



**SADEYAĞDA KARE DALGA SIYIRMA VOLTAMETRİSİ İLE PALMITİK
ASİT TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ**

Murat BAYINDIR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Murat BAYINDIR
10/08/2023

SADEYAĞDA KARE DALGA SIYIRMA VOLTAMETRİSİ İLE PALMITİK ASİT TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Murat BAYINDIR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2023

ÖZET

Bu çalışmada, tereyağındaki palmitik asit tayini için yeni bir elektroanalitik yöntem geliştirildi. Palmitik asitin susuz ortamdaki elektrokimyasal davranışı, kare dalga katodik sıyırma voltametrisi (SWSV) ve dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri ile incelendi. Çalışma elektrodunun, pH'nın, biriktirme süresinin ve sıcaklığın optimizasyonu yapıldı. Optimizasyon sonuçlarına göre çalışma elektrodu; camsı karbon elektrot, pH:2,75, biriktirme süresi: 60 s, sıcaklık 50 °C olarak belirlendi. Sadeyağda palmitik asit % 3,73 olarak tayin edildi. Bu yöntemle gözlenebilme sınırı (LOD) $7,7 \times 10^{-9}$ M, tayin sınırı (LOQ) $2,6 \times 10^{-8}$ M olarak bulundu. Tereyağındaki katkı maddesi olarak kullanılan tuzun girişim deneyleri yapıldı.

Bilim Kodu : 20102

Anahtar Kelimeler : Voltametri, Kare Dalga Sıyırma, SadeYağ, Palmitik Asit Tayini, Elektrokimya

Sayfa Adedi : 63

Danışman : Prof. Dr. Mehmet Sayım KARACAN

METHOD DEVELOPMENT FOR DETERMINATION OF PALMITIC ACID IN GHEE
BY SQUARE WAVE STRIPPING VOLTAMETRY

(M. Sc. Thesis)

Murat BAYINDIR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

August 2023

ABSTRACT

In this study, a new electroanalytical method was developed for the determination of palmitic acid in butter. The electrochemical behavior of palmitic acid in anhydrous medium was investigated by Square Wave Cathodic Stripping Voltammetry (SWSV) and Cyclic Voltammetry (CV) techniques. Optimization of working electrode, pH, deposition time and temperature was made. According to the optimization results, the working electrode; glassy carbon electrode, pH: 2,75, deposition time: 60 s, temperature was determined as 50 °C. Palmitic acid in butter was determined as 3,73%. With this method, the detection limit (LOD) was $7,7 \times 10^{-9}$ M, and the detection limit (LOQ) was $2,6 \times 10^{-8}$ M. Interference experiments of salt used as an additive in butter were carried out.

Science Code : 20102

Key Words : Voltammetry, square wave stripping, clarified oil, determination of palmitic acid, electrochemistry

Page Number : 63

Supervisor : Prof. Dr. Mehmet Sayım KARACAN

TEŞEKKÜR

Tezin hazırlanma sürecinde bilgi birikimi ve tecrübesi ile beni yönlendiren kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Mehmet Sayım KARACAN'a, deneysel çalışmalarımda desteğini esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKKAN ve tez öğrencilerine teşekkür ederim. Bu çalışmamı annem merhum Hatice BAYINDIR'a armağan ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnek Sütü	3
2.2. Tereyağı.....	4
2.2.1. Tarihsel süreç	4
2.2.2 Kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	4
2.2.3. Üretim aşamaları	6
2.2.4. Sade yağ	7
2.2.5. Mevzuat ve standartlar	7
2.2.6. Tereyağında serbest yağ asidi tayininin önemi	8
2.3. Lipitler.....	9
2.4. Palmitik Asit.....	10
2.4.1. Palmitik asitin elektrokimyasal tayinine yönelik kaynak çalışmaları	12
2.5. Elektro Analitik Yöntemler.....	14
2.5.1. Voltametri	16
2.5.2. Voltametrik analiz yöntemleri.....	21

	Sayfa
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	25
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler	25
3.1.1. Elektrokimyasal analizör (voltametri cihazı).....	25
3.1.2. Elektrotlar.....	26
3.1.3. Analitik Terazî	27
3.1.4. Ultrasonik su banyosu	28
3.1.5. pH Metre	28
3.1.6. Reaktifler, çözeltiler ve örneklerin hazırlanması	29
3.1.7. Kare dalga katodik sıyırma voltametrîsî için potansiyostat cihazının çalışma değerleri	32
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1. Kare Dalga Voltametrîsî Yöntemiyle Palmitik Asit Tayini	34
4.1.1. Palmitik asidin dönüşümlü voltamogramı	34
4.1.2. Sıcaklığın optimizasyonu	35
4.1.3. Biriktirme potansiyelinin optimizasyonu	36
4.1.4. Biriktirme süresinin optimizasyonu	37
4.1.5. pH'nın optimizasyonu	38
4.1.6. Çalışma elektrodunun optimizasyonu	39
4.1.7. Sade yağ numunesinde palmitik asit tayini.....	41
4.1.8. Farklı bir marka tereyağı numunesinden elde edilen sade yağda palmitik asit tayini	45
4.1.9. Yöntemin gözlenebilme ve tayin sınırının belirlenmesi	46
4.1.10. Tereyağı katkı maddesi olan tuzun (nacl) girişim etkisinin analizi	51
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	55

Sayfa

ÖZGEÇMİŞ	63
----------------	----

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Palmitik asitin çözünürlüğü	11
Çizelge 2.2. Palmitik asitin kimyasal özellikleri	11
Çizelge 3.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddelerin listesi	25
Çizelge 3.2. Kara dalga katodik sıyırma voltametrisi, potansiyostat çalışma değerleri .	32
Çizelge 3.3. Dönüşümlü voltametri çalışma değerleri.....	32
Çizelge 4.1. Sade yağ numunesi ve eklenen palmitik asite ait Akım (μA) ve Derişim (mM) değerleri.....	43
Çizelge 4.2. Sade yağ numunesi ve eklenen palmitik asite ait Akım (μA) ve Derişim (mM) değerleri.....	45
Çizelge 4.3. Destek elektrolitin tekrarlı ölçümlerinin akım değerleri	48
Çizelge 4.4. 0,025 mL palmitik asitin tekrarlı ölçümlerinin akım değerleri.....	49
Çizelge 4.5. Eklenen NaCl miktarlarına bağlı olarak alınan ölçümler ve yapılan hesaplar	52

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. İnek sütünün yağ asitleri içeriği.....	3
Şekil 2.2. Tereyağının kimyasal yapısı; Bütirik asit (kırmızı), Gliserin (siyah), Palmitik asit (mavi), Oleik asit (yeşil).....	5
Şekil 2.3. Doymuş yağ asidi örneği ve içerdiği gruplar.....	10
Şekil 2.4. Genel elektroanalitik yöntemler	15
Şekil 2.5. Üç elektrotlu potansiyostat çalışma düzeneği.....	16
Şekil 2.6. Bazı voltametrik tekniklerde potansiyel rampaları ve ölçülen voltamogramlar	16
Şekil 2.7. Akım – potansiyel grafiği	18
Şekil 2.8. Üç elektrotlu hücre sistemi	19
Şekil 2.9. KCl çözeltisinin atmosferik oksijen varlığındaki ve oksijensiz voltamogramı.....	21
Şekil 2.10. Bir SWV yönteminde uyarma potansiyelinin oluşumu ve elde edilen basamaklı sinyal.....	22
Şekil 2.11. Dönüşümlü voltametriye uygulanan rampa (a) ve elde edilen voltomogram (b)(E_{pk} ; katodik pik potansiyeli, E_{ak} ; anodik pik potansiyeli, I_{pk} ; katodik pik akımı, I_{ak} ; anodik pik akımı).....	22
Şekil 3.1. Tetra-n-bütülamonyum tetrafloroborat kimyasal yapısı ($(CH_3CH_2CH_2CH_2)_4N(BF_4)$).....	30
Şekil 3.2. Palmitik asit (hegzadekanoik asit) kimyasal yapısı $CH_3(CH_2)_{14}CO_2H$	30
Şekil 3.3. Baz katalizli de-esterifikasyon reaksiyonu	31
Şekil 3.4. De-esterifikasyon reaksiyon mekanizması	31
Şekil 3.5. De-esterifikasyon ile gliseriltripalmitat' ın gliserol ve palmitik asite dönüşümü	31
Şekil 4.1. Palmitik asitin dönüşümlü voltamogramı (Ag/AgCl).....	35
Şekil 4.2. Palmitik asitin sıcaklığa bağlı olarak kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl).....	35
Şekil 4.3. Palmitik asite ait farklı sıcaklıklardaki akım değerleri	36
Şekil 4.4. Palmitik asitin -1,0 V; -1,2 V ve -1,4 V biriktirme potansiyellerindeki kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl).....	36

Şekil	Sayfa
Şekil 4.5. Palmitik asitin, -1,0 V; -1,2 V ve -1,4 V (sağdan sola) biriktirme potansiyellerinin -0,8 V ve -1,2 V pik potansiyellerine karşılık gelen akım değerleri	37
Şekil 4.6. Palmitik asitin farklı biriktirme sürelerindeki kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)	38
Şekil 4.7. Palmitik asitin farklı biriktirme sürelerindeki akım değerleri	38
Şekil 4.8. Farklı pH değerlerinde palmitik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)	39
Şekil 4.9. Palmitik asite ait, farklı pH noktalarında ölçülen akım değerleri	39
Şekil 4.10. Pt çalışma elektrotu ile farklı biriktirme sürelerinde palmitik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)	40
Şekil 4.11. Palmitik asitin, Platin(Pt) çalışma elektrotu ile ölçülen, farklı biriktirme sürelerindeki akım değerleri	40
Şekil 4.12. Altın(Au) çalışma elektrotu ile farklı biriktirme sürelerinde palmitik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)	41
Şekil 4.13. Optimize şartlarda palmitik asite ait, Au çalışma elektrodu ile ölçülen, farklı derişimlerdeki akım değerleri	42
Şekil 4.14. Sade yağ ve üzerine eklenen palmitik asitin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)	42
Şekil 4.15. Sade yağ ve üzerine eklenen palmitik asit çözeltisine ait standart ekleme grafiğı	43
Şekil 4.16. Sade yağ ve eklenen palmitik asitin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)	45
Şekil 4.17. Sade yağ ve üzerine eklenen palmitik asit çözeltisine ait standart ekleme grafiğı	46
Şekil 4.18. Destek elektrolitin 10 tekrarlı voltamogramı (Ag/AgCl)	48
Şekil 4.19. $2,75 \times 10^{-4}$ M palmitik asitin 10 tekrarlı voltamogramı (Ag/AgCl)	49
Şekil 4.20. Palmitik asitin voltamogramı	50
Şekil 4.21. Palmitik asite ait kalibrasyon grafiğı	50
Şekil 4.22. Eklenen tuz miktarına bağı olarak ölçülen voltamogram değerleri	53

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. CHI 760D model bilgisayar destekli voltametri cihazı	26
Resim 3.2. Soldan sağa ; camı karbon elektrot, platin elektrot, altın elektrot.....	26
Resim 3.3. Ag/AgCl referans elektrot.....	27
Resim 3.4. Platin elektrot.....	27
Resim 3.5. Analitik terazi	28
Resim 3.6. Ultrasonik su banyosu.....	28
Resim 3.7. pH metre	28

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılan simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda verilmiştir.

Simgeler	Açıklama
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad
C_0	Derişim (mol/cm^3)
D	Difüzyon katsayısı (cm^2/s)
E	Uygulanan potansiyel (V)
$E_{1/2}$	Yarı dalga potansiyeli (V)
E_{pa}	Anodik pik potansiyeli (V)
E_{pk}	Katodik pik potansiyeli (V)
Hz	Hertz
I_d	Difüzyon akımı (μA)
I_{pa}	Anodik pik akımı (μA)
I_{pk}	Katodik pik akımı (μA)
M	Molarite
mA	Miliamper
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mV	Milivolt
n	Aktarılan elektron (mol)
nA	Nanoamper
pa	Palmitik asit
s	Saniye
V	Potansiyel
w	Dalga yüksekliği (cm)
μA	Mikroamper
μL	Mikrolitre
v	Tarama hızı (mV/s)

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ASV	Anodik sıyırma voltametrisi
CE	Çalışma elektrodu
CSV	Katodik sıyırma voltametrisi
CV	Dönüşümlü voltametri
DMSO	Dimetil sülfoksit
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin sınırı
LSV	Doğrusal süpürme voltametrisi
RSD	Bağıl standart sapma
SPCE	Ekran baskılı karbon elektrot
SV	Sıyırma voltametrisi
SWSV	Kare dalga katodik sıyırma voltametrisi
SWV	Kare dalga voltametrisi
TS	Türk standartları
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
VK3	2-metil-1,4-naftakinon

1. GİRİŞ

Elektrokimyasal analiz yöntemleri; indirgenme ve yükseltgenme davranışı tespit edilen numuneler için ön zenginleştirme basamağına ihtiyaç duyulmadan, yüksek duyarlılık ve seçicilik özelliği ile ultra eser düzeydeki ölçümlerde de rahatça uygulanabilmektedir. Elektroanalitik kimyanın alt dalı olan voltametri; farklı kimyasal ve biyolojik analizler için yük transfer ilişkilerinde nicel ve nitel bilgi sağlamak adına hızlı, hassas ve güvenilir bir yöntemdir [1].

Yüksek hassasiyet, portatiflik, düşük maliyet, çoklu numune ile aynı anda analiz yeteneği, gelişen teknolojiye göre ayarlanma (çalışma elektrotlarının modifiyesi gibi; yeni nesil bor, grafen ve altın modifiyeli çalışma elektrotları), organik ve inorganik numunelerin analizinde ppb düzeylerinde tespit özellikleri ile voltametrik analizler umut vericidir [2].

Analitik tekniklerin duyarlı ve kullanışlılarından olan, voltametrik teknikler, 10^{-2} mol/L (g/L) ile 10^{-11} mol/L (ng/L) aralığındaki değişen derişimlerde; basit metal iyonlarını, kompleks metal türlerini, inorganik anyonları ve farklı türdeki organik bileşikleri tayin etmek için kullanılır. Ayrıca, voltametri diğer yöntemlere göre daha ucuzdur ve basit yapılıdır [3].

Voltametrik çalışmalarda; analitin, yarı hücre etkinliği gözlemlenir. Prensip, çalışma elektroduna uygulanan potansiyel değiştirilerek farklı akım değerlerinin oluşması ile analitin derişimi hakkında bilgi edinilir [4]. Voltametrik analizdeki veriler doğrultusunda potansiyele karşı akım grafiği çizilerek voltamogram oluşturulur [5].

Eğrilerinin biçimi; itici güç olarak potansiyel farka, yarı hücre çözeltisinin karıştırılmasına ya da hareketsiz kalmasına bağlıdır [6].

Bir voltametrik analiz için en az iki elektrot gereklidir. Çalışma elektrodu, uygulanan potansiyeli analite iletip, analit ile devre arasındaki yük geçişlerini sağlar. Diğer elektrot ise kendi potansiyeli belli ve çalışma elektrodunun potansiyelini ölçen bir elektrot olmalı ve çalışma elektrodunda yük dengesini de sağlamalıdır. Voltametrik analiz için her ne kadar iki elektrot yeterli olsa da üçüncü bir elektrodun varlığı faydalı olur. Çalışma elektrodu ile elektrolit ara yüzünde oluşan potansiyel farkı bir potansiyostat ile ölçülür.

Referans elektrot, hiçbir noktasından akım geçmeyen, çalışma elektrodunun potansiyelini kontrol eden ve ölçen, indirgeme potansiyeli belli olan bir yarı hücredir. Üçlü elektrot sistemlerinde, yardımcı elektrot (karşıt elektrot), çalışma elektrodunda ölçülen akımı dengelemek için gerekli tüm akımı geçirir. Karşıt elektrot, analit ile tepkime vermemeli ve iletkenliği yüksek olmalıdır. Elektrotlarda indirgenme ve yükseltgenme sonucu oluşan faradaik akımların ölçülmesi analitin derişiminin belirlenmesinde kullanılır. Faradaik akımın oluşabilmesi için ise elektrot yüzeyine doğru bir kütle aktarımı olması gerekir. Analitin çalışma elektrodu yüzeyinde indirgenmesi ya da yükseltgenmesi durumunda, elektrot ile elektrolit ara yüzünde oluşan derişim gradyanı sayesinde numune miktarı tayin edilir [7-10].

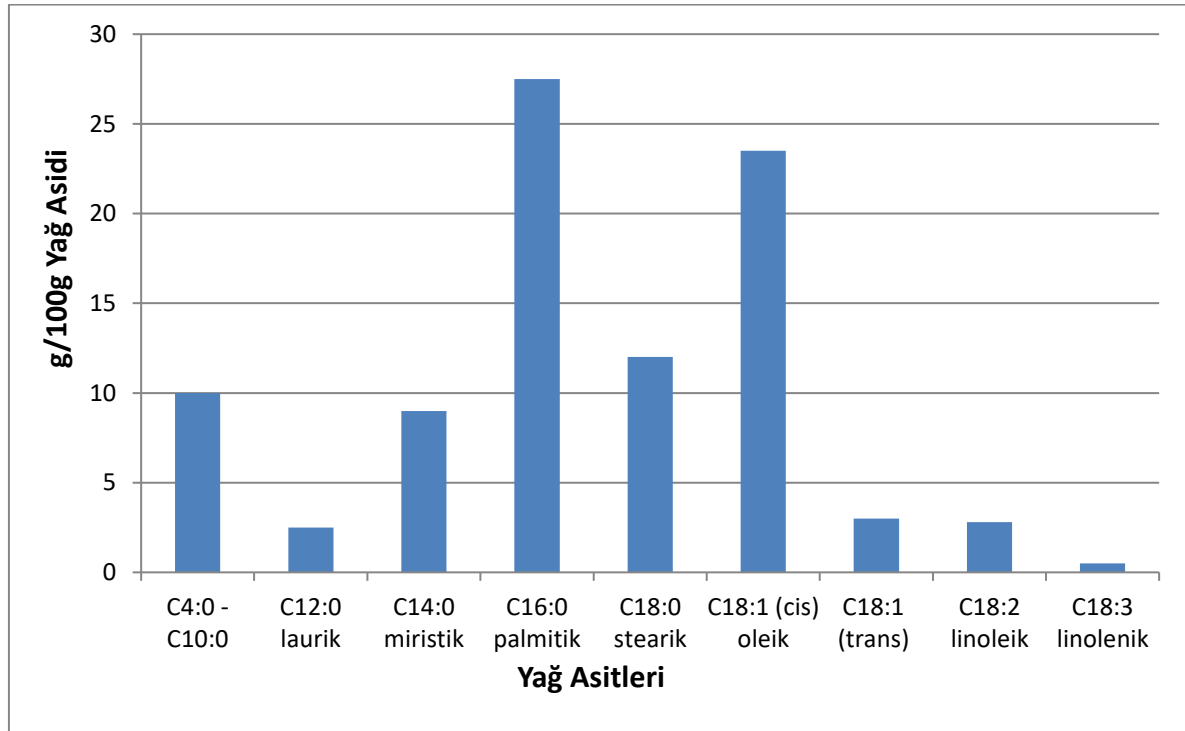
Bu çalışmada palmitik asitin voltametrik tayini için en uygun parametreler belirlenmiştir. Bu sebeple palmitik asitin dönüşümlü voltametri ile indirgenme veya yükseltgenme davranışları ve elektrot reaksiyonun karakteri incelenmiştir. Daha sonra palmitik asitin elektrokimyasal davranışı tespit edilip bazı parametreler optimize edilerek kare dalga sıyırma voltametrisi ile tayini için yöntem geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntem sadece yağ numunelerinde palmitik asit miktarının tayininde kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnek Sütü

Süt; doğumdan sonra süt ile besleme yapan memeli hayvanların yavruları için birincil beslenme kaynağıdır. Hayvanların evcilleştirilmesiyle birlikte süt ve süt ürünleri insanlar için de önemli bir gıda olmuştur. Mineral, vitamin, karbohidrat, protein, lipit ve su ile bazı esansiyel bileşikler ve zengin besinsel öğeleri içerir [11].

İnek sütünü bazı besin değerleri açısından inceleyecek olursak; %4,8 civarında laktoz, [12,13] yaklaşık %3,2 protein (%80'i kazein) [13,14] %3,5 – 4 oranında lipit (trigliseritler (%97 – 98), fosfolipitler (%0,2 – 1), serbest yağ asitleri (%0,1 – 0,5), steroller (% 0,3 – 0,4), mumlar, yağda eriyen vitaminler (Şekil 2.1.) [13,15,17] %1 civarı mineral maddeler (Ca, Na, K, Mg, P, Cl, I, Zn ve Fe, Cu gibi bazı eser elementler) [16] yaklaşık %88 oranında su içerir [13].



Şekil 2.1. İnek sütünün yağ asitleri içeriği [17]

2.2. Tereyağı

Tereyağı; kristal fazlı yağ içerisinde dağılmış fazdaki su, sürekli bir yağ fazı ve yağ kesecikleri içeren çok fazlı emülsiyon yapısına sahip süt ürünüdür. Tereyağı küreciklerinin daha fazla işlenmesi, elastik ve viskoz yapılı yağda su emülsiyonu meydana getirir [18].

Suda yağ emülsiyonu halindeki kremanın, mekanik bir çalkalama ve faz dönüştürme yardımıyla yağda su emülsiyonuna dönüştürülerek üretilen süt ürününe tereyağı denir [19].

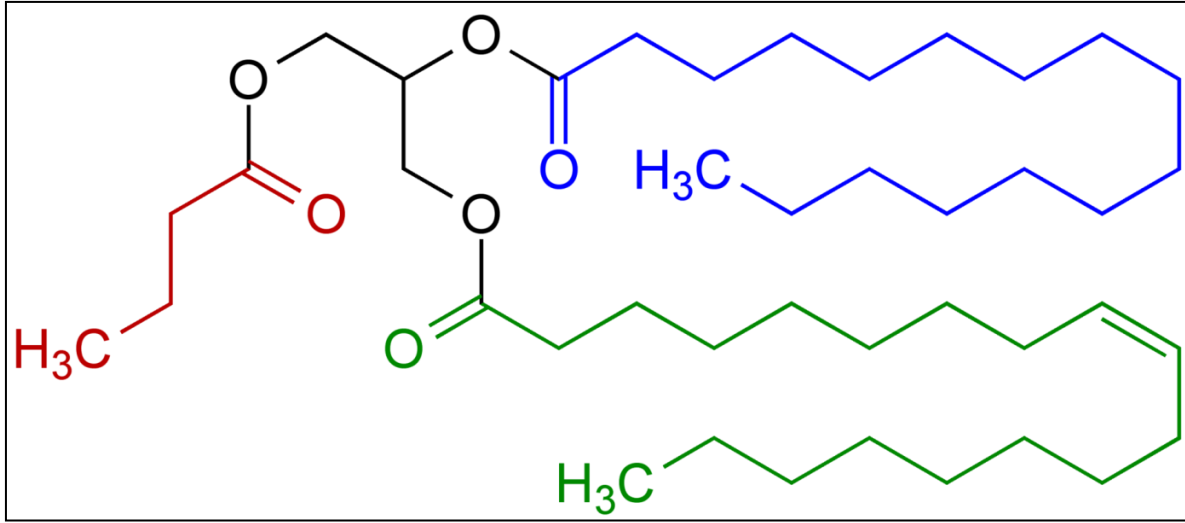
Uluslararası tereyağı standartlarına göre tereyağının en fazla %16 (w/w) su içerebileceği belirtilir [20].

2.2.1. Tarihsel süreç

Tereyağının ne zaman ve nerede üreilmeye başlandığına dair kesin bilgiler olmamakla birlikte, hayvancılık ile başladığı ve tarihteki ilk süt ürünlerinden biri olduğu düşünülür [21,22]. Bu konuda en eski kaynak günümüzden 5000 yıl öncesinin Sümer mozaiklerini işaret etmektedir. Milattan sonra ticari değeri artan tereyağı; gıda, kozmetik ve ilaç alanlarında kullanılmıştır. Sanayi devrimi ve süt ürünleri teknolojisinin gelişmesiyle birlikte tereyağında seri üretime geçilmiştir [23].

2.2.2. Kimyasal ve fiziksel özellikleri

Tereyağında trigliserit yapısında bulunan bazı serbest yağ asitleri; bütirik asit, palmitik asit ve oleik asittir (Şekil 2.2.) [25].



Şekil 2.2. Tereyağında bulunan bir trigliseritin kimyasal yapısı; Bütirik asit (kırmızı), Gliserin (siyah), Palmitik asit (mavi), Oleik asit (yeşil) [25]

Tereyağı; büyük ve küçük baş memeli hayvanların süt ve süt ürünlerinden (yoğurt, krema, kefir gibi) çeşitli teknikler ile elde edilen, kendine özgü fiziksel ve duyuşsal (tat, koku, kıvam, renk özelliğı olan), kimyasal (karbohidrat, lipit, protein, vitamin, su ve bazı mineral maddeler içermesi) özellikleri ile elde edildiğı hayvanın türü, ırkı, yaşamsal alanı, beslenme şekli, mevsimsel koşullar, üretilme tarzı gibi etkenlere bağı olarak küçük değışiklikler gösteren bir üründür. Tereyağı; en az %80 süt yağı, en fazla %16 su, %2 oranında kuru madde içerir [26-30]. Tereyağı 170 °C civarında yanar.

Tereyağının fiziksel ve kimyasal özellikleri üretim kaynağına göre değışmektedir. Hammadde olarak çoğunlukla inek sütü kullanılsa da keçi ve koyun sütleri yağ oranı daha fazla olması nedeniyle tereyağı ve sadeyağ üretiminde daha randımanlıdır. Yağ globüllerinin çapı daha küçük olduğundan, inek sütüne göre keçi sütünün sindirimi daha kolay olduğundan, tereyağı da bu yüzden tercih edilir. Koyun sütü (%7,5) ise inek sütü (%3,7) ve keçi sütünden (%4,5) daha yağlıdır, kuru madde oranı daha fazladır, bu yüzden sindirimi daha zordur fakat tereyağı üretiminde daha randımanlıdır [31].

Palmitik asit içeriklerine göre tereyağı çeşitleri; inek (%33,72), koyun (%27,87), keçi (%34,75) [32].

İnsan süt yağı ve inek tereyağının bazı yağ asit değerleri üzerine yapılan bir çalışmada 3 farklı ülkeden alınan insan sütlerindeki palmitik asit analiz sonuçları; Nijerya (%21,5), Fransa (%21,6), Amerika (%20,6) ve inek tereyağı (%30,2) olarak bulunmuştur [33].

Tereyağı; (C4-C8) kısa karbon zincirli, (C10-C14) orta karbon zincirli ve (C16-C20) uzun karbon zincirli yağ asitlerinin trigliseritlerinden meydana gelir. Uzun zincirli doymamış yağ asitleri ile kısa zincirli doymuş yağ asitlerinin oranı, uzun zincirli doymuş yağ asitlerinden ne kadar fazla ise erime noktası da o kadar düşük olur [34].

Başta palmitik asit (C16:0) olmak üzere, tereyağında bol bulunan diğer yağ asitleri; miristik asit (C14:0), stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1) [35,36].

Sütteki serbest yağ asitlerinin kaynakları; hücre içinde direk kan yolu ile ya da serum albüminleri vasıtasıyla, trigliseritlerin hidrolizasyonu veya meme bezlerinde esterleşmeyen yağ asitleri olabilir [37].

2.2.3. Üretim aşamaları

Endüstriyel olarak yoğurttan tereyağı üretim aşamaları şöyledir;

- 1) Çiğ süt
- 2) Yağ standardizasyonu
- 3) Isıl işlem (85 °C, 15 dakika)
- 4) Soğutma (45 °C)
- 5) Starter kültür ilavesi (%2)
- 6) Bekletme (45 °C, 4-5 saat, 4,6 pH)
- 7) Yoğurt
- 8) Fiziksel olgunlaştırma (4 °C, 24 saat)
- 9) Su ilavesi (1:0,5)
- 10) Yayıklama (17 °C)
- 11) Tereyağı granüllerinin oluşması
- 12) Yıkama, yayık altı suyu uzaklaştırma
- 13) Yoğurma
- 14) Paketleme
- 15) Depolama (4 °C) [38].

2.2.4. Sade yağ

Sade yağ, sudan ve yağsız kuru maddeden olabildiğince arındırılmış, süt ya da süt ürünlerinden elde edilebilen bir üründür. Baklavacılıkta tat ve aroma için özellikle tercih edilir. Şanlı Urfa’ da üretilip satışa sunulan bazı sade yağların serbest yağ asitlerinin tayinine yönelik yapılan bir çalışmada; palmitik asit oranı %27,6 – 36,8 olarak bulunmuştur [39].

“Sadeyağ: Süt ve/veya süt ürünlerinden elde edilen, su ve yağsız kuru madde unsurlarının tamamına yakın bölümü uzaklaştırılmış, ağırlıkça en az %99 oranında süt yağı içeriğine sahip üründür.” [40]

Sadeyağın tereyağından farkı, %99 yağ içermesi ve 250 °C’ de yanmasıdır. Yağsız kuru madde ve sudan neredeyse tamamına yakını ayrılmıştır. Bu durum sadeyağın dayanıklılığını artırıp, ömrünü de uzatmaktadır. Sütten ve yoğurttan elde edilen sadeyağın reolojik özelliklerinin incelenmesi üzerine yapılan bir çalışmaya göre; yayıklama sonrası süt ve yoğurttan alınan yağ, su banyosunda 70 °C’ de eritilir, 2 saatlik dinlendirme sonrası yağ ve serum fazı ayrılır, bez yardımı ile süzülüp sade yağ alınır [41].

2.2.5. Mevzuat ve standartlar

Tüm ülkelerin genel tereyağı mevzuatı ve standartları birbirine yakındır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) [42] ile ABD Federal ve Eyalet Yasaları [43] gereği, tereyağı en az %80,0 süt yağı içermelidir. Ayrıca FAO, su içeriğini %16 ve yağsız süt kuru madde miktarını %2 ile sınırlar [44-46].

Tarım ve Köy işleri Bakanlığı’ nın, Türk Gıda Kodeksi; Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği’ ne göre (Tebliğ No: 2005/19) :

“ Süt yağı: Sütten elde edilen yağı, Süt yağı esaslı sürülebilir ürün: Sadece süt ve/veya süt ürünlerinden elde edilen, ana bileşeni yağ olan, temel olarak yağ içinde su emülsiyonu tipinde, şekillendirilebilir, 20 °C sıcaklıkta katı yapıda olan ürünü, Sadeyağ: Süt ve/veya süt ürünlerinden elde edilen, su ve yağsız kuru madde unsurlarının tamamına yakın bölümü uzaklaştırılmış, ağırlıkça en az %99 oranında süt yağı içeriğine sahip ürünü, Süt yağı esaslı

sürülebilir ürünler piyasaya sunulmuş ve bileşimlerine göre; a) Tereyağı: Ağırlıkça en az %80, en fazla %90 oranında süt yağı, en fazla %2 oranında yağsız süt kuru maddesi ve en fazla %16 oranında su içeriğine sahip ürünü, b) Dörtte üç yağlı tereyağı: Ağırlıkça en az %60, en fazla %62 oranında süt yağı içeriğine sahip ürünü, c) Yarım yağlı tereyağı: Ağırlıkça en az %39, en fazla %41 oranında süt yağı içeriğine sahip ürünü ” tanımlar [47].

TS 1331 gereğince, “tereyağı süt ve/veya süt ürünlerinin tekniğine uygun olarak işlenmesi sonucunda elde edilen, gerektiğinde mevzuatına uygun katkı maddeleri, çeşni maddeleri ve diğer katkı maddeleri de katılabilen süt mamulü” ifadesiyle belirtilir [48]

Analizini yaptığımız tereyağı numunelerinde, etiket içeriğindeki bilgilere göre; “ kuru madde’ de en az %82 süt yağı içerir ” ifadesi belirtilmiştir. Numuneler, inek sütünden, teknolojik yöntemlerle gıda tebliğine uygun olarak üretilen tereyağlarıdır.

2.2.6. Tereyağında serbest yağ asidi tayininin önemi

Sütteki yağ asitleri içeriğini; hayvansal kaynak, beslenme şartları, genetik yapısı, çevresel etkenler, süttten ilgili ürüne kadar geçen üretim aşamaları, depolama koşulları, tüketici kullanım şartları gibi unsurlar önemli ölçüde değiştirebilir.

Ülkemizde; Türk Gıda Kodeksi ve TSE (Türk Standartları Enstitüsü) tarafından, süt ve süt ürünlerine bağlı tereyağı tebliği oluşturulmuş ve üretim, depolama, tüketim şartları belirtilmiştir. İlgili tebliğde; tereyağının içermesi gereken sadeyağ ve sadeyağdaki yağ asitleri miktarları da belirtilmiştir. Standartlar dışında olan ürünler, hatalı ya da hileli kabul edilir.

Pek çok gıda ürününde olduğu gibi tereyağında da hatalı ve hileli üretim tespit edilmektedir.

Tereyağında, doymuş ve doymamış yağ asitlerinin hepsi elektrokimyasal yollarla kolayca ve doğru bir şekilde tespit edilebilmektedir. Bunun yanı sıra geleneksel analiz yöntemleriyle de olumlu sonuçlar alınabilmektedir; Wijs Metodu ile yapılan ve iyot sayısı prensibine dayalı, yağların doymamışlık derecesinin belirlenmesi buna bir örnektir. İlgili yağ numunesi, iyot çözeltisi ile reaksiyona bırakılır, bir süre sonra ortamda kalan iyot

miktarı nişasta indikatörü eşliğinde sodyum tiyosülfat çözeltisi ile geri titrasyonunda bulunur. Yağ asitlerindeki çift bağların iyot ile doyurulmasıyla çift bağ sayısı ve doymamışlık derecesi tespit edilir. Bu yöntemler, yağların kalitesi hakkında bilgi veren önemli çalışmalardır [49].

Süt yağı ve tereyağındaki yağışları araştıran bir çalışmada; daha ucuz bitkisel ve hayvansal kaynaklı yağların tereyağına katıldığı tespit edilmiştir. Süt yağı için toplu bir analiz yapılan bu çalışmada; triağılgliceroller, yağ asitleri, steroller, tokoferoller incelenmiştir. 16 numune üzerinde inceleme yapılmış ve bazılarının serbest yağ asidi değerlerinin normalin altında olduğu, bazılarında ise tokoferol içerdiği gözlemlenmiştir. Tokoferol, bitkisel kaynaklı olup hayvansal yağlarda bulunmaz [50].

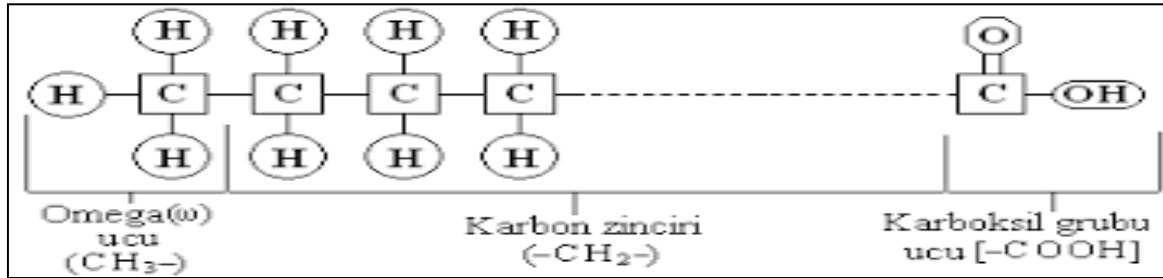
Şanlı Urfa' da üretimi yapılan ve satışa sunulan sadeyağların serbest yağ asit miktarlarının tayinine yönelik 20 numunede yapılan bir çalışmada ise şu değerler bulunmuştur; toplam serbest yağ asidi miktarı 79,9 ve 89,5 mg/100g arasında değişen değerler. Yağ asitlerinin oranları ise; % 0,31 – 0,74 bütirik asit, % 0,32 – 1,06 kaproik asit, % 0,25 – 0,79 kaprilik asit, % 1,32 – 2,65 kaprik asit, % 2,54 – 3,70 laurik asit, % 11,12 – 14,38 miristik asit, % 27,62 – 36,82 palmitik asit, % 9,14 – 14,50 stearik asit, % 32,43 – 38,53 oleik asit, % 0,14 – 0,54 linoleik asit olarak bulunmuştur [51].

2.3. Lipitler

Canlıların organik ana bileşenlerinden biridir. Yağ asitlerinin alkoller ile oluşturdukları esterleşme ürünleridir. Hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenenleri olduğu gibi dışarıdan da alınan elzem lipitler vardır. Yağ asitleri, lipit benzeri maddeler sınıfına girer. Yağlar, gliserin ile yağ asitlerinin esterleşme bileşikleri olan gliseritlerdir. Gliseritler, esterleşme yaptığı alkol cinsine göre adlandırılırlar. Aynı cins alkol ile esterleşme reaksiyonu verenlere basit gliserit (gliserol ve palmitik asitin esteri olan tripalmitin gibi), farklı cins alkoller ile esterleşme verenlere karma trigliserit (palmitik, stearik, oleik asitin gliserol ile esterleşmesi gibi) denir. Gliserol her yapıda sabit olduğu için yağın çeşidini yağ asidi cinsi belirler. Yağ asitleri bütirik asit (C_3H_7COOH) ile başlar, daha düşük karbonlu asitler yağlarda bulunmaz. Yağ asitleri, kan plazmasında esterleşmemiş biçimde, serbest yağ asitleri formunda bulunur. Yağ asitlerinin; zincir uzunluğu, doymuşluk durumu, çift bağların sayısı ve konumu (konjuge, cis, trans biçimi),

fonksiyonel grup ya da halkalı yapı içermesi durumu, bulunduğu yağın fiziksel ve kimyasal özelliğini de belirler. Zincir yapılarına göre yağ asitleri; düz zincirli; doymuş (miristik, palmitik, stearik asit gibi), doymamış (oleik, linoleik, araşidonik gibi), substitüe (rizinoleik asit), halka içeren (hidnokarpik asit, prostanoik asit gibi), dallanmış zincirli (laktobasillik asit) şeklinde bulunurlar [52-54].

Hidrofobik yapılı oldukları için tamamına yakını suda ya çözünmez ya da çok düşük miktarda çözünür. Yağ asitlerinden 8 C'lu kaprilik asit de dahil alt birimleri 25 °C'de sıvı ve uçucudur, suda belirli oranlarda rahat çözünme sağlarken, 10 C ve üstü yağ asitleri suda çözünmez. Genel olarak organik çözücülerde çözünürler (Şekil 2.3.) [55,91].



Şekil 2.3. Doymuş yağ asidi örneği ve içerdiği gruplar [91]

2.4. Palmitik asit

Palmitik asit ilk olarak, 1840 yılında, Fransız kimyager Edmond Fremy tarafından hurma yağında tespit edilmiştir [56].

Pek çok bitki, hayvan ve mikroorganizma lipidlerinde gliserol ester olarak bulunan ve metabolizma tarafından sentezlenebilen, 16 karbonlu (hegzadekanoik) doymuş yağ asididir. Palmitik asitin, fizyolojik pH değerindeki (7,4) hali palmitat anyonudur. Palmitik asitin pKa değeri 4,75'tir [57].

Yağ asidi sentezinde üretilen ve kendinden sonra gelen daha uzun zincirli yağ asitlerinin ilk basamağıdır. Beslenme yoluyla dışarıdan alınabildiği gibi endojen olarak da diğer yağ asitlerinden, karbohidratlardan ve amino asitlerden sentezlenebilir. Anne sütünün ve insan depo yağının önemli bir kısmını da palmitik asit oluşturur [58].

Palmitik asitin çözünürlük bilgileri Çizelge 2.1.'de verilmiştir. [59-62]

Çizelge 2.1. Palmitik asitin çözünürlüğü

Çözücü	Sıcaklık (°C)	Çözünen Miktar (g/100g çözücü)
1-butanol	20	10,5
Asetik asit	20	2,14
Aseton	20	5,38
Amil asetat	25	16,6
Benzen	20	7,3
Karbon tetraklorit	20	5,8
Kloroform	20	15,1
Sikloheksan	20	6,5
Dietil eter	25	32,8
Dimetil sülfoksit	25	91
Etanol %50	40	0,4
Etanol saf	40	41,4
Etil asetat	25	10,7
Hekzan	40	62,4
i-butanol	21	14,7
i-propanol	20	10,9
Metanol	21	5,37
Metil asetat	25	7,81
Metil format	25	2,5
Propanol	21	16
Su	60	0,0012

Çizelge 2.2. Palmitik asitin kimyasal özellikleri [63-65]

Kimyasal formülü	$C_{16}H_{32}O_2$
Mol kütlesi	256,43 g/mol
Erime noktası	62,9 °C
Kaynama noktası	352 °C
Yoğunluk	0,852 g/mL (25 °C)
Dış görünüş	Beyaz kristal

2.4.1. Palmitik asitin elektrokimyasal tayinine yönelik kaynak çalışmaları

Palmitik asit ve diğer yağ asitlerinin farklı kimyasal yöntemlerle analiz ve tayini mümkündür. Elektrokimyasal yöntemler; analizin kısa sürede yapılabilmesi, çok düşük derişimlerde bile nitel ve nicel analiz avantajı, ekonomik ve kullanışlı olması, geliştirilebilir tekniklere dayanması gibi alternatif ve üstünlükler ile diğer kimyasal analizlere rakiptir. Palmitik asitin elektrokimyasal yöntemler ve bu yöntemlerden de kare dalga sıyırma voltametrisi ile analizi, 10^{-11} M derişimlere kadar varan tayin yeteneği sayesinde endüstriyel ve teknolojik çalışmalara önemli katkı sağlamaktadır [3].

İndirgenmiş grafen oksit ile modifiye edilmiş elektrotla palmitik asitin voltametrik tayinine yönelik bir çalışmada; tüm dünyada ticari değeri gün geçtikçe artan ve üretimine önem verilen palmiye yağının analizleri ve geliştirilebilir elektrokimyasal tayin metodları üzerinde durulmaktadır. Geleneksel titrasyon yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen bu yöntemde, modifiye edilmiş grafen oksit çalışma elektrodunun avantajları da test edilmiştir. Destek elektrolit olarak lityum perklorat'ın asetonitril/su (3:1) içindeki çözeltisi ve 2-metil-1,4-naftakinon (VK3) kullanılmıştır. Yöntem; 0,079 mM tespit limitiyle 0,192 mM ve 0,833 mM arasındaki değişik derişimlerde yüksek hassasiyet ve hızlı tespit göstermiştir. Sulu ortamda çalışıldığı için aprotik çözücülerde suyun varlığı, H verip alma eğiliminden dolayı palmitik asitin tayinini zorlaştırabilir. Bu yüzden suyun miktarı kontrollü çalışılmıştır. Grafen oksit ile modifiye edilmiş ekran baskılı karbon elektrot (SPCE) kullanılarak, -0,897 V ve -1,251 V potansiyelinde iki adet indirgeme piki tayin edilmiştir. Kinonun semi kinon anyonu ve dianyon' una indirgenmesine bağlı olarak çözelti içinde oluşan kinon anyonları palmitik asitin H iyonları ile etkileşime girerek indirgeme pikleri verir. Analitteki palmitik asit derişimi ile ilişkili olarak, derişim arttıkça elde edilen indirgenme pikinin yüksekliği de artmaktadır. Yöntemin doğruluğu, tekrarlanabilirliği, hassasiyeti; gerçek numune analiziyle de teyit edilmiştir [66].

Kotani, ve arkadaşlarının yapmış olduğu, voltametrik yöntem ile palmitik asit tayinine ilişkin çalışmaya göre; 1-bütanol içinde çözülmüş sıvı ve katı yağlardan alınmış numuneler, kinon takviyeli LiCl destek elektrolit çözeltisinde analiz edilmiştir. Sonuçlar, geleneksel potansiyometrik titrasyon yöntemiyle de doğrulanmıştır. Voltametrik analiz ile geleneksel yöntemler kıyaslandığında; voltametrik analizde 0,1 mL numune ile 30 – 60 s gibi kısa sürede yapılan ölçümler, geleneksel yöntemler ile 10 – 50 mL numune ve 5 – 10

dakikalık süre gerektirmektedir. Kinonun amperometrik indirgenmesine dayalı palmitik asit tayin çalışmasında pek çok endüstriyel ürünün asit tayininde üstün özellikleri nedeniyle umut verici olduğu vurgulanmaktadır [67].

Takamura, ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; farklı gıdasal ve biyolojik (katı ve sıvı yağlar, içecekler, kan örnekleri gibi) numunelerde asitleri belirlemek üzere yeni bir voltametrik yöntem deneniyor. Amaç; kinonun voltametrik indirgenmesine bağlı olarak asitleri belirlemede yeni bir yöntem geliştirmek. Gıdaların üretim ve depolama aşamalarındaki olumsuz durumlar, gıdaların asit içerikleri ve asit türlerinde değişiklik yaratacağı için asitlik tayini bir kalite ölçütü olmaktadır. Geleneksel titrasyon yöntemleri ile asit tayininde özellikle renkli numuneler ile çalışıldığında titrasyondaki renk değişimi bazen tam olarak yakalanamayabilir, hata payı her zaman vardır, analiz için fazla zaman gerekebilir, eldeki numune miktarı analiz için yeterli olmayabilir, çok düşük derişimlerdeki numuneler ile hassas çalışma olanağı da olmayacaktır. Kinonun, LiClO_4 ile etanol çözeltisi içindeki palmitik asit derişimlerine bağlı olarak verdiği indirgenme pikleri daha önceki benzer çalışmaları doğrular niteliktedir. Palmitik asit analizleri 10^{-6} M seviyelerine kadar, 0,980 varyasyon katsayısı ile yapılmıştır. 10^{-4} M palmitik asit çözeltisinden kademeli olarak toplamda 5 mL alınarak yapılan voltametrik analizde, 5 mVs^{-1} tarama hızında Ag/AgCl 'ye karşı -1 V ile 0 V arasında pozitif yönde taranarak elde edilen sinyale karşı potansiyel grafiğı çizilmiş ve tespit potansiyeli $-0,33 \text{ V}$ bulunmuştur. Çözelti derişimindeki tepki 3×10^{-4} ile 5×10^{-6} M arasında doğrusallık gösteriyordu. Palmitik asit; 2×10^{-4} M derişimde %1,4 bağıl standart sapma (RSD) ile on kez tespit ediliyor. Çalışmalarda, katı ve sıvı yağ numuneleri ile yapılan analizlerde, camsı karbon elektrot üzerinde bazen sabunsu yapıların (yağ asidi tuzları) oluştuğı gözlemlenmiştir. Bu durum yağ analizlerini bir miktar zorlaştırmıştır. Sonuç olarak; çalışılan yöntemin biyolojik ve gıdasal numunelerde geleneksel yöntemlere göre üstünlüğünün olduğu ve endüstriyel alanlarda kullanımının büyük yararlar sağlayacağı belirtilmiştir [68].

Titanyum nano tüp kullanılarak elektrokimyasal (doğrusal süpürme voltametrisi; LSV) yöntemle palmitik asit tayinine yönelik, NH Yusof ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışma şu şekildedir; prensip, elektrokimyasal anodizasyon ile hazırlanan titanyum nano tüpler vasıtasıyla palmitik asitin voltametrik analizi. Destek elektrolit olarak farklı çalışmalarda; NH_4F (amonyumflorür) ile gliserol' ün çözeltisi, LiClO_4 (lityumperklorat) ve kinon' un çözeltisi, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (potasyum hegzasiyanoferrat (III)) ve KCl (potasyum

klorür) çözeltisi kullanılmıştır. Gliserol içeren elektrolit çeşidinin, sulu elektrolit türlerine göre avantaj sağladığı gözlemlenmiştir. Kinon içeren destek elektrolit çözeltisinde, palmitik asitin tayini, kinonun indirgenme basamaklarına dayanıyordu. Palmitik asit, kinonun indirgenmesi için proton kaynağı görevi görüyordu ve artan palmitik asit derişimlerine bağılı olarak, uygulanan potansiyel aralığında akım değerleri de artıyordu. Naftokinon önce anyon radikaline daha sonra da oluşan anyonun, dianyona indirgenmesi ile palmitik asit analiz ediliyordu. Kinon varlığında perklorat çözeltisindeki palmitik asit analizi, 50 mVs⁻¹ tarama hızında Ag/AgCl'ye karşı -1,6 V ile 1 V arasında pozitif yönde taranarak -0,9 V (E1) ile -1,27 V (E2) değerlerinde iki indirgenme piki yakalanmıştır. Modifiye edilmiş titanyum nano tüp ile palm yağındaki asit içeriğinin doğrusal süpürme voltametrisi yöntemiyle tayinine dayalı bu çalışma; 2,3 mM ile 6,2 mM arasında değışen palmitik asit derişimlerindeki analitlerde 1,006 mM tespit limiti (LOD), 0,9877 varyasyon katsayısı ve %2,48 (n=5) nisbi standart sapma (RSD) değeri ile hassasiyet, doğruluk ve tekrarlanabilirlik ölçütlerini başarı ile yerine getirmiştir [69].

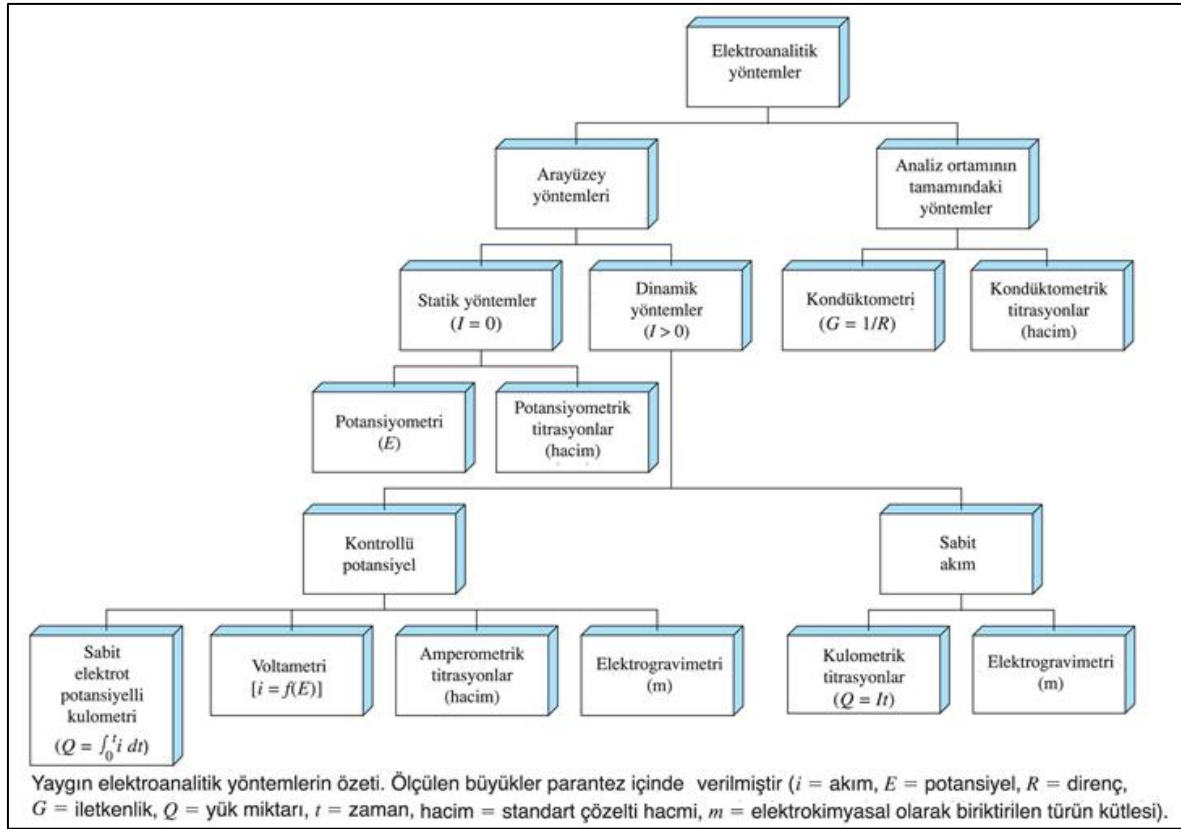
2.5. Elektro analitik yöntemler

Elektrokimyasal yöntemler, analizi yapılacak maddenin indirgenme ve yükseltgenmesi yolu ile kalitatif veya kantitatif analiz yapabilen bir grup metoda verilen addır.

Ölçümler, numunenin ve en az iki elektrotun yerleştirildiğı bir elektrokimyasal hücrede yapılır. Elektrokimyasal yöntemler sulu numunelerin analizinde kullanılabildiğı gibi susuz çözeltilere ve gazlara da uygulanabilir. Yöntemlerin çoğunda voltaj, akım, direnç veya yük gibi derişime bağılı bir elektrik parametresi ölçülürken diğere parametreler sabit tutulur.

Elektrokimyasal yöntemlerin avantajları; yöntemlerden bazıları oldukça özeldir ve bu nedenle sadece ilgilenilen türleri tespit etmek için kullanılabilir. Diğere yöntemler oldukça geneldir ancak iletkenlik ölçümlerinde iyonik türler gibi yalnızca belirli bileşik türlerini saptamak için avantaj sağlar [70].

Bu yöntemlerin en önemli avantajlarından biri ise elektrokimyasal yöntemlerin çoğunlukla bir elementin, o yükseltgenme veya indirgenme basamağına özgü olmasıdır. Bu sayede aynı elementin farklı basamaklarına sahip bir karışımda her bir tür ayrı ayrı tayin edilebilmektedir.

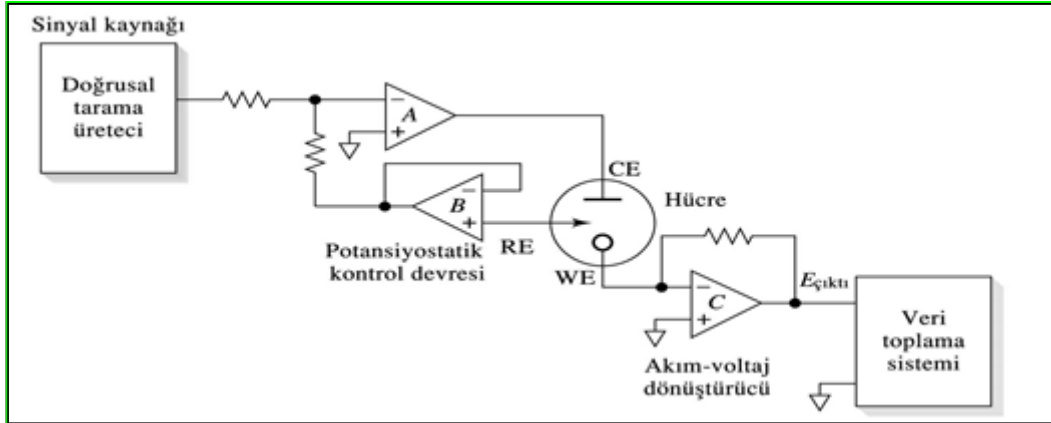


Şekil 2.4. Genel elektroanalitik yöntemler[72].

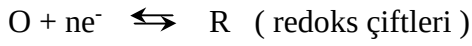
Bu yöntemlerden kontrollü potansiyel başlığındaki elektroanalitik analizlerin amacı; analitin derişimindeki değışime bağı, oluşacak akım değışimini elde etmektir. Akım değışimi ise hücredeki analitin redoks reaksiyonları boyunca elektron transferi tespit edilerek ölçülür (Şekil 2.4.) [72]

Redoks tepkimelerinde elektron alışverişı uygun potansiyel aralıklarında oluşur. O ve R indirgenmiş (R) ve yükseltgenmiş (O) türlerdir. Yüzeydeki elektroaktif türlerin derişimleri (Co^0 ve Cr^0), termodinamik yasaları gereğı, Nernst denkleminde ilgili yerlere yazılarak elektrot potansiyeli hesaplanır.

Üç elektrotlu bir potansiyostat düzeneğinde; sinyal kaynağı, potansiyostatik kontrol devresi, çalışma elektrodu, karşıt elektrot, referans elektrodu, elektrolitik hücre, akım/voltaj dönüştürücü ve veri toplama sistemi yer alır (Şekil 2.5.) [72].



Şekil 2.6. Üç elektrotlu potansiyostat çalışma düzeneği [72].



$$E = E^0 - \left[\frac{RT}{nF} \right] \ln \left(\frac{C_R^0}{C_O^0} \right) \quad (\text{Nernst Denklemi})$$

$$E^0_{\text{hücre}} = \left(\frac{RT}{nF} \right) \ln K$$

$$E = E^0 - \left(0,0257 \text{ V/n} \right) \ln \left(\frac{C_R^0}{C_O^0} \right)$$

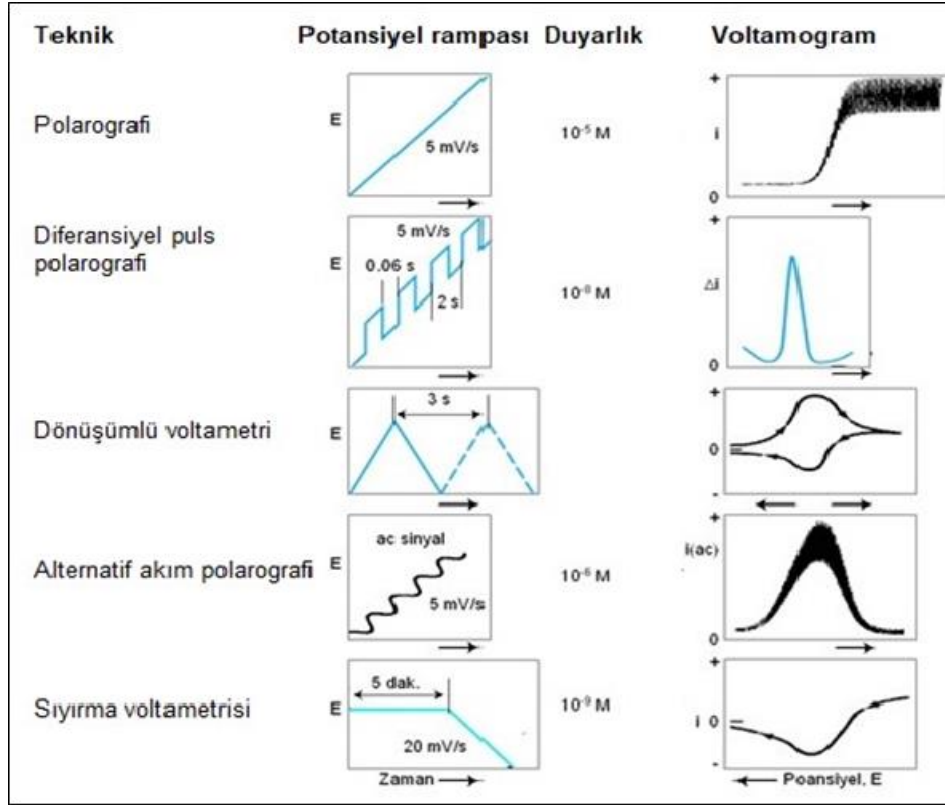
Nernst eşitliğinde: E^0 ; redoks çifti için standart indirgenme potansiyelini, R ; ideal gaz sabitini ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T ; mutlak sıcaklık değerini (K), F ; Faraday sabitini (96485 C/mol), n ; transfer edilen elektron yükünü (mol), C_O^0 ; yükseltgenmiş türün derişimi, C_R^0 ; indirgenmiş türün derişimini, E ; elektrot potansiyelini simgeler. İlgili denklem, derişim ve sıcaklığın hücre potansiyeli üzerindeki etkisini gösterir [73].

2.5.1. Voltametri

Elektrokimyasal bir hücrede polarizasyon şartları altında, çalışma elektroduna uygulanan potansiyele karşı ortamdaki türlerin elektrokimyasal davranışlarından oluşan akımın grafiğe geçirilmesi ile oluşan ve voltamogram adı verilen eğrilerin yorumlanması sonucu türlerin nitel, nicel ve birçok kinetik parametrenin belirlenebildiği elektrokimyasal yöntemdir.

Voltametri çalışma elektroduna uygulanan ve zamanla doğrusal olarak artan potansiyelin şekline göre isimler alır. Örneğin; çalışma metoduna zamanla doğrusal olarak artan bir

potansiyel uyguluyorsak, doğrusal taramalı voltametri; önce doğrusal olarak artan arkasından zamanla tekrar azalan bir potansiyel uyguluyorsak dönüşümlü voltametri, doğrusal artan potansiyele küçük genlikler bindirirsek metodun adı puls voltametrisi olur (Şekil 2.6.) [72].



Şekil 2.7. Bazı voltametrik tekniklerde potansiyel rampaları ve ölçülen voltamogramlar [72]

Elektrokimyasal hücrede elektrot ile analit çözeltisinin reaksiyona girmeye başlamasıyla potansiyeldeki en ufak değişiklik karşısında akımda daha hızlı artış gözlenir. Belli bir noktadan sonra akımda artış gözlenmez. Nedeni ise akım miktarının analit maddenin elektrot yüzeyine taşınma hızı ile sınırlanmasıdır. Mikro elektrot yüzeyindeki taneciklerin hepsi pratik olarak elektrolizlenir ve akım şiddeti maksimum seviyededir. Bu noktadan sonra potansiyeldeki artış, akım şiddetini değiştirmez. Bu kısımdaki akım büyüklüğüne sınır akımı denir [74,75]. Sınır akımını oluşturan faktörler, göç konveksiyon ve difüzyondur. Difüzyon akımı derişimle doğru orantılı olduğundan elektroanalitik çalışmalarda tercih edilir.

Voltametrde nicel analiz; İlkoviç tarafından damlayan civa elektrodun kullanıldığı polarografi yöntemine göre türetilmiş difüzyon akım denkleminde göre yapılır.

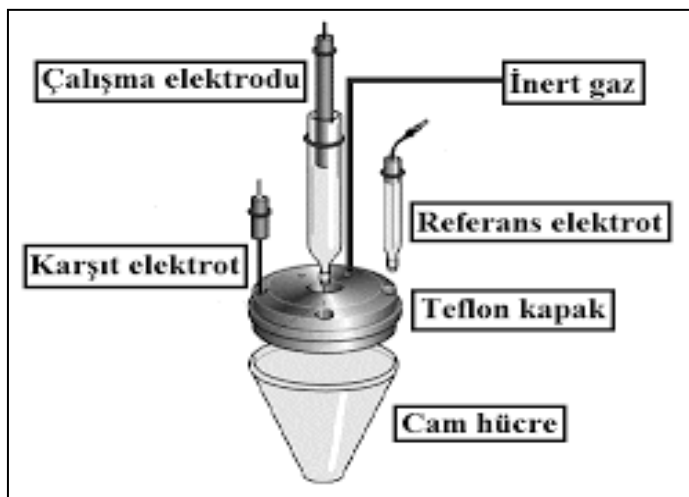
$$I_d = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C$$

Voltametrik analizlerde analitin elektrolizlenmesiyle ihmal edilebilir düzeyde madde tüketimi olduğu için nicel analizlerde difüzyon akımdan faydalanılır. Diğer tüm şartlar sabit olduğunda (D, M, t, n); akım sadece analit derişimine bağı olarak değışir ($k = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6}$).

$$I_d = k. C$$

n : Aktarılan elektron sayısı, I_d : Difüzyon akımı (μA), m : Cıva akış hızı (g/s),
D: Difüzyon katsayısı (cm^2 / s), t: Bir damlanın kopma süresi (s), C: İndirgenen maddenin derişimi (mmol/L)

Voltametrik bir hücre genel olarak; cam, kuartz veya teflon olabilen bir voltametrik kap içerisinde bulunan destek elektrolit, çalışma elektrodu (CE), karşılaştırma elektrodu (referans elektrot) ve yardımcı elektrottan oluşmaktadır (şekil 2.8.) [72]



Şekil 2.9. Üç elektrotlu hücre sistemi [72]

Kullanılan destek elektrolit, deney sürecinde elektro aktif olmayan bir çözelti olup voltametri de iyonların elektriksel çekiminden ötürü elektrotlara göç etmelerini önlemek için ortama ilave edilen ve elektrot tepkimelerine katılmayan tuz (KCl, KNO₃, NH₄Cl, BF₄ gibi), baz (NaOH gibi), asit (HCl, H₂SO₄) gibi elektrolitlerdir.

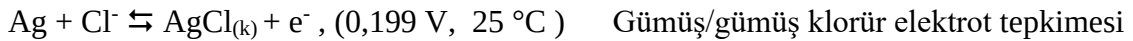
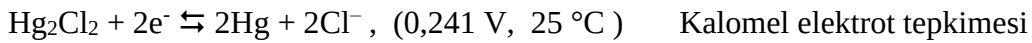
Çalışma elektrodu

Voltametri de yaygın kullanılan çalışma elektrotları; cıva kökenli elektrot, katı elektrot, modifiye elektrot, dönen elektrotlar olarak bilinmektedir. Polarizasyonun olabilmesi için kullanılan çalışma elektrotları mikro elektrotlardır. Kullanılan mikro elektrotlar sayesinde numunede bulunan elektroaktif türlerin yalnızca küçük bir bölümü elektrokimyasal tepkimeye girdiği için numunedeki bileşim neredeyse çözeltinin her yerinde aynı kalmaktadır.

Çalışma elektroduna uygulanan potansiyelle birlikte, çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında akım kaydedilir [77]

Karşılaştırma elektrodu (referans elektrodu)

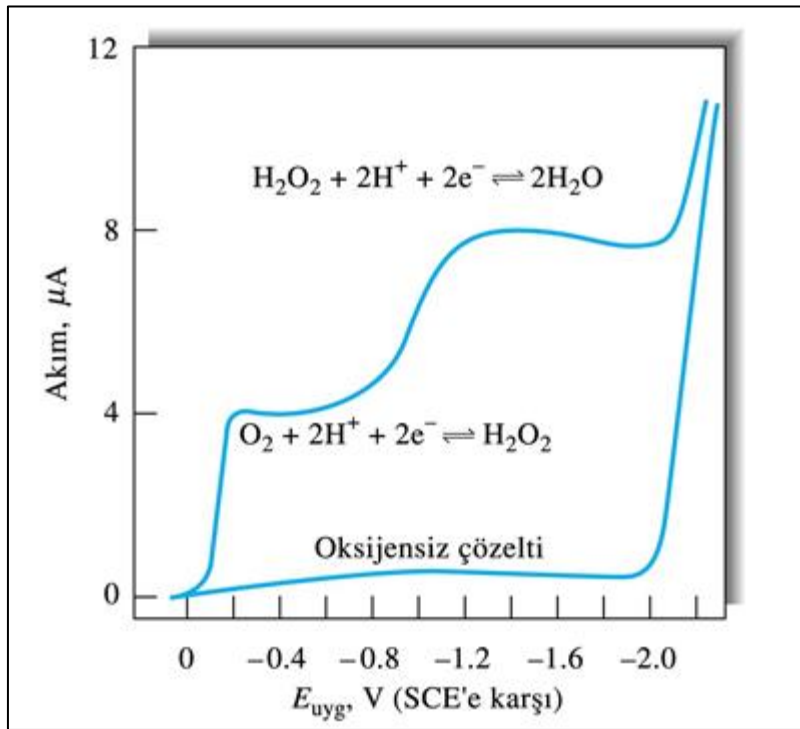
Küçük akım şiddetlerinde polarize olmayan artan akım şiddeti ile ideallikten sapan karşılaştırma elektrotları, voltametrik sistemlerin önemli bileşenlerinden biridir. En yaygın kullanılan referans elektrotlar kalomel veya Ag/AgCl elektrotlarıdır.



Bir referans elektrotun iyi olarak nitelendirilebilmesi için; tersinir olup Nernst eşitliğine uyması, sıcaklık ile önemli derecede değişmemesi, zamandan bağımsız olarak sabit potansiyel veren, az miktarda akım sonrasında dahi kısa sürede eski haline dönebilmesi gereklidir [78].

Sulu çözeltilerde oksijenin giderilmesi;

Sulu çözelti elektrokimyasal analizlerde oksijenden gelebilecek indirgenme pikleri civa elektrotta polarograma, katı elektrotlarda voltamograma yansıyacaktır. Suda çözünmüş oksijen mikrolektrotlarda iki aşamalı olarak; önce hidrojen peroksit (H_2O_2) ardından suya (H_2O) indirgenir. Birinci basamak; $-0,1$ V, ikinci basamak; $-0,9$ V potansiyelde gerçekleşir (damlayan civa elektrotta). Oksijen ortamdan uzaklaştırılmadığı zaman; ek bir faradayik akım oluşturur, analitin piklerini maskeler, indirgenme ürünleri ile analit reaksiyon verir. Oksijenin çözeltilerden uzaklaştırılması amacıyla analizden önce, belirli bir süre çözeltilerden inert gaz geçirilir (N_2 , Ar gibi). Susuz ortamda çalışıldığında da atmosferik oksijeni engellemek için çözeltilere yine inert gaz verilir (Şekil 2.9.) [72,79].



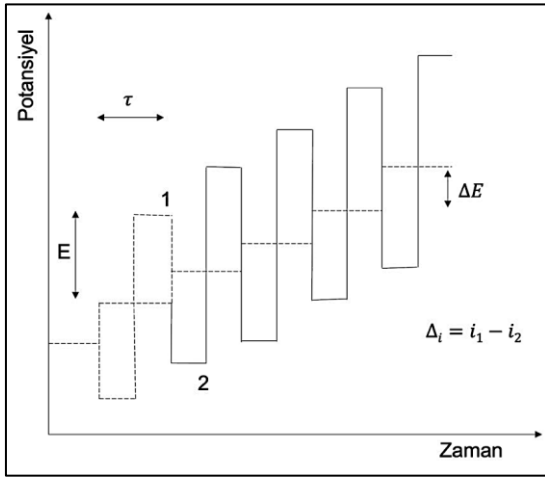
Şekil 2.10. KCl çözeltisinin atmosferik oksijen varlığındaki ve oksijensiz voltamogramı [72]

2.5.2. Voltametrik analiz yöntemleri

Burada yaygın voltametrik yöntemlerden kare dalga ve dönüşümlü voltametri anlatılacaktır.

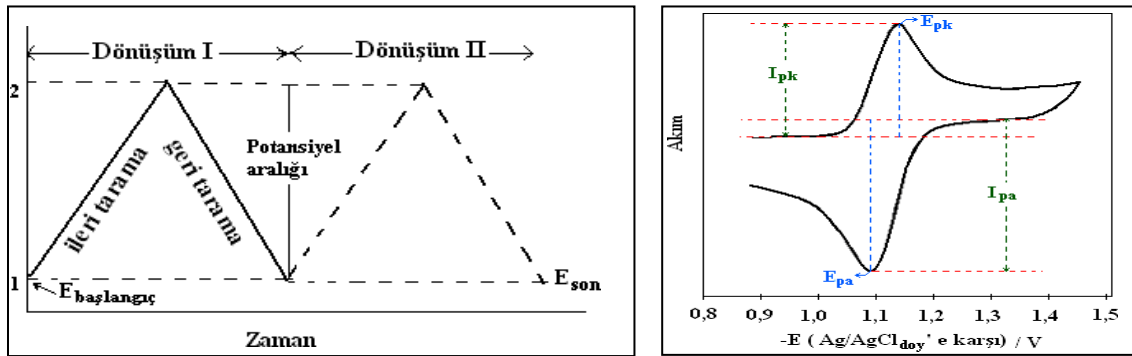
Kare dalga voltametri:

Kare dalga voltametri (SWV) çok hızlı ve duyarlı bir puls voltametri yöntemi. SWV kullanılarak elde edilen voltamogramlar 10 ms'den daha az bir sürede elde edilir. Çalışma elektrodu olarak cıva elektrodu ile kullanılabildiği gibi kromatografik dedektörlerle de beraber kullanılabilen bir yöntemdir (Şekil 2.10.) [72,80].



Şekil 2.11. Bir SWV yönteminde uyarma potansiyelinin oluşumu ve elde edilen basamaklı sinyal [72]

Dönüşümlü voltametri:



Şekil 2.12. Dönüşümlü voltametri (a) ve elde edilen voltomogram (b) (E_{pk} ; katodik pik potansiyeli, E_{ak} ; anodik pik potansiyeli, I_{pk} ; katodik pik akımı, I_{ak} ; anodik pik akımı) [72]

Dönüşümlü voltametri (CV), moleküler türlerin indirgenme ve yükseltgenme özelliklerini saptamak için kullanılan popüler bir elektrokimyasal tekniktir. CV, elektron transferi ile

başlatılan kimyasal reaksiyonları incelemek için de oldukça önemlidir (Şekil 2.11.) [72,81].

Burada akım, potansiyelin seçilen sınırlar arasında (pozitiften negatife ve negatiftan pozitif) ileri geri taranmasıyla kaydedilir. CV, maddenin yükseltgenme ve indirgenme potansiyeli bulmaya imkân sağlamaktadır. Ayrıca CV yardımıyla maddenin elektrokimyasal davranışı hakkında bilgi edinilir.

Dönüşümlü voltametrideki basamaklar; anodik ve katodik yöndeki pik akımları (i_{pa} , i_{pk}) ve pik potansiyelleridir (E_{pa} , E_{pk}).

Tersinir bir reaksiyon için

Anodik (E_{pa}) ve katodik pik potansiyeli (E_{pk}) farkı;

$$\Delta E_p = | E_{pa} - E_{pk} | = 2,303 RT/nF \quad (T = 25 \text{ } ^\circ\text{C})$$

$$| E_{pa} - E_{pk} | = (0,0592/n) \text{ V potansiyel fark oluşur. } (n \text{ aktarılan elektron; mol})$$

Bu veriler doğrultusunda reaksiyonun tersinirlik durumu değerlendirilebilir. Akıma karşı tarama hızının karekökü grafiğe uygulandığında grafik doğrusal ve orjinden geçiyorsa reaksiyon tersinirdir. Sistem mekanizması ilgili tersinirlik denklemlerinin hepsini sağlamalı, aksi durumda tersinirlik olamaz [82].

Tersinir bir reaksiyon mekanizması için Randles - Sevcik eşitliğine göre pik akımı ve derişim arasında şöyle bir ilişki vardır;

$$I_p = 2,686 (10^5 n^{3/2} A C_0 D^{1/2} v^{1/2})$$

Denklemden pik akımı; I_p (A), transfer e^- sayısı; n (mol), elektrot yüzey alanı; A (cm^2), derişim; C_0 (mol/cm^3), difüzyon katsayısı; D (cm^2/s), tarama hızı; v (V/s)

Tersinmez bir reaksiyon için:

Sistemde tarama hızının artmasıyla katodik ve anodik pik potansiyelleri birbirinden uzaklaşır ve elektrot potansiyelleri farkı (ΔE_p) artar, bu durum tersinmez sistemi işaret eder. Tersinmez sistemlerde Nernst eşitliği geçersizdir. Çünkü elektron transfer hızı düşüktür. Tersinmez sistemlerde geri taramada pik oluşmaz. Potansiyel tarama hızının karekökü ileri yöndeki pik akımı ile orantılıdır, potansiyel tarama hızı artınca pik potansiyeli değerlere kayar [83].

Sıyırma voltametrisi:

Sıyırma voltametrisi (SV), elektroanalitik yöntemlerdeki önemli tekniklerden biridir. SV'nin en büyük avantajı, analitin çalışan elektrot üzerinde veya içinde biriktiği bir ön biriktirme aşamasının sonucu olan son derece düşük gözlenme sınırına sahip olmasıdır. Sonraki sıyırma adımında, önceden biriktirilen analit çözeltiye geri sıyırılır. Gözlemlenen akım numunedeki analit derişimi ile orantılı olur.

Anodik sıyırma voltametrisi (ASV) ve katodik sıyırma voltametrisi (CSV), SV'nin iki farklı versiyonudur ve ön biriktirme ile sıyırma adımlarının doğası bakımından farklılık gösterir. ASV'de, katodik bir ön biriktirme adımı gerçekleştirilir, bunu daha pozitif potansiyellere doğru bir potansiyel taraması izler ve anodik yani oksidatif akımlar belirlenir. CSV'de ise, anodik bir ön biriktirme adımı gerçekleştirilerek daha negatif potansiyellere doğru bir potansiyel taraması izlenir ve sonucunda katodik akımlar belirlenir. [84]

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan cihazlar ve kimyasal maddeler

Kullanılan Kimyasal Malzemeler

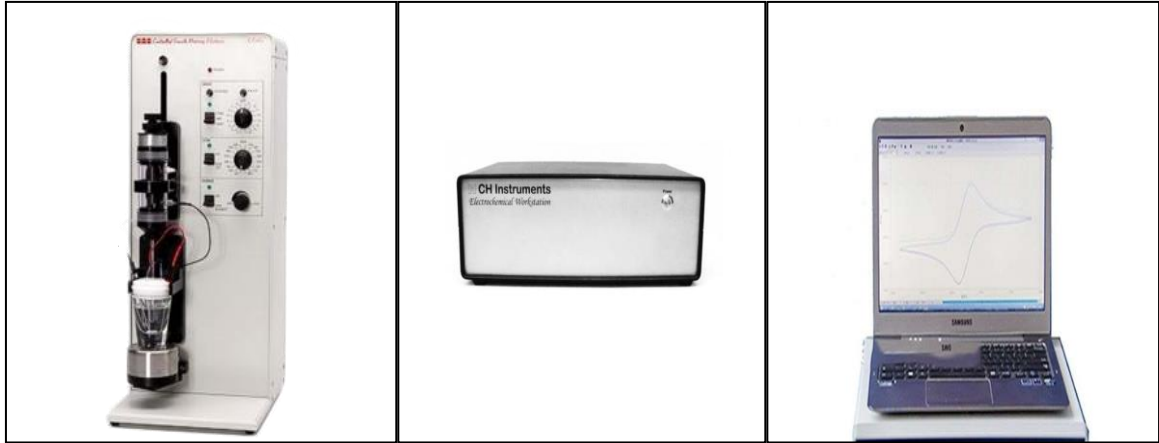
Aktivite tayini için deneylerde kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.1.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddelerin listesi

Adı	Markası	Katalog Numarası	Saklama Şartları
NaOH	Merck	106498	+2°C ile +30°C Orijinal ambalaj
H ₂ SO ₄	Merck	112080	Serin yerde Orijinal ambalaj
Tetra-n-bütilamonyum tetrafloroborat	Merck	217964	Kuru,serin yerde Orijinal ambalaj
DMSO	Merck	102931	Serin yerde Orijinal ambalaj
Etanol	Merck	100983	+2°C ile +30°C Orijinal ambalaj
Palmitik asit	Merck	800508	30°C' in altında Orijinal ambalaj

3.1.1. Elektrokimyasal analizör (voltametri cihazı)

Elektrokimyasal analizler için bilgisayar destekli CHI 760D model potansiyostat cihazı, BAS marka CGME hücre sistemi kullanılmıştır (Resim 3.1.) [72].

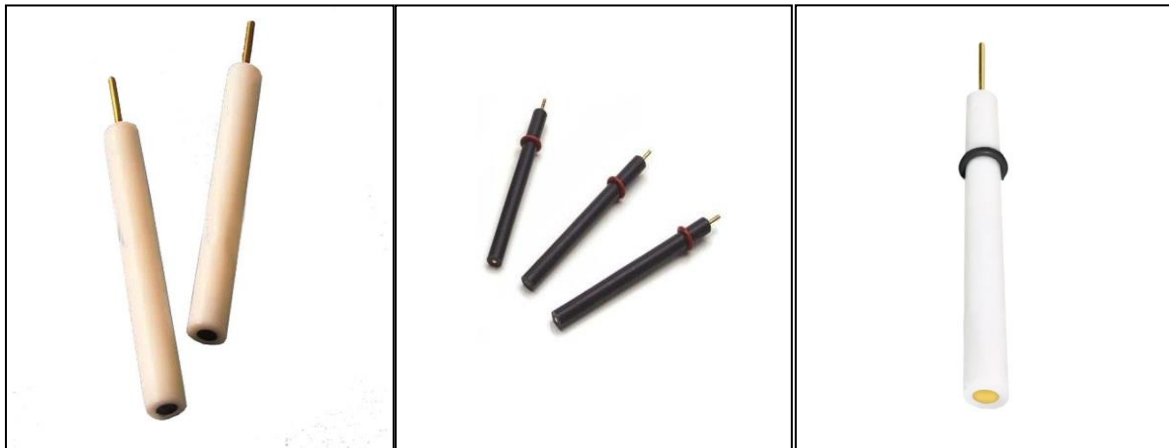


Resim 3.1. CHI 760D model bilgisayar destekli voltametri cihazı [72]

Analizlerde; sıcaklık, pH, zaman, derişim gibi parametrelerde değışiklik yapıp, farklı çalışma elektrotları kullanılarak optimize koşullar oluşturulmuştur.

3.1.2. Elektrotlar

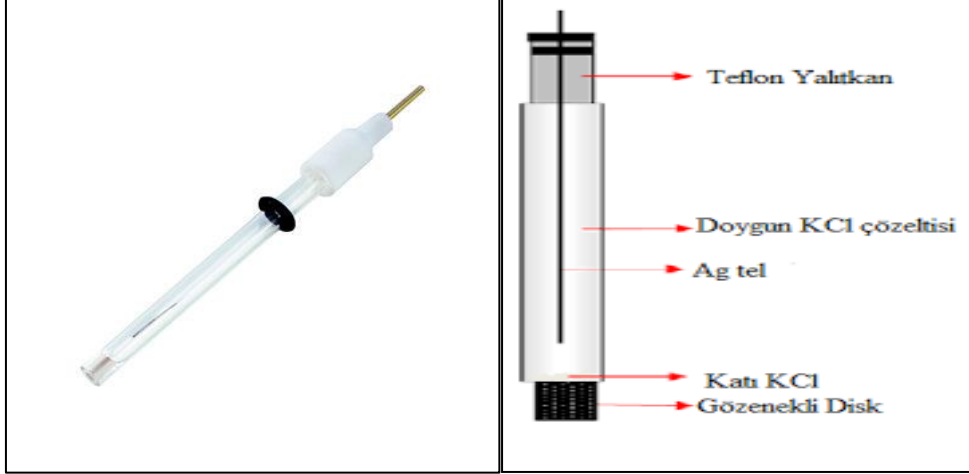
Deneyleerde; camısı karbon, platin ve altın çalışma elektrotları kullanılmıştır (Resim 3.2.) [72]. Çalışma elektrotları, daha iyi verim ve güvenilir sonuç vermesi açısından, farklı bir analize geçişte periyodik olarak, mekanik ve kimyasal yolla temizlenip bir sonraki analize başlanmıştır. Temizlik yöntemi olarak; BAS markalı temizlik aparatı ve saf su ile macun kıvamına getirilmiş alümina kullanıldı. Elektrot yüzeyinin alümina ile olan mekanik temizliği bittikten sonra durulama işlemi olarak, saf etil alkol ve ultra saf su kullanılmış, kurulandıktan sonra diğer analiz için hazır hale getirilmiştir.



Resim 3.2. Soldan sağa; camısı karbon elektrot, platin elektrot, altın elektrot [72]

Referans Elektrot

Analizlerde; Ag/AgCl (0,01 M AgCl) referans elektrodu (BAS MF-2062 RE-5B) kullanılmıştır (Resim 3.3.) [72].



Resim 3.3. Ag/AgCl referans elektrot [72]

Karşıt Elektrot

Analizlerde karşıt elektrot olarak Platin tel kullanılmıştır (Resim 3.4.) [72].



Resim 3.4. Platin elektrot [72]

3.1.3. Analitik terazi

Analizler için gerekli tartımlarda, 0,1 mg hassasiyetli, EP214C model OHAUS markalı analitik terazi kullanılmıştır (Resim 3.5.) [72].



Resim 3.5. Analitik terazi [72]

3.1.4. Ultrasonik su banyosu

Analizlerde, İsolab markalı ultrasonik su banyosundan faydalanılmıştır (Resim 3.6.) [72]



Resim 3.6. Ultrasonik su banyosu [72]

3.1.5. pH metre

Analizlerin pH ölçümleri, Mettler Toledo markalı cihaz ile yapılmıştır (Resim 3.7.) [72]



Resim 3.7. pH metre [72]

3.1.6. Reaktifler, çözeltiler ve örneklerin hazırlanması

NaOH çözeltisi, 1 M

4,01 g NaOH, 100 mL'lik ölçülü bir balon içerisinde uygun miktarda ultra saf su ile çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır.

H₂SO₄ çözeltisi, 1 M

Yoğunluğu 1,84 g/mL, % 98'lik (m/m) derişik H₂SO₄ çözeltisinden 1,38 mL alınıp ultra saf su ile hacmi 25 mL'ye tamamlanmıştır.

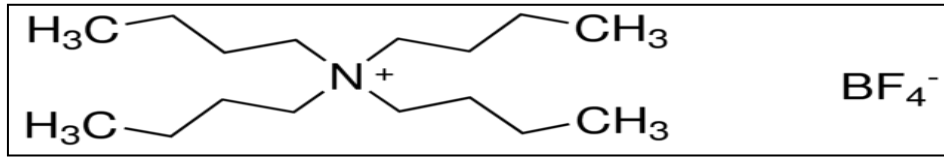
Destek elektrolit çözeltisi; 0,01 M

3,280 g Tetra-n-bütülamonyum tetrafloroborat (329,27 g/mol) tartıldı, 20 mL DMSO eklendi ve etanol ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Destek elektrolitler; hücre içi iyonik iletkenliği artırır, böylece çalışma elektrodunun performansını da yükseltir ve elektrokimyasal hücre direncini azaltma görevi görür.

Elektrokimyasal analizlerde destek elektrolit amaçlı, anyonik ve katyonik tuzlardan yaygın olarak faydalanılır. Her iki tür de kararlıdır, bazen anyonik ve katyonik türlerin karışımı da kullanılır. Organik elektrolitlerin hazırlanmasında kullanılan bazı anyonik ve katyonik tuzlar şunlardır; Katyonik tuzlar; tetraetilamonyum, tetrabütülamonyum, tetrafenil fosfonyum. Anyonik tuzlar; perklorat, tetrafloroborat, hegzaflo-rofosfat, tetrafenilborat. En çok kullanılanlar arasında tetraalkilamonyum katyonik tuzları yer alır. Düşük elektoredüktif reaktiviteleri ve organik karakterli olmaları bu tuzları elektrokimyasal analizler için tercih sebebi kılmaktadır. Tetrabütülamonyum ve tetraetilamonyum en çok kullanılan katyonik türlerdir. Anyonik tuzlar için tercih çeşidi daha fazladır. Perkloratlar geçmişte kullanılsalar da günümüzde patlama riskine karşın tercih edilmezler. Tetrafloroborat ve hegzaflo-rofosfat en yaygın kullanılan anyonik tuzlardır. Bu anyonlar indirgenmeye ve oksidasyona karşı dirençli, güçlü iletken elektrolit özellikleri ve organik çözücülerde iyi çözünmeleri nedeniyle tercih sebebidir [85,86].

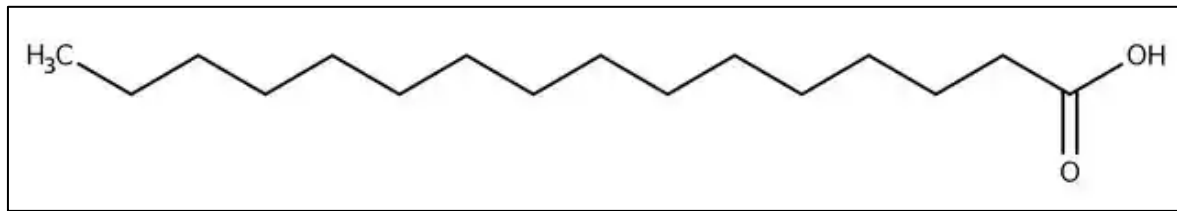
Elektrokimyasal korozyon testine dair başka bir çalışmada da destek elektrolit olarak tetrabütilamonyum tetrafloroborat katyonik/anyonik karışımı tuz kullanılmış ve yüksek performansla verim alınmıştır (Şekil 3.1.) [87].



Şekil 3.1.Tetra-n-bütilamonyum tetrafloroboratın kimyasal yapısı
(CH₃CH₂CH₂CH₂)₄N(BF₄) [87]

Palmitik asit çözeltisi, 0,1 M

641 mg stok palmitik asit (256,43 g/mol) tartılarak 25 mL'lik balonda yeteri kadar etanol ile çözülüp, yine etanol ile 25 mL'ye tamamlanmıştır (Şekil 3.2.) [57]



Şekil 3.2. Palmitik asitin (hegzadekanoik asit) kimyasal yapısı CH₃(CH₂)₁₄CO₂H [57]

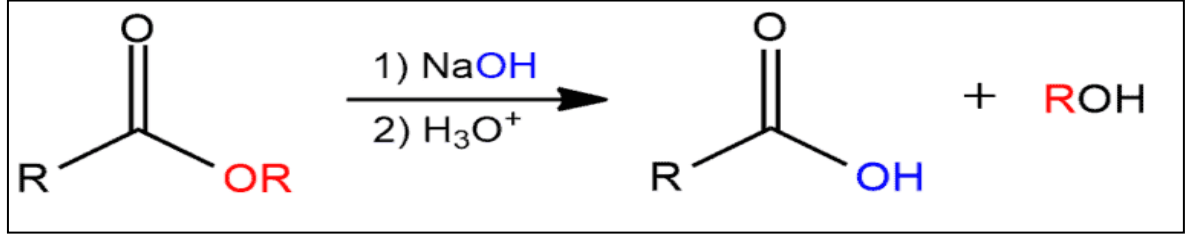
Tereyağından sadeyağ eldesi

4,000 g tereyağı tartılarak, beher içinde su banyosunda 65 °C'de eritildi, erimiş yağın serum kısmından ayrılması için 1 saat kadar dinlenmeye alındı, ayrılan yağ fazı koyu renkli cam bir kaba alınarak buzdolabında 4 °C'de donduruldu, [88] analiz için 2,7475 g sadeyağ alındı.

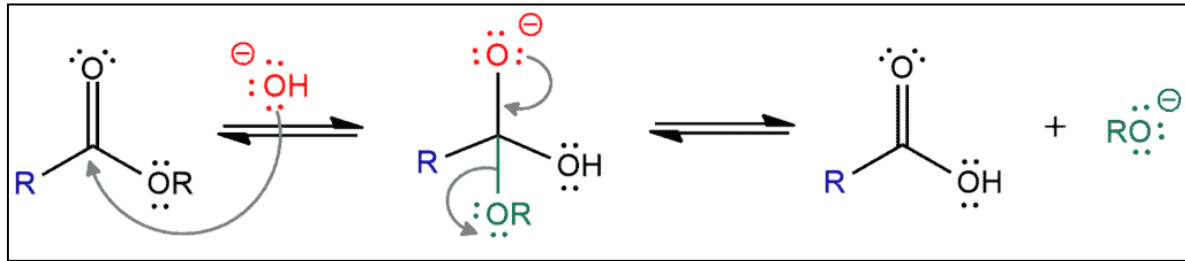
Sadeyağ numunesinin hazırlanması

2,7475 g sadeyağ tartılarak üzerine 20 mL, 1 M NaOH ve 4 mL etanol eklendi, geri soğutucu altında 110 °C'de 2 saat ısıtılmıştır. Isıtma sonunda pH: 13 olarak gözlenmiş, çözelti üzerine 4 mL DMSO ve 2 mL 1 M H₂SO₄ eklenerek pH: 2 olarak ayarlanıp, çözelti,

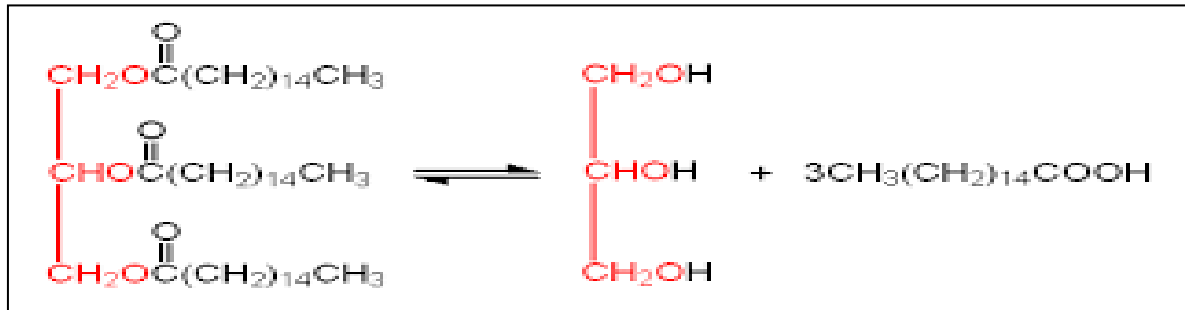
etanol ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu şekilde tereyağındaki esterler, güçlü bazkatalizli geri esterleşme reaksiyonu (de-esterifikasyon) ile yağ asitlerine dönüştürülmüştür.



Şekil 3.3. Baz katalizli de-esterifikasyon reaksiyonu [89]



Şekil 3.4. De-esterifikasyon reaksiyon mekanizması [90]



Şekil 3.5. De-esterifikasyon ile gliseriltripalmitat'ın gliserol ve palmitik asite dönüşümü [90]

Yağ asitleri, sıvı ve katı yağlarda esterler yapısında bulunur. Yağlar, basit lipit sınıfına girer.

Lipitler; organik çözücülerde çözünen (aseton, kloroform, hegzan, benzen, eter gibi) polar yapıları olmadıkları için suda çözünmeyen, canlıların yapısal organik bileşikleridir. Yağ asitleri, gliseritler, serebrositler, steroller, fosfolipitler, mumlar, izopren türevleri, yağda eriyen vitaminler lipit sınıfındandır (Şekil 3.3.) [89].

Katı ve sıvı yağların neredeyse hepsi, gliserin ($C_3H_5(OH)_3$) ile yağ asitlerinin ($R-COOH$) esterleşmesiyle meydana gelen trigliseritlerdir. Gliserin ana yapı olduğu için yağın çeşitliliğini yağ asitleri belirler (Şekil 3.4., Şekil 3.5.) [90].

3.1.7. Kare dalga katodik sıyırma voltametrisi için potansiyostat cihazının çalışma değerleri

Analizlerde, kare dalga katodik sıyırma voltametrisi ve dönüşümlü voltametri yöntemleri kullanılmış olup çalışma değerleri Çizelge 3.2. ve 3.3. de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kare dalga katodik sıyırma voltametrisi, potansiyostat çalışma değerleri

Kare dalga katodik sıyırma voltametrisi	
Başlangıç potansiyeli (V)	0
Bitiş potansiyeli (V)	-1,8
Frekans (Hz)	15
Maksimum akım (μA)	1
Minimum akım (nA)	1
Genlik (V)	0,025
Potansiyel artışı (V)	0,004
Biriktirme süresi (s)	60
Biriktirme potansiyeli (V)	-1,4
Hassasiyet (A/V)	1.10^{-4}
Bekleme süresi (s)	2
Ara eklemelerde N_2 gazı geçiş süresi (s)	20

Çizelge 3.3. Dönüşümlü voltametri çalışma değerleri

Dönüşümlü voltametri	
Başlangıç potansiyeli (V)	0
Yüksek potansiyel (V)	0
Düşük potansiyel (V)	-1,8
Tarama hızı (V/s)	0,1
Potansiyel artış aralığı (V)	0,001
Bekleme süresi (s)	2
Hassasiyet (A/V)	1.10^{-4}
Maksimum akım (μA)	1
Minimum akım (nA)	1
Ara eklemelerde N_2 gazı geçiş süresi (s)	20

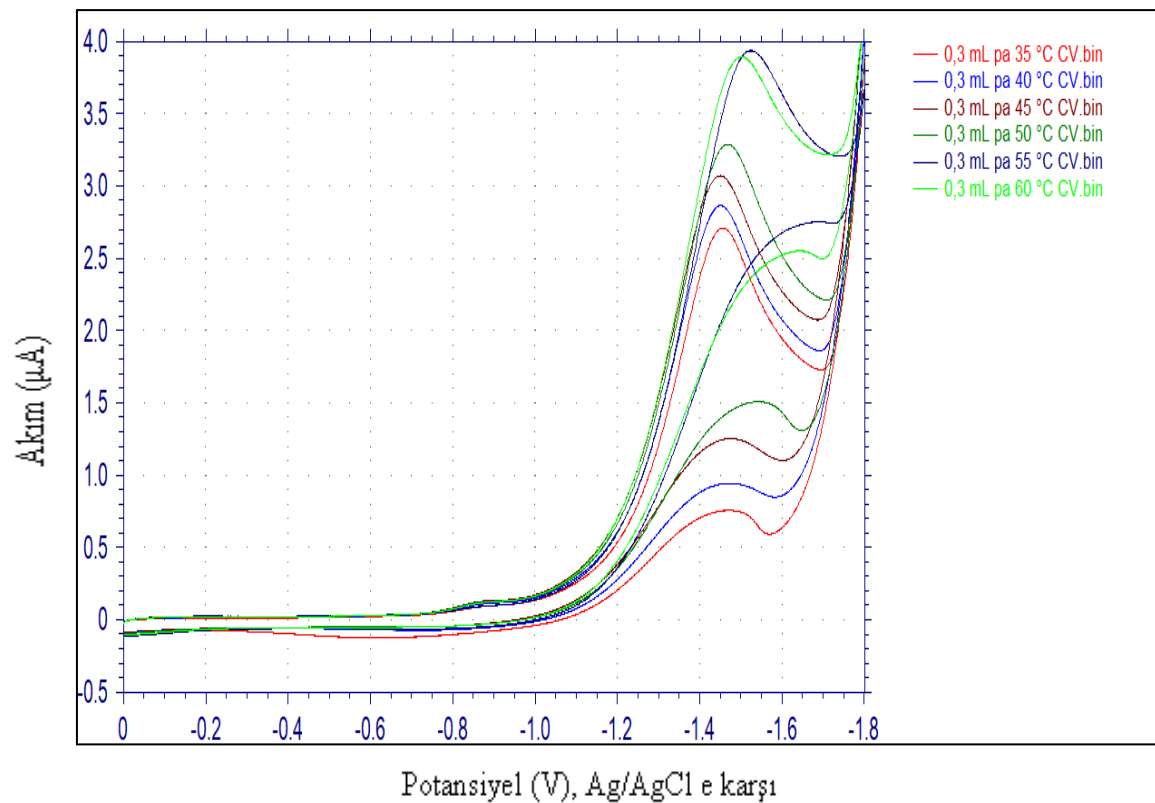
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kare dalga voltametrisi yöntemiyle palmitik asit tayini

Palmitik asitin çeşitli kare dalga yöntemlerle tayini çalışılmış olup duyarlı ve tekrarlanabilir akım değeri Kare dalga katodik sıyırma yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yöntemle palmitik asit tayini için sıcaklık, biriktirme süresi, biriktirme potansiyeli, pH optimize edilmiştir.

4.1.1. Palmitik asitin dönüşümlü voltamogramı

Palmitik asitin analizine ait dönüşümlü voltamogramında (Şekil 4.1.), her iki tarama yönünde de belirgin pikler görülmüştür.



Şekil 4.1. Palmitik asitin dönüşümlü voltamogramı (Ag/AgCl)

Daha önce palmitik asitle yapılan çalışmalarda 50 °C'deki akım değeri referans alındığından, burada da 50 °C'deki voltomagram referans alınacaktır.

CV tekniği ile redoks tepkimelerinin tersinirliği belirlenirken hesaplama kolaylığı açısından aşağıdaki bağıntı yaygın olarak kullanılır.

$$| E_{pa} - E_{pk} | = (0,059/n) V$$

E_{pa} : anodik pik potansiyeli(V), E_{pk} : katodik pik potansiyeli(V), n: aktarılan elektron sayısı:1

Elektron aktarımı olan tepkimede katodik pik potansiyeli ile anodik pik potansiyeli arasındaki fark 0,059 V ise tepkime tersinirdir.

$$E_{pa}: 1,65 V \quad E_{pk}: 1,46 V$$

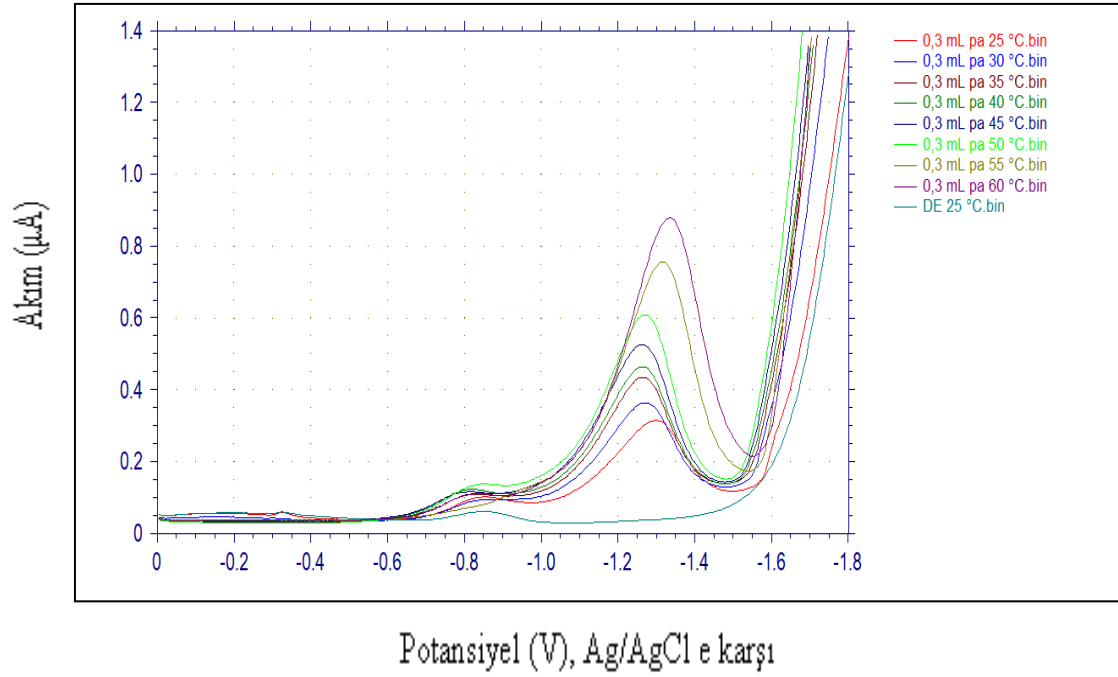
$$| 1,65 - 1,46 | = (0,059/1) V$$

$$0,19 > 0,059$$

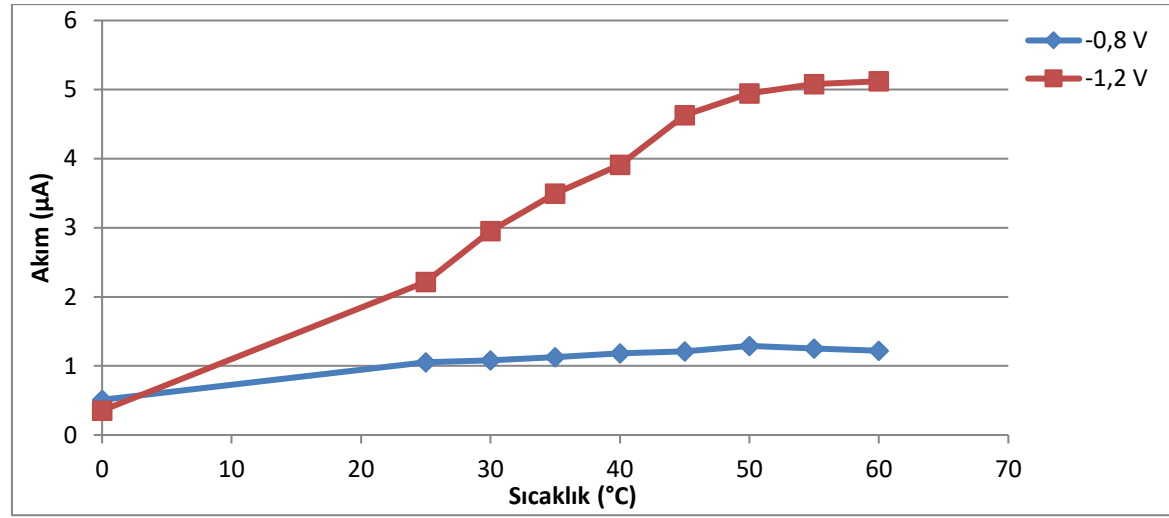
Yapılan analizde palmitik asitin bu ortamdaki indirgenme yükseltgenmesinin tersinir olmadığı anlaşılmıştır.

4.1.2. Sıcaklığın optimizasyonu

Palmitik asitin suda çözünürlüğü sıcaklıkla değiştiğinden uygun sıcaklığı bulmak için önce en uygun sıcaklık değeri belirlenmiştir. 7 mL destek elektrolit N₂ gazı geçirildikten sonra üzerine eklenen 0,3 mL palmitik asit(pa) ile elde edilen 4,1×10⁻³ M çözelti ile 5'er derecelik sıcaklık artışıyla toplamda 8 farklı ölçüm yapılmıştır. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme potansiyeli -1,4 V alınarak 25 °C'den başlanarak 60 °C sıcaklığa kadar yapılan ölçümlerde piklerde artış gözlenmiştir (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. Palmitik asitin sıcaklığa bağlı olarak kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)



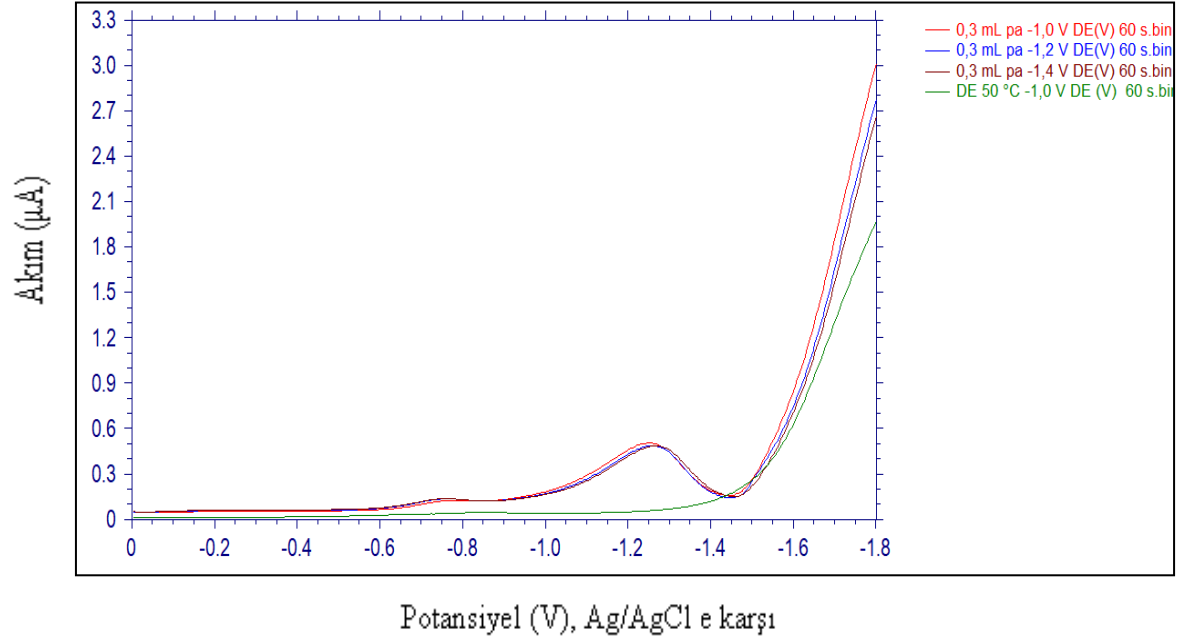
Şekil 4.3. Palmitik asite ait farklı sıcaklıklardaki akım değerleri

Akım değerlerine bakıldığında optimum sıcaklığın 50 °C olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3).

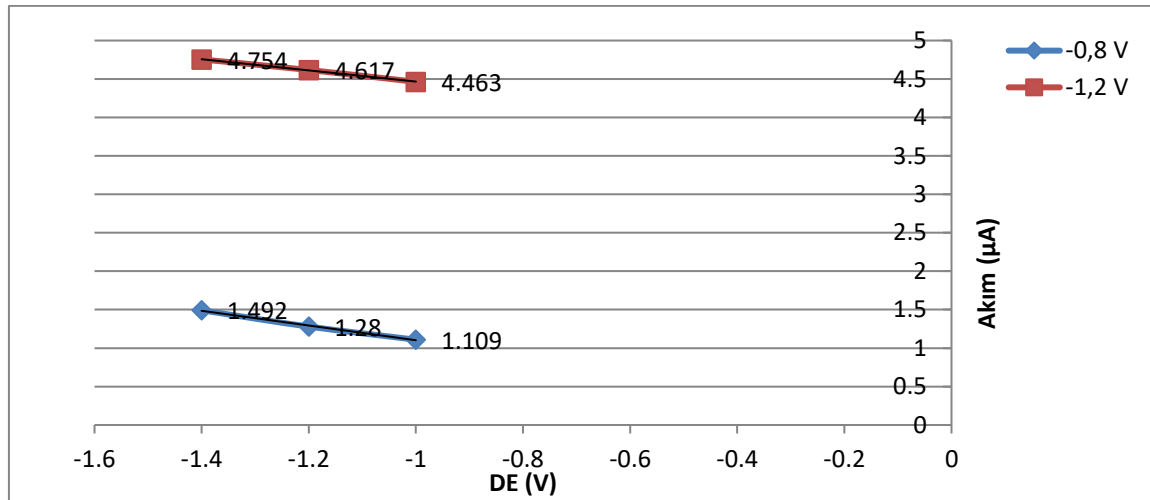
4.1.3. Biriktirme potansiyelinin optimizasyonu

7 mL destek elektrolit, N₂ gazı geçirildikten sonra üzerine eklenen 0,3 mL palmitik asit ile elde edilen $4,1 \times 10^{-3}$ M çözelti ile -1,0 V ; -1,2 V ; -1,4 V biriktirme potansiyellerinde 50

°C sıcaklık, 60 s biriktirme süresi referans alınarak ölçümler yapılmış, sonuçlar Şekil 4.4. ve 4.5.'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Palmitik asitin -1,0 V; -1,2 V ve -1,4 V biriktirme potansiyellerindeki kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)

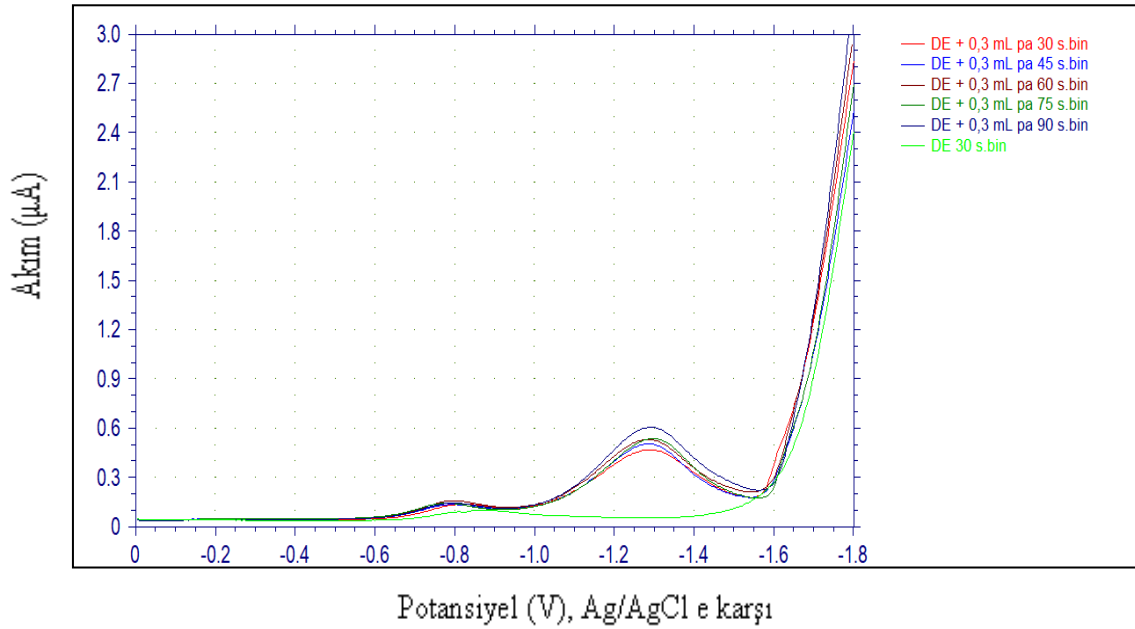


Şekil 4.5. Palmitik asitin, -1,0 V; -1,2 V ve -1,4 V (sağdan sola) biriktirme potansiyellerinin -0,8 V ve -1,2 V pik potansiyellerine karşılık gelen akım değerleri

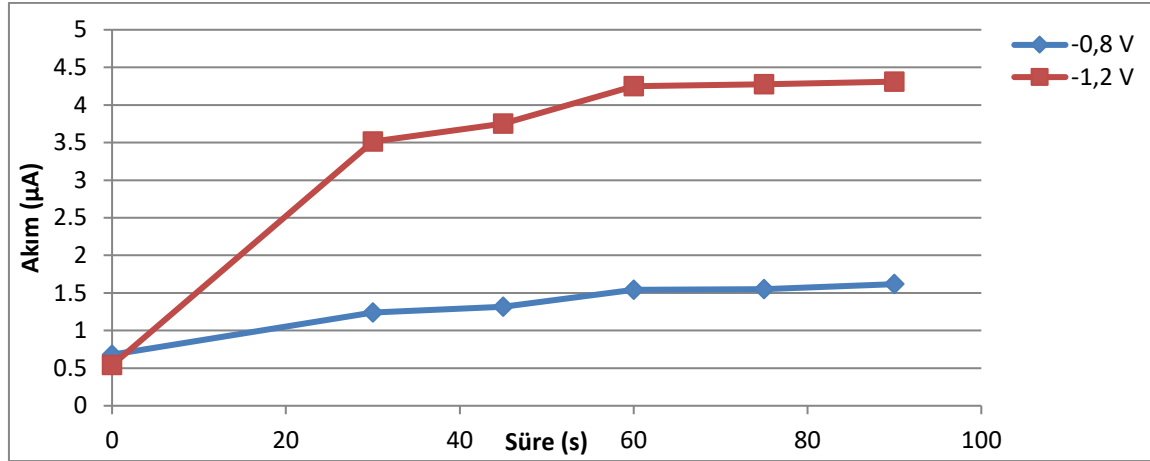
4.1.4. Biriktirme süresinin optimizasyonu

Kare dalga katodik sıyırma yöntemi ile palmitik asitin uygun biriktirme süresinin belirlenmesi amacıyla, 7 mL destek elektrolit ve üzerine eklenen 0,3 mL palmitik asit ile elde edilen $4,1 \times 10^{-3}$ M çözelti ile $-1,4$ V'da 50 °C sıcaklıkta 4 farklı zaman diliminde voltamogramları alınmıştır.

30; 45; 60; 75; 90 saniyede yapılan ölçümler Şekil 4.5' te verilmiştir. $-0,8$ V ve $-1,2$ V potansiyellerinde palmitik asit pikleri gözlemlenmiştir. En uygun biriktirme zamanı 60 s olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.6)



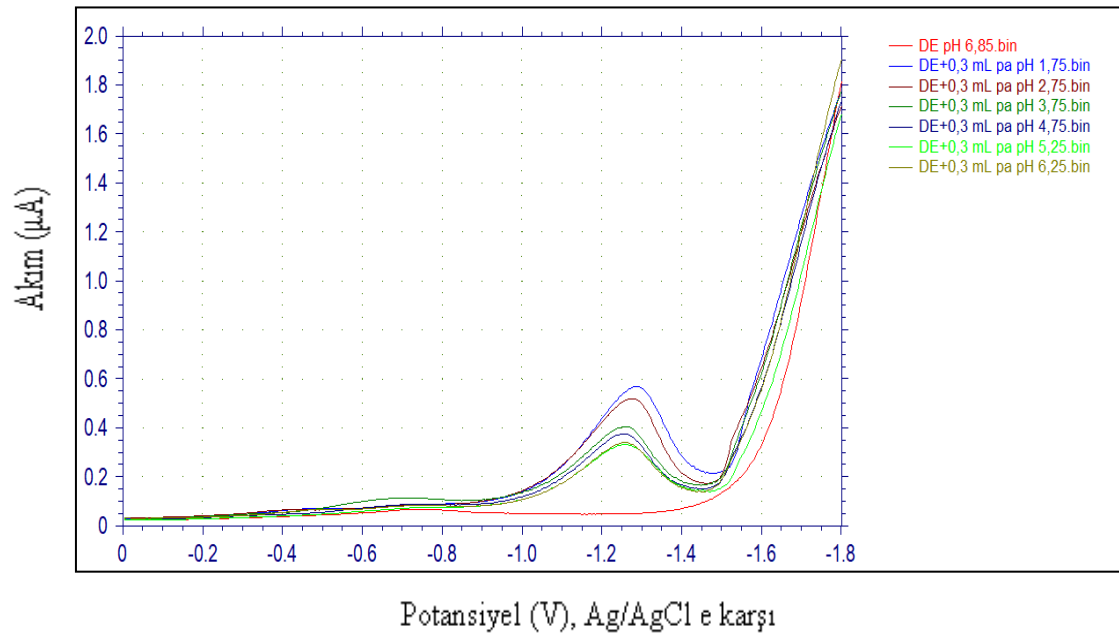
Şekil 4.6. Palmitik asitin farklı biriktirme sürelerindeki kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)



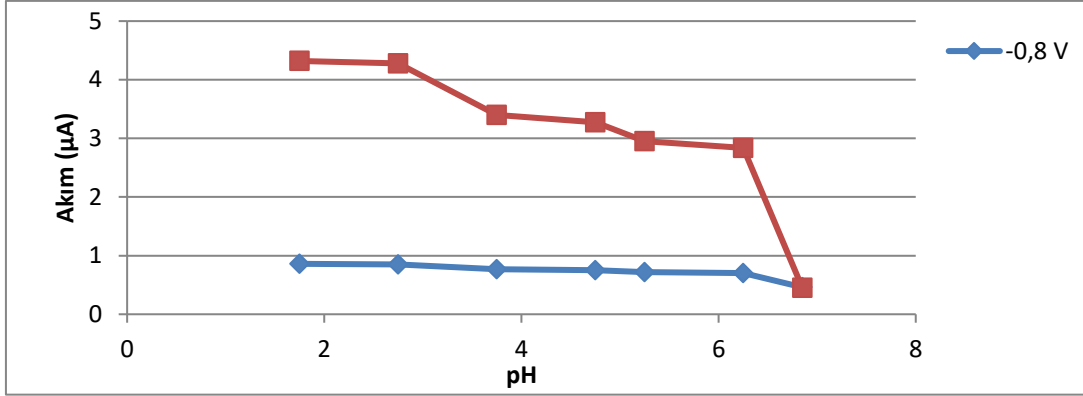
Şekil 4.7. Palmitik asitin farklı biriktirme sürelerindeki akım değerleri

4.1.5. pH'nın optimizasyonu

Analiz hücresine 7 mL destek elektrolit ve üzerine eklenen 0,3 mL palmitik asit ile elde edilen $4,1 \times 10^{-3}$ M çözelti N_2 gazı geçirildikten sonra $-1,4$ V ve $50^\circ C$ 'de 60 s biriktirerek voltamogramlar alınmıştır (Şekil 4.7). En uygun pH'nın 2,75 olduğu gözlenmiştir pH ayarlamaları 1 M NaOH ve 1 M H_2SO_4 çözeltileri ile yapılmıştır. (Şekil4.8).



Şekil 4.8. Farklı pH değerlerinde palmitik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)



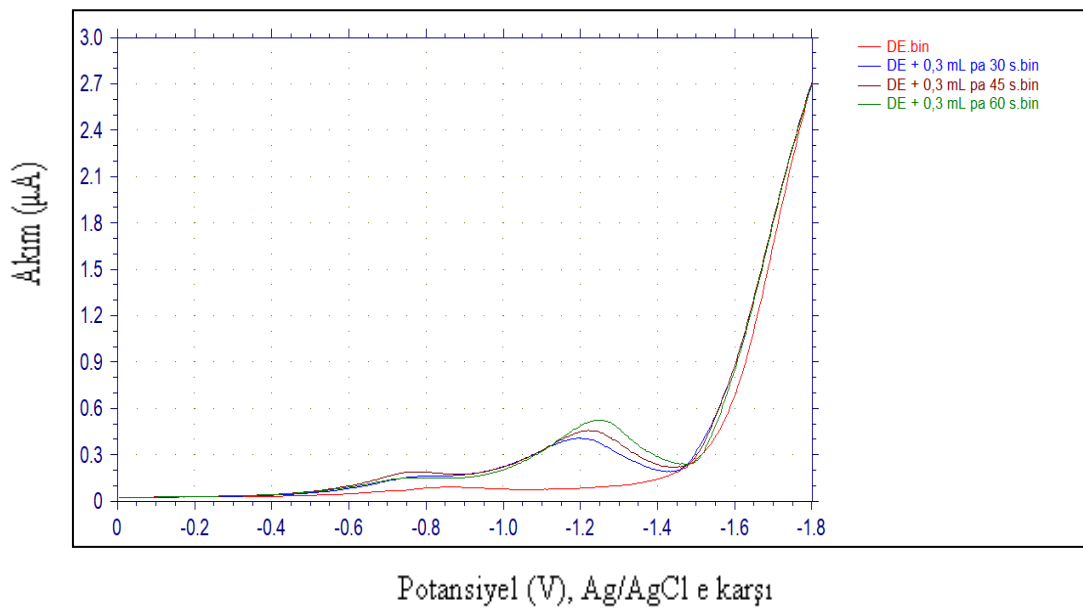
Şekil 4.9. Palmitik asite ait, farklı pH' larda ölçülen akım değerleri

4.1.6. Çalışma elektrodunun optimizasyonu

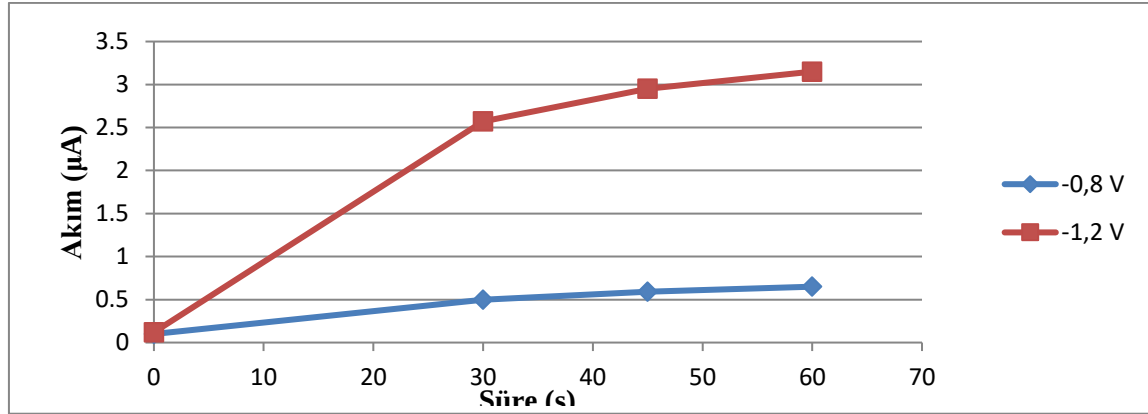
Bu amaçla camısı karbon elektroda alternatif Pt ve Au elektrotlar çalışma elektrodu olarak denenmiştir.

Platin (Pt) çalışma elektrotu ile palmitik asit tayini

Pt çalışma elektrotu kullanılarak, analiz hücresine 7 mL destek elektrolit ve üzerine eklenen 0,3 mL palmitik asit ile elde edilen $4,1 \times 10^{-3}$ M çözelti ile 30; 45; 60 s biriktirme sürelerinde voltamogramlar alınmış, Şekil 4.10.'da verilmiştir.



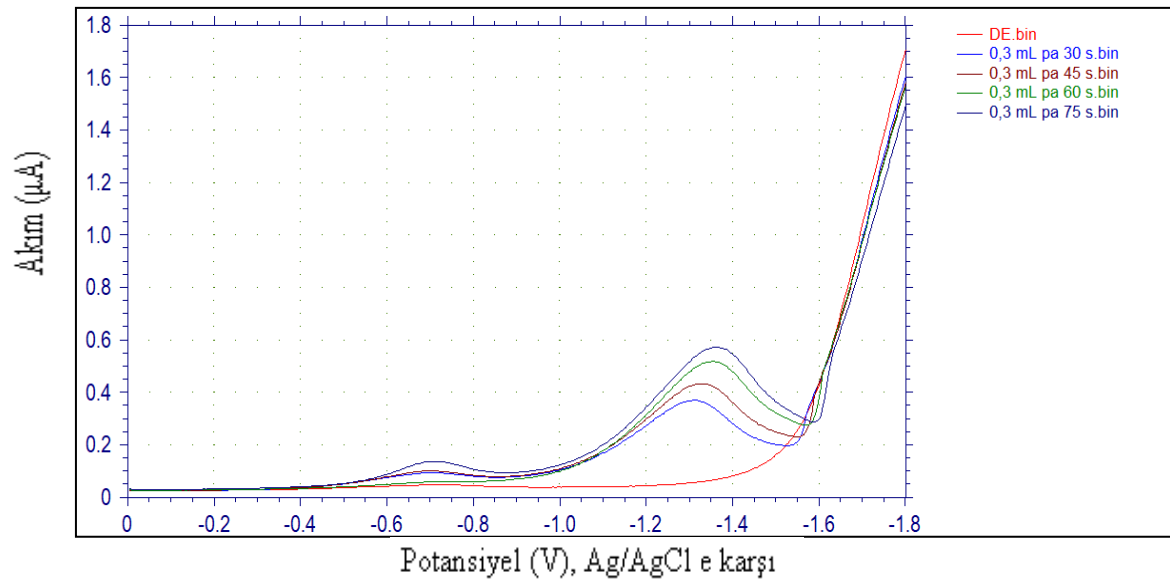
Şekil 4.10. Pt çalışma elektrotu ile farklı biriktirme sürelerinde palmitik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)



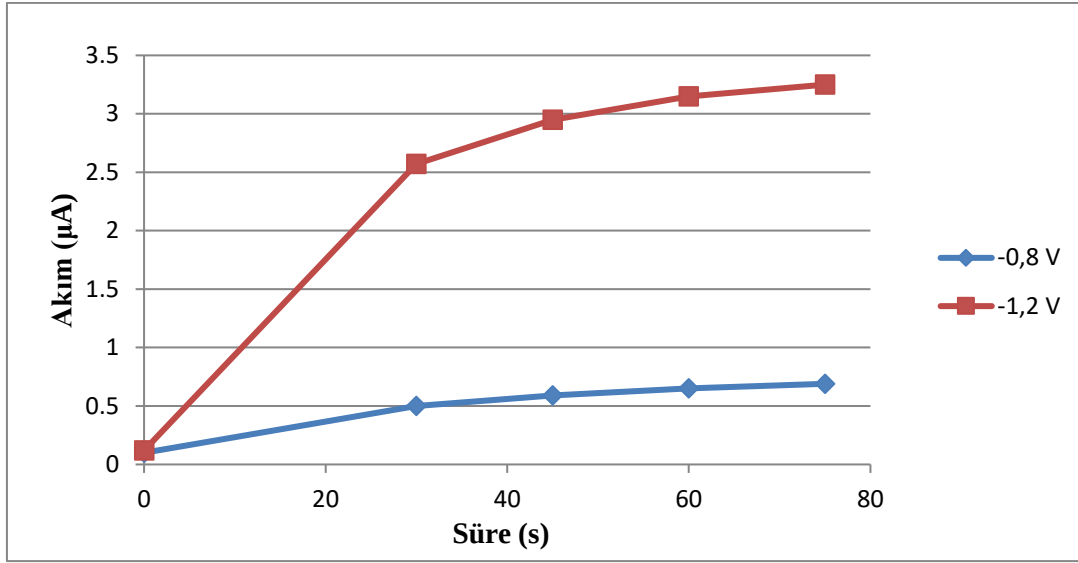
Şekil 4.11. Palmitik asitin, Platin(Pt) çalışma elektrotu ile ölçülen, farklı biriktirme sürelerindeki akım değerleri

Altın (Au) çalışma elektrotu ile palmitik asit tayini

Analiz hücresine 7 mL destek elektrolit ve üzerine eklenen 0,3 mL palmitik asit ile oluşturulan $4,1 \times 10^{-3}$ M çözeltiden farklı biriktirme sürelerinde ölçümler alınmış, analiz değerleri Şekil 4.12. ve 4.13.'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Altın(Au) çalışma elektrotu ile farklı biriktirme sürelerinde palmitik asit çözeltisinin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl e karşı)



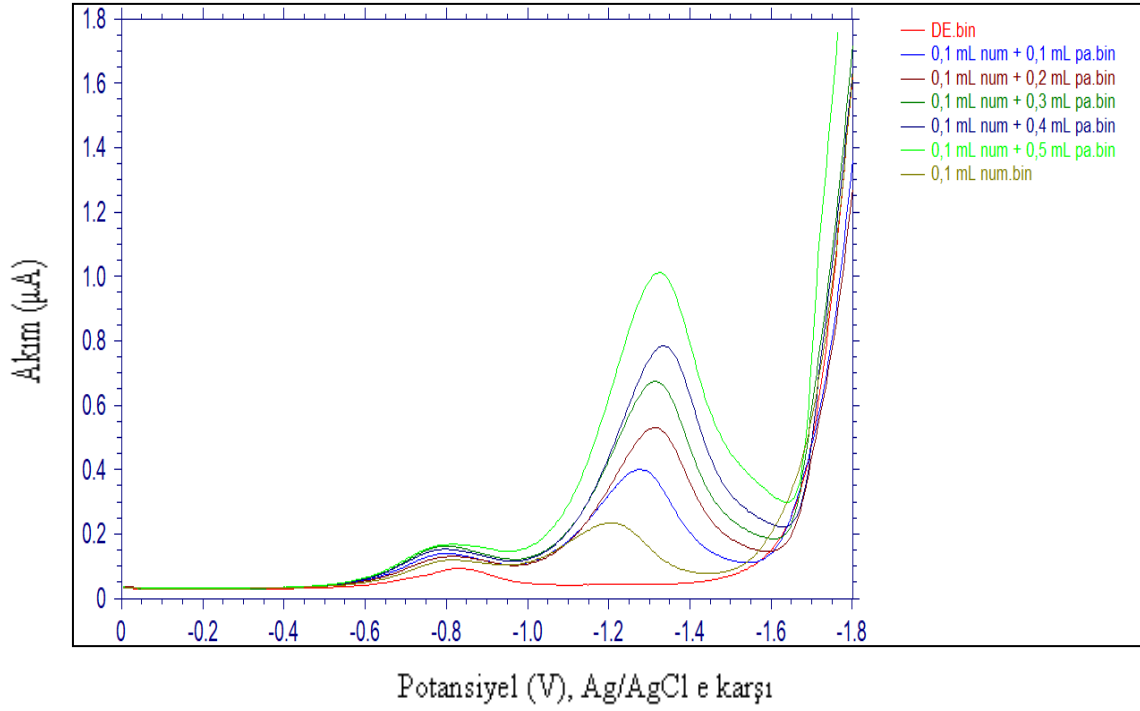
Şekil 4.13. Optimize şartlarda palmitik asite ait, Au çalışma elektrodu ile ölçülen, farklı derişimlerdeki akım değerleri

Platin ve Altın elektrotlarla 60 s biriktirme ile 50 °C’ de elde edilen akım değerleri (3,15 µA; 3,25 µA) camısı karbon elektrottan elde edilen akım değerinden (4,25 µA) düşük olduğundan, çalışmalarda camısı karbon elektrot tercih edilmiştir.

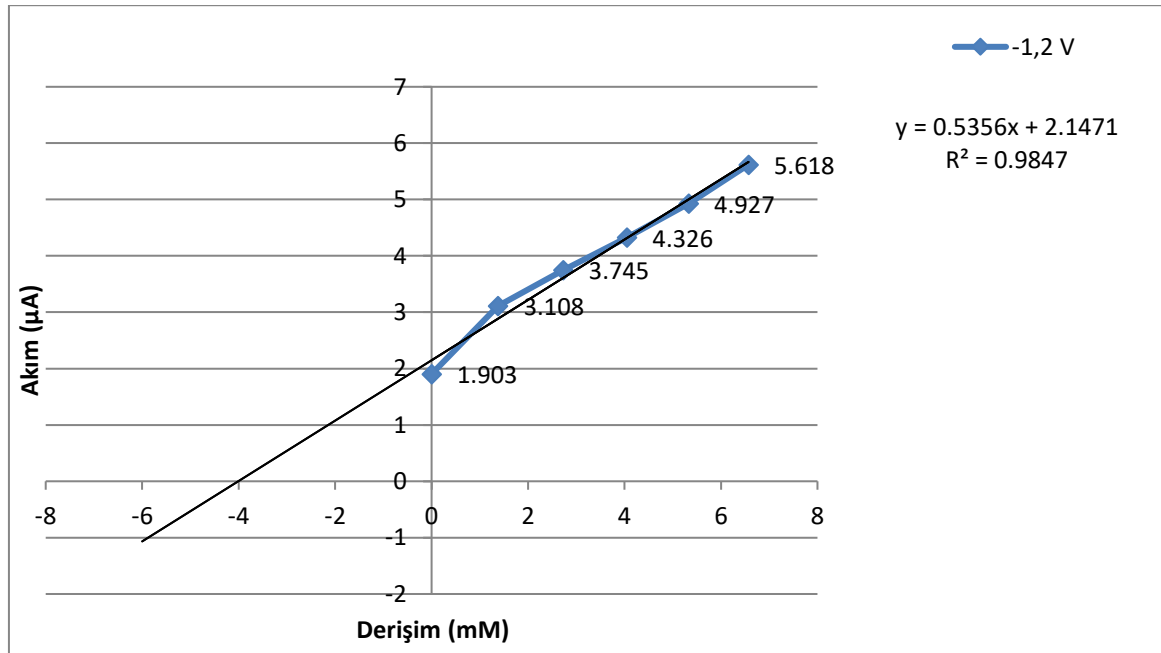
4.1.7. Sadeyağ numunesinde palmitik asit tayini

Analiz hücresinde ultrasonik su banyosunda, 50 °C sıcaklığa getirilmiş olan 7 mL destek elektrolit, potansiyostat cihazına konulur, ilgili elektrotlar ve cihaz çalışır duruma getirilir, 10 dakika N_{2(g)} geçirildikten sonra destek elektrolit ölçümü alınır, üzerine 0,1 mL sadeyağ numunesi eklenir, 20 s N_{2(g)} geçirilir ve ölçüm alınır, 5 defa 0,1 mL’lik palmitik asit eklemeleri yapıp her analiz geçişinde 20 s N_{2(g)} geçirilerek ölçümler alınır.

Standart ekleme yöntemi kullanılarak yapılan ölçümler sonucunda derişime bağılı olarak gözlemlenen akım değerleri grafiğe alınmış olup numunedeki palmitik asit derişimi grafiğin eğiminden hesaplanmıştır. Voltamogram ve Akım/Derişim grafikleri Şekil 4.14. ve 4.15. gibidir.



Şekil 4.14. Sade yağ ve üzerine eklenen palmitik asitin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)



Şekil 4.15. Sade yağ ve üzerine eklenen palmitik asit çözeltisine ait standart ekleme grafiği

Tereyağından elde edilen sade yağ numunesindeki palmitik asit tayininin analiz değerleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Numunedeki palmitik asit derişimi standart ekleme grafiğinin

eğimi ile hesaplanmış ve 4,008 mM bulunmuştur. Numunenin içerdđđ % palmitik asit oranı ise % 3,73 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Sadeyağ numunesi ve eklenen palmitik asite ait Akım (μA) ve Derişim (mM) değerleri.

Analit	Derişim (mM)	Akım (μA)
DE + 0,1 mL sade yağ	4,008	1,903
" + 0,1 mL pa	1,380	3,108
" + 0,2 mL pa	2,730	3,745
" + 0,3 mL pa	4,050	4,326
" + 0,4 mL pa	5,330	4,927
" + 0,5 mL pa	6,570	5,618

Hesaplamalar

4 g tereyağından elde edilen sade yağdan 2,7475 g alındı. 7 mL destek elektrolit üzerine 0,1 mL sade yağ numunesi ve 0,1 mL ilaveler halinde toplamda 0,5 mL palmitik asit çözeltisi eklenmiş olup analiz hücresindeki toplam çözelti hacmi 7,6 mL'dir. Çözelti derişimleri Çizelge 4.1.'de verildiđđ gibidir.

İlgili denklemler ve derişim hesabı

$$y = mx+n \quad S = m \times V_s + b \quad C_x \times V_x = C_s \times V_s \quad C_x = b \times C_s / m \times V_x$$

$$C_x = 2,1471 \times 0,1 / 0,5356 \times 0,1 \quad C_x = 4,008 \text{ mM}$$

C_s : standart çözelti derişimi

C_x : numune derişimi

b : n değeri, doğrunun y eksenini kestiđđ nokta ($y=mx+n$)

m : doğrunun eğimi

V_x : numune hacmi

Palmitik asit mol kütlesi; 256,4 g/mol.

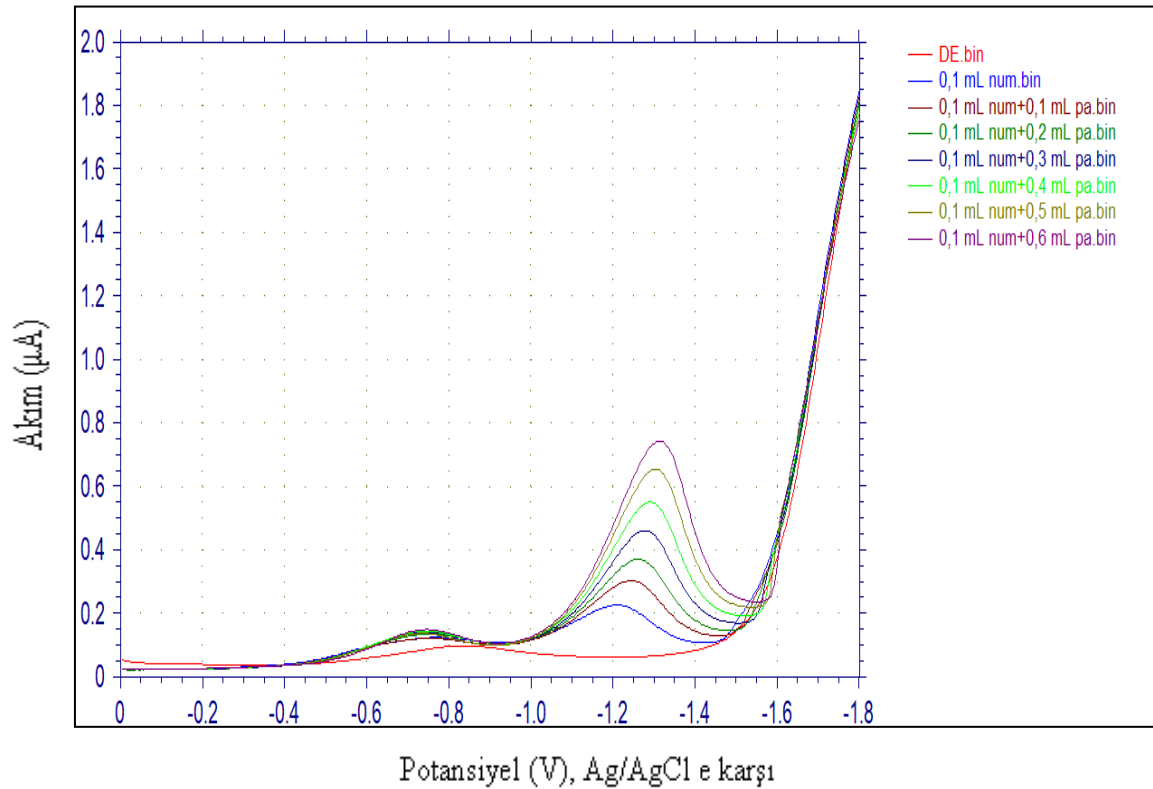
% Palmitik asit hesabı

$(4,008 \text{ mmol/L}) \times (256,4 \text{ mg/1 mmol}) \times (1 \text{ g/1000 mg}) \times (100/2,7475 \text{ g}) = \% 3,73$ Palmitik asit bulunur.

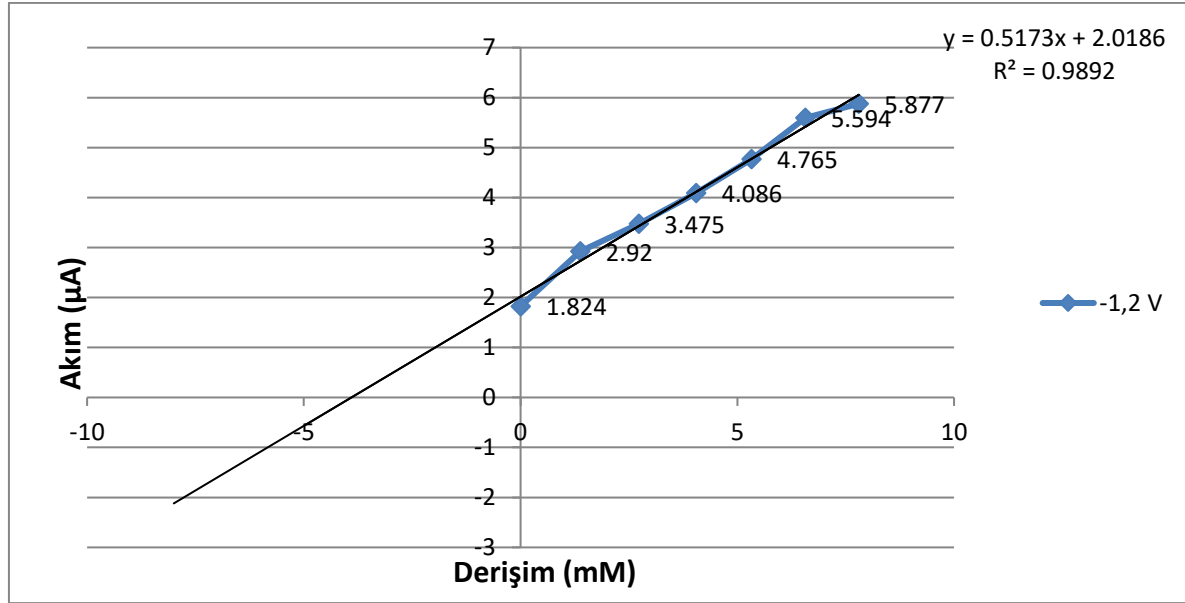
4.1.8. Farklı bir marka tereyağı numunesinden elde edilen sadeyağda palmitik asit tayini

Analiz aşamasına kadar olan standart prosedürler aynen bu numuneye de uygulanmış ve 0,1 mL sadeyağ numunesi ve üzerine 6 defa 0,1 mL'lik palmitik asit eklemeleri yapıp her analiz geçişinde 20 s $\text{N}_{2(g)}$ geçirilerek ölçümler alınmıştır.

Standart ekleme yöntemi ile derişime bağlı gözlemlenen akım değerleri grafiğe alınmış, numunedeki palmitik asit derişimi grafiğin eğiminden hesaplanmıştır. Voltamogram ve Akım/Derişim grafikleri Şekil 4.16. ve 4.17.'deki gibidir.



Şekil 4.16. Sadeyağ ve eklenen palmitik asitin kare dalga sıyırma voltamogramı (Ag/AgCl)



Şekil 4.17. Sadeyağ ve üzerine eklenen palmitik asit çözeltisine ait standart ekleme grafiğı

Sade yağ numunesindeki palmitik asit ölçüm değerleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Numunedeki palmitik asit derişimi standart ekleme grafiğinin eğimi ile hesaplanmış ve 3,903 mM bulunmuştur. Numunenin içerdiği % palmitik asit oranı % 3,48 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Sadeyağ numunesi ve eklenen palmitik asite ait Akım (μA) ve Derişim (mM) değerleri.

Analit	Derişim (mM)	Akım (μA)
DE + 0,1 mL sade yağ	3,903	1,824
" + 0,1 mL pa	1,380	2,920
" + 0,2 mL pa	2,730	3,475
" + 0,3 mL pa	4,050	4,086
" + 0,4 mL pa	5,330	4,765
" + 0,5 mL pa	6,570	5,594
" + 0,6 mL pa	7,800	5,877

Hesaplamalar

4 g tereyağından elde edilen sade yağ numunesinden 2,8754 g alındı. 7 mL destek elektrolit üzerine 0,1 mL sade yağ numunesi ve 0,1 mL ilaveler halinde toplamda 0,6 mL palmitik asit çözeltisi eklendi. Toplam çözelti hacmi 7,7 mL'dir. Çözelti derişimleri Çizelge 4.2.'de verildiği gibidir.

İlgili denklemler ve derişim hesabı

$$y = mx+n \quad S = m \times V_s + b \quad C_x \times V_x = C_s \times V_s \quad C_x = b \times C_s / m \times V_x$$

$$C_x = 2,0186 \times 0,1 / 0,5173 \times 0,1 \quad C_x = 3,903 \text{ mM}$$

Cs: standart çözelti derişimi

Cx: numune derişimi

b: n değeri, doğrunun y eksenini kestiği nokta ($y=mx+n$)

m: doğrunun eğimi

Vx: numune hacmi

Palmitik asit mol kütlesi; 256,4 g/mol.

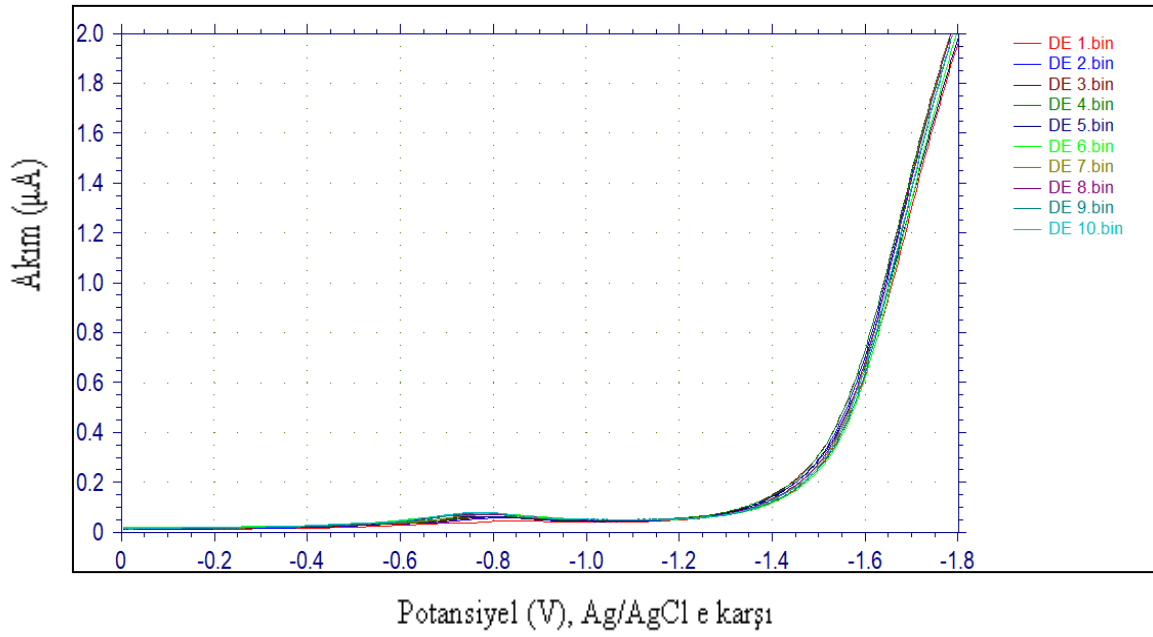
% Palmitik asit hesabı

$(3,903 \text{ mmol/L}) \times (256,4 \text{ mg/1 mmol}) \times (1 \text{ g/1000 mg}) \times (100/2,8754 \text{ g}) = \% 3,48$ palmitik asit bulunur.

4.1.9. Yöntemin gözlenebilme ve tayin sınırının belirlenmesi

Destek elektrolitin çoklu ölçümleri

Destek elektrolit çözeltisinin gaz geçirildikten sonra 10 kez voltamogramı alınmış (Şekil 4.18) ve -1.2 V 'taki akım değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir.



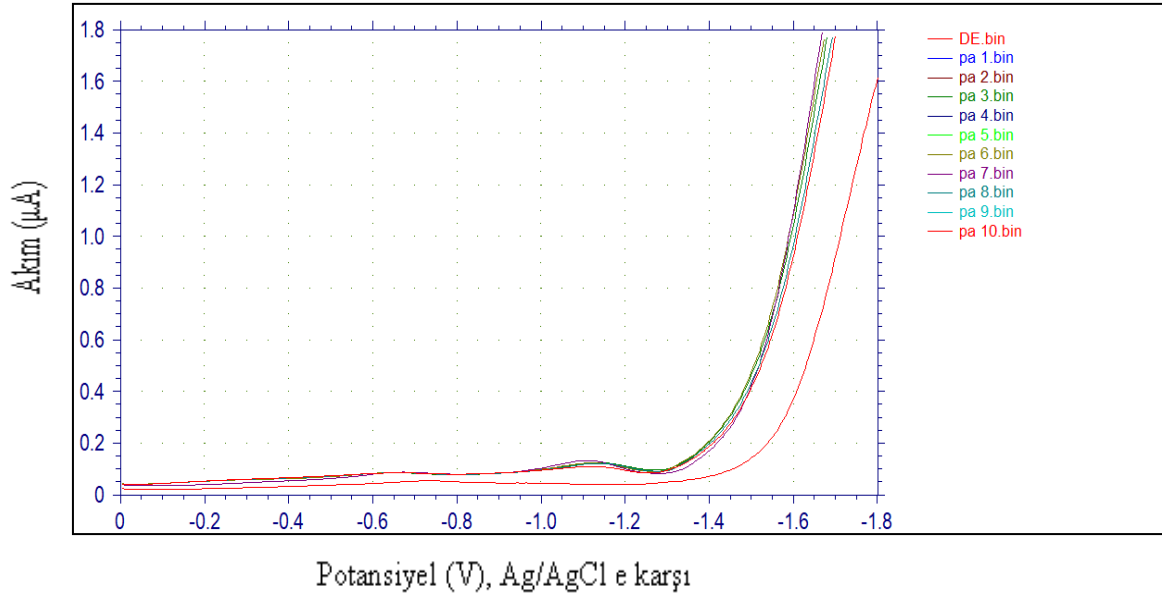
Şekil 4.1. Destek elektrolitin 10 tekrarlı voltamogramı (Ag/AgCl)

Çizelge 4.3. Destek elektrolitin tekrarlı ölçümlerinin akım değerleri

Analit	Ölçümler	Akım.10 ⁻⁸ A
Destek Elektrolit	1	4,75
Destek Elektrolit	2	4,78
Destek Elektrolit	3	4,77
Destek Elektrolit	4	4,81
Destek Elektrolit	5	4,8
Destek Elektrolit	6	4,83
Destek Elektrolit	7	4,82
Destek Elektrolit	8	4,85
Destek Elektrolit	9	4,87
Destek Elektrolit	10	4,89
Ortalama $\pm$ ve std sapma değeri ; $(4,817 \pm 0,044) \times (10^{-8})$		

2,75×10⁻⁴ M palmitik asitin çoklu ölçümleri

Destek elektrolit üzerine tek sefer eklenen 0,025 mL (2,75×10⁻⁴ M) palmitik asitin 10 tekrarlı ölçümüne ait analiz sonuçları aşağıdaki gibidir.



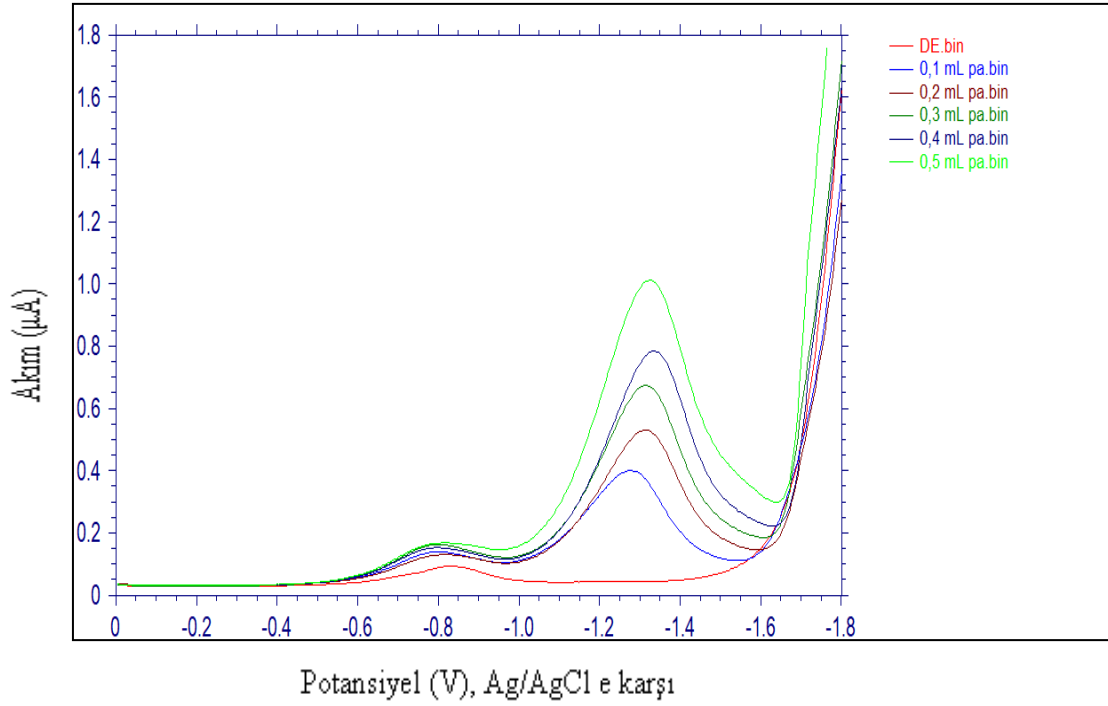
Şekil 4.2. $2,75 \times 10^{-4}$ M palmitik asitin 10 tekrarlı voltamogramı (Ag/AgCl)

Çizelge 4.4. 0,025 mL palmitik asitin tekrarlı ölçümlerinin akım değerleri

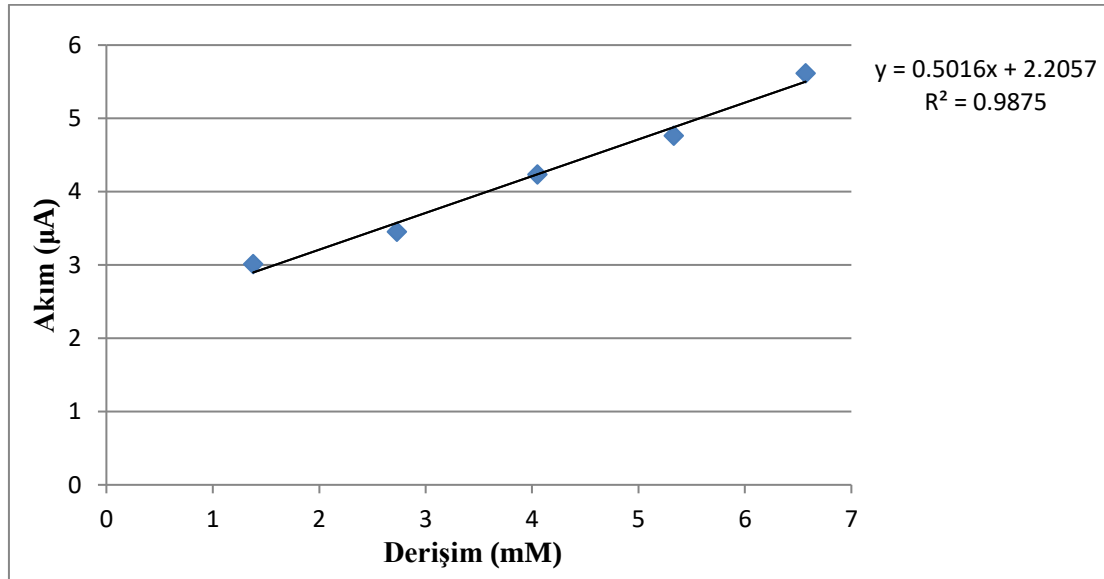
Analit	Ölçümler	Akım. 10^{-6} A
DE + 0,025 mL pa	1	1,293
DE + 0,025 mL pa	2	1,295
DE + 0,025 mL pa	3	1,295
DE + 0,025 mL pa	4	1,294
DE + 0,025 mL pa	5	1,292
DE + 0,025 mL pa	6	1,294
DE + 0,025 mL pa	7	1,296
DE + 0,025 mL pa	8	1,294
DE + 0,025 mL pa	9	1,292
DE + 0,025 mL pa	10	1,293
Ortalama $\pm$ ve std sapma değeri; $(1,293 \pm 0,001) \times (10^{-6})$		

Palmitik asitin kalibrasyon grafiği

Analiz hücresine 7 mL destek elektrolit eklenip, N_2 gazı geçirildikten sonra, palmitik asit eklemeleriyle $-1,4$ V'ta $50^\circ C$ 'de 60 s biriktirerek voltamogramlar alınmıştır (Şekil 4.20.).



Şekil 4.3. Palmitik asitin artan derişimlerdeki voltamogramı (Ag/AgCl)



Şekil 4.4. Palmitik asite ait kalibrasyon grafiğı

Yöntemin tayin sınırı ve gözlenebilme sınırının belirlenmesi:

Destek elektrolite göre hesaplama

Kalibrasyon grafiğinin denklemi; $y = 0,5016x + 2,2057$ $m = 0,5016$ $n = 2,2057$

Akım değerlerinin ortalaması = $4,817 \times 10^{-8}$ A (Çizelge 4.3).

Akım değerlerinin Standart sapması = $0,044 \times 10^{-8}$ A (Çizelge 4.3).

Gözlenebilme sınırı ($3\sigma/m$) = $3 \times 0,044 / 0,5016 \times 10^8 = 2,6 \times 10^{-7}$ M (LOD)

Tayin sınırı ($10\sigma/m$) = $10 \times 0,044 / 0,5016 \times 10^8 = 8,7 \times 10^{-7}$ M (LOQ)

$2,75 \times 10^{-4}$ M Palmitik asite göre hesaplama

Difüzyon akım değerlerinin ortalaması = $1,293 \times 10^{-6}$ A

Akım değerlerinin Standart sapması (1) = $0,001 \times 10^{-6}$ A (Çizelge 4.4)

Gözlenebilme sınırı ($3\sigma/m$) = $3 \times 0,001 / 0,5016 \times 10^6 = 7,7 \times 10^{-9}$ M (LOD)₁

Tayin sınırı ($10\sigma/m$) = $10 \times 0,001 / 0,5016 \times 10^6 = 2,6 \times 10^{-8}$ M (LOQ)₁

4.1.10. Tereyağı katkı maddesi olan tuzun (NaCl) girişim etkisinin analizi

2,87 g sade yağ numunesi etanol içinde çözünerek 100 mL' ye tamamlanmıştır. 1 mL sade yağ numunesinde 0,0287 g sade yağ vardır. 0,5 g NaCl, 10 mL saf suda çözülerek %5' lik NaCl çözeltisi oluşturulmuştur. Destek elektrolit (DE) + 1 mL numune + 0,5 mL palmitik asit çözeltisi + NaCl bileşenleri analiz hücresine sıra ile eklenmiş ve her ekleme sonunda voltamogram değerleri alınmıştır. Ölçülen akım değerleri neticesinde, Girişim etkisi (Δi_p) = %0,49 olarak bulunmuş, palmitik asit indirgenme referans pikimiz olan -1,2 V potansiyelindeki akım değerlerinde kayda değer bir akım değişikliği ölçülmemiştir. Tereyağında katkı maddesi olarak kullanılan tuzun, palmitik asitin voltametrik kare dalga sıyırma yöntemi ile miktar tayininde girişim etkisi gözlemlenmemiştir. Analizle ilgili NaCl bilgileri Çizelge 4.5. ve voltamogram diyagramı Şekil 4.22.'te verilmiştir. Yasal standartlara göre tereyağında katkı maddesi olarak en fazla %2 oranında tuz (NaCl) kullanılabilir.

NaCl miktar(g) ve derişim(M) hesabı

$0,0287 \text{ g sade yağ} \times (2/100) = 5,7 \times 10^{-4} \text{ g tuz/mL sade yağ (\%1'lik tuz çözeltisi)}$

$m = 0,5 \text{ g NaCl}$

$M_K(\text{NaCl}) = 58,44 \text{ g/mol}$

$$n = 8,5 \times 10^{-3} \text{ mol NaCl}$$

$$V = 0,01 \text{ L}$$

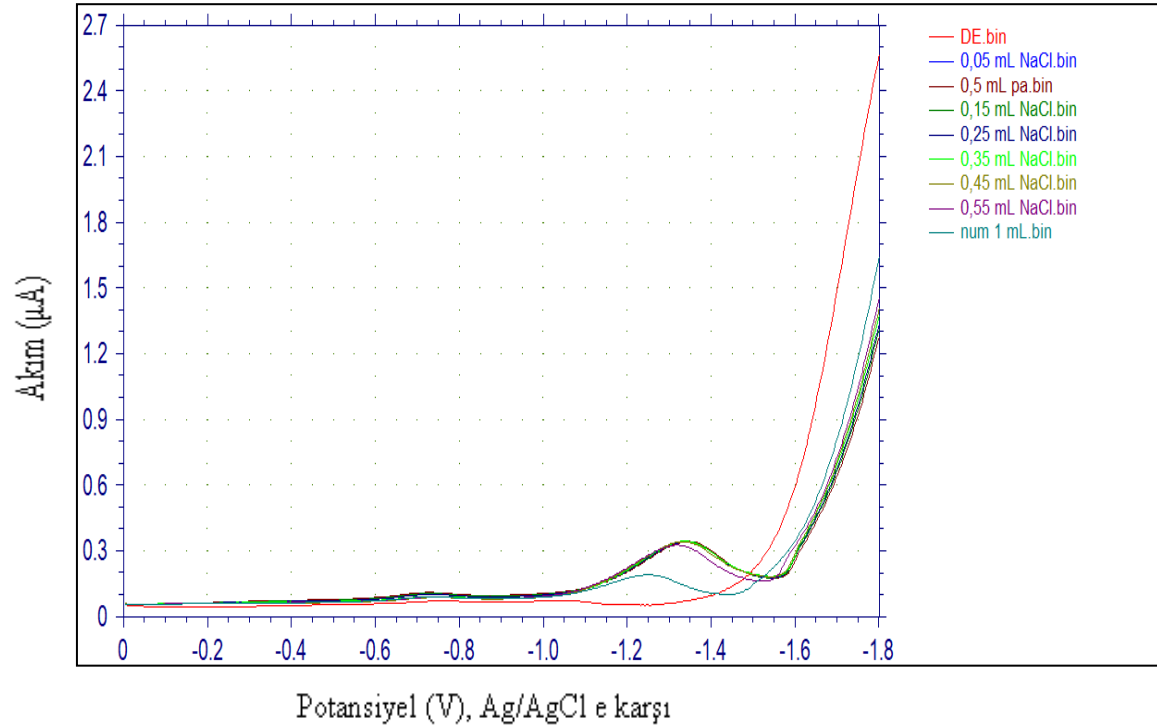
$$M = n/V$$

$$M = 8,5 \times 10^{-3} \text{ M} \times 0,01 \text{ L}$$

$$M = 0,85 \text{ M NaCl}$$

Çizelge 4.5. Eklenen NaCl miktarlarına bağlı olarak alınan ölçümler ve yapılan hesaplar

NaCl(mL)	%NaCl	NaCl $\times 10^{-3}$ g	Akım(μ A)	Derişim(10^{-2} M)
0,05	1	1,14	3,452	0,5
0,15	3	1,15	3,450	1,4
0,25	5	1,72	3,450	2,4
0,35	7	2,29	3,442	3,3
0,45	9	2,86	3,430	4,3
0,55	11	3,43	3,407	5,2



Şekil 4.22. Eklenen tuz miktarına bağlı olarak ölçülen voltamogram değerleri (Ag/AgCl)

Girişim etkisi (Δi_p) = ($i_{\text{palmitik asit}} - \Delta i_{\text{girişim şüphelisi tür}}$) / $i_{\text{palmitik asit}}$

$$\Delta i_p = (3,455 - 3,438) / (3,455) \times 100 \quad \Delta i_p = \%0,49$$

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sade yağdan palmitik asitin kare dalga sıyırma voltametrisi ile tayinine yönelik yöntemin duyarlılığını etkileyen; sıcaklık, biriktirme süresi, biriktirme potansiyeli, pH, çalışma elektrodu için uygun koşullar tespit edilmiştir.

Optimize koşullar için; pH; 2,75, sıcaklık; 50 °C, biriktirme süresi; 60 s, çalışma elektrodu; camısı karbon elektrot olarak belirlenmiştir.

Palmitik asitin $-1,2$ V potansiyelindeki pikinin, optimize koşullara cevap verdiği gözlenmiştir.

Yöntemin doğruluğunu, hassasiyetini ve tekrarlanabilirliğini göstermek amacı ile yapılan ölçümlerden aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

- Gözlenebilme ve tayin sınırları

Destek elektrolite göre hesaplama

- ✓ Gözlenebilme sınırı ($3\sigma/m$) = $2,6 \times 10^{-7}$ M (LOD)
- ✓ Tayin sınırı ($10\sigma/m$) = $8,7 \times 10^{-7}$ M (LOQ)

$2,75 \cdot 10^{-4}$ M Palmitik asite göre hesaplama

- ✓ Gözlenebilme sınırı ($3\sigma/m$) = $7,7 \times 10^{-9}$ M (LOD)
- ✓ Tayin sınırı ($10\sigma/m$) = $2,6 \times 10^{-8}$ M (LOQ)

- NaCl için yapılan girişim testinde, Girişim etkisi (Δi_p) = %0,49

Farklı iki numunedeki palmitik asit derişimi standart ekleme grafiğinin eğimi ile hesaplanmış ve 4,008 mM derişime karşılık % 3,73 ile 3,903 mM derişime karşılık % 4,48 oranında palmitik asit içerdikleri tespit edilmiştir.

Tereyağından elde edilen sadeyağdan, kare dalga sıyırma voltametrisi yöntemi ile palmitik asit tayinine yönelik yapılan bu çalışmanın; doğruluğu, yüksek duyarlılığı, tekrarlanabilirliği, hızlı ve ekonomik oluşu gibi belirgin avantajları vardır. Geliştirilmeye uygun ve teknolojik açıdan umut vericidir.

KAYNAKLAR

1. Bond, A. M., Zhang, J., Gundry, L., Kennedy, G. F. (2022). Opportunities and challenges in applying machine learning to voltammetric mechanistic studies. *Current Opinion in Electrochemistry*, 101009.
2. Pournara, A. D., Tarlas, G. D., Papaefstathiou, G. S., Manos, M. J. (2019). Chemically modified electrodes with MOFs for the determination of inorganic and organic analytes via voltammetric techniques: a critical review. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 6(12), 3440-3455.
3. Thomas, F. G., Henze, G. (2000). *Introduction to voltammetric analysis: theory and practice*. Csiro Publishing.
4. Zoski, C. G. (Ed.). (2006). *Handbook of electrochemistry*. Elsevier.
5. Jose, A., Broekaert, C. (2015). Daniel C. Harris: Quantitative chemical analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(30), 8943.
6. Bard, A. J., Faulkner, L. R., White, H. S. (2022). *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
7. Bard, A. J., Inzelt, G., Scholz, F. (Eds.). (2012). *Electrochemical dictionary*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
8. Scholz, F. (2010). *Electroanalytical methods* (Vol. 1). Berlin: Springer.
9. Scholz, F. (2015). Voltammetric techniques of analysis: the essentials. *ChemTexts*, 1(4), 1-24.
10. Wang, J. (2006). Analytical Electrochemistry, methodology and applications of dynamic techniques, New Jersey. Scholz, F. *Electroanalytical Methods*. Greifswald, Germany.
11. Yetişmeyen A. 1995. *Süt Teknolojisi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın no: 1420-410. Ankara.
12. Metin, M. (2005). Süt teknolojisinin güvenliği. *EÜ Mühendislik Fakültesi Yayınları*, (33), 1-2.
13. Gazete, R. (2000). Türk Gıda Kodeksi-Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği.
14. De Wit, J. N. (1998). Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of dairy science*, 81(3), 597-608.
15. Oysun, G. (1987). *Süt kimyası ve biyo kimyası*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi.
16. Miller, G. D. Jarvis, J. K., McBean, L. D. (2006). *Handbook of dairy foods and nutrition*. CRC press.

17. Salter, A.M., Lock, A.L., Garnsworthy, P.C. and Bauman, D.E., (2007). Milk fatty acids: Implications for human health. *Recent advances in animal nutrition*, 1-18.
18. Panchal, B., Truong, T., Prakash, S., Bansal, N., Bhandari, B. (2021). Influence of fat globule size, emulsifiers, and cream-aging on microstructure and physical properties of butter. *International Dairy Journal*, 117, 105003.
19. Truong, T., Palmer, M., Bansal, N., Bhandari, B., Hub, A. D. I. (2018). Effects of dissolved carbon dioxide in fat phase of cream on manufacturing and physical properties of butter. *Journal of Food Engineering*, 226, 9-21.
20. Codex Alimentarius, (2011). *Codex for fermented milk and dairy products*.
21. Boulongne, I. (2015) *La vie paysane autrefois, L'autoconsommation*.
22. Sauter, F., Puchinger, L., Schoop, U. D. (2003). Studies in organic archaeometry. VI1. Fat analysis sheds light on everyday life in prehistoric Anatolia: traces of lipids identified in chalcolithic potsherds excavated near Boğazkale, Central Turkey. *Arkivoc*, 15, 15-21.
23. Brockhaus, F. A. (1980). *Der Große Brockhaus in Zwölf Bänden*. 18. völlig neubearbeitete Aufl., Wiesbaden.
24. İnternet: Tereyağ. (2023) URL: [https://tr.wikipedia.org/wiki/Tereya%C4%9F%C4%B1#/media/Dosya:Triglyceride_\(Milk_&_Butter\)_V.png](https://tr.wikipedia.org/wiki/Tereya%C4%9F%C4%B1#/media/Dosya:Triglyceride_(Milk_&_Butter)_V.png), Son Erişim Tarihi 15.07.2023
25. Atamer, M. (2016). Tereyağı üretimi, *Tereyağı Teknolojisi*, Sidas Medya Ltd. Şti, İzmir, Türkiye, s. 107-113.
26. Hayaloglu, A., Konar, A. A (2001). comparative study on physicochemical and sensorial properties of butter made from yogurt and cream. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 56(12).
27. Akgül, H.İ., Şengül, M., Ürkek, B. ve Kotan, TE, (2021). Trabzon'da üretilen tereyağının fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile yağ asidi bileşiminin belirlenmesi. *Açta Scientiarum. Teknoloji* , 43 , s.e48905-e48905.
28. Ergin, G., (1976). Erzurum Ve Kars Yöresi Tereyağlarının gazkromatografik analizi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 7(4).
29. Atasoy A, Türkoğlu H. (2010). Şanlıurfa'da üretilen ve satışa sunulan sadeyağların (Urfa yağı) serbest yağ asitleri bileşiminin belirlenmesi üzerine bir araştırma, *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 14(2):9-12.
30. Yokuş, D., Karakuş, M. Ş., Atasoy, A. F. (2019). Koyun ve inek sütlerinden üretilen Şanlıurfa Sadeyağlarının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 23(4), 463-476.

31. Sağdıç, O. Dönmez M. and Demirci M. (2004). Comparison of characteristic and fatty acid profiles of traditional turkish yayık butters produced from goats', ewes' or cows' milk, *Food Control*, 485–490.
32. Glew, R. H., Okolo, S. N., Chuang, L. T., Huang, Y. S., VanderJagt, D. J. (1999). Fatty acid composition of Fulani 'butter oil'made from cow's milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 12(3), 235-240.
33. Büyükbeşe D, Emre EE., Ahmet, K. (2014). properties of milk fat and its fractions. *Caucasian Journal of Science*.;1(1):51-61.
34. Pustjens, A. M., Boerrigter-Eenling, R., Koot, A. H., Rozijn, M., Van Ruth, S. M. (2017). Characterization of retail conventional, organic, and grass full-fat butters by their fat contents, free fatty acid contents, and triglyceride and fatty acid profiling. *Foods*, 6(4), 26.
35. Ozcan, T., Akpınar-Bayizit, A., Yılmaz-Ersan, L., Cetin, K. and Delikanli, B., (2016). Evaluation of fatty acid profile of Trabzon butter. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 7(3),190-194.
36. İnternet: Tereyağ Teknolojisi (2023) URL: https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/3354/mod_resource/content/0/Konu%2010%20-%20Tereya%C4%9F%C4%B1Teknolojisi.pdf , Son Erişim Tarihi11.09.2023
37. Şenel, E. (2006), Bazı üretim parametrelerinin yoğurttan üretilen Yayık Tereyağlarının nitelikleri üzerine etkisi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye*, 168
38. Atasoy, A. ve Türkoğlu, H., (2010). Şanlı Urfa'da üretilen ve satışa sunulan sadeyağların (Urfa yağı) serbest yağ asitleri bileşiminin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Harran Tarım ve Gıda bilimleri Dergisi*, 14(2), 9-12.
39. Anonymous (2005). Türk Gıda Kodeksi, Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği (Tebliğ No: 2005/19). *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. 12 Nisan 2005 tarih ve 25784 sayılı Resmî Gazete*, Ankara.
40. Kaya, S. (2006). *Sütten ve yoğurttan elde edilen sadeyağın reolojik özellikleri*. 9. Gıda Kongresi, 24(26), 565-568.
41. Food and Agriculture Organization of the United Nations(1966), Code of Principles Concerning Milk and Milk Products and Associated Standards, *FAO*, Rome, 984-986.
42. U. S. Department of Agriculture, Federal and State Standards for the Composition of Milk Products (1977). *USDA*, Washington, (15).
43. Food and Agriculture Organization of the United Nations (1966). Code of Principles Concerning Milk and Milk Products and Associated Standards, *FAO*, Rome, 984-986.

44. İnternet: FAO (1998). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine - Matière grasse . URL <http://www.fao.org/docrep/t4280f/T4280F0i.htm>. Accessed Son Erişim Tarihi 16.08.2023
45. Soundous, E. H., Amaury, G., Juliette, D. L., Sybille, D. T., Aurélie, L., Viviane, P., Marianne, S. (2019). Overview of the local production process of raw milk butter in Wallonia (Belgium). *International Journal of Dairy Technology*, 72(3), 466-471.
46. Anonymous (2005), Türk Gıda Kodeksi, Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği (Tebliğ No: 2005/19). *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. 12 Nisan 2005 tarih ve 25784 sayılı Resmî Gazete*, Ankara.
47. Anonymous (2015). Tereyağı Standardı (2. Baskı) (TS 1331). ICS 67.100.20; 67.200.10, *Türk Standardları Enstitüsü*, Necatibey Caddesi No. 112, Bakanlıklar, Ankara.
48. AOAC (1984). Official Methods of Analysis. *AOAC Official Method 28.023*, Iodine Absorption Number Wijs Method, Arlington.
49. Derewiaka, D., Sosińska, E., Obiedziński, M., Krogulec, A. and Czaplicki, S., (2011). Determination of the adulteration of butter. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(8), 1005-1011.
50. Atasoy, A. ve Türkoğlu, H., (2010). Şanlı Urfa'da üretilen ve satışa sunulan sadeyağların (Urfa yağı) serbest yağ asitleri bileşiminin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 14(2), 9-12.
51. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı (2006). MEGEP (Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi), *Gıda Teknolojisi*, Lipitler, Ankara.
52. Mead, J.F., (1986). *Lipids: chemistry, biochemistry, and nutrition*. Plenum Press.
53. Sargent, J.R., Tocher, D.R. and Bell, J.G., (2003). The lipids. *Fish nutrition*, pp.181-257.
54. Atamer, M., (1993). Tereyağı teknolojisi uygulama kılavuzu. *Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları*, 1314.
55. Frémy, E., (1842). Memoire sur les produits de la saponification de l'huile de palme. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 757.
56. Gunstone, F. D., John L. Harwood, and Albert J. Dijkstra(2007). *The Lipid Handbook*, 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, ISBN 0849396883 | ISBN 978-0849396885.
57. Kingsbury, K. J.; Paul, S.; Crossley, A.; Morgan, D. M. (1961). The fatty acid composition of human depot fat *Biochemical Journal*.78 (3): 541–550.
58. İnternet URL: <https://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-flav/details/en/c/1091/>, Son Erişim Tarihi 13.06.2023

59. Ashford (1994). *RD Ashford's Dictionary of Industrial Chemicals*. London, UK: Wavelength Publications Ltd, 661
60. Haynes, W. M. (2015). *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 95th Edition*. CRC Press LLC, Boca Raton: FL, 3-294
61. Larranaga, MD, Lewis, RJ Sr., Lewis, RA (2016). *Hawley's Condensed Chemical Dictionary 16th Edition*. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, 1027
62. Acree Jr, W. E., Waghorne, W. E. (2021). IUPAC–NIST Solubility Data Series. 105. Solubility of solid alkanolic acids, alkenolic acids, alkanedioic acids, and alkenedioic acids dissolved in neat organic solvents, organic solvent mixtures, and aqueous–organic solvent mixtures. II. Alkanolic Acids. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 50(4), 043103.
63. Seidell A. (1941). *Solubilities of organic compounds*. - 3ed., vol.2. - New York: D. Van Nostrand Company, 763-765.
64. Yalkowsky S.H., Yan H. (2003). *Handbook of aqueous solubility data*. - CRC Press, 1062-1063
65. Ching, C.B., Abdullah, J. and Yusof, N.A., (2022). Voltammetric determination of palmitic acid by electrode modified with reduced graphene oxide. *Journal Of Food Science And Technology*, 59(3), 1053-1062.
66. Kotani, A., Kusu, F., Takamura, K. and Hakamata, H., (2019). A Portable Voltammetric Sensor for Determining Titratable Acidity in Foods and Beverages. *Journal of The Electrochemical Society*, 167(3), 037517.
67. Takamura, K., Fuse, T., Arai, K. and Kusu, F., (1999). A review of a new voltammetric method for determining acids. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 468(1), 53-63.
68. Yusof, N.H., Abdullah, J., Yusof, N.A. and Zainal, Z., (2018). Fabrication of titania nanotube and its application for palmitic acid determination by electrochemical technique. *Sensor Letters*, 16(10), 729-736.
69. Atkins, P. (2015). *Chemistry: A very short introduction*. OUP Oxford.
70. Bard, A. J., Faulkner, L. R., White, H. S. (2022). *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
71. Skoog, DA, Holler, FJ ve Crouch, SR (2017). *Enstrümantal analiz in ilkeleri*.
72. Scholz, F. (2017). Wilhelm Ostwald's role in the genesis and evolution of the Nernst equation. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 21(7).

73. Irkham, Watanabe, T., Fiorani, A., Valenti, G., Paolucci, F., Einaga, Y. (2016). *Co-reactant-on-Demand ECL: Electrogenerated Chemiluminescence by the in Situ Production of S₂O₈²⁻ at Boron-Doped Diamond Electrodes*. *Journal of the American Chemical Society*, 138(48), 15636–15641.
74. Yılmazgüç, B.Y., (2008). *Telmisartan'ın elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik yöntemle tayini* (Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı).
75. Yılmazgüç, B.Y., (2008). *Telmisartan'ın elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik yöntemle tayini* (Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı).
76. Fernando, A.R., (1988). "Trace Heavy Metal Determination In Soil Samples Using Differential Pulse Anodic Stripping" *The University Of Alberto*.
77. Yenigül, B. ve Ertaş, FN, (2001). Voltammetrik Analiz Yöntemleri I. *Henden E, Gökçel İ, Ertaş FN Ege Üniversitesi* , 154.
78. Bates, R.G. and Macaskill, J.B., (1978). Standard potential of the silver-silver chloride electrode. *Pure Appl. Chem*, 50(11-12), 1701-1706.
79. Taylor, L., (1997). Automating voltammetry with flow technology. *Current Separations*, 16, 47-54.
80. Abeykoon, S.W. and White, R.J., (2022). Continuous Square Wave Voltammetry for High Information Content Interrogation of Conformation Switching Sensors. *ACS Measurement Science Au*. 3(1): 1–9.
81. Wang, J., (2006). Analytical Electrochemistry, methodology and applications of dynamic techniques, New Jersey. *Scholz, F. Electroanalytical Methods*. Greifswald, Germany.
82. Klingler, R.J. and Kochi, J.K., (1981). Electron-transfer kinetics from cyclic voltammetry. Quantitative description of electrochemical reversibility. *The Journal of Physical Chemistry*, 85(12), 1731-1741.
83. Uchida, Y., Kätelhön, E. and Compton, R.G., (2018). Cyclic voltammetry with non-triangular waveforms: Electrochemically irreversible and quasi-reversible systems. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 810, 135-144.
84. Espinoza, E.M., Clark, J.A., Soliman, J., Derr, J.B., Morales, M. and Vullev, V.I., (2019). Practical aspects of cyclic voltammetry: How to estimate reduction potentials when irreversibility prevails. *Journal of The Electrochemical Society*, 166(5)
85. Creager, S., (2007). Solvents and supporting electrolytes. In *Handbook of electrochemistry* (57-72). Elsevier.
86. Fry, A.J., (2018). Solvents and supporting electrolytes. In *Laboratory techniques in electroanalytical chemistry* (469-485). CRC Press.

87. Matějovský, L., Staš, M., Dumská, K., Pospíšil, M. and Macák, J., (2021). Electrochemical corrosion tests in an environment of low-conductive ethanol-gasoline blends: Part 1–Testing of supporting electrolytes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 880, 114879.
88. Kaya, S. (2006). Sütten ve yoğurttan elde edilen sadeyağın reolojik özellikleri. 9. *Gıda Kongresi*, 24(26), 565-568.
89. Mead, J.F., (1986) , *Lipids: chemistry, biochemistry, and nutrition*. Plenum Press.
90. Sarı, A. Bicer, A. Karaipekli, A. Alkan, C. ve Karadağ, A., (2010). Bazı yağ asidi esterlerinin gliserol ile yeni katı-sıvı faz değişimi olarak sentezi, termal enerji depolama özellikleri ve termal güvenilirliği malzemeler. *Güneş Enerjisi Malzemeleri ve Güneş Pilleri* , 94 (10), 1711-1715.
91. İnternet: URL: <https://www.siirt.edu.tr/dosya/personel/7-donem-besin-dersi-yardimci-kaynak-7-yaglar-siirt-2020217121025462.pdf>, 14.06.2023



Gazili olmak ayrıcalıktır