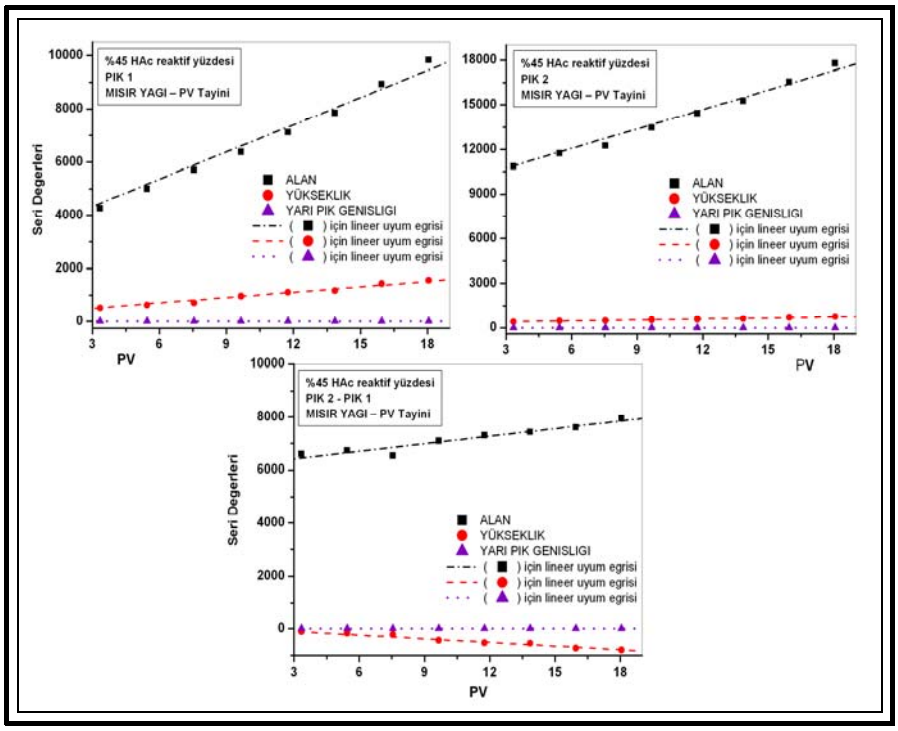
Şekil 8.120. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen 2. Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi



Şekil 8.121. Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %25 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.110. %25 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

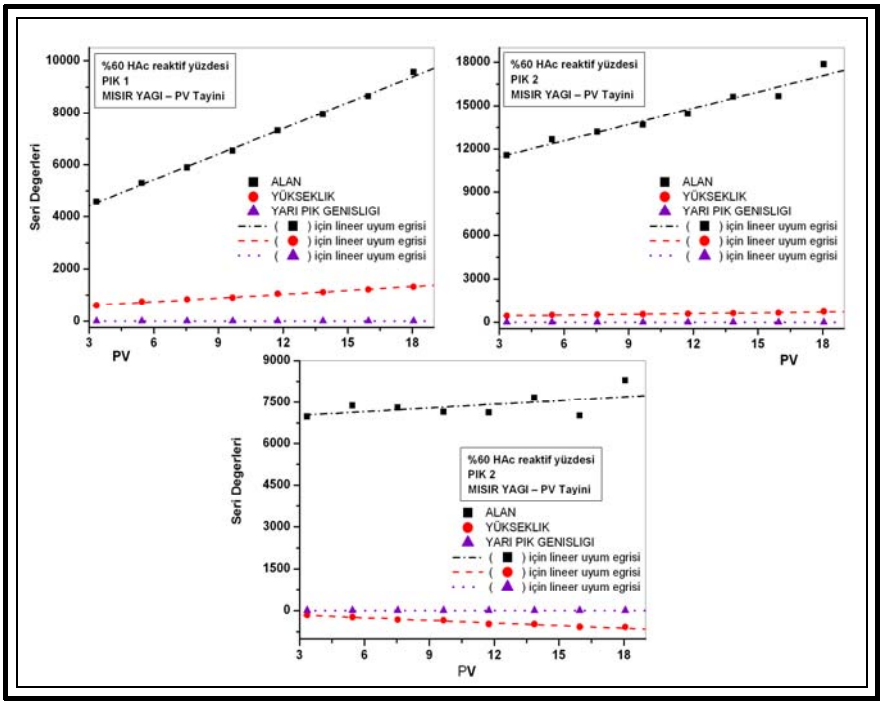
	MISIR YAĞI %25 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 341.91x + 2816.7	y = 365.3x + 8592.5	y = 23.388x + 5775.9
	R^2 = 0.9987	**R^2 = 0.9881**	**R^2 = 0.3072**
Yükseklik	y = 53.991x + 391.04	y = 17.803x + 295.65	y = -0.0033x + 0.3557
	R^2 = 0.9809	**R^2 = 0.9927**	**R^2 = 0.8232**
Yarı pik genişliği	y = -0.0004x + 0.116	y = -0.0037x + 0.4717	y = -36.188x - 95.394
	R^2 = 0.1426	**R^2 = 0.9298**	**R^2 = 0.9589**



Şekil 8.122. Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %45 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.111. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	MISIR YAĞI %45 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 340.62x + 3315.4	y = 436.36x + 9442.8	y = 95.739x + 6127.5
	R^2 = 0.9743	**R^2 = 0.9808**	**R^2 = 0.9445**
Yükseklik	y = 66.817x + 311.79	y = 20.735x + 355.62	y = 0.0004x + 0.2875
	R^2 = 0.9693	**R^2 = 0.9549**	**R^2 = 0.0424**
Yarı pik genişliği	y = -0.0025x + 0.1444	y = -0.002x + 0.4318	y = -46.081x + 43.837
	R^2 = 0.8641	**R^2 = 0.6343**	**R^2 = 0.9674**



Şekil 8.123. Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %60 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.112. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

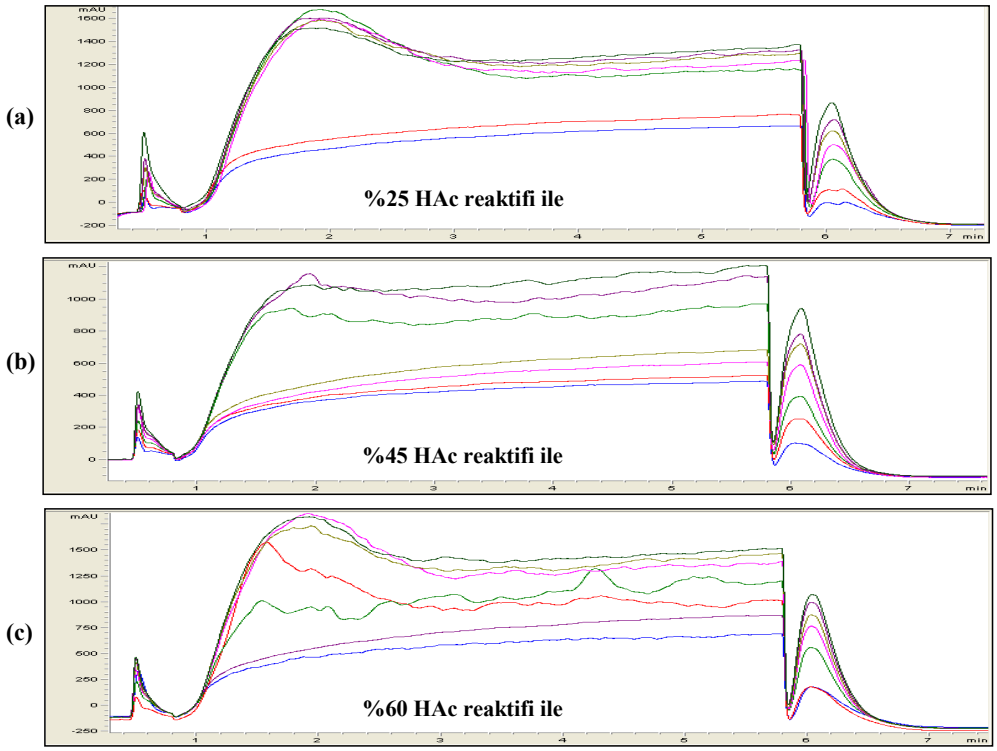
	MISIR YAĞI %60 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 330.02x + 3442.8	y = 374.49x + 10330	y = 44.467x + 6887.3
	R^2 = 0.9983	**R^2 = 0.9669**	**R^2 = 0.3636**
Yükseklik	y = 48.912x + 448.29	y = 17.779x + 385.09	y = -0.0017x + 0.3145
	R^2 = 0.9946	**R^2 = 0.9757**	**R^2 = 0.891**
Yarı pik genişliği	y = -0.0006x + 0.1271	y = -0.0023x + 0.4416	y = -31.133x - 63.199
	R^2 = 0.4274	**R^2 = 0.888**	**R^2 = 0.9795**

PV=3.35 - 18.06 meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart mısır yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen reaktif yüzdesi etkisi çalışmaları sonucunda; elde edilen piklerin (özellikle 2. pik dikkate alınmıştır) şekil & simetrileri ***(Şekil 8.119., Şekil 8.120.)*** ve piklerin alan, yükseklik ve yarı pik genişlikleri için

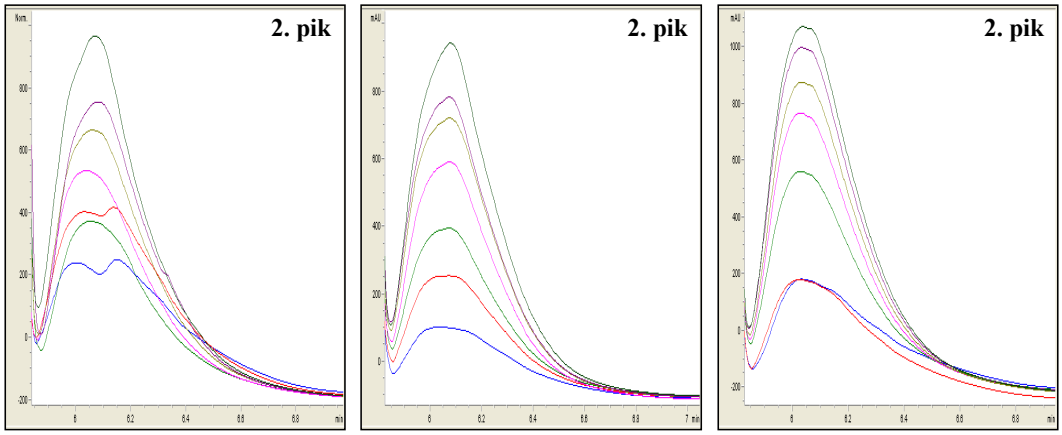
ayrı ayrı çizilen grafik denklemlerinden eğim değerleri ve regresyon katsayıları ***(Tablo 8.110., Tablo 8.111., Tablo 8.112.)*** göz önünde bulundurulduğunda; %45 HAc reaktifi ile elde edilen pik simetrilerinin, %25 ve %60 HAc reaktifleri ile elde edilenlere kıyasla daha iyi olduğu görülmüş ve farklı PV değerine sahip yağ numuneleri birbirlerinden yeterli ölçüde farklanmışlardır.

Soya Yağı için Reaktif Yüzdesi Etkisinin İncelenmesi:

Reaktif olarak %25 - %45 -%60 yüzdelerdeki asetik asit çözeltilerinin etkilerinin incelendiği çalışmalar; ***PV= 2.71 - 11.01*** meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart yağ numuneleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 8.124. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Soya Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi

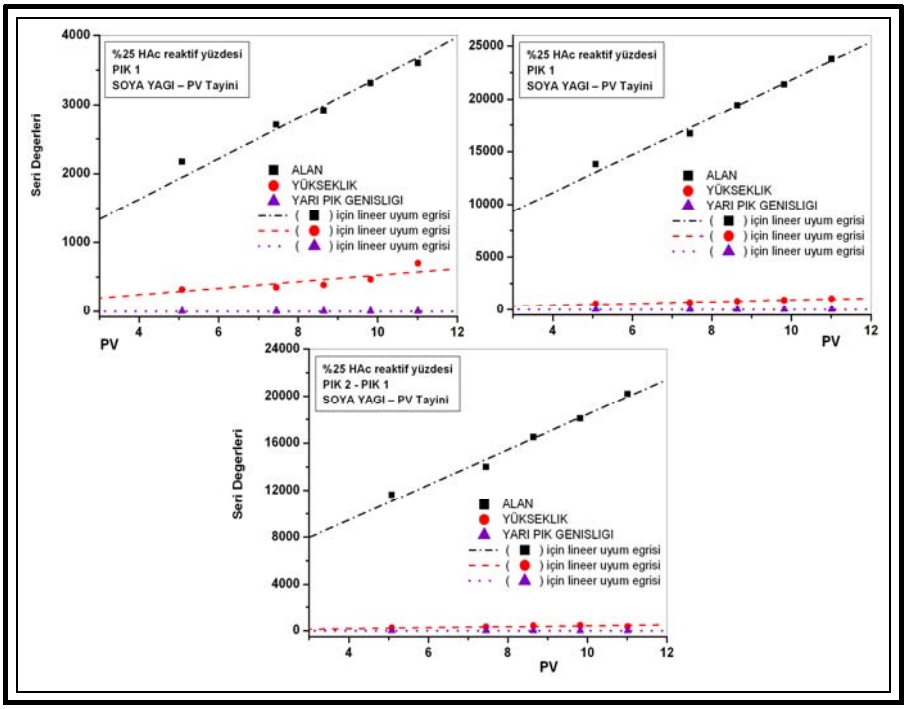


(a) **%25 HAc reaktifi ile** Soya Yağı - PV Tayini

(b) **%45 HAc reaktifi ile** Soya Yağı - PV Tayini

(c) **%60 HAc reaktifi ile** Soya Yağı - PV Tayini

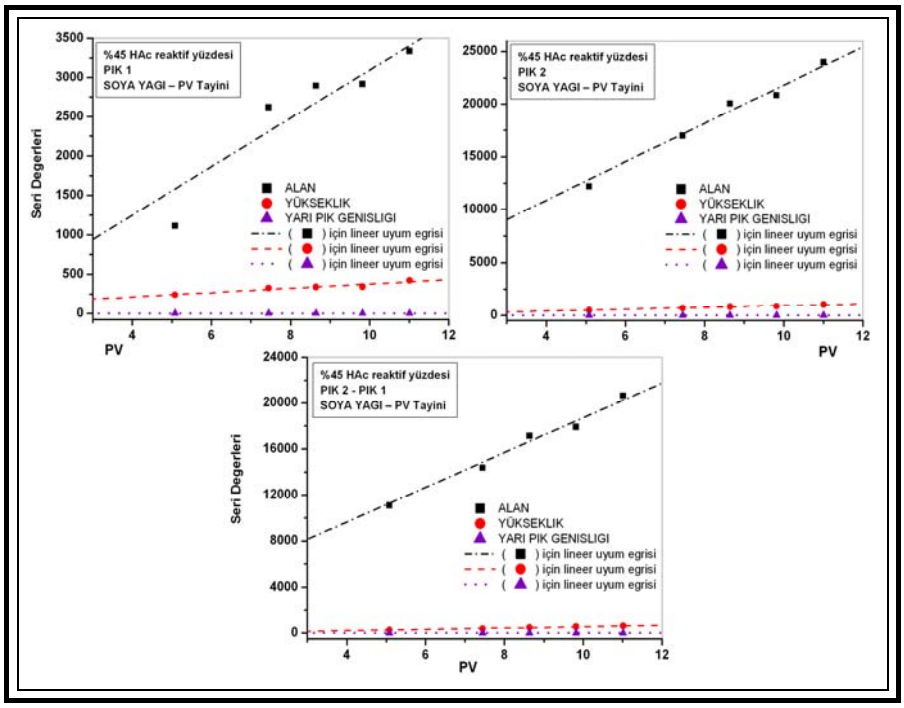
Şekil 8.125. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Soya Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen 2. Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi



Şekil 8.126. Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %25 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.113. %25 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

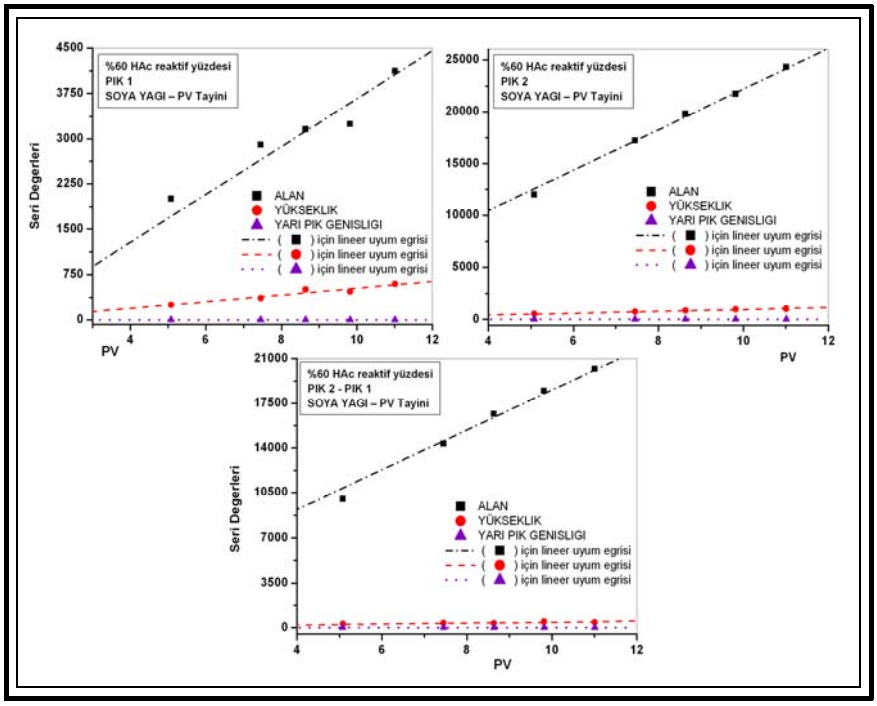
SOYA YAĞI %25 HAc reaktif yüzdesi			
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 292.76x + 459.51	y = 1784.6x + 3977	y = 1491.8x + 3517.5
	R^2 = 0.9608	**R^2 = 0.9957**	**R^2 = 0.9955**
Yükseklik	y = 47.419x + 54.548	y = 85.803x + 78.049	y = 38.384x + 23.501
	R^2 = 0.8649	**R^2 = 0.9925**	**R^2 = 0.8739**
Yarı pik genişliği	y = 0.0042x + 0.08	y = -0.0262x + 0.554	y = -0.0304x + 0.467
	R^2 = 0.3815	**R^2 = 0.9524**	**R^2 = 0.9096**



Şekil 8.127. Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %45 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.114. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	SOYA YAĞI %45 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 307.22x + 22.49	y = 1819.5x + 3614.3	y = 1512.3x + 3591.8
	R^2 = 0.9484	**R^2 = 0.9912**	**R^2 = 0.9901**
Yükseklik	y = 27.511x + 103.99	y = 83.349x + 94.636	y = 55.838x - 9.352
	R^2 = 0.9738	**R^2 = 0.9931**	**R^2 = 0.9901**
Yarı pik genişliği	y = 0.0082x + 0.0568	y = -0.0084x + 0.4715	y = -0.0166x + 0.4146
	R^2 = 0.8152	**R^2 = 0.8587**	**R^2 = 0.936**



Şekil 8.128. Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %60 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.115. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

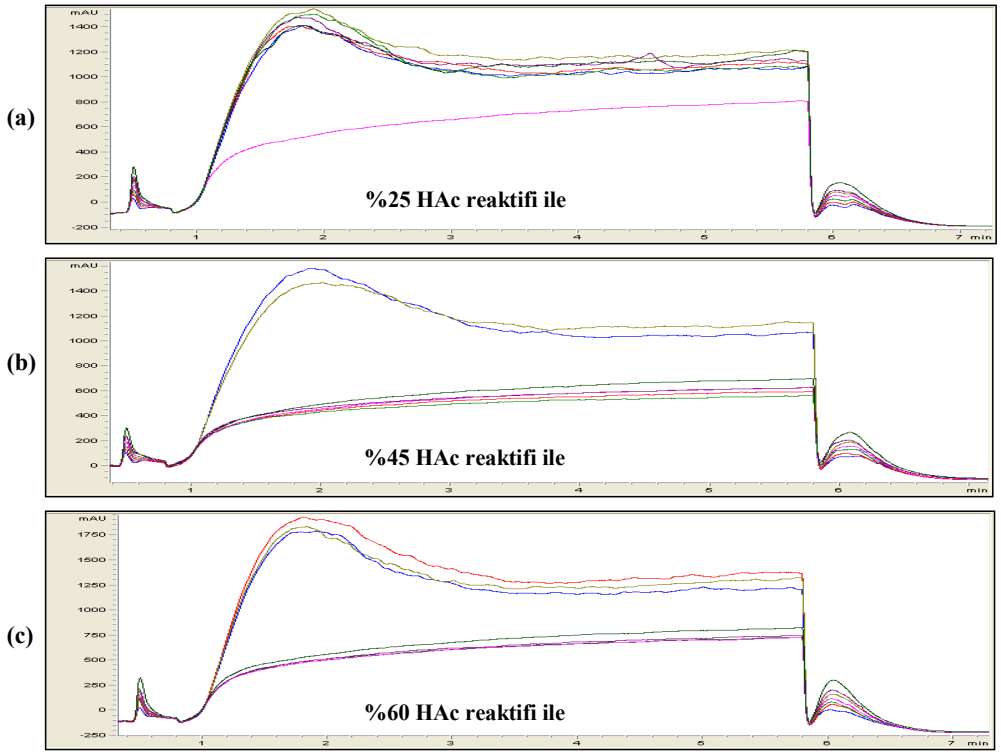
	SOYA YAĞI %60 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 397.13x - 305.46	y = 1955.7x + 2638	y = 1558.5x + 2943.5
	R^2 = 0.9728	**R^2 = 0.9969**	**R^2 = 0.9932**
Yükseklik	y = 55.463x - 27.309	y = 92.858x + 29.904	y = 37.395x + 57.213
	R^2 = 0.9747	**R^2 = 0.9945**	**R^2 = 0.9185**
Yarı pik genişliği	y = 0.0051x + 0.0646	y = -0.036x + 0.6514	y = -0.0411x + 0.5868
	R^2 = 0.6221	**R^2 = 0.8314**	**R^2 = 0.8287**

PV= 2.71 - 11.01 meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart soya yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen reaktif yüzdesi etkisi çalışmaları sonucunda; elde edilen piklerin (özellikle 2. pik dikkate alınmıştır) şekil & simetrileri ***(Şekil 8.124., Şekil 8.125.)*** ve piklerin alan, yükseklik ve yarı pik genişlikleri için

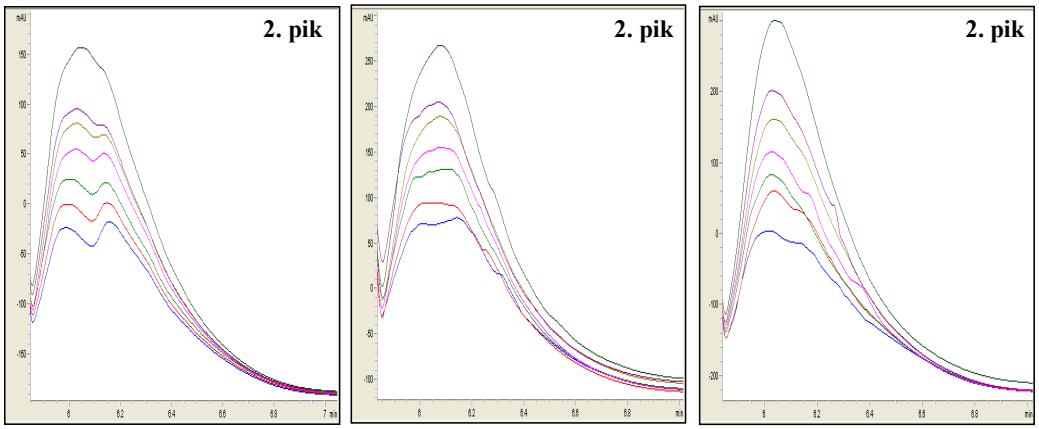
ayrı ayrı çizilen grafik denklemlerinden eğim değerleri ve regresyon katsayıları ***(Tablo 8.113., Tablo 8.114., Tablo 8.115.)*** göz önünde bulundurulduğunda; %60 HAc reaktifi ile elde edilen pik simetrilerinin, %25 ve %45 HAc reaktifleri ile elde edilenlere kıyasla daha iyi olduğu görülmüş ve farklı PV değerine sahip yağ numuneleri birbirlerinden yeterli ölçüde farklanmışlardır. Ayrıca hesaplanan regresyon katsayısı değeri de %60 HAc reaktifi ile yürütülen tayinde daha yüksek olarak elde edilmiştir. Bu sebeplerle; soya yağı ile yürütülen PV tayinleri için ayçiçek ve mısır yağları için tespit edilen değerden farklı olarak, %60 HAc reaktifini kullanmanın daha uygun olacağına karar verilmiştir.

- ***Kanola Yağı için Reaktif Yüzdesi Etkisinin İncelenmesi:***

Reaktif olarak %25 - %45 -%60 yüzdelerdeki asetik asit çözeltilerinin etkilerinin incelendiği çalışmalar; ***PV= 2.99 - 6.12*** meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart yağ numuneleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 8.129. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi

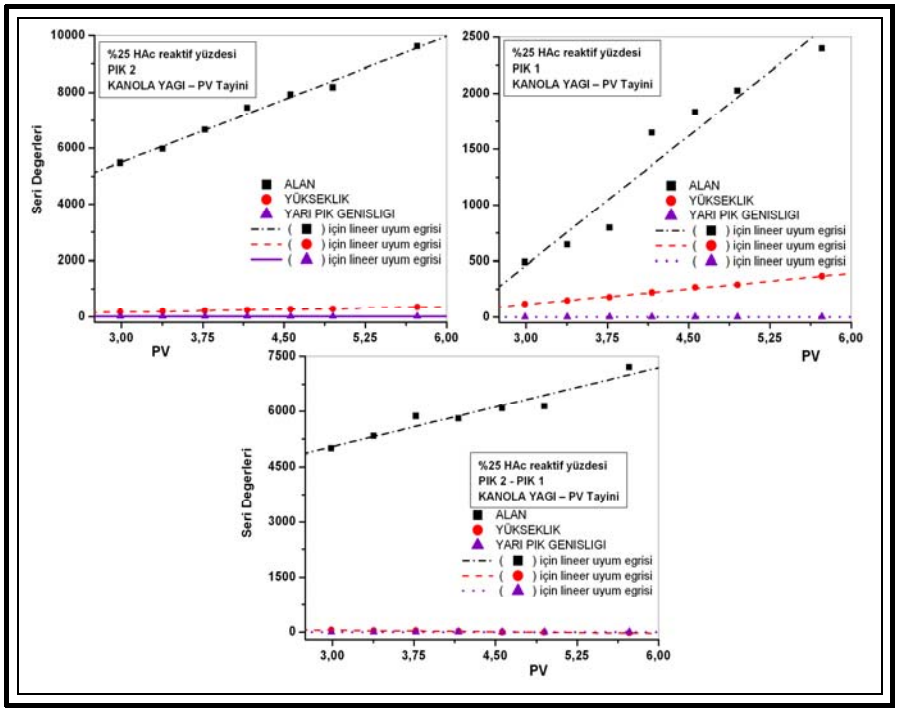


(a) **%25 HAc reaktifi ile** Kanola Yağı - PV Tayini

(b) **%45 HAc reaktifi ile** Kanola Yağı - PV Tayini

(c) **%60 HAc reaktifi ile** Kanola Yağı - PV Tayini

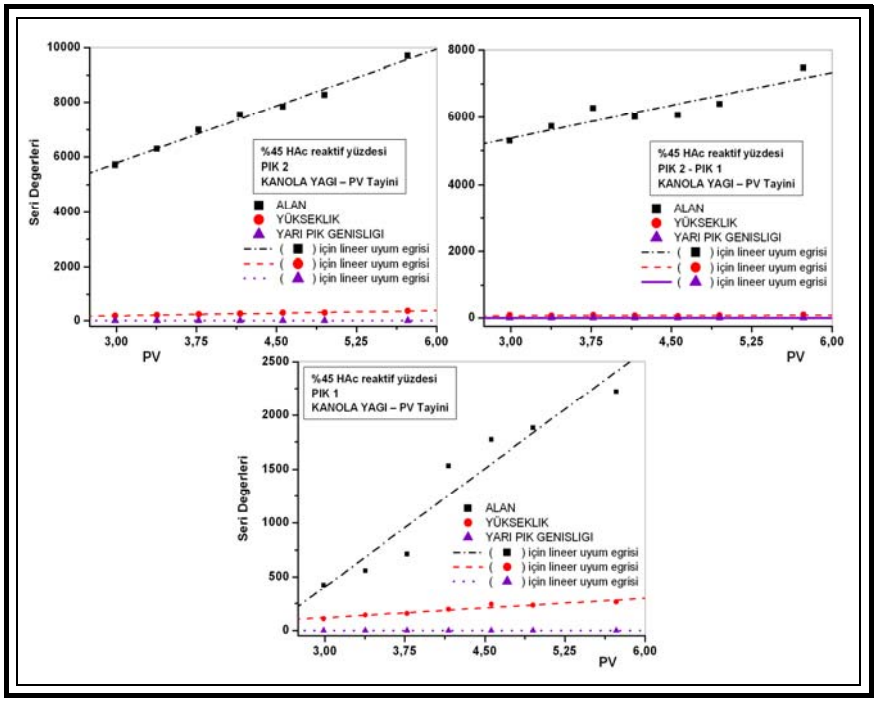
Şekil 8.130. PV Tayini Üzerine Reaktif Yüzdesi Etkisinin Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesinde Elde Edilen 2. Pikler **(a)** %25 HAc çözeltisi, **(b)** %45 HAc çözeltisi, **(c)** %60 HAc çözeltisi



Şekil 8.131. Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %25 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.116. %25 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

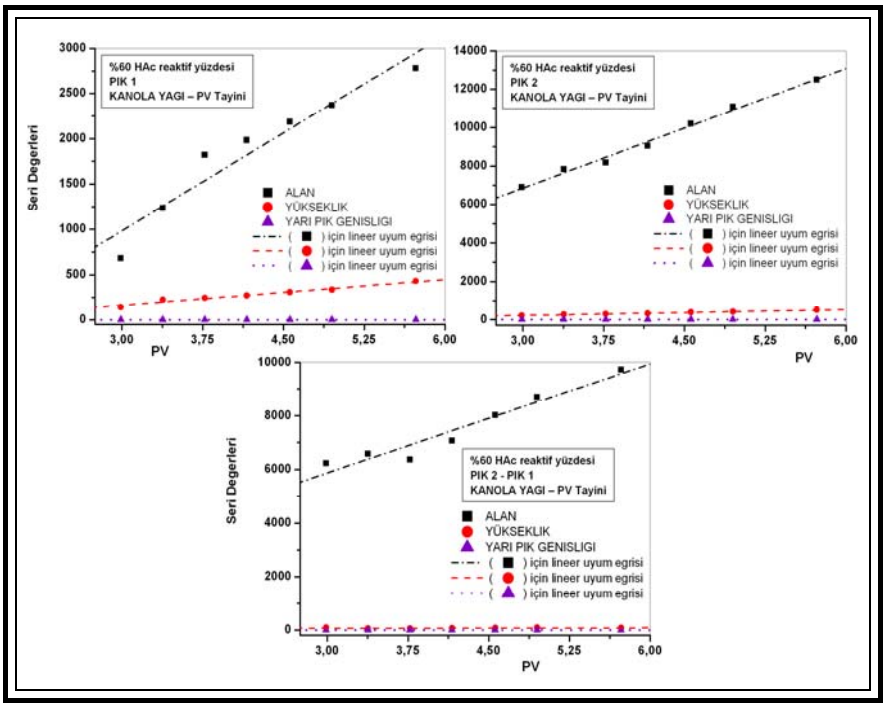
	KANOLA YAĞI %25 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 771.21x - 1850.4	y = 1492.7x + 1024.5	y = 721.46x + 2874.9
	R^2 = 0.9333	**R^2 = 0.99**	**R^2 = 0.9265**
Yükseklik	y = 92.312x - 162.57	y = 62.936x - 20.982	y = -29.376x + 141.59
	R^2 = 0.9959	**R^2 = 0.9933**	**R^2 = 0.9712**
Yarı pik genişliği	y = 0.0189x + 0.0172	y = -0.0259x + 0.6132	y = -0.0448x + 0.5959
	R^2 = 0.5666	**R^2 = 0.9739**	**R^2 = 0.8639**



Şekil 8.132. Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %45 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.117. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	KANOLA YAĞI %45 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 733.68x - 1796.2	y = 1390.2x + 1609.5	y = 656.56x + 3405.8
	R^2 = 0.921	**R^2 = 0.9892**	**R^2 = 0.8346**
Yükseklik	y = 59.553x - 60.559	y = 63.17x - 1.6097	y = 3.6167x + 58.95
	R^2 = 0.928	**R^2 = 0.9946**	**R^2 = 0.0492**
Yarı pik genişliği	y = 0.0323x - 0.031	y = -0.0261x + 0.5854	y = -0.0584x + 0.6164
	R^2 = 0.7998	**R^2 = 0.8725**	**R^2 = 0.8726**



Şekil 8.133. Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri Üzerine %60 HAc Reaktif Çözeltisinin Etkisinin İncelenmesi (LİNEER GRAFİK)
Taşıyıcı: n-propanol. Reaktif: %1 NaI (buzlu HAc içinde çözülmüş)
Reaksiyon Hücresi: 2 adet 1 mL`lik loop + kolon fırını içinde 50 µL loop.
Akış Hızı: 3 mL/dk
Numune Enjeksiyonu: 30 µL Reaktif // 40 µL Numune // 30 µL Reaktif

Tablo 8.118. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

	KANOLA YAĞI %60 HAc reaktif yüzdesi		
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 721.56x - 1182	y = 2082.4x + 600.27	y = 1360.8x + 1782.2
	R^2 = 0.9248	**R^2 = 0.9912**	**R^2 = 0.9348**
Yükseklik	y = 94.67x - 118.97	y = 100.41x - 71.758	y = 5.7445x + 47.217
	R^2 = 0.97	**R^2 = 0.9936**	**R^2 = 0.1648**
Yarı pik genişliği	y = 0.0098x + 0.0669	y = -0.0293x + 0.5745	y = -0.0391x + 0.5076
	R^2 = 0.2891	**R^2 = 0.8463**	**R^2 = 0.7153**

PV= 2.99 - 6.12 meq O_2/kg yağ aralığında PV değerine sahip standart kanola yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen reaktif yüzdesi etkisi çalışmaları sonucunda; elde edilen piklerin (özellikle 2. pik dikkate alınmıştır) şekil & simetrileri ***(Şekil 8.129., Şekil 8.130.)*** ve piklerin alan, yükseklik ve yarı pik genişlikleri için

ayrı ayrı çizilen grafik denklemlerinden eğim değerleri ve regresyon katsayıları ***(Tablo 8.116., Tablo 8.117, Tablo 8.118.)*** göz önünde bulundurulduğunda; %60 HAc reaktifi ile elde edilen pik simetrilerinin, %25 ve %45 HAc reaktifleri ile elde edilenlere kıyasla daha iyi olduğu görülmüş ve farklı PV değerine sahip yağ numuneleri birbirlerinden yeterli ölçüde farklanmışlardır. Ayrıca hesaplanan regresyon katsayısı değeri de %60 HAc reaktifi ile yürütülen tayinde daha yüksek olarak elde edilmiştir. Bu sebeplerle; kanola yağı ile yürütülen PV tayinleri için tıpkı soya yağında olduğu gibi, %60 HAc reaktifini kullanmanın daha uygun olacağına karar verilmiştir. PV tayini üzerine reaktif etkisinin incelendiği çalışmalar sonucunda; PV tayini gerçekleştirilen yağ türleri için uygunluğu tespit edilen reaktif yüzdeleri şöyledir:

- *ayçiçek yağı için*; ***%45 buzlu HAc***
- *mısır yağı için*; ***%45 buzlu HAc***
- *soya yağı için*; ***%60 buzlu HAc***
- *kanola yağı için*; ***%60 buzlu HAc***

Yukarıda belirtilen reaktif yüzdeleri, reaktiflerin PV tayinlerindeki etkinliğini karşılaştırmak amacıyla verilmiş, aslında diğer reaktiflerle de regresyon katsayıları oldukça yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Bu sebeple; tüm yağların PV tayinlerinde kullanılmak üzere eğer tek bir reaktif yüzdesi vermek gerekirse, tüm yağların reaksiyonunda etkili olabilecek en etkili yüzde değerinin %60 HAc olduğu görülmektedir. Çünkü; soya ve kanola yağlarının PV tayinlerinde, daha düşük reaktif yüzdeleri istenilen reaksiyonun oluşması için yeterli değildir. Böylece; tüm yağ cinsleri için kolaylıkla kullanılabilecek, olabildikçe basitleştirilmiş, etkili bir metot ve sistem ortaya konulmuştur.

8.6.2.5. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi

PV tayininde meydana gelmesi istenilen reaksiyonun oluşumunu ekili bir şekilde sağlamak amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda; deney şartları göz önünde bulundurularak farklı özellikte birçok reaksiyon hücresi sisteme adapte edilmiş ve PV tayini üzerine etkileri incelenmeye çalışılmıştır.

Reaksiyon öncesi ve sonrasında elde edilen piklerin alan, yükseklik ve yarı pik genişliklerine göre değerlendirmenin yapıldığı bir prodesüre göre gerçekleştirilen PV tayinlerinde; sisteme adapte edilen reaksiyon hücresi ya da hücrelerinin özellikleri ve adapte edileceği yer oldukça önem taşımaktadır.

PV tayini için gerçekleşmesi istenilen reaksiyonun yavaş cereyan etmesi sebebiyle; reaktif/numune/reaktif karışım meydana gelecek reaksiyondan önce dedektörden geçirilmiş, reaksiyon oluşumu için belli bir süre bekletildikten sonra ise; ters akım oluşturularak karışım dedektörden bir kez daha geçirilmiştir. Bu sebeple; PV tayinleri için gerekli reaksiyonun oluşumunda son derece etkili olan reaksiyon hücrelerinin adaptasyonu için, dedektör çıkışı uygun bulunmuştur.

PV tayinlerinin gerçekleştirildiği deneysel şartlara göre yürütülen deneyler sonucunda; 1`er mL`lik iki adet hücrenin dedektör çıkışına yerleştirilmesi uygun görülmüştür[(46)].

8.6.2.6. Reaksiyon süresi etkisi

Yağ analizleri arasında oldukça yavaş cereyan eden reaksiyonlardan birinin meydana geldiği PV tayinlerinde; reaksiyonun oluşması için uygun şartların sağlanması (karanlık ve oksijensiz bir ortam) ve reaksiyonu meydana getirecek karışımın bu uygun ortamda belli bir süre bekletilmesi gerekmektedir.

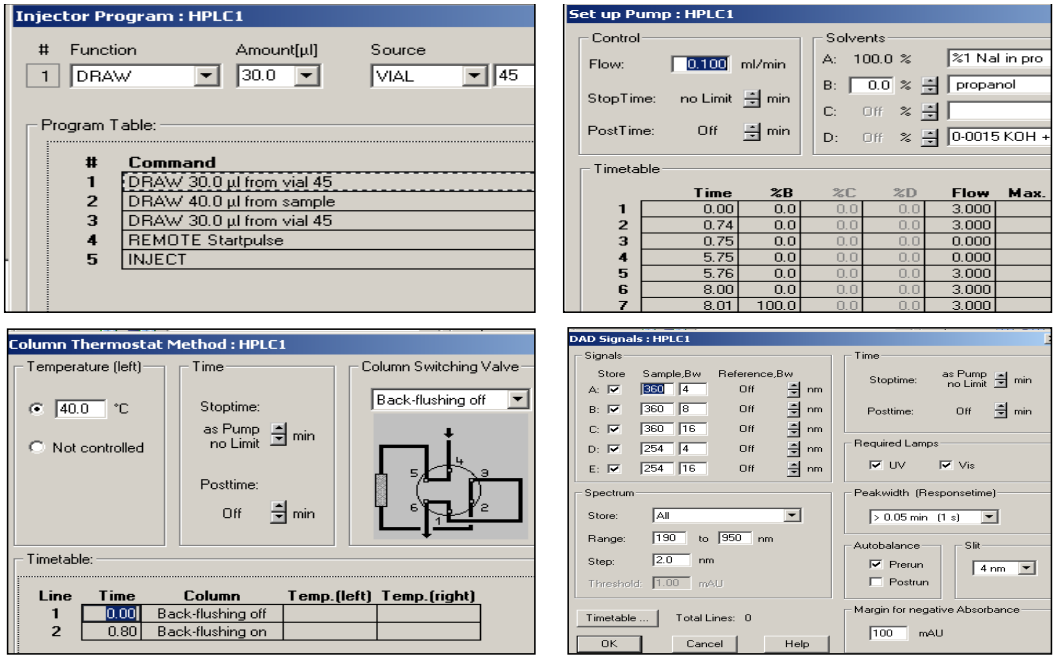
Modifiye HPLC sistemi kullanılarak gerçekleştirilen FIA deneylerinde; kullanılan bağlantı ekipmanları ve oluşturulan izolasyon sayesinde PV tayinleri için uygun ortam şartları kolaylıkla sağlanmış ve deneyler herhangi bir problemle karşılaşılmadan gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon oluşumu için uygun sürenin belirlenmesine yönelik yürütülen çalışmalarda ise; 3-5-10-15 dk gibi birçok bekletme süresinin PV tayinleri üzerine etkisi incelenmiş ve gerçekleştirilen deneyler sonucunda; istenilen reaksiyonun oluşumu için 5 dk bekleme süresinin uygun olduğuna karar verilmiştir. Çünkü; 5 dk`dan daha az bekleme süresinde, reaksiyon oluşumu istenilen ölçüde gerçekleşmemiş (dikdörtgen şeklinde pikler elde edilmiştir), 5 dk`dan daha fazla bekleme sürelerinde ise, zamandan kaybedilmiştir.

---

(46) Reaksiyondan sonra numune geri çekilerek tekrar okutulacağı için, reaksiyon hücresi reaktif/numune/reaktif-taşıyıcı faz hacmini aşmayacak bir ölçüde olmalıdır. Tayinlerde akış hızının 3mL/dk olduğu düşünüldüğünde dedektör çıkışına yerleştirilen 2 mL`lik loop`un reaksiyon için yeterli olacağı aşikardır.

8.6.2.7. Sıcaklık etkisi

PV tayinleri üzerine sıcaklık etkisinin incelendiği çalışmalar sonucunda; tıpkı %FFA tayinlerinde olduğu gibi, 40°C uygun sıcaklık değeri olarak belirlenmiştir. 40°C`den daha düşük sıcaklıklarda reaksiyon oluşumu istenilen ölçüde gerçekleşmemiş, 40°C`den daha yüksek sıcaklık değerlerinde ise elde edilen piklerin alan, yükseklik değerleri azaldığı için, farklı PV değerine sahip yağ numunelerinin tayininde kullanılabilir sonuçlar alınamamıştır.



Şekil 8.134. PV Tayinlerinin Gerçekleştirilmesinde Kullanılan Sistem Programlaması

8.6.3. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen PV Çalışmaları

Otomatik enjeksiyonlu PV tayinleri için; standart mısır yağı numuneleri ile gerçekleştirilen optimizasyon deneylerinden tespit edilen parametre değerlerinin kullanılmasıyla ayçiçek, soya ve kanola yağları üzerinde de PV çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmaların gerçekleştirildiği optimize deney şartları aşağıda sıralanmıştır:

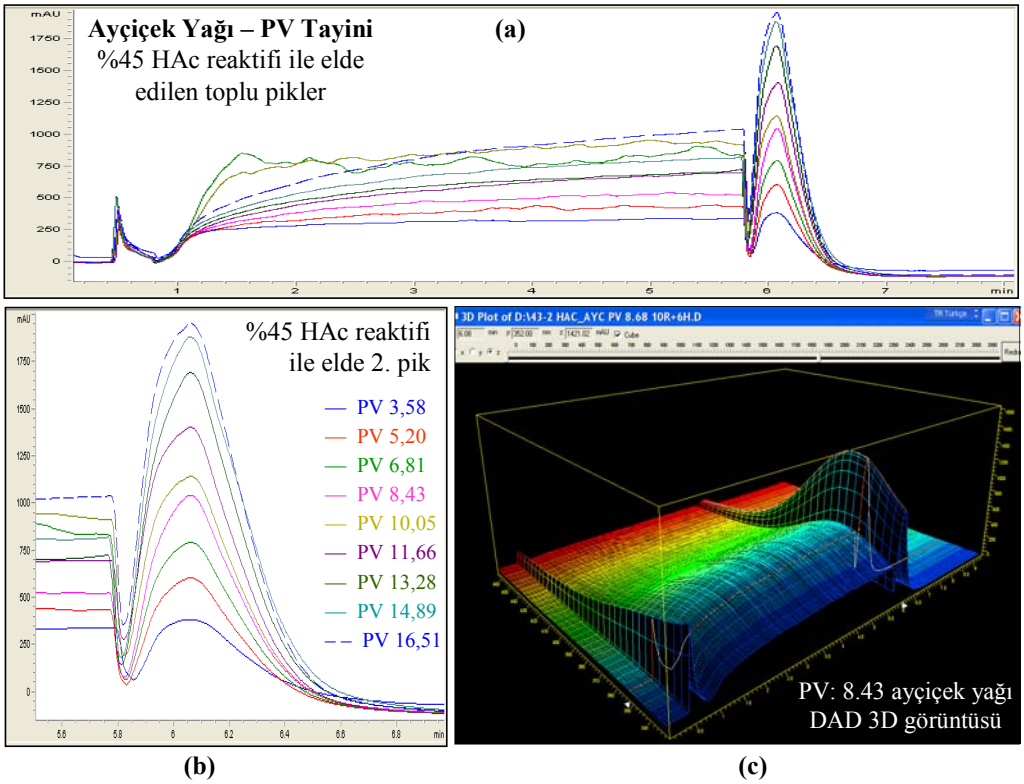
- taşıyıcı faz: ***n-propanolde çözülmüş %1`lik NaI çözeltisi***
- taşıyıcı faz akış hızı: ***3 mL/dk***
- numune ve reaktif hacmi: ***30µL reaktif / 40µL numune / 30µL reaktif***
- dalga boyu: 360 nm
- enjeksiyonda ön karıştırma: ***yok***

- reaktif yüzdesi: ***%25 - %45 - %60 HAc (n-propanolde çözülmüş)***
- reaksiyon hücresi: ***50 µL loop*** *(kolon fırını içinde. Sarmal, 0.51 mm i.d.)* ***+ 1`er mL iki adet loop*** *(dedektör çıkışında, 0.76 mm i.d.)*
- sıcaklık: ***40 °C***
- dedektör: ***DAD dedektör***
- süre: ***5 dk***

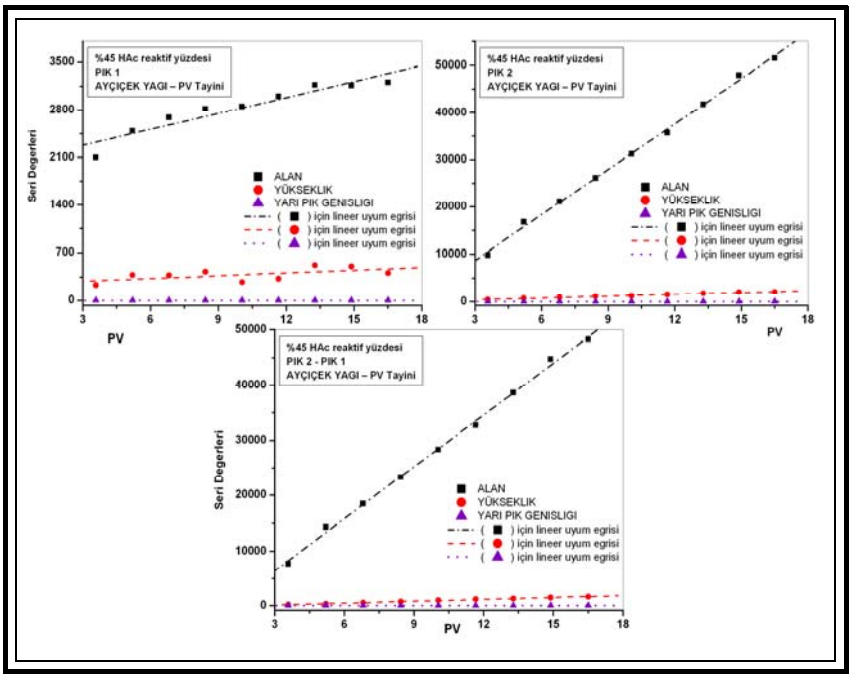
Bazı bitkisel yağlar için gerçekleştirilen PV tayinleri:

PV tayinlerini gerçekleştirmede kullanılan bitkisel yağlar, optimizasyon deneylerinde kullanılan numuneler gibi standart yağ numuneleri olup, bu numuneler kullanılarak gerçekleştirilen tayinlerden elde edilen veriler ile her bir yağ için kalibrasyon grafiği oluşturulmuş ve bu grafikler PV değerleri bilinmeyen yağların PV içeriklerini tespit etmede kullanılmıştır ***(****Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı..* ***- Şekil 8.133.*** arasında yer alan şekiller ve ***Tablo 8.107., - Tablo 8.118.*** arasında yer alan tablolar incelenebilir).

- ***Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile PV Tayini:***



Şekil 8.135. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** PV: 8.43 ± 5.05x10^{-3} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.136. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri

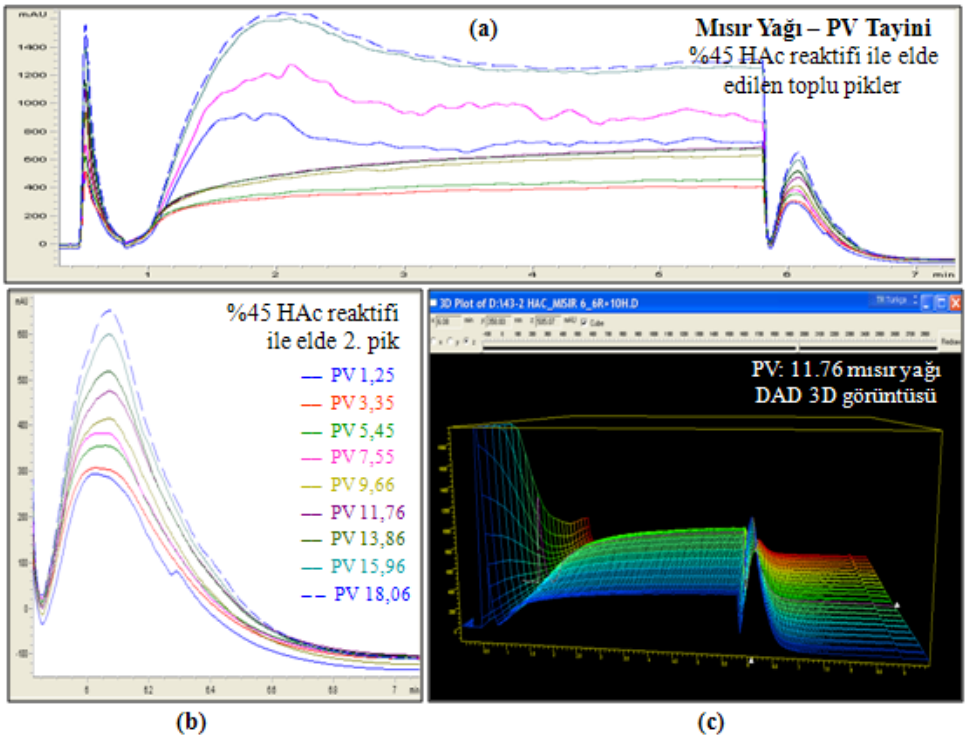
Tablo 8.119. %45 HAc Çözeltisi Kullanılarak Ayçiçek Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen Piklere Ait Veriler

		Ayçiçek Yağı %45 HAc reaktif yüzdesi PİK 1				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
3.58	0.503	2100.6	228.4	0.1223	1.959	0.203
5.20	0.501	2486.2	375.7	0.0862	1.713	0.233
6.81	0.500	2686.6	372	0.0963	1.021	0.22
8.43	0.502	2811.9	425.6	0.0881	1.595	0.24
10.05	0.502	2850.0	273.2	0.1198	0.852	0.188
11.66	0.503	3000.0	322.8	0.116	1.298	0.198
13.28	0.501	3167.8	519.2	0.0822	1.407	0.259
14.89	0.502	3162.8	503.2	0.0833	1.246	0.244
16.51	0.500	3203.9	406.3	0.109	1.078	0.192

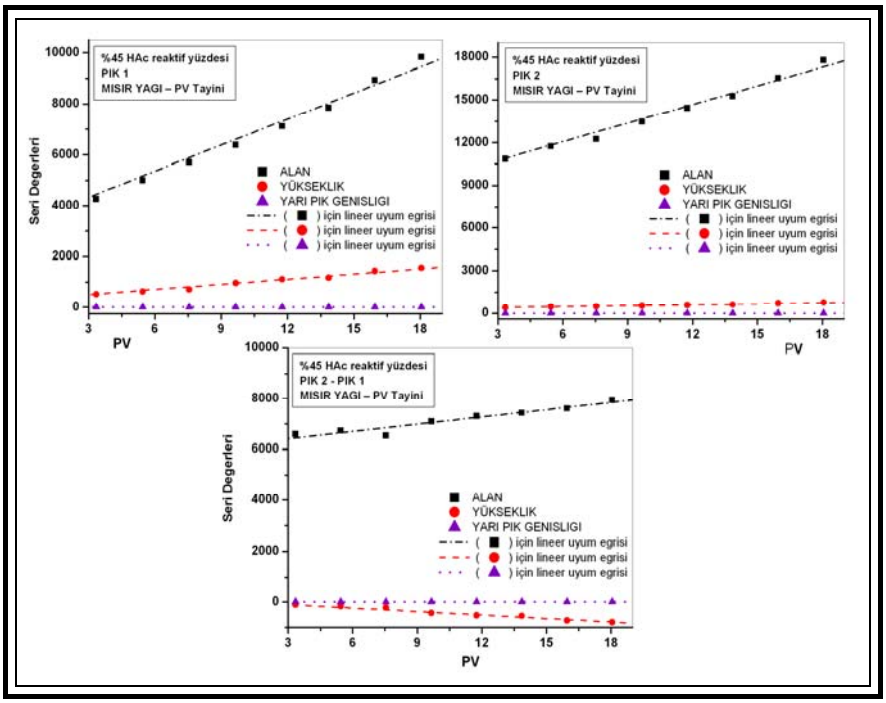
		Ayçiçek Yağı %45 HAc reaktif yüzdesi PİK 2				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
3.58	6.062	9793.9	401.1	0.3599	9.135	0.58
5.20	6.081	16748.1	702.2	0.3532	11.54	0.662
6.81	6.082	21150.4	892.4	0.3505	8.041	0.679
8.43	6.084	26119.0	1139.5	0.3404	14.815	0.694
10.05	6.078	31200.0	1242	0.311	10.336	0.785
11.66	6.076	35708.5	1503.3	0.3071	16.579	0.806
13.28	6.089	41783.6	1783.4	0.3063	18.553	0.731
14.89	6.087	47899.3	1971.2	0.3155	18.872	0.693
16.51	6.076	51500.0	2041.6	0.3121	16.485	0.786

Ayçiçek Yağı %45 HAc reaktif yüzdesi PİK 2 – PİK 1			
PV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
3.58	7693.3	172.7	0.238
5.20	14261.9	326.5	0.267
6.81	18463.8	520.4	0.2542
8.43	23307.1	713.9	0.2523
10.05	28350.0	968.8	0.1912
11.66	32708.5	1180.5	0.1911
13.28	38615.8	1264.2	0.2241
14.89	44736.5	1468	0.2322
16.51	48296.1	1635.3	0.2031

- ***Standart Mısır Yağı Numuneleri ile PV Tayini:***



Şekil 8.137. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** PV: 11.76 ± 0.14 Olan Mısır Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.138. %45 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri

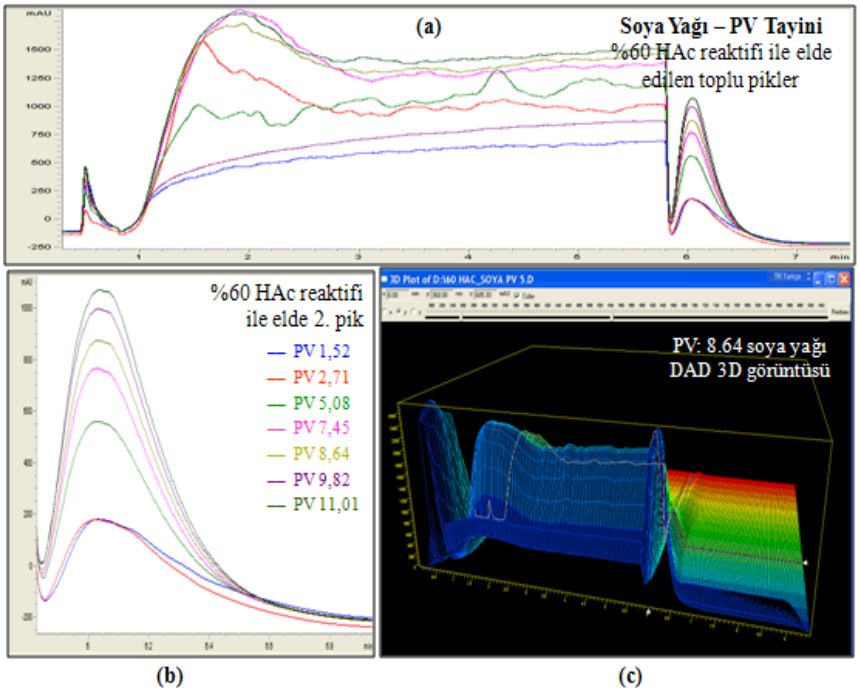
Tablo 8.120. %45 HAc Çözeltisi Kullanılarak Mısır Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen Piklere Ait Veriler

		Mısır Yağı %45 HAc reaktif yüzdesi PİK 1				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
1.25	0.507	4380.5	513.9	0.1421	1.783	0.261
3.35	0.504	4256.9	521.6	0.136	3.142	0.233
5.45	0.502	4994.1	626.8	0.1328	4.296	0.234
7.55	0.500	5703.7	711.7	0.1336	2.108	0.211
9.66	0.501	6380.7	962.1	0.1105	3.287	0.255
11.76	0.498	7111.9	1105.2	0.1073	3.53	0.262
13.86	0.499	7845.6	1171.8	0.1116	5.928	0.243
15.96	0.499	8927.2	1435.2	0.1037	2.592	0.258
18.06	0.500	9835.9	1563.8	0.1048	2.726	0.262

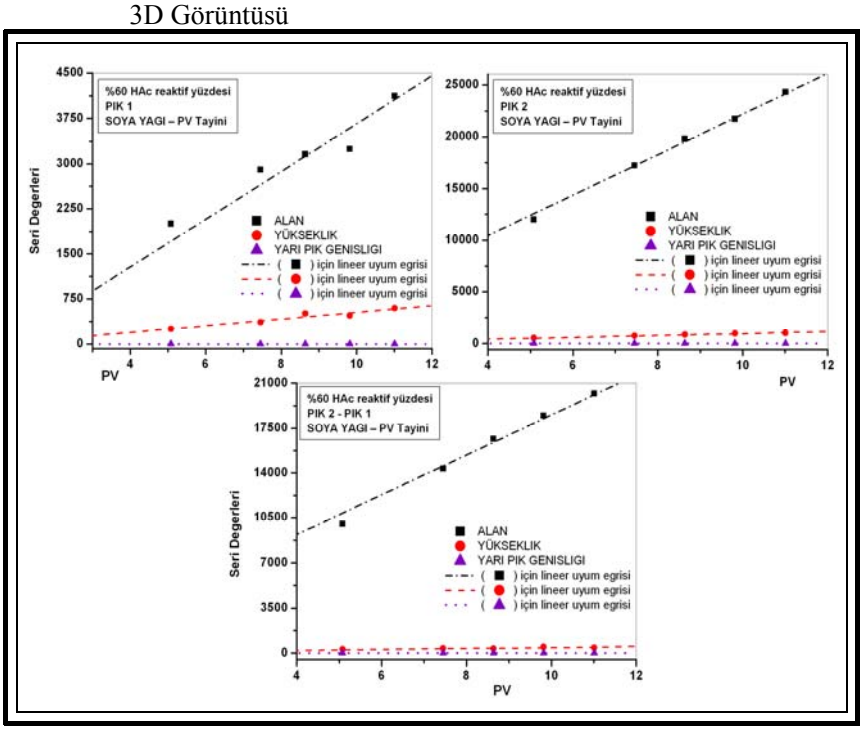
		Mısır Yağı %45 HAc reaktif yüzdesi PİK 2				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
1.25	6.025	10612	429.1	0.4122	4.397	0.39
3.35	6.027	10853.8	417.0	0.4338	8.232	0.418
5.45	6.060	11722.3	458.4	0.4262	10.383	0.586
7.55	6.040	12238.9	491.3	0.4152	4.871	0.492
9.66	6.069	13466.9	536.8	0.4181	7.457	0.607
11.76	6.072	14413.9	577.1	0.4162	7.389	0.595
13.86	6.068	15275.8	625.2	0.4073	12.232	0.606
15.96	6.069	16536.2	707.8	0.3894	4.869	0.597
18.06	6.070	17783.2	759.7	0.3901	5.014	0.598

Mısır Yağı %45 HAc reaktif yüzdesi PİK 2 – PİK 1			
PV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
1.25	6231.5	-84.8	0.2701
3.35	6596.9	-104.6	0.2978
5.45	6728.2	-168.4	0.2934
7.55	6535.2	-220.4	0.2816
9.66	7086.2	-425.3	0.3076
11.76	7302.0	-528.1	0.3089
13.86	7430.2	-546.6	0.2957
15.96	7609.0	-727.4	0.2857
18.06	7947.3	-804.1	0.2853

- ***Standart Soya Yağı Numuneleri ile PV Tayini:***



Şekil 8.139. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** PV: $8.64 \pm 2.71 \times 10^{-2}$ Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



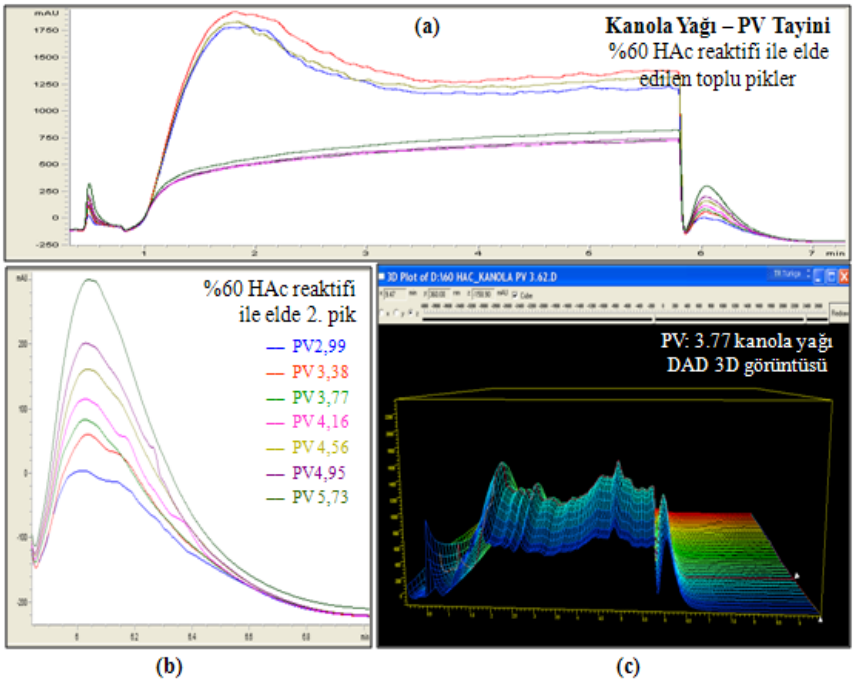
Şekil 8.140. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri

Tablo 8.121. %60 HAc Çözeltisi Kullanılarak Soya Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen Piklere Ait Veriler

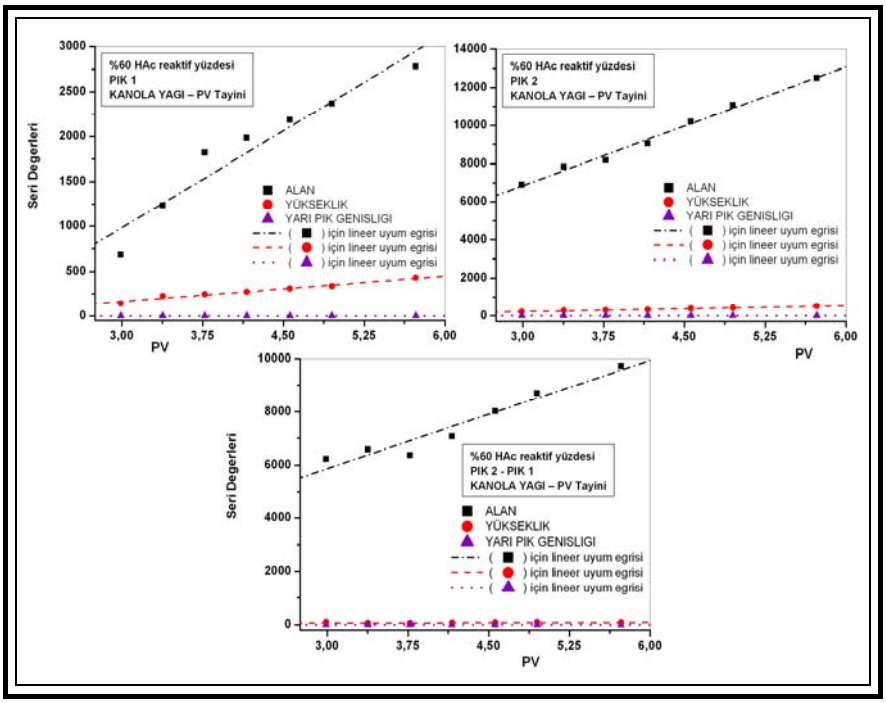
		Soya Yağı %60 HAc reaktif yüzdesi PİK 1				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
1.52	0.526	302.9	70.0	0.0721	0.329	0.642
2.71	0.526	493.6	111.7	0.0736	0.624	0.553
5.08	0.526	2000.0	252.0	0.0812	0.542	0.541
7.45	0.498	2898.8	359.7	0.1343	0.799	0.191
8.64	0.500	3157.3	506.5	0.1039	0.774	0.268
9.82	0.500	3246.8	472.8	0.1145	2.111	0.248
11.01	0.526	4120.0	600.0	0.11	0.753	0.823
		Soya Yağı %60 HAc reaktif yüzdesi PİK 2				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
1.52	6.125	6220.7	158.7	0.6533	6.876	0.54
2.71	5.982	7572.4	261.8	0.482	9.541	0.247
5.08	6.025	12000.0	532.0	0.532	5.123	0.235
7.45	6.027	17225.7	730.3	0.3152	4.745	0.418
8.64	6.040	19811.4	857.1	0.3067	4.858	0.436
9.82	6.034	21727.3	948.9	0.3061	14.124	0.44
11.01	6.027	24312.0	1013.0	0.302	4.536	0.45

Soya Yağı %60 HAc reaktif yüzdesi PİK 2 – PİK 1			
PV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
1.52	5917.8	88.7	0.5812
2.71	7078.8	150.1	0.4084
5.08	10000.0	280.0	0.4508
7.45	14326.9	370.6	0.1809
8.64	16654.1	350.6	0.2028
9.82	18480.5	476.1	0.1916
11.01	20192.0	413.0	0.192

- ***Standart Kanola Yağı Numuneleri ile PV Tayini:***



Şekil 8.141. n-propanol Taşıyıcı Fazı Kullanılarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** PV: 3.77 ± 2.15x10^{-3} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.142. %60 HAc Reaktif Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri

Tablo 8.122. %60 HAc Çözeltisi Kullanılarak Kanola Yağı ile Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Elde Edilen Piklere Ait Veriler

		Kanola Yağı %60 HAc reaktif yüzdesi PİK 1				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
2.99	0.496	680.3	143.2	0.0792	0.159	0.402
3.38	0.498	1233.8	228.3	0.0901	0.263	0.293
3.77	0.498	1817.3	244.5	0.1239	0.975	0.222
4.16	0.491	1981.3	273.2	0.1209	1.397	0.184
4.56	0.490	2181.7	307.9	0.1181	0.488	0.179
4.95	0.494	2366.1	335.6	0.1175	1.352	0.211
5.73	0.503	2778.8	430.8	0.1075	1.069	0.294
		Kanola Yağı %60 HAc reaktif yüzdesi PİK 2				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
2.99	6.022	6903.5	226.8	0.5074	1.686	0.335
3.38	6.036	7821.5	281.4	0.4633	1.716	0.37
3.77	6.027	8180.7	303.1	0.4498	4.526	0.366
4.16	6.030	9045.3	336.5	0.448	7.065	0.381
4.56	6.039	10193.6	382.5	0.4441	2.278	0.405
4.95	6.030	11067.2	424.2	0.4348	6.48	0.384
5.73	6.038	12498.1	509.2	0.4091	4.95	0.424

Kanola Yağı %60 HAc reaktif yüzdesi PİK 2 – PİK 1			
PV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
2.99	6223.2	83.6	0.4282
3.38	6587.7	53.1	0.3732
3.77	6363.4	58.6	0.3259
4.16	7064.0	63.3	0.3271
4.56	8011.9	74.6	0.326
4.95	8701.1	88.6	0.3173
5.73	9719.3	78.4	0.3016

8.6.4. PV tayini için FIA metodunun valide edilmesi

Standart yağ numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen metot geliştirme ve optimizasyon çalışmalarının ardından; PV tayinleri için geliştirilen FIA metodunun kullanılabilirliğini ve performansını kanıtlamak amacıyla validasyon çalışmalarına başlanmıştır.

FIA ile PV tayinine ilişkin validasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır:

PV Tayini için FIA Metodunun Doğruluğu:

PV tayini için FIA metodunun doğruluğunun test edilmesinde; kalibrasyon eğrisinin aralıklarını kapsayan ve PV değerleri 3.58-10.05-16.51 ± $5.05x10^{-3}$ olan ayçiçek yağı numuneleri kullanılmış, beş tekrarlı deneylerden elde edilen sonuçların ortalamaları (X_i) ve gerçek PV değerleri (X_t) baz alınarak hesaplanan bağıl hata (E_r) yardımıyla, FIA metodunun PV tayini için doğruluğu tespit edilmeye çalışılmıştır.

- ***PV Tayinleri için;***

- PV: 3.58 ± $5.05x10^{-3}$ olan ayçiçek yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; X_i= 3.5392 (N=5)

$$\textbf{Bağıl Hata } (E_r): \quad E_r = \frac{3.5392 - 3.5800}{3.5800} x100 \longrightarrow E_r = 1.14$$

- PV: 10.05 ± $5.05x10^{-3}$ olan ayçiçek yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; X_i= 10.2414 (N=5)

$$\textbf{Bağıl Hata } (E_r): \quad E_r = \frac{10.2414 - 10.0500}{10.0500} x100 \longrightarrow E_r = 1.90$$

- PV: 16.51 ± $5.05x10^{-3}$ olan ayçiçek yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; X_i= 16.6208 (N=5)

$$\textbf{Bağıl Hata } (E_r): \quad E_r = \frac{16.6208 - 16.5100}{16.5100} x100 \longrightarrow E_r = 0.67$$

olarak bulunmuştur. Tekrarlı deneyler sonucunda ölçülen ortalama değer, gerçek değerin ± %5 sınırı içinde olduğu için, PV tayinleri için FIA metodunun doğruluğu kanıtlanmıştır.

PV Tayini için Kesinlik ve Tekrarlanabilirlik:

PV tayini için FIA metodunun kesinliğini test etmek için; farklı PV değerine sahip yağ numuneleri kullanılmış ve beş tekrarlı deneylerle ardı ardına üç gün

boyunca analiz edilen numune için elde edilen sinyaller istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Kesinliğin ölçüsü olan tekrarlanabilirliğin hesaplanmasında; standart sapma (s), bağıl standart sapma (RSD), varyans (s^2) ve varyasyon katsayısı (CV) terimleri kullanılmış, ayrıca her bir seri değeri için güven aralıkları (p: 0.05) belirlenmiştir.

PV tayinleri için gün içi ve günler arası hesaplanan istatistiksel veriler ***Tablo 8.123. - Tablo 8.126.*** arasında yer almaktadır.

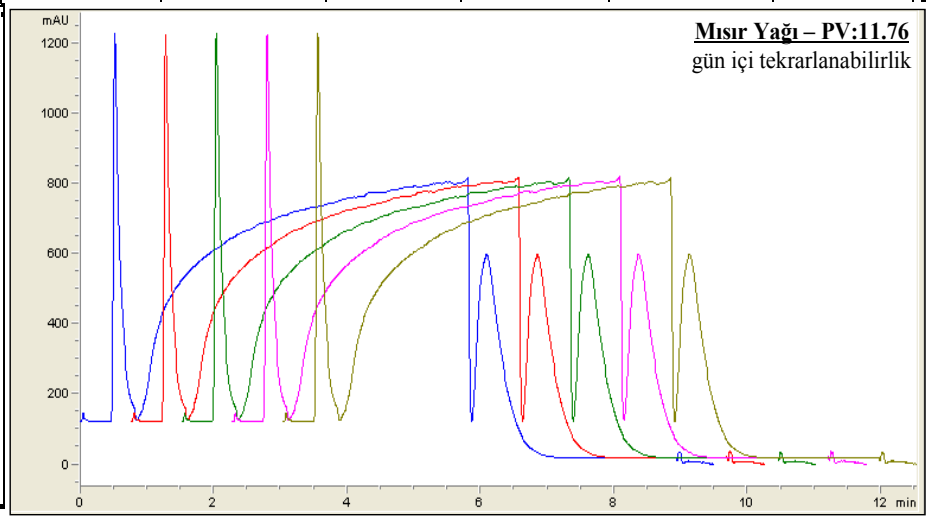
Kesinliğin ölçüsü olan tekrarlanabilirliğin tespitinde kullanılan yağ numuneleri aşağıda listelenmiştir:

- mısır yağı ile PV tayini için: PV: 11.76 ± 0.14
- ayçiçek yağı ile PV tayini için: PV: $8.43 \pm 5.05 \times 10^{-3}$
- soya yağı ile PV tayini için: PV: $9.82 \pm 2.71 \times 10^{-2}$
- kanola yağı ile PV tayini için: PV: $3.77 \pm 2.15 \times 10^{-3}$

Tablo 8.123. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla PV: 11.76 ± 0.14 olan Mısır Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Mısır Yağı_PV Tayini için İstatistiksel Değerler PV: 11.76 ± 0.14	Gün İçi Kesinlik								
	1. gün (n=5)			2. gün (n=5)			3. gün (n=5)		
	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
Ortalama ($\bar{x}$)	14536.94	580.74	0.42	14016.60	569.64	0.39	14820.38	583.22	0.42
Standart Sapma (s)	86.61	2.06	0.00	254.50	6.18	0.04	128.81	3.15	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	5.96	3.54	3.84	18.16	10.85	106.47	8.69	5.41	4.31
Standart Hata (SEM)	38.73	0.92	0.00	113.82	2.76	0.02	57.60	1.41	0.00
Varyans (s^2)	7501.90	4.23	0.00	64770.13	38.22	0.00	16590.86	9.95	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.60	0.35	0.38	1.82	1.09	10.65	0.87	0.54	0.43
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 82.51	± 1.96	± 0.00	± 242.43	± 5.89	± 0.04	± 122.70	± 3.00	± 0.00

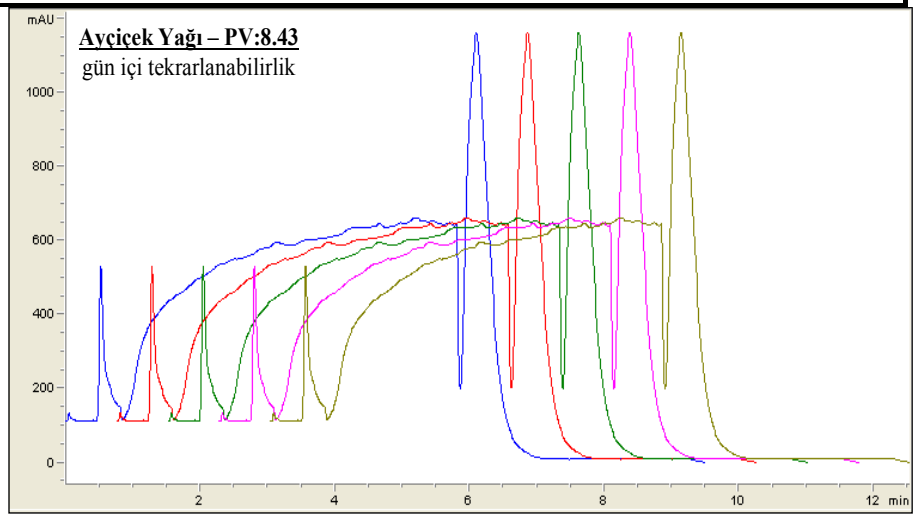
	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
Ortalama ($\bar{\bar{x}}$)	14457.97	577.87	0.41
Standart Sapma (s)	379.60	7.23	0.03
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	26.26	12.52	64.16
Standart Hata (SEM)	98.01	1.87	0.01
Varyans (s^2)	144098.23	52.33	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	2.63	1.25	6.42
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 361.60	± 6.89	± 0.03



Tablo 8.124. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla PV: 8.43 ± 5.05x10-3 olan Ayçiçek Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Ayçiçek Yağı_PV Tayini için İstatistiksel Değerler PV: 8.43 ± 5.05x10^{-3}	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	26550.04	1147.66	0.38	25651.16	1075.96	0.37	26493.20	1149.64	0.38
Standart Sapma (s)	272.34	5.77	0.02	192.38	3.30	0.00	170.16	2.78	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	10.26	5.03	54.65	7.50	3.07	5.47	6.42	2.41	4.30
Standart Hata (SEM)	121.79	2.58	0.01	86.03	1.48	0.00	76.10	1.24	0.00
Varyans (s^2)	74167.57	33.34	0.00	37009.20	10.92	0.00	28953.09	7.71	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	1.03	0.50	5.46	0.75	0.31	0.55	0.64	0.24	0.43
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 259.42	± 5.50	± 0.02	± 183.25	± 3.15	± 0.00	± 162.08	± 2.64	± 0.00

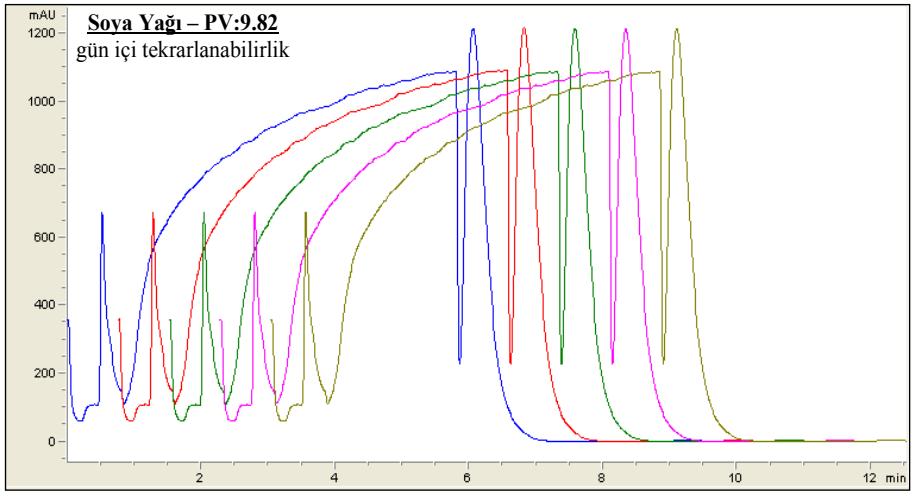
	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	26231.47	1124.42	0.38
Standart Sapma (s)	470.13	35.69	0.01
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	17.92	3.17	3.57
Standart Hata (SEM)	121.39	9.21	0.00
Varyans (s^2)	221018.94	1273.60	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	1.79	31.74	35.72
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 447.83	± 33.99	± 0.01



Tablo 8.125. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla PV: 9.82 ± 2.71x10-2 olan Soya Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Soya Yağı_PV Tayini için İstatistiksel Değerler PV: 9.82 ± 2.71x10^{-2}	Gün İçi Kesinlik								
	1. gün (n=5)			2. gün (n=5)			3. gün (n=5)		
	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
Ortalama ($\bar{x}$)	22316.54	963.72	0.37	22572.86	963.82	0.39	22063.82	954.90	0.39
Standart Sapma (s)	462.25	11.13	0.04	234.21	4.39	0.00	523.59	14.71	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	20.71	11.55	97.91	10.38	4.55	5.92	23.73	15.41	10.89
Standart Hata (SEM)	206.73	4.98	0.02	104.74	1.96	0.00	234.16	6.58	0.00
Varyans (s^2)	213678.67	123.92	0.00	54852.17	19.26	0.00	274149.83	216.50	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	2.07	1.16	9.79	1.04	0.46	0.59	2.37	1.54	1.09
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 440.33	± 10.60	± 0.03	± 223.10	± 4.18	± 0.00	± 498.76	± 14.02	± 0.00

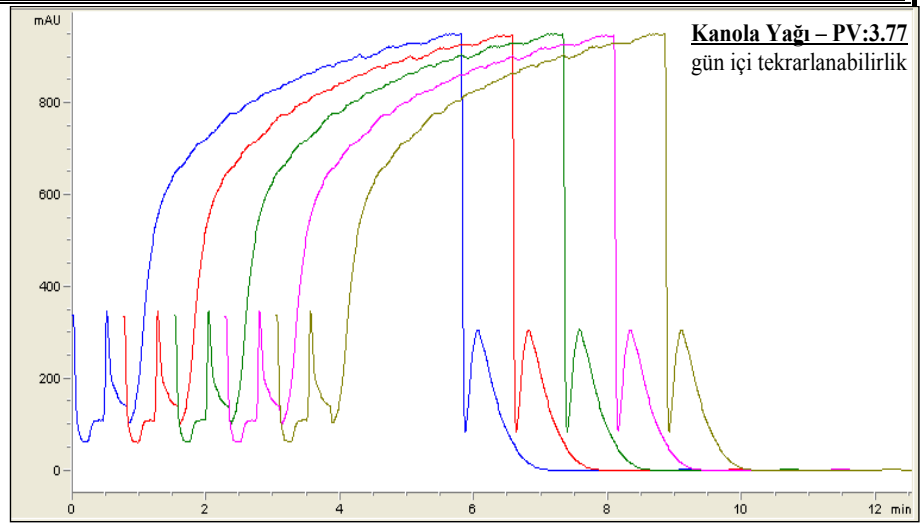
	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	Yükseklik	Yarı Pik Genişliği
Ortalama ($\bar{x}$)	22317.74	960.81	0.38
Standart Sapma (s)	448.69	2.85	0.02
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	20.10	11.47	55.87
Standart Hata (SEM)	115.85	2.85	0.01
Varyans (s^2)	201324.13	121.50	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	2.01	1.15	5.59
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 427.41	± 10.50	± 0.02



Tablo 8.126. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla PV: 3.77 ± 2.15x10^{-3} olan Kanola Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Kanola Yağı_PV Tayini için İstatistiksel Değerler PV: 3.77 ± 2.15x10^{-3}	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	12784.38	529.60	0.32	12790.90	528.40	0.32	12792.70	530.00	0.32
Standart Sapma (s)	9.82	16.77	0.00	6.27	4.67	0.00	4.11	3.74	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	0.77	31.67	1.16	0.49	8.84	2.66	0.32	7.06	2.05
Standart Hata (SEM)	4.39	7.50	0.00	2.81	2.09	0.00	1.84	1.67	0.00
Varyans (s^2)	96.46	281.30	0.00	39.37	21.80	0.00	16.92	14.00	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.08	3.17	0.12	0.05	0.88	0.27	0.03	0.71	0.20
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 9.36	± 15.98	± 0.00	± 5.98	± 4.45	± 0.00	± 3.92	± 3.56	± 0.00

	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	12789.33	529.33	0.32
Standart Sapma (s)	7.57	9.54	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	0.59	18.03	2.40
Standart Hata (SEM)	1.96	2.46	0.00
Varyans (s^2)	57.33	91.10	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.06	1.80	0.24
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 7.21	± 9.09	± 0.00



PV Tayini için Tayin Limiti (LOD) ve Ölçüm Limit (LOQ):

FIA ile PV tayinlerinden elde edilen sonuçlar, %FFA tayinlerinden elde edilenlerin tersine, tıpkı diğer yöntemlerde olduğu gibi; artan konsantrasyon değerleri ile artış gösteren sinyaller şeklinde gözlenmiştir. Bu sebeple; PV tayinleri için belirlenecek LOD değerinin, kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk değerlerine bağlı olarak tayin edilebilecek en düşük konsantrasyon değeri olması gerekmektedir.

FIA yöntemi ile PV tayini için LOD ve LOQ hesaplanmasında; PV çalışmalarında kullanılan her bir yağ numunesi için oluşturulan kalibrasyon grafikleri kullanılmış (Alan-PV) ve grafik denklemlerinin eğim, kesim değerleri ile denklem için hesaplanan varyasyon katsayısı (CV) değerleri kullanılarak alanların ardından da PV değerlerinin standart sapmaları hesaplanmıştır. Hesaplanan standart sapma değerlerinin 3 katına tekabül eden PV değerleri LOD değeri (3*s), standart sapma değerlerinin 10 katına tekabül eden PV değerleri ise, LOQ değeri (10*s) olarak kabul edilmiştir.

FIA ile PV tayinleri için LOD ve LOQ değerlerinin tespitinde kullanılan yağ numuneleri aşağıda listelenmiştir:

- mısır yağı ile PV tayini için ⟶ PV: 1.25 ± 0.14
- ayçiçek yağı ile PV tayini için ⟶ PV: $3.58 \pm 5.05 \times 10^{-3}$
- soya yağı ile PV tayini için ⟶ PV: $1.52 \pm 2.71 \times 10^{-2}$
- kanola yağı ile PV tayini için ⟶ PV: $2.99 \pm 2.15 \times 10^{-3}$

PV tayinleri için hesaplanan LOD ve LOQ değerleri şöyledir:

- ***Mısır Yağı ile PV Tayini için LOD ve LOQ;***
  - ***LOD= 0.47*** meq O_2/kg yağ
  - ***LOQ= 1.42*** meq O_2/kg yağ
- ***Ayçiçek Yağı ile PV Tayini için LOD ve LOQ;***
  - ***LOD= 1.67×10^{-2}*** meq O_2/kg yağ
  - ***LOQ= 5.05×10^{-2}*** meq O_2/kg yağ
- ***Soya Yağı ile PV Tayini için LOD;***
  - ***LOD= 8.95×10^{-2}*** meq O_2/kg yağ
  - ***LOQ= 0.27*** meq O_2/kg yağ

- ***Kanola Yağı ile PV Tayini için LOD;***

- ***LOD= 7.09x10^{-3}*** meq O_2/kg yağ
- ***LOQ= 2.15x10^{-2}*** meq O_2/kg yağ

PV Tayini için FIA Metodunun Seçiciliği/Spesifikliği:

PV metodunun seçiciliğini artırmak için öncelikle; taşıyıcı faz bileşimi, akış hızı, dalga boyu gibi uygun deneysel şartlar belirlenmiş ve standart yağ numuneleri kullanılarak FIA yöntemi ile gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen piklerden 1. pik için alıkonma zamanları; 0.507±0.001 dk, 2. pik için alıkonma zamanları ise; 6.025±0.008 dk olarak tespit edilmiştir. Daha sonraki safhalarda hazırlanıp, analiz edilen yağ ve/veya yağ karışımlarının analizlerinde de aynı alıkonma zamanları elde edilmiş ve bu alıkonma zamanlarında herhangi bir kirlilik veya yabancı pik gözlenmemiştir. Bu sebeple; PV tayini için FIA yöntemi özgün ve seçicilik kriterlerine uygun bulunmuştur.

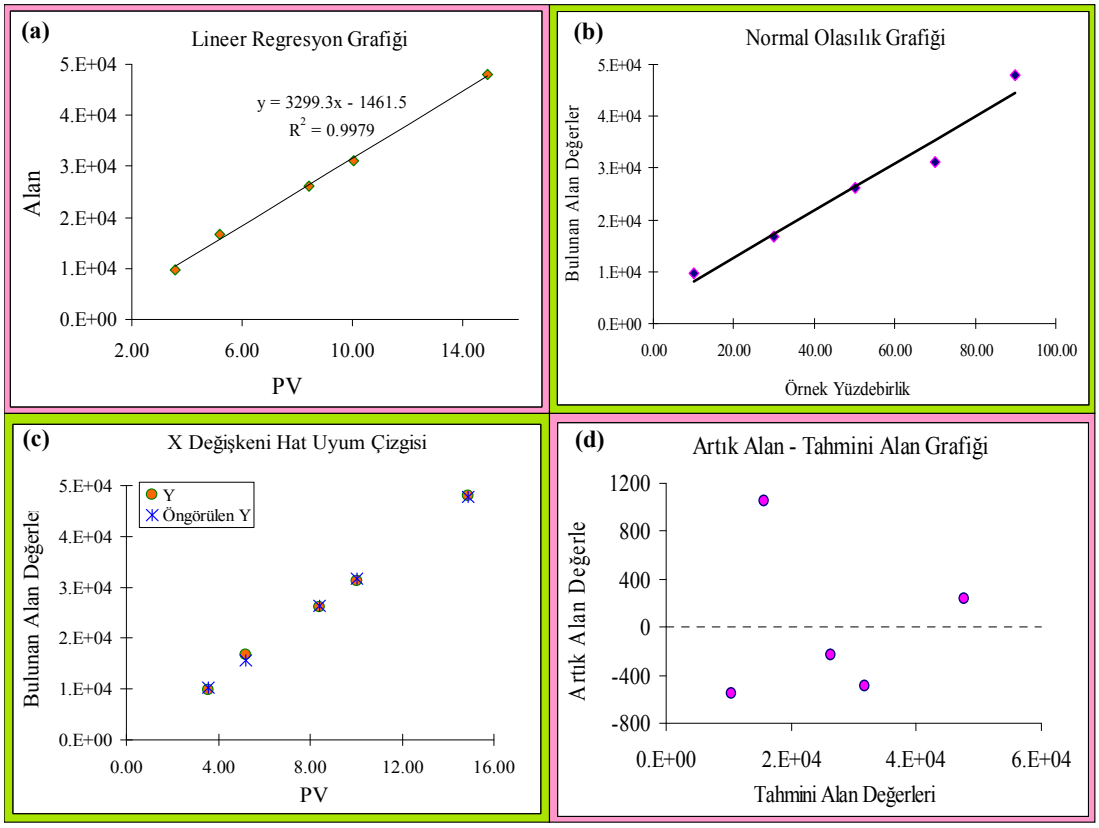
PV Tayini için Doğrusallık ve Lineer Ölçüm Aralığı:

PV tayinlerinde kullanılan her bir yağ cinsi için farklı PV aralıklarına sahip kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş, optimizasyon çalışmalarının yürütülmesinde de bu grafiklerden faydalanılmıştır. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesinde; polinomiyal ve lineer denklemlerden faydalanılmış, ayrıca her bir yağ için lineer aralık değerleri tespit edilmiştir (***bkz. 8.6.2.4.***).

FIA ile PV tayini için doğrusallık, PV: 3.58-14.89 ± 5.05x10^{-3} aralığındaki ayçiçek yağı numuneleri kullanılarak test edilmiş ve istatistiksel hesaplama sonuçları ***Tablo 8.128.***`de özetlenmiştir. Ayrıca; diğer yağlar kullanılarak yürütülen PV tayinleri için de doğrusal ölçüm aralıkları, elde edilen pikler kullanılarak ***Şekil 8.144.*** - ***Şekil 8.146.*** arasında gösterilmiştir.

Tablo 8.127. PV: 3.58-14.89 Aralığında Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PV Tayini için Doğrusallığın Hesaplanması

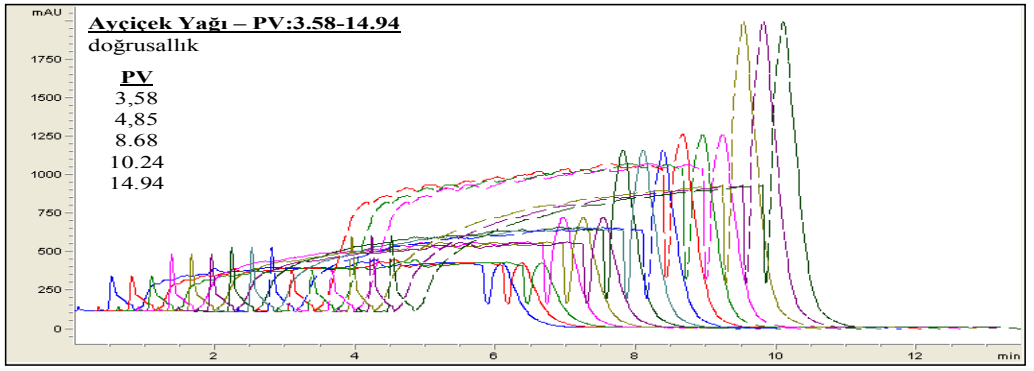
		PV Tayininde Doğrusallık PİK 2				
PV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
3.58	6.062	9793.9	401.1	0.3599	9.135	0.58
5.20	6.081	16748.1	702.2	0.3532	11.54	0.662
8.43	6.084	26119	1139.5	0.3404	14.815	0.694
10.05	6.078	31200	1242	0.311	10.336	0.785
14.89	6.087	47899.3	1971.2	0.3155	18.872	0.693



Şekil 8.143. PV: 3.58-14.89 Aralığında Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile PV Tayini için Metodun Doğruluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Grafikler, **(a)** Lineer Regresyon Grafiği, **(b)** Normal Olasılık Grafiği, **(c)** %FFA Hat Uyum Grafiği, **(d)** Artık Alan-Tahmini Alan Grafiği

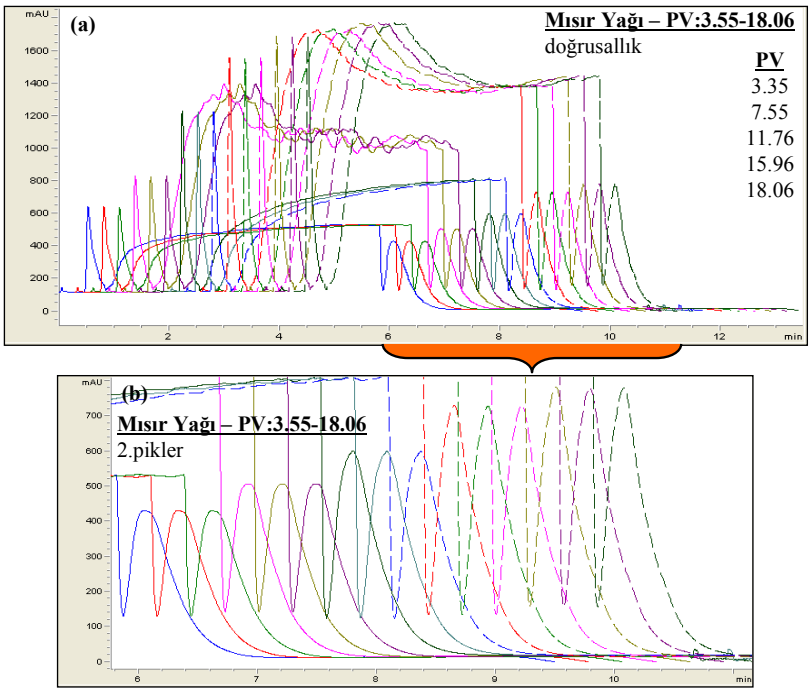
Tablo 8.128. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla PV: 3.58-14.89 ± 5.05x10-3 Aralığında Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve Doğrusallık Hesaplamalarından Elde Edilen İstatistiksel Değerler

FIA ile PV Tayininde Doğrusallık Hesapları	
Regresyon İstatistikleri	
Gözlem Sayısı (N)	5
Eğim (a)	3299.3
Kesim (b)	-1461.5
Regresyon Katsayısı (r)	1.00
Belirlilik Katsayısı (R^2)	1.00
Standart Hata (SEM)	768.98

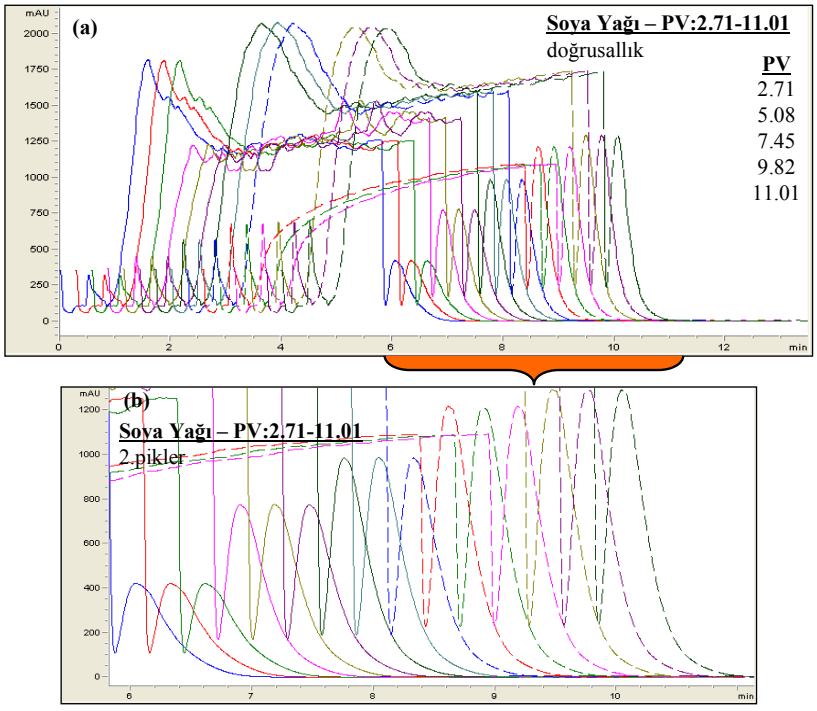


ANOVA	***df***	***SS***	***MS***	***F***	**Olasılık Değerleri**	
Regresyon	1.00	852475107.11	852475107.11	1441.62	***Yüzdebirlik***	***Y (Alan)***
Fark (artık)	3.00	1773993.98	591331.33		10.00	9793.90
Toplam	4.00	854249101.09			30.00	16748.10
Regresyon Katsayıları	***Katsayılar***	***Standart Hata***	***t Stat***	***P-değeri***	50.00	26119.00
Kesim	-1461.46	809.25	-1.81	0.17	70.00	31200.00
X Değişkeni (PV)	3299.35	86.90	37.97	0.00	90.00	47899.30

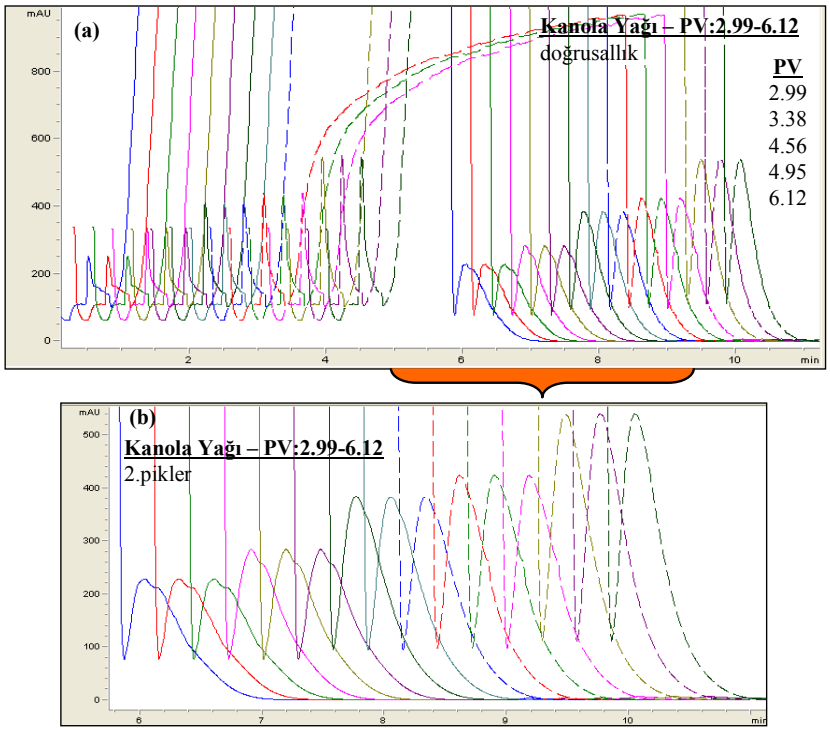
Fark (artık) Değerleri	***Gözlem***	***Öngörülen Y (Alan)***	***Std. Öngörülen Y (Alan)***	***Farklar (artık)***	***Öngörülen Farklar (artık)***	***Std. Öngörülen Farklar (artık)***
	1	10350.21	-1.10	-556.31	-853.46	-1.02
	2	15695.16	-0.73	1052.94	853.46	1.68
	3	26352.06	0.00	-233.06	0.00	-0.34
	4	31697.01	0.37	-497.01	-349.23	-0.74
	5	47665.86	1.46	233.44	349.23	0.59



Şekil 8.144. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla PV: 3.35-18.06 ± 0.14 Aralığında Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler



Şekil 8.145. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla PV: 2.71-11.01 ± 2.71×10^{-2} Aralığında Soya Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler



Şekil 8.146. FIA ile Gerçekleştirilen PV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla PV: 2.99-6.12 ± 2.15×10^{-3} Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler

PV Tayini için FIA Metodunun Sağlamlığı:

FIA ile PV tayininde; taşıyıcı faz akış hızı, numune & reaktif hacmi, reaksiyon hücresi, sıcaklık gibi birçok parametrenin PV tayini üzerine etkileri incelenmiş ve incelemeler sırasında FIA yönteminin tekrarlanabilirlik, doğrusallık gibi önemli validasyon parametrelerini sağladığı belirlenmiştir. Dolayısıyla; PV tayini için FIA yöntemi sağlamlık açısından güvenilir bulunmuştur.

PV Tayini için FIA Metodunun Hassasiyeti:

PV tayini için FIA metodunun hassasiyeti; çalışmada kullanılan yağ cinslerinin her biri için çizilen kalibrasyon grafikleri yardımıyla, kalibrasyon hassasiyeti (m) hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Kalibrasyon hassasiyeti; PV çalışmalarından elde edilen 2. pikler kullanılarak, her bir yağ numunesi için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Mısır yağı için:→ y = **436.36**x + 9442.8 Soya yağı için:→ y = **1955.7**x + 2638

Ayçiçek yağı için:→ y = **3208.4x** - 905.77 Kanola yağı için:→ y = **2082.4**x + 600.27

Kalibrasyon hassasiyeti için eğim değerlerine bakıldığında;

- PV tayinlerinde FIA metodunun, ayçiçek yağı numuneleri için daha hassas olduğu söylenebilir.

8.6.5. PV tayini için FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırılması

- **Mısır yağı numuneleri ile gerçekleştirilen PV tayinleri için t testi**

Kolmogorov-Smirno testi ile normal dağılımı kontrol edilen veriler üzerinde gerçekleştirilen bağımsız iki örnek-t testi ve F testi sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Tablo 8.129. FIA ve Standart Metotlar Kullanılarak Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen PV Tayinlerinden Hesaplanan PV Değerleri

PV Değerleri			
	FIA metodu ile (N=5)	**Standart metot ile (N= 5)**	
$\overline{X}_1$ *: 7.00* *s: 0.10*	7.01	7.42	$\overline{X}_1$ *: 7.03* *s: 0.19*
	7.06	7.29	
	6.93	6.86	
	6.91	6.91	
	7.13	7.06	
	FARKLI YAĞ NUMUNELERİ İÇİN KARŞILAŞTIRMA		
	13.21 ± 0.16	13.00 ± 0.25	
	2.59 ± 0.06	2.50 ± 0.10	
	9.36 ± 0.11	9.63 ± 0.21	
	10.83 ± 0.13	10.06 ± 0.23	
	3.92 ± 0.07	4.12 ± 0.11	
	1.98 ± 0.02	1.85 ± 0.08	
	5.66 ± 0.08	5.74 ± 0.14	
	8.94 ± 0.11	8.79 ± 0.21	
	13.84 ± 0.17	13.08 ± 0.26	
	7.36 ± 0.10	7.21 ± 0.19	

İki metottan elde edilen deneysel verilerin ***(Tablo 8.129.)*** kullanılmasıyla, çift taraflı olarak hesaplanan ($\frac{N-1}{p}$ = 0.025 dikkate alınarak) ***t değeri: -0.20*** olarak, ***kritik t değeri (tablodan) ise 2.78*** olarak belirlenmiştir (p=0.05). Çift taraflı p değeri ise; 0.84 olarak hesaplanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda, %95 güven seviyesinde H_0 hipotezinin reddedilemeyeceği açıkça görülmektedir. Şöyle ki;

$t_{hesaplanan}$: 0.20 < t_{kritik} : 2.78

olduğundan hesaplanan t değeri, dağılım grafiğinde kabul bölgesine düşmektedir. Bu sebeple; $\overline{X}_1 = \overline{X}_2$ olduğunu ileri süren H_0 hipotezi reddedilemez, yani; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının ortalaması birbirinden anlamlı olarak farklı değildir.

- ***Mısır yağı numuneleri ile gerçekleştirilen PV tayinleri için F testi***

FIA ve standart metotlardan elde edilen deneysel verilerin ***(Tablo 8.129.)*** kullanılmasıyla, çift taraflı olarak hesaplanan ***F değeri: 0.30*** olarak, ***kritik F değeri (tablodan) ise 15.44*** olarak belirlenmiştir (p=0.05). Çift taraflı p değeri ise; 0.35 olarak hesaplanmıştır.

Buna göre; %95 güven seviyesinde H_0 hipotezinin reddedilemeyeceği açıkça görülmektedir. Şöyle ki;

$F_{hesaplanan}$: 0.30 < F_{kritik} : 15.44

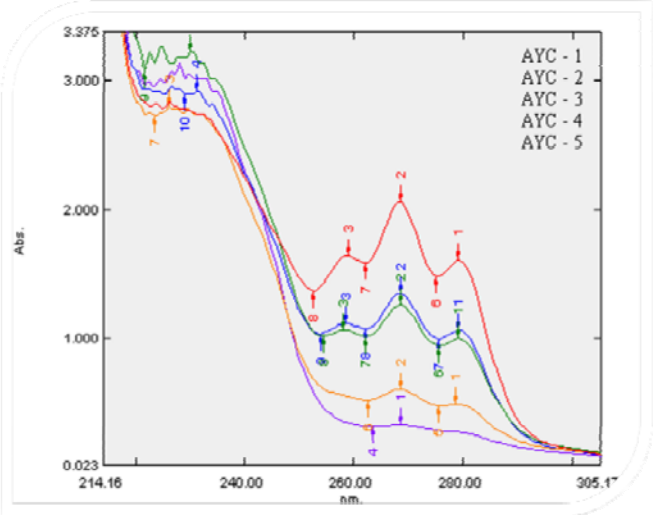
olduğundan hesaplanan F değeri, dağılım grafiğinde kabul bölgesine düşmektedir. Aynı durum, p değeri dikkate alındığında da geçerlidir. Bu sebeple; $s_1^2 = s_2^2$ olduğunu ileri süren H_0 hipotezi reddedilemez, yani; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının varyansları birbirinden anlamlı olarak farklı değildir.

8.6.6. Çalışmada Kullanılan Yağ Numunelerine Ait PV Değerlerinin $E\lambda_{232}$ Değerleri ile Uyumu

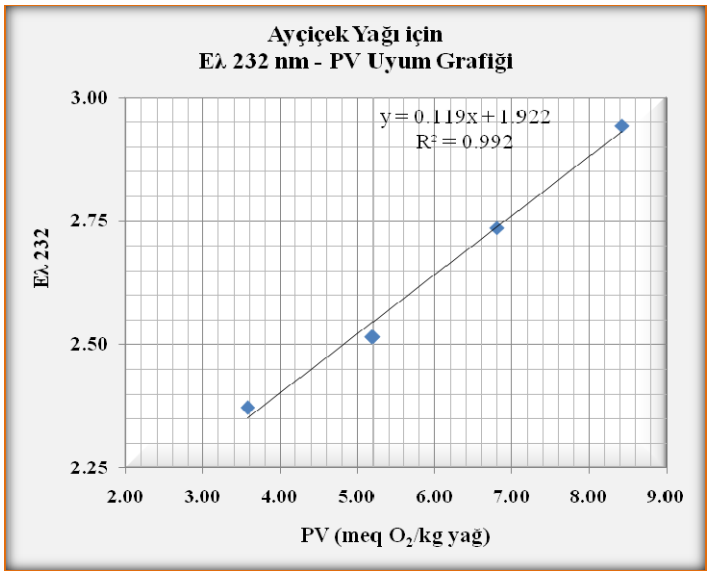
Yağlarda oluşan birincil oksidasyon ürünlerinin bir göstergesi olarak kabul edilen PV değerlerini tespit etmek amacıyla kullanılan standart metotların yanı sıra, daha önce de belirtildiği gibi UV-vis spektrofotometre ile gerçekleştirilen özgül absorbans tayinlerinden elde edilen 232 nm dalga boyundaki veriler de yağların PV değerlerine ilişkin genel bir fikir edinmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Hatta, yağ sanayi sektörlerinde çoğu zaman, ham yağ numuneleri üzerinde gerçekleştirilen özgül absorbans tayinlerinden alınan sonuçların yağ cinsini belirlemek amacıyla direk olarak kullanıldığı da bilinmektedir.

Yukarıda belirtilen sebeplerle; çalışmamızda kullandığımız yağ cinslerinin PV değerleri ile özgül absorbans tayinlerinden elde edilen 232 nm dalga boyundaki

$E\lambda_{232}$ değerlerinin uyumları incelenmiş ve mısır yağı dışındaki yağ cinsleri için oldukça yüksek korelasyonlar gözlenmiştir. Mısır yağı için gözlenen bu farklılığın ham mısır yağının sahip olduğu spesifik özelliklerinden özellikle de renginden kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı cinslerdeki yağ numunelerinin PV değerleri ile $E\lambda_{232}$ değerleri arasındaki uyumu belirlemek amacıyla çizilen grafikler ve özgül absorbans tayinlerinden elde edilen spektrumlar ***Şekil 8.147. - Şekil 8.152.*** arasında yer almaktadır[47].

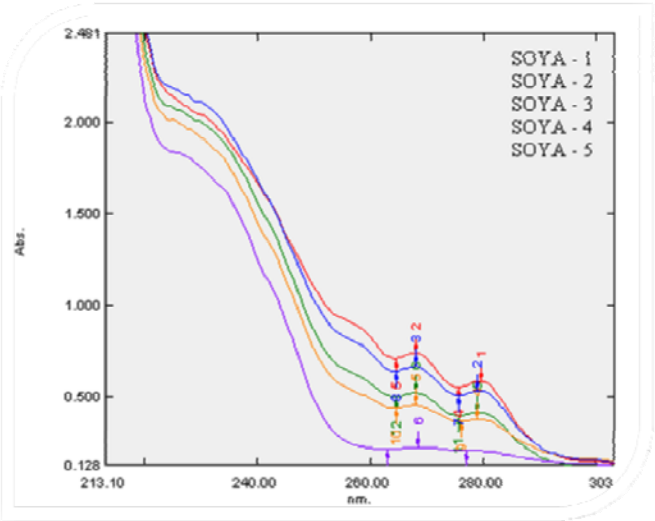


Şekil 8.147. Ayçiçek Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları AYC-1: PV= 3.58; AYC-2: PV= 4.26; AYC-3: PV= 5.20; AYC-4: PV= 6.81; AYC-5: PV= 8.43

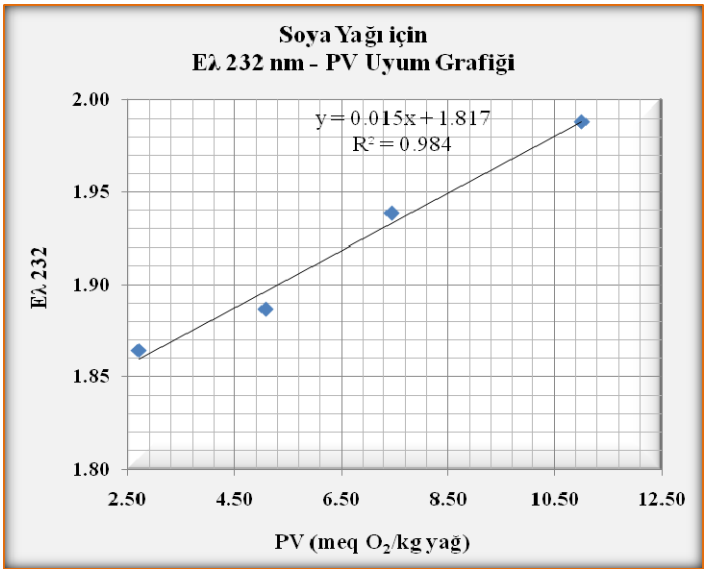


Şekil 8.148. Ayçiçek Yağı Numuneleri için PV-Eλ232 Uyum Grafiği

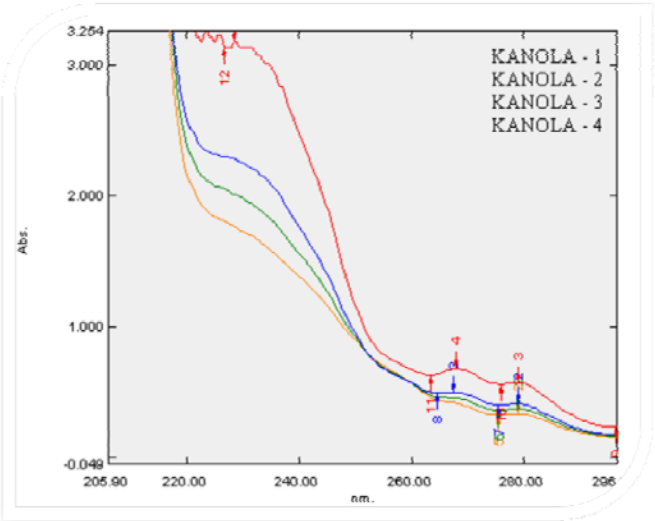
(47) $E\lambda_{232}$ değerleri, özgül absorbans tayin sonuçlarının özetlendiği tabloda yer almaktadır.



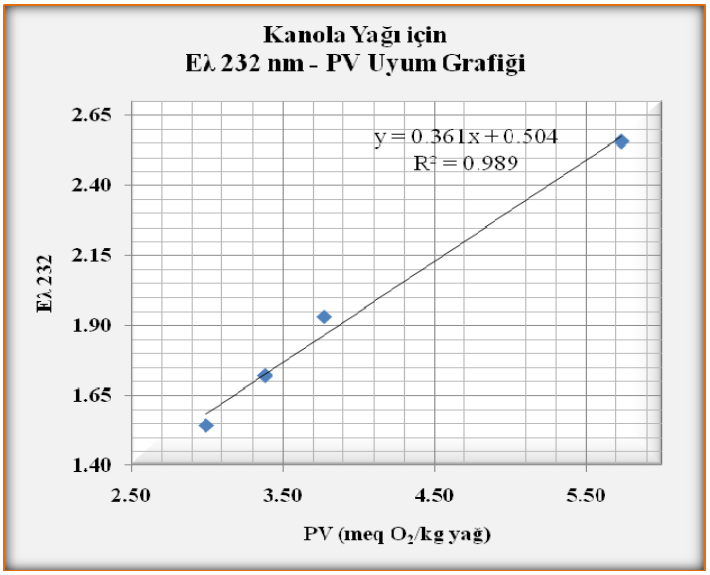
Şekil 8.149. Soya Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları SOYA-1: PV= 1.52; SOYA-2: PV= 2.71; SOYA-3: PV= 5.08; SOYA-4: PV= 7.45; SOYA-5: PV= 11.01



Şekil 8.150. Soya Yağı Numuneleri için PV-$E\lambda_{232}$ Uyum Grafiği



Şekil 8.151. Kanola Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları KANOLA-1: PV= 2.99; KANOLA-2: PV= 3.38; KANOLA-3: PV= 3.77; KANOLA-4: PV= 5.73



Şekil 8.152. Kanola Yağı Numuneleri için PV-$E\lambda_{232}$ Uyum Grafiği

8.7. Anisidin Sayısı (AV) Tayini

Diğer yağ analizlerinin gerçekleştirilmesi sırasında geliştirilen teknikler (numune enjeksiyonu vb.) uygulanarak yürütülen AV tayinlerinde de numune ve reaktiflerin sisteme verilmesi otomatik numune verici ile gerçekleştirilmiş. AV tayini sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılacak pikler ise; herhangi bir ön işlemden geçirilmeyen yağ numunesinin direk enjeksiyonu sonucu, DAD dedektör vasıtasıyla görselleştirilmiştir.

8.7.1. AV tayini için HPLC sisteminin modifiye edilmesi

Yemeklik yağların oksidasyon ölçülerinin belirlenmesinde kullanılan parametre indislerinden bir diğeri olan AV tayinleri de, tıpkı PV tayinlerinde olduğu gibi reaksiyon için uzun zamana ihtiyaç duyan, hava oksijeni ve ışıktan uzak bir ortamda gerçekleştirilmesi gereken yağ analizlerindendir. Ayrıca; standart metotlarla gerçekleştirilen AV tayinleri, PV tayinleri için geliştirdiğimiz FIA yönteminde olduğu gibi tayin sırasında meydana gelen reaksiyon öncesinde ve sonrasında olmak üzere iki kez ölçülmektedir. Bu sebeple; PV tayinleri için, reaksiyon öncesi ve sonrası ölçümler alarak uyguladığımız yöntemin AV tayinlerinde de kullanılması uygun görülmüş ve çalışmalar bu yönde gerçekleştirilmiştir.

Yukarıda PV tayinlerine olan benzerlikleri belirtilen AV tayinlerinin gerçekleştirilmesinde; PV tayinlerinde kullanılan sistem, bağlantılar değiştirilmeden ve herhangi bir ilave yapılmadan kullanılmıştır.

8.7.2. AV tayini için deney parametrelerinin belirlenmesi ve optimize edilmesi

Otomatik numune verici kullanılarak yürütülen %FFA ve PV tayinlerinde olduğu gibi; AV tayinlerinde de yağ numunelerinin enjeksiyonu, reaktif/numune/reaktif sıralaması şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Otomatik enjeksiyonlu AV tayinlerine ilişkin optimizasyon çalışmaları ayçiçek yağı numuneleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve optimize edilen parametre değerleri ayçiçeği, mısır, soya, kanola, yer fıstığı yağı yağlarının AV içeriklerinin tespit edilmesinde de kullanılmıştır.

Diğer FIA deneylerinde olduğu gibi AV tayinlerinin gerçekleştirildiği çalışmalarda da; farklı AV değerine sahip yağ numunelerine ait piklerin birbirinden farklandırılması ve elde edilen gauss şeklindeki piklerin dik ve simetrik olması esas alınmıştır.

AV tayinleri için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları; yapılan spektrofotometrik çalışmalar sonucunda belirlenen 350 nm dalga boyu gerçekleştirilmiştir.

8.7.2.1. Taşıyıcı faz akış hızı etkisi

AV tayinleri için uygun taşıyıcı faz akış hızının tespiti amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar; 0.5 - 1.0 - 2.0 - 3.0 mL/dk akış hızı değerlerinde gerçekleştirilmiş ve farklı AV değerine sahip yağ numunelerinin piklerini belirli ölçüde farklandırabilen akış hızı değeri 3 mL/dk olarak belirlenmiştir.

3 mL/dk`dan daha düşük akış hızlarında; elde edilen piklerde genişlemeler görülmüş, 3 mL/dk`dan daha yüksek akış hızlarında ise; meydana gelecek basınç yükselmesinden dolayı sistem bağlantıları zarar göreceğinden çalışılmamıştır.

8.7.2.2. Taşıyıcı faz cinsinin etkisi

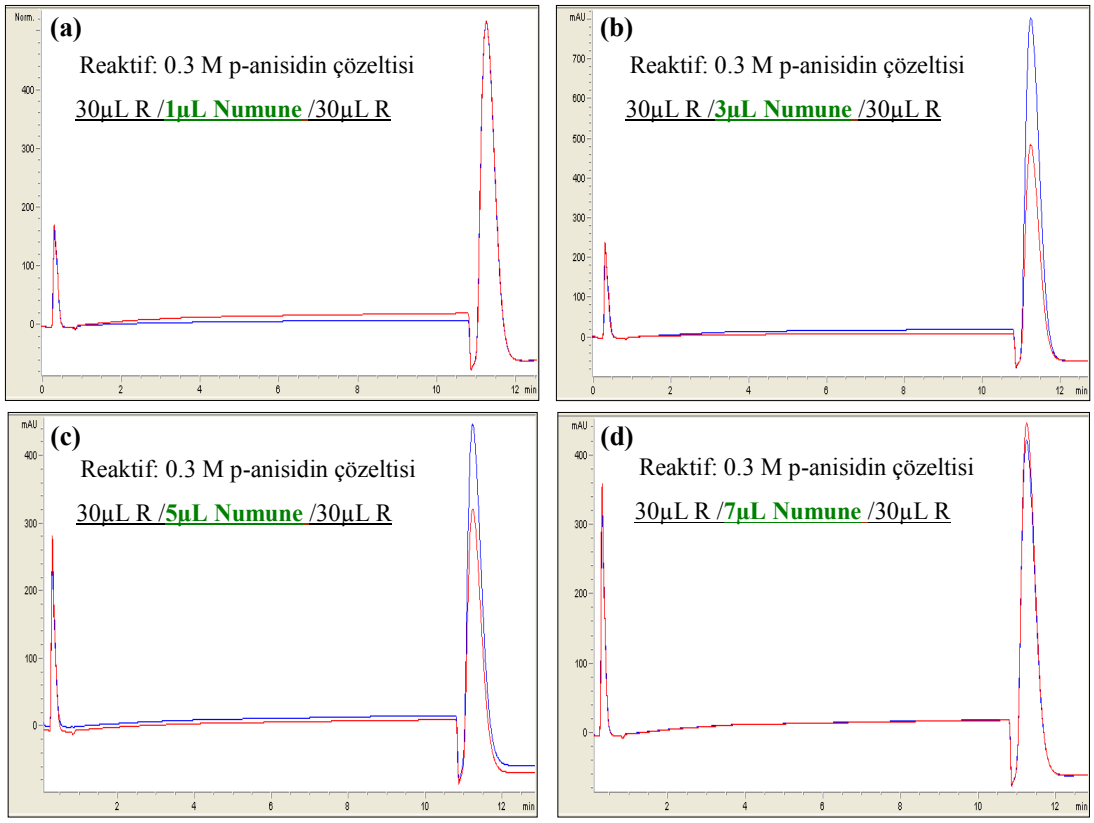
AV tayininden önce gerçekleştirilen %FFA ve PV tayinlerinde; taşıyıcı faz olarak n-propanolün etkisi incelendiğinden, karşılaştırmalarda daha doğru sonuçlar elde edilmesi açısından, AV tayinlerinin n-propanol kullanılarak yürütülmesine karar verilmiştir.

8.7.2.3. Numune ve reaktif hacmi etkisi

Minimum düzeyde numune ve reaktif hacmi kullanımına yönelik çalışmalarda; reaktif/numune/reaktif oranının farklı olduğu birçok çalışma gerçekleştirilmiş ve optimize oran değerleri **30µL reaktif / 3µL numune / 30µL reaktif** olarak bulunmuştur.

n-propanolün (3mL/dk) taşıyıcı faz olarak kullanıldığı AV tayinlerinde, reaktif / numune / reaktif hacmi oranları incelenirken; rafine ve ham ayçiçek yağı numuneleri kullanılmış ve iki yağ numunesi için elde edilen piklerin birbirinden farklanabilmesi dikkate alınmıştır. 0.3 M p-anisidin (buzlu HAc`de çözülmüş)

çözeltisinin reaktif olarak kullanıldığı çalışmalarda; 30µL reaktif hacmi sabit tutularak, 1µL - 3µL - 5µL - 7µL numune hacimlerinin pikleri farklandırmadaki etkileri incelenmiş ve denemeler sonunda uygun reaktif / numune / reaktif hacmi oranlarının **30µL reaktif / 3µL numune / 30µL reaktif** olduğuna karar verilmiştir.



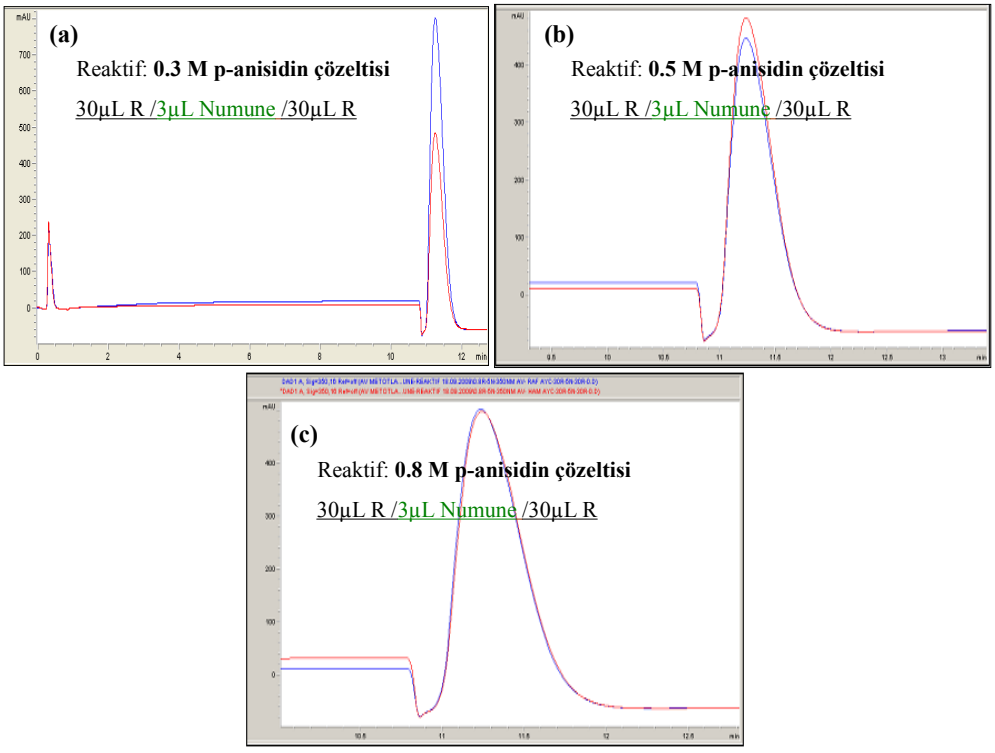
Şekil 8.153. AV Tayini için Numune ve Reaktif Hacmi Etkisinin Rafine ve Ham Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesi **(a)** 1µL numune hacmi, **(b)** 3µL numune hacmi, **(c)** 5µL numune hacmi, **(d)** 7µL numune hacmi

Şekil 8.153.`de görüldüğü üzere; 3µL`den daha az numune hacminde, rafine ve ham ayçiçek yağı numunelerine ait piklerde herhangi bir farklanma oluşmamış. 3µL`den daha fazla numune hacimlerinde ise; farklılaşmaya başlayan pikler arasındaki mAU (mili absorbans unit) tekrar azalmaya başlamıştır. Bu durum, rafine ve ham ayçiçek yağları arasında AV değerine sahip yağ numunelerine ait piklerin, 3µL`den daha az ve daha fazla yağ numuneleri için üst üste çıkması anlamına gelmektedir ve AV deney sonuçlarının yorumlanmasında kullanılabilir özellik taşımamaktadır. Belirtilen sebeplerden ötürü; 30µL reaktif hacmine karşılık, uygun numune hacmi 3µL olarak tespit edilmiştir.

8.7.2.4. Reaktif konsantrasyonu etkisi

AV tayinleri üzerine reaktif konsantrasyonu etkisinin incelendiği çalışmalar; ***0.3 M - 0.5 M - 0.8 M*** olmak üç farklı konsantrasyonda hazırlanan reaktif çözeltileri (buzlu asetik asitte çözülmüş p-anisidin çözeltileri) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalar sonucunda; AV tayinleri için uygun reaktif konsantrasyonunun 0.3 M olduğuna karar verilmiştir. 0.3 M`dan daha yüksek konsantrasyona sahip reaktif çözeltileri kullanıldığında (0.5 ve 0.7 M p-anisidin çözeltileri); bu reaktifler, farklı AV değerine sahip ayçiçek yağı numuneleri için oldukça konsantre kalmış ve deneyler sonunda elde edilen pikler üst üste çıkmıştır. Ayrıca; 0.3 M`dan daha az konsantrasyonlardaki reaktiflerin etkisini incelemek amacıyla da denemeler gerçekleştirilmiş, 0.1 M konsantrasyona sahip reaktif çözeltisi kullanılarak yürütülen çalışmalar sonucunda da kullanılabilir sonuçlar elde edilememiştir ***(Şekil 8.154.)***.



Şekil 8.154. AV Tayini için Numune ve Reaktif Konsantrasyonu Etkisinin Rafine ve Ham Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak İncelenmesi **(a)** 0.3 M p-anisidin çözeltisi, **(b)** 0.5 M p-anisidin çözeltisi, **(c)** 0.8 M p-anisidin çözeltisi

8.7.2.5. Reaksiyon hücresi (uzunluğu, geometrisi ve iç çapı) etkisi

AV tayininde meydana gelmesi istenilen reaksiyonun oluşumunu ekili bir şekilde sağlamak amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda; deney şartları göz önünde

bulundurularak farklı özellikte birçok reaksiyon hücresi sisteme adapte edilmiş ve PV tayini üzerine etkileri incelenmeye çalışılmıştır.

Reaksiyon hücresi etkisinin AV tayinleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar sonucunda; PV tayinlerinde olduğu gibi 1`er mL`lik iki adet paslanmaz çelikten yapılmış lopun, reaksiyon hücresi olarak kullanılması uygun görülmüştür.

8.7.2.6. Reaksiyon süresi etkisi

AV tayinleri üzerine reaksiyon süresi etkisinin incelendiği çalışmalar; 3-5-10-15 dk gibi birçok bekletme süresinde gerçekleştirilmiş ve AV tayinlerinde oluşması istenilen reaksiyonun meydana gelmesi için 5 dk bekleme süresinin uygun olduğuna karar verilmiştir. 5 dk`dan daha az bekleme süresinde, reaksiyon oluşumu istenilen ölçüde gerçekleşmediği (dikdörtgen şeklinde pikler elde edilmiştir), 5 dk`dan daha fazla bekleme sürelerinde ise; zamandan kaybedildiği için reaksiyon oluşumu için 5 dk bekletme süresi uygun bulunmuştur.

8.4.2.7. Sıcaklık Etkisi

AV tayinleri üzerine sıcaklık etkisinin incelendiği çalışmalar sonucunda; tıpkı %FFA ve PV tayinlerinde olduğu gibi, 40°C uygun sıcaklık değeri olarak belirlenmiştir. 40°C`den daha düşük sıcaklıklarda reaksiyon oluşumu istenilen ölçüde gerçekleşmemiş, 40°C`den daha yüksek sıcaklık değerlerinde ise elde edilen piklerin alan, yükseklik değerleri azaldığı için, farklı PV değerine sahip yağ numunelerinin tayininde kullanılabilir sonuçlar alınamamıştır.

8.7.3. Optimize Edilen Parametre Değerleri ile Gerçekleştirilen AV Çalışmaları

Standart ayçiçek yağı numuneleri ile gerçekleştirilen otomatik enjeksiyonlu AV tayinlerinden tespit edilen parametre değerleri kullanılarak, mısır, ayçiçek, soya, kanola ve yer fıstığı yağları üzerinde AV çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmaların gerçekleştirildiği optimize deney şartları aşağıda sıralanmıştır:

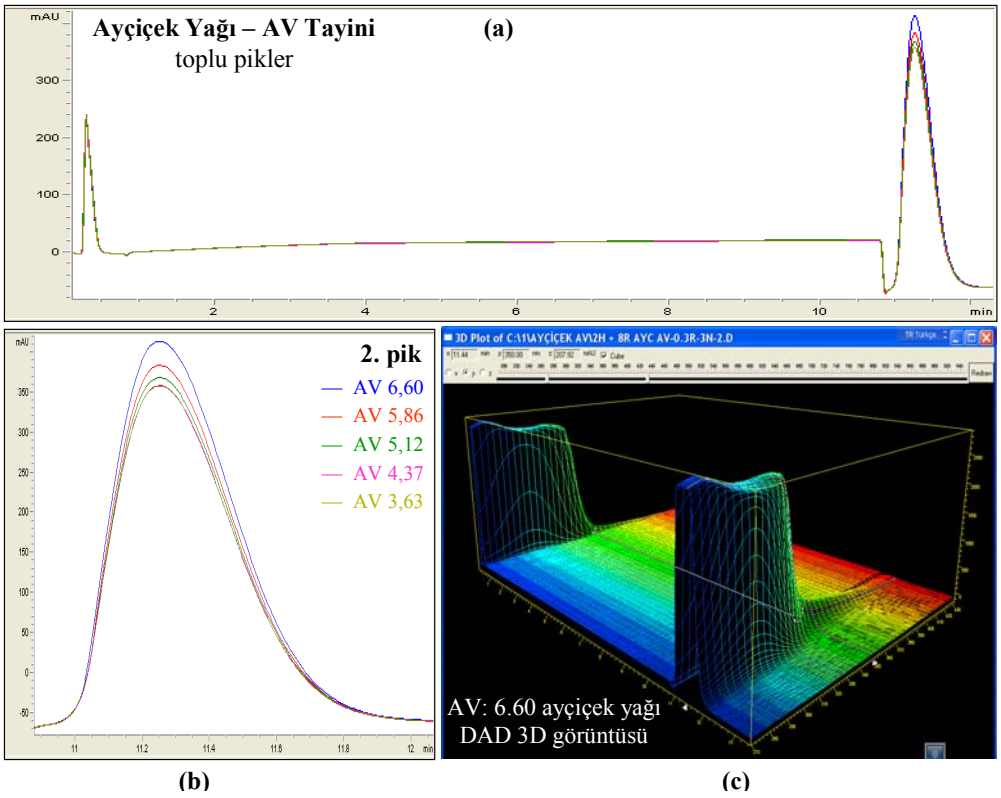
- taşıyıcı faz: ***n-propanol***
- taşıyıcı faz akış hızı: ***3 mL/dk***
- numune ve reaktif hacmi: ***30µL reaktif / 3µL numune / 30µL reaktif***
- dalga boyu: 350 nm

- enjeksiyonda ön karıştırma: ***yok***
- reaktif yüzdesi: ***0.3 M p-anisidin çözeltisi (buzlu HAc içinde çözülmüş)***
- reaksiyon hücresi: ***50 µL loop*** *(kolon fırını içinde, sarmal, 0.51 mm i.d.)* ***+ 1`er mL iki adet loop*** *(dedektör çıkışında, 0.76 mm i.d.)*
- sıcaklık: ***40 °C***
- dedektör: ***DAD dedektör***
- süre: ***5 dk***

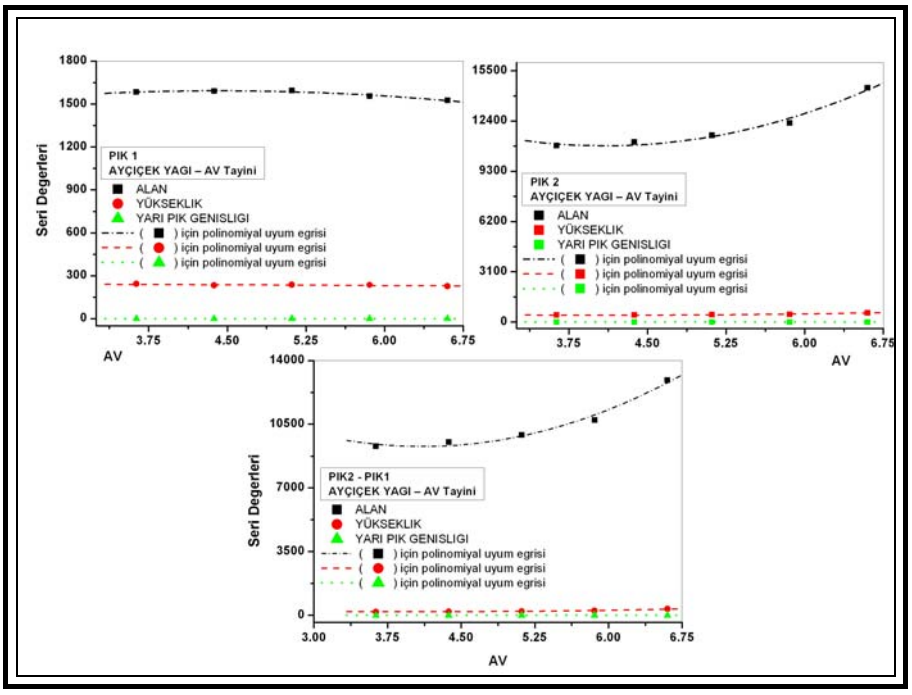
Bazı bitkisel yağlar için gerçekleştirilen AV tayinleri:

AV tayinlerini gerçekleştirmede kullanılan bitkisel yağlar, optimizasyon deneylerinde kullanılan numuneler gibi standart yağ numuneleri olup, bu numuneler kullanılarak gerçekleştirilen tayinlerden elde edilen veriler ile her bir yağ için kalibrasyon grafiği oluşturulmuş ve bu grafikler AV değerleri bilinmeyen yağların AV içeriklerini tespit etmede kullanılmıştır (***Şekil 8.155. - Şekil 8.164.*** arasında yer alan şekiller ve ***Tablo 8.130. - Tablo 8.139.*** arasında yer alan tablolar incelenebilir).

- ***Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile PV Tayini:***



Şekil 8.155. Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: 6.63 ± 9.55x 10^{-2} Olan Ayçiçek Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.156. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri

Tablo 8.130. Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler

		Ayçiçek Yağı – AV Tayini PİK 1				
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
6.60	0.295	1513.0	227.5	0.0923	9.23	0.339
5.86	0.295	1555.4	235.9	0.0909	10.829	0.346
5.12	0.296	1594.5	236.9	0.0905	12.164	0.339
4.37	0.295	1590.7	232.6	0.0938	12.526	0.336
3.63	0.295	1584.0	242.2	0.0903	12.714	0.349

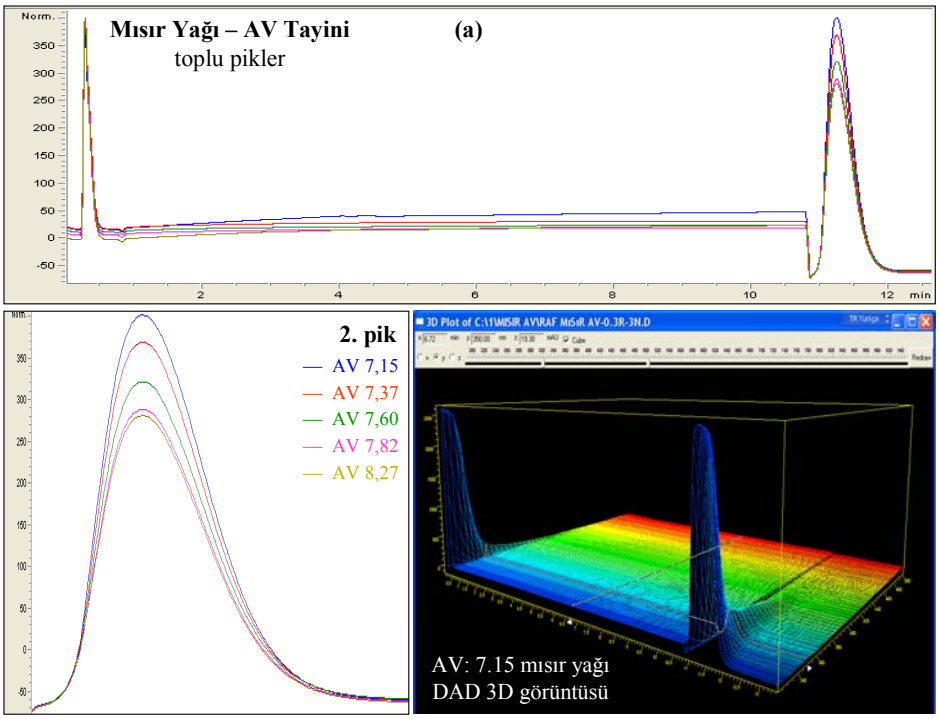
		Ayçiçek Yağı – AV Tayini PİK 2				
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
6.60	11.243	13680.0	570.7	0.4112	90.44	0.569
5.86	11.252	12278.7	482.5	0.4109	88.757	0.576
5.12	11.25	11513.7	452.7	0.4127	87.836	0.575
4.37	11.251	11108.2	436.6	0.4148	87.474	0.575
3.63	11.251	10874.6	427.3	0.4129	87.286	0.576

Ayçiçek Yağı – AV Tayini PİK 2 – PİK 1			
AV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
6.60	12167.0	343.2	0.3189
5.86	10723.3	246.6	0.32
5.12	9919.2	215.8	0.3222
4.37	9517.5	204.0	0.321
3.63	9290.6	185.1	0.3226

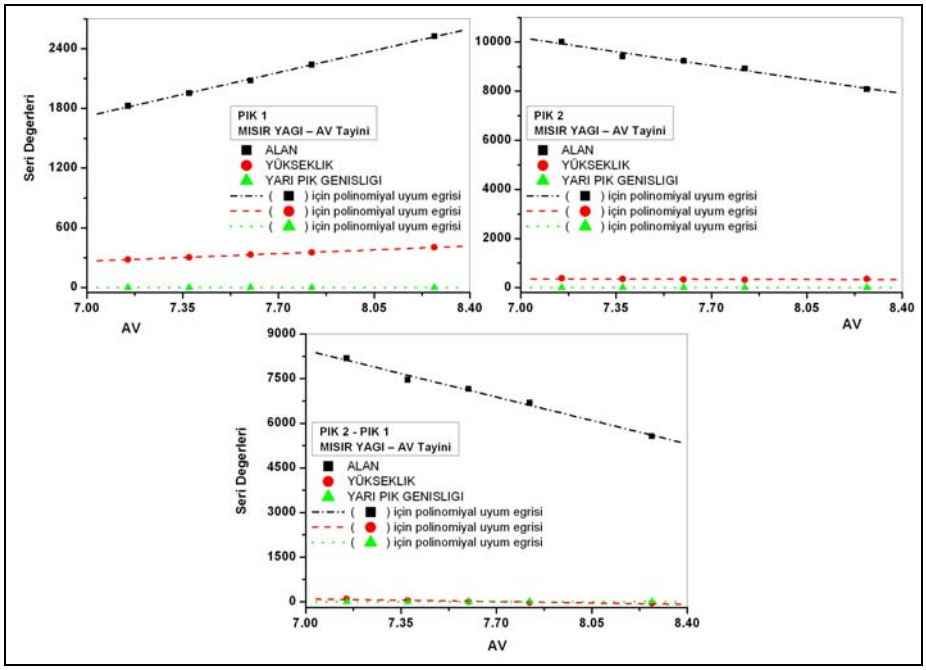
Tablo 8.131. Standart Ayçiçek Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

AYÇİÇEK YAĞI – AV TAYİNİ Grafik Denklemleri ve Korelasyonları			
	PİK 1 polinom denklemi	**PİK 2 polinom denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 polinom denklemi**
Alan	$y = -9.2827x^2 + 67.068x + 1479.6$	$y = 294.23x^2 - 2072x + 14454$	$y = 303.51x^2 - 2139.1x + 12975$
	$R^2 = 0.8905$	**$R^2 = 0.9929$**	**$R^2 = 0.9922$**
Yükseklik	$y = 0.1427x^2 - 5.2088x + 257.89$	$y = 16.931x^2 - 126.03x + 655.77$	$y = 16.788x^2 - 120.82x + 397.88$
	$R^2 = 0.7362$	**$R^2 = 0.9687$**	**$R^2 = 0.9578$**
Yarı pik genişliği	$y = -0.0005x^2 + 0.0049x + 0.0785$	$y = 0.0014x^2 - 0.0156x + 0.4558$	$y = 0.0018x^2 - 0.0205x + 0.3772$
	$R^2 = 0.4015$	**$R^2 = 0.7958$**	**$R^2 = 0.8218$**

- ***Standart Mısır Yağı Numuneleri ile AV Tayini:***



Şekil 8.157. Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: 7.15 ± 6.64x 10^{-2} Olan Mısır Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.158. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri

Tablo 8.132. Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler

Mısır Yağı – AV Tayini PİK 1						
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
7.15	0.295	1826.0	281.8	0.0876	15.427	0.345
7.37	0.295	1954.7	302.7	0.0893	20.358	0.346
7.60	0.294	2082.0	330.7	0.0874	21.186	0.367
7.82	0.295	2240.5	353.7	0.0879	20.911	0.364
8.27	0.294	2525.6	403.6	0.087	21.449	0.362

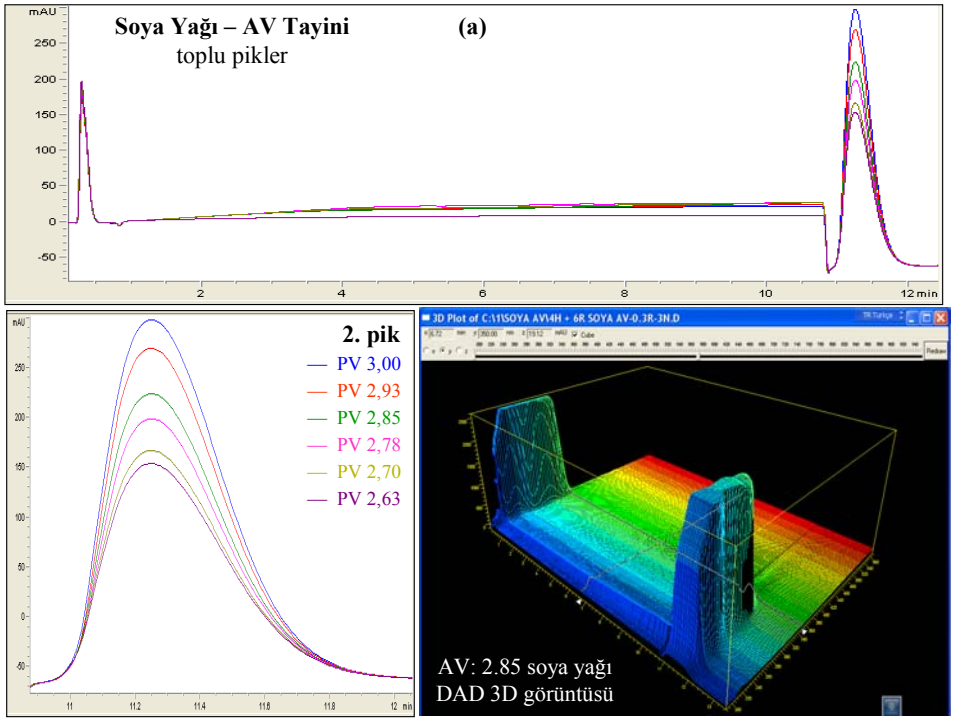
Mısır Yağı – AV Tayini PİK 2						
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
7.15	11.249	10010.6	374.5	0.4456	84.573	0.557
7.37	11.241	9600.0	348.2	0.4507	82.808	0.551
7.60	11.245	9235.6	334.4	0.4603	81.604	0.548
7.82	11.243	8926.6	322.8	0.4608	79.937	0.55
8.27	11.249	8090.0	349.1	0.4231	78.551	0.571

Mısır Yağı – AV Tayini PİK 2 – PİK 1			
AV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
7.15	8184.6	92.7	**0.358**
7.37	7460.2	45.5	**0.3614**
7.60	7153.6	3.7	**0.3729**
7.82	6686.1	-30.9	**0.3729**
8.27	5564.4	-54.5	0.3361

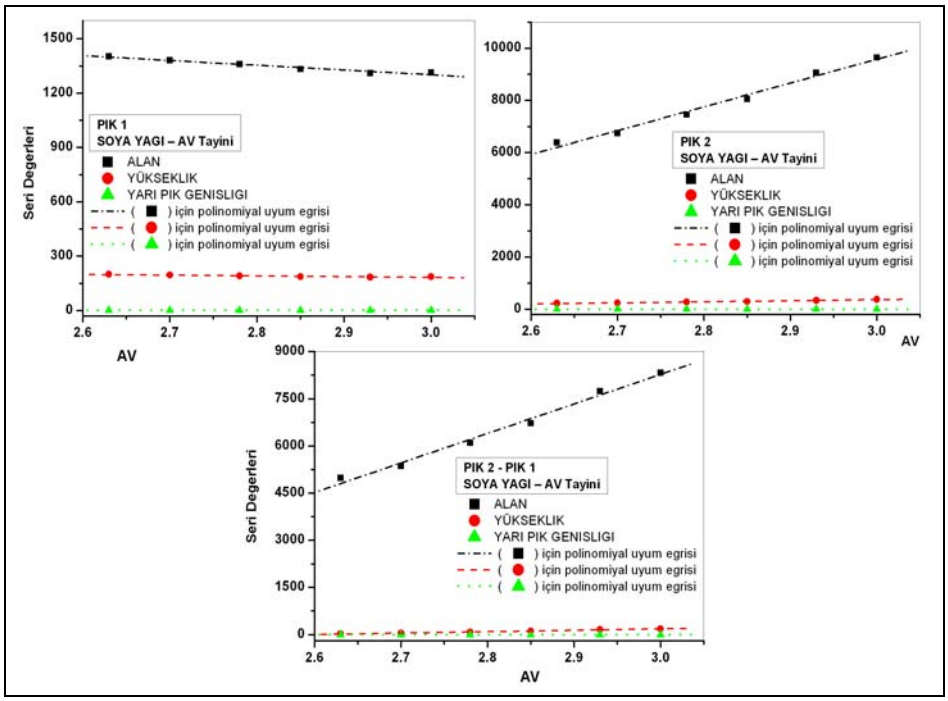
Tablo 8.133. Standart Mısır Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

MISIR YAĞI – AV TAYİNİ Grafik Denklemleri ve Korelasyonları			
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 628.87x - 2680.6	y = -1621.3x + 21527	y = -2250.2x + 24208
	R^2 = 0.9987	**R^2 = 0.9807**	**R^2 = 0.9901**
Yükseklik	y = 109.71x - 503.97	y = -21.99x + 513.86	y = -0.017x + 0.4904
	R^2 = 0.999	**R^2 = 0.2395**	**R^2 = 0.2368**
Yarı pik genişliği	y = -0.001x + 0.0958	y = -0.0181x + 0.5862	y = -0.017x + 0.4904
	R^2 = 0.2586	**R^2 = 0.2557**	**R^2 = 0.2368**

- ***Standart Soya Yağı Numuneleri ile AV Tayini:***



Şekil 8.159. Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: 2.85 ± 1.56x 10^{-2} Olan Soya Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.160. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri

Tablo 8.134. Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler

Soya Yağı – AV Tayini PİK 1						
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
3.00	0.296	1313.9	186.4	0.0962	13.816	0.326
2.93	0.294	1309.8	183.2	0.0974	13.223	0.327
2.85	0.295	1331.8	186.5	0.0973	14.992	0.328
2.78	0.296	1359.0	190.5	0.0972	20.001	0.327
2.70	0.296	1381.9	195.7	0.0964	21.741	0.328
2.63	0.294	1402.5	199.3	0.0941	22.237	0.329

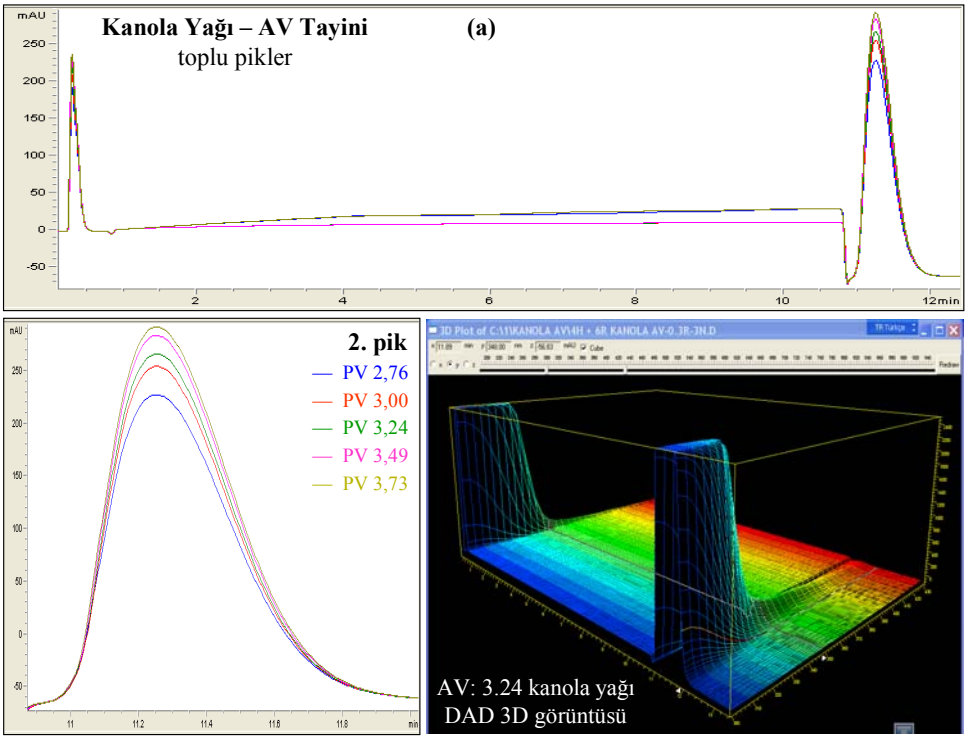
Soya Yağı – AV Tayini PİK 2						
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
3.00	11.250	9640.0	370.6	0.4398	88.156	0.56
2.93	11.249	9050.5	341.4	0.4418	87.358	0.558
2.85	11.248	8052.8	296.8	0.4522	85.809	0.554
2.78	11.245	7456.8	271.3	0.4581	84.584	0.546
2.70	11.247	6746.7	239.2	0.4701	83.000	0.547
2.63	11.242	6389.2	225.6	0.472	82.000	0.545

Soya Yağı – AV Tayini PİK 2 – PİK 1			
AV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
3.00	8326.1	184.2	0.3436
2.93	7740.7	158.2	0.3444
2.85	6721.0	110.3	0.3549
2.78	6097.8	80.8	0.3609
2.70	5364.8	43.5	0.3737
2.63	4986.7	26.3	0.3779

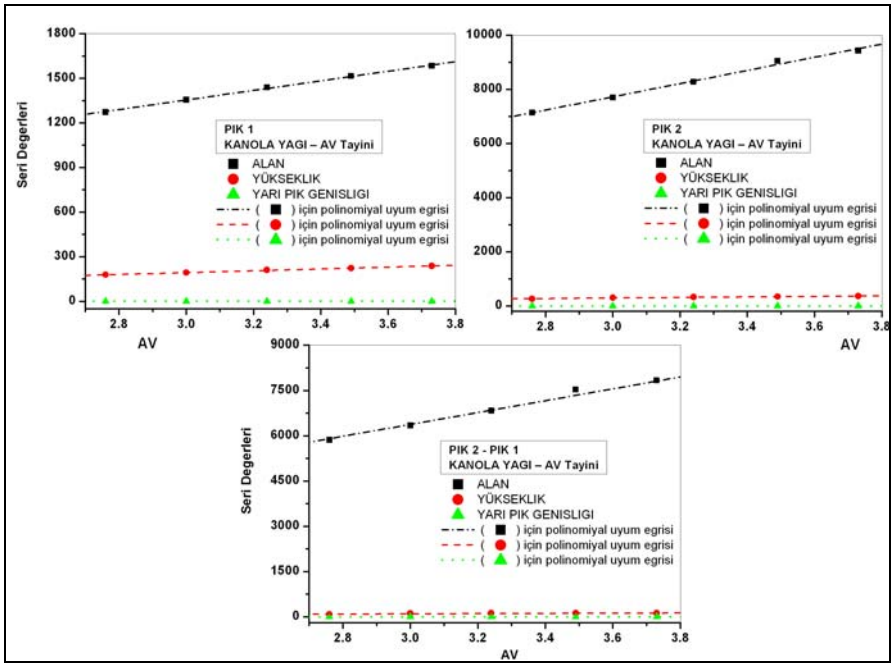
Tablo 8.135. Standart Soya Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

SOYA YAĞI – AV TAYİNİ Grafik Denklemleri ve Korelasyonları			
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = -265.06x + 2096	y = 9174.3x - 17936	y = 9439.3x - 20032
	R^2 = 0.9476	**R^2 = 0.9857**	**R^2 = 0.9867**
Yükseklik	y = -40.927x + 305.48	y = 408.15x - 858.12	y = 449.07x - 1163.6
	R^2 = 0.8437	**R^2 = 0.9819**	**R^2 = 0.9873**
Yarı pik genişliği	y = 0.0053x + 0.0817	y = -0.0972x + 0.7293	y = -0.1025x + 0.6477
	R^2 = 0.3399	**R^2 = 0.9666**	**R^2 = 0.9641**

- ***Standart Kanola Yağı Numuneleri ile AV Tayini:***



Şekil 8.161. Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: 3.24 ± 1.32x 10^{-2} Olan Kanola Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.162. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri

Tablo 8.136. Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler

Kanola Yağı – AV Tayini PİK 1						
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
2.76	0.296	1272.0	177.9	0.0974	15.926	0.325
3.00	0.294	1355.7	192.2	0.0963	17.73	0.331
3.24	0.295	1438.6	209.7	0.0941	14.73	0.337
3.49	0.295	1514.7	222.2	0.0935	17.366	0.34
3.73	0.293	1583.4	238.0	0.0896	14.823	0.34

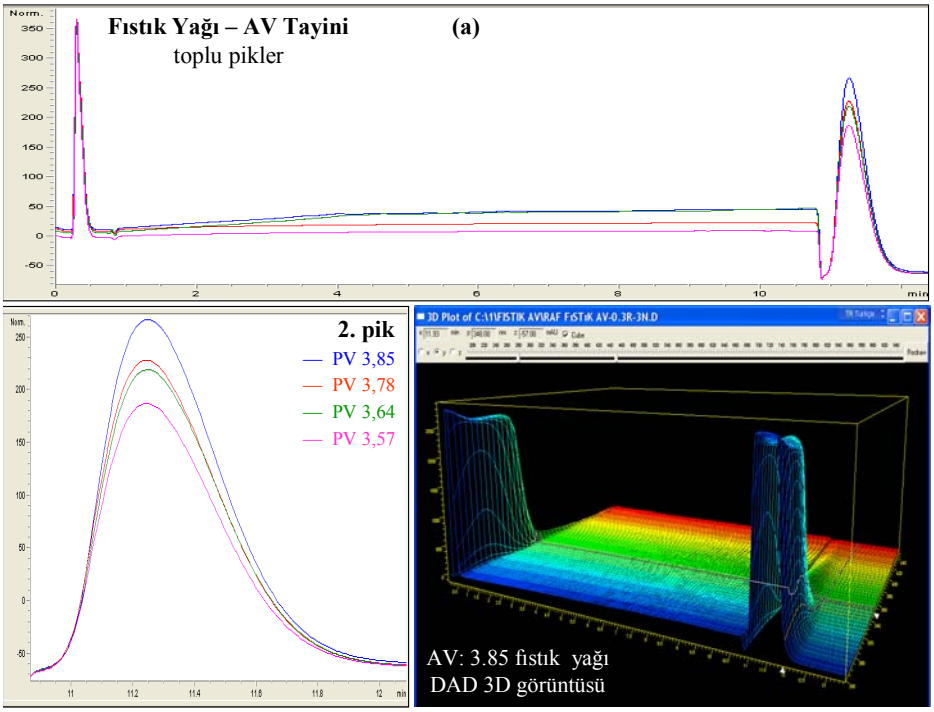
Kanola Yağı – AV Tayini PİK 2						
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
2.76	11.251	7133.9	256.5	0.4635	84.868	0.554
3.00	11.253	7700.0	299.9	0.4545	85.779	0.561
3.24	11.244	8270.0	327.3	0.447	85.919	0.556
3.49	11.246	9042.5	338.4	0.4454	85.652	0.558
3.73	11.246	9424.0	355.1	0.4423	85.615	0.561

Kanola Yağı – AV Tayini PİK 2 – PİK 1			
AV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
2.76	5861.9	78.6	0.3661
3.00	6344.3	107.7	0.3582
3.24	6831.4	117.6	0.3529
3.49	7527.8	116.2	0.3519
3.73	7840.6	117.1	0.3527

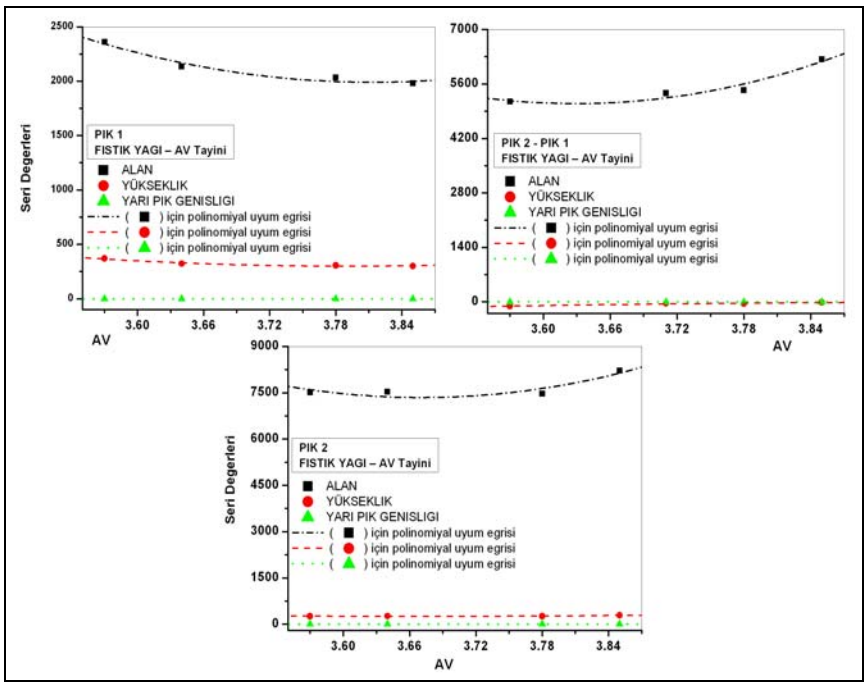
Tablo 8.137. Standart Kanola Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

KANOLA YAĞI – AV TAYİNİ Grafik Denklemleri ve Korelasyonları			
	PİK 1 lineer denklemi	**PİK 2 lineer denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 lineer denklemi**
Alan	y = 323.06x + 384.88	y = 2447.4x + 374.73	y = 2124.3x - 10.155
	R^2 = 0.9983	**R^2 = 0.9925**	**R^2 = 0.9905**
Yükseklik	y = 62.066x + 6.6575	y = 97.397x - 0.5149	y = 35.331x - 7.1724
	R^2 = 0.9982	**R^2 = 0.9327**	**R^2 = 0.6615**
Yarı pik genişliği	y = -0.0076x + 0.1188	y = -0.0213x + 0.5196	y = -0.0137x + 0.4007
	R^2 = 0.9325	**R^2 = 0.913**	**R^2 = 0.7634**

- ***Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile AV Tayini:***



Şekil 8.163. Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen **(a)** toplu pikler **(b)** 2.pikler **(c)** AV: 3.85 ± 8.48x 10^{-2} Olan Yer Fıstığı Yağı Numunesine Ait DAD Dedektör-3D Görüntüsü



Şekil 8.164. Optimize Parametre Değerlerini Kullanarak Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri

Tablo 8.138. Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri Elde Edilen Piklere Ait Veriler

		Yer Fıstığı Yağı – AV Tayini PİK 1				
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
3.85	0.293	1665.6	250.8	0.0915	17.685	0.350
3.78	0.294	1980.5	301.0	0.0908	18.733	0.345
3.64	0.294	2031.9	307.7	0.091	27.141	0.349
3.57	0.297	2134.3	322.9	0.0911	22.659	0.347

		Yer Fıstığı Yağı – AV Tayini PİK 2				
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
3.85	11.251	9264.4	344.6	0.4481	84.761	0.559
3.78	11.249	8218.4	288.1	0.4754	73.767	0.543
3.64	11.244	7470.6	259.4	0.48	78.618	0.545
3.57	11.248	7530.9	260.8	0.4812	67.354	0.544

Yer Fıstığı Yağı – AV Tayini PİK 2 – PİK 1			
AV	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**
3.85	7598.8	93.8	0.357
3.78	6237.9	-12.9	0.385
3.64	5438.7	-48.3	0.389
3.57	5364.4	-43.0	0.395

Tablo 8.139. Standart Yer Fıstığı Yağı Numuneleri ile Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Elde Edilen %FFA – Seri Değerleri Grafiklerine Ait Lineer Denklemleri & Regresyon Katsayıları

YER FISTIĞI YAĞI – AV TAYİNİ Grafik Denklemleri ve Korelasyonları			
	PİK 1 polinom denklemi	**PİK 2 polinom denklemi**	**PİK 2 – PİK 1 polinom denklemi**
Alan	y = -8564.5x2 + 63176x - 114358	y = 45765x2 - 339705x + 637686	y = 53583x2 - 397125x + 740954
	R^2 = 0.9537	**R^2 = 0.9981**	**R^2 = 0.9999**
Yükseklik	y = -1370.6x2 + 10121x - 18360	y = 2266.2x2 - 16837x + 31520	y = 4079.8x2 - 30372x + 56459
	R^2 = 0.9457	**R^2 = 0.9988**	**R^2 = 0.9868**
Yarı pik genişliği	y = 0.0223x2 - 0.1673x + 0.405	y = -0.9225x2 + 6.864x - 12.281	y = -0.1193x + 0.8342
	R^2 = 0.6853	**R^2 = 0.9549**	**R^2 = 0.7071**

8.7.4. AV tayini için FIA metodunun valide edilmesi

Standart yağ numuneleri kullanılarak gerçekleştirilen metot geliştirme ve optimizasyon çalışmalarının ardından; AV tayinleri için geliştirilen FIA metodunun kullanılabilirliğini ve performansını kanıtlamak amacıyla validasyon çalışmalarına başlanmıştır.

FIA ile AV tayinine ilişkin validasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır:

AV Tayini için FIA Metodunun Doğruluğu:

AV tayini için FIA metodunun doğruluğunun test edilmesinde; kalibrasyon eğrisinin aralıklarını kapsayan ve AV değerleri 3.00-2.85-2.63 ± 1.32×10^{-2} olan kanola yağı numuneleri kullanılmış, beş tekrarlı deneylerden elde edilen sonuçların ortalamaları (X_i) ve gerçek AV değerleri (X_t) baz alınarak hesaplanan bağıl hata (E_r) yardımıyla, FIA metodunun AV tayini için doğruluğu tespit edilmeye çalışılmıştır.

- ***AV Tayinleri için;***

- AV: 3.00 ± 9.55×10^{-2} olan ayçiçek yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; X_i= 3.0392 (N=5)

$$\textbf{\textit{Bağıl Hata (}}E_r\textbf{\textit{) :}}\ E_r = \frac{3.0392 - 3.0000}{3.0000} \times 100 \longrightarrow \boldsymbol{E_r = 1.31}$$

- AV: 2.85 ± 9.55×10^{-2} olan ayçiçek yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; X_i= 2.9452 (N=5)

$$\textbf{\textit{Bağıl Hata (}}E_r\textbf{\textit{) :}}\ E_r = \frac{2.9452 - 2.8500}{2.8500} \times 100 \longrightarrow \boldsymbol{E_r = 3.34}$$

- AV: 2.63 ± 9.55×10^{-2} olan ayçiçek yağı numuneleri ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda; X_i= 2.6808 (N=5)

$$\textbf{\textit{Bağıl Hata (}}E_r\textbf{\textit{) :}}\ E_r = \frac{2.6808 - 2.6300}{2.6300} \times 100 \longrightarrow \boldsymbol{E_r = 1.93}$$

olarak bulunmuştur. Tekrarlı deneyler sonucunda ölçülen ortalama değer, gerçek değerin ± %5 sınırı içinde olduğu için, AV tayinleri için FIA metodunun doğruluğu kanıtlanmıştır.

AV Tayini için Kesinlik ve Tekrarlanabilirlik:

AV tayini için FIA metodunun kesinliğini test etmek için; farklı AV değerine sahip yağ numuneleri kullanılmış ve beş tekrarlı deneylerle ardı ardına üç gün boyunca analiz edilen numune için elde edilen sinyaller istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Kesinliğin ölçüsü olan tekrarlanabilirliğin hesaplanmasında; standart sapma (s), bağıl standart sapma (RSD), varyans (s^2) ve varyasyon katsayısı (CV) terimleri kullanılmış, ayrıca her bir seri değeri için güven aralıkları (p: 0.05) belirlenmiştir.

AV tayinleri için gün içi ve günler arası istatistiksel veriler ***Tablo 8.140. - Tablo 8.144.*** arasında yer almaktadır.

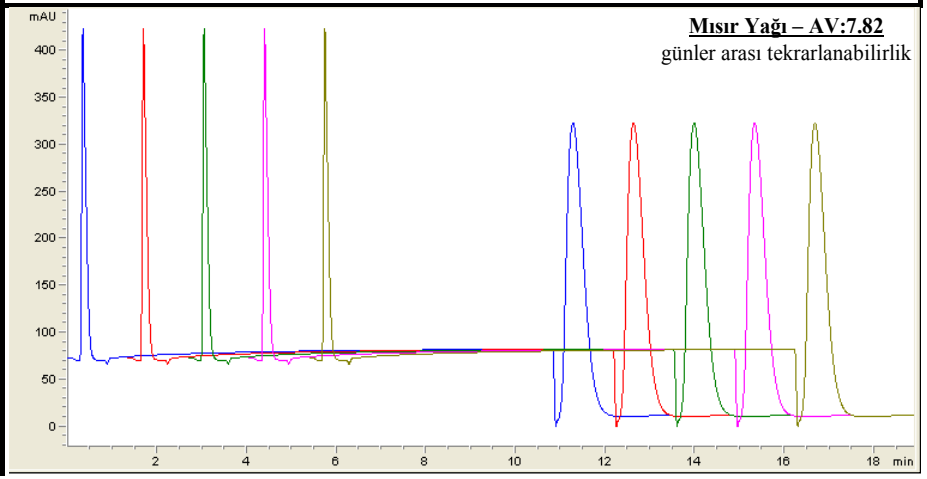
Kesinliğin ölçüsü olan tekrarlanabilirliğin tespitinde kullanılan yağ numuneleri aşağıda listelenmiştir:

- mısır yağı ile AV tayini için AV: $7.82 \pm 6.64 \times 10^{-2}$
- ayçiçek yağı ile AV tayini için AV: $5.86 \pm 9.55 \times 10^{-2}$
- soya yağı ile AV tayini için AV: $2.63 \pm 1.56 \times 10^{-2}$
- kanola yağı ile AV tayini için AV: $3.48 \pm 1.32 \times 10^{-2}$
- yer fıstığı yağı ile AV tayini için AV: $3.85 \pm 8.48 \times 10^{-2}$

Tablo 8.140. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 7.82 ± 6.64x10-2 olan Mısır Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Mısır Yağı_AV Tayini için İstatistiksel Değerler AV: 7.82 ± 6.64x10^{-2}	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	8712.40	320.64	0.45	8974.90	323.72	0.46	8909.14	322.42	0.46
Standart Sapma (s)	172.33	1.64	0.01	344.51	4.23	0.01	35.31	0.94	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	19.78	5.11	30.82	38.39	13.08	26.53	3.96	2.91	6.58
Standart Hata (SEM)	77.07	0.73	0.01	154.07	1.89	0.01	15.79	0.42	0.00
Varyans (s^2)	29699.28	2.69	0.00	118685.47	17.93	0.00	1246.60	0.88	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	1.98	0.51	3.08	3.84	1.31	2.65	0.40	0.29	0.66
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 164.16	± 1.56	± 0.01	± 328.17	± 4.03	± 0.01	± 33.63	± 0.89	± 0.00

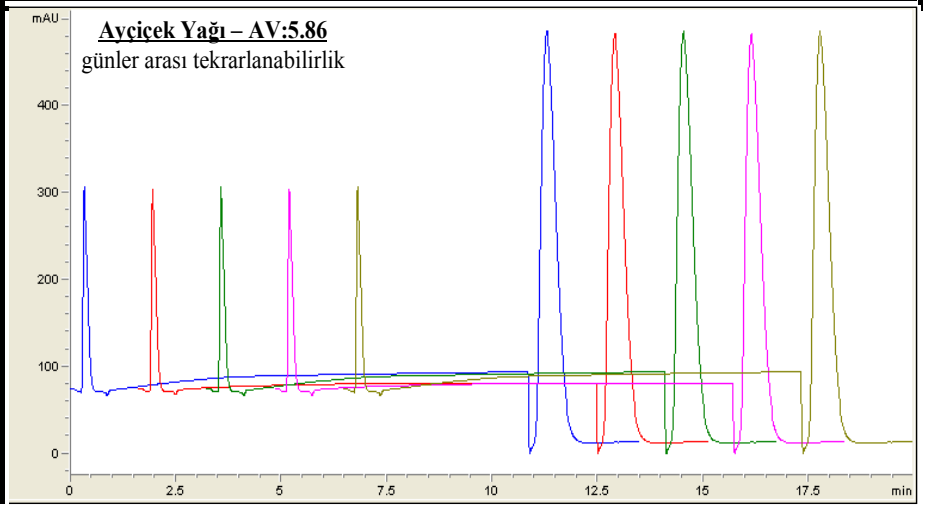
	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	8865.48	322.26	0.46
Standart Sapma (s)	236.81	2.80	0.01
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	26.71	8.69	25.27
Standart Hata (SEM)	61.14	0.72	0.00
Varyans (s^2)	56077.68	7.85	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	2.67	0.87	2.53
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 225.57	± 2.67	± 0.01



Tablo 8.141. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 5.86 ± 9.55x10-2 olan Ayçiçek Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Ayçiçek Yağı_AV Tayini için İstatistiksel Değerler AV: 5.86 ± 9.55x10^{-2}	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	12403.76	483.86	0.43	12386.20	483.32	0.42	12693.86	485.88	0.44
Standart Sapma (s)	78.23	0.98	0.00	66.31	1.01	0.01	48.68	0.63	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	6.31	2.02	4.72	5.35	2.09	18.01	3.83	1.29	2.72
Standart Hata (SEM)	34.99	0.44	0.00	29.65	0.45	0.00	21.77	0.28	0.00
Varyans (s^2)	6119.83	0.95	0.00	4396.66	1.02	0.00	2369.65	0.39	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.63	0.20	0.47	0.54	0.21	1.80	0.38	0.13	0.27
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 74.52	± 0.93	± 0.00	± 63.16	± 0.96	± 0.01	± 46.37	± 0.60	± 0.00

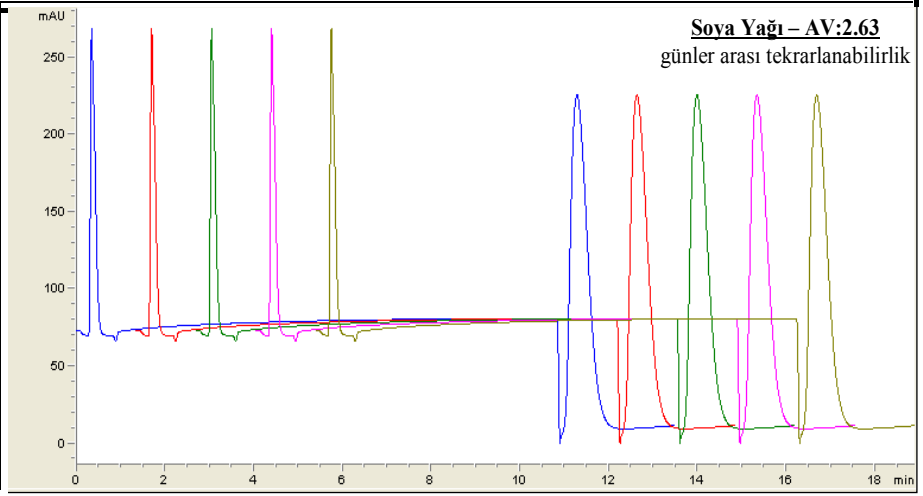
	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	12494.61	484.35	0.43
Standart Sapma (s)	158.13	1.41	0.01
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	12.66	2.90	14.99
Standart Hata (SEM)	40.83	0.36	0.00
Varyans (s^2)	25005.69	1.98	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	1.27	0.29	1.50
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 150.63	± 1.34	± 0.01



Tablo 8.142. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 2.63 ± $1.56x10^{-2}$ olan Soya Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Soya Yağı_AV Tayini için İstatistiksel Değerler AV: 2.63 ± $1.56x10^{-2}$	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	6478.86	225.86	0.48	6481.62	225.26	0.48	6537.18	223.56	0.48
Standart Sapma (s)	17.13	0.88	0.00	67.84	1.78	0.00	42.95	1.34	0.01
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	2.64	3.88	5.27	10.47	7.90	6.52	6.57	6.01	19.52
Standart Hata (SEM)	7.66	0.39	0.00	30.34	0.80	0.00	19.21	0.60	0.00
Varyans (s^2)	293.60	0.77	0.00	4601.86	3.17	0.00	1844.68	1.81	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.26	0.39	0.53	1.05	0.79	0.65	0.66	0.60	1.95
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 16.32	± 0.83	± 0.01	± 64.62	± 1.70	± 0.01	± 40.91	± 1.28	± 0.01

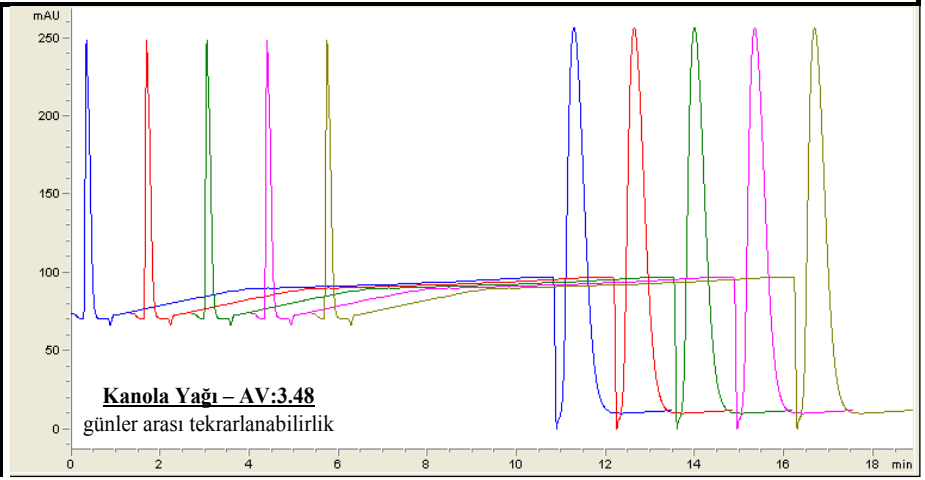
	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	6499.22	224.89	0.48
Standart Sapma (s)	51.95	1.63	0.01
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	7.99	7.25	11.90
Standart Hata (SEM)	13.41	0.42	0.00
Varyans (s^2)	2699.06	2.66	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	0.80	0.72	1.19
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 49.49	± 1.55	± 0.01



Tablo 8.143. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 3.48 ± $1.32x10^{-2}$ olan Ayçiçek Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Kanola Yağı_AV Tayini için İstatistiksel Değerler AV: 3.48 ± $1.32x10^{-2}$	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	9069.28	338.18	0.45	9280.32	337.64	0.46	9127.84	338.26	0.45
Standart Sapma (s)	101.73	1.08	0.00	382.84	3.11	0.02	119.30	1.19	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	11.22	3.18	10.24	41.25	9.22	42.25	13.07	3.53	9.79
Standart Hata (SEM)	45.50	0.48	0.00	171.21	1.39	0.01	53.35	0.53	0.00
Varyans (s^2)	10349.42	1.16	0.00	146565.50	9.68	0.00	14232.85	1.43	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	1.12	0.32	1.02	4.13	0.92	4.23	1.31	0.35	0.98
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 96.91	± 1.02	± 0.00	± 364.68	± 2.96	± 0.02	± 113.64	± 1.14	± 0.00

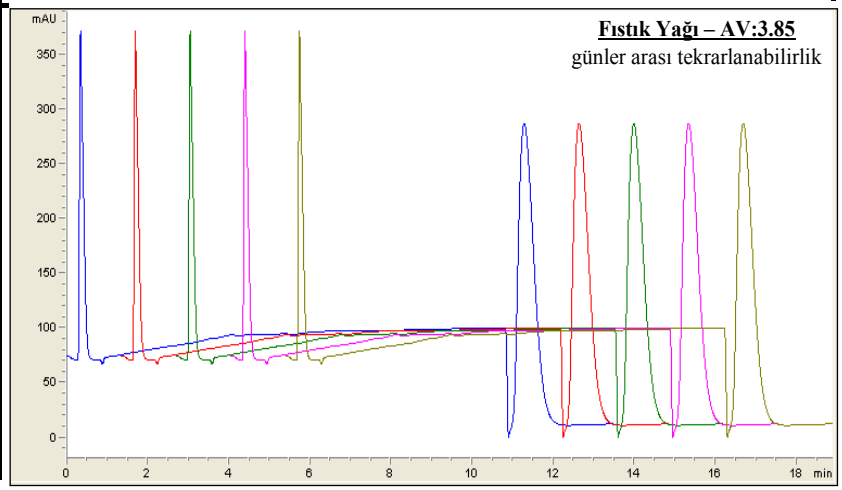
	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	9159.15	338.03	0.45
Standart Sapma (s)	239.54	1.89	0.01
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	26.15	5.60	26.45
Standart Hata (SEM)	61.85	0.49	0.00
Varyans (s^2)	57377.61	3.59	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	2.62	0.56	2.64
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 228.17	± 1.80	± 0.01



Tablo 8.144. FIA ile Gerçekleştirilen AV Tayinleri için Metodun Kesinliğinin Tespiti Amacıyla AV: 3.85 ± 8.48x10^{-2} olan Yer Fıstığı Yağı Kullanılarak Gerçekleştirilen Tekrarlanabilirlik Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve İstatistiksel Değerler

Yer Fıstığı Yağı_AV Tayini için İstatistiksel Değerler AV: 3.85 ± 8.48x10^{-2}	**Gün İçi Kesinlik**								
	1. gün (n=5)			**2. gün (n=5)**			**3. gün (n=5)**		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	8012.08	285.96	0.46	8156.48	286.44	0.47	8219.94	287.52	0.48
Standart Sapma (s)	318.59	2.98	0.02	129.15	1.39	0.01	86.09	1.17	0.00
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	39.76	10.41	44.25	15.83	4.87	13.05	10.47	4.07	7.19
Standart Hata (SEM)	142.48	1.33	0.01	57.76	0.62	0.00	38.50	0.52	0.00
Varyans (s^2)	101502.36	8.86	0.00	16679.48	1.94	0.00	7410.77	1.37	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	3.98	1.04	4.43	1.58	0.49	1.31	1.05	0.41	0.72
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 303.48	± 2.84	± 0.02	± 123.02	± 1.33	± 0.01	± 82.00	± 1.12	± 0.00

	Günler Arası Kesinlik (n=15)		
	Alan	**Yükseklik**	**Yarı Pik Genişliği**
Ortalama ($\bar{x}$)	8129.50	286.64	0.47
Standart Sapma (s)	209.74	1.98	0.01
% Bağıl Standart Sapma (RSD)	25.80	6.92	27.84
Standart Hata (SEM)	54.15	0.51	0.00
Varyans (s^2)	43988.88	3.94	0.00
Varyasyon Katsayısı (CV)	2.58	0.69	2.78
Güven Aralığı (p: 0.05)	± 199.79	± 0.89	± 0.01



AV Tayini için Tayin Limiti (LOD) ve Ölçüm Limit (LOQ):

FIA ile AV tayinlerinden elde edilen sonuçlar, tıpkı PV tayininde olduğu gibi; artan konsantrasyon değerleri ile artış gösteren sinyaller şeklinde gözlenmiştir. Bu sebeple; AV tayinleri için belirlenecek LOD değerinin, kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk değerlerine bağlı olarak tayin edilebilecek en düşük konsantrasyon değeri olması gerekmektedir.

FIA yöntemi ile AV tayini için LOD ve LOQ hesaplanmasında; AV çalışmalarında kullanılan her bir yağ numunesi için oluşturulan kalibrasyon grafikleri kullanılmış (Alan-PV) ve grafik denklemlerinin eğim, kesim değerleri ile denklem için hesaplanan varyasyon katsayısı (CV) değerleri kullanılarak alanların ardından da AV değerlerinin standart sapmaları hesaplanmıştır. Hesaplanan standart sapma değerlerinin 3 katına tekabül eden AV değerleri LOD değeri (3*s), standart sapma değerlerinin 10 katına tekabül eden AV değerleri ise, LOQ değeri (10*s) olarak kabul edilmiştir.

FIA ile AV tayinleri için LOD ve LOQ değerlerinin tespitinde kullanılan yağ numuneleri aşağıda listelenmiştir:

- mısır yağı ile AV tayini için AV: $7.15 \pm 6.64 \times 10^{-2}$
- ayçiçek yağı ile AV tayini için AV: $3.63 \pm 9.55 \times 10^{-2}$
- soya yağı ile AV tayini için AV: $2.63 \pm 1.56 \times 10^{-2}$
- kanola yağı ile AV tayini için AV: $2.76 \pm 1.32 \times 10^{-2}$
- yer fıstığı yağı ile AV tayini için AV: $3.64 \pm 8.48 \times 10^{-2}$

AV tayinleri için hesaplanan LOD ve LOQ değerleri şöyledir:

- ***Mısır Yağı ile AV Tayini için LOD ve LOQ;***
  - ***LOD= 0.22***
  - ***LOQ= 0.66***
- ***Ayçiçek Yağı ile AV Tayini için LOD ve LOQ;***
  - ***LOD= 0.32***
  - ***LOQ= 0.95***
- ***Soya Yağı ile AV Tayini için LOD;***
  - ***LOD= 0.05***
  - ***LOQ= 0.16***

- ***Kanola Yağı ile AV Tayini için LOD;***
  - ***LOD= 0.04***
  - ***LOQ= 0.13***
- ***Yer Fıstığı Yağı ile AV Tayini için LOD;***
  - ***LOD= 0.28***
  - ***LOQ= 0.85***

AV Tayini için FIA Metodunun Seçiciliği/Spesifikliği:

AV metodunun seçiciliğini artırmak için öncelikle; taşıyıcı faz bileşimi, akış hızı, dalga boyu gibi uygun deneysel şartlar belirlenmiş ve standart yağ numuneleri kullanılarak FIA yöntemi ile gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen piklerden 1. pik için alıkonma zamanları; $0.295 \pm 9.83 \times 10^{-4}$ dk, 2. pik için alıkonma zamanları ise; $11.250 \pm 2.93 \times 10^{-3}$ dk olarak tespit edilmiştir. Daha sonraki safhalarda hazırlanıp, analiz edilen yağ ve/veya yağ karışımlarının analizlerinde de aynı alıkonma zamanları elde edilmiş ve bu alıkonma zamanlarında herhangi bir kirlilik veya yabancı pik gözlenmemiştir. Bu sebeple; AV tayini için FIA yöntemi özgün ve seçicilik kriterlerine uygun bulunmuştur.

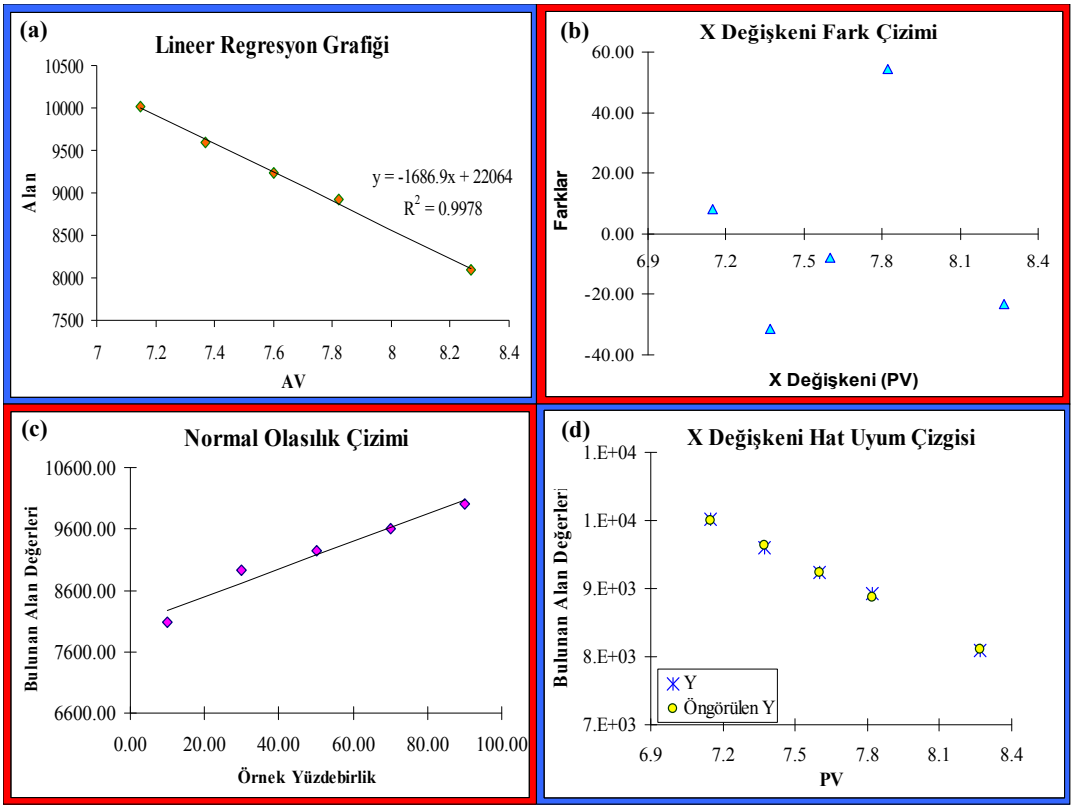
AV Tayini için Doğrusallık ve Lineer Ölçüm Aralığı:

AV tayinlerinde kullanılan her bir yağ cinsi için farklı AV aralıklarına sahip kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş, optimizasyon çalışmalarının yürütülmesinde de bu grafiklerden faydalanılmıştır. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesinde; polinomiyal ve lineer denklemlerden faydalanılmış, ayrıca her bir yağ için lineer aralık değerleri tespit edilmiştir ***(bkz. 8.7.3.)***.

FIA ile AV tayini için doğrusallık, AV: 7.15-8.27 aralığındaki mısır yağı numuneleri kullanılarak test edilmiş ve istatistiksel hesaplama sonuçları Tablo 8.145.`de özetlenmiştir. Ayrıca; diğer yağlar kullanılarak yürütülen AV tayinleri için de doğrusal ölçüm aralıkları, elde edilen pikler kullanılarak ***Şekil 8.166. - Şekil 8.169.*** arasında gösterilmiştir.

Tablo 8.145. AV: 7.15-8.27 Aralığında Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile AV Tayini için Doğrusallığın Hesaplanması

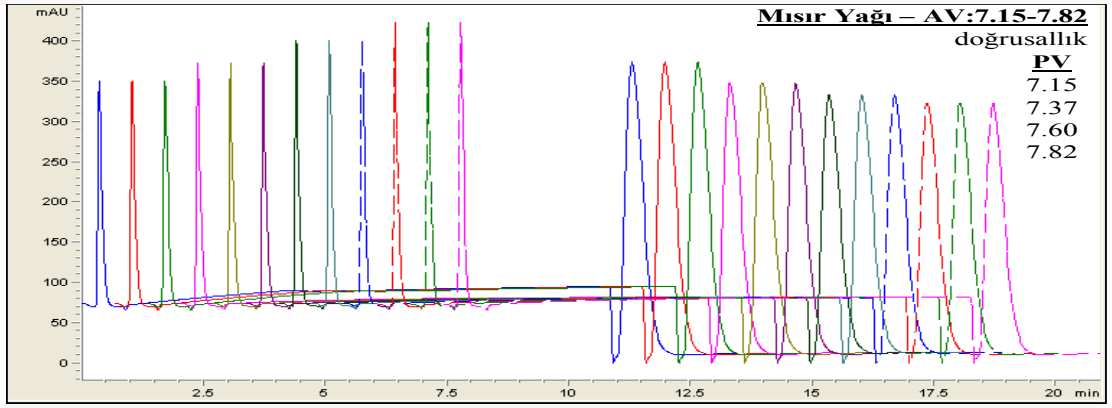
		AV Tayininde Doğrusallık				
AV	**Zaman (dk)**	**Alan**	**Yükseklik**	**Yarı pik genişliği**	**Alan%**	**Pik simetrisi**
7.15	11.249	10010.6	374.5	0.4456	84.573	0.557
7.37	11.241	9600	348.2	0.4507	82.808	0.551
7.60	11.245	9235.6	334.4	0.4603	81.604	0.548
7.82	11.243	8926.6	322.8	0.4608	79.937	0.55
8.27	11.249	8090	349.1	0.4231	78.551	0.571



Şekil 8.165. AV: 7.15-8.27 Aralığında Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak FIA ile AV Tayini için Metodun Doğruluğunun Belirlenmesinde Kullanılan Grafikler **(a)** Lineer Regresyon Grafiği, **(b)** AV Fark Çizimi, **(c)** Normal Olasılık Çizimi, **(d)** AV Hat Uyum Grafiği

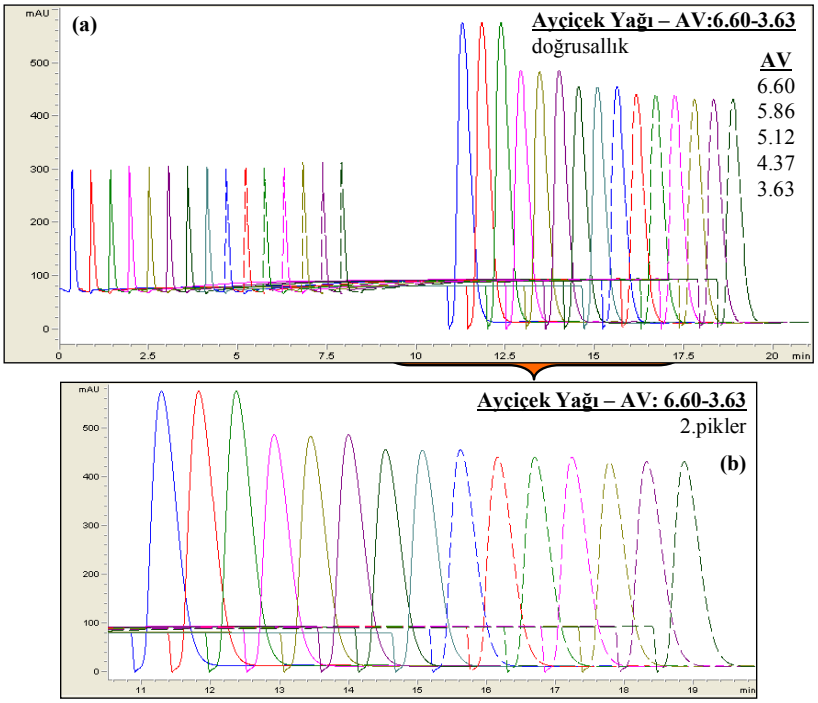
Tablo 8.146. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 7.15-8.27 Aralığında Mısır Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler ve Doğrusallık Hesaplamalarından Elde Edilen İstatistiksel Değerler

FIA ile AV Tayininde Doğrusallık Hesapları	
Regresyon İstatistikleri	
Gözlem Sayısı (N)	5
Eğim (a)	-1686.9
Kesim (b)	22064
Regresyon Katsayısı (r)	0.9989
Belirlilik Katsayısı (R^2)	0.9978
Standart Hata (SEM)	39.15

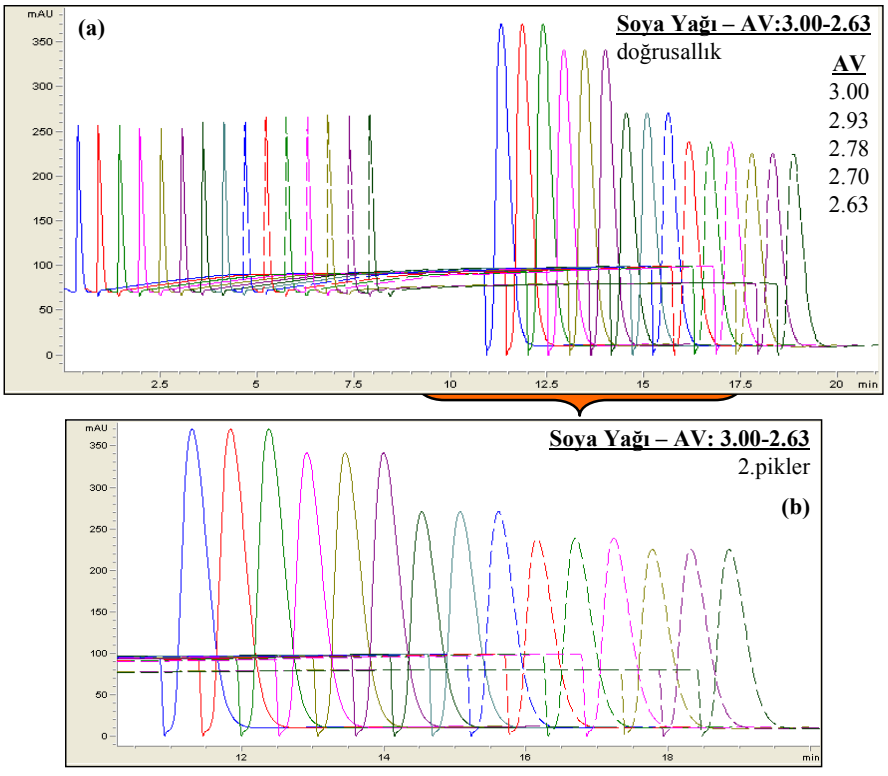


ANOVA	***df***	***SS***	***MS***	***F***	**Olasılık Değerleri**	
Regresyon	1.00	2116823.38	2116823.38	1380.80	***Yüzdebirlik***	***Y (Alan)***
Fark (artık)	3.00	4599.13	1533.04		10.00	8090.00
Toplam	4.00	2121422.51			30.00	8926.60
Regresyon Katsayıları	***Katsayılar***	***Standart Hata***	***t Stat***	***P-değeri***	50.00	9235.60
Kesim	22063.90	347.36	63.52	0.00	70.00	9600.00
X Değişkeni (AV)	-1686.91	45.40	-37.16	0.00	90.00	10010.60

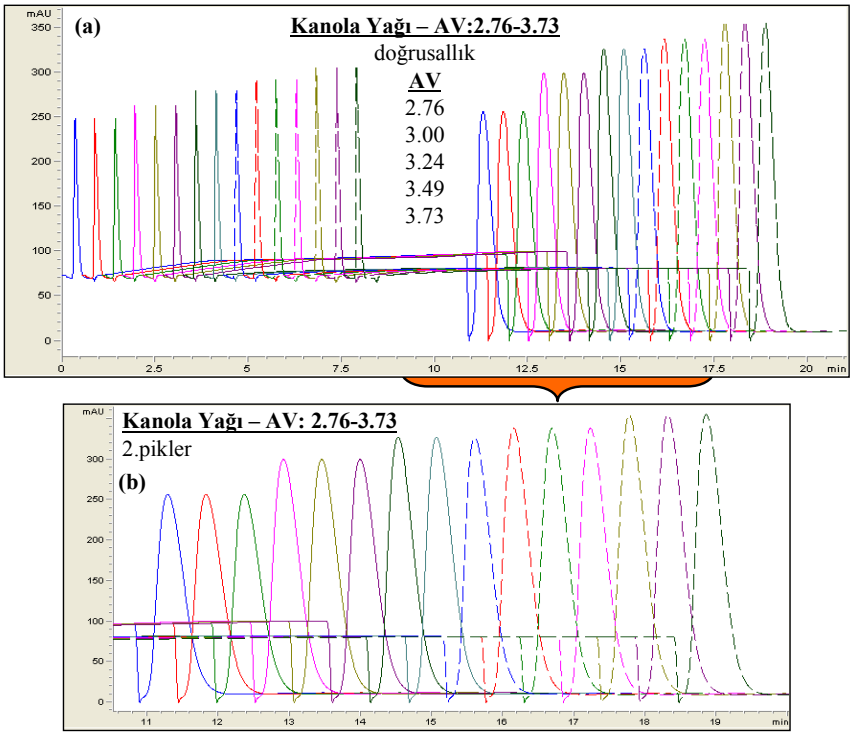
Fark (artık) Değerleri	***Gözlem***	***Öngörülen Y (Alan)***	***Farklar (artık)***	***Standart. Farklar (artık)***
	1	10002.52	8.08	0.24
	2	9631.40	-31.40	-0.93
	3	9243.41	-7.81	-0.23
	4	8872.29	54.31	1.60
	5	8113.18	-23.18	-0.68



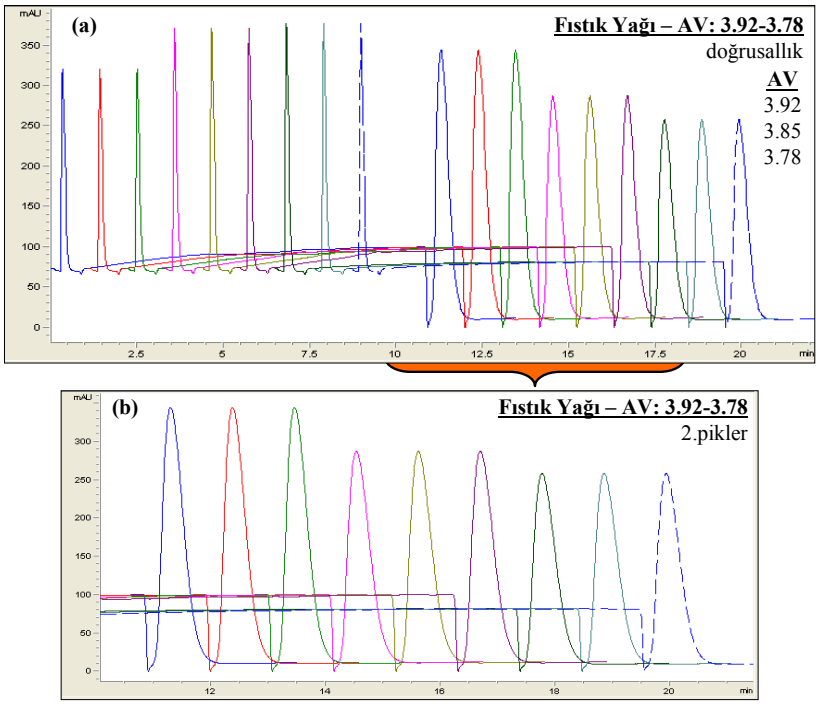
Şekil 8.166. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 6.60-3.63 Aralığında Ayçiçek Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler



Şekil 8.167. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 3.00-2.63 Aralığında Soya Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler



Şekil 8.168. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 2.76-3.73 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler



Şekil 8.169. FIA ile AV Tayinleri için Metodun Doğrusallığının Tespiti Amacıyla AV: 3.92-3.78 Aralığında Kanola Yağı Numuneleri Kullanılarak Gerçekleştirilen Deneylerinden Elde Edilen Pikler

AV Tayini için FIA Metodunun Sağlamlığı:

FIA ile AV tayininde; taşıyıcı faz akış hızı, numune & reaktif hacmi, reaksiyon hücresi, sıcaklık gibi birçok parametrenin AV tayini üzerine etkileri incelenmiş ve incelemeler sırasında FIA yönteminin tekrarlanabilirlik, doğrusallık gibi önemli validasyon parametrelerini sağladığı belirlenmiştir. Dolayısıyla; AV tayini için FIA yöntemi sağlamlık açısından güvenilir bulunmuştur.

AV Tayini için FIA Metodunun Hassasiyeti:

AV tayini için FIA metodunun hassasiyeti; çalışmada kullanılan yağ cinslerinin her biri için çizilen kalibrasyon grafikleri yardımıyla, kalibrasyon hassasiyeti (m) hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Kalibrasyon hassasiyeti; AV çalışmalarından elde edilen 2. pikler kullanılarak, her bir yağ numunesi için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Mısır yağı için: → y = **-1621.3**x + 21527 Kanola yağı için: → y = **2447.4**x + 374.73

Ayçiçek yağı için:→ y = **429.18**x + 9288.6 Yer fıstığı yağı için: → y = **6021.1**x - 14217

Soya yağı için: → y = **9174.3**x - 17936

Kalibrasyon hassasiyeti için eğim değerlerine bakıldığında;

- AV tayinlerinde FIA metodunun, soya yağı numuneleri için daha hassas olduğu söylenebilir.

8.7.5. AV tayini için FIA metodunun standart metotlarla karşılaştırılması

- ***Mısır yağı numuneleri ile gerçekleştirilen AV tayinleri için t testi***

Kolmogorov-Smirno testi ile normal dağılımı kontrol edilen veriler üzerinde gerçekleştirilen bağımsız iki örnek-t testi ve F testi sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Tablo 8.147. FIA ve Standart Metotlar Kullanılarak Mısır Yağı Numunesi için Gerçekleştirilen AV Tayinlerinden Hesaplanan AV Değerleri

AV Değerleri			
	FIA metodu ile (N=5)	**Standart metot ile (N= 5)**	
$\overline{X}_1$ *: 8.30* *s: 5.9x* 10^{-2}	8.39	8.21	$\overline{X}_1$ *: 8.36* *s: 0.15*
	8.42	8.13	
	8.20	8.45	
	8.33	8.67	
	8.27	8.19	
	FARKLI YAĞ NUMUNELERİ İÇİN KARŞILAŞTIRMA		
	$8.29 \pm 6.1x\ 10^{-2}$	8.05 ± 0.12	
	$8.11 \pm 4.6x\ 10^{-2}$	7.95 ± 0.10	
	$8.45 \pm 6.2x\ 10^{-2}$	8.12 ± 0.13	
	$8.78 \pm 7.1x\ 10^{-2}$	8.91 ± 0.16	
	$7.96 \pm 4.0x\ 10^{-2}$	7.79 ± 0.09	

İki metottan elde edilen deneysel verilerin ***(Tablo 8.147.)*** kullanılmasıyla, çift taraflı olarak hesaplanan ($\frac{N-1}{p}$ = 0.025 dikkate alınarak) ***t değeri: -0.29*** olarak, ***kritik t değeri (tablodan) ise 2.78*** olarak belirlenmiştir (p=0.05). Çift taraflı p değeri ise; 0.78 olarak hesaplanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda, %95 güven seviyesinde H_0 hipotezinin reddedilemeyeceği açıkça görülmektedir. Şöyle ki;

$t_{\text{hesaplanan}}$: -0.29 < t_{kritik} : 2.78

olduğundan hesaplanan t değeri, dağılım grafiğinde kabul bölgesine düşmektedir. Bu sebeple; $\overline{X}_1 = \overline{X}_2$ olduğunu ileri süren H_0 hipotezi reddedilemez, yani; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının ortalaması birbirinden anlamlı olarak farklı değildir.

<u>Mısır yağı numuneleri ile gerçekleştirilen AV tayinleri için F testi</u>

FIA ve standart metotlardan elde edilen deneysel verilerin ***(Tablo 8.147.)*** kullanılmasıyla, çift taraflı olarak hesaplanan ***F değeri: 0.09*** olarak, ***kritik F değeri (tablodan) ise 15.44*** olarak belirlenmiştir (p=0.05). Çift taraflı p değeri ise; 0.08 olarak hesaplanmıştır.

Buna göre; %95 güven seviyesinde H_0 hipotezinin reddedilemeyeceği açıkça görülmektedir. Şöyle ki;

$$\mathbf{F}_{\text{hesaplanan}} : 0.09 < \mathbf{F}_{\text{kritik}} : 15.44$$

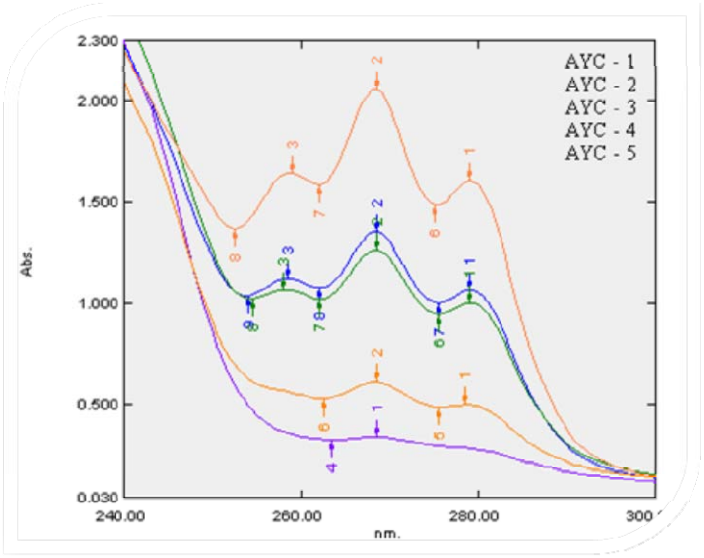
olduğundan hesaplanan F değeri, dağılım grafiğinde kabul bölgesine düşmektedir. Aynı durum, p değeri dikkate alındığında da geçerlidir. Bu sebeple; $s_1^2 = s_2^2$ olduğunu ileri süren H_0 hipotezi reddedilemez, yani; FIA ve standart metotlardan elde edilen veri gruplarının varyansları birbirinden anlamlı olarak farklı değildir.

8.7.6. Çalışmada Kullanılan Yağ Numunelerine Ait AV Değerlerinin $E\lambda_{270}$ Değerleri ile Uyumu

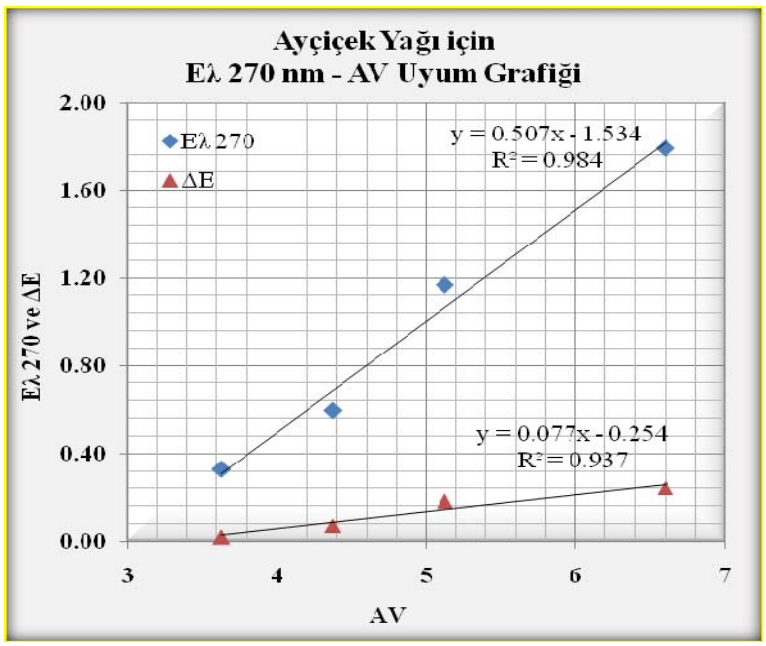
Yağlarda oluşan ikincil oksidasyon ürünlerinin bir göstergesi olarak kabul edilen AV değerlerini tespit etmek amacıyla kullanılan standart metotların yanı sıra, daha önce de belirtildiği gibi UV-vis spektrofotometre ile gerçekleştirilen özgül absorbans tayinlerinden elde edilen 270 nm dalga boyundaki veriler göz önünde bulundurularak, yağların AV değerlerine ilişkin genel bir fikir edinmek mümkündür.

Belirtilen sebeplerle; çalışmamızda kullandığımız yağ cinslerinin AV değerleri ile özgül absorbans tayinlerinden elde edilen 270 nm dalga boyundaki $E\lambda_{270}$ ve ΔE değerleri arasındaki uyumlar incelenmiş ve mısır yağı dışındaki yağ cinsleri için oldukça yüksek korelasyonlar gözlenmiştir. Mısır yağı için gözlenen bu farklılığın ham mısır yağının sahip olduğu spesifik özelliklerinden özellikle de renginden kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı cinslerdeki yağ numunelerinin AV değerleri ile $E\lambda_{270}$ değerleri arasındaki uyumu belirlemek amacıyla çizilen grafikler ve özgül absorbans tayinlerinden elde edilen spektrumlar ***Şekil 8.170. - Şekil 8.177.*** arasında yer almaktadır[(48)].

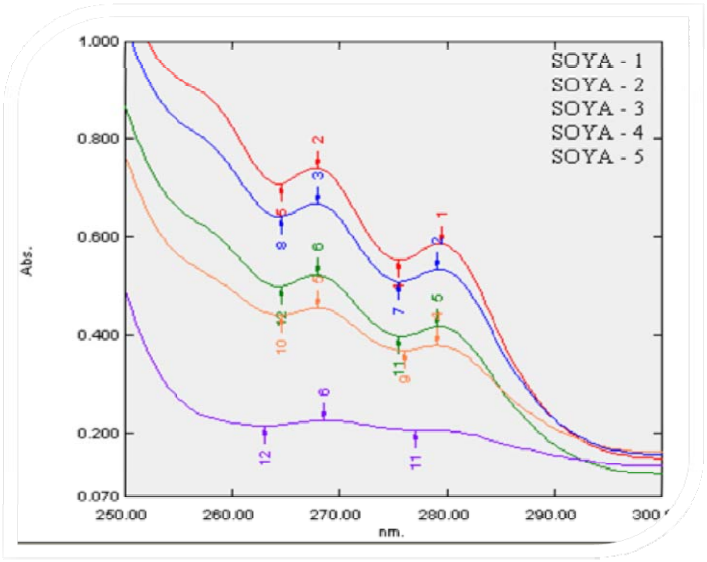
[(48)] $E\lambda_{270}$ değerleri, özgül absorbans tayin sonuçlarının özetlendiği tabloda yer almaktadır.



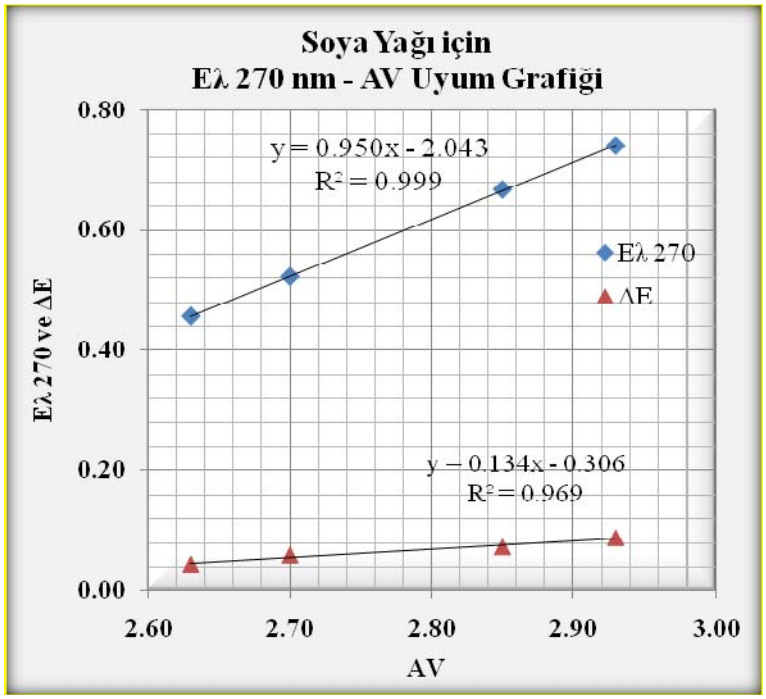
Şekil 8.170. Ayçiçek Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları AYC-1: AV= 6.60; AYC-2: AV= 5.86; AYC-3: AV= 5.12; AYC-4: AV= 4.37; AYC-5: AV= 3.63



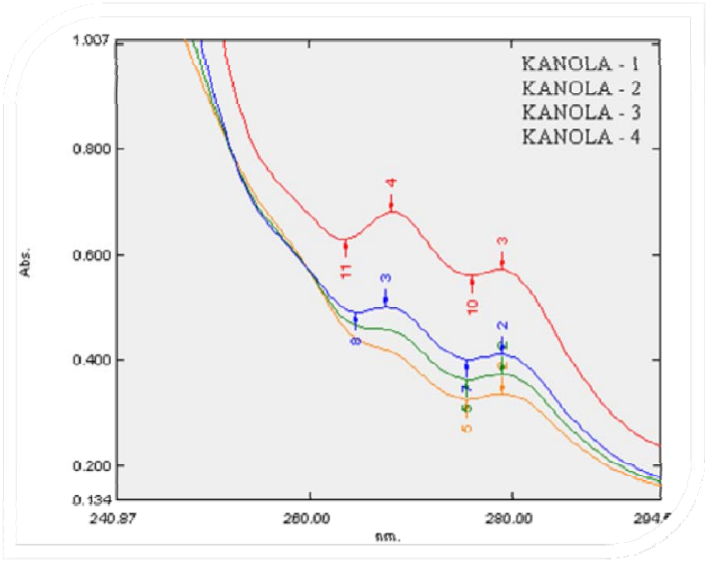
Şekil 8.171. Ayçiçek Yağı Numuneleri için AV-$E\lambda_{270}$ ve AV-ΔE Uyum Grafikleri



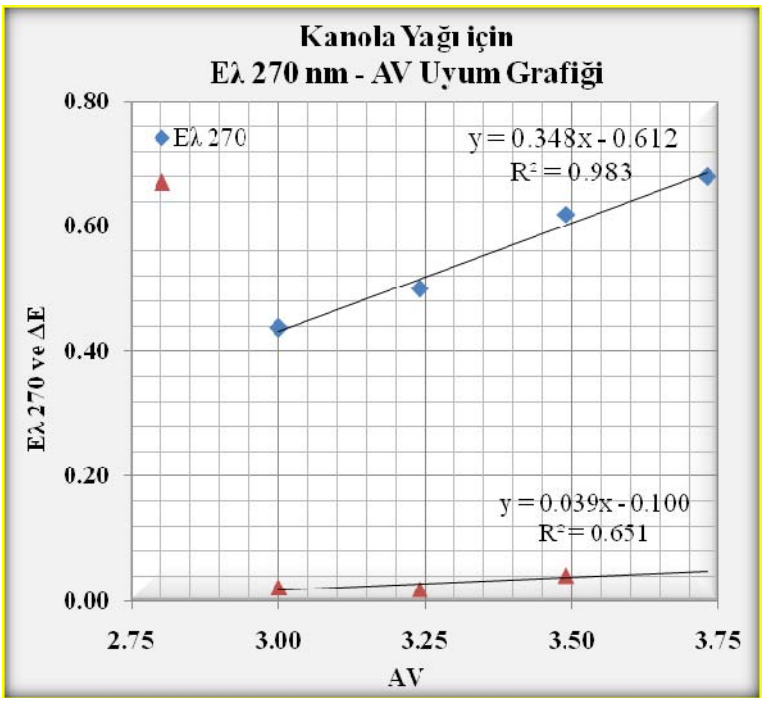
Şekil 8.172. Soya Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları SOYA-1: AV= 3.00; SOYA-2: AV= 2.93; SOYA-3: AV= 2.85; SOYA-4: AV= 2.70; SOYA-5: AV= 2.63



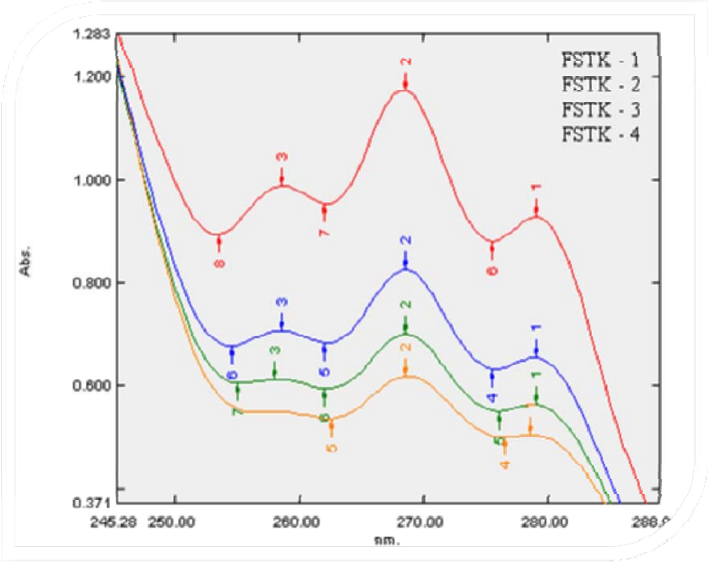
Şekil 8.173. Soya Yağı Numuneleri için AV-$E\lambda_{270}$ ve AV-ΔE Uyum Grafikleri



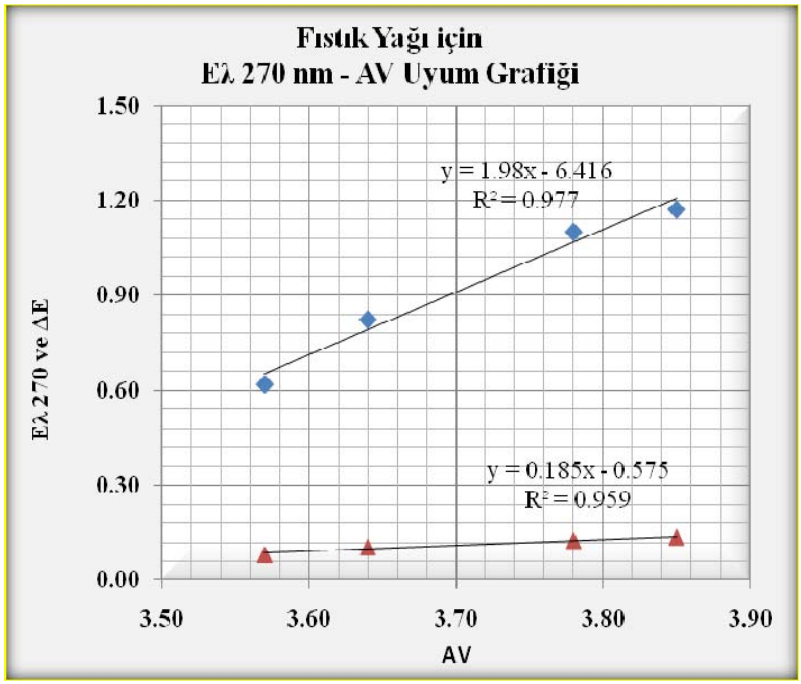
Şekil 8.174. Kanola Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları KANOLA-1: AV= 3.00; KANOLA-2: AV= 3.24; KANOLA-3: AV= 3.49; KANOLA-4: AV= 3.73



Şekil 8.175. Kanola Yağı Numuneleri için AV-$\mathbf{E\lambda_{270}}$ ve AV-ΔE Uyum Grafikleri



Şekil 8.176. Yer Fıstığı Yağı Numuneleri için Özgül Absorbans Tayinlerinden Elde Edilen UV-vis Spektrumları YER FISTIĞI-1: AV= 3.85; YER FISTIĞI-2: AV= 3.78; YER FISTIĞI-3: AV= 3.64; YER FISTIĞI-4: AV= 3.57



Şekil 8.177. Yer Fıstığı Yağı Numuneleri için AV-$E\lambda_{270}$ ve AV-ΔE Uyum Grafikleri

Çalışmamızda yer alan %FFA, PV ve AV tayinleri için geliştirilen FIA metotlarında kullanılabilecek alternatif şartlar ***Tablo 8.148.***`de yer almaktadır.

Tablo 8.148. %FFA, PV ve AV Tayinleri için Geliştirilen FIA Metotlarında Kullanılabilecek Alternatif Şartlar

	Yağ		Taşıyıcı Faz		Reaktif		Enjeksiyon		Reaksiyon Hücresi	Reaksiyon Süresi	Sıcaklık	Dedektör
	Cinsi	%FFA, PV, AV Değerleri	Cinsi	Hızı (mL/dk)	Cinsi	Konsantrasyonu	Şekli	Hacmi (µL)				
Manuel Enjeksiyonlu %FFA Tayini	Ayçiçek	%FFA: 0.07; 0.40; 0.74; 1.40	n-propanol	0.1; 0.5; 1.0; 2.0; 3.0	X M KOH + Y M PHP (n-propanol içinde çöz.)	X: 1.0x 10^{-3} M Y: 5.0x 10^{-5} M	direk	20 µL	Laboratuvar yapımı Coil 1: 174 cm, (ID/id= 10) Coil 2: 71 cm, (ID/id= 6) Coil 3: 128 cm, (ID/id= 60)	-	40°C	UV
	Mısır	%FFA 0.09; 0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.50; 2.00; 2.42	n-propanol	2.0	X M KOH + Y M PHP (n-propanol içinde çöz.)	X: 1.25x 10^{-3}- 5.00x 10^{-3} M Y: 6.25x 10^{-5} – 75.00x 10^{-5} M	direk	20 µL	Laboratuvar yapımı Coil 1: 174 cm, (ID/id= 10) Coil 2: 71 cm, (ID/id= 6) Coil 3: 128 cm, (ID/id= 60) Coil 4: 168 cm, (ID/id= 60)	-	40°C	UV
Otşomatik Enjeksiyonlu %FFA Tayini	Mısır (optmz.)	%FFA: 0.09; 0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.50; 2.00; 2.42	n-propanol	2.0	X M KOH + Y M PHP (n-propanol içinde çöz.)	X: 1.00x 10^{-3}- 5.00x 10^{-3} M Y: 5.00x 10^{-5} – 25.00x 10^{-5} M	R/N/R	R: 5-30 µL N: 0.1-40 µL	Ticari 50 µL (ID= 0.51 mm) 200 µL (ID= 0.76 mm) 500 µL (ID= 0.76 mm)	-	40-50-80°C	UV ve DAD
					X M KOH + Y M BTB (n-propanol içinde çöz.)	X: 8.40x 10^{-4} M Y: 25.00x 10^{-5} M		R: 30 µL N: 1 µL			20-40-60-80°C	
			Etil alkol-dietil eter (1:1)	2.0	X M KOH + Y M PHP (etil alkol-dietil eter içinde çöz.)	X: 2.50x 10^{-3} M Y: 25.00x 10^{-5} M	R/N/R	R: 30 µL N: 1 µL	Ticari 50 µL (ID= 0.51 mm)	-	40°C	DAD
					X M KOH + Y M BTB (etil alkol-dietil eter içinde çöz.)	X: 2.50x 10^{-4} M Y: 25.00x 10^{-5} M						
	Ayçiçek	%FFA: 0.09; 0.49; 0.90; 1.30; 1.71; 2.11	n-propanol	2.0	X M KOH + Y M PHP (n-propanol içinde çöz.)	X: 2.50x 10^{-3} M Y: 20.70x 10^{-5} M	R/N/R	R: 30 µL N: 1 µL	Ticari 50 µL (ID= 0.51 mm)	-	40°C	DAD
	Soya	%FFA: 0.07; 0.29; 0.52; 0.75; 0.98; 1.21			X M KOH + Y M BTB (n-propanol içinde çöz.)	X: 8.40x 10^{-4} M Y: 25.00x 10^{-5} M						
	Kanola	%FFA: 0.04; 0.37; 0.65; 0.82; 1.10; 1.21	Etil alkol-dietil eter (1:1)	2.0	X M KOH + Y M PHP (etil alkol-dietil eter içinde çöz.)	X: 2.50x 10^{-3} M Y: 25.00x 10^{-5} M						
	Yer Fıstığı	%FFA: 0.13; 1.13; 1.62; 2.51; 3.45; 4.95;			X M KOH + Y M BTB (etil alkol-dietil eter içinde çöz.)	X: 2.50x 10^{-4} M Y: 25.00x 10^{-5} M						

	Yağ		Taşıyıcı Faz		Reaktif		Enjeksiyon		Reaksiyon Hücresi	Reaksiyon Süresi	Sıcaklık	Dedektör
	Cinsi	**%FFA, PV, AV Değerleri**	**Cinsi**	**Hızı (mL/dk)**	**Cinsi**	**Konsantrasyonu**	**Şekli**	**Hacmi (µL)**				
Otomatik Enjeksiyonlu PV Tayini	Ayçiçek (optmz.)	PV: 1.25; 3.35; 5.45; 7.55; 9.66; 11.76; 13.86; 15.96; 18.06	n-propanol	3.0	X M HAc + Y M NaI çözeltisi (n-propanol içinde çözülmüş)	X: %25-%45-%60 HAc (n-propanol içindeçözülmüş) Y: %1 NaI çözeltisi (n-propanol içindeçözülmüş)	R/N/R	R: 30 µL N: 40 µL	Ticari 2 adet 1 mL (ID= 0.76 mm)	-	40°C	DAD
			%1-%2.5-%5`lik NaI çözeltisi (n-propanol içinde çözülmüş)		%X HAc (n-propanol içindeçözülmüş)	%25-%45-%60						
	Mısır	PV: 3.58; 5.20; 6.81; 8.40; 10.05;	%1`lik NaI çözeltisi (n-propanol içinde çözülmüş)	3.0	%X HAc (n-propanol içindeçözülmüş)	%25-%45-%60	R/N/R	R: 30 µL N: 40 µL	Ticari 2 adet 1 mL (ID= 0.76 mm)	-	40°C	DAD
	Soya	PV: 1.52; 2.71; 5.08; 7.45; 8.64; 9.82;										
	Kanola	PV: 2.99; 3.38; 3.77; 4.16; 4.52; 4.95;										
Otomatik Enjeksiyonlu AV Tayini	Ayçiçek (optmz.)	AV: 6.60; 5.86; 5.12; 4.37; 3.63	n-propanol	3.0	p-anisidin çözeltisi (buzlu asetik asitte çözülmüş)	0.3-0.5-0.8 M	R/N/R	R: 30 µL N: 1; 3; 5; 7 µL	Ticari 2 adet 1 mL (ID= 0.76 mm)	-	40°C	DAD
	Mısır	AV: 7.15; 7.37; 7,60; 7.82; 8.27	n-propanol	3.0	p-anisidin çözeltisi (buzlu asetik asitte çözülmüş)	0.3 M	R/N/R	R: 30 µL N: 3 µL	Ticari 2 adet 1 mL (ID= 0.76 mm)	-	40°C	DAD
	Soya	AV: 3.00; 2.93; 285; 2.78; 2.70; 2.63										
	Kanola	AV: 2.76; 3.00; 3.24; 3.49; 3.73										
	Yer Fıstığı	AV: 3.85; 3.78; 3.64; 3.57										

9. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İnsan hayatında en önemli enerji kaynağı olan ve diyetin vazgeçilmez bir parçasını oluşturan yağların kalitelerini artırmak ve kontrollerini sağlamak amacıyla, gerçekleştirilen analizlerden %FFA, PV ve AV tayinleri, tarafımızdan geliştirilen FIA metotları ile otomatikleştirilmiş, deneylerde kullanılan parametreler, ayçiçek, mısır, soya, kanola, yer fıstığı gibi yağlar için optimize edilmiştir. Optimizasyon çalışmalarından elde edilen verilerin kullanılmasıyla oluşturulan kalibrasyon grafikleri ve eğri denklemlerinin kullanılmasıyla da %FFA, PV ve AV değerleri bilinmeyen yağların bu değerleri tespit edilmeye çalışılmıştır.

Standart metotlara alternatif bir metot olarak tarafımızdan önerilen FIA metodunun, yukarıda belirtilen yağ analizleri için kullanılabilirliğini kanıtlamak ve metodun performansını tespit etmek amacıyla, metot validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş ve çalışmalar sonucunda FIA metodunun; yüksek tekrarlanabilirliğe, geniş bir lineer aralığa ve düşük LOD ve LOQ değerlerine sahip bir metot olduğu belirlenmiştir. Ayrıca; FIA metodundan elde edilen sonuçlar ile standart metotlardan elde edilen sonuçlar istatistiksel F ve t testlerinden faydalanılarak karşılaştırılmış ve iki metot arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (%95 güven seviyesinde). Böylece; standart metotlarla iyi bir uyum gösteren FIA metodunun belirtilen yağ analizleri için kullanımının uygun olduğu kanıtlanmıştır.

Çalışmamızda FIA metodu kullanılarak otomatikleştirilen yağ analizleri, yağ sanayi sektöründe günde yüzlerce kez yapılmak zorundadır ve bu analizlerin gerçekleştirilmesinde; kalifiye insan gücü, fazla miktarda kimyasal madde kullanımı, en önemlisi de uzun zamana ihtiyaç duyulmaktadır. Uzun yıllardır standart metotlar kullanılarak gerçekleştirilen bu analizlerden elde edilecek sonuçların doğruluğu ise; analizlerin gerçekleştirildiği şartlara bağlı olarak değişmektedir.

Standart metotlar incelendiğinde; oldukça fazla miktarda numune *(~0.1-20.0 g)* ve çözücü *(~10-100 mL)* sarfiyatı gerektiren, zaman alıcı *(~10-120 dk)*, yorucu ve analizler için gerekli ortam şartlarının sağlanmasında yetersiz kalan *(hava oksijeni, ışık vb. faktörlerden etkilenen)* teknikler oldukları görülmektedir.

Standart metotlardaki bu eksikliklerin giderilmesi için, son on yıldır FIA metotları ile yağ analizlerine yönelik birtakım çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Fakat; yapılan bu çalışmalar incelendiğinde; analitiksel ve istatistiksel açıdan son derece yetersiz oldukları, optimizasyon çalışmalarının tam olarak gerçekleştirilmediği, dolayısıyla; çalışma sonuçlarının yağ sektöründe kullanımlarının çok uygun olmadığı görülmüştür. Ayrıca; literatürde yer alan çalışmaların gerçekleştirilmesinde sadece nihai ürünler (rafine yağ) esas alınmış, aynı zamanda; analizleri gerçekleştirilmesi gereken ham yağlar ve rafinasyon ara basamak ürünleri üzerinde hiçbir inceleme yapılmamıştır. İşte bundan dolayıdır ki; yağ sektöründe, bir ham yağın işlenmeye uygun özellikler taşıyıp taşımadığına, işlenebilir özellikte olanların işlem basamağının hangi aşamasında olduğuna ve yağın durumuna göre işleme son verilip verilmemesi gerektiğine karar vermede kullanılan yağ analizlerinin, literatürdeki bu çalışmalar doğrultusunda yürütülmesi doğru bir yaklaşım olmaz.

Yemeklik yağlardaki %FFA, PV ve AV tayinleri için tarafımızdan önerilen FIA metodu, yukarıda belirtilen eksiklikleri giderebilecek, hatta birçok üstünlüğü ortaya koyabilecek bir metottur. Daha objektif bir değerlendirme yapılabilmesi amacıyla; tarafımızdan önerilen FIA metotlarının, literatürde yer alan çalışmalardan farkları ve geliştirilen metodun üstünlükleri aşağıda özetlenmeye çalışılmıştır:

- Genellikle sulu çözeltiler için kullanılan FIA metodunun, susuz ortam reaksiyonları gerektiren yağ analizleri için de uygulama kazanması sağlanmıştır.
- FIA metodu ile gerçekleştirilen yağ analizleri, bir HPLC sisteminin modifiye edilmesiyle yürütülmüştür.
- FIA metodu ile geliştirilen/otomatikleştirilen yağ analizlerinin tamamı, uygun bağlantılar ve reaksiyon hücreleri ile oluşturulan tek bir sistem üzerinde gerçekleştirilmiş, böylece ard arda farklı analizler yapılmak istendiğinde sistem bağlantılarında herhangi bir değişikliğe gerek kalmamıştır.
- Standart metotlarla sağlanamayan deneysel ortam şartları, oluşturulan izole sistem sayesinde rahatlıkla sağlanmıştır.
- Ayçiçek, mısır, soya, kanola ve yer fıstığı yağları temel alınarak yürütülen çalışmalarda, Türkiye`nin sayılı yağ fabrikalarının biriyle çalışılmış ve her bir yağ cinsi için gerekli ham, rafine ve ara basamak yağları kolaylıkla temin edilmiştir.

- %FFA, PV ve AV değerleri belirlenen yağ numuneleri herhangi bir ön işlemden geçirilmeksizin, direk olarak sistem içine enjekte edilmiştir.
- Deneylerde kullanılan numune ve reaktif miktarları mikrolitre seviyesinde tutulmuştur.
- İstenilen reaksiyonun kısa sürede ve istenilen düzeyde gerçekleşmesini sağlamak için; reaktif/numune/reaktif şeklinde bir enjeksiyon programı uygulanmıştır.
- Numune ve reaktiflerin sisteme gönderilmesi/enjekte edilmesi sırasında taşıyıcı faz olarak kullanılan çözücü ve/veya çözeltilerin sarfiyatını azaltmak amacıyla; numune verici devreye girdiğinde, akış hızı otomatik olarak sıfırlanmaya programlanmıştır.
- Oluşturulan sistem bağlantı uzunlukları gerekli ölçülerde kullanıldığından, zamandan ve çözücü/çözelti sarfiyatından tasarruf edilmiştir.

Standart metotlar ve kullanımı tarafımızdan önerilen metotlarda kullanılan numune ve çözücü ve reaktif miktarları ve analiz sürelerinin karşılaştırılması ile yağ analizleri için önerilen FIA metodunun üstünlükleri daha iyi anlaşılabilir. ***Tablo 9.1., Tablo 9.2., Tablo 9.3.***`de her iki metot için sarfedilen kimyasal ve numune miktarları görülmektedir.

Tablolardan da görüldüğü üzere; standart metotlarda g veya mL cinsinden değerlendirilen numune miktarı, tarafımızdan önerilerilen metotlarda µL seviyesine indirilmiş, yüzlerce mL`ye ulaşan kimyasal miktarları da geliştirdiğimiz yeni sistem ve metodoloji sayesinde µL seviyesine düşürülmüştür. Analiz süreleri değerlendirildiğinde de tarafımızdan önerilen FIA metodunun daha iyi olduğu görülmektedir.

Tablo 9.1. %FFA Tayinlerinin Gerçekleştirilmesinde Kullanılan Standart ve FIA Metotlarının Karşılaştırılması

% FFA Tayini	Analiz Süresi	Çözücü Sarfiyatı	Yağ Miktarı	Titrant ve/veya Reaktif Miktarı
Standart Metot	7-8 dk	50mL etanol, 50 mL dietil eter	10-20 g	1-100 mL NaOH solution
Literatürdeki FIA Metodu	36-120 s	3-7 mL n-propanol	0,175 mL	4-6 mL KOH + ~ 0.5 mL indikatör
Çalışmamızdaki FIA Metodu	20-50 s	0,6-1 mL n-propanol	1 µL	60 µL

Tablo 9.2. PV Tayinlerinin Gerçekleştirilmesinde Kullanılan Standart ve FIA Metotlarının Karşılaştırılması

PV Tayini	Analiz Süresi	Çözücü Sarfiyatı	Yağ Miktarı	Titrant ve/veya Reaktif Miktarı
Standart Metot	10-15 dk	10 mL kloroform, 15 mL asetik asit	1-10 g	5-50 mL $Na_2S_2O_3$ çözeltisi + 2 mL nişasta
Literatürdeki FIA Metodu	~ 11 dk	3.4 mL n-propanol + 3 mL asetik asit	0,02 mL	~ 1.0 mL NaI + ~ 2.0 mL HAc
Çalışmamızdaki FIA Metodu	~ 7 dk	~3 mL n-propanol	40 µL	2.1 mL NaI çözeltisi + 60 µL HAc

Tablo 9.3. AV Tayinlerinin Gerçekleştirilmesinde Kullanılan Standart ve FIA Metotlarının Karşılaştırılması

AV Tayini	Analiz Süresi	Çözücü Sarfiyatı	Yağ Miktarı	Titrant ve/veya Reaktif Miktarı
Standart Metot	10-15 dk	25 mL izooktan, 15 mL asetik asit	0.1-4.0 g	1 mL p-anisidin
Literatürdeki FIA Metodu	~ 11 dk	1.4 mL 2-propanol 0.4 mL asetik asit	0,04 mL	~ 1.0 mL p-anisidin
Çalışmamızdaki FIA Metodu	~ 7 dk	~3 mL n-propanol	3 µL	2.1 mL p-anisidin çözeltisi + 60 µL HAc

Çalışma boyunca gerçekleştirilen yağ analizlerine ait deneyler incelendiğinde; birçok parametre değerinin optimize edildiği ve FIA ile geliştirilen %FFA, PV ve AV tayinleri için yeni alternatif teknikler, reaktif, çözücü, indikatör vb. kullanımları önerilmiştir. Bu hususun, yağ sektörü çalışanları ve literatür açısından oldukça önemli olduğu, tercihe ve imkanlara bağlı olarak bu tekniklerin kullanımlarının değişebileceği düşünülmektedir.

Fakat; önerilen FIA metotları için belirlenen şartların daha kolay uygulanabilmesi ve daha yalın bir hale getirilmesi açısından, yağ cinsine bağlı olmaksızın tüm yemeklik yağlar için kullanılabilecek değerlerin, şablon halinde kullanıcıya sunulması gerekmektedir. Bu sebeple; %FFA, PV ve AV tayinlerinin gerçekleştirilmesinde kullanılmak üzere tarafımızdan geliştirilen FIA metotları ile tüm yemeklik yağlar için uygun sonuçlar elde edileceği düşünülen parametreler ***Tablo 9.4.*** `de özetlenmeye çalışılmıştır.

Tablo 9.4. %FFA PV ve AV Geliştirilen FIA Metotlarının Tüm Yemeklik Yağlar için Kullanılabilecek Parametre Değerleri

FIA ile Gerçekleştirilen Yağ Analizleri	Taşıyıcı Faz	Akış Hızı	**Reaktif**	**Enjeksiyon Şekli**	Numune Hacmi	Reaksiyon için Bekletme Süresi	6Ä˝°Œ‡Æ#	Dalga Boyu
%FFA Tayini	n-propanol	2 mL/dk	$2.5.10^{-3}$ M KOH ve 25.10^{-5} M PHP (n-propanol içinde çözülmüş)	30 µL Reaktif / 1 µL Numune / 30 µL Reaktif	1 µL (direk enjeksiyon)	-	40 °C	580 nm
PV Tayini	%1NaI çözeltisi (n-propanol içinde çözülmüş)	3 mL/dk	%60 HAc çözeltisi (n-propanol içinde çözülmüş)	30 µL Reaktif / 40 µL Numune / 30 µL Reaktif	40 µL (direk enjeksiyon)	5 dk	40 °C	360 nm
AV Tayini	n-propanol	3 mL/dk	0.3 M p-anisidin çözeltisi (buzlu HAc içinde çözülmüş)	30 µL Reaktif / 3 µL Numune / 30 µL Reaktif	3 µL (direk enjeksiyon)	5 dk	40 °C	350 nm

Sonuç olarak; yağ sanayi sektörü ve analitik kimya açısından son derece önemli bir gelişme olduğu düşünülen bu tez çalışması sonunda geliştirilen sistem ve yağ analiz metotlarının;

- Endüstride ve laboratuarlarda uygulanabiliyor olmaları,
- HPLC sistemlerine ve yazılımlarına kolayca entegre olmaları,
- Yüksek miktarlardaki çözücü sarfiyatının önüne geçmeleri,
- Numune miktarını mL düzeyinden µL düzeyine indirmeleri (~10 mL`ye → 1 µL)
- Analizciden kaynaklanan hataları bertaraf etmeleri,
- On-line enjeksiyon işlemleri için de uygun olan, ön işlemlere tabi tutulmadan numune enjeksiyonu yapılmasına izin vermeleri,
- Analizlerin oldukça kısa bir sürede tamamlabilmesine izin vermeleri,
- Standart metotlara kıyasla daha geniş kullanım alanına sahip, daha ekonomik, daha doğru, tekrarlanabilirliği yüksek, çevre dostu, daha az çözücü kullanımı gerektiren ve birçok yağ analizi için ilave sistemlere ihtiyaç duymadan kullanılabilecek düzeyde olmaları,

gibi özellikleri sebebiyle; yemeklik yağların analizleri için uygulanmakta olan standart metotlardan, otomatikleştirilmiş analiz sistemlerine geçiş sağlanabileceği düşünülmekte ve tekniğin ülkemizdeki tüm bitkisel yağ sanayi sektörü için yol gösterici olacağına inanılmaktadır. Metodun sektörde uygulanabilirliği başlatıldığı taktirde ise; düşük maliyetli, yüksek katma değerli ürünlerin elde edilmesi mümkün olacatır. Ayrıca; halen kullanılmakta olan standart metotlara göre; otomasyon-hız, çevre dostu olması gibi açılardan "iyileştirme ve ilerleme" sağlamaya yönelik bir metot olacağı düşünülmektedir. Ayrıca; sistemin ve analiz metotlarının patentlendirilerek, yağ sanayi araştırma ve analiz sektörü kullanıcılarının hizmetine sunulması düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akasaka, K. and Ohrui, H., (1998), "Flow injection analysis of lipid hydroperoxides", *J. Japan Oil Chem. Soc.,* 47, 1053.
- Akasaka, K. Takamura, T. Ohrui, H. Meguro, H. and Hashimoto K., (1996), "Highly sensitive flow injection analysis of lipid hydroperoxides in foodstuffs", *Biosci. Biotechnol. Biochem,* 60, 1772.
- Allen, J.C. and Hamilton, R.J., (1994), "Rancidity in Foods" Chapman & Hall, Glasgow.
- Amelio, M., "Chemical-physical characteristics of olive oils" (2003) ONAOO.
- Amelio, M., "Chemical-physical characteristics of olive oils" (2003) ONAOO.
- Anonymous, (1995), Guidance for methods development and methods validation for the Resource Conservation and Recovery Act (RCRA) Program, US EPA, Washington,
- Arslan, F.N., (2009), "Ülkemizde Üretilen Pamuk Yağlarının Rafinasyonunun İyileştirilmesiyle Kullanım Verimliliklerinin Artırılması" (Yüksek Lisans Tezi), S.Ü. *Fen Bil. Enstitüsü*, Konya.
- Bayaz M., (1992), "Fiziksel ve Kimyasal Rafinasyonun Zeytinyağının Özelliklerine Etkileri" (Yüksek Lisans Tezi), *E. Ü. Fen Bil. Enstitüsü*, Bornova, İzmir.
- Baydar, H., (2000), "Bitkilerde yağ sentezi, kalitesi ve kaliteyi artırmada ıslahın önemi" *Ekin Dergisi*, 11, 50-57.
- Bernardini, E., (1973), "New Oil and Fat Technology" *2nd Ed. Technology*, s.r.l. Rome, 423-467.
- Bonastre, A. Ors, R. and Peris, M., (2004), "Advanced automation of a flow injection analysis system for quality control of olive oil through the use of a distributed expert system" *Analytica Chimica Acta* 506, 189-195.
- Büke, B. "Akışa Enjeksiyonlu (on-line) Katı Faz Özütleme Yöntemiyle Bakırın Deriştirilmesi" Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2006.
- Caňada, M.J. Medina, A.R., and Lendl, B., (2001), "Determination of Free Fatty Acids in Edible Oils by Continuous-Flow Analysis with FT-IR Spectroscopic Detection" *Applied Spectroscopy,* 55, Number 3.

- Chao-Hsiang, W. Jennifer L, L., "HeMicro Sequential Injection Lab-On-Valve for Process Monitoring and Bioanalytical Assays (2003), *Process Analytical Technology,* Amgen, Inc.

- Çelik, H.D., (2007), "Amoksisilin`in İnsan Plazmasında HPLC ile Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu" (Yüksek Lisans Tezi), *Gazi Üniversitesi, Sağlık bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı*, Ankara.

- Demirci, M., (2005), "Beslenme" *Onur Grafik yayıncılık*, İstanbul, II. Baskı, 79–91,.

- Ekstrom, L.G., (1981), "An automatized method for determination of free fatty acids", *JAOCS, 58,* 935.

- Elias, A.G. Zagatto, Jacobus, F. Van, S. Nelson,M. Raluca, I. Stefan. and Graham, D. Marshall., (2002), "INFORMATION ESSENTIAL FOR CHARACTERIZING A FLOW-BASED ANALYTICAL SYSTEM" *Pure Appl. Chem*., Vol. 74, No. 4, pp. 585–592.

- Ersoy, B., (1985), "Zeytinyağının Bileşim Özellikleri" Tarım Orman Köy İşleri Bakanlığı, *Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Yayınları*, No: 34, Bornova-İzmir.

- Ertas Söğüt, Ö., (1997), "Bazı Enstrümanlardaki (AAAS`ye Yönelik) Analitik Validasyon Parametrelerinin Ortaya Konması" (Doktora Tezi), *Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İzmir.

- Evans, C.D. Frankel E.N. Cooney M. and Moser H.A., (1960), "Effect of Autoxidation Prior to Deodorization on Oxidative and Flavor Stability of Sotbean Oil" *Journal of the American Oil Chemists' Society* 37(9), 452-456.

- Fang, Z. Guo, T. Welz, B.,(1991), " Determination of cadmium, lead and copper in water samples by flame atomic-absorption spectrometry with preconcentration by flow-injection on-line sorbent extraction" 38(6), 613-619.

- Fang, Z. Sperling, M. and Welz, B., (1992), *Anal. Chim. Acta*, 269, 9.

- Fang, Z. Sun, L. Xu, S., (1992), "The first decade of flow-injection analysis in China" *Analytica Chimica Acta*, 261 (1-2), 557-576.

- Fang, Z. Welz, B. and Sperling, M., (1993), *Anal. Chem*, 65, 1682.

- Frank, J. Geil, J.V. and Freaso, R., (1982), "Automatic determination of oxidation stability of oil and fatty products" *Food Technology*, 71-76.

- Fuse, T. Kusu, F. and Takamura K., (1997), "Determination of acid values of fats and oils by flow injection analysis with electrochemical detection" *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,* 15, 1515-1519.

- Gadoth, N., "On Fish Oil and Omega-3 Supplementation in Children: The Role of Such Supplementation on Attention and Cognitive Dysfunction", Brain & Development, 30 (2008) 309–312.

- Garcia-Mesa, J.A. Luque de Castro, M.D. and Valcarcel, M., (1993), "Automated determination of peroxides in olive oil by flow injection", *Analyst,* 118, 891.

- German, J.B. Zhang, H. and Berger, R., (1992), "Role of lipoxygenase in lipid Oxidation in foods. Ch 5 in Lipid Oxidation in Food", American Chemical Society, A.J. St. Angelo (Ed.), p. 74-92, Washington, DC.

- Gümüşkesen, A., (1990), "Rafinasyon işlemlerinin bitkisel sıvı yağların bileşimleri üzerindeki etkileri" *E. Ü. Müh. Fak. Dergisi, Gıda Müh., B,* 8(1), 113-118.

- Gürcan, Ü., (2001), "Yağ Rafinasyonunda Oluşan Trans Yağ Asitlerinin İncelenmesi" (Yüksek Lisans Tezi), *S.Ü. Fen Biimleri Enstitüsü*, sf 6.

- Hartmann, C. Smeyers-Verbeke, J. Massart, D.L. and McDowall, R.D. (1998), "Validation of bioanalytical chromatographic methods" *J. Pharm.Biomed. Anal*., 17(2) 193-218.

- Helme, J.P., (1980), "Influence of Techniques on the Quality of Food Products in the Fats and Oil Industry" *Revue Franç. Des Corps Gras*, 27(3) 121-130.

- Huber, L., (1993), "Good laboratory practice for HPLC, CE and UV Visible Spectroscopy", Hewlett Packard.

- Jawad, I.M. Kochhar, S.P. Hudson and B.J.F., (1983), "Quality characteristics of physically refined sobean oil: effect of pre-treatment and processing time and temperature" *International Journal of Food Science & Technology,* 18(3), 353-360.

- Kanner, J. and Rosenthal, I., (1992), "An Assessment of Lipid Oxidation in Foods" *Technical Report, Pure &App/. Chem.,* 64(12), 1959-1964.

- Kara, H. Kurt, M. Şahin, A.M. Durmaz, F., (2001), "Yağ Asit Analizlerinin Optimizasyonu" *II. Ulusal Kromatografi Kongresi*, Kırıkkale.

- Kaya, A. and Tekin, R.A., (1992), "Hızlandırılmış raf ömrü test metodu ile ayçiçeği yağının raf ömrünün bulunması" *Gıda Mühendisliği Kongresi*, 157-166, *E.Ü. basımevi,* Bornova-İzmir.

- Kayahan, M., (1982), "Yerli ağartma topraklarının renk açma etkileri ile optimum işlem koşullarının saptanması üzerine araştırmalar" *E.Ü. Gıda Fak. Yayınları,* 3, Bornova-İzmir.

- Labrinea, E.P. Thomaidis, N.S. and Georgiou, C.A., (2001), "Direct olive oil anisidine value determination by flow injection" *Analytica Chimica Acta* 448, 201–206.

- Laubli, M.W. Bruttel, P.A. and Schalch, E., (1988), "A modern method of determining the oxidative stability of fats and oils" *Int. Food Marketing & Technology*, 1, 16-18.

- Linares, P. Luque de Castro, M.D. and Valcarcel, M., (1989), "Direct automatic determination of free acidity in vegetable oils by flow injection analysis", *Analytica Chimica Acta, 225,* 431.

- Luque de Castro, M.D. and Garcia-Mesa, J.A., (1990), "Flow-injection analysis: an alternative to automation for determination of analytical parameters in oils", *Grasas Aceites, 41,* 270.

- Mariotti, E. and Macsini, M., (2001), "Determination of extra virgin olive oil acidity by FIA-titration" Food Chemistry 73, 235-238.

- Moo, H.Im. Jong, D.C. and Kwong, Sc., (1995), "The oxidation stability and flavor acceptability of oil from roasted soybean" *Agricultural Chemistry Biotechnology,* 38(5), 425-430.

- Mounts, T.L. (1981), "Chemical and Physical Effects of Processing Fats and Oils" *The Journal of The American Oil Chemists Society*, 58(1), 51A-54A.

- Mounts, T.L. List, G.R. and Heakin A.J., (1979), "Postharvest handling of soybeans: Effects on oil quality" *Journal of the American Oil Chemists' Society* 56, 883-885.

- Muik, B. Lendl, B. Molina-Diaz, A. Valcarnel, M. and Ayora-Caňada, M.J., (2007), " Two-dimensional correlation spectroscopy and multivariate curve resolution for the study of lipid oxidation in edible oils monitored by FTIR and FT-Raman spectroscopy" *Analytica Chimica Acta* 593, 54-67.

- Nas, S. Gökalp, Y.H. ve Ünsal, M., (2001), "Bitkisel Yağ Teknolojisi", *Pamukkale Üniversitesi Mimarlık Fakültesi Matbaası*, 322.
- Nawar, W.W. (1996), "Lipids", *In O. R. Fennema (Ed.), Food Chemistry*, pp. 225–320, New York: Marcel Dekker.

- Nouros, P.G. Georgiou, C.A. and Polissiou, M.G., (1999), "Direct parallel flow injection multichannel spectrophotometric determination of olive oil peroxide value" *Analytica Chimica Acta* 389, 239-245.

- Nouros, P.G. Georgiou, C.A. Polissiou, M.G., (1997) "Automated flow injection spectrophotometric non-aqueous titrimetric determination of the free fatty acid content of olive oil" *Analytica Chimica Acta* 351, 291-297.

- Ostric, M.B. Turkulov, J. and Karlovic, D., (1980), "Quality of sunflower oil bleached during deodorization" *Journal of the American Oil Chemists' Society,* 57, 323-325.

- Perez-Ruiz, T. Martinez-Lozano, C. Tomas, T. and Val, O., (1993), "Fluorimetric flow injection determination of hydroperoxides in foodstuffs", *Food Chem., 46, 301*.

- Pineiro-Avila, G. Salvador, A. and Guardia, M.d.l., (1997), "Enzymic determination of peroxides in non-aqueous media", *Analyst, 122,* 1543.

- Pinto, P.C.A.G. Saraiva, M.L.M.F.S. and Lima, J.L.F.C., (2006), "A flow sampling strategy for the analysis of oil samples without pre-treatment in a sequential injection analysis system" *Analytica Chimica Acta* 555, 377–383.

- Rodriguez, L.C. Campana, A.M. Linares, C.J. and Ceba, M.R., (1993), "Estimation of performance characteristics of an analytical method using the data set of the calibration experiment", *Analytical Letters*, 26(6), 1243-1258.

- Rossell, J.B. and Pritchard, J.L.R. (1991), "Analysis of Oilseeds, Fats and Fatty Foods," *Elsevier*, London.

- Ruíz, A. Ayora-Cañada, M.J. and Lendl, B., (2001), "A rapid method for peroxide value determination in edible oils based on flow analysis with Fourier transform infrared spectroscopic detection" *Analyst* 126, 242–246.

- Ruzicka, J. and Hansen, E.H., (1975), "Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis" *Analytica Chimica Acta*, 78(1), 145-157.

- Ruzicka, J. and Hansen, E.H., (1981), "Flow Injection Analysis", John Wiley and Sons, New York.
- Ruzicka, J. and Hansen, E.H., (1998), "Flow Injection Analysis" -*Second Edition- A wiley Interscience Publication*, USA.

- Ruzicka, J. Hansen, E.H.,(1988), "Flow Injection Analysis", 2nd ed., Wiley Interscience, New York.
- Ruzicka, J. Hansen, E.H.,(2002), *Analytical Chemistry*, 72(5), 212-217.
- Saad B., Ling C.W., Jab M.S., Lim B.P., Mohamad Ali S., Wai W.T., Saleh I., "Determination of free fatty acids in palm oil samples using non-aqueous flow injection titrimetric method" *Food Chemistry* 102, 1407–1414, (2007).
- Sarrio, R.V. and Silvestri, L.J. (1996), "Validation of analytical assays and test models for pharmaceutical laboratory" *The Regulatory Forum, Biosearch Inc, Available from* http://www.regulatory.com/forum/article
- Saygın, A., (1988), "Deoderizasyon Şartlarının Pamuk Yağının Özelliklerine Etkileri" (Doktora Tezi)*, E. Ü. Fen Bil. Enstitüsü*, Bornova, İzmir.
- Shah, V.P. Midha, K. and Dighe, S., (1992), "Analytical methods validation: bioavailability, bioequivance and pharmacokinetic studies", *J. Pharm Sci.,* 81(3), 309-312.
- Sherwin, E.R., (1978), "Oxidation and Antioxidants in Fat and Oil Processing", *JAOCS,* 55,809-814.
- Skoog, D.A. Holler, F.J. and Nieman, A.T., (1998) "Principles Of Instrumental Analysis", *-Fifth Edition-, Saunders Collegepublishing*, USA.
- Stewart, K.K. Beecher, G.R. and Hare, P.E. (1976), *Anal. Biochem*, 70, 167.
- Strochkova, E.K. Tur`yan, Y.I. and Kuselman, I., (2001), "Redox-potentiometric determination of peroxide value in edible oils without titration" *Talanta*, 54, 411-416.
- Swern, D., (1964), "Bailey`s Industrial Oil and Fat Products" *Third Edition, 898, Interscience Publishers, New York,* USA.
- Swern, D., (1979), "Bailey`s Industrial Oil and Fat Products" Vol: 1, 2, 3 *Fourth Edition a Division of John Wiley and Sons*, USA.
- Szydlowska-Czerniak, A., (2007), *Food Chemistry* 105, 1179-1187.
- Şimşek, A., (2008), "Kızartma Yağlarının Kararlılığı ve Termal Yöntemler ile Yağ Kalitesinin Belirlenmesi" (Yüksek Lisans Tezi), *Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Takamura, K. Fuse, T. and Kusu, F., (1995), "Determination of the free fatty acid content in fats and oils by flow injection analysis with electrochemical detection", *Anal. Sci.,* 11, 979.

- Talpur, M.Y. Sherazi, S.T.H. Mahesar, S.A. and Bhutto, A.A., (2010), "A Simplified UV Spectrometric Method for Determination of Peroxide Value in Thermally Oxidized Canola Oil" *Talanta*, 80(5), 1823-1826.
- Valcárcel, M. Luque de Castro, MD. (1990), "Flow injection analysis of pharmaceuticals" 7(12), 1291-1300.
- Wai, W.T. Saad, B. And Lim, B.P., (2009), "Determination of TOTOX value in palm oleins using a FI-potentiometric analyzer" *Food Chemistry* 113, 285–290.
- Yoon, S.H. and Kim, S.K., (1994), "Oxidative stability of high-fatty acid rice bran oil at different stage of refining" *Journal of the American Oil Chemists' Society,* 71(2), 227-229.
- Yu, X. Van de Voort, F.R. and Sedmana, J., (2007), "Determination of peroxide value of edible oils by FTIR spectroscopy with the use of the spectral reconstitution technique" *Talanta* 74, 241–246.
- Zagatto, EA. Van Staden, JF. Maniasso, N. Stefan, RI. Marshall, GD. (2002), "Information essential for characterizing a flowbased analytical system", Pure Appl Chem, IUPAC Technical Report, 74, 585–592.

EKLER

EK-1. Bitki Adı ile Anılan Yemeklik Yağlar Tebliği (2010/17)

Bitki Adı ile Anılan Yemeklik Yağlar Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ

Yayımlandığı R.Gazete 12.05.2010-27579

Tebliğ No: 2010/17

Amaç

Madde 1- Bu Tebliğin amacı; gıda olarak tüketime uygun olan ve bu Tebliğin 3 üncü maddesinde tanımları yapılan bitki adı ile anılan yemeklik yağların tekniğine uygun ve hijyenik şekilde üretim, hazırlama, işleme, muhafaza-depolama, taşıma ve pazarlamasını sağlamak üzere özelliklerini belirlemektir.

Kapsam

Madde 2- Bu Tebliğ gıda olarak tüketime uygun olan ve bu Tebliğin 3 üncü maddesinde tanımları yapılan bitki adı ile anılan yemeklik yağları kapsar. Yemeklik özelliği olmayan ve yağ asitlerinin bünyesini veya yağ kıvamını değiştirmek amacıyla esterleştirilmiş veya hidrojene edilmiş yağları ve karışım yağları kapsamaz.

Hukuki Dayanak

Madde 3- Bu Tebliğ, 16/11/1997 tarihli ve 23172 mükerrer sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan "Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği" ne göre hazırlanmıştır.

Tanımlar

Madde 4- Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünler ile ilgili tanımlar aşağıdadır.

a) Ürün Tanımları

Aspir Yağı: Aspir bitkisinin (Carthamus tinctorious L.) tohumlarından elde edilen yağdır.

Yüksek Oleik Asitli Aspir Yağı: Yüksek oleik asitli yağ içeren aspir bitkisinin (Carthamus tinctorious L.) tohumlarından elde edilen yağdır.

Ayçiçek Yağı: Ayçiçek bitkisinin (Helianthus annuus L.) tohumlarından elde edilen yağdır.

Yüksek Oleik Asitli Ayçiçek Yağı: Yüksek oleik asitli yağ içeren ayçiçek bitkisinin (Helianthus annuus L.) tohumlarından elde edilen yağdır.

Babassu Yağı: Çeşitli palm orbignya türlerinin meyve çekirdeklerinden elde edilen yağdır.

Hindistancevizi Yağı: Hindistan cevizi (Cocos nucifera) meyvesinden elde edilen yağdır.

Mısır Yağı: Mısır bitkisi (Zea mays L.) tanelerinin embriyolarından elde edilen yağdır.

Pamuk Yağı: Çeşitli Pamuk (Gossypium spp) kültürlerinin tohumlarından elde edilen yağdır.

Palm Yağı: Palm (Elaeis guineensis) meyvesinin etli mezokarbında elde edilen yağdır.

Palm Stearin Yağı: Fraksiyonlarına ayrılan palm yağının erime noktası yüksek olan kısmıdır.

Palm Olein Yağı: Fraksiyonlarına ayrılan palm yağının sıvı kısmıdır.

Palm Çekirdeği Yağı: Palm (Elaeis guineensis) meyvesinin çekirdeğinden elde edilen yağdır.

Kanola-Düşük Erusik Asitli Kolza Yağı: Düşük erusik asitli yağ içeren Brassica napus, L. Brassica campestris L. ve Brassica juncea L.'nin tohumlarından elde edilen yağdır.

Soya Yağı: Soya fasulyesinden (Glycine max (L.) Merr.) elde edilen yağdır.

Susam Yağı: Susam bitkisinin (Sesamum indicum L.) tohumlarından elde edilen yağdır.

Üzüm Yağı: Üzüm bitkisinin (Vitis vinifera L.) çekirdeklerinden elde edilen yağdır.

Yerfıstığı Yağı: Yerfıstığından (Arachis Hypogaea L.) elde edilen yağdır.

b) Diğer Tanımlar

Yemeklik Bitkisel Yağlar: Doğal yapısı gereği az miktarda fosfatidler gibi diğer lipidleri, sabunlaşmayan bileşenleri ve serbest yağ asitlerini içerebilen, sadece bitkisel kaynaklardan elde edilen temel olarak yağ asitleri gliseridlerinden oluşan yağlardır.

Sızma Yağlar: Yağın yapısını değiştirmeksizin mekanik yöntemle ve ısı uygulaması ile elde edilen, saflaştırmak amacı ile sadece su ile yıkama, çöktürme, filtrasyon ve santrifüj işlemleri yapılan yağlardır.

Soğuk Preslenmiş Yağlar: Isıl işlem olmaksızın sadece mekanik yöntemle elde edilen yağlardır.

Rafine Edilmiş Yağlar: Doğal trigliserid yapısında değişikliğe yol açmadan rafine edilen yağlardır.

Ürün Özellikleri

Madde 5- Bu Tebliğ kapsamındaki bitki adı ile anılan yemeklik yağların kompozisyon, fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıda verilmiştir.

a) Bitki adı ile anılan yemeklik yağların yağ asitleri kompozisyonu Ek-1'de verilen tabloda yer alan değerlere uygun olmalıdır.

b) Düşük erusik asitli kolza yağının erusik asit içeriği toplam yağ asitlerinin %2 sinden fazla olmamalıdır.

c) Yüksek oleik asitli aspir yağının oleik asit içeriği toplam yağ asitlerinin %70 inden az olmamalıdır.

d) Yüksek oleik asitli ayçiçek yağının oleik asit içeriği toplam yağ asitlerinin %75 inden az olmamalıdır.

e) Palm olein yağının kayma noktası, en fazla 24^{o}C ve palm stearin yağının kayma noktası, en az 44^{o}C olmalıdır.

f) Bitki adı ile anılan yemeklik yağlar kendine has renk, tat ve kokuda olmalı yabancı ve ransit tat ve koku içermemelidir.

g) Diğer kalite kriterleri Ek-2'de verilen tabloda yer alan değerlere uygun olmalıdır.

h) Yer fıstığı yağının, araşidik ve daha yüksek yağ asitleri miktarı en fazla 48g/kg olmalıdır.

i) Hindistancevizi, palm çekirdeği ve babassu yağlarının Reichert değeri sırası ile 6-8.5, 4-7 ve 4.5-6.5 olmalıdır.

j) Hindistancevizi, palm çekirdeği ve babassu yağlarının Polenske değeri sırasıyla 13-18, 8-12 ve 8-10 olmalıdır.

k) Üzüm yağının Eritrodiyol içeriği toplam sterol miktarının %2 sinden fazla olmalıdır.

l) Susam yağ için Baudouin test sonucu pozitif olmalıdır.

m) Pamuk yağında Halphen testi pozitif olmalıdır.

n) Ağartılmamış palm, ağartılmamış palm olein ve ağartılmamış palm stearin yağlarında toplam karotenoid miktarları beta-karoten cinsinden sırasıyla 500-2000, 550-2500 ve 300-1500 mg/kg olmalıdır.

o) Düşük erusik asitli kolza yağında Crismer değeri 67-70 aralığında olmalıdır.

p) Düşük erusik asitli kolza yağının brassikasterol konsantrasyonu toplam sterollerin %5 inden az olmamalıdır.

q) Bitki adı ile anılan yemeklik yağların kimyasal ve fiziksel özellikleri Ek-3'te verilmiştir.

Katkı Maddeleri

Madde 6- Bitki adı ile anılan yemeklik yağlarda kullanılmasına izin verilen katkı maddeleri Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin 2 nci bölümüne uygun olmalıdır.

Bulaşanlar

Madde 7- Bitki adı ile anılan yemeklik yağlarda bulaşanların miktarları Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin 4 üncü bölümünde belirtilen limitlere uygun olmalıdır.

Pestisit Kalıntıları

Madde 8- Bitki adı ile anılan yemeklik yağların üretiminde kullanılan tarımsal ürünlerdeki pestisit kalıntı miktarları, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin 5 inci bölümünde belirtilen limitlere uygun olmalıdır.

Hijyen

Madde 9- Bitki adı ile anılan yemeklik yağlar, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin 7 nci bölümünde yer alan genel kurallara uygun olarak üretilmelidir.

Ambalajlama ve Etiketleme-İşaretleme

Madde 10- Bitki adı ile anılan yemeklik yağların ambalajlanmasında, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin 9 uncu bölümüne uygun ambalaj materyalleri kullanılmalı ve etiketleme işlemi bu bölüme uygun yapılmalıdır. Bu bölüme ilave olarak 3 üncü maddede yer alan tanımlarda belirtilen yemeklik yağın adı etiket üzerinde yer almalıdır. Ürün vinterize edilmiş ise bu isme vinterize ibaresi de eklenmelidir.

Taşıma ve Depolama

Madde 11- Bitki adı ile anılan yemeklik yağların depolanması ve taşınması Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin l0 uncu bölümünde belirtilen kurallara uygun olmalıdır.

Numune ve Alma ve Analiz Metotları

Madde 12- Bitki adı ile anılan yemeklik yağların üretim hattından ve muhafaza deposundan numune alınmasında Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin 11 inci bölümündeki kurallara uyulmalıdır. Numune uluslararası kabul görmüş metotlara göre analiz edilmelidir.

Tescil ve Denetim

Madde13- Bitki adı ile anılan yemeklik yağları üreten ve satan işyerleri; tescil ve izin, ithalat, kontrol ve denetim sırasında bu Tebliğ hükümlerine uymak zorundadır. Bu hükümlere uymayan işyerleri hakkında 560 sayılı Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararname hükümlerine göre yasal işlem yapılır.

Denetim

Madde 14- Bu Tebliğe ait hükümlerin uygulanması, 560 sayılı Kanun Hükmünde Kararnameye göre Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı'nca denetlenir.

Yürürlükten Kaldırılan Mevzuat

Madde 15- Bu Tebliğ ile; 14/ 6/ 1972 tarihli ve 14042 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan TS 886 sayılı "Yemeklik Ayçiçeği Yağı", TS 887 sayılı "Yemeklik Pamuk Yağı", TS 888 sayılı "Yemeklik Mısırözü Yağı", TS 889 sayılı "Yemeklik Susam Yağı", TS 890 sayılı "Yemeklik Soya Yağı", TS 891 sayılı Yemeklik Yerfıstığı Yağı, TS 892 sayılı "Yemeklik Rapiska Yağı" adlı standartlar mecburi uygulamadan kaldırılmıştır.

Geçici Madde 1- Halen faaliyet gösteren ve bu Tebliğ kapsamındaki ürünleri üreten ve satan işyerleri, yayımı tarihinden itibaren 1 yıl içinde bu Tebliğ hükümlerine uymak zorundadır.

Yürürlük

Madde 16- Bu Tebliğ yayımı tarihinde yürürlüğe girer.

Yürütme

Madde 17- Bu Tebliğ hükümlerini, Tarım ve Köyişleri Bakanı ve Sağlık Bakanı yürütür.

Gaz Likit Kromotografi ile Tespit Edilen Bitkisel Yağların Yağ Asitleri Kompozisyonu (Toplam Yağ Asitleri Yüzdesi Olarak)

yağ asitleri	yağ asitleri	Aspir Yağı	aspir yağı yüksek oleik asitli	ayçiçek yağı	ayçiçek yağı yüksek oleik asitli	babassu yağı	hindistancevizi yağı	kolza yağı düşük erusik asitli
kaproik asit	C6:0	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0.7	TED
kaprilik a.	C8:0	TED	TED	TED	TED	2.6-7.3	4.6-10.0	TED
kaprik a.	C10:0	TED	TED	TED	TED	1.2-7.6	5.0-8.0	TED
laurik a.	C12:0	TED	TED	TED-0.1	TED	40.0-55.0	45.1-53.2	TED
miristik a.	C14:0	TED-0.2	TED-0.2	TED-0.2	TED-0.1	11.0-27.0	16.8-21.0	TED-0.2
palmitik a.	C16:0	5.3-8.0	3.6-6.0	5.0-7.6	2.6-5.0	5.2-11.0	7.5-10.2	2.5-7.0
palmitoleik a.	C16:1	TED-0.1	TED-0.2	TED-0.3	TED-0.1	TED	TED	TED-0.6
margarik a.	C17:0	TED-0.2	TED	TED-0.2	TED-0.1	TED	TED	TED-0.3
heptadesenoik a.	C17:1	TED-0.1	TED	TED-0.1	TED-0.1	TED	TED	TED-0.3
stearik a.	C18:0	TED-0.1	1.5-2.4	2.7-6.5	2.9-6.2	1.8-7.4	2.0-4.0	0.8-3.0
oleik a.	C18:1	1.9-2.9	70.0-83.7	14.0-39.4	75-90.7	9.0-20.0	5.0-10.0	51.0-70.0
linoleik a.	C18:2	8.4-21.3	9.0-19.9	48.3-74.0	2.1-17.0	1.4-6.6	1.0-2.5	15.0-30.0
linolenik a.	C18:3	67.8-83.2	TED-1.2	TED-0.3	TED-0.3	TED	TED-0.2	5.0-14.0
araşidik a.	C20:0	TED-0.1	0.3-0.6	0.1-0.5	0.2-0.5	TED	TED-0.2	0.2-1.2

ekosenoik a.	C20:1	0.2-0.4	0.1-0.5	TED-0.3	0.1-0.5	TED	TED-0.2	0.1-4.3
	C20:2	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0.1
behenik a.	C22:0	TED-1.0	TED-0.4	0.5-1.1	0.5-1.6	TED	TED	TED-0.6
erusik a.	C22:1	TED-1.8	TED-0.3	TED-0.3	TED-0.3	TED	TED	TED-2.0
	C22:2	TED	TED	TED-0.3	TED	TED	TED	TED-0.1
lignoserik a.	C24:0	TED-0.2	TED-0.3	TED-0.5	TED-0.5	TED	TED	TED-0.3
nervonik a.	C24:1	TED-0.2	TED-0.3	TED	TED	TED	TED	TED-0.4

Tablonun devamı

yağ asitleri	**yağ asitleri**	**Mısır Yağı**	**palm yağı**	**palm çekirdeği yağı**	**palm olein yağı**	**palm stearin yağı**	**soya yağı**	**susam yağı**	**üzüm yağı**	**yerfıstığı yağı**
kaproik asit	C6:0	TED	TED	TED-0.8	TED	TED	TED	TED	TED	TED
kaprilik a.	C8:0	TED	TED	2.4-6.2	TED	TED	TED	TED	TED	TED
kaprik a.	C10:0	TED	TED	2.6-5.0	TED	TED	TED	TED	TED	TED
laurik a.	C12:0	TED-0.3	TED-0.5	45.0-55.0	0.1-0.5	0.1-0.5	TED-0.1	TED	TED	TED-0.1
miristik a.	C14:0	TED-0.3	0.5-2.0	14.0-18.0	0.5-1.5	1.0-2.0	TED-0.2	TED-0.1	TED-0.3	TED-0.1
palmitik a.	C16:0	8.6-16.5	39.3-47.5	6.5-10.0	38.0-43.5	48.0-74.0	8.0-13.5	7.9-10.2	5.5-11.0	8.0-14.0
palmitoleik a.	C16:1	TED-0.5	TED-0.6	TED-0.2	TED-0.6	TED-0.2	TED-0.2	0.1-0.2	TED-1.2	TED-0.2
margarik a.	C17:0	TED-0.1	TED-0.2	TED	TED-0.2	TED-0.2	TED-0.1	TED-0.2	TED-0.2	TED-0.1

heptadesenoik a.	C17:1	TED-0.1	TED	TED	TED-0.1	TED-0.1	TED-0.1	TED-0.1	TED-0.1	TED-0.1
stearik a.	C18:0	TED-3.3	3.5-6.0	1.0-3.0	3.5-5.0	3.9-6.0	2.0-5.4	4.8-6.1	3.0-6.5	1.0-4.5
oleik a.	C18:1	20.0-42.2	36.0-44.0	12.0-19.0	39.8-46.0	15.5-36.0	17.0-30.0	35.9-42.3	12.0-28.0	35.0-69.0
linoleik a.	C18:2	34.0-65.6	9.0-12.0	1.0-3.5	10.0-13.5	3.0-10.0	48.0-59.0	41.5-47.9	58.0-78.0	12.0-43.0
linolenik a.	C18:3	TED-2.0	TED-0.5	TED-0.2	TED-0.6	TED-0.5	4.5-11.0	0.3-0.4	TED-1.0	TED-0.3
araşidik a.	C20:0	0.3-1.0	TED-1.0	TED-0.2	TED-0.6	TED-1.0	0.1-0.6	0.3-0.6	TED-1.0	1.0-2.0
ekosenoik a.	C20:1	0.2-0.6	TED-0.4	TED-0.2	TED-0.4	TED-0.4	TED-0.5	TED-0.3	TED-0.3	0.7-1.7
	C20:2	TED-0.1	TED	TED	TED	TED	TED-0.1	TED	TED	TED
behenik a.	C22:0	TED-0.5	TED-0.2	TED-0.2	TED-0.2	TED-0.2	TED-0.7	TED-0.3	TED-0.5	1.5-4.5
erusik a.	C22:1	TED-0.3	TED	TED	TED	TED	TED-0.3	TED	TED-0.3	TED-0.3
	C22:2	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED
lignoserik a.	C24:0	TED-0.5	TED	TED	TED	TED	TED-0.5	TED-0.3	TED-0.4	0.5-2.5
nervonik a.	C24:1	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED	TED-0.3

TED: Tespit Edilemeyen Düzey

Diğer Kalite Kriterleri

Uçucu Madde (l05 ^{0}C)	en çok 0.2 % m/m
Çözünmeyen Safsızlıklar	en çok 0.05% m/m
Sabun Miktarı	en çok 0.005 % m/m
Asit Sayısı	rafine yağlarda en çok 0.6 mg KOH /g yağ soğuk preslenmiş ve sızma yağlarda en çok 4.0 mg KOH/g yağ sızma palm yağında en çok 10.0 mg KOH/g yağ
Peroksit Sayısı	rafine yağlarda en çok l0 miliekivalen aktif oksijen / kg yağ soğuk preslenmiş ve sızma yağlarda en çok l5 miliekivalen aktif oksijen / kg yağ

Bitkisel Yağların Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Bitkisel Yağlar	Bağıl Yoğunluk X^oC/su 20^oC'de	Yoğunluk (g/ml)	Kırılma İndisi 40^oC	Sabunlaşma Sayısı mgKOH/g yağ	İyot Değeri (Wijs)	Sabunlaşmayan Madde g/kg
aspir yağı	0.922-0.927x=20^oC		1.467-1.470	186-198	136-148	≤15
aspir yağı (yüksek oleik asitli)	0.913-0.919 x=20^oC	0.912-0.914 20^oC'de	1.460-1.464 40^oC'de	186-194	80-100	≤10
	0.910-0916 x=25^oC		1.466-1.470 25^oC'de			
ayçiçek yağı	0.918-0.923 x=20^oC		1.461-1.468	188-194	118-141	≤15
ayçiçek yağı (yüksek oleik	0.909-0.915 x=25^oC		1.467-1.471 25^oC'de	182-194	78-90	≤ 15
babassu yağı	0.914-0.917 x=25^oC		1.448-1.451	245-256	10.0-18.0	≤ 12
hindistancevizi yağı	0.908-0.921 x=40^oC		1.448-1.450	248-265	6.3-10.6	≤ 15
kolza yağı (düşük erusik asitli)	0.914-0.920 x=20^oC		1.465-1.467	182-193	105-126	≤ 20

mısır yağı	0.917-0.925 x=20°C		1.465-1.468	187-195	103-135	≤ 28
palm yağı	0.891-0.899 x=50°C	0.889-0.895 50°c'de	1.454-1.456 50°C'de	190-209	50-55	≤12
palm çekirdeği y.	0.899-0.914 x=40°C		1.448-1.452	230-254	14.0-21.0	≤ 10
palm olein y.	0.899-0.920x=40°C	0.896-0.898 40°C'de	1.458-1.460	194-202	□ 56	□ 13
palm stearin yağı	0.881-0.891 x=60°C	0.881-0.885 60°C'de	1.447-1.452 60°C'de	193-205	≤ 48	≤ 9
pamuk yağı	0.918-0.926 x=20°C		1.458-1.466	189-198	100-123	≤ 15
soya yağı	0.919-0.925 x=20°C		1.466-1.470	189-195	124-139	≤ 15
susam yağı	0.915-0.924 x=20°C		1.465-1.469	186-195	104-120	≤ 20
üzüm yağı	0.920-0.926 x=20°C		1.467-1.477	188-194	128-150	≤20
yerfıstığı yağı	0.912-0.920 x=20°C		1.460-1.465	187-196	86-107	≤ 10

EK-2. Referans Yağ Numuneleri için Kullanılan Analiz Metotlarına Ait Kodlar

Material	Sample	Determination	AOCS Test Method
Edible Fat	Edible Fats (n = 60)	AOM or OSI	Cd 12-57 or Cd 12b-92
		AOCS Color	Cc 13b-45
		Capillary Melting Point	Cc 1-25
		Iodine Value	Cd 1d-92
		Lovibond Color	Cc 13e-92
		Mettler Dropping Point	Cc 18-80
		α-Monoglycerides	User specified
		Solid Fat Index	Cd 10-57
		Solid Fat Content	Cd 16-81, Cd 16b-93
Oilseed Meal (n = 43)	Seed Meal	Crude Fiber	Ba 6-84
		Moisture	Ba 2a-38
		Oil (pet. ether)	Ba 3-38
		Nitrogen	Ba 4d-90 or Ba 4e-93
(n = 37)	Soybean Meal, Unground	Ash	Ba 5a-49
		Crude Fiber	Ba 6-84
		Moisture	Ba 2a-38
		Nitrogen	Ba 4d-90 or Ba 4e-93
		Oil (pet. ether)	Ba 3-38
		Urease Activity	Ba 9-58
Oilseeds			
(n = 9)	Peanuts	Free Fatty Acids	Ab 5-49
		Foreign Matter	Ab 1-49
		Moisture	Ab 2-49
		Oil	Ab 3-49
		Nitrogen	Ab 4-91 or Ba 4e-93
(n = 5)	Mixed Seed (Sunflower, Safflower, and Canola)	Foreign Matter	Ai 1-80
		Moisture	Ai 2-75
		Oil, Clean Seed Basis	Ai 3-75
		Nitrogen	Ai 4-91 or Ba 4e-93
	Free Fatty Acids	Ac 5-41	
		Glucosinolates	Ak 1-92
		Chlorophyll	Ak 2-92
(n = 33)	Soybeans	Free Fatty Acids	Ac 5-41
		Moisture	Ac 2-41
		Nitrogen	Ac 4-91 or Ba 4e-93
		Oil	Ac 3-44
		Crude Fiber	Ba 6-84
Cholesterol (n = 22)	Dried Meat, Dried Egg	Cholesterol	AOAC 994.10
Gas Chromatography (n = 84)	Veg. Oil	Fatty Acid Composition	Ce 1-62
		Iodine Value (calculated)	Cd 1c-85

Trace Metals in Oil	(n = 17)	Soybean Oil	Copper Iron Nickel	Ca 18-79
Marine Products	(n = 22)	Fish Meal	Acid Value Ash Crude Protein Moisture Oil (petroleum ether) Nitrogen (TVN) Pepsin Digestibility	Cd 3d-63 Ba 5a-49 Ba 4d-90 Ba 3-38 AOAC 920.03 AOAC 971.09
	(n = 15)	Marine Oil	Anisidine Value Free Fatty Acid Iodine Value Insoluble Impurities Moisture Peroxide Value	Cd 18-90 Ca 5a-40 Cd 1d-92 Ca 3a-46 Ca 2b-38 Cd 8b-90
	(n = 29)	Marine Oil Fatty Acid Profile	Fatty Acid Composition	Ce 1b-89
Oils	(n = 6)	Cottonseed Oil	Bleaching Color Refined Color Free Fatty Acid Moisture and Volatiles Soap	Cc 8a-52 Cc 13b-45 Ca 5a-40 Ca 2b-38 Cc 17-95
	(n =25)	Palm Oil	Cloud Point Color, Lovibond Free Fatty Acids Iodine Value Slip Melting Point	P4.3 PORIM P4.1 PORIM P2.5 PORIM Cd 1d-92 P4.2 PORIM
	(n = 6)	Veg. Oil	Color Lovibond Red Color	Cc 13b-45 Cc 13e-92
	(n = 6)	IOOC–AOCS Olive Oil	Fatty Acid Composition	COI/T. 20/DOC. 17 and 24-2001; ISO 5508; AOCS Ch 1-91
			Free Fatty Acids	Ca 5a-40
			Peroxide Value	Cd 8b-90
			Sterenes	COI/T. 20/Doc. 16-2001
			Sterols	COI/T. 20/ Doc. 10-2001; ISO 12228:1999; AOCS Ch 6-91
			Stigmastadienes	COI/T. 20/ Doc. 20-2001; AOCS Cd 26-96
			Triglycerides (ECN 42)	COI/T. 20/ Doc. 20-2001; AOCS Ce 5b-89
			UV extinction	COI/T. 20/ Doc. 19-2001; AOCS Ch 5-91
			Waxes	COI/T. 20/ Doc. 18-2001; AOCS Ch 8-02
			FFA	Ca 5a-40
			PVI	Cd 8b-90
		NIOP-AOCS	AOCS Color	Cc 13b-45

	(n = 9)	Fats & Oils	Free Fatty Acid Iodine Value Saponification Value Mass/Unit Volume	Ca 5a-40 Cd 1d-92 Cd 3-25 Cc 10c-95
	(n = 9)	Specialty Oils	Anisidine Value Free Fatty Acids Iodine Value Moisture Peroxide Value Fatty Acid Composition	Cd 18-90 Ca 5a-40 Cd 1d-92 Ca 2b-38 Cd 8b-90 Ce 1b-89
trans Fatty Acids	(n = 5)	Soybean Oil (hydrogenated)	Total trans Fatty Acids by IR	Cd 14-95
	(n =67)	Soybean Oil (hydrogenated)	Total trans Fatty Acids by GC	Ce 1h-05
Solid Fat Content by NMR	(n =19)	Edible Fats	Solid Fat Content	Cd 16b-93
Aflatoxin Conventional	(n =14)	Peanut Butter	Aflatoxins B_1, B_2, G_1, and G_2	User-Specified
	(n = 39)	Peanut Paste		
	(n = 14)	Cottonseed Meal		
	(n = 21)	Corn Meal		
	(n = 9)	Milk	Milk Aflatoxins M_1	User-Specified
Aflatoxin Test Kits	(n = 29)	Peanut Paste	Total Aflatoxins	Specify test kit used or Pass/Fail
	(n = 30)		Corn Meal	
Phosphorus in Oil	(n = 6)	Soybean Oil	Phosphorus	Ca 12-55
Nutritional Labeling	(n = 26)	Liquid & Dry Product	Total Fat FA Composition by GC trans Fatty Acids by GC Total Protein Minerals Vitamin A Vitamin D Vitamin E	User-Specified Ce 1f-96 Ce 1f-96 User-Specified AOAC 985.35 or 984.27 AOAC 992.04 or 92.06 AOAC 992.26 AOAC 992.03

Fumonisin	(n = 10)	Corn Meal	B_1, B_2, B_3, and Total	User-Specified
GMO	(n = 8)	Roundup Ready in Conventional Soy Flour & MON 810 Ground Corn	% Presence	User-Specified

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Hamide Filiz AYYILDIZ
Uyruğu	**:**	T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	Konya, 13.05.1979
Telefon	**:**	-
Faks	**:**	-
e-mail	**:**	filizayyildiztr@gmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	**:**	Beyşehir İmam Hatip Lisesi, Beyşehir, Konya	1996
Üniversite	**:**	Selçuk Üniversitesi, Konya	2001
Yüksek Lisans	**:**	Selçuk Üniversitesi, Konya	2004
Doktora	**:**	Selçuk Üniversitesi, Konya	-

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**
2002-….	Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü	Öğretim Elemanı

UZMANLIK ALANI

- Kromatografik Teknikler (GC, HPLC, …)
- FIA Yöntemi ile Yağ Analizleri
- Hümik Maddelerin (HS) Metal İyonlarının Uzaklaştırılmasında Kullanımı
- Membran Teknolojisi
- Elektroanalitik Teknikler

YABANCI DİLLER

- İngilizce (ileri düzeyde)

YAYINLAR

- Ayyildiz, H.F. and Kara, H., (2005), "Boron Removal by Ion Exchange Membrane" *Desalination*, 180, 99-108 *(Yüksek Lisans Tezinden Yapılmıştır).*
- Ayyildiz, H.F. Arslan, F.N. Topkafa, M. ve Kara H., (2009), "Determination of FFA Content in Corn Oil by Using a Modified HPLC System I. by manuel enjection" *Taibah International Chemistry Conference-(TICC-09) Book of Abstract (23-27 March)*, Al-Madinah Al-Munawwarah, Kingdom of Saudi Arabia *(Sözlü Sunum).*
- Ayyildiz, H.F. Arslan, F.N. Topkafa, M. Durmaz, F. Sarac, A.G. ve Kara H., (2008), "Determination of FFA Content in Sunflower Oil by Using a Modified HPLC System" *6th Aegean Analytical Chemistry Days, International Conference* (9-12 October), Denizli-Türkiye.