

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

GIDA TEKNOLOJİSİ

**GIDALARDA ENSTRÜMENTAL
ANALİZLER 1
541GI0058**

Ankara, 2011

-
- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
 - Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
 - **PARA İLE SATILMAZ.**

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR	ii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. ENSTRÜMENTAL ANALİZLERDE ÖN HAZIRLIK	3
1.1. Gıdalarda Yapılan Enstrümental Analizler	3
1.2. Enstrümental analizlerde ön hazırlıklar	7
UYGULAMA FAALİYETİ	9
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	15
ÖLÇME SORULARI	15
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	17
2. SPEKTROSKOPİ	17
2.1. Spektroskopi ile İlgili Terimler	17
2.2. Spektroskopik Yöntemler	21
2.3. Ultraviyole (UV) ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi	21
2.3.1. UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri	24
UYGULAMA FAALİYETİ	30
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	34
ÖĞRENME FAALİYETİ-3	37
3. REFRAKTOMETRİ	37
3.1. Refraktometrinin İlkesi	37
3.2. Refraktometre ve Çeşitleri	40
3.2.1. Abbe Refraktometresi	40
3.2.2. El Refraktometreleri	43
3.3. Refraktometrik Analizler	46
3.3.1. Nitel Analizler	46
3.3.2. Nicel analizler	47
3.4. Refraktometrik Analizlerde Numunenin (Örnek) Hazırlanması	48
3.5. Okuma Yapma ve Sıcaklık Düzeltmesi	48
3.6. Refraktometrik Gıda Analizleri	49
3.6.1. Zeytin Yağında, Bitkisel Sıvı Yağlarda Kırılma İndisi Tayini	49
3.6.2. Meyve ve Sebze Mamulleri, Bal, Gazozda Suda Çözünebilen Kuru Madde Tayini	50
UYGULAMA FAALİYETİ	52
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	56
MODÜL DEĞERLENDİRME	59
CEVAP ANAHTARLARI	63
KAYNAKÇA	64

AÇIKLAMALAR

MODÜLÜN KODU	541GI0058
ALAN	Gıda Teknolojisi
DAL / MESLEK	Gıda Kontrol / Gıda Laboratuvar Teknisyeni
MODÜLÜN ADI	Gıdalarda Enstrümental Analizler 1
MODÜLÜN TANIMI	Enstrümental analizlere ön hazırlık ve spektrofotometre, refraktometre kullanarak gıdalarda enstrümental analiz yapma yeterliliğinin kazandırıldığı öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/32
ÖN KOŞUL	Bu modül için “Kimya Laboratuvarında Analiz Öncesi Hazırlıklar”, “Kimya Laboratuvarında Analiz Sonrası İşlemler”, “Çözelti Hazırlama 1” ve “Çözelti Hazırlama 2” modüllerini başarmış olmak ön koşuldur.
YETERLİK	Enstrümental analizleri yapmak.
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Analiz metoduna uygun olarak enstrümental analizlere ön hazırlıklar ile spektrofotometre ve refraktometre kullanarak gıda analizleri yapabileceksiniz. Amaçlar <ol style="list-style-type: none">1. Enstrümental analizlerin ön hazırlığını yapabileceksiniz.2. Spektrofotometre ile gıdalarda analiz yapabileceksiniz.3. Refraktometre ile gıdalarda analiz yapabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Kimya laboratuvarında; genel laboratuvar araç - gereçleri, blender, spektrofotometre (UV), standart çözelti kitleri, el refraktometresi, kağıt, kalem, cam yazar kalem, temizlik malzemeleri.
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modülün içinde yer alan her faaliyetten sonra, verilen ölçme araçları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek kendi kendinizi değerlendireceksiniz. Modül sonunda ise kazandığınız bilgi, beceri ve tavırları ölçmek amacıyla öğretmen tarafından hazırlanacak yazılı ve uygulamalı ölçme araçları ile değerlendirileceksiniz.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Günümüzde güvenilir özelliklerde ve kaliteli gıda maddesi elde edilmesinde en etkili araçlardan biri de kalite kontrol sistemleridir. Kalite kontrol sistemlerinde klasik kantitatif analiz metotları olan gravimetrik, volumetrik ve titrimetrik analizler yanı sıra son yıllarda enstrümental analiz metotları da kullanılmaktadır. Enstrümental metotlar bir cihaz kullanarak uygulanabilen ve klasik analiz metotlarına da ihtiyaç duyan metotlardır. Analizi yapılacak numune çoğu zaman aletle ölçüm yapılana kadar tartım, çözme, kurutma vb. birçok işlemden geçer. Aletle ölçüm yapma bazen analizin son basamağında kullanılır.

İşlenmiş gıdaların besin değerleri ile fonksiyonel özelliklerinin etiketlenmesinin giderek yaygınlaşması ve üretimde her basamağın etkisinin tayini için birçok örnekte hızlı şekilde, otomatik olarak tayin etme zorunluluğu enstrümental analizlerin kullanılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Enstrümental analiz yöntemleri hızlı bir gelişim göstermekte, her geçen gün yeni yöntemler uygulamaya katılmakta ve eski yöntemlerde geliştirilmektedir. Bu yöntemde kullanılan cihazların duyarlılıkları ve seçicilikleri de teknolojik gelişmeye paralel olarak artmaktadır.

Enstrümental analiz metotları, örneği oluşturan bileşenlerin verdiği sinyalleri değerlendirme prensibine bağlı olduğundan, bu metotların anlaşılması kolay olmamakla birlikte tecrübe, istek, sabır ve bilgi birikimi gerektirmektedir.

Bu modülde; gıda analizlerinde en çok kullanılan spektrofotometre(UV), el refraktometresi kullanımı ile bu cihazlarla gıdalarda analiz uygulamalarına yer verilmiştir.

Bu modülü başarıyla tamamladığınızda çeşitli gıda maddelerinde bu iki cihazı kullanarak enstrümental analizleri yapabileceksiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu öğrenme faaliyeti sonunda uygun ortam sağlandığında analiz metoduna uygun olarak enstrümental analizlerin ön hazırlığını yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

Çevrenizde bulunan gıda işletmelerinde ve laboratuvarlarında,

- Enstrümental analizler için yapılan ön hazırlıklar nelerdir, araştırınız.
- Araştırmalarınızı sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

1. ENSTRÜMENTAL ANALİZLERDE ÖN HAZIRLIK

1.1. Gıdalarda Yapılan Enstrümental Analizler

Klasik kantitatif analiz metotları dediğimiz gravimetrik analizler bileşenin kütlesi, titrimetrik analizde ise bileşenle reaksiyona giren standart bir numunenin hacmi tayin edilir. Ve bu hacimden yararlanılarak analizi yapılmak istenen maddenin kütlesi bulunur. Eskiden analizler sadece bu metotlarla yapılırdı. Ancak, 1930'lu yıllardan sonra analizler için cihaz kullanılmaya başlanmıştır. 1950'li yıllardaysa cihazlarda ve kullanımlarında anormal bir artış göstermiştir. Bu cihazları kullanarak yapılan analizlere de “**enstrümental analizler**” denmiştir. Enstrümental analizlerin kullanılması, o tarihten günümüze kadar artarak devam etmiştir. Buna bakarak enstrümental analizlerin bir gün gelecekte tamamen klasik metotların yerini alacağı fikrine kapılmamak gerekir. Her enstrümental analizin temelinde genellikle klasik analiz işlemleri (numune alma, tartma, ayırma, pH ayarlama, hacim ölçme vb.) yatar. Klasik analizlerin sayısı belki biraz azalacak ama yine de devam edecektir.

Enstrümental analiz metotlarının klasik analiz metotlarına göre avantajları şunlardır:

- Enstrümental analiz metotları, çok düşük konsantrasyonlarda bile iyi sonuç vermektedir. Klasik analiz metotlarında bu kadar düşük konsantrasyonlar tayin edilemezler.
- Enstrümental analiz metotları, klasik metotlardan daha hızlıdır ve kısa sürede sonuçlar alınabilir.
- Enstrümental amaçla kullanılan bir cihaza mikrobilgisayar bağlanarak, analiz sonuçları otomatik olarak kaydedilebilir. Kısacası enstrümental analiz metotları otomasyona uygundur.

Enstrümental analiz metotlarının klasik analiz metotlarına göre dezavantajları şunlardır:

- Enstrümental analizde kullanılan cihazlar laboratuvarında özel bir yer isteyen, pahalı ve bakıma ihtiyaç gösteren cihazlardır.
- Enstrümental analizde elde edilen sinyallerin değerlendirilmesi iyi yetişmiş insan gücüne ihtiyaç gösterirken klasik analizde ise buna gerek duyulmaz.
- Enstrümental metotların öğretilmesi ve öğrenilmesi güç iken klasik analizdeki kolaydır.
- Enstrümental analizler, konsantrasyonları yüksek olan maddelerde uygulanamazken klasik metotlar çok kolay uygulanır.
- Enstrümental metotlarda cihazlar kullanılmadan önce kalibre edilmek için standart maddelere ihtiyaç duyulurken klasik analizlerde böyle bir işleme gerek yoktur.
- Enstrümental metotlar arada bir yapılacak analizler için uygun değildir. Zira bu analizlerde kalibrasyon eğrisi oluşturmak hem pahalı hem de çok zaman alıcı bir işlemdir. Klasik analizde kalibrasyon eğrisine ihtiyaç yoktur.

Zamanımızda klasik metotlarla yapılamayan pek çok analiz enstrümental analizle yapılmaktadır ve nerdeyse, maddenin her fiziksel özelliği üzerine bir enstrümental analiz metodu geliştirilmiştir. Örneğin, madde ışın enerjisini absorplıyorsa absorptometri, floresans özelliği gösteriyorsa spektrofotometri, renkliyse kolorimetri, elektrik akımı geçiriyorsa kondüktometri vs. metotları ortaya konmuştur. Bunlarla ilgili geniş bilgi **Tablo 1.1**'de verilmiştir. Tabloda fiziksel özellik yerine sinyal kullanılmasının nedeni kullanılan cihazın kalitatif veya kantitatif olarak belirtilmek istenen özelliği bir sinyal olarak vermesidir. Bu sinyaller bu konuda bilgili kişiler tarafından incelenerek söz konusu madde hakkında yeterli bilgi elde edilir.

SİNYAL	ENSTRÜMENTAL ANALİZ
Işın absorplanması	Fotometri ve spektrofotometri (UV, görünür, IR) nükleer magnetik rezonans, elektron spin rezonans fotoakustik spektroskopisi
Işın saçılması	Raman spektroskopisi, türbitometri, nefelometri
Işın emisyonu	Emisyon spektroskopisi (UV, görünür, X –ışını elektron, Auger), lüminesans (UV, görünür, X –ışını) Refraktometri, interferometri
Polarize ışın düzlemini değiştirme	Polarimetri, optik rotari dispersiyon
Elektrik akımı	Amperometri, polarografi
Elektrik yükü	Kulometri
Elektrik direnci	Kondüktometri
Elektrik potansiyeli	Potansiyometri
Reaksiyon hızı	Kinetik metotlar
Termal özellikler	Termal iletkenlik, entalpi metotları
Radyoaktivite	Aktivasyon ve izotop seyreltme metotları
Kütlenin yüke oranı	Kütle spektroskopisi

Tablo 1.1: Enstrümental metotlar ve dayandıkları sinyaller

Günümüzde enstrümental analiz yöntemleri birçok alanda olduğu gibi gıda kontrolünde ve gıda araştırmalarında çok önemli bir yer tutmaktadır. Her geçen gün yeni enstrümental analiz yöntemleri uygulamaya katılmakta, eski yöntemler ise geliştirilmektedir. Teknolojik gelişime paralel olarak cihazların duyarlılıkları ve seçicilikleri de artmaktadır.

Bir analiz, proses veya kalite kontrolü için yapılıyorsa, analiz sonucunun yapılan işe esas olan standardın şartlarını karşılayıp karşılamadığına bakılır ve bu gibi durumlarda analizlerin çok süratli yapılması istenir. Bu nedenle de enstrümental analiz metotları kullanılır ve otomasyona uygun metotlardır. Enstrümental analiz metotları ile birçok gıda örneğinde hızlı bir şekilde otomatik olarak tayin yapılabilmektedir. Bu da hem zamandan kazanıma hem de anında müdahaleye olanak sağlamakta ve gıda kontrolünde enstrümental analiz metotlarının kullanılmasının yaygınlaştırma zorunluluğunu da ortaya koymaktadır.

Enstrümental analizler metotları, örneği oluşturan bileşenlerin verdiği sinyalleri değerlendirme prensibine bağlı olduğundan bu metotların anlaşılması kolay değildir. İstek, sabır, bilgi ve tecrübe birikimi gerektirdiği asla unutulmamalıdır.

Enstrümental gıda analiz metotları şu şekilde gruplandırılabilir:

- Spektroskopi
 - Moleküler Spektroskopi
 - Atomik Spektroskopi
 - Polarimetri
- Refraktometri
- Kromatografi
 - Sıvı Kromatografisi
 - Gaz Kromatografisi
 - Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC)
 - Kağıt Kromatografisi
- Potansiyometri

Gıda analizlerinde enstrümental analiz yöntemlerinden fotometrik analiz yöntemleri tercih edilir. Çözeltilerin ışığı absorbe (soğurma) etme, ışığı geçirme veya kırma gibi özelliklerinin ölçülmesi esasına dayanan yöntemlere **fotometrik yöntemler** denir.

Bu analiz yöntemlerinde şunlar yapılır:

- Analiz edilecek örnek çözelti haline getirildikten sonra üzerine belli bir kimyasal ilave edilir.
- Böylece elde edilen sistemin ışığı absorbe etme, ışığı çevirme veya ışığı kırma dereceleri ölçülür.
- Ölçüm değerleri aynı koşullarda hazırlanmış ve içerisine belli miktarda madde bulunan bir standart seri ile karşılaştırılarak sonuca gidilir.

Fotometrik analiz yöntemlerinin en büyük avantajı seri çalışmaya ve çok az madde miktarlarının bile belirlenmesine imkân sağlamasıdır.

Başlıca fotometrik analiz yöntemleri şunlardır:

- Spektrofotometri
- Kolorimetri
- Refraktometri
- Türbidometri
- Fluorometri

Bu enstrümental analiz metotlarından gıda analizlerinde en çok kullanılan spektroskopi, refraktometri, polarimetri, kağıt kromatografisi ve potansiyometri ile ilgili detaylı bilgiler ilgili modüllerin öğrenme faaliyetlerinde verilecektir.

Gıdalarda yapılan enstrümental analizlerden bazıları **Tablo 1.2'** de verilmiştir.

ANALİZ	METOT
1.BESİN ETİKETİ ANALİZLERİ	
Nişasta (kantitatif) tayini	Polarimetrik yöntem
C Vitamini analizi	Spektrofotometrik yöntem
2. GENEL ANALİZLER	
Briks tayini	Refraktometrik yöntem
Kırılma indisi	Refraktometrik yöntem
Suda çözünen madde tayini	Refraktometrik yöntem
Kırılma indisi tayini	Refraktometrik metot
pH tayini	Potansiyometrik yöntem
3. KATKI MADDELERİ VE KONTAMİNANT ANALİZLERİ	
Aflatoksin (B1, B2, G1, G2)	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
Benzoat tayini	Spektrofotometrik yöntem
Boya tayini (kalitatif)	Kağıt Kromatografisi
Nitrit/nitrat tayini	Spektrofotometrik yöntem
Sorbat tayini	Spektrofotometrik yöntem
4. YAĞ ANALİZLERİ	
Yağ asitleri kompozisyonu	Gaz Kromatografisi
UV ışığında özgül soğurma	Spektrofotometrik yöntem
Yağ asitleri kompozisyonu	Gaz Kromatografisi
5. SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİ ANALİZLERİ	
Glikomakropeptid analizi (PAS analizi)	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
6. ET VE ET ÜRÜNLERİ ANALİZLERİ	
Hidroksiprolin miktarı	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
Nitrit/nitrat tayini	Spektrofotometrik yöntem
7. MEYVE-SEBZE VE ÜRÜNLERİ ANALİZLERİ	
Benzoik asit tayini	Spektrofotometrik yöntem
Briks tayini	Refraktometrik yöntem
Hidroksimetil furfural tayini	Spektrofotometrik yöntem
Laktik asit tayini	Spektrofotometrik yöntem
Meyve oranı	Spektrofotometrik ve mineral analiz

Prolin tayini	Spektrofotometrik yöntemi
Salçada likopen tayini	Spektrofotometrik yöntem
Sirkede yapaylık tayini	Kolorimetrik yöntem
Suda çözünen madde miktarı	Refraktometrik yöntem
Boya maddeleri tayini (kalitatif)	Kağıt Kromatografisi
Fenolik madde profili	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
8. TAHIL VE TAHIL ÜRÜNLERİ	
Aflatoksin analizi	IAC ile saflaştırma sonrası HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) ile analiz
Nişasta tayini	Polarimetrik yöntem
Lipoksigenaz aktivitesi tayini	Spektrofotometrik yöntem
9. KURU BAKLAGİL ANALİZLERİ	
Izoflavon miktarı	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
Lipoksigenaz aktivitesi tayini	Spektrofotometrik yöntem
10. ŞEKERLİ/ÇİKOLATALI ÜRÜNLER ANALİZLERİ	
Boya tayini (kalitatif)	Kağıt Kromatografisi
Diyastaz tayini	Kolorimetrik yöntem
Hidroksimetil furfural tayini	Spektrofotometrik yöntem
Nişasta miktarı	Polarimetrik yöntem
Şeker kompozisyonu analizi	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
11. ÇAY ANALİZLERİ	
Boya tayini (kalitatif)	Kağıt Kromatografisi
Antioksidan aktivitesi tayini	Spektrofotometrik yöntem
Fenolik madde profili	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi

Tablo 1.2: Gıdalarda yapılan enstrümental analizlere örnek

1.2. Enstrümental analizlerde ön hazırlıklar

Yapılacak enstrümental analiz metoduna göre öncelikle ön hazırlıkların yapılması gerekir.

Bu analiz yöntemlerinde analiz edilecek örnek çözelti haline getirilmelidir. Bunun için örneklerin analiz yöntemlerinde belirtildiği şekilde çözeltiler ve kimyasal maddeler hazırlanmalıdır.

Daha sonra bu örneğe ölçüm yapmadan önce ilave edilecek kimyasal maddeler analiz yönteminde belirtilen şekilde hazırlanmalıdır.

Analiz öncesi sistemin ışığı absorbe etme, ışığı çevirme veya ışığı kırma dereceleri ölçümü için cihazlar kullanım talimatlarında belirtilen şekillerde çalıştırılarak kullanıma hazır hale getirilmeleri gerekmektedir. Bunun için her cihaz için ayrı işlemler yapılmaktadır. Bu konular ilgili faaliyetlerde ayrıntılı olarak anlatılacaktır.

Ölçüm değerlerinin aynı koşullarda ve içerisine belli miktarda madde bulunan bir standart seri ile karşılaştırılması için analiz öncesi standart seri çözeltilerinin hazırlanması

gerekmektedir. Bu hazırlıklar içinde yine analiz metotlarında belirtilen standart seri çözeltileri belirlenip, çözelti hazırlama esasları uygulanarak hazırlanır. Bu standart seri çözeltilerden bazıları **analiz kitleri** olarak hazır halde de bulunmaktadır. Bu kitler bulunuyorsa standart seri çözeltilerinin hazırlanmasına gerek yoktur.

Enstrümental gıda analiz yöntemlerinde analiz öncesi hazırlıklar değişmekle birlikte genel olarak analiz föyü dikkatlice okunmalı ve aşağıdaki işlemler yapılmalıdır.

- Analiz için gerekli kimyasal çözeltilerinin listesi çıkarılmalıdır.
- Listelenen çözeltiler usulüne uygun olarak teker teker hazırlanmalıdır.
- Standart seri çözeltileri hazırlanmalı ya da analiz kitleri tedarik edilmelidir.
- Örnek, analiz için, analiz föyünde belirtilen şekilde hazırlanmalıdır.
- Kullanım talimatlarına uygun olarak cihaz çalışmaya hazır hale getirilmelidir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Analiz föyü verilmiş olan enstrümental olarak sodyum (Na^+) analizinde, analiz öncesi hazırlıkları yapmak için aşağıda verilen işlem basamaklarını uygulayınız.

SODYUM (Na) ANALİZİ

Yöntemin Prensibi

Gıda örneklerindeki organik kısım, kuru yakma yöntemi ile kül fırınında veya yağ yakma yönteminde asit yardımı ile tamamen yakılır. Geriye kalan inorganik kısımda mineral aranması yapılır.

Kullanılan Kimyasallar

- NaCl: 10 g NaCl tuzu etüvde 70-80°C'de 2 saat bekletilerek kurutulur veya 1000 ppm lik hazır Na Standartı kullanılır
- Derişik sülfürik asit (H_2SO_4)
- Derişik nitrik asit (HNO_3)
- Perklorik asit (HClO_4)

Kullanılan Malzemeler

- Eter
- Etüv
- Cam petri
- Analitik Terazı
- Kjeldahl Tüpü
- Isıtıcı Tabla
- Erlen
- Pipet
- Balonjoje
- Cam Huni
- Süzgeç Kağıdı
- Sallayıcı
- Porselen Kroze
- Kül Fırını
- Piset
- Mezur
- Desikatör
- Sodyum Lambası
- Spektrofotometre

Deneyin Yapılışı

Yaş Yakma Metodu ile Örnek Hazırlama

- Homojen hale getirilen örnekten 2-4 g veya ml (analiz yapılacak örnekteki aranılan mineralin miktarına göre ayarlanmalıdır) alınarak Kjeldahl tüpüne yerleştirilir.
- Üzerine 21 ml derişik nitrik asit (HNO_3), 3 ml sülfürik asit (H_2SO_4), 3 ml perklorik asit (HClO_4) eklenir ve yakma ünitesine bağlanır.
- Eğer yakma düzeneği yoksa bu işlem erlene hot plate üzerinde yapılabilir. Fakat gaz çıkışları çok yoğun olacağından çeker ocakta veya davlumbazın altında çalışılmalıdır.
- Kahverengi duman çıkışı bitene kadar düşük ısıda çalışılır. Daha sonra sıcaklık yükseltilir.
- Erleneki çözelti berraklaşınca ve beyaz duman çıkışı azalana kadar yakma işlemine devam edilir. Seyreltilme yapılacak balonjojelerin üzerine huni ve süzgeç kağıtları yerleştirilir.
- Oda sıcaklığına kadar soğutulan çözeltinin içerisine yaklaşık 15 ml saf su eklenir ve süzgeç kağıdından süzülür.
- Deney kabı saf su ile bir kaç kere yıkanarak süzgeç kağıdına dökülür.
- Daha sonra süzgeç kağıdı birkaç kez saf su ile yıkanarak balonjoje hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlanır.
- Eğer numune çok yağlı ise ağırlığı bilinen örnek erlene alınarak üzerine 100 ml eter ilave edilerek 2-3 saat çalkalayıcıda karıştırılır. Eter fazı dökülerek numune madde kaybı olmaksızın Kjeldahl tüpüne veya erlene alınır.

Kuru Yakma Metodu ile Örnek Hazırlama

- Homojen hale getirilen örnekten 2-4 g veya ml alınarak krozeye koyulur. Eğer örnek sıvı ise 1 gece 110 °C 'de etüvde bekletilir. Eğer katı örnek ise üzerine 2 mL etil alkol koyularak 400 °C ön yakma işlemi yapılır.
- Krozeler kül fırınına yerleştirilir.
- Daha sonra kül fırının sıcaklığı 525± 10 °C' ye ayarlanır. 3- 4 saat sonunda krozeler dışarı alınır. Kömür rengi oluşmuşsa soğutularak üzerine yavaşça 0,5 ml nitrik asit ve 1 ml saf su eklenerek tekrar kül fırınına yerleştirilir.
- Krozede yanmamış madde kalmayana kadar yakma işlemine devam edilir.
- Daha sonra krozeler oda sıcaklığına kadar soğutulur. Üzerine 5 ml nitrik asit eklenir.
- Seyreltilme yapılacak balonjojelerin üzerine huni ve süzgeç kağıtları yerleştirilir.
- Süzgeç kağıdının içerisine bir miktar saf su koyulup üzerine krodedeki çözelti dökülür.
- Kroze saf su ile bir kaç kere yıkanarak süzgeç kağıdına dökülür.
- Daha sonra süzgeç kağıdı birkaç kez saf su ile yıkanarak balonjoje hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlanır.

Standart Serileri Hazırlama

- Kurutulan NaCl tuzundan 2,542 g tam olarak tartılarak daha önce temizlenmiş olan 1 litrelik balonjojeye dikkatlice aktarılır.
- Yaklaşık 20 ml nitrik asit eklenir.
- Örnekler asidik olduğu için standartta asitlendirilir.
- Üzerine 500 ml saf su eklenerek iyice çalkalanarak tam çözünme sağlanır.
- Hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlanarak 1000 ppm'lik Na standartı hazırlanır.
- Hazırlanan 1000 ppm'lik Na standartından 10 ml pipetle alınarak 100 ml'lik balonjojeye aktarılır ve hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlanarak 100 ppm'lik Na standartı hazırlanır.
- Hazırlanan 100 ppm'lik Na standartından istenilen aralıklarda çalışma standartları

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \quad \text{formülüne göre hazırlanır.}$$

M_1 = 100 ppm'lik stok standart

V_1 = Hesaplanması gereken 100 ppm'lik standarttan alınacak miktar ml

M_2 = Hazırlanması istenilen standart konsantrasyonu

V_2 = Hazırlanılması istenilen standart konsantrasyonunun son hacmi

- Standartların okunan absorpsanlarından faydalanarak konsantrasyona karşı absorpsan grafiği çizilir.
- Standart eğrisi oluşturulur ve örneğin absorpsanı okutulur bu standart eğrisinden derişimi bulunur.

Hesaplamalar

$$\text{Na miktarı (mg/kg)} = (C \times V \times SF) / m$$

C = Örneğin, hazırlanan standart eğrisinden yararlanarak okunan konsantrasyonu

m = Alınan örnek miktarı (g) veya (ml)

V = Örneğin yakma işleminden sonra süzöldüğü balonjojenin hacmi (ml)

SF = Eğer seyreltme yapılmışsa seyreltme faktörü

İŞLEM BASAMAKLARI	ÖNERİLER
<ul style="list-style-type: none">➤ Analiz föyünü dikkatlice okuyup kullanılacak kimyasal maddeleri listeleyniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Her laboratuvar çalışmasından önce kişisel hazırlıklarınızı yapmayı unutmayınız.➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Anlamak bir işi yapmanın yarısıdır, unutmayınız.

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Listelediğiniz kimyasal maddeleri belirtilen şekilde hazırlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bu analizde sadece NaCl hazırlanacaktır. Bunun için de 10 g NaCl tuzu etüvde 70-80°C’de 2 saat bekletilerek kurutulur veya 1000 ppm’lik hazır Na Standartı kullanılır. ➤ Diğerleri (Değişik sülfürik asit (H₂SO₄), Değişik nitrik asit (HNO₃), Perklorik asit (HClO₄)) ise laboratuvarında bu özellikte asitlerin olup olmadığı kontrol edilerek tedarik edilecektir. ➤ ➤
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kullanılacak malzemeleri listeleyp, analiz için tedarik ediniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Analiz föyünü dikkatlice okuyarak gerekli malzemelerin listesini numara vererek hazırlamaya özen gösteriniz. ➤ Bunun için analizin kullanılacak malzemeler kısmını inceleyiniz ➤ Laboratuvarınızda bu malzemelerin olup olmadığını kontrol ederek durumu laboratuvar sorumlusuna bildirmeyi unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Listelediğiniz malzemelerden cam ve porselen malzemeleri temizleyip kurutunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kullanacağınız cam ve porselen araç ve gereçlerin temizlenmesi için temizleme kurallarını hatırlayınız ve uygulayınız. ➤
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kuru veya yağ yakma metotlarından hangisini kullanacağınıza karar vererek buna uygun işlem basamaklarına geçiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bu kararı öğretmeninizle birlikte alarak uygun işlem basamaklarına geçmeyi unutmayınız. ➤ Hangi yöntemle yakma yapacağınıza karar verdikten sonra doğru işlemleri yapmak için bu işlemleri kendiniz için not alınız. ➤
Yaş yakma işlem basamakları	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Homojen hale getirilen örnekten 2-4 g veya ml alarak Kjeldahl tüpüne aktarınız. Eğer numune çok yağlı ise ağırlığı bilinen örneği erlene alarak üzerine 100 ml eter ilave edip 2-3 saat çalkalayıcıda karıştırınız. Eter fazını dökerek numune kaybı olmaksızın Kjeldahl tüpüne veya erlene alınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Örnek miktarı analiz yapılacak örnekteki aranılan mineralin miktarına göre ayarlanmalıdır. ➤ Eğer numuneniz çok yağlı ise ikinci işlem basamağını uygulayınız aksi halde bu işlem basamağını yapmaya gerek yoktur, unutmayınız. ➤ Aktarma yapmada dikkat edilecek noktaları hatırlayınız ve uygulayınız

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Üzerine 21 ml derişik nitrik asit (HNO₃), 3 ml sülfürik asit (H₂SO₄), 3 ml perklorik asit (HClO₄) ekleyerek yakma ünitesine bağlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Asitle çalışma kurallarını hatırlayınız ve uygulayınız. ➤ Eğer yakma düzeneği yoksa bu işlem erlende hot plate üzerinde yapılabilir. Fakat gaz çıkışları çok yoğun olacağından çeker ocakta veya davlumbazın altında çalışılmalıdır.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kahverengi duman çıkışı bitene kadar düşük ısıda çalışınız. Daha sonra sıcaklığı yükseltiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dikkatli olunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Erlendeki çözelti berraklaşmca ve beyaz duman çıkışı azalana kadar yakma işlemine devam ederek seyreltme yapılacak balonjelerin üzerine huni ve süzgeç kağıtlarını yerleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Erlendeki çözelti ve duman rengini sıkça kontrol ediniz. ➤ Renk istenilen özellikleri taşıdığı zaman yakma işlemine son verilmelidir, bu konuya önem veriniz. ➤ Süzme yapma hazırlıklarını hatırlayınız ve uygulayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Oda sıcaklığına kadar soğutulan çözeltinin içerisine yaklaşık 15 ml saf su ekleyip süzgeç kağıdından süzünüz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Soğutma işleminden sonra seyrelme işlemi yapılır, unutmayınız. ➤ Süzme yapma işlem basamaklarını hatırlayarak bunları uygulamayı unutmayınız. ➤ Sabırlı olunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Deney kabını saf su ile bir kaç kere yıkayıp süzgeç kağıdına dökünüz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Süzme yapma işlem basamaklarını hatırlayarak bunları uygulamayı unutmayınız. ➤ Sabırlı olunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Daha sonra süzgeç kağıdını birkaç kez saf su ile yıkayıp balonjojenin hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlayınız ve standart seri çözeltileri hazırlama işlemlerine geçiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dikkatli olunuz.
Kuru yakma işlem basamakları	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eğer örnek sıvı ise 1 gece 110 °C 'da etüvde bekletiniz. <p>Eğer katı örnek ise üzerine 2 ml etil alkol koyularak 400 °C ön yakma işlemi yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Yaş yakma yapıyor iseniz bu 9 işlem basamağını uygulamamanız gerekir unutmayınız ve standart çözelti hazırlama işlem basamaklarına geçiniz. ➤ Örneđinizin durumuna göre (sıvı veya katı olmasına göre) işleminizi gerçekleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Homojen hale getirilen örnekten 2-4 g veya ml alarak krozeğe koyunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tartım alma ve ölçüm alma kurallarını hatırlayarak uygulayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Krozeler kül fırınına yerleştirip daha sonra kül fırının sıcaklığı 525± 10 °C' ye ayarlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kül fırını kullanma talimatlarına uyunuz.

➤ 3-4 saat sonunda krozeler dışarı alınıp üzerine yavaşça 0,5 ml nitrik asit ve 1 ml saf su ekleyip tekrar kül fırınına yerleştiriniz	➤ Kül fırını kullanma talimatlarına uyunuz.
➤ Krozede yanmamış madde kalmayana kadar yakma işlemine devam ediniz.	➤ Kül elde konusunu hatırlayınız.
➤ Daha sonra krozeleri oda sıcaklığına kadar soğutunuz ve üzerine 5 ml nitrik asit ekleyiniz.	➤ Desikatör kullanma kurallarına uyunuz. ➤ Asitle çalışma kurallarını uygulayınız.
➤ Seyreltilme yapılacak balonjojelerin üzerine huni ve süzgeç kağıtlarını yerleştiriniz.	➤ Süzme işlemine hazırlık işlemlerini hatırlayarak uygulayınız.
➤ Süzgeç kağıdının içerisine bir miktar saf su koyup üzerine krozedeki çözeltiyi dökünüz.	➤ Sabırlı olunuz.
➤ Krozeyi saf su ile bir kaç kere yıkayıp süzgeç kağıdına dökünüz.	➤ Süzme konusunu hatırlayınız.
➤ Daha sonra süzgeç kağıdı birkaç kez saf su ile yıkayıp balonjojenin hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlayınız.	➤ Yıkama ve hacim tamamlama konularını hatırlayarak uygulayınız.
Analiz föyünde belirtilen şekilde standart seri çözeltileri hazırlamak	
➤ Kurutulan NaCl tuzundan 2,542 g tam olarak tartıp daha önce temizlenmiş olan 1 litrelik balonjojeye dikkatlice aktarınız	➤ Çözelti hazırlama konularını hatırlayarak işlem basamaklarını uygulayınız.
➤ Yaklaşık 20 ml nitrik asit ekleyiniz.	➤ Dikkatli olunuz.
➤ Örnekler asidik olduğu için standarttı da asitlendiriniz.	➤ Asitle çalışma kurallarını uygulayınız.
➤ Üzerine 500 ml saf su ekleyip iyice çalkalayarak tam çözünmeyi sağlayınız.	➤ Sabırlı olunuz.
➤ Hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlayıp 1000 ppm'lik Na standartı hazırlayınız.	➤ Ppm çözelti hazırlama konularını hatırlayınız.
➤ Hazırlanan 1000 ppm'lik Na standartından 10 ml pipetle alarak 100 ml'lik balonjojeye aktarıp ve hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlayıp 100 ppm'lik Na standartı hazırlayınız.	➤ Çözeltileri seyreltme konularını hatırlayınız.
➤ Hazırlanan 100 ppm'lik Na standartından istenilen aralıklarda çalışma standartları $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ formülüne göre hazırlayınız	➤ Hangi Na standartları ile çalışacağınıza öğretmeniniz ile birlikte karar veriniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

ÖLÇME SORULARI

Aşağıdaki şıklardan doğru olanı işaretleyiniz.

1. Enstrümental analizi en iyi tanımlayan ifade aşağıdakilerden hangisidir?
A) Karmaşık işlemlerin yer aldığı, zor analizlerdir.
B) Birden fazla aletle yapılan analiz yöntemleridir.
C) Cihazlarla yapılan, maddelerin verdiği sinyalleri değerlendirme ilkesine dayanan, kısa sürede birçok örnekle çalışma imkânı sağlayan analiz yöntemidir.
D) Elektrikli aletlerle yapılan analizlerdir.
2. Aşağıdakilerden hangisi gıda analiz ve araştırmalarında enstrümental analizlerin yaygınlaşmasının nedenlerinden biri değildir?
A) Teknolojik gelişmeler
B) Birçok gıda örneğinde hızlı bir şekilde otomatik olarak tayin yapılabilmesi
C) Cihazların duyarlılıkları ve seçiciliklerinin artması
D) Enstrümental cihazların ucuz olması
3. Aşağıdakilerden hangisi gıdalarda uygulanan enstrümental analizlerden biri değildir?
A) Elektroskopi
B) Kromotografi
C) Spektroskopi
D) Potansiyometri
4. Aşağıdakilerden hangisi fotometrik enstrümental analiz metotlarından biridir?
A) Volumetri
B) Gravimetri
C) Refraktometri
D) Potansiyometri
5. I. Örnek analiz için analiz füyünde belirtilen şekilde hazırlanmalıdır.
II. Ölçüm yapıp kalibrasyon eğrisi hazırlanmalıdır.
III. Analiz füyü dikkatlice okunmalıdır.
VI. Analiz için gerekli kimyasal çözeltilerinin listesi çıkarılmalıdır.
Yukarıda verilen enstrümental analizlere ön hazırlık basamaklarından biri değildir?
A) Yalnız III
B) Yalnız II
C) I ve III
D) IV ve II

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz.

Tüm sorulara doğru cevap verdiğinizde uygulamalı teste geçiniz.

KONTROL LİSTESİ

Öğretmeniz tarafından verilecek olan herhangi bir enstrümental gıda analiz föyünden yararlanarak analiz öncesi hazırlıkları yapınız. Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosuna göre kontrol ediniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
Laboratuvar önlüğünüzü giydiniz mi?		
Çalışma ortamınızı temizlediniz mi?		
Analiz föyünü dikkatlice okuyup kullanılacak kimyasal maddeleri listelediniz mi?		
Kullanılacak malzemeleri de listelediniz mi ?		
Listelediğiniz kullanılacak kimyasalları belirtilen şekilde hazırladınız mı?		
Listelediğiniz kullanılacak malzemelerden cam ve porselen malzemeleri temizleyip kuruttunuz mu?		
Kuru veya yaş yakma metotları ile örnek analize hazırlanacaksa:		
Kuru veya yaş yakma metotları analiz metodundan hangisini kullanacağınıza karar vererek uygun işlem basamaklarına geçtiniz mi?		
Kuru veya yaş yakma işlem basamaklarını adım adım takip ettiniz mi?		
Kuru veya yaş yakma metotları ile örnek analize hazırlanmayacaksa:		
Kuru veya yaş yakma metotları analiz föyünde yer almıyorsa analiz föyündeki gibi örneği analize hazırladınız mı?		
Analiz föyünde belirtilen şekilde standart çözeltileri hazırladınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Seçeneklerinizin hepsi **Evet** ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz. Cevabı **HAYIR** olan işlemleri tekrar deneyiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu öğrenim faaliyeti sonunda uygun ortam, araç ve gereç sağlandığında analiz metoduna uygun olarak spektrofotometre ile gıdalarda analiz yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

Bu faaliyet öncesinde yapmanız gereken öncelikli araştırmalar şunlardır:

- Spektrofotometreler hakkında gıda işletmelerinden, laboratuvarlardan, bu cihazların satışını yapan firmalardan araştırma yapınız.
- Spektrofotometrik yönteminin avantajları ve dezavantajları nelerdir, araştırınız.
- Yaptığınız araştırmaları sınıfta arkadaşlarınızla tartışınız.

2. SPEKTROSKOPİ

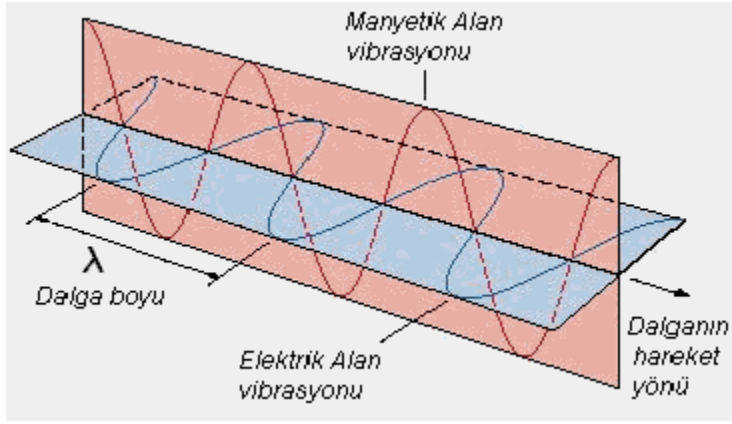
2.1. Spektroskopi ile İlgili Terimler

Bir örnekteki atom, molekül veya iyonlardaki elektronların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının, ölçülmesi ve yorumlanmasına **spektroskopi** denir.

Atom, molekül veya iyonun elektromanyetik ışıma ile etkileşimi sonucu dönme, titreşim ve elektronik enerji seviyelerinde değişiklikler spektroskopinin temelini oluşturur.

Işın veya elektromanyetik dalga uzayda çok büyük hızla hareket eden bir enerjidir. Diğer enerjilerde olduğu gibi bu enerjinin de çeşitli şekilleri vardır. En çok bilinenleri ışık, ısı, radyo dalgaları ve X –ışınlarıdır. Bu enerjilerden gözle görülebileni sadece ışıktır. Elektromanyetik spektrumda gözle algılanan elektromanyetik radyasyon **ışık** adını alır. Işının uzaydaki hareketi dalgalar halinde olur. Seste uzayda dalgalar halinde yayıldığı halde ışımdan farklıdır. Işın boşlukta enerjisinden bir şey kaybetmeden büyük hızla yayıldığı halde, ses yayılamaz. Örneğin, havası boşaltılmış fanustaki zilin sesi duyulmaz.

Işığın manyetik ve elektriksel iki bileşeni (alanı) bulunur. Bu iki bileşen sinüsoidal özellikte olup, yayılma yönüne ve birbirine dik konumdadır.



Şekil 2.1: X yönünde yol alan elektromanyetik dalganın elektriksel ve manyetik bileşenleri, dalga boyu (λ)

Işının tanecik ve dalga olmak üzere iki özelliği bulunmaktadır. Elektromanyetik ışın, dalga boyu, frekans, hız ve genlik gibi parametreleri içeren sinüs dalga modeli ile açıklanabilir.

Dalga boyu (λ) Bir ışının dalga hareketinin ard arda gelen iki maksimumu veya minimumları arasındaki doğrusal uzaklıktır ve λ ile gösterilir. Dalga boyu metre, santimetre, milimetre, mikrometre, nanometre, angström gibi çeşitli birimlerle verilebilir.

$$1 \text{ cm} = 10 \text{ mm} = 10^4 \mu\text{m} = 10^7 \text{ nm} = 10^8 \text{ \AA}$$

Frekans (ν): Bir ışının saniyedeki periyot sayısı olup birimi s⁻¹ veya buna eşdeğer Hertz (Hz) dir. Frekans, dalga boyu ve ışının yayılma hızı arasında,

$$\lambda \nu = v \quad \text{bağıntısı vardır.}$$

Bir ışının frekansı içinden geçtiği ortama bağlı değildir. Sadece kendini meydana getiren kaynağa bağlıdır. Kaynağın sıcaklığı yükseldikçe ışının frekansı da yükselir.

Işının havadaki hızı, her çeşit ışının vakumdaki hızı aynıdır ve c ile gösterilir. Dolayısıyla yukarıdaki eşitlik,

$$c = \lambda \nu = 3.10^{10} \text{ cm/s} \quad \text{şeklinde yazılabilir.}$$

Bir ışın saydam ortamlardan (maddelerden) geçer ve hızında azalma olur. Bu azalma ortamın kırma indisıyla ilgilidir ve ortamda ışının hızı ne kadar azalırsa kırma indisi o kadar büyür. Örneğin, ışının vakumdaki hızı c, ortamdaki hızı c₁, ise, kırma indisi (n₁):

$$n_1 = \frac{c}{c_1} \text{ olur.}$$

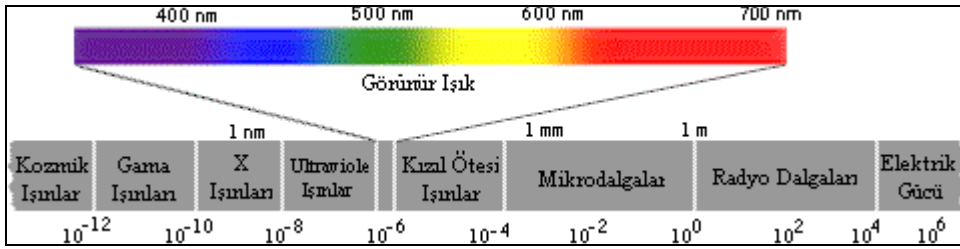
Dalga sayısı (ν) cm cinsinden dalga boyunun tersi olup, birimi cm^{-1} dir.

$$\nu = 1/\lambda$$

Elektromanyetik ışıma türleri,

- Gözle algılayabildiğimiz görünür ışık ve ısı şeklinde algılayabildiğimiz infrared (kırmızı ötesi) ışınları;
- X-ışınları,
- Ultraviyole (mor ötesi),
- Mikrodalga
- Radyo ışınlarıdır.

Spektroskopide yaygın bir şekilde kullanılan spektrum bölgelerinin dalga boyu ve frekans aralıkları aşağıda (Şekil 2.2) belirtilmiştir.

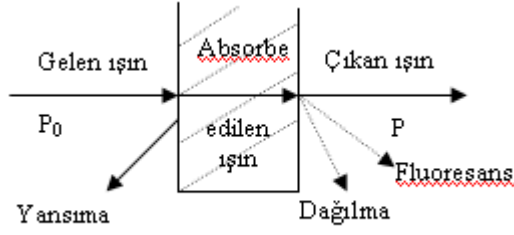


Şekil 2.2: Elektromanyetik spektrum bölgeleri

Spektroskopinin konusu radyant enerji ve madde arasındaki ilişkidir. Bir ışın demeti vakumdan maddenin yüzeyine giriş yaptığında, ışının elektriksel vektörü ortamın atom veya molekülleri ile etkileşir. Etkileşme ışının elektriksel bileşeni ile maddenin bağ elektronları arasında olur.

Etkileşim maddenin özelliğine bağlı olarak radyasyon (ışınım):

- ya geçer gider
- ya absorbe edilir
- ya yansır
- ya da dağılmaya uğrar. Bu durum Şekil 2.2' de gösterilmiştir.



Şekil 2.3: Radyasyonun(ışımının) madde ile etkileşimi

Radyasyonun (ışımının) madde ile etkileşim şekilleri:		
1) Radyasyonun maddeyi geçmesi	a) Dispersiyon (Işığın frekans veya dalga boyuna karşılık bir maddenin kırılma indeksindeki değişme)	<ul style="list-style-type: none"> • Refraktometre • İnterferometre
	b) Refraksiyon (Kırılma)	
2) Radyasyonun absorpsiyonu (soğurulması)	a) Atomik absorpsiyon	<ul style="list-style-type: none"> • Atomik absorpsiyon Spektrofotometresi
	b) Moleküler absorpsiyon	<ul style="list-style-type: none"> • UV-Görünür Bölge ve enfrared Spektrofotometreleri, • Kolorimetre, • X Işınları Spektrofotometresi
3) Radyasyonun yansıma ve dağılması		<ul style="list-style-type: none"> • Türbidimetri • Raman spektrofotometresi
4) Radyasyonun döndürülmesi		<ul style="list-style-type: none"> • Polarimetre
5) Radyasyonun Kırınımı (engelin kenarından ışığın hafifçe bükülmesi)		<ul style="list-style-type: none"> • X Işınları • Elektron Difraksiyon Metotları
6) Radyasyonun emisyonu	a) Termal radyasyon	
	b) Gazların Emilsiyonu	
	c) X Işınları radyasyonunun emilsiyonu	
	d) Fluoresans, Fosforesans	

Tablo 2.1: Radyasyonun (ışımının) madde ile etkileşim şekilleri

2.2. Spektroskopik Yöntemler

Spektroskopik yöntemler temelde iki gruba ayrılır:

- Atomik Spektroskopi
- Moleküler Spektroskopi

1. Atomik Spektroskopi

Atomik spektrum sadece elektronların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri içerir. Bu geçişler sırasında absorplanan veya yayılan ışımın enerjisi, atomun potansiyel enerjisindeki değişim ile orantılıdır.

$\Delta E = h\nu$ eşitliği ile verilir. Bir atomun elektronlarının yüksek enerjili düzeylere uyarılmasında absorplanan veya uyarılmış bir atomun temel düzeye dönüşü sırasında yayılan ışımın enerjileri, elektromanyetik spektrumun ultraviyole veya görünür bölge sınırları içindedir.

2. Moleküler Spektroskopi

Moleküler spektrum, elektronik düzeyler arasındaki geçişlere ek olarak dönme ve titreşim enerji düzeyleri arasındaki geçişleri de içerir. Bu geçişler sırasında bir molekülün toplam enerjisi şu eşitlikle verilir:

$$E_{\text{toplam}} = E_{\text{elektronik}} + E_{\text{titreşim}} + E_{\text{dönme}}$$

Bu nedenle moleküllerin spektrumları atom spektrumlarına oranla daha karmaşıktır.

2.3. Ultraviyole (UV) ve Görünür Bölge Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi

UV ve görünür bölgede spektrofotometrik ölçümler gıdaların nitel ve nicel analizlerinde en çok kullanılan yöntemlerden birisidir.

Maddenin ışığı soğurma (absorplama) derecesini ölçmek ve bundan yararlanarak derişimi saptamak için, absorpsiyon (soğurma) ile derişim arasındaki ilişki bilinmelidir.

Bir ışın demeti katı, sıvı veya gaz tabakasından geçerse belirli bir frekanstaki ışınların şiddeti seçimli olarak azalır. Bu olaya **absorpsiyon** denir.

Absorpsiyonda elektromanyetik enerji maddenin atomlarına veya moleküllerine aktarılır.

Moleküllerdeki her bir elektronik enerji düzeyi çok sayıda titreşim, bunlarda çok sayıda dönme enerji düzeyi içerirler. Bunun sonucu olarak moleküldeki mümkün enerji düzeylerinin sayısı fazladır ve çok sayıda absorpsiyon ihtimali vardır. Bu yüzden elektronik geçişe karşı gelen dalga boyu civarında birçok absorpsiyon piki gözlenir.

Ayırma gücü çok yüksek olmayan cihazlarda, birbirine çok yakın olan bu absorpsiyon pikleri bir band şeklinde görülür. Bu tip spektruma “**sürekli spektrum**” denir.

Atomların veya tek atomlu iyonların absorpsiyonu sonucu meydana gelen spektrum ise kesikli yani **hat spektrumdur**.

Monokromatik (tek dalga boylu ışımaya) ve I_0 şiddetindeki bir ışık demeti, kalınlığı b cm olan bir tüpte bulunan çözeltildeki herhangi bir molekül tarafından absorplandığında şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terkeder.

Geçirgenlik (T): Geçen ışık şiddetinin gelen ışık şiddetine oranıdır. Genellikle yüzde geçirgenlik olarak ifade edilir.

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100$$

Absorbans ile geçirgenlik arasında ,

$$A = - \log T = \log I / T = \log 100 / \%T$$

$$A = \log 100 - \log \%T$$

$$\mathbf{A = - \log T = 2 - \log \% T}$$
 ilişkisi vardır.

$$A = \log(I_0/I)$$

Absorbans(A): Gelen ışık şiddetinin geçen ışık şiddetine oranının logaritmasıdır. Absorbans ile geçirgenlik ters orantılıdır. Biri artarken diğeri azalır. Absorbans birimi yoktur.

Bir çözeltilin geçirgenliği ve absorbansı; ışığın geçtiği yolun kalınlığına (küvet kalınlığı), çözeltilin konsantrasyonuna ve her bileşik için sabit olan molar absorpsiyon katsayısına bağlıdır. Moleküllerin seçilen dalgaboyundaki ışımayı absorplaması sonucu ortaya çıkan azalma **Beer- Lambert** eşitliği ile verilir. Bu eşitlik:

$$\log \frac{I}{I_0} = \epsilon bc = A$$
 şeklinde ifade edilir.

Burada:

I_0 : Örnek kabına giren ışık şiddeti

I : Örnek kabını terkeden ışık şiddeti

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı (lt / mol.cm)

b : Örnek kabının kalınlığı (cm)

c : Derişim (mol / lt)

A : Absorbans

Molar Absorpsiyon Katsayısı (Absorptivite (ϵ)): Birim konsantrasyonda birim kalınlıktaki numunenin absorpsiyonudur. Birimi, b ve C 'ye bağlıdır. Çözeltinin konsantrasyonu molarite (mol/litre) cinsinden verilmişse, absorptiviteye “**Molar absorpsiyon katsayısı**” adı verilir. Absorbans, ışın demetinin geçtiği çözeltinin genişliği ve absorblayıcı türlerin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

$$A \propto b \cdot C \text{ yani } A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Çözeltide, uygulanan dalgaboyundaki ışığı absorblayacak birden fazla molekül varsa, absorbans toplamsal olduğundan,

$$A = A_1 + A_2 + \dots = \epsilon_1 b c_1 + \epsilon_2 b c_2 + \dots \text{ eşitliği geçerlidir.}$$

ϵ her madde ve her dalga boyu için farklı değerlerdir.

Bu eşitlikle ifade edilen kanuna Lambert – Beer Kanunu denir. Absorpsiyon ölçümlerinin temel kanunudur.

Lambert-Beer kanunu seyreltik çözeltiler için geçerlidir. 0.01 M 'dan daha seyreltik çözeltiler için uygundur.

Lambert-Beer Yasasından Sapmalar

- **Derişim Etkisi (Tabii sapma):** 0.01 M dan daha derişik çözeltilerde sapma olur. Nedeni artan tanecik sayısı nedeniyle taneciklerin etkileşimleri artar ve molar absorpsiyon katsayısını değiştirirler. Ortamdaki absorpsiyon yapmayan türler fazla ise de sapma olur. Kırılma indisi derişimle artar. Ancak bu düzeltilebilir. 10^{-2} M dan daha derişik çözeltilerde kırılma indisi önemsizdir.
- **Kimyasal Sebepler (Kimyasal sapma):** Absorblayıcı türlerin çözücü ile kimyasal reaksiyonları sonucu gözlenen sapmadır. Absorpsiyon yapan türün derişimi kimyasal reaksiyonlar sonucu değişiyorsa absorbans da değişir. Ortamdaki asitler ve çözücü önemli etkindir.
- **Cihazdan Kaynaklanan Sebepler (Aletsel sapma):** Kullanılan ışığın tek dalga boylu olmamasından kaynaklanan sapmadır. Etkin bant genişliği geniş olan cihazlarda seçimlilik az olacaktır. Çünkü dalga boyu aralığı biraz fazla olacağı için soğurma yapan başka türlerde ölçülmüş olur. Cihazın parçalarından kaynaklanan saçılmalar ve yansımalar dedektöre ulaşırsa yanlış değerler elde edilir.

Beer'den sapma olduğunda A (Absorbans) ve C (Konsantrasyon) arasındaki ilişki lineer değildir.

Beer- Lambert eşitliğinin geçerli olması için şunlar sağlanmalıdır:

- Uygulanan ışık monokromatik olmalıdır.

- Örnek homojen olmalıdır. (absorpsiyonun örneğin her yerinde eşit olması için)
- Birden fazla bileşen varsa, her bir bileşen diğerlerinin absorpsiyonunu etkilememelidir.
- Absorbans ölçümü sırasında numunede herhangi bir reaksiyon olmamalıdır.

2.3.1. UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri

Spektrofotometri renkli maddelerin, bir ayrıla renklendirilen maddelerin ve bazı renksiz maddelerin absorpladığı (soğurduğu) ışık şiddetini ölçerek yapılan bir analiz yöntemidir.



Resim 2.1: Spektrofotometre

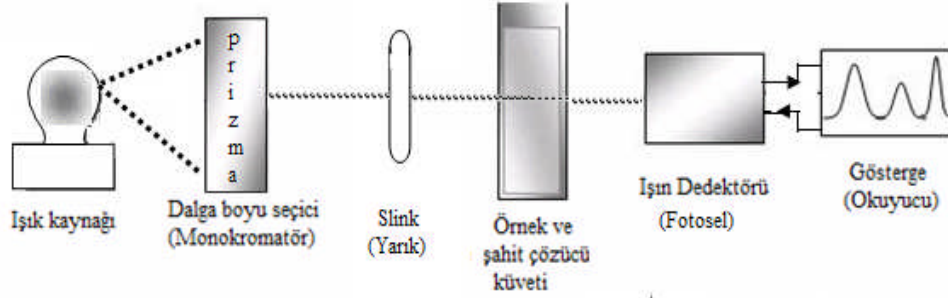
Bir çözeltinin absorbansını ve ya geçirgenliğini ölçmek için **spektrofotometre** adı verilen bir cihaz kullanılır. Spektrofotometrelerde dalga boyu değiştirilerek dalga boyuna karşı absorbans veya transmitans ölçümü alınır.

Her bir renkli çözelti, normal ışığı oluşturan ışıklardan bir ya da birkaçını absorplar. Öbürlerini de az ya da hiç absorblamaz, olduğu gibi geçirir. Buna göre kırmızı bir çözeltiyi ölçmek için spektrofotometride kullanılacak ışık, yeşil bir ışık olmalıdır.

<u>Dalga Boyu(nm)</u>	<u>Bölge</u>	<u>Gözle Görünen Renk</u>
<380	UV	Görünmez
380-440	Görünür	Mor
440-500	Görünür	Mavi
500-580	Görünür	Yeşil
580-600	Görünür	Sarı
600-620	Görünür	Turuncu
620-750	Görünür	Kırmızı
750-2000	IR	Görünmez

Çizelge 2. 1: Bir çözeltinin absorpladığı ışığın dalga boyu, bölgesi ve gözle görünen rengi

İnsan gözünün yanıt verdiği ışımsal enerji 400-750 nm arasındaki bölgeyi kapsar.



Şekil 2.4: Spektrofotometrenin başlıca kısımları

2.3.1.1. Spektrofotometrenin Başlıca Kısımları

- **Işık kaynağı:** İstenilen dalga boylarını içerisine alan bir ışık kaynağıdır. 180–375 nm (nanometre) arasındaki çalışmalar için **döteryum lambası**, 350–800 nm arasındaki çalışmalar için ise **tungsten lamba** gereklidir. UV –Görünür bölge spektrofotometrelerinde her iki lamba da bulunur.
- **Dalga boyu seçici (Monokromatör):** Monokromatik ışın (tek bir dalga boyunda olan ışın) meydana getiren bir prizma sistemidir. Monokromatörün önünde bulunan slim (yarık) yardımıyla istenilen dalga boyundaki ışının örnek ve şahit çözücü küvetine ulaşması sağlanır.
- **Örnek ve şahit çözücü küveti:** İçerisine örneğin renklendirilmiş çözeltisi ile şahit çözücünün konulduğu küvetir. Buna **absorbans hücresi** de denir. Küvetler cam veya kuvarzdan yapılmıştır.
- 200–350 nm arasındaki dalga boyunda çalışılacaksa kuvarz küvetler kullanılmalıdır. Çünkü bu dalga boyları aralığında kuvarz ultraviyole ışığı geçirebilir.

350–800 nm arasında ise cam küvetler kullanılmaktadır. 350–800 nm bölgesinde kuvarz küvet kullanılabilirken çözeltinin renk yoğunluğuna göre absorplanan ışın miktarı değişir. Renk yoğunluğu arttıkça absorplanan ışın miktarı da artar.



Resim 2.2: Örnek ve şahit çözücü küveti

- **Işın dedektörü(Fotosel):** Spektrofotometrede ışık enerjisini elektrik enerjisine dönüştüren düzendir. Çözeltiden geçen ışınlar ışın dedektörüne (fotosele) gelerek ışık yoğunluğu ile orantılı olarak bir elektrik akımı oluştururlar.
 - UV ve görünür bölge spektrofotometrelerde fototüpler ve fotoçoğaltıcı tüpler dedektör olarak kullanılmaktadırlar.
- **Gösterge(Okuyucu):** Fotoselde oluşan elektrik akımının milivolt cinsinden ölçüldüğü aygıttır. Buradan absorpsiyon (A) veya geçirgenlik (T) okunur. Bazı cihazlarda doğrudan konsantrasyon (C) okuması da yapılabilmektedir.

Spektrofotometrelerde bu ana bileşenlerden başka ışığı toplamak, yansıtmak, bölmek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüler de kullanılır.

2.3.1.2. Spektrofotometrik Analizler

Nitel analizler: Geniş uygulama alanları, yüksek duyarlılık, seçicilik ve tekrarlanabilirliğin iyi olması, uygulanabilirlik ve hızlılığın iyi olması gibi nedenlerle tercih edilirler.

Nitel analizlerde, gıdalardaki saf maddelerin yapılarının saptanmasında, fonksiyonel grubun bulunup bulunmadığının incelenmesinde, bir fonksiyonel grubun bileşikdeki yerinin saptanmasında kullanılır.

Nicel analizler: Nicel analizde Lambert –Beer kanunundan yararlanır. Bu kanuna göre, absorpsiyon konsantrasyonla doğru orantılıdır.

Tayin tek standartla, kalibrasyon eğrisi ile ve standart katma metodu ile yapılabilir. Bunun için analiz edilecek maddenin absorblayacağı ışığın dalga boyu belirlenir (bu genellikle maddenin maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyudur). Belirlenen dalga boyunda hazırlanan standart çözeltilerin absorpsiyonları ölçülür ve konsantrasyona karşı kalibrasyon grafiği çizilir. Kalibrasyon grafiğinde standart çözeltilerin absorpsiyon grafik denkleminde y değeri yerine, konsantrasyonu x değeri yerine konularak çizilir.

Sonra bilinmeyen (örneğin) absorpsiyon okunarak grafikten absorpsiyonun kalibrasyon eğrisini kestiği yerden x eksenin dikme indirilerek aynı şekilde bilinmeyen konsantrasyonu tayin edilir.

2.3.1.3. Nitel Numune Analizi (Krom Tayini) İşlem Basamakları Şunlardır:

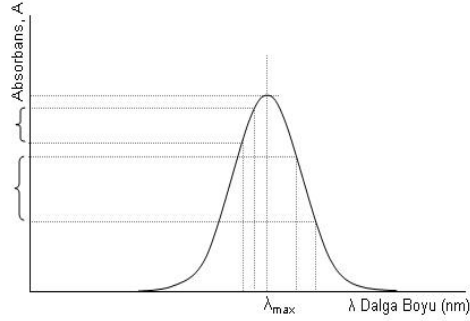
- **Kullanılan Cihaz ve Malzemeler**
 - Görünür Bölge Spektrofotometresi, tek ışın yollu
 - İki adet cam küvet
 - Pipet
 - 25 ml'lik 5 adet balon joje
- **Kullanılacak kimyasallar**
 - 0.05 M Cr^{+3} Stok çözeltisi, $Cr(NO_3)_3$ 'den hazırlanmış
 - Cr^{+3} Standart seri çözeltileri (0.01, 0.02, 0.03 ve 0.04 M'lık Cr^{+3} çözeltileri), stok çözeltiden hazırlanmış

➤ İşlem Basamakları

• **Absorbsiyon Dalga Boyunun Belirlenmesi**

Bir bileşiğin hangi dalga boyunda absorpsiyon yaptığını bulmak için absorpsiyon eğrisini saptamak gerekir. Bunun için sözkonusu bileşiğin değişik dalga boylarındaki uygun aralıklarla absorpsiyonu y eksenine, dalga boyu ise x eksenine işaretlenerek bir eğri elde edilir. Bu eğriye **absorbans eğrisi** denir. Kantitatif ölçümlerde λ_{max} (maksimum dalga boyu) ölçüm için kullanılır. λ_{max} değerinin dışında bir dalga boyunda çalışılması absorpsiyonun az olmasına yol açar.

Aşağıdaki absorbans eğrisinden de anlaşılacağı gibi λ_{max} değerinde maksimum absorbans elde edileceği görülür. Absorbans eğrisinin sağında veya solunda λ değerlerindeki oynamanın, λ_{max} değeri yakınlarındaki oynamalardan daha çok absorbansa yansıtacağı grafik üzerinde görülmektedir.

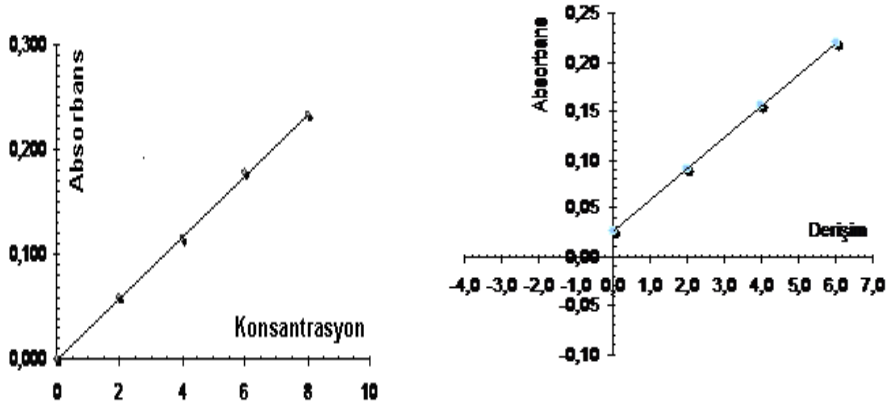


Şekil 2.5: Absorbans eğrisi

Analizde absorpsiyon dalga boyunu belirlemek için aşağıdaki işlem basamakları gerçekleştirilir:

- Ön Hazırlık için cihaz analize başlamadan 15 dakika önce çalıştırılarak ısıtılmalıdır. Bunun için şu işlemler yapılır:
 - Açma düğmesi(Power) açılır.
 - Dalga boyu sayıcısı 400 nm'ye ayarlanır.
 - Duyarlılık (Sens) düğmesi 325-390 nm değerleri arasında "HIGH" konumuna getirilir. Ve Cihazın ısınması için 15 dakika beklenir.
- Daha önceden hazırlanmış olunan 0.02 M Cr^{+3} in absorpsiyonu okunur. Absorbans ölçümü için şu işlemler yapılır:
 - Aralık seçme (RANGE) düğmesi "0-% 100 T"ye getirilir.
 - Numune kompartmanı kapağı açılır ve %0 T yi %0 T Ayar (ADJ) düğmesi ile ayarlanır.
 - En öndeki küvete şahit (saf su) yerleştirilir.
 - Absorbans % 100 T/ 0 A düğmesi ile sayısal parametrede 0'a ayarlanır.
 - 0.02 M Cr^{+3} çözeltisini küvete doldurup, numune tutucuya yerleştirilerek çekilir.

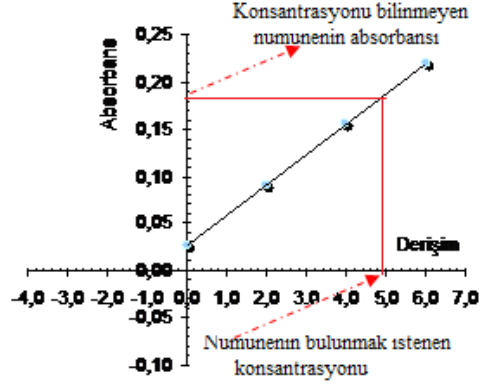
- Sayısal parametrede okuma yapılır. Şayet panel metrede değer sürekli yanıp sönüyorsa “Aralık seçme (RANGE)” düğmesi ABSO-3’e getirilir.
 - 20 nm’lik artışlarla 700 nm’ye kadar her dalga boyunda %100 ayarı tekrarlanarak (çözücü ile) numunenin(0.02 M Cr⁺³) absorpsiyonu okunur.
- Elde edilen absorpsiyon değerleri dalga boyuna karşı grafiğe geçirilerek Cr⁺³ iyonunun absorpsiyon eğrisi çizilir. Elde edilen absorpsiyon eğrisine göre maksimum absorpsiyon olduğu dalga boyu analizde kullanılacak dalga boyu olarak belirlenir.
- **Kalibrasyon Grafiğinin Çizimi**
- 0.05 M stok Cr⁺³ çözeltisinden 25 ml’lik balon jöjelere 0.01M, 0.02 M, 0.03 M ve 0.04 M’lık Cr⁺³ çözeltileri hazırlanır. (Standart seri Cr⁺³ çözeltileri)
 - Her çözeltinin absorpsiyonu, belirlenen maksimum dalga boyunda, şahit çözelti (burada saf su) ile %100 ayarı yapıldıktan sonra ölçülür ve kaydedilir.
 - Konsantrasyonlar yatay (y) ekseninde, absorpsiyon değerleri dikey (x) ekseninde olacak şekilde bir absorpsiyon eğrisi çizilir.



Şekil 2.6: Kalibrasyon grafiklerinde örnekler

- **Bilinmeyen Örneğin (Numunenin) Analizi**
- Yukarıda sözü edilen dalga boylarında, konsantrasyonu bilinmeyen numunenin absorpsiyonu okunarak absorpsiyon eğrisinden Cr⁺³ konsantrasyonu bulunur.

NOT: Spektrofotometrenin sinyal göstergesinde yüksek absorbans değerleri okunurken büyük hatalar yapılabilir. Bu durumda geçirgenlik değerleri okunmalı ve geçirgenlikten absorbans hesaplanmalıdır.



Şekil 2.7: Spektrofotometrik bir analize ait kalibrasyon grafiğinden yararlanarak absorbansı okunan numunenin konsantrasyonunu bulma

UYGULAMA FAALİYETİ

Spektrofotometrik yöntemle Demir (Fe^{+2}) Tayini yapmak için aşağıda verilen işlem basamaklarını uygulayınız.

Deneyin ilkesi: Demir (Fe^{+2}) çözeltisine asetat tamponu, hidrokinon ve 2,2 dipiridil çözeltisi ilave edip böylece elde edilen renkli çözeltinin 520 nm dalga boyundaki absorpsanları ölçülerek hazırlanan grafik yardımıyla numunedeki (örnekteki) demir (Fe^{+2}) miktarının bulunması esasına dayanır.

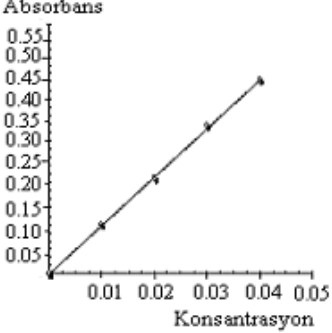
Kullanılacak Araç Gereçler

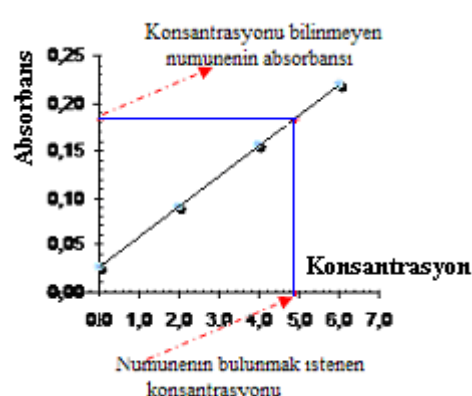
- Görünür Bölge Spektrofotometresi, tek ışın yollu, cam küvetli
- İki adet cam küvet
- Hassas terazi
- Su banyosu
- Pipetler
- 100, 200, 500, 1000 ml'lik balon jojeler
- Porselen krozeler
- 8 Adet deney tüpü

Kullanılacak Kimyasallar

- **Asetat Tamponu**; 100 °C' de su banyosunda kurutulmuş 16.6 gram susuz CH_3COONa (Sodyum asetat) bir miktar saf suda çözündürülür. Üzerine 24 ml saf asetik asit (CH_3COOH) ilave edilir. Bu çözelti saf su ile 200 ml.ye tamamlanır.
- **Hidrokinon çözeltisi**; 2.5 gram hidrokinon az saf suda çözündürülür. Üzerine 0.5 ml derişik HCl ilave edilir. Saf su ile 100 ml.ye tamamlanır.
- **2,2 dipiril**; 2,2 dipiril sudaki bindebirlik (%0.01'lik) 100 ml çözeltisi hazırlanır.
- **Standart demir (Fe^{+2}) çözeltisi**; 3.512 gram $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (demir amonyum sülfat) az saf suda çözündürülüp üzerine 2 damla 5 N HCl ilave edilir. Bu çözelti saf su ile 500 ml.ye tamamlanır. Standart seri çözeltisi hazırlamak için bu çözeltiden 10 ml alınarak 1 litreye seyreltilir. Seyreltilen bu çözeltinin ml.sinde 0.01 miligram Fe^{+2} bulunur.
- **Saf asetik asit (CH_3COOH)**
- **Derişik HCl**
- **5N HCl**
- **$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (demir amonyum sülfat)**

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Analiz öncesi hazırlıkları yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz. ➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız. ➤ Çalışma ortamını temizleyiniz. ➤ Kullanılan araç ve gereçleri listeleyerek, temizleyiniz. ➤ Kullanılacak kimyasalları listeleyerek, belirtilen şekilde hazırlayınız.
<p>• Kalibrasyon grafiğini hazırlamak için aşağıdaki işlemleri yapınız.</p>	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 6 tane deney tüpü alıp numaralandırınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Deney tüpleriniz temiz ve kuru olmalıdır. ➤ Numaralandırmada etiketler kullanabilirsiniz. Veya numaralandırma yerine aktaracağınız Fe^{+2} çözelti miktarlarını yazabilirsiniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Deney tüplerine sırasıyla seyreltilmiş olan standart Fe^{+2} çözeltisinden 0 (standart Fe^{+2} çözeltisi konulmayacak-Şahit), 1, 2, 3, 4, 5 ml koyunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pipetle aktarma tekniğini hatırlayarak uygulayınız. ➤ Hacim miktarlarını tam olarak aktarmaya gayret gösteriniz. Bunun için pipette okumayı doğru yapınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Her bir tüpü saf su ile 100 ml.ye seyreltiniz 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eklenecek su miktarını hesaplayıp ekleyiniz. Bu işlem için 100 ml balon jojeleri kullanmanız en doğrusudur, unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Her bir tüpe 3 ml asetat tamponu, 2 ml hidrokinoon çözeltisi ve 2 ml dipiril çözeltisinden ilave edip çalkalayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ekleme işlemlerini sırasıyla yaparsanız, karışıklığı engellemiş olursunuz, unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Deney tüplerindeki standart Fe^{+2} çözeltilerinin 520 nm deki absorbanslarını okuyup kaydediniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Her okumadan önce absorbansı şahit numune ile "0"layınız, sonra deney tüplerindeki çözelti absorbansını okuyunuz. ➤ Küvetlere çözeltileri aşırı doldurmayınız ve numune tutucuya doğru yerleştiriniz. ➤ Küvetlerin okuma yapılan yüzeylerini elinizle tutmayınız, hataya neden olursunuz. ➤ Her okumada ayrı küvet kullanınız ve küvete koyduğunuz çözelti konsantrasyonunu karıştırmayınız. En iyisi doldurma yaparken hangi konsantrasyonda çalıştığınızı not alıp, karşısına absorbans değerini okuyup yazmanızdır. <p> Fe^{+2}(mg/ml) → 0.0 0.1 0.02 0.03 0.4 0.5 Absorbans → 0.0 0.06 0.14 0.22 0.28 0.35 </p> <p>gibi yazabilirsiniz.</p>

<p>➤ Ordinata(y eksenine) absorbanısı, apsise(x eksenine) konsantrasyonu yerleştirerek kalibrasyon eğrisi çiziniz.</p> 	<p>➤ Ordinata(y eksenine) absorbanısı, apsise(x eksenine) konsantrasyonu yerleştireceksiniz ,unutmayınız.</p> <p>➤ Birimlendirme yaparken rahat okuma sağlayacak şekilde aralıkları ayarlamayı unutmayınız.</p>
<p>• Numunenin (Örneğin) hazırlanması için:</p>	
<p>➤ Fe+2 tayini yapılacak numuneyi (örneği) kül fırınında yakınız.</p>	<p>➤ Bu modülün öğrenme faaliyeti -1'in uygulama kısmındaki kuru ve yaş yakma işlemlerini hatırlayarak uygulayınız.</p>
<p>➤ Krozeleri kül fırınından alındıktan sonra üzerine derişik HCl 'den 2 ml ekleyip, karıştırınız.</p>	
<p>➤ Krozedeki çözeltiyi bir baget ve bir miktar saf su yardımıyla 100 ml.lik balon jojeye aktarıp 100 ml.ye tamamlayınız.</p>	<p>➤ Aktarma işlemlerini hatırlayarak dikkatlice uygulayınız.</p>
<p>➤ Adi süzgeç kağıdından süzerek süzüntüden 10 ml deney tüpüne alınız.</p>	<p>➤ Süzme işlemlerini hatırlayarak uygulayınız. ➤ Sabırlı olunuz.</p>
<p>• Konsantrasyonu bilinmeyen numunenin (Örneğin) absorban ölçümü için:</p>	
<p>➤ Üzerine 3 ml asetat (CH₃COONa) tamponu, 2 ml hidrokinon çözeltisi ve 2 ml 2,2 dipiril ilave edininip çalkalayınız.</p>	<p>➤ Çözeltileri sırasıyla, belirtiklen miktarda, unutmadan ilave etmeye özen gösteriniz.</p>
<p>➤ Spektrofotomete cihazı 520 nm' ye ayarlanarak küvete şahit çözeltisinden doldurup numune tutucuya yerleştirerek cihazın 0 ayarını yapınız.</p>	<p>➤ Burada şahittanık çözeltinizin süzüntü koymadan sadece 3 ml asetat (CH₃COONa) tamponu, 2 ml hidrokinon çözeltisi ve 2 ml 2,2 dipiril çözeltisi eklenen tüp olduğunu unutmayınız.</p>

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Daha sonra tanık çözeltiyi çıkarıp yerine üzerine asetat, hidrokinon ve 2,2, dipiril çözeltisi ilave edilmiş süzüntüden koyularak absorbansı (A) okuyunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bu işlemler mümkün olduğu kadar çabuk yapılmalıdır. ➤ Okunan absorbansı mutlaka kaydediniz.
<p align="center">➤ Numunenin (Örneğin) konsantrasyonu belirlemek için:</p>	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Okunan absorbans değeri grafikte ordinatan (y ekseninden) bulunup kalibrasyon eğrisiyle kesişecek şekilde yatay çizgi çekiniz. ➤ Buradan apsise(x eksenine) dikey çizgi çekerek kesişen değeri konsantrasyon olarak okuyunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Aşağıdaki örnekte olduğu gibi konsantrasyonu bulabilirsiniz. 
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bu okunan konsantrasyon değeri örneğin 10 ml sindeki Fe⁺² miktarıdır. Buradan orantı yoluyla 100 gram örnekteki Fe⁺² miktarını bulunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Miktarı bulmak için aşağıdaki örnekte olduğu gibi orantıdan yararlanabilirsiniz. $\frac{10 \text{ ml örnekte}}{250 \text{ ml örnekte}} = \frac{0.032 \text{ mg Fe}^{+2} \text{ varsa;}}{x \text{ mg Fe}^{+2} \text{ vardır.}}$ $x = \frac{250 \times 0.032}{10} = 0.8 \text{ mg Fe}^{+2} / 12 \text{ g örnek vardır}$ $\frac{12 \text{ g gıda da}}{100 \text{ g gıda da}} = \frac{0.8 \text{ mg Fe}^{+2} \text{ varsa;}}{x \text{ mg Fe}^{+2} \text{ vardır.}}$ $x = \frac{100 \times 0.8}{12} = 6.6 \text{ mg Fe}^{+2} / 100 \text{ g örnek vardır}$
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sonucu rapor ederek analiz sonrası işlemleri yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sonucu rapor olarak düzenleyiniz. ➤ Sınıfta sizin ve arkadaşlarınızın buldukları sonuçları karşılaştırınız. ➤ Farklılıklar varsa nedenlerini araştırınız. ➤ Laboratuar önlüğünüzü çıkarıp asınız. ➤ Ellerinizi her çalışma sonrasında yıkayınız. ➤ Çalışma ortamını temizleyiniz. ➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz. ➤ Laboratuar son kontrollerinizi yapınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

ÖLÇME SORULARI

Aşağıdaki şıklardan doğru olanı işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi spektroskopik yöntemlerden biridir?
 - A) Kromotografi
 - B) Elektroskopi
 - C) Moleküler Spektroskopi
 - D) Volumetri
2. Bir örnekteki atom, molekül veya iyonlardaki elektronların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının, ölçülmesi ve yorumlanması aşağıdakilerden hangisidir?
 - A) Kromotografi
 - B) Potansiyometri
 - C) Absorbsiyon
 - D) Spektroskopi
3. Aşağıdakilerden hangisi Lambert-Beer yasasından sapmalarından biri değildir?
 - A) Kişisel sebepler (Şahsi hatalar)
 - B) Derişim Etkisi (Tabii sapma)
 - C) Kimyasal Sebepler (Kimyasal sapma)
 - D) Cihazdan Kaynaklanan Sebepler (Aletsel sapma)
4. Aşağıdakilerden hangisi Spektrofotometrenin başlıca kısımlarından biri değildir?
 - A) Işık kaynağı
 - B) Işın dedektörü(Fotosel)
 - C) Elektrot
 - D) Dalga boyu seçici (Monokromatör)

5. **I.** Analiz edilecek maddenin absorplayacağı ışığın dalga boyu belirlenir.
II. Konsantrasyona karşı absorbans eğrisi yani kalibrasyon grafiği çizilir.
III. Bilinmeyen (örneğin) absorbansı okunarak kalibrasyon grafiğinden bilinmeyen konsantrasyonu tayin edilir.
VI. Belirlenen dalga boyunda hazırlanan standart çözeltilerin absorbansları ölçülür.

Yukarıda verilen spektrofotometre ile nicel analiz aşamalarının doğru dizilişi aşağıdakilerden hangisidir?

- A) I-III-II-IV
B) I-IV-II-III
C) I-III-IV-II
D) IV-II-III-I

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz.

Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulamalı teste geçiniz.

KONTROL LİSTESİ

Öğretmeniz tarafından verilecek numuneyi spektrofotometre kullanarak analiz yapınız. Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosuna göre kontrol ediniz.

Değerlendirme Ölçütleri		Evet	Hayır
1.	Laboratuvar önlüğünüzü giydiniz mi?		
2.	Çalışma ortamınızı temizlediniz mi?		
3.	Analiz öncesi hazırlıkları yaptınız mı?		
Kalibrasyon grafiğini hazırlamak için			
1.	6 tane deney tüpü alınıp numaraladınız mı?		
2.	Deney tüplerine sırasıyla seyreltilmiş olan standart çözeltisinden 0 (standart çözeltisi konulmayacak-Şahit),1, 2, 3, 4, 5 ml koydunuz mu?		
3.	Her bir tüpü saf su ile 100 ml.ye seyrelttiniz mi?		
4.	Her bir tüpe belirtilen çözeltilerden ilave ediniz çalkaladınız mı?		
5.	Deney tüplerindeki standart çözeltilerini belirtilen dalga boyundaki absorbanlarını okuyup kaydettiniz mi?		
6.	Ordinata (y eksenine) absorbanı, apsise (x eksenine) konsantrasyonu yerleştirerek kalibrasyon eğrisi çizdiniz mi?		
7.	Analiz föyünde belirtilen şekilde numunenizi hazırladınız mı?		
Konsantrasyonu bilinmeyen numunenin (Örneğin) absorban ölçümü için			
1.	Spektrofotometre cihazını belirtilen dalga boyuna ayarlayarak küvete şahit çözeltiden doldurup numune tutucuya yerleştirerek cihazın 0 ayarını yaptınız mı?		
2.	Daha sonra şahit çözeltiyi çıkarıp yerine numuneden elde edilmiş süzüntüden koyarak absorbanı (A) okudunuz mu?		
Numunenin (Örneğin) konsantrasyonu belirlemek için			
1.	Okunan absorban değerini grafikte ordinatan (y ekseninden) bulunup kalibrasyon eğrisiyle kesişecek şekilde yatay çizgi çektiniz mi?		
2.	Bu okunan konsantrasyon değeri örneğin 10 ml sindeki miktardır. Buradan orantı yoluyla 100 gram örnekteki miktarı buldunuz mu?		
3.	Sonucu rapor ederek analiz sonrası işlemleri yaptınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Seçeneklerinizin hepsi **Evet** ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz. Cevabı **Hayır** olan işlemleri tekrar deneyiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-3

AMAÇ

Bu öğrenim faaliyeti sonunda uygun ortam, araç ve gereç sağlandığında analiz metoduna uygun olarak refraktometre ile gıdalarda analiz yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

Bu faaliyet öncesinde yapmanız gereken öncelikli araştırmalar şunlardır:

- Refraktometreler hakkında gıda işletmelerinden, laboratuvarlardan, bu cihazların satışını yapan firmalardan araştırma yapınız.
- Refraktometrik yönteminin avantajları ve dezavantajları nelerdir? Araştırma yapınız.
- Yaptığınız araştırmaları sınıfta arkadaşlarınızla tartışınız.

3. REFRAKTOMETRİ

3.1. Refraktometrinin İlkesi

"**Refraktometri**", her ortamın kırılma indisinin farklı olması prensibini kullanarak, konsantrasyon ve madde miktarı gibi tayinleri yapmaya yarayan bir yöntemdir. Kırılma indisi her maddeye özgü bir fiziksel özelliktir, bu sebeple kalitatif ve kantitatif analizlerde kullanabileceğimiz bir metottur. Günümüzde organik bileşiklerin kantitatif analizinde NMR, infrared spektroskopisi gibi yöntemler daha çok tercih edilmektedir.

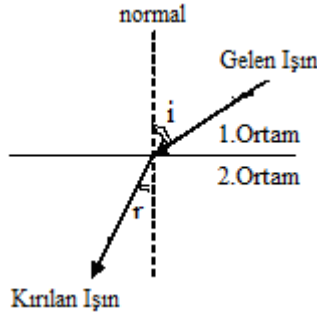
Saydam bir ortamdan gelen bir ışının diğer bir saydam ortama geçerken doğrultusunu değiştirmesine **ışığın kırılması** denir.

Bir ortamın kırılma indisi, ışığın boşluktaki hızının bu ortama giren ışık demetinin düşey düzlem ile meydana getirdiği havada ve bu ortamdaki açılarının sinüslerinin oranı olarak ölçülür. Gelme açısının sinüsünün kırılma açısının sinüsüne oranına "**kırılma indisi**" denir.

Bir ortamın kırılma indisine **n**, elektromanyetik ışımının vakumdaki hızına **c**, elektromanyetik ışımının bu ortamdaki hızına da **v** dersek, şöyle bir bağıntı elde edilir:

$$n = c / v$$

Benzer maddelerin kırılma indisleri birbirine çok yakın olduğundan (1.25 -1.80 arası) ± 0.001 duyarlılıkla ölçüm yapabilir.



Şekil 3.1: Işığın kırılması

Işının bir ortama geliş açısına i , yansıma açısına da r dersek eğer, Snell Yasasına göre şöyle bir bağıntı yazılabilir:

$$\frac{\sin i}{\sin r} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{n_1}{n_2}$$

- v_1 : Işının 1. ortamdaki hızı
- v_2 : Işının 2. ortamdaki hızı
- n_1 : 1. ortamın indisi
- n_2 : 2. ortamın indisi

Işının geliş açısı, ışının hızı ve ortamın indisi ile orantılıdır. Işının geliş ve yansıma açılarının bilinmesi halinde, iki ortamın kırılma indislerinin oranları da bulabiliriz. Ya da bir ortamın indisini biliyorsak, diğer ortamın indisini de bu bağıntı sayesinde hesaplanabiliriz.

Kırılma indisleri farklı olan bölgelerde ışının hareketi iki şekilde gerçekleşir:

- $n_2 > n_1$ koşulunda, i geliş açısı, r yansıma açısından daha büyük olacaktır. Geliş açısı büyüdükçe, kırılma açısı da büyür. Buna rağmen geliş açısı, kırılma açısından her zaman daha büyüktür.
- $n_1 > n_2$ koşulunda, yüksek yoğunluklu ortamdan düşük yoğunluklu ortama geçiş sırasında yansıma açısı, geliş açısından daha büyüktür. Geliş açısı büyüdükçe, yansıma açısı da 90° 'ye yaklaşır.

Işımanın 90° 'lik bir açı ile kırılmasını sağlayan geliş açısına **kritik açı** denir. Işının kritik açıdan daha küçük bir değerle gelmesi halinde, yansıma sonucu aydınlık bölge oluşur. Eğer ışın iki ortam arasındaki yüzeye kritik açıdan daha büyük bir açıyla gelirse, ışın kırılmaya değil, yansımaya uğrar.

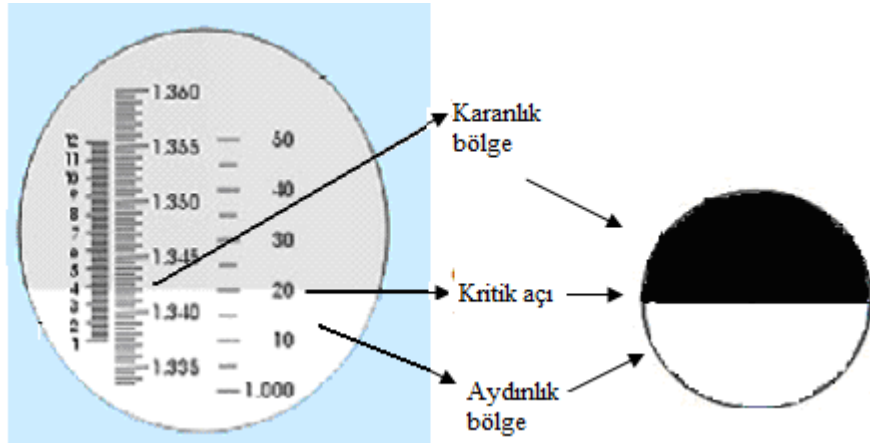
Yoğunluğu büyük ortama kritik açıyla gelen bir ışın, 90°'lik bir açı ile kırılır. Yoğunluğu küçük ortama 90°'lik açı ile gelen bir ışın ise yoğunluğu büyük olan ortama kritik açı ile girer. Snell yasasından yararlanarak şöyle bir bağıntı yazılabilir:

$$\sin \theta_c = \frac{n_2}{n_1}$$

Refraktometre cihazının içerisinde prizmalar kullanılır. Gönderdiğimiz ışın örnekten geçip prizmaya değişik açılarla gelir. Eğer;

- Geldiği açılar kritik açıdan küçükse, aydınlık bölge oluşur.
- Geldiği açılar kritik açıdan büyükse, karanlık bölge oluşur.

Karanlık ve aydınlık bölgenin sınırı kritik açıya karşılık gelir.



Şekil 3.2: Refraktometrede karanlık ve aydınlık bölgelerin oluşumu

Bir maddenin kırılma indisi şunlara bağlıdır:

- Kullanılan ışınımın dalga boyuna
- Sıcaklığa
- Derişime

Bunun dışında sıkıştırılabilen maddelerin kırılma indisi, basınca bağlı olarak da değişir. Dalga boyunun kırılma indisine etki etmesinden dolayı, kullanılan ışınımın dalga boyu da belirtilmelidir. Ticari refraktometrelerde genellikle sodyumun atomunun yaydığı yaklaşık eşit şiddetlerdeki, 589.0 ve 589.6 nm 'deki hatları kullanılır. Bu hatlar sodyum D hatları olarak adlandırılır.

3.2. Refraktometre ve Çeşitleri

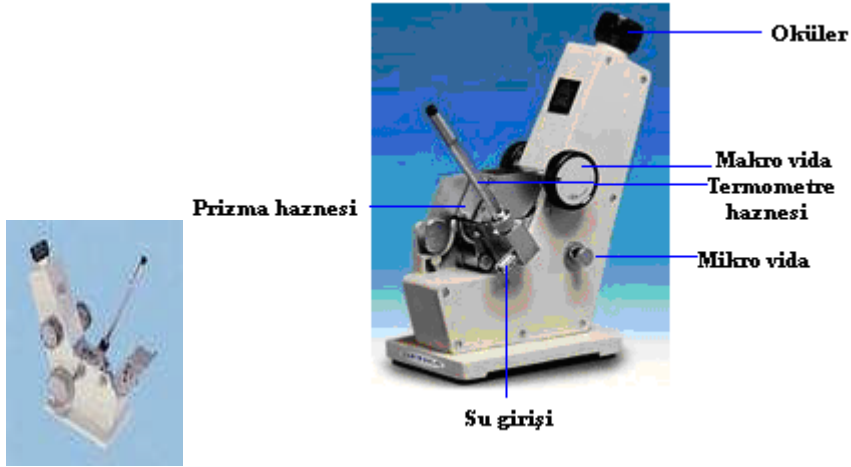
Refraktometreler, katı (Abbe tip modellerde) veya sıvılarda katı madde miktarı, kırılma indisi, şeker miktarı, refraktif indeks ve briks (Brix) aralıklarını ölçme amacıyla kullanılan cihazlardır.

Piyasada gıda, kimya, ilaç vb. alanlarda kullanılmaktadır. Özellikle de gıda alanında şarap, meşrubat, reçel, bal, meyve suları, yemeklik yağlar gibi birçok üretim alanında kullanılmaktadır. Örneğin, çözünabilir yağlar ve yemeklik yağların kırılma indisleri ölçülerek, bunların saflık dereceleri ve acılık dereceleri tespit edilebilmektedir(Bir sıvı yağın acılaşıma derecesi artıkça kırılma indisi de artar).

Refraktometre çeşitleri şunlardır:

- Abbe refraktometreleri (Dijital ve manuel)
- El refraktometreleri (Dürbün ve Dijital)
- Sıcaklık ayarlamalı dijital refraktometreler

3.2.1. Abbe Refraktometresi



Resim 3.1: Manuel abbe refraktometresi

Genellikle Abbe refraktometresi şu kısımlardan oluşur:

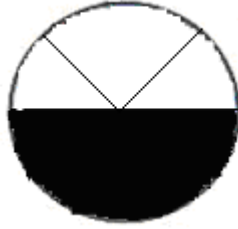
- Prizma haznesi
- Su giriş ve çıkış kısımları
- Termometre haznesi
- Oküler
- Vidalar (makro ve mikro vidalar)

Abbe refraktometresi ile ölçüm yapabilmek için aşağıdaki işlem basamakları takip edilir:

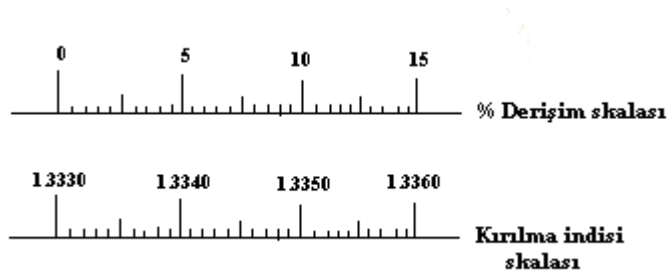
- Önce cihaz gün ışığına yönlendirilir (ya da ışık kaynağına bağlanır). Cihazın aynasını sağa sola çevirerek okülerden bakan göze ışığın en fazla gelmesi sağlanmalıdır.
- Prizmaların temiz olup olmadığı kontrol edilir. Temiz değilse alkolle ıslatılmış, yumuşak bir bezle temizlenir ve kurulanır. Bunun için cihazın orta kısmındaki kilitleme düğmesi açılır ve prizmalar birbirinden ayrılıp, temizlenip tekrar eski haline getirilir.
- Termometresi yerine takılır. Prizmaların etrafında sıcaklığı sabit olan su dolaştırmak suretiyle sabit bir sıcaklık (20 °C) elde edilir. (bazılarında termostat bulunmaktadır. Bu durumda termostat 20°C' a ayarlanır.)
- **Saf su ile "0" ayarı** yapılır. Bunun için;
 - Önce birkaç dakika prizmaların etrafında su dolaştırılarak prizmaların sıcaklığı 20°C'ye getirilmesi sağlanır.
 - Sonra alttaki prizmaya birkaç damla saf su damlatılır.
 - Alttaki prizmaya su damlatılınca üsteki prizma özel düğmesi ile suyu sıçratmayacak şekilde yavaşça kapatılır. Kırılma indisinin 20°C'de 1.3330 olup olmadığı kontrol edilir. Değilse cihazın skalası yaklaşık 1.33 kırılma indisine ayarlanır.
 - Ayarlama önce, okülerden bakıldığında skalanın üzerinde ayrı olarak görülen görüş alanındaki karanlık ve aydınlık alanların birbirinden net olarak ayrılmasını sağlamak, sonra da karanlık ve aydınlık alanları eşitlemek gerekir. Bu işlem bunları birbirinden ayıran çizgiyi, çapraz çizgilerin kesiştiği nokta ile çakıştırarak yapılır. Netleştirme işlemi cihazın sağ yanında bulunan prizmaya kumanda eden küçük vida ile, çakıştırma ise örneğin konulduğu prizma ile birlikte skalayı da hareket ettiren büyük vida ile yapılır. Gerekirse oküler sağa sola döndürülerek göze göre ayarlanır.
 - Saf su ile ayarlama yapılırken netleştirme işleminden sonra büyük vida ile sıcaklık 20°C'de iken skalanın üst bölümünde kırılma indisi rakamlarında **1.333** değerine ait taksimat çizgisi, skala görüş alanının artasında skalaya dik kesen sabit çizgi ile üst üste getirilir. Böylece kuru madde değeri de **"0"** (sıfır) gösterir.
 - 20°C'nin dışındaki sıcaklıklarda yapılan ayarlamalarda sıcaklığa karşı gelen kırılma indisi ile sabit çizgi çakıştığında % kuru madde sıfırdan farklı değer gösterebilir. Eğer örneğin kırılma indisi okunacaksa; önemli olan belli sıcaklıkta saf suyun kırılma indisini ayarlamaktır. Eğer % kuru madde miktarı okunacaksa saf su ile %0 kuru maddeye ayarlamaktır.
 - Bu durumda karanlık ve aydınlık sahayı ayıran net çizgi çapraz çizgilerin kesiştiği noktadan geçiyorsa cihaz ayarlanmış demektir. Aksi halde skalanın ayarı değiştirilmeden aletin sağ yanında ve en üstte bulunan üzeri kертikli kapak açılarak altındaki vida tornavida ile döndürülerek çakıştırma yapılır. Böylece refraktometre ayarlanmış olur. Bu vida karanlık ve aydınlık sahaların oranlarını değiştirdiği halde skalayı hareket ettirmez.

Refraktometredeki skalalardan üsttekinden ağırlıkça % derişim (kuru madde), alttaki skaladan da kırılma indisi okunur.

- Numune ile ölçüm yapılması için;
 - Homojen hale getirilmiş örnek çözeltiden birkaç damla pipetle refraktometrenin prizmasına damlatılır ve hemen üstteki prizma yavaşça kapatılır.
 - Okülerden bakılarak netleştirme işlemi yapılır. Okülerden bakıldığında yuvarlak olarak görülen görüş alanında karanlık alanın yukarıda kaldığı gözlenir.
 - Çakışma yapmak için en alttaki büyük vida döndürülünce skala sola doğru hareket eder. Karanlık ve aydınlık sahaların tam eşitlendiğinde sabit çizginin çıktığı % kuru madde ve kırılma indisi değeri okunur.



Şekil 3.3: Okuma yaparken karanlık ve aydınlık sahanın netleştirilmesi ve çakıştırılması



Şekil 3.4: Refraktometredeki skalalar

- Okunan % kuru madde değeri ve kırılma indisi değeri sıcaklık ve diğer faktörlerden gelen düzeltmeler uygulanarak gerekli ise gerçek değeri bulunur.
- Okuma bitince saf su ile prizma iyice yıkanır. Yumuşak bir tülbent bezi ile kurulanır. Prizmalar arasına yumuşak bir kağıt konularak çizilmesi önlenir. Suda çözünmeyen bileşiklerle çalışıldığında prizmalar alkol veya benzenle temizlenir.
- Farklı dalga uzunluklu ışıpta ölçülen kırılma indisleri, birbirinden çok farklı olmayan maddelerin kırılma indisleri ölçülürken karanlık ve aydınlık sahaların

birbirinden tam ve kesin olarak ayrılmasını sağlamak zordur. Bu durumlarda aydınlık saha ile karanlık saha arasında ve karanlık sahaya doğru koyulaşan mavi bir bant görülür. Bu durumda aydınlık sahanın bittiği hat çapraz çizgilerin kesiştiği noktalara çakıştırılarak okuma yapılır.

3.2.2. El Refraktometreleri

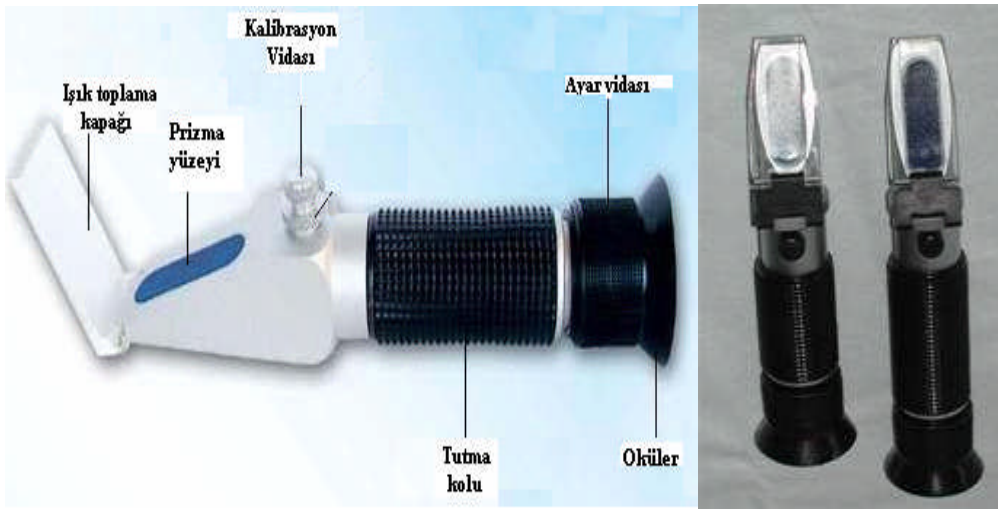
El Tipi Refraktometreler kolay ölçüm olanağı sağlayan refraktometrelerdir.

Pratik uygulamalarda, küçük hacimli, hafif olması nedeniyle meyve suyu, süt, salça, reçel gibi çeşitli gıda endüstrilerinde rahatlıkla kullanılan, sıvı solüsyonların kırılma indislerini, % kuru madde miktarları ile Brix aralıklarını ölçen cihazdır.

Dijital Refraktometreler: basit ölçüm yöntemiyle kullanım kolaylığı sağlayan, yüksek hassasiyetli, güvenilir ölçümler için tasarlanmış refraktometrelerdir. Bu refraktometrelerde ölçüm sonuçlarının kolay okunabilmesini sağlayan dijital okuma alanı bulunmaktadır.



Resim 3.2: Dijital el refraktometreleri



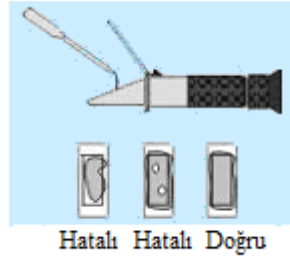
Resim 3.3: Dürbün tipi el refraktometresi

El refraktometresinin bölümleri şunlardır:

- Oküler
- Ayar vidası
- Tutma kolu
- Kalibrasyon vidası
- Prizma haznesi (Işık toplama kapağı ve prizma yüzeyi)

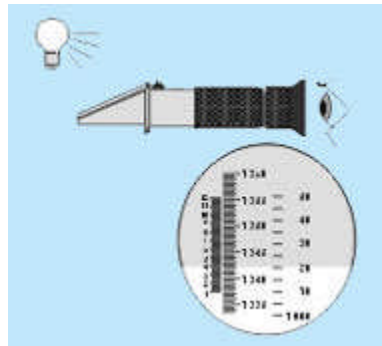
El refraktometresi ile ölçüm yaparken aşağıdaki işlem basamakları takip edilir:

- Öncelikle prizma haznesi açılarak temiz, yumuşak bir bezle prizma temizlenir ve kurulanır.
- Prizma üzerine 20°C'deki saf sudan 2-3 damla damlatılarak kapak yavaşça, saf su sıçramayacak şekilde kapatılır. Burada dikkat edilecek husus sıvının prizma yüzeyine homojen bir şekilde kaplaması, hava kabarcığının oluşmamasıdır.



Şekil 3.5: Prizmaya sıvıyı yerleştirme şekilleri

- Daha sonra ışık kaynağına doğru tutulup, okülerden skala okunur.

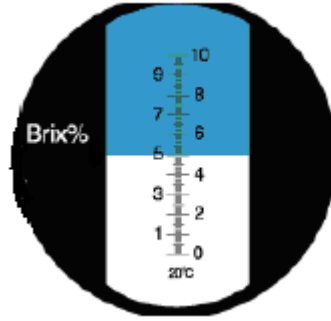


Şekil 3.6: El refraktometresi ile okuma yapma

- “0” ayarı için saf su damlatıldıktan sonra kırılma indisi 1.3330 veya % kuru madde skalasının “0” olması için kalibrasyon vidası tornavida ile döndürülerek gölgeli sahanın, skala ile bu noktalarda çakışması sağlanır.

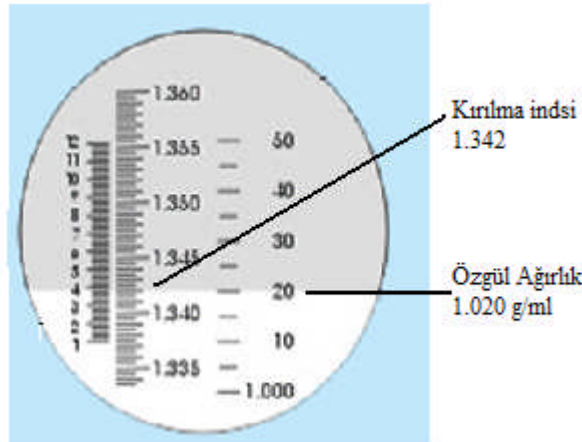
Numune ölçümü için aşağıdaki işlem basamakları takip edilir:

- Prizma yüzeyi temiz, yumuşak bir tülbent bezi ile temizlenip, kurulanır.
- Homojen hale getirilmiş örnek çözeltiliden 2-3 damla pipetle el refraktometresinin prizmasına damlatılır ve hemen üstteki kapak yavaşça kapatılır.
- Okülerden bakılarak netleştirme işlemi (oküler üzerinde bulunan vidanın sağa sola döndürülmesi ile) yapılır. Okülerden bakıldığında yuvarlak olarak görülen görüş alanında gölgeli alanın yukarıda kaldığı gözlenir.



Şekil 3.7: Okülerden bakıldığında görüş alanı

- Gölgeli sahanın en alt kısmının skala ile çakıştığı noktadan % kuru madde ve kırılma indisi değeri okunur. Bazı refraktometre tiplerinde özgül ağırlık skalası da bulunmaktadır.



Şekil 3.8: El refraktometresinden okuma yapma

- Okunan % kuru madde değerine ve kırılma indisi değerine sıcaklık ve diğer faktörlerden gelen düzeltmeler uygulanarak gerekli ise gerçek değer bulunur.
- Okuma bitince saf su ile prizma iyice yıkanır. Yumuşak bir tülbent bezi ile kurulanır. Prizmalar arasına yumuşak bir kağıt konularak çizilmesi önlenir. Suda çözünmeyen bileşiklerle çalışıldığında prizmalar alkol veya benzenle temizlenir.

3.3. Refraktometrik Analizler

Refraktometrik analizler nitel ve nicel olmak üzere iki amaçla yapılır.

3.3.1. Nitel Analizler

Her maddenin ışığı kırma özelliği farklı olduğundan kırılma indisleri de farklıdır. Bu nedenle maddeler için kırılma indisleri ayırt edici bir özelliktir.

Saflığından emin olunan bir örneğin refraktometre de kırılma indisi ölçülerek okunan değer kırılma indislerine ait tablo ile karşılaştırılır. Böylece bilinmeyen örneğin hangi madde olduğu tespit edilir. Ya da ne olduğu bilinen bir maddenin, saf olup olmadığını belirlemek veya yabancı madde katılıp katılmadığını belirlemek amacıyla kırılma indisinden faydalanılır.

MADDE	KIRILMA İNDİSLERİ (n^{20})
Etil alkol	1.3290
Saf su	1.3330
Ayçiçek yağı	1.472-1.474
Zeytin yağı	1.469-1.474
Laktik asit	1.423
Gliserin	1.470-1.474

Tablo 3.1: Bazı maddelerin kırılma indisleri

Örneğin, yemeklik yağların kırılma indisleri ölçülerek, bunların saflık dereceleri ve acılık dereceleri tesbit edilebilmektedir(bir sıvı yağın acılaşıma derecesi artıkça kırılma indisi de artar).

Maddenin yoğunluğu ile kırılma indisinin arasındaki ilişkidenden faydalanılarak molar kırılma değeri (R) bulunur. Molar kırılma değeri, maddenin saflık derecesinin bir ölçüsüdür.

Molar kırılma değerini bulmak için aşağıdaki eşitlikten faydalanılır.

$$R = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \times \frac{M}{d}$$

Burada:

R = Özgül (spesifik) kırılma değeri

n = Kırılma indisi

M = Örnek maddesinin molekül ağırlığı

d = Yoğunluk'tur.

Ölçülen kırılma indisi ve örnek yoğunluğu şüphe edilen bileşiğin molekül ağırlığı değeri ile birlikte yukarıdaki eşitliğe konularak **R** değeri bulunur.

Bulunan bu **R** değeri bilinen bileşiklerin **R'** değerleri ile karşılaştırılır. **R'** değerini tayin eden faktörler halkaların, üçlü bağların ve ikili bağların katkıları ile yapıda bulunan atomların katkılarının toplamıdır. Bu katkılar tabloda görülmektedir. Bu şekilde bulunan **R'** değeri hesaplanan **R** değeri ile karşılaştırılarak nitel analiz yapılır.

Bileşen	Katkı	Bileşen	Katkı
C	2.418	O (ester)	1.64
H	1.100	Alifatik amin	
C=C	1.733	primer	2.322
C≡C	2.398	sekonder	2.502
F	0.95	tersiyer	2.840
Cl	5.967	Aromatik amin	
Br	8.865	primer	3.21
I	13.900	sekonder	3.59
O (hidroksil)	1.525	tersiyer	4.36
O (eter)	1.643	Üçlü halka	0.71
O (karbonil)	2.211	Dörtlü halka	0.48

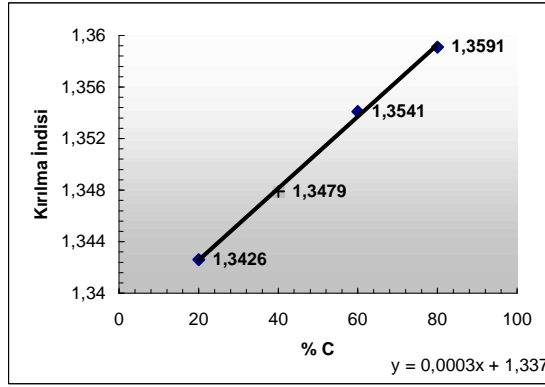
Tablo 3.2: Çeşitli organik bileşenler için molar kırılma değerleri

3.3.2. Nicel analizler

İkili karışımların tayininde en kolay ve çabuk yöntem; çözeltilerin kırılma indislerinden faydalanmaktır.

Düşük konsantrasyonlarda (seyreltik çözeltilerde), kırılma indisi ve derişim arasında lineer bir bağıntı vardır.

Bu bağıntıdan faydalanarak bir dizi % çözeltiler hazırlanarak saf su ile refraktometrenin "O" ayarı yapıldıktan sonra bu çözeltilerin kırılma indisleri okunur. Kırılma indisleri ordinata, çözelti % derişimleri ise apsise yerleştirilerek konsantrasyon-kırılma indisi değeri grafiği çizilir. Numunenin % konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3.9: Örnek % konsantrasyon-kırılma indisi grafiği

3.4. Refraktometrik Analizlerde Numunenin (Örnek) Hazırlanması

Refraktometrik metot genellikle sıvı gıdalar veya çözeltilerde kullanılmaktadır. Bu nedenle numune, analizden önce homojen hale getirilir. Eğer çok kıvamlı ise belli oranlarda seyreltme yapılır ve bu da hesaba katılır.

Burada önemli olan numunenin okuma sıcaklığıdır. Bu nedenle ölçüm yapılmadan önce numune sıcaklığı 20 °C'de ayarlanmalıdır. Bu işlem genellikle su banyosunda veya abbe refraktometresi kullanılarak çözümlenir. Eğer bu sıcaklıkta okuma yapılmamışsa gerekli düzeltme işlemleri yapılarak gerçek sonuç verilir.

3.5. Okuma Yapma ve Sıcaklık Düzeltmesi

Homojen hale getirilmiş ve sıcaklığı 20 °C olan numuneden bir damla alınır. Refraktometrenin okuma haznesine aktarılır ve hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapak kapatılır ve okuma yapılır.

Okumalar 20 °C'de yapılmalıdır. Eğer bu sıcaklık sağlanamazsa sıcaklık düzeltmesi yapılır.

- Sıcaklık 20 °C'den yukarıda ise her bir derece için ilgili çizelge 3.1'de belirtilen miktar ilave edilir,
- Sıcaklık 20 °C'den aşağıda ise her bir derece için ilgili çizelge 3.1'de belirtilen miktar eksik alınır.

Sakkaroz konsantrasyonu %															
Sıcaklık Dereceleri	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
% Sakkaroz konsantrasyonundan çıkarılacak değerler															
10°C	0.50	0.54	0.58	0.61	0.64	0.66	0.68	0.70	0.72	0.73	0.74	0.75	0.76	0.78	0.79
11°C	0.46	0.49	0.53	0.55	0.58	0.60	0.62	0.64	0.65	0.66	0.67	0.68	0.69	0.70	0.71
12°C	0.42	0.45	0.48	0.50	0.52	0.54	0.56	0.57	0.58	0.59	0.60	0.61	0.61	0.63	0.63
13°C	0.37	0.40	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.50	0.51	0.52	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55
14°C	0.33	0.35	0.37	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.48
15°C	0.27	0.29	0.31	0.33	0.34	0.35	0.35	0.36	0.37	0.37	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40
16°C	0.22	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.28	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.32	0.32
17°C	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24
18°C	0.12	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16
19°C	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
% Sakkaroz konsantrasyonuna ilave edilecek değerler															
21°C	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
22°C	0.13	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
23°C	0.19	0.20	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
24°C	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32
25°C	0.33	0.35	0.36	0.37	0.38	0.38	0.40	0.39	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
26°C	0.40	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
27°C	0.48	0.50	0.52	0.53	0.54	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56
28°C	0.56	0.57	0.60	0.61	0.62	0.63	0.63	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64
29°C	0.64	0.66	0.68	0.69	0.71	0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73
30°C	0.72	0.74	0.77	0.79	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81

Çizelge3.1.R efraktometrik okuma ile saptanan sakkaroz konsantrasyonlarında uygulanacak sıcaklık derecesi düzeltmeleri

3.6. Refraktometrik Gıda Analizleri

Gıdalarda brix tayini, kırılma indisi tayini ve suda çözünmeyen madde tayini refraktometrik yöntemle yapılmaktadır. Gıda endüstrisinde meyve suyu, süt, salça, reçel gibi çeşitli gıda endüstrilerinde rahatlıkla kullanılan bir yöntemdir. Aşağıda gıdalarda yapılan refraktometrik analizlerden birkaç örnek verilmiştir.

3.6.1. Zeytin Yağında, Bitkisel Sıvı Yağlarda Kırılma İndisi Tayini

Kullanılan araç-Gereçler

Refraktometre; 20°C'de ayarlanabilen, kırılma indisli, genel laboratuvar araç-gereçleri

İşlemler:

- Prizma haznesi numune ile tamamen doldurulur.
- Sıcaklığın en az beş dakika değişmemesi sağlandıktan sonra kırılma indisi virgülden sonra dördüncü haneye kadar okunur.
- Okumanın yapıldığı sıcaklık standart sıcaklıktan (20 °C 'den) farklı ise aşağıdaki düzeltme yapılmalıdır. Bu değişik sıcaklık 2°C'den çok farklı olmamalıdır.

$$nt = nt_1 + (t_1 - t) \times F$$

Buradaki ifadelerin açılımı şöyledir:

t = standart sıcaklık, 20°C
 t_1 = okumanın yapıldığı sıcaklık, °C
 n_t = standart sıcaklıktaki kırılma indisi
 n_{t_1} = okunan kırılma indisi
 F =20°C civarında 0.00035 olan düzeltme katsayısı

Refraktometrenin kalibrasyonunda saf suyun 20°C’da kırılma indisi 1.3330 olmalıdır.

Sonuç:

Refraktometreden okunan kırılma indisinin karşılığı çizelge 3.2 yardımıyla kırılma indisi olarak saptanır.

Okunan değer	Kırılma indisi nD	Okunan değer	Kırılma indisi nD
60,0	1,4659	65,0	1,4691
60,5	1,4662	65,5	1,4694
61,0	1,4665	66,0	1,4697
61,5	1,4668	66,5	1,47,00
62	1,4672	67,0	1,47,04
62,5	1,4675	67,5	1,4707
63,0	1,4678	68,0	1,4710
63,5	1,4681	68,5	1,4713
64,0	1,4685	69,0	1,4717
64,5	1,4688	69,5	1,4720

Çizelge3.2.R efraktometre ile okunan degerlerin kırılma indisi olarak karşılıkları

3.6.2. Meyve ve Sebze Mamulleri, Bal, Gazozda Suda Çözünebilen Kuru Madde Tayini

Kullanılan Araç-Gereçler

Refraktometre, 20°C’de ayarlanabilen, kuru madde ve kırılma indisi skalası bulunan genel laboratuvar araç-gereçleri

İşlemler:

- Numune homojen hale getirilir.
- Buradan alınan 1-2 damla ile prizma haznesi doldurulur ve dikkatlice yavaşça kapatılır.
- Sıcaklığın en az beş dakika değişmemesi sağlandıktan sonra okuma yapılır.

Sonuç:

Refraktometreden okunan kırılma indisinin karşılığı çizelge 3.3 yardımıyla kuru madde olarak saptanır.

Refraktif indeks	0	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005	0,006	0,007	0,008	0,009
Konsantrasyon %										
1,33	-	-	-	0,000	0,597	1,093	2,085	2,774	3,459	4,140
1,34	4,818	5,492	6,163	6,831	7,495	8,155	8,812	9,466	10,117	10,755
1,35	11,409	12,050	12,667	13,322	13,853	14,532	15,250	15,330	16,449	17,065
1,36	17,673	18,289	18,897	19,502	20,104	20,734	21,300	21,394	22,185	23,074
1,37	23,660	24,273	24,824	25,407	25,987	26,565	27,140	27,713	28,232	28,849
1,38	29,413	29,975	30,534	31,090	31,644	32,195	32,743	33,289	33,302	34,373
1,39	34,912	35,446	35,982	36,513	37,042	37,568	38,092	38,614	39,134	39,651
1,40	40,166	40,670	41,190	41,698	42,204	42,708	43,210	43,710	44,208	44,704
1,41	45,197	45,688	46,176	46,663	47,147	47,630	48,110	48,588	49,064	49,530
1,42	50,011	50,481	50,949	51,416	51,880	52,343	52,804	53,263	53,220	54,176
1,43	54,629	55,691	55,550	56,008	56,464	56,918	57,371	57,822	58,271	58,719
1,44	59,165	59,609	60,051	60,493	60,932	61,070	61,807	62,241	62,675	63,107
1,45	63,537	63,866	64,394	64,820	65,245	65,669	66,091	66,512	66,831	67,043
1,46	67,766	68,182	68,596	69,009	69,421	69,332	72,142	70,650	71,056	71,464
1,47	71,869	72,173	72,676	73,878	73,479	73,279	74,278	74,675	75,072	75,469
1,48	75,864	76,258	76,651	77,044	77,405	77,326	78,213	78,605	78,994	79,371
1,49	79,768	80,154	80,540	80,925	-	-	-	-	-	-

Çizelge3.3.Sakkaroz Çözeltilerinde Refraktif İndex ile Konsantrasyon Arasındali İlişki (20°C)

Okumanın yapıldığı sıcaklık standart sıcaklıktan (20 °C) değişik ise aşağıdaki düzeltme yapılmalıdır.

- Sıcaklık 20 °C'den yukarda ise her bir derece için 0.00023 ilave edilir.
- Sıcaklık 20 °C'den aşağıda ise her bir derece için 0.00023 eksik alınır.

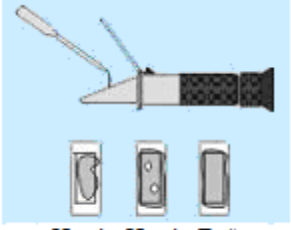
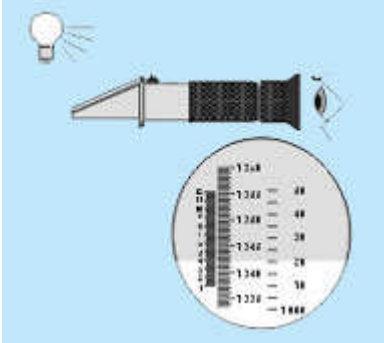
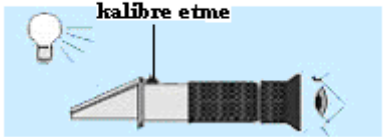
UYGULAMA FAALİYETİ

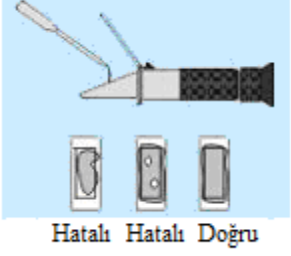

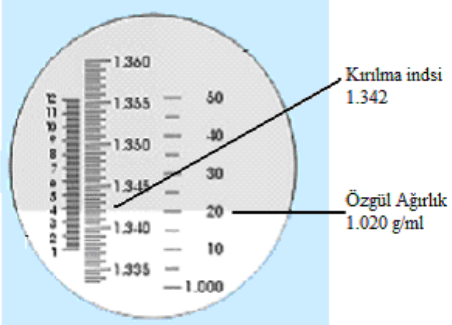
Refraktometre ile meyve suyunda suda çözünebilir kuru madde tayini yapmak için aşağıda verilen işlem basamaklarını uygulayınız.

Kullanılan araç-Gereçler:

- Refraktometre; 20°C’de ayarlanabilen, kuru madde ve kırılma indisi skalası bulunan.
- Genel laboratuvar araç-gereçleri

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç ve gereçleri listeleterek, temizleyiniz.➤ Kullanılacak kimyasalları listeleterek, belirtilen şekilde hazırlayınız.
➤ Refraktometrenin prizmasını temizleyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Temizlikte alkolle ıslatılmış, yumuşak, temiz tülbent bezi kullanınız.➤ Prizmayı çizebilecek bezleri asla kullanmayınız.<ul style="list-style-type: none">➤ Prizmayı kurulamayı unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none">• Refraktometrenin “0” ayarını yapmak için	
➤ Prizma üzerine 20°C’deki saf sudan 2-3 damla damlatılarak kapak yavaşça, saf su sıçramayacak şekilde kapatınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Ölçüm için sıcaklığın 20°C’de olup olmadığını kontrol ediniz.➤ Kullandığınız refraktometre abbe ise öncelikle sıcak su bağlantısını yapınız, termometreyi yerleştirerek cihazı çalıştırınız.➤ Burada dikkat edilecek husus sıvının prizma yüzeyine homojen bir şekilde kaplanması, hava kabarcığının oluşmamasıdır.

	 <p>Hatalı Hatalı Doğru</p>
<p>➤ Daha sonra ışık kaynağına doğru tutulup, okülerden skala okuyunuz.</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Okuma yaparken gölgeli sahanın en alt noktası ile çakışan değerleri alınız. ➤ Saf suyun kırılma indisi 1.3330 ve % kuru maddesi 0 olduğundan skaladan bu değerleri okuyup okumadığınızı kontrol ediniz. ➤ Doğru skalaları okuduğunuzu kontrol ediniz(kırılma indisi skalası ve kuru madde skalası).
<p>➤ Eğer kırılma indisi 1.3330 veya % kuru madde skalası "0" değilse kalibrasyon vidasını tornavida ile döndürülerek gölgeli sahanın, skala ile bu noktalarda çakışmasını sağlayınız.</p>	<p>➤ Kalibrasyon vidası prizma haznesinin hemen üstündedir. Skaladan istenilen değer okunmuyorsa bir vida yardımıyla istenilen değer ayarlanmalıdır.</p> <p>Sağa veya sola döndürerek kalibre etme</p> 
<p>➤ Okuma bitince saf su ile prizma iyice yıkayıp yumuşak bir tülbent bezi ile kurulayınız.</p>	<p>➤ Dikkatli olunuz. Prizmayı kurulamayı unutmayınız.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Numunenin kırılma indisini okumak için 	

<p>➤ Numune homojen hale getiriniz</p>	<p>➤ Homojen hale getirmek için numune özelliğine göre iyice çalkalanır veya hafifçe karıştırılır.</p>
<p>➤ Buradan alınan 2-3 damla numune ile prizma haznesi doldurulup dikkatlice, yavaşça kapağını kapatınız.</p>	<p>➤ Burada dikkat edilecek husus sıvının prizma yüzeyini homojen bir şekilde kaplaması, hava kabarcığının oluşmamasıdır.</p>  <p>Hatalı Hatalı Doğru</p>
<p>➤ Okülerden bakılarak netleştirme işlemi (oküler üzerinde bulunan vidanın sağa sola döndürülmesi ile) yapınız.</p>	<p>➤ Okülerden bakıldığında yuvarlak olarak görülen görüş alanında gölgeli alanın yukarıda kaldığı gözlenir.</p> <p>➤ Netlik ve okuma için aşağıdaki fotoğraflardan faydalanınız.</p>   <p>Kırılma indisi 1.342</p> <p>Özgül Ağırlık 1.020 g/ml</p>

<p>➤ Refraktometreden okunan kırılma indisinin karşılığını çizelge 3. yardımıyla kuru madde olarak saptayınız.</p>	
<p>➤ Okumanın yapıldığı sıcaklık standart sıcaklıktan (20 °C) değişik ise aşağıdaki düzeltme yapınız.</p> <ul style="list-style-type: none">• Sıcaklık 20 °C'den yukarda ise her bir derece için 0.00023 ilave ediniz.• Sıcaklık 20 °C'den aşağıda ise her bir derece için 0.00023 eksik alınız.	
<p>➤ Sonucu rapor ederek analiz sonrası işlemleri yapınız.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Sonucu rapor olarak düzenleyiniz.➤ Sınıfta sizin ve arkadaşlarınızın buldukları sonuçları karşılaştırınız.➤ Farklılıklar varsa nedenlerini araştırınız.➤ Laboratuar önlüğünüzü çıkarıp asınız.➤ Ellerinizi her çalışma sonrasında yıkayınız.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.➤ Laboratuar son kontrollerinizi yapınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

ÖLÇME SORULARI

Aşağıdaki şıklardan doğru olanı işaretleyiniz?

1. Bir maddenin ışığı kırma özelliğine dayanan enstrümental analiz yöntemi aşağıdakilerden hangisidir?
 - A) Refraktometri
 - B) Potansiyometri
 - C) Absorbsiyon
 - D) Kromotografi
2. Aşağıdakilerden hangisi saf maddelerin kırılma indisini, çözeltilerin ise hem kırılma indislerini hem de çözünen katı maddenin ağırlıkça yüzde derişimini bulmaya yarayan cihazdır?
 - A) Spektrofotometre
 - B) Refraktometre
 - C) Termometre
 - D) Kondaktometre
3. Aşağıdakilerden hangisi gıda endüstrisinde refraktometrik analiz yöntemin rahatlıkla kullanıldığı alanlardan biri değildir?
 - A) Reçel
 - B) Meyve suyu
 - C) Et ürünleri
 - D) Salça
4. Aşağıdakilerden hangisi el refraktometresinin başlıca kısımlarından biri **değildir**?
 - A) Oküler
 - B) Ayar vidası
 - C) Tabla
 - D) Prizma haznesi

5. Aşağıda şekillerden hangisi el refraktometresinde doğru okuma yapmak için sıvının prizma yüzeyini doğru kaplamış şeklidir?



- A) Yalnızca I
B) I ve II
C) II ve III
D) Yalnız III

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz.

Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulamalı teste geçiniz.

UYGULAMALI TEST

KONTROL LİSTESİ

Öğretmeniz tarafından verilecek olan herhangi bir sebze suyunda refraktometre ile suda çözünebilir kuru madde tayini yapınız.

Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosuna göre kontrol ediniz.

Değerlendirme Ölçütleri		Evet	Hayır
1.	1.Laboratuvar önlüğünüzü giydiniz mi?		
2.	2.Çalışma ortamınızı temizlediniz mi?		
3.	3. Analiz öncesi hazırlıkları yaptınız mı?		
Refraktometrenin "0" ayarını yapmak için			
1.	1. Refraktometrenin prizmasını temizlediniz mi?		
2.	2. Prizma üzerine 20°C'daki saf sudan 2-3 damla damlatarak kapağı yavaşça saf su sıçramayacak şekilde kapattınız mı?		
3.	3. Daha sonra ışık kaynağına doğru tutulup, okülerden skalayı okudunuz mu		
4.	4. Kırılma indisiniz 1.3330 veya % kuru madde skalanz "0" değilse kalibrasyon vidasını tornavida ile döndürerek gölgeli sahanın, skala ile bu noktalarda çakışmasını sağladınız mı?		
5.	5. Okuma bitince saf su ile prizma iyice yıkayıp yumuşak bir tülbent bezi ile kuruladınız mı?		
Numunenin kuru maddesini tesbit etmek için;			
1.	1. Numuneyi homojen hale getirdiniz mi?		
2.	2. Buradan alınan 2-3 damla numune ile prizma haznesi doldurulup dikkatlice, yavaşça kapağını kapattınız mı?		
3.	3. Okülerden bakılarak netleştirme işlemi (oküler üzerinde bulunan vidanın sağa sola döndürülmesi ile) yaptınız mı?		
4.	4. Refraktometreden okunan kırılma indisinin karşılığını çizelge 3. yardımıyla kuru madde olarak saptadınız mı?		
5.	5. Okumanın yapıldığı sıcaklık standart sıcaklıktan (20 °C) değişik ise aşağıdaki düzeltmeleri yaptınız mı?		
6.	6. Sıcaklık 20 °C'den yukarıda ise her bir derece için 0.00023 değerini okuma sonucuna ilave ettiniz mi? Sıcaklık 20 °C'den aşağıda ise her bir derece için 0.00023 değerini okuma sonucundan eksik aldınız mı?		
7.	7. Sonucu rapor ederek analiz sonrası işlemleri yaptınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Seçeneklerinizin hepsi **Evet** ise modül değerlendirmeye geçiniz. Cevabı **Hayır** olan işlemleri tekrar deneyiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Modül Değerlendirme- Yeterlilik Ölçme

Aşağıda verilen tayin metoduna uygun olarak öğretmeniniz tarafından verilen meyve suyu numunesinde spektrofotometrik analizi yapınız.

Ayrıca bu meyve suyunda refraktometre ile suda çözünebilen kuru madde tayini yapınız.

Meyve Sularında Spektrofotometre ile Askorbik Asit (C Vitamini) Tayini

Prencip: Askorbik asit, oksidasyon-redüksiyon boyasını (2,dikloroindofenol boyasını) renksizliğe indirger. Reaksiyon sonunda, indirgenmemiş boyanın fazlası asit çözeltide gül pembesi-mor bir renk gösterir.

Askorbik asit, otoksidasyonunun engellenmesi ve reaksiyonda uygun asitliğin sağlanması için fosforik asit+asetik asit veya fosforik asit+asetik ait+sülfirik asit veya okzalik asit çözeltisi varlığında boya ile reaksiyona sokulur. Boyanın fazlasından oluşan renk spektrofotometrede 518 nm 'de okunur.

Çözeltiler:

- **Stabilizan Çözelti:** 4 g okzalik asit 1 litre soda çözülür. (%0.04)
- **Stok Askorbik Asit Çözeltisi:** 100 mg askorbik asit 100ml %0.04 lük okzalik asitte çözülür. (%0.1)
- **Çalışma için Askorbik Asit Çözeltisi:** Stok askorbik asit çözeltisinden 100 ml lik balonjojelere 1, 2, 3, 4' er ml konur. Üzerlerine stabilizan olarak % 0.04 lük okzalik asit çözeltisi ilave edilerek hacim 100 ml'ye tamamlanır. Böylece 1-4 mg/100 ml konsantrasyonda çalışma çözeltileri hazırlanmış olunur.
- **Boya Çözeltisi:** 12 mg 2, 6 dikloroindofenolNa tuzu 1 litre saf suda çözülür.

Standart Kurvenin Çizilmesi için Hazırlıklar:

- Bir tüpe 1 mg/100 ml çalışma çözeltisinden 1 ml askorbik asit çözeltisi ve 9 ml saf su konur. (Şahit 1 çözeltisi)
- Diğer bir tüpe 1 mg/100 ml çalışma çözeltisinden 1 ml askorbik asit çözeltisi ve 9 ml boya çözeltisi konur. (Standart 1 çözeltisi)
- Bu şekilde çalışma askorbik asit çözeltilerinden 2, 3, 4' er ml alınarak, şahit 2, 3, 4 çözeltileri ve standart 2, 3, 4 çözeltileri hazırlanır.

Örnek Çözeltilerinin Hazırlanması: 10 ml meyve suyu 90 ml stabilizan çözeltiyle karıştırılır ve filtre kâğıdından süzülür. Böylece örnek 10 misli seyreltilmiş ve C Vitamini asit ortamda korunmuş olur.

- Bir tüpe örnek çözeltisinden 1 ml alınır, üzerine 9 ml su konur.(Şahit ÖRNEKÇÖZELTİSİ)
- Diğer tüpe 1 ml örnek çözeltisi alınır, üzerine 9 ml boya çözeltisi konur. (Örnek çözeltisi)

İşlem Basamakları Şunlardır:

- Cihaza elektrik verilerek cihazın kalibrasyonu ve ısınması için 15 dakika beklenir.
- Dalga boyu 518 nm ye ayarlanır.
- Mode tuşu ile Absorbans seçilir.
- Şahit 1 çözeltisi küvete doldurulur, küvet cihaza yerleştirilir ve absorbans sıfırlanır (0.000 A).
- Standart 1 çözeltisi küvete doldurulur, küvet cihaza yerleştirilir ve standart 1 çözeltisinin absorbansı okunarak kaydedilir ($A_{STD 1}$).
- Benzer şekilde sırasıyla şahit 2, 3, 4 çözeltileriyle absorbans sıfırlanarak standart 2, 3, 4 çözeltilerinin absorbans değerleri okunur ve kaydedilir ($A_{STD 2}$, $A_{STD 3}$, $A_{STD 4}$).
- Şahit_{ÖRNEK} çözeltisinden küvete doldurulur, küvet cihaza yerleştirilir ve absorbans değeri okunup kaydedilir ($A_{ÖRNEK}$).
- Örneğe ait absorbans değerine ($A_{ÖRNEK}$) karşılık gelen konsantrasyon standart kurveden okunur. Örnek 10 misli seyreltilmiş olduğundan bulunan konsantrasyon 10 ile çarpılır. Sonuç, meyve suyunda, mg/100 ml askorbik asit olarak verilir.

Standart Kurvenin Çizimi:

$A_{STD 1}$, $A_{STD 2}$, $A_{STD 3}$, $A_{STD 4}$ değerleri ve C Vitamini konsantrasyonları (1, 2, 3, 4 mg/100ml) bir milimetrik kâğıda geçirilerek standart kurve elde edilir.

Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosu ile kontrol ediniz.

KONTROL LİSTESİ

Değerlendirme Ölçütleri		Evet	Hayır
Meyve sularında Spektrofotometre ile Askorbik Asit (C Vitamini) tayininde analiz öncesi hazırlıkları yapmak için			
1.	Laboratuar önlüğünüzü giydiniz mi?		
2.	Çalışma ortamınızı temizlediniz mi?		
3.	Analiz föyünü dikkatlice okuyup kullanılacak kimyasal maddeleri listelediniz mi?		
4.	Kullanılacak malzemeleri de listelediniz mi ?		
5.	Listelediğiniz kullanılacak kimyasalları belirtilen şekilde hazırladınız mı?		
6.	Listelediğiniz kullanılacak malzemelerden cam ve porselen malzemeleri temizleyip kuruttunuz mu?		
7.	Analiz metodunda belirtilen şekilde örnek çözeltisini hazırladınız mı?		
8.	Analiz metodunda belirtilen şekilde stabilizan Çözelti hazırladınız mı?		
9.	Analiz metodunda belirtilen şekilde stok askorbik asit çözeltisi hazırladınız mı?		
10.	Analiz metodunda belirtilen şekilde çalışma için askorbik asit çözeltisi hazırladınız mı?		
11.	Analiz metodunda belirtilen şekilde boya çözeltisi hazırladınız mı?		
12.	Analiz metodunda belirtilen şekilde şahit 1 çözeltisi hazırladınız mı?		
13.	Analiz metodunda belirtilen şekilde şahit 2, 3, 4 çözeltileri hazırladınız mı?		
14.	Analiz metodunda belirtilen şekilde standart 1 çözeltisi hazırladınız mı?		
15.	Analiz metodunda belirtilen şekilde standart 2, 3, 4 çözeltileri hazırladınız mı?		
Standart kurvenin çizilmesi için			
1.	Cihaza elektrik vererek cihazın kalibrasyonu ve ısınması için 15 dakika beklediniz mi?		
2.	Dalga boyu 518 nm ye ayarladınız mı?		
3.	Mode tuşu ile Absorbans seçtiniz mi?		
4.	Şahit 1 çözeltisini küvete doldurup küveti cihaza yerleştirip absorbansı sıfırladınız mı?		
5.	Standart 1 çözeltisini küvete doldurup küveti cihaza yerleştirip		

	standart 1 çözeltisinin absorbansını okuyarak kaydettiniz mi?		
6.	Benzer şekilde sırasıyla şahit 2, 3, 4 çözeltileriyle absorbans sıfırlayıp standart 2, 3, 4 çözeltilerinin absorbans değerleri okuyup kaydettiniz mi?		
7.	A _{STD 1} , A _{STD 2} , A _{STD 3} , A _{STD 4} değerlerini ve C Vitamini konsantrasyonlarını (1, 2, 3, 4 mg/100ml) bir milimetrik kâğıda geçirip standart kurve elde ettiniz mi?		
Örnekteki C Vitamini miktarını belirlemek için			
1.	Şahit _{ÖRNEK} çözeltisinden küvete doldurup, küveti cihaza yerleştirerek absorbans değerini okuyup kaydettiniz mi?		
2.	Örneğe ait absorbans değerine (A _{ÖRNEK}) karşılık gelen konsantrasyonu standart kurveden okudunuz mu?		
3.	Örnek 10 misli seyreltilmiş olduğundan bulunan konsantrasyon 10 ile çarparak sonucu meyve suyunda, mg/100 ml askorbik asit olarak verdiniz mi?		
Meyve suyunun refraktometre ile suda çözünebilir kuru madde miktarını belirlemek için			
1.	Refraktometrenin "0" ayarını yaptınız mı?		
2.	Numuneyi homojen hale getirdiniz mi?		
3.	Buradan alınan 2-3 damla numune ile prizma haznesi doldurulup dikkatlice, yavaşça kapağını kapattınız mı?		
4.	Okülerden bakılarak netleştirme işlemi (oküler üzerinde bulunan vidanın sağa sola döndürülmesi ile) yaptınız mı?		
5.	Refraktometreden okunan kırılma indisinin karşılığını çizelge 3. yardımıyla kuru madde olarak saptadınız mı?		
6.	Okumanın yapıldığı sıcaklık standart sıcaklıktan (20 °C) değişik ise; ➤ Sıcaklık 20 °C den yukarıda ise her bir derece için sonuç değerine 0.00023 değerini ilave ettiniz mi? ➤ Sıcaklık 20 °C dan aşağıda ise her bir derece için sonuç değerinden 0.00023 değerini eksilttiniz mi?		
7.	Sonucu rapor ederek analiz sonrası işlemleri yaptınız mı?		
8.	Laboratuvar son kontrollerinizi yaptınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yaptığınız değerlendirme sonunda **Hayır** şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Cevaplarınızda tereddütleriniz varsa tereddütlerinizle ilgili bölümleri bir daha gözden geçiriniz. Cevaplarınızın tamamı **Evet** ise modülü tamamladınız.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ -1' İN CEVAP ANAHTARI

1	C
2	D
3	A
4	C
5	B

ÖĞRENME FAALİYETİ -2' NİN CEVAP ANAHTARI

1	C
2	D
3	A
4	C
5	B

ÖĞRENME FAALİYETİ -3'ÜN CEVAP ANAHTARI

1	A
2	B
3	C
4	C
5	D

KAYNAKÇA

- DEMİR, Nesrin, Bekir DİKKAYA, **Laboratuvar Teknikleri Modülü**, Kız Teknik Öğretim Genel Müdürlüğü, METGE Projesi, Atatürk Teknik Anadolu Meslek ve Meslek Lisesi Yayınevi, ANKARA, 2002
- GÜNDÜZ Turgut, **İnstrümental Analiz**, Gazi Kitabevi, 5. baskı Ankara,1999
- GÜNDÜZ Turgut, **İnstrümental Analiz**, Gazi Kitabevi, 6. baskı, Ankara,2002
- HIŞIL Yaşar, **Enstrümental Gıda Analizleri – II**, Ege Üniversitesi Basımevi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayınları No:30, Bornova-İzmir, 1999
- HIŞIL Yaşar, **Enstrümental Gıda Analizleri – III**, Ege Üniversitesi Basımevi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayınları No:41, Bornova-İzmir, 1999
- HIŞIL Yaşar, **Enstrümental Gıda Analizleri – Laboratuvar Deneyleri**, Ege Üniversitesi Basımevi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayınları No:45, Bornova-İzmir, 2004
- UYLAŞER Vildan. Fikri BAŞOĞLU, **Gıda Analizleri –II Uygulama Kılavuzu**, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Bursa,2000