

**POTANSİYOMETRİK ÇOKLU
MİKRO-SENSÖR SİSTEMİNİN
TASARIMI VE UYGULAMALARI
FATİH ÇOLDUR
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POTANSİYOMETRİK ÇOKLU MİKRO-SENSÖR SİSTEMİNİN TASARIMI
VE UYGULAMALARI

FATİH ÇOLDUR

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Müberra ANDAÇ

SAMSUN-2010

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından 30/04/2010 tarihinde yapılan sınav ile Kimya Anabilim Dalı'nda DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ali Osman SOLAK

Üye : Prof. Dr. Bekir BATI

Üye : Doç. Dr. Mehmet Ali CENGİZ

Üye : Doç. Dr. Adem ASAN

Üye : Doç. Dr. Müberra ANDAÇ

ONAY :

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../2010

Prof. Dr. Hasan GÜMÜŞ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

POTANSİYOMETRİK ÇOKLU MİKRO-SENSÖR SİSTEMİNİN TASARIMI VE UYGULAMALARI

ÖZ

Çalışmada, bütünüyle katı hal kontakt elektrot üretim teknolojisi kullanılarak iç referans çözeltisi içermeyen mikro potansiyometrik iyon seçici elektrotlar hazırlandı. Elektrotların durgun ve hareketli ortam potansiyometrik performans özellikleri test edildi. Hazırlanan elektrotlar kullanılarak, durgun ve hareketli ortam analizlerinde kullanılmak üzere çeşitli sensör dizileri oluşturuldu. Hareketli ortam ölçümlerinde örnek dağılımını azaltmak için düşük ölü hacme sahip akış hücreleri tasarlandı. Sensör dizilerinin doğrusal ve doğrusal olmayan çok değişkenli kalibrasyonları, deneysel tasarım kurallarına göre hazırlanan iyon karışım çözeltilerindeki iyon konsantrasyonları ve bu çözeltilere karşılık elektrotlardan okunan sinyaller kullanılarak gerçekleştirildi. Sensör dizilerinin çok değişkenli doğrusal kalibrasyonlarında Çoklu Doğrusal Regresyon (MLR), Temel Bileşen Regresyonu (PCR) ve Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (PLS) metodları kullanıldı. Doğrusal olmayan kalibrasyonlarda ise kalibrasyon metodu olarak Yapay Sinir Ağları (ANN) tercih edildi. Elde edilen farklı çok değişkenli kalibrasyon modelleri karşılaştırılarak, en iyi tahmin gücüne sahip çok değişkenli kalibrasyon modelleri belirlendi. Çapraz geçerlilik (cross validation) ve dış test seti geçerliliği (external test set validation) validasyon teknikleri kullanılarak modellerin geçerlilikleri test edildi. Önerilen sensör dizileri, en iyi tahmin gücüne sahip modellerle birlikte doğal su numunelerinde yaygın olarak bulunan bazı iyonların eş zamanlı analizlerinde kullanıldı. Çok değişkenli kalibrasyonla elde edilen analiz sonuçları iyon kromatografisi ve klasik kalibrasyonla elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı. Çok değişkenli veri işleme tekniklerinin potansiyometrik çoklu sensör dizileriyle birlikte kullanımının, analizlerin doğruluğunu önemli derecede arttırdığı görüldü.

Anahtar Sözcükler: Potansiyometrik Çoklu Sensör Dizisi, Çok Değişkenli Kalibrasyon, Çoklu Doğrusal Regresyon, Temel Bileşen Regresyonu, Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu, Yapay Sinir Ağları, Akış Enjeksiyon Analizi, Potansiyometri

DESIGN OF A POTENTIOMETRIC MICRO-MULTI-SENSOR SYSTEM AND ITS APPLICATIONS

ABSTRACT

In the present study, all-solid-state potentiometric micro ion-selective electrodes without internal reference solution were developed. Potentiometric performance characteristics of the electrodes were tested in both steady-state and flow-through conditions. By using the developed electrodes, various sensor arrays were constituted for the employment in steady-state and flow-through analysis. The low-dead-volume flow-through cells were designed to keep sample dispersion small in the measurements. Linear and non-linear calibrations of the sensor arrays were realized by using ion concentrations in the ion mixtures, which were prepared according to the experimental design, and the signals obtained from the electrodes versus these ion mixtures. For the multivariate linear calibrations of the sensor arrays, Multiple Linear Regression (MLR), Principle Component Regression (PCR) and Partial-Least-Squares Regression (PLS) methods were used. Artificial Neural Networks (ANN) were preferred as calibration method for the non-linear calibrations. The multivariate calibration models which have the best prediction power were determined by comparing the obtained multivariate calibration models with each other. Validations of the models were tested according to the cross-validation and external test set validation methods. The proposed sensor arrays were used with the models which have the best prediction power, for simultaneous determination of some common ions in natural water samples. The analysis results obtained by using multivariate calibrations were compared with the results obtained with ion chromatography and classical calibration. It was indicated that the utilization of the multivariate data processing techniques with the potentiometric multi-sensor arrays significantly increased the accuracies of the analysis results.

Keywords: Potentiometric Multisensor Arrays, Multivariate Calibrations, Multiple Linear Regression, Principle Component Regression, Partial-Least-Squares Regression, Artificial Neural Networks, Flow Injection Analysis, Potentiometry

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans ve Doktora öğrenimim süresince çok değerli fikirlerinden istifade ettiğim, yorucu tez çalışmalarım esnasında ümitsizliğe düştüğüm anlarda ümit aşıl原因an kısacası çalışmalarımın her anında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen değerli hocam **Doç. Dr. Müberra ANDAÇ**'a minnet ve şükranlarımı sunarım.

Değerli fikir ve tecrübelerinden faydalandığım, her türlü maddi ve manevi desteği sağlayarak, akademik hayata daha da ilgiyle bakmamı sağlayan değerli hocam **Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans ve Doktora öğrenimim süresince yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, çalışmalarımda kullandığım potansiyometrik ölçüm sisteminin tasarımını ve bilgisayar yazılımını gerçekleştirerek kullanımına sunan, böylelikle çalışmama büyük katkı sağlayan, değerli hocam **Doç. Dr. Ömer ANDAÇ**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince, kromometri konusunda sıkıntıya düştüğüm anlarda, bilimsel desteğini esirgemeyerek çalışmalarımın doğru ekseninde ilerlemesine yardımcı olan, değerli hocam **Doç. Dr. M. Ali CENGİZ**'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm değerli hocalarım **Prof. Dr. Nihat TİNKİLİÇ** ve **Doç. Dr. Adem ASAN**'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın değişik dönemlerinde aynı çalışma ortamını paylaştığım, ihtiyaç duyduğum her an ellerinden gelen yardımı esirgemeyen, değerli laboratuvar arkadaşlarım; **Yrd. Doç. Dr. Osman ÇUBUK**, **Yrd. Doç. Dr. Murat YOLCU**, **Yrd. Doç. Dr. Bahtiyar SARIBOĞA**, **Dr. Tülin ŞAKA**, **Nezaket SARIBOĞA**, **Deniz KARSLI SEMİZ**, **Gülşah KANBEROĞLU**, **Rukiye AYDIN**, **Sema ÖZTÜRK**, **Rukiye DUMANLI**, **Derya BAL**, **Cihan TOPCU**, **Ebru ÇETİNKAYA**, **Emel EREN**, **Fatma TÜRKMEN**, **Fatih ÇEPNİLER**, **Vildan IŞILDAK** ve **Zuhal YOLCU**'ya çok teşekkür ederim.

Yardımlarını esirgemeyen Kimya Bölümü'nün değerli öğretim üyeleri ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazım döneminin stresli ortamında manevi desteğini esirgemeyen nişanlım ve müstakbel hayat arkadaşım **Gülsüm MEMİŞ**'e çok teşekkür ederim.

Hiç bir fedakarlıktan kaçınmayarak bu günlere gelmemde önemli payları olan, hayatımın her anında koşulsuz maddi ve manevi desteklerini gördüğüm ve haklarını hiç bir zaman ödeyemeyeceğim sevgili annem **Emine ÇOLDUR** ve babam **Kahraman ÇOLDUR**'a; kardeşlerim, **Hüseyin ÇOLDUR** ve **Ayşegül YEDEKÇİ**'ye sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
ÇİZELGELER LİSTESİ	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Potansiyometri	7
2.1.1. Potansiyometri Tekniğinin Tayin İlkesi	8
2.1.2. Referans Elektrotlar.....	10
2.1.2.1. Gümüş/Gümüş Klorür Referans Elektrot	10
2.1.2.2. Kalomel Referans Elektrot	11
2.1.2.3. Diğer Tip Referans Elektrotlar	13
2.1.3. İyon Seçici Elektrotlar	13
2.1.3.1. Cam İyon Seçici Elektrotlar.....	14
2.1.3.2. Kaplama Tel Elektrotlar	15
2.1.3.3. Katı-Hal İyon-Seçici Membran Elektrotlar	16
2.1.3.4. Gaz ve Enzim Elektrotlar.....	17
2.1.3.5. Sıvı-Membran İyon-Seçici Elektrotlar	19
2.1.3.6. Kompozit Elektrotlar	22
2.1.4. İyon-Seçici Elektrotların Performans Özellikleri	23
2.1.4.1. Seçicilik	23
2.1.4.2. Cevap Zamanı	26
2.1.4.3. Tayin Limiti	27
2.1.4.4. Tekrarlanabilirlik	28
2.1.4.5. Doğrusal Çalışma Aralığı	28
2.1.4.6. Kullanım Ömrü	29
2.1.4.7. pH Çalışma Aralığı	29
2.1.5. İyon-Seçici Elektrotların Avantaj ve Dezavantajları.....	30
2.2. Kemometri	31
2.2.1. Örüntü Tanıma (Pattern Recognition)	31
2.2.1.1. Açıklayıcı Veri Analizi (Exploratory Data Analysis-EDA).....	32
2.2.1.2. Sınıflandırma (Classification).....	34

2.2.2. Sinyal İşleme (Signal Processing)	34
2.2.3.. Tek Değişkenli Kalibrasyonlar	36
2.2.3.1. Klasik Doğrusal Regresyon (Classical Linear Regression-CLR).....	36
2.2.3.2. Ters Doğrusal Kalibrasyon (Inverse Linear Regression-ILR).....	37
2.2.3.3. Kesim noktası ve Merkezileştirme	39
2.2.4. Çok Değişkenli Kalibrasyonlar	40
2.2.4.1. Çoklu Doğrusal Kalibrasyon (Multiple Linear Regression-MLR).....	40
2.2.4.2. Temel Bileşen Regresyonu (Principle Component Regression-PCR).....	42
2.2.4.3. Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (Partial-Least-Squares Regression- PLS).....	43
2.2.4.4. Yapay Sinir Ağları (ANN).....	49
2.2.5. Kalibrasyon Modellerinin Geçerliliği.....	53
2.2.5.1. Oto-Tahmin (Auto-Prediction)	53
2.2.5.2. Çapraz-Geçerlilik (Cross-Validation).....	55
2.2.5.3. Bağımsız Test Seti Geçerliliği (Independent Test Set Validation).....	57
2.2.6. DeneySEL Tasarım	58
2.3. Akış Enjeksiyon Analizi (AEA)	61
2.3.1. AEA Tekniğinin Prensipleri ve Bileşenleri	62
2.3.2. AEA Sisteminin Optimizasyonu	64
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER	66
3.1. Materyaller.....	66
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar.....	66
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	67
3.1.3. Kullanılan Bilgisayar Yazılımları.....	68
3.1.4. Analiz Edilen Su Numuneleri.....	68
3.2. Yöntemler	69
3.2.1. Elektrotların Hazırlanışı	69
3.2.1.1. PVC-Membran Elektrotların Hazırlanışı	69
3.2.1.2. II. Sınıf Cl ⁻ -Seçici Elektrotun Hazırlanışı.....	70
3.2.2. Sensör Dizilerinin Tasarımı.....	71
3.2.3. Standart Çözeltiler ve Tampon Çözeltilerin Hazırlanması.....	72
3.2.4. Sensör Dizileri Ölçüm Prosedürü.....	73
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	74

4.1. Sensörlerin Durgun Ortamdaki Potansiyometrik Performans Özellikleri	74
4.1.1. Katyon-Seçici Elektrotların Potansiyometrik Performans Özellikleri	74
4.1.2. Katyon Duyarlı Elektrotların Potansiyometrik Performans Özellikleri	80
4.1.2.1. Monensin-Temelli Katyon-Duyarlı Elektrotun Potansiyometrik Performans Özellikleri.....	80
4.1.2.2. Dibenzo-18-Crown-6-Temelli Katyon-Duyarlı Elektrotun Potansiyometrik Performans Özellikleri	84
4.1.3. Anyon-Duyarlı Elektrotun Potansiyometrik Performans Özellikleri	88
4.1.4. Anyon-Seçici Elektrotların Potansiyometrik Performans Özellikleri	91
4.2. Sensörlerin Hareketli Ortam Potansiyometrik Performans Özellikleri	93
4.2.1. Katyon-Seçici Elektrotların Hareketli Ortamda Potansiyometrik Performans Özellikleri	93
4.2.2. Katyon Duyarlı Elektrotların Hareketli Ortamdaki Potansiyometrik Performans Özellikleri.....	101
4.3. Durgun Ortamda Sensör Dizilerinin Kemometrik Yöntemlerle Kalibrasyon Uygulamaları	104
4.3.1. Li^+ , Na^+ ve K^+ İyonlarının Potansiyometrik Sensör Dizisiyle Eşzamanlı Tayin Uygulaması.....	104
4.3.1.1. MLR Modelleri ve Model Parametreleri	107
4.3.1.2. PCR Modelleri ve Model Parametreleri	108
4.3.1.3. Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (PLS) Modelleri	109
4.3.1.4. ANN Modelleri	113
4.3.2. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ İyonlarının Potansiyometrik Sensör Dizisiyle Eşzamanlı Tayin Uygulaması.....	119
4.3.2.1. MLR Modelleri ve Model Parametreleri	122
4.3.2.2. PCR Modelleri ve Model Parametreleri	123
4.3.2.3. PLS Modelleri ve Model Parametreleri	123
4.3.2.4. ANN Modelleri ve Model Parametreleri	128
4.4. AEA'da Sensör Dizilerinin Kemometrik Yöntemlerle Kalibrasyon Uygulaması	130
4.5. Sensör Dizilerinin Gerçek Numune Analizlerinde Uygulamaları	134
4.5.1. Durgun Ortamda Gerçek Numune Analizi.....	134
4.5.2. Hareketli Ortamda Gerçek Numune Analizi	142
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	152

6. KAYNAKLAR	154
ÖZGEÇMİŞ.....	162

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

ISE	: İyon Seçici Elektrot
MLR	: Çoklu Doğrusal Regresyon (Multiple Linear Regression)
PLS	: Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (Partial Least Squares Regression)
PLS1	: Tek Bağımlı Değişken (y)'in Kullanıldığı PLS
PLS2	: Birden Fazla Bağımlı Değişken (y)'in Kullanıldığı PLS
PCA	: Temel Bileşen Analizi (Principle Component Analysis)
PCR	: Temel Bileşen Regresyonu (Principle Component Regression)
CLR	: Klasik Doğrusal Regresyon (Classical Linear Regression)
ILR	: Ters Doğrusal Regresyon (Inverse Linear Regression)
AEA	: Akış Enjeksiyon Analizi
ANN	: Yapay Sinir Ağları (Artificial Neural Networks)
PVC	: Polivinilklorür
SIA	: Sıralı Enjeksiyon Analizi (Sequential Injection Analysis)
DOS	: Dioktilsebekat
DBS	: Dibütilsebekat
DBP	: Dibütilftalat
NPOE :	: Nitrofeniloktileter
IUPAC	: Uluslararası Kuramsal ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry)
EDA	: Açıklayıcı Veri Çözümleme (Explanatory Data Analysis)
SIMCA	: Sınıfsal Benzerliklerin Soft Bağımsız Modellenmesi (Soft Independent Modelling of Class Analogies)
DA	: Diskriminant Analizi (Discriminant Analysis)
MA	: Hareketli Ortalama Yoluyla Filtreleme (Moving Avarage)
FT	: Fourier Dönüşümü (Fourier Transform)

RMSEC	: Kalibrasyon Seti Hata Kareleri Ortalamasının Karekökü
RMSECV	: Çapraz Geçerlilik Hata Kareleri Ortalamasının Karekökü
RMSEP	: Test Seti Hata Kareleri Ortalamasının Karekökü
PRESS	: Tahmin Edilen Artık Hataların Kareleri Toplamı
CUMPRESS	: Kullanılan Tüm Temel Bileşenler İçin Toplamsal PRESS
LV	: Gizli Değişken (Latent Variable)
NIPALS	: Doğrusal Olmayan İteratif-PLS (Non-Iterative Partial Least Squares)
SIMPLS	: İstatistiksel Olarak Uyarlanmış PLS (Statistically Inspired Modification of PLS)
THF	: Tetrahidrofuran
TDDA-Br	: Tetradodesilamonyumbromür
TDDA-NO ₃	: Tetradodesilamonyumnitrat
KTpClPB	: Potasyum tetrakis(4-klorofenil)borat
TDDMACl	: Tridodesilmetilamonyumklorür
TOPO	: Trioktilfosfinoksit
PMM	: Polimetilmetakrilat
Tris	: Tris (hidroksimetil)aminometan
IC	: İyon Kromatografisi
diag	: Matris Köşegeni
S-G	: Savitsky-Golay Filtreleme Yöntemi
E ⁰	: Standart Elektrot Potansiyeli
F	: Y Değişkeni Artık Matrisi
t ₉₅	: Elektrot Cevap Zamanı
E	: X Değişkeni Artık Matrisi
a _A	: Ana İyon Aktivitesi
a _B	: Girişim Yapan İyonun Aktivitesi
z _A	: Ana İyonun İyon Yükü

z_B	: Girişim Yapan İyonun İyon Yükü
$K_{A,B}^{pot}$	: Potansiyometrik Seçicilik Katsayısı
E_A	: Ana İyon Çözeltisinde Elektrottan Okunan Potansiyel
E_B	: Girişim Yapan Türün Çözeltisinde Elektrottan Okunan Potansiyel
X	: Bağımsız Değişken Matrisi
Y	: Bağımlı Değişken Matrisi
T	: X Matrisinin Ayırıştırılmasından Elde Edilen Sayı Matrisi (Score)
t	: X Matrisinin Ayırıştırılmasından Elde Edilen Sayı Vektörü
T	: Matrisin Devriği
P	: X Matrisinin Ayırıştırılmasından Elde Edilen Yük Matrisi (Loadings)
p	: X Matrisinin Ayırıştırılmasından Elde Edilen Yük Vektörü
$X_{i,j}^{OM}$	: Ortalama Merkezileştirme İşlemi Uygulanmış Veri Matrisi
$X_{i,j}^{OÖ}$	: Oto-Ölçeklendirme İşlemi Uygulanmış Veri Matrisi
s	: Doğrusal Regresyon Doğrusunun Eğimi
d	: Serbestlik Derecesi
$\hat{x}$	: Tahmin Edilen x
x	: Bağımsız Değişken Vektörü
$\bar{x}$	: x Değerlerinin Ortalaması
$\hat{y}$	: Tahmin Edilen Bağımlı Değişken Vektörü
y	: Bağımlı Değişken Vektörü
I	: Toplam Sembollerinde Toplanacak Değerlerin Sayısı
c	: Konsantrasyon
$\bar{c}$	: Konsantrasyonların Ortalaması
^{mer}x	: Ortalama Merkezileştirme İşlemi Uygulanmış x Vektörü
Q	: Kısmi En Küçük Kareler Regresyonunda Bağımlı Değişkenin Ayırıştırılmasıyla Elde Edilen Yük Matrisi

q	: Kısmi En Küçük Kareler Regresyonunda Bağımlı Değişkenin Ayırıştırılmasıyla Elde Edilen Yük Vektörü
U	: Kısmi En Küçük Kareler Regresyonunda Bağımlı Değişkenin Ayırıştırılmasıyla Elde Edilen Sayı Matrisi
u	: Kısmi En Küçük Kareler Regresyonunda Bağımlı Değişkenin Ayırıştırılmasıyla Elde Edilen Sayı Vektörü
B	: Temel Bileşen Regresyonu ve Kısmi En Küçük Kareler Regresyonunda Regresyon Katsayı Matrisi
W	: NIPALS Kısmi En Küçük Kareler Regresyonunda Bağımsız Değişkenin Ağırlık Matrisi
w	: NIPALS Kısmi En Küçük Kareler Regresyonunda Bağımsız Değişkenin Ağırlık Vektörü
$\ w\ $	: X Ağırlık Vektörünün Normu
$\ p\ $	: X Yük Vektörünün Normu
var	: Varyans
mod	: Modüler Aritmetik İşlemcisi
V_{enj}	: Numune Enjeksiyon Hacmi
V_{hf}	: Hareketli Faz Akış Hızı
f_h	: Gizli Tabaka Transfer Fonksiyonu
f_0	: Çıkış Tabakası Transfer Fonksiyonu
w'	: Giriş Tabakasını Gizli Tabakaya Bağlayan Ağırlıklar
w''	: Gizli Tabakayı Çıkış Tabakasına Bağlayan Ağırlıklar
θ'	: Gizli Tabaka Transfer Fonksiyonu Bias Değeri
θ''	: Çıkış Tabakası Transfer Fonksiyonu Bias Değeri
r	: SIMPLS Regresyonunda Bağımsız Değişkenin Ağırlık Vektörü
R	: SIMPLS Regresyonunda Bağımsız Değişkenin Ağırlık Matrisi
y_{test}	: Test Seti Bağımlı Değişken Değeri
$\hat{y}_{test}$	: Test Seti Tahmin Edilen Bağımlı Değişken Değeri

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Potansiyometrenin çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi.....	7
Şekil 2.2. Basit bir potansiyometrik sistem	8
Şekil 2.3. Ag/AgCl referans elektrot.....	11
Şekil 2.4. Kalomel referans elektrotun yapısı	12
Şekil 2.5. Membran-çözelti ara yüzeyindeki iyon değişimi (cam membran)	14
Şekil 2.6. F ⁻ iyonu seçici katı-hal kristalin elektrot	16
Şekil 2.7. Gaz duyarlı bir elektrot	17
Şekil 2.8. Üreye duyarlı bir enzim elektrotun yapısı	18
Şekil 2.9. Sıvı-membran iyon seçici bir elektrotun şematik gösterimi	20
Şekil 2.10. IUPAC'a göre cevap zamanı (t ₉₅).....	26
Şekil 2.11. IUPAC'a göre cevap zamanı (ΔE/Δt).....	27
Şekil 2.12. İyon-Seçici elektrotların tayin sınırlarının belirlenmesini gösteren örnek bir grafik	28
Şekil 2.13. Kullanım ömrü tespitinde kullanılan bir grafik (Sim ve ark., 2001)	29
Şekil 2.14. Li ⁺ -seçici bir elektrota pH etkisi (Teixeira ve ark., 2000)	30
Şekil 2.15. Orijinal veri setinin PCA ile ayrıştırılmasının şematik gösterimi	33
Şekil 2.16. CLR hesaplamasının şematik gösterimi	36
Şekil 2.17. Klasik (A) ve ters (B) kalibrasyon çeşitlerinde hatalar arasındaki farklılık (Brereton, 2003)	38
Şekil 2.18. ILR hesaplamasının şematik gösterimi.....	38
Şekil 2.19. Kesişim noktası terimi içeren ILS hesaplamasının şematik gösterimi	39
Şekil 2.20. Çok değişkenli kalibrasyon eşitliğinin şematik gösterim	41
Şekil 2.21. PLS regresyonunda X ve Y matrislerinin ayrıştırılmasının şematik gösterimi	43
Şekil 2.22. PLS regresyonu ile bilinmeyen Y değerlerinin hesaplanmasında kullanılan eşitliğin şematik gösterimi	44
Şekil 2.23. (A) Bias değeri içermeyen ve (B) bias değeri içeren nöronların çalışma prensibi	50
Şekil 2.24. Giriş değeri vektörden oluşan ve bias değeri içeren bir nöronun çalışma prensibi	51
Şekil 2.25. Bir yapay sinir ağının yapısı	51

Şekil 2.26. RMSEC değerinin modele dahil edilen temel bileşen sayısına göre değişimi	54
Şekil 2.27. Birini dışarıda bırakma (leave-one-out) çapraz geçerlilik işlemi	55
Şekil 2.28. Birden fazla analit türü için optimum bileşen sayılarını bulmada kullanılan bir RMSECV grafiği.....	57
Şekil 2.29. Basit bir AEA sisteminin şematik gösterimi	63
Şekil 3.1. Kullanılan çok kanallı potansiyometrik ölçüm sisteminin şematik gösterimi (A) Durgun ortam ölçümleri (B) Hareketli ortam ölçümleri	67
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan durgun ortam ölçümlerinin alındığı sensör dizilerinden birinin şekli.....	71
(A) Sensör dizisinin resmi (B) Sensör dizisinin şematik gösterimi	71
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan hareketli ortam ölçümlerinin alındığı sensör dizisi hücrelerinden biri (A) Hücrenin resmi (B) Hücrenin şematik gösterimi	72
Şekil 4.1. 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M konsantrasyon aralığında Na^+ iyonu içeren standart çözeltilerde Na^+ -seçici elektrotla elde edilen kalibrasyon grafiği	75
Şekil 4.2. Hazırlanan Na^+ -seçici elektrotun cevap zamanı	76
Şekil 4.3. Hazırlanan Na^+ -seçici elektrotun tekrarlanabilirliği	76
Şekil 4.4. Na^+ -seçici elektrotun pH çalışma aralığı	77
Şekil 4.5. Na^+ -seçici elektrotun zamana bağlı olarak eğiminde meydana gelen değişim.	78
Şekil 4.6. Monensin temelli katyon duyarlı elektrot kullanılarak 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M konsantrasyon aralığında Na^+ iyonları içeren çözeltilerde alınan ölçümlerin kalibrasyon grafiği.....	80
Şekil 4.7. Monensin-temelli katyon duyarlı elektrotun 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığında farklı iyonlara karşı cevabı	81
Şekil 4.8. Monensin temelli katyon-duyarlı elektrotun cevap zamanı.....	82
Şekil 4.9. Hazırlanan monensin temelli katyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliği	83
Şekil 4.10. Monensin temelli katyon-duyarlı elektrotun pH çalışma aralığı	83
Şekil 4.11. Dibenzo-18-crown-6-temelli katyon duyarlı elektrot kullanılarak 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M konsantrasyon aralığında K^+ iyonu içeren sulu çözeltilerde alınan ölçümlerin kalibrasyon grafiği	84
Şekil 4.12. Dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon duyarlı elektrotun 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığında farklı iyonlara karşı cevabı.....	85
Şekil 4.13. Dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun cevap zamanı.....	86

Şekil 4.14. Hazırlanan dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliği	87
Şekil 4.15. Dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun pH çalışma aralığı .	87
Şekil 4.16. 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M konsantrasyon aralığında NO_3^- iyonları içeren sulu çözeltilerde anyon duyarlı elektrot kullanılarak alınan ölçümlerin kalibrasyon grafiği	88
Şekil 4.17. Anyon duyarlı elektrotun 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığında farklı iyonlara karşı cevabı.....	89
Şekil 4.18. Anyon-duyarlı elektrotun cevap zamanı.....	90
Şekil 4.19. Hazırlanan anyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliği	90
Şekil 4.20. Anyon-duyarlı elektrotun pH çalışma aralığı	91
Şekil 4.21. 25 μL enjeksiyon hacminde değişen akış hızlarında 10^{-3} M K^+ enjeksiyonuyla elde edilen pikler	93
Şekil 4.22. 50 μL enjeksiyon hacminde değişen akış hızlarında 10^{-3} M K^+ enjeksiyonuyla elde edilen pikler	94
Şekil 4.23. 100 μL enjeksiyon hacminde değişen akış hızlarında 10^{-3} M K^+ enjeksiyonuyla elde edilen pikler	95
Şekil 4.24. K^+ seçici elektrot için 10^{-3} M K^+ enjeksiyonunda farklı akış hızı ve enjeksiyon hacimlerine göre elde edilen pik yükseklikleri grafiği	96
Şekil 4.25. K^+ seçici elektrot için 10^{-3} M K^+ enjeksiyonunda farklı akış hızı ve enjeksiyon hacimlerine göre elde edilen pik genişlikleri grafiği.....	96
Şekil 4.26. K^+ seçici elektrot ile değişen K^+ konsantrasyonu enjeksiyonuna karşılık elde edilen pikler ve kalibrasyon grafiği ((1) 1.0×10^{-5} M (2) 5.0×10^{-5} M (3) 1.0×10^{-4} M (4) 5.0×10^{-4} M (5) 1.0×10^{-3} M (6) 5.0×10^{-3} M (7) 1.0×10^{-2} M (8) 5.0×10^{-2} M (9) 1.0×10^{-1} M).....	97
Şekil 4.27. K^+ seçici elektrot için 10^{-3} M K^+ enjeksiyonunda ölçümlerin tekrarlanabilirliği	98
Şekil 4.28. K^+ seçici elektrotta 10^{-2} M yabancı iyon enjeksiyonunda gözlenen pikler.....	98
Şekil 4.29. Dibenzo-18-Crown-6 temelli katyon duyarlı elektrot için farklı katyonların farklı derişimlerine karşılık elde edilen pikler (1: 10^{-5} M 2: 10^{-4} M 3: 10^{-3} M 4: 10^{-2} M 5: 10^{-1} M)	101
Şekil 4.30. Dibenzo-18-Crown-6 temelli katyon duyarlı elektrot için farklı katyonların farklı derişimlerine karşılık elde edilen kalibrasyon grafiği	102

Şekil 4.31. Monensin temelli katyon duyarlı elektrot için farklı katyonların farklı derişimlerine karşılık elde edilen pikler ($1:10^{-1}$ M 2: 10^{-2} M 3: 10^{-3} M 4: 10^{-4} M 5: 10^{-5} M)	103
Şekil 4.32. Monensin temelli katyon duyarlı elektrot için farklı katyonların farklı derişimlerine karşılık elde edilen kalibrasyon grafiğı	103
Şekil 4.33. Temel bileşen sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri	110
Şekil 4.34. Kalibrasyon ve dış test çözeltilerinde bilinen Li^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen Li^+ miktarları	110
Şekil 4.35. Gizli değışken sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri	111
Şekil 4.36. Kalibrasyon ve dış test çözeltilerinde bilinen Na^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen Na^+ miktarları	112
Şekil 4.37. Gizli değışken sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri	112
Şekil 4.38. Kalibrasyon ve dış test çözeltilerinde bilinen K^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen K^+ miktarları	113
Şekil 4.39. Li^+ tahmini için oluşturulan ANN'nin yapısı	115
Şekil 4.40. Çözeltilerde bilinen Li^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen Li^+ miktarları	116
Şekil 4.41. Na^+ tahmini için oluşturulan ANN'nin yapısı	117
Şekil 4.42. Çözeltilerde bilinen Na^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen Na^+ miktarları	117
Şekil 4.43. K^+ tahmini için oluşturulan ANN'nin yapısı	118
Şekil 4.44. Çözeltilerde bilinen K^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen K^+ miktarları	119
Şekil 4.45. Çözeltilerde bilinen K^+ miktarına karşılık MLR modeli ile tahmin edilen K^+ miktarları	125
Şekil 4.46. Temel bileşen sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri	125
Şekil 4.47. Çözeltilerde bilinen Na^+ miktarına karşılık PCR modeli ile tahmin edilen Na^+ miktarları	126
Şekil 4.48. Temel bileşen sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri	126
Şekil 4.49. Çözeltilerde bilinen NH_4^+ miktarına karşılık PLS modeli ile tahmin edilen NH_4^+ miktarları	127
Şekil 4.50. NH_4^+ tahmini için oluşturulan ANN'nin yapısı	129

Şekil 4.51. Çözeltilerde bilinen NH_4^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen NH_4^+ miktarları	130
Şekil 4.52. (A) Na^+ ve K^+ iyonlarının standart çözeltileri için iyon kromatografide elde edilen pikler (B) IC’de Na^+ için elde edilen kalibrasyon grafiği (C) IC’de K^+ için elde edilen kalibrasyon grafiği	134
Şekil 4.53. (A) Cl^- ve NO_3^- iyonlarının standart çözeltileri için iyon kromatografide elde edilen pikler (B) IC’de Cl^- için elde edilen kalibrasyon grafiği (C) IC’de NO_3^- için elde edilen kalibrasyon grafiği	134
Şekil 4.54. Na^+ , K^+ , Cl^- ve NO_3^- iyonları için ilgili iyon-seçici elektrot kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafikleri.....	137
Şekil 4.55. Na^+ , K^+ , Cl^- ve NO_3^- iyonları için oluşturulan en iyi tahmin gücüne sahip modeller ve çözeltilerde iyonların bilinen miktarlarına karşılık modellerle tahmin edilen miktarlarının karşılaştırması.....	140
Şekil 4.56. Na^+ -seçici elektrottan elde edilen piklerden bir kesit	145
Şekil 4.57. K^+ -seçici elektrottan elde edilen piklerden bir kesit.....	146
Şekil 4.58. NH_4^+ -seçici elektrottan elde edilen piklerden bir kesit.....	146
Şekil 4.59. G-1 katyon duyarlı elektrottan elde edilen piklerden bir kesit	147
Şekil 4.60. G-2 katyon duyarlı elektrottan elde edilen piklerden bir kesit	147
Şekil 4.61. Çözeltilerde bilinen Na^+ iyonu konsantrasyonuna karşılık ANN modeliyle tahmin edilen Na^+ iyonu miktarları	149
Şekil 4.62. Çözeltilerde bilinen K^+ iyonu konsantrasyonuna karşılık ANN modeliyle tahmin edilen K^+ iyonu miktarları.....	150

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 2.1. Bazı katı-hal iyon-seçici elektrotlar ve çalışma aralıkları (Fry ve Langley, 2001)	16
Çizelge 2.2. Bazı gaz duyarlı potansiyometrik sensörler ve sensörlerde gerçekleşen denge reaksiyonları (Ross ve ark., 1973)	18
Çizelge 2.3. Literatürde çalışılmış olan bazı enzim sensörler ve özellikleri	19
Çizelge 2.4. Bazı sıvı membran iyon seçici elektrotlar ve özellikleri	20
Çizelge 2.5. ISE'lerin avantaj ve dezavantajları	30
Çizelge 2.6. 3 faktörlü 3 seviyeli ful-faktöriyel deneysel tasarımda (full-factorial experimental design) faktör seviyeleri, 0: düşük seviye 1: orta seviye 2: yüksek seviye	60
Çizelge 2.7. 3 faktörlü 3 seviyeli fraksiyonel-faktöriyel deneysel tasarımda (fractional-factorial experimental design) faktör seviyeleri, 0: düşük seviye 1: orta seviye 2: yüksek seviye	61
Çizelge 3.1. Hazırlanan elektrot membran bileşimleri	70
Çizelge 4.1. Hazırlanan Na^+ -seçici elektrot için hesaplanan seçicilik katsayıları	78
Çizelge 4.2. Katyon-seçici elektrotların potansiyometrik performans özellikleri	79
Çizelge 4.3. Hazırlanan monensin-temelli katyon-duyarlı elektrotun seçicilik katsayıları	81
Çizelge 4.4. Hazırlanan dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun seçicilik katsayıları	85
Çizelge 4.5. Hazırlanan anyon-duyarlı elektrotun seçicilik katsayıları	89
Çizelge 4.6. Anyon-seçici elektrotların durgun ortamda potansiyometrik performans özellikleri	92
Çizelge 4.7. K^+ -seçici elektrotun hareketli ortamda hesaplanan seçicilik katsayıları	99
Çizelge 4.8. Çalışmada kullanılan iyon-seçici elektrotların hareketli ortam potansiyometrik performans özellikleri	100
Çizelge 4.9. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının eş zamanlı analizi için oluşturulan kalibrasyon seti ve test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri	105
Çizelge 4.10. Kalibrasyon çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri	106

Çizelge 4.11. Test çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri	107
Çizelge 4.12. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen çoklu doğrusal regresyon modellerinin parametreleri	107
Çizelge 4.13. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen PCR modellerinin parametreleri	108
Çizelge 4.14. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen PLS modellerinin parametreleri	109
Çizelge 4.15. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için üretilen ANN modelleri ve modellerinin karşılaştırma parametreleri	114
Çizelge 4.16. Li^+ tahmini için oluşturulan ANN modelinde nöronlar arasındaki ağırlıklar	115
Çizelge 4.17. Na^+ tahmini için oluşturulan ANN modelinde nöronlar arasındaki ağırlıklar	116
Çizelge 4.18. K^+ tahmini için oluşturulan ANN modelinde nöronlar arasındaki ağırlıklar	118
Çizelge 4.19. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının eş zamanlı analizi için oluşturulan kalibrasyon seti ve test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri.....	120
Çizelge 4.20. Kalibrasyon çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri.....	121
Çizelge 4.21. Test çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri	122
Çizelge 4.22. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen çoklu doğrusal regresyon modellerinin parametreleri	122
Çizelge 4.23. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen PCR modellerinin parametreleri	123
Çizelge 4.24. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen PLS modellerinin parametreleri	124
Çizelge 4.25. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının tahmini için üretilen ANN modelleri ve modellerinin karşılaştırma parametreleri	128
Çizelge 4.26. NH_4^+ tahmini için oluşturulan ANN modelinde nöronlar arasındaki ağırlıklar.....	129

Çizelge 4.27. Kalibrasyon çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri.....	131
Çizelge 4.28. Test çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri	132
Çizelge 4.29. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için elde edilen en iyi MLR modelleri ve model parametreleri	132
Çizelge 4.30. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için elde edilen en iyi PCR modelleri ve model parametreleri	132
Çizelge 4.31. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için elde edilen en iyi PLS modelleri ve model parametreleri	132
Çizelge 4.32. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için elde edilen ANN modelleri ve model parametreleri	133
Çizelge 4.33. İyon kromatografisi tekniği kullanılarak su numunelerinde hesaplanan Na^+ ve K^+ iyonu miktarları	135
Çizelge 4.34. İyon kromatografisi tekniği kullanılarak su numunelerinde hesaplanan NO_3^- ve Cl^- iyonu miktarları	136
Çizelge 4.35. ISE'lerden okunan potansiyel değerleri ve bu değerlere karşılık tek değişkenli klasik kalibrasyon kullanılarak hesaplanan iyon konsantrasyonları	137
Çizelge 4.36. Na^+ , K^+ , Cl^- ve NO_3^- iyonlarının eş zamanlı analizi için kullanılan deney seti ve dış test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri ve bu çözeltilere karşılık elektrotlardan okunan potansiyel değerleri.....	139
Çizelge 4.37. Su numunelerinde okunan elektrot potansiyelleri ve bu potansiyel değerlerine karşılık çok değişkenli kalibrasyon teknikleriyle hesaplanan iyon konsantrasyonları	141
Çizelge 4.38. IC sonuçları referans alındığında, direkt ölçüm ve sensör dizisi ölçümleriyle gerçekleştirilen analizlerin hata yüzdeleri	142
Çizelge 4.39. Hareketli ortamda su numunelerinde Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının analizi için kullanılan kalibrasyon seti çözeltilerinin iyon bileşimleri	143
Çizelge 4.40. Hareketli ortamda su numunelerinde Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının analizinde validasyon için kullanılan dış test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri	143

Çizelge 4.41. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının hareketli ortamda analizi için kullanılan sensör dizisinde kalibrasyon seti çözeltilerinin enjeksiyonuna karşılık elektrotlardan okunan pik yükseklikleri.....	144
Çizelge 4.42. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının hareketli ortamda analizi için kullanılan sensör dizisinde dış test seti çözeltilerinin enjeksiyonuna karşılık elektrotlardan okunan pik yükseklikleri.....	145
Çizelge 4.43. Na^+ ve K^+ iyonu tahmini için elde edilen en iyi tahmin gücüne sahip MLR modelleri	148
Çizelge 4.44. Na^+ ve K^+ iyonu tahmini için elde edilen en iyi tahmin gücüne sahip PCR modelleri	148
Çizelge 4.45. Na^+ ve K^+ iyonu tahmini için elde edilen en iyi tahmin gücüne sahip PLS modelleri	148
Çizelge 4.46. Na^+ ve K^+ tahmini için elde edilen ANN modelleri ve model parametreleri	149
Çizelge 4.47. Su numunelerinin enjeksiyonlarına karşılık sensör dizisinde yer alan elektrotlardan elde edilen pik yükseklikleri	151
Çizelge 4.48. Su numunelerinde kromatografik yöntemle ve sensör dizisi yöntemiyle belirlenen Na^+ ve K^+ iyonu miktarları ve hesaplanan hata yüzdeleri	151

1. GİRİŞ

Potansiyometrik iyon-seçici elektrot (ISE)'lar maliyetlerinin düşük olması ve kullanım kolaylıkları nedeniyle günümüzde birçok analiz laboratuvarında rutin olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte birçok iyon-seçici elektrot, ölçüm ortamında girişim yapan türlerin bulunması durumunda, seçiciliklerinin düşük olmasından dolayı hatalı ölçüm değerleri okunmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla elektrotlar üzerine yapılan araştırmalarda, girişim yapıcı türlerin ölçüm sonuçlarına etkilerini yok etmeye veya en aza indirmeye odaklanılmıştır. Elektrotlardan elde edilen sinyaller, ortamda girişim yapan türlerin olmaması durumunda gerçeği yansıtır. Bu durum ancak bir n ayırım işleminin ile başarılabilir. ISE'lerin bu şekilde uygulanışına en güzel örnek iyon kromatografi sistemlerinde dedektör olarak kullanımlarıdır. Ancak, iyon kromatografik sistemlerde ISE'lerin etkin olarak kullanılabilmesi spesifik olmalarıyla, ana türden başka hiçbir tre cevap vermemeleriyle mümkün olabilir. Literatürde oldukça yüksek seiciliklere sahip elektrotlar mevcuttur, ancak hiçbir türden etkilenmeyen sadece hedef maddeye cevap sergileyen bir elektrot henüz üretilebilmiş değildir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, iyon seçici elektrotların tek başlarına kullanımının yerine, sensör dizileri şeklinde kullanımının daha doğru analizlerin yapılmasını sağladığı ifade edilmiştir (Legin ve ark., 1999a). Çok sayıda sensörden elde edilen sinyaller, analiz edilen örnek hakkında daha fazla bilgi toplanmasını sağlamaktadır. Sensör dizisinden elde edilen sinyallerin yorumlanarak daha kullanışlı hale getirilebilmesi, farklı kemometrik veri işleme tekniklerinin sensör dizileriyle birlikte kullanılmasıyla mümkün olmuştur.

Sensör dizileri ilk olarak Persaud ve Dodd (1982) tarafından farklı koku karışımlarının tanımlanmasında kullanılmıştır. Bu tür gaz karışımlarının analizinde kullanılan sensör dizileri "elektronik burun" olarak adlandırılmıştır. Daha sonraki yıllarda sıvı zeltiiler için de aynı düşünceden hareketle spesifik olmayan sensörlerden oluşan sensör dizileri oluşturulmuştur. Literatürde herkes tarafından kabul görmese de, büyük bir kesim bu tür sensör dizilerini yaygın olarak "tat snsrleri" ya da "elektronik dil" olarak adlandırmıştır (Vlasov ve ark., 1995). İlk elektronik burun ve elektronik dilin üretilmesinden sonra, sensör dizileriyle birlikte kemometrinin kullanımının sağladığı stnlkler birçok araştırıcının ilgisini çekmiş ve son yıllarda giderek artan sayıda çalışma literatürde yerini almıştır. İyon seçici elektrot (ISE) dizilerinin sulu zeltiilerde çoklu bileşen analizlerinde kullanımıyla ilgili ilk alışma Otto ve Thomas (1985)

tarafından yapılmıştır. Adı geçen araştırmacılar; Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve Mg^{2+} iyonlarının biyolojik numunelerdeki miktarlarını içeren model çözeltilerde analizlerini % 7'den daha az hata oranlarında gerçekleştirmişlerdir. Bu tür örneklerin analizindeki ana problemin, Mg^{2+} ve Na^+ seçici elektrotların, K^+ ve Ca^{2+} iyonları varlığında yetersiz seçiciliklere sahip olduğu ifade edilmiştir. Nikolskii eşitliğindeki standart elektrot potansiyelleri ve seçicilik sabitleri gibi parametreler, kısmi en küçük kareler (PLS) ve çoklu doğrusal regresyon (MLR) yöntemleri kullanılarak, eğim değerleri ise daha önceden seçici oldukları ana iyonun standart çözeltilerinde alınan ölçümler kullanılarak belirlenmiştir. En iyi analiz sonuçları PLS yöntemi kullanıldığında elde edilmiş olup, sensör dizisi kullanımının sensörlerin tek olarak kullanımıyla karşılaştırıldığında önemli avantajlar sağladığı ifade edilmiştir. Forster ve ark. (1991) yüksek seçiciliğe sahip Na^+ , K^+ ve Ca^{2+} -seçici elektrotlar ve bu iyonların hepsine cevap veren katyon duyarlı bir elektrottan oluşan sensör dizisinde Nikolskii-Eisenmann eşitliğini kullanarak simplex optimizasyonu ile bu iyonların analizini gerçekleştirmişlerdir. Aynı çalışmada, sensör dizisinde katyon duyarlı elektrot kullanımının analiz sonuçlarının doğruluk ve hassaslığını artırdığı ifade edilmiştir. Forster ve Diamond (1992) başka bir çalışmada Na^+ , K^+ ve Ca^{2+} -seçici elektrotlar ve iyonoforların karışımlarını kullanarak oluşturdukları bir katyon duyarlı elektrottan oluşan sensör dizisini akış enjeksiyon analiz sisteminde kullanmışlardır. Simplex optimizasyonu ile iyon karışım çözeltilerinde bu iyonların miktarlarını % 2.5-8.0 arasında değişen hata oranlarıyla belirlemişlerdir. Yine benzer bir çalışmada Viteri ve Diamond (1994) AEA tekniğini kullanarak fraksiyonel-faktöriyel deneysel tasarım (fractional factorial experimental design)'a uygun olarak hazırladıkları Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve NH_4^+ iyon karışım çözeltilerinden elde ettikleri sinyalleri simplex optimizasyonu ile değerlendirerek elektrot parametrelerini belirlemişler ve bu parametreleri kalibrasyon işlemlerinde kullanmışlardır. Baret ve ark. (1998, 1999) çok kristalli, tek kristalli ve cam elektrotlardan oluşan sensör dizileri kullanarak halojen iyonlarının sulu iyon karışım çözeltilerinde eş zamanlı kalibrasyonlarını gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmalarda çeşitli tek değişkenli ve çok değişkenli doğrusal kalibrasyon yöntemleri (çoklu doğrusal regresyon, MLR; kısmi en küçük kareler regresyonu, PLS; temel bileşen regresyonu, PCR vb.) kullanılmıştır. Legin ve ark. (1999b) 29 adet potansiyometrik sensörden oluşan bir sensör dizisini Fe^{2+} , Fe^{3+} , U^{4+} ve U^{6+} iyonlarının analizinde kullanmışlardır. Kalibrasyon işleminde yapay sinir ağları (artificial neural networks, ANN) ve PLS

yöntemlerini tercih etmişlerdir. Başka bir çalışmada Legin ve ark. (1999c) geri yayımlı ANN'yi veri işleme yöntemi olarak kullanarak biyolojik sıvıların bileşimlerine uygun olarak hazırlanan model çözeltilerde Mg^{2+} , Ca^{2+} , H_3O^+ , HCO_3^- ve $H_2PO_4^-$ iyonlarının eş zamanlı tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Baret ve ark. (2000) F^- ve Cl^- iyonlarının karışımlarını içeren çözeltilerde F^- , Cl^- ve SCN^- -seçici elektrotlardan oluşan sensör dizisini kullanarak bahsedilen iyonların eş zamanlı olarak ölçümünü gerçekleştirmişlerdir. Veri işleme yöntemi olarak ileri beslemeli ANN'yi kullanmışlardır. Villar ve ark. (2001) farklı iyon seçici elektrotlarla birlikte lizin biyosensöründen oluşan bir sensör dizisini kullanarak hayvansal besin örneklerinde lizin tayinini gerçekleştirmişlerdir. Sensör dizisinden elde edilen sinyallerin değerlendirilmesinde ise PCR, PLS, ANN yada bunların hibritlerinden oluşan kalibrasyon yöntemlerini kullanmışlardır. Rudnitskaya ve ark. (2001) kalkojenit camlardan yapılmış 25 adet spesifik olmayan sensörlerden oluşan bir sensör dizisini ANN yöntemiyle birlikte, zemin sularında bazı ağır metal ve yaygın iyonların analizinde kullanmışlardır. Başka bir çalışmada Mourzina ve ark. (2001) kalkojenit cam temelli ince film tipi kimyasal mikrosensörlerden oluşan bir sensör dizisinde ANN yöntemi kullanarak Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} ve Fe^{3+} gibi ağır metal iyonlarının eş zamanlı tayinini % 15-30 arasında değişen hata oranlarıyla gerçekleştirmişlerdir. Magalhaes ve Machado (2002) idrar örneklerinde kreatinin analizi gerçekleştirmek üzere Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve NH_4^+ seçici elektrotlar ve iki adet kreatinin biyosensörden oluşan bir sensör dizisi kullanmışlardır. PLS1 regresyon tekniğini kullanarak elde ettikleri sonuçların klinik analiz laboratuvarından elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğunu belirtmişlerdir. Saurina ve ark. (2002) PLS regresyonunu kullanarak Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ , Li^+ , Mg^{2+} ve H_3O^+ seçici elektrotlardan oluşan sensör dizisi ile bazı su numunelerinin toplam sertlik derecelerini belirlemeyi başarmışlardır. Gallardo ve ark. (2003) Na^+ ve K^+ iyonlarının varlığında NH_4^+ tayininin doğru olarak gerçekleştirilmesini sağlayan bir potansiyometrik sensör dizisi oluşturmuşlardır. ANN ve bayesçi düzenleme (bayesian regularization) veri işleme tekniklerini kullanarak her bir türün eş zamanlı olarak tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bir başka çalışmada Gallardo ve ark. (2005a) bütünüyle katı-hal iyon seçici elektrotlardan oluşan bir sensör dizisini ANN veri işleme tekniği ile birlikte, atık sularda ve gübre örneklerinde Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının tayininde başarılı bir şekilde kullanmışlardır. Farklı bir çalışmada Gallardo ve ark. (2004) AEA tekniği ile birlikte ANN veri işleme yöntemini kullanan otomatik bir elektronik dil

geliştirmişler ve sistemi girişim yapan bir tür olan Cl^- iyonu varlığında NO_3^- iyonu tayininde kullanmışlardır. Correia ve ark. (2005) Na^+ , K^+ , NH_4^+ seçici elektrotlar ve üç adet üre biyosensörden oluşan potansiyometrik bir sensör dizisini ful-faktöriyel deneysel tasarıma göre hazırlanan kalibrasyon setini kullanarak PCR ve PLS2 regresyonu aracılığıyla kalibre ederek, kan serumunda üre ve K^+ iyonunun eş zamanlı olarak analizini gerçekleştirmişlerdir. Cortina ve ark (2005) akış enjeksiyon analiz sisteminde alkali metal iyonlarının eş zamanlı olarak analizini gerçekleştirmek için bir elektronik dil oluşturmuşlar ve kalibrasyon işleminde ANN tekniğini kullanarak gerçek gübre numunelerinde bu iyonları analiz etmişlerdir. Calvo ve ark (2007a) Mg^{2+} , Ca^{2+} ve Ba^{2+} iyonları için PVC membran elektrotlardan oluşan bir sensör dizisini sıralı enjeksiyon analiz (SIA) sisteminde ANN aracılığıyla kalibre etmiş ve bu iyonlardan Mg^{2+} ve Ca^{2+} 'u değişik maden sularında eş zamanlı olarak analiz etmeyi başarmışlardır. Duran ve ark. (2006) potansiyometrik sensör dizisinden oluşan bir elektronik dilin tasarımını gerçekleştirmişler ve bu elektronik dilin SIA'da LabVIEW6.1 aracılığıyla otomatik olarak kontrolünü sağlayan bir sistem üretmişlerdir. Sistem, tercihe göre sensörlerin durgun ortam veya hareketli ortam cevaplarını elektronik dilin giriş bilgileri olarak kullanabilme özelliğine sahiptir. Geliştirilen sistem kullanım kolaylığı, kısa ölçüm süresi ve tekrarlanabilirlik açısından önemli avantajlar sağlamıştır. Calvo ve ark (2007b) beş tane potansiyometrik sensörden oluşan bir sensör dizisinden elde ettikleri SIA cevaplarına, önce Fourier dönüşümü uygulayıp, daha sonra elde ettikleri katsayıları ANN'nin girdileri olarak kullanarak Na^+ , K^+ ve Ca^{2+} iyonlarının bazı doğal su numunelerinde kantitatif olarak analizini gerçekleştirmişlerdir. Gutierrez ve ark. (2007a) seralarda gübreleme sisteminde üretilen besin çözeltisinin bileşimini ilk defa potansiyometrik sensörlerden oluşan bir elektronik dil kullanarak takip etmişlerdir. Sistem Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Cl^- ve NO_3^- iyonlarının miktarlarını ANN kalibrasyonu ile eşzamanlı olarak izlemeyi mümkün kılmıştır. Gutierrez ve ark (2007b) başka bir çalışmalarında üre biyosensörünü de içeren bir potansiyometrik sensör dizisini PLS regresyon yöntemini kullanarak kalibre etmiş ve gerçek idrar numunelerinin Na^+ , K^+ , NH_4^+ ve üre içeriklerini tayin etmişlerdir. Correia ve ark. (2008) Üre, K^+ ve Na^+ -seçici sensörlerden oluşan bir potansiyometrik sensör dizisinde PLS2 kalibrasyonunu kullanarak, kan serumunda eş zamanlı olarak üre ve K^+ tayinlerini % 13 ve % 5 hata oranlarında gerçekleştirmişlerdir. Gutierrez ve arkadaşları (2008a) bir diğer çalışmalarında topraksız sera sistemlerinde besin çözeltisinin bileşimlerinin yaz ve kış

olmak üzere farklı dönemlerde izlenmesinde, önceki çalışmalarıyla karşılaştırıldığında daha fazla sayıda türün izlenmesine olanak tanıyan bir elektronik dil sistemi kullanmışlardır. Çalışmada verilerin işlenmesi ve değerlendirilmesinde ANN kullanılmıştır. Gutierrez ve arkadaşları (2008b) yaptıkları bir diğer çalışmada üre ve kreatinin biyosensörleri de içeren bir biyoelektronik dili ANN ile kalibre etmişler ve idrar numunelerinde eş zamanlı olarak Na^+ , K^+ , NH_4^+ , üre ve kreatinin tayininin gerçekleştirmişlerdir. Gutierrez ve arkadaşları (2008c) önceki çalışmalarının daha ileri bir aşaması olarak, çevresel kirliliklerin uzaktan izlenmesine olanak tanıyan, potansiyometrik sensörlerden oluşan gelişmiş bir elektronik dil sistemi üretmişlerdir. Sensörlerden okunan sinyaller radyo dalgaları aracılığıyla uzaktan bilgisayarlara aktarılmış ve toplanan veriler ANN ile değerlendirilmiştir. Rudnitskaya ve ark (2008) potansiyometrik PVC membran ve kalkojenit camlardan meydana gelen bir sensör dizisi kullanarak PLS kalibrasyonu ile Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} ve Pb^{2+} ağır metallerinin çok düşük aktivitelerini suni deniz sularında ölçebilmişlerdir. Potansiyometrik sensör dizilerinin başka bir uygulamasında Ciosek ve ark. (2008) PLS kalibrasyonunu kullanarak diyaliz sıvılarının üre ve kreatinin içeriğini tayin etmişlerdir. Calvo ve ark. (2008) otomatik bir SIA sisteminde sekiz adet potansiyometrik sensörden elde ettikleri kısa süreli cevapları ANN veri işleme yöntemiyle birlikte kullanarak Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ ve K^+ iyonlarının kantitatif tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Sensörlerden elde edilen sinyaller ANN'nin girdisi olarak kullanılmadan önce hızlı fourier dönüşüm işlemine tabi tutulmuştur. Gismera ve ark. (2009) Cu^{2+} , Hg^{2+} ve Ag^+ ağır metallerinin dış dolgularındaki miktarlarını eş zamanlı olarak ölçmek için PLS ve ANN yöntemlerini dört adet potansiyometrik sensörden oluşan bir sensör dizisi ile birlikte kullanmışlardır.

Kantitatif analizlerin dışında kalitatif analizlerde de potansiyometrik sensör dizileri yaygın olarak kullanılmıştır. Potansiyometrik sensör dizileri; tahılların kalitelerine göre sınıflandırılması (Stetter ve ark., 1993), meşrubatların türlerine göre sınıflandırılması (Lvova ve ark., 2002; Ciosek ve ark., 2004; Ciosek ve ark., 2006; Ciosek ve Wroblewski, 2007), farklı meyve sularının markalarına göre sınıflandırılması (Ciosek ve ark., 2007), doğal kahve, siyah çay ve farklı tür yeşil çayların birbirinden ayrılması (Lvova ve ark., 2003, Gallardo ve ark., 2005b), meyve kalitelerinin izlenmesi (Jawaheer ve ark., 2003), alkollü içeceklerin kalitelerinin değerlendirilmesi (Legin ve ark., 2005), meme iltihabı içeren ve içermeyen inek sütlerinin sınıflandırılması (Mottram ve ark., 2007), maden sularının sınıflandırılması (Moreno ve ark., 2006),

farklı biraların markalarına göre sınıflandırılması (Ciosek ve Wroblewski, 2006) gibi uygulamalarda kalitatif amaçlı kullanılmıştır.

Yukarıda verilen bilgiler ışığında, kemometrinin sağladığı kazanımlar ve konunun güncelliği göz önünde bulundurularak bu tez çalışmasının amaçları maddeler halinde aşağıda verilmiştir:

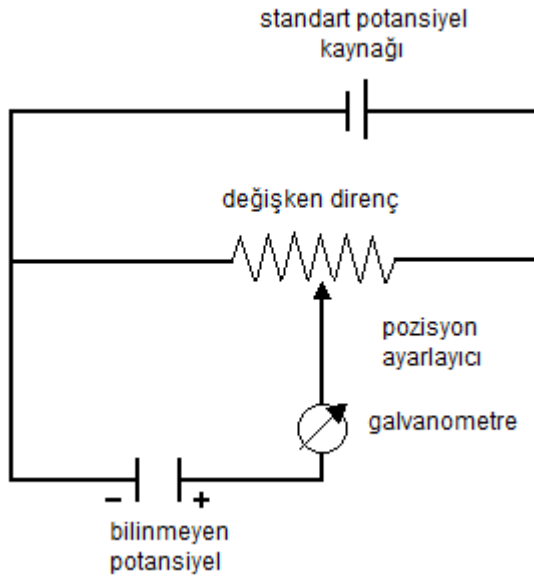
- ✓ Mikro boyutlarda bütünüyle-katı-hal kontakt iyon-seçici elektrotlar üretmek,
- ✓ Üretilen sensörleri kullanarak sensör dizileri tasarlamak,
- ✓ Düşük ölü hacimli akış hücreleri tasarlamak,
- ✓ Sensörlerin çok değişkenli kalibrasyonunu gerçekleştirmek için kullanılacak uygun deneysel tasarım çözeltileri hazırlamak,
- ✓ Sensör dizilerini çok kanallı bir potansiyometrede kullanarak durgun ortam ve hareketli ortam sinyallerini eşzamanlı olarak kaydetmek,
- ✓ Elektrotlardan elde edilen durgun ortam veya hareketli ortam sinyalleri için, gerek doğrusal (MLR, PCR, PLS) gerekse doğrusal olmayan (ANN) kalibrasyon metotları kullanılarak kalibrasyon modelleri türetmek, elde edilen kalibrasyon modellerinin tahmin güçlerini birbirleriyle karşılaştırmak,
- ✓ Tahmin gücü en iyi olan modelleri belirlemek,
- ✓ Sensör dizileri aracılığıyla çevresel su numunelerinin analizlerini yapmak,
- ✓ Analiz sonuçlarını, referans metot olarak seçilen iyon kromatografik sonuçlarla karşılaştırmak.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Potansiyometri

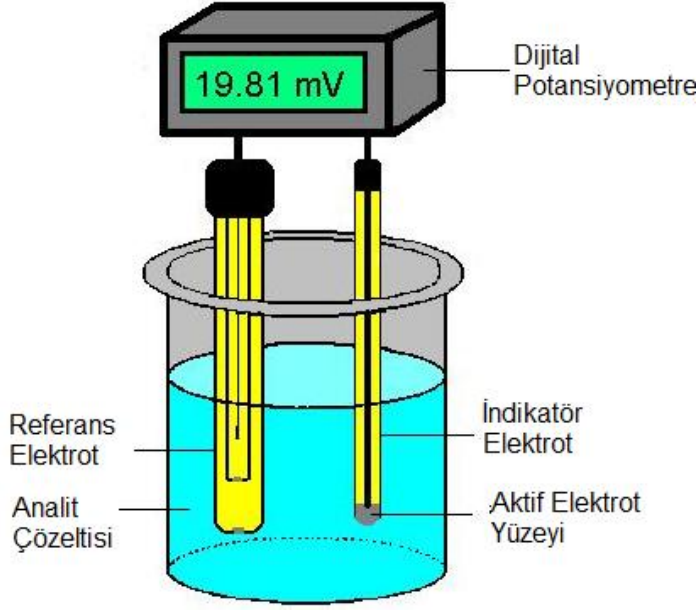
Potansiyometri; akımın çok az geçtiği sistemlerde, indikatör elektrotla referans elektrot arasında ortamdaki iyonların aktivitelerine bağlı olarak değişen potansiyel farkın ölçüldüğü elektrokimyasal bir tayin yöntemidir.

Şekil 2.1’de herhangi bir potansiyometrenin çalışma prensibini ifade eden elektriksel bir devre şematik olarak gösterilmiştir. Değişken direnç ayarlanarak, standart potansiyelin bilinen kısmı bilinmeyen potansiyele karşı işaretlenir. İki potansiyel eşit olduğu an, galvanometreden herhangi bir akım geçmez. Böylece bilinmeyen potansiyel, değişken direncin pozisyonundan okunabilir.



Şekil 2.1. Potansiyometrenin çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi

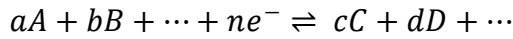
Potansiyometrik sistem, bir test hücresi (elektrolitik çözelti), buna bağlantılı olan indikatör elektrot (değişken potansiyel) ve karşılaştırma elektrotu (sabit potansiyel) ile yüksek empedanslı bir potansiyometreden oluşur. Şekil 2.2’de basit bir potansiyometrik sistem görülmektedir.



Şekil 2.2. Basit bir potansiyometrik sistem

2.1.1. Potansiyometri Tekniğinin Tayin İlkesi

Membran kaplı bir iyon seçici elektrotta, iyon-seçici membran iç standart ve test çözeltisindeki iyonları birbirinden ayırır. Elektronlar, iyonlar veya test edilen iyonun yüklü ya da nötral kompleksleri, membranın iç kısımlarına doğru iç standart çözeltinin kompozisyonuyla orantılı olarak taşınırlar. Böylece oluşan faz sınır potansiyeli (Wang, 2001), standart referans elektrot yarı hücresiyle membran elektrot yarı hücresi birleştirilerek ölçülür.



tersinir yarı reaksiyonu ele alındığında, bir elektrotun potansiyel farkı (E), Nernst (Nernstian) Eşitliğiyle verilmektedir.

$$E = E^0 - \frac{R.T}{n.F} \ln \frac{[C]^c \cdot [D]^d \dots}{[A]^a \cdot [B]^b \dots} \quad (2.1)$$

E = İndikatör elektrot potansiyeli

E° = Standart elektrot potansiyeli

R = Gaz sabiti, 8.314 J.mol⁻¹.K⁻¹

T = Sıcaklık, Kelvin (0 °C, 273.15 K)

F = Faraday sabiti (96486 J.volt⁻¹)

$[A]$, $[B]$, $[C]$ ve $[D]$ = Elektrotta hissedilen iyon aktiviteleri

a , b , c ve d = yarı reaksiyonda yer alan her bir türün mol sayısı

n = Alınan-verilen elektron sayısı veya membrandaki aktif iyon yüküdür.

a_i , iyon aktivitesi olmak üzere, eşitlik tek bir iyon için yazılırsa, Eşitlik 2.2'ye dönüşür.

$$E = E^0 \pm \frac{R.T}{n.F} \ln a_i \quad (2.2)$$

$(\pm)$; Anyonlar için (-), katyonlar için (+)

Eğer iyon aktivitesi a_1 'den a_2 'ye değişirse potansiyel değişimi Eşitlik 2.3'teki gibi olur.

$$E = E^0 \pm \frac{R.T}{n.F} \ln \frac{a_2}{a_1} \quad (2.3)$$

Eşitlik 2.4'e göre, çözeltide iyon aktivitesinin değişiminden kaynaklanan elektrot cevabı logaritmik olarak gözlenir.

$$E = E^0 \pm \frac{2,303.R.T}{n.F} \log \frac{a_2}{a_1} \quad (2.4)$$

Eğer ölçümler 25°C de alınırsa, sabit sayılar yerine yazıldığında Nernst Eşitliği aşağıdaki forma dönüşür.

$$E = E^0 \pm \frac{0,0592}{n} \log \frac{a_2}{a_1} \quad (2.5)$$

Buna göre 25°C de E-log a ilişkisinin teorik değişimi n yüklü iyonlar için 59.2/ n mV'tur. Bu değişim genel olarak katyonlar için pozitif anyonlar için negatiftir. Dolayısıyla tek yüklü, iki yüklü ve üç yüklü iyonlar için bu değer sırasıyla 59.2, 29.6, ve 19.8 mV'tur (Buck ve Lindner, 1994).

İyon-seçici bir elektrotun kullanıldığı potansiyometrik ölçüm hücresi şematik olarak aşağıdaki gibi gösterilebilir.

İç referans elektrot / İç referans çözelti // İyon-seçici membran // Test çözeltisi / Dış referans elektrot,

veya;

İç referans elektrot (bakır tel) / Katı-hal kontakt // İyon-seçici membran // Test çözeltisi / Dış referans elektrot

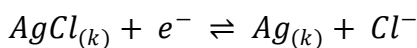
2.1.2. Referans Elektrotlar

Bir potansiyometrik hücrede kullanımı sırasında potansiyeli değişmeden kalabilen elektrotlara “karşılaştırma elektrotu” denir. Bu elektrotlara “standart elektrotlar” veya “referans elektrotlar” da denir. Diğer bir deyişle elektrot potansiyeli tam olarak bilinen bir yarı hücredir. Referans elektrotların potansiyeli, üzerinde çalışma yapılan çözeltiye bağlı değildir. Potansiyel incelenen çözeltide bulunan analitin veya diğer iyonların konsantrasyonundan etkilenmez. Fakat, sıcaklıkta meydana gelen değişimler referans elektrotların potansiyellerinde bir miktar değişmeye neden olur. Referans elektrotlarda bulunan iç çözelti seviyelerinin ölçüm esnasında numune çözeltisinin seviyesinden daha yüksekte tutulması önerilmektedir. Çünkü numuneden gelen bazı iyonlar elektrot içerisine difüze olarak Ag^+ veya Hg_2^{2+} iyonlarıyla çökelek oluşmasına neden olabilmektedir. Bundan kaynaklanan hataların en aza indirilmesi için çift bölmeli referans elektrotların kullanılması önerilmektedir (Settle, 1997).

2.1.2.1. Gümüş/Gümüş Klorür Referans Elektrot

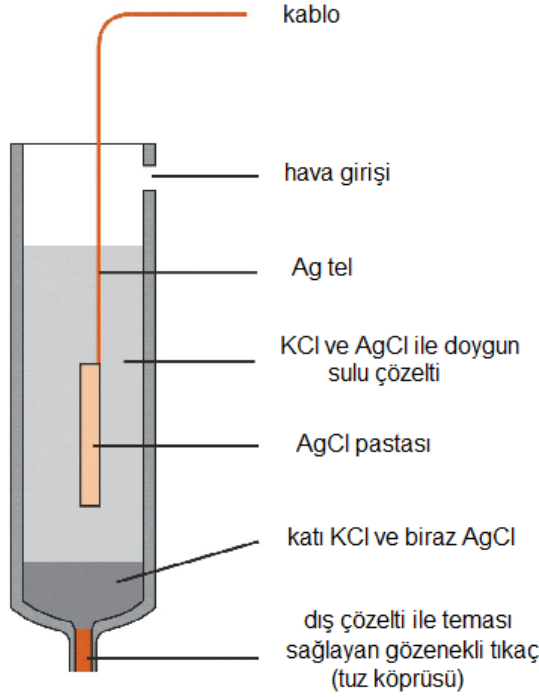
Bir gümüş telin yüzeyinin elektrokaplama yoluyla AgCl ile kaplanmasıyla üretilir. Elektrot derişik KCl çözeltisine yerleştirildiğinde standart hidrojen elektroduna karşı 25 °C sıcaklıkta 198 mV’luk bir potansiyel üretir. Üretilen potansiyel, Nernst eşitliği ile de tanımlandığı gibi, çözeltinin klorür konsantrasyonu tarafından belirlenir (Eşitlik 2.6).

Klorür konsantrasyonu sabit kaldığı müddetçe elektrotun potansiyeli de sabit kalır.



$$E = E_{AgCl/Ag}^0 - 0.0592 \log [Cl^-] \quad (2.6)$$

KCl bu elektrotta en çok kullanılan elektrolittir. Çünkü pH ölçümlerinde girişim yapmaz ve potasyum iyonu ile klorür iyonunun mobiliteleri neredeyse birbirine eşittir. Elektrotun hücre ile bağlantısını gözenekli bir tuz köprüsü sağlamaktadır. Tipik bir Ag/AgCl elektrot Şekil 2.3'te görülmektedir.

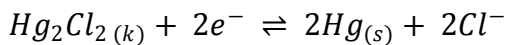


Şekil 2.3. Ag/AgCl referans elektrot

Basit, ucuz, kararlı, toksik etkisinin olmaması, üretiminin kolaylığı ve 275 °K'lık sıcaklıkları bile kapsayan geniş bir sıcaklık aralığında kullanılabilmesinden dolayı en yaygın kullanılan referans elektrottur. Ayrıca çok küçük ebatlarda üretilmesi de toksik civa içeren kalomel elektroda karşı en önemli üstünlüklerinden biridir. Ancak, Ag/AgCl elektrotta çözeltilerle temas eden tuz köprüsünün çözünmeyen gümüş kompleksleri ile tıkanma eğilimi en önemli dezavantajlardan birisidir (Harvey, 2000).

2.1.2.2. Kalomel Referans Elektrot

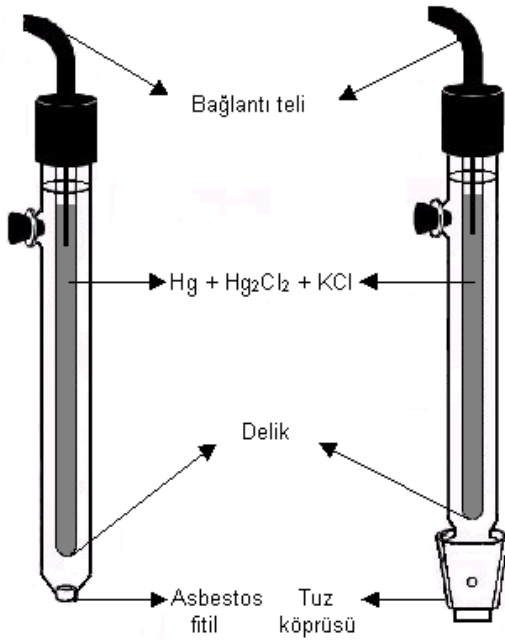
Kalomel elektrot standart hidrojen elektrotuna karşı 25 °C sıcaklıkta yaklaşık 244 mV potansiyel oluşturan bir civa/civa klorür hücresidir. Elektrotta gerçekleşen reaksiyon şu şekildedir:



Eşitlik 2.7’den de anlaşılabacağı gibi yarı hücre potansiyeli, klorür iyonu derişimine bağıdır.

$$E = E_{Hg_2Cl_2/Hg}^0 - 0.0592 \log [Cl^-] \quad (2.7)$$

KCl yönünden doymun iç referans çözeltisinin kullanıldığı kalomel elektrota, “doymun kalomel elektrot” denir. Doymuş KCl çözeltisi kullanılmasıının avantajı bir miktar sıvı buharlaşsa dahi klorür konsantrasyonunun değişmemesidir. Tipik bir kalomel elektrot Şekil 2.4’te görölmektedir.



Şekil 2.4. Kalomel referans elektrotun yapısı

Sıcaklıktan etkilenme oranı gümüş/gümüş klorür referans elektrota göre daha fazladır. Bu yüzden 80 °C’nin üzerindeki sıcaklıklarda tercih edilmez (Harvey, 2000). Ayrıca, içerdği cıvanın toksik olması da önemli bir dezavantajdır. Gümüş/gümüş klorür referans elektrota göre kirlenmeye daha az eğilimlidir. Çünkü cıva/cıva klorür ara yüzey bir tüpün içerisinde muhafaza edilir ve doğrudan elektrolitle temas halinde değildir.

2.1.2.3. Diğer Tip Referans Elektrotlar

Son yıllarda gelişen mikro üretim teknikleri iyon-seçici elektrotların mikro boyutlarda üretimini mümkün kılmıştır. Ancak; mikro boyutlarda iyon seçici elektrot sistemlerinin üretimi, klasik referans elektrotların özelliklerine sahip mikro boyutlarda uygun referans elektrotların üretilmemesi nedeniyle bazı sıkıntılarla karşı karşıyadır. Bu nedenle, son yıllarda mikro referans elektrotların üretilmesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Kullanımda olan mevcut mikro referans elektrotlar genel olarak bir Ag/AgCl elektrotun, içerisine elektrolit dope edilmiş polimerik bir maddeyle kaplanması (Nolan ve ark., 1997; Maminska ve ark., 2006; Kisiel ve ark., 2007) ya da elektrolit içeren bir hidrojele daldırılmasıyla hazırlanmaktadır. Kullanılan hidrojelın bir ucu sıvı temasını sağlayan hidrofobik bir membranla kaplanmaktadır. Ramires ve ark. (2005), bakır tel yüzeyine grafit epoksi karışımı uygulayarak kompozit bir referans elektrot üretmişlerdir. Maminska ve Wroblewski (2006), Ag/AgCl'nin yüzeyini önce poliHEMA ile kaplayıp 0.01 M KCl çözeltisinde koşullandırdıktan sonra, yapısında lipofilik tuz içeren PVC ile kaplayarak bir mikro referans elektrot hazırlamışlardır. PVC membrana eklenen lipofilik tuzun büyük anyon ve katyonlardan oluşmasının, elektrot sinyaline çözeltideki iyonik türlerden gelen etkileri azalttığı böylece sabit ve kararlı bir potansiyel üretilmesine katkı sağladığı ifade edilmiştir. Fakat, uzun süreli sabit ve kararlı potansiyele sahip mikro referans elektrotlar henüz üretilmemiştir. Bu tür elektrotların hazırlanması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

2.1.3. İyon Seçici Elektrotlar

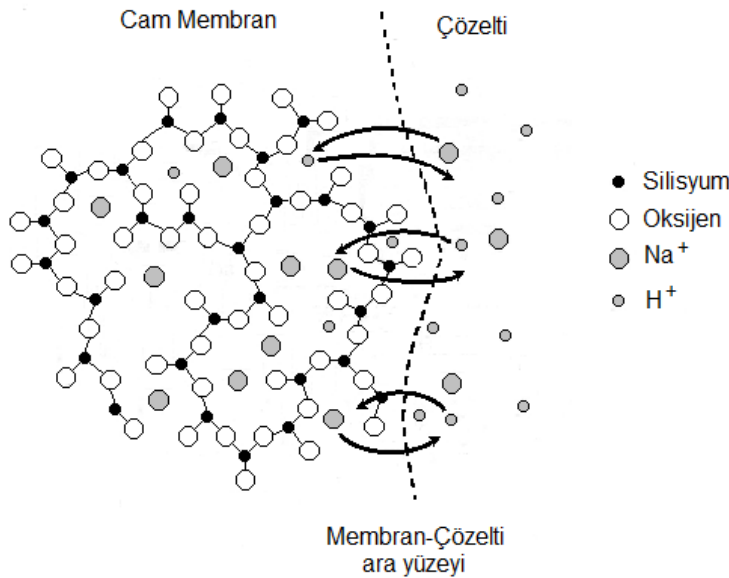
İyon-seçici elektrotlar (ISE), farklı iyonların varlığında seçici oldukları iyonların aktivitelerinin potansiyometrik olarak belirlenmesine imkan veren elektrokimyasal sensörler olarak tanımlanır. ISE'ler ile ölçümler genellikle sulu çözeltilerde yapılmaktadır (Morf, 1981). Bu sensörlerin yüklü türlere karşı cevabı; cam, katı kristal, seramik veya polimer gibi farklı maddelerden hazırlanan iyon seçici membranlar tarafından oluşturulur (Johnson ve Bachas, 2003). İyon-seçici elektrotlar, serbest iyonun aktifliğine duyarlıdır. İyonik şiddet sabit tutulursa konsantrasyon aktiflikle doğru orantılı olduğundan ISE ile konsantrasyonlar ölçülmüş olur. Bununla birlikte, hiçbir elektrot sadece tek bir iyonla cevap vermez, fakat bir iyonla karşı bilinen bir seçicilik gösterir. Sensörlerin seçici

özellikleri ya membranı oluşturan materyalin yapısı, ya da ölçülecek türe özgü kompleks oluşturuju ajanların membranın yapısına katılmasıyla ortaya çıkar. İyon-seçici elektrotlar genel olarak aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

- ✓ Cam iyon-seçici elektrotlar
- ✓ Kaplama tel elektrotlar
- ✓ Katı-hal iyon-seçici membran elektrotlar
- ✓ Gaz ve enzim elektrotlar
- ✓ Sıvı-membran iyon-seçici elektrotlar (polimer-membran elektrotlar)
- ✓ Kompozit elektrotlar

2.1.3.1. Cam İyon Seçici Elektrotlar

Cam elektrotlar, seçici membranın ince bir cam parçası olduğu iyon seçici elektrotlardır. Cam elektrotun seçiciliğı camın kimyasal bileşimine bağıdır Cam elektrotlar genel olarak H^+ iyonuna karşı duyarlılıklarıyla tanınırlar. H^+ iyonuna duyarlı bir cam elektrotta membran-çözelti ara yüzeyindeki iyon değışim mekanizması Şekil 2.5'te şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Membran-çözelti ara yüzeyindeki iyon değışimi (cam membran)

Konsantrasyonları farklı iki asit çözeltisi özel olarak hazırlanmış bir cam membran ile ayrılırsa, protonlar cam membranın silikat yapısındaki hareketli sodyum iyonlarıyla yer değiştirir. Böylece membranın iç ve dış yüzeyindeki H^+ konsantrasyonunun değişimiyle bir potansiyel farkı oluşur. Oluşan bu potansiyel farkı ölçülerek Nernst eşitliğinden H^+ konsantrasyonu hesaplanabilir. Buna göre, pH ile potansiyel fark arasındaki ilişki Eşitlik 2.8’de ifade edildiği gibidir.

$$E_H = k(sbt) - 0.0592.pH \quad (2.8)$$

Bununla birlikte, değişik cam kompozisyonları denenerek tek yüklü katyonlara (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) duyarlı cam elektrotlar da üretilmiştir. Bu cam membranlar; Al_2O_3 , B_2O_3 , SiO_2 , Na_2O , Li_2O , K_2O , GeO_2 , Rb_2O , Cs_2O , CaO gibi metal oksitlerin değişik kombinasyonlarının farklı oranlarda biraraya getirilmeleriyle hazırlanmıştır. Örneğin, Eisenman ve ark. (1957) Na^+ ve K^+ -seçici cam elektrotların bileşimlerini % mol cinsinden sırasıyla $SiO_2-Al_2O_3-Na_2O$ (71:18:11) ve $SiO_2-Al_2O_3-Na_2O-CaO$ (63:7:27:3) olarak belirtmişlerdir. Eisenman (1962)’ın bildirdiğine göre Schiller (1924) camın yapısındaki Al_2O_3 ya da B_2O_3 oranının artmasının camın hidrojen iyonu yanında Na^+ iyonuna karşı da duyarlılığının artmasına sebep olduğunu ifade etmiştir. Eisenman başka bir çalışmada K^+ ve H^+ iyonlarına karşı en iyi Na^+ -seçiciliğinin lityum-alümino-silikat sisteminde elde edildiğini ve membranın Na^+ iyonuna, K^+ iyonundan 100000 kat daha seçici davrandığını ifade etmiştir (Eisenman, 1962). Abe ve ark. (1997) yaptıkları bir çalışmada sodyum-alümina-silikat sistemlerinde mol cinsinden Na_2O/Al_2O_3 oranı 1 olduğunda elektrotun düşük Na^+ konsantrasyonlarında bile iyi bir potansiyometrik cevap sergilediğini ifade etmişlerdir.

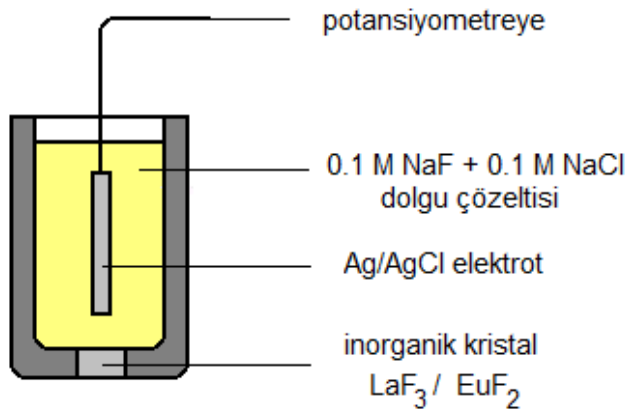
2.1.3.2. Kaplama Tel Elektrotlar

Bazı polimer veya sıvı membranların bir metal tel üzerine doğrudan kaplanmasıyla bu tip indikatör elektrotlar hazırlanabilmektedir (Cattrall ve ark., 1974; Abe ve Kokufuta, 1990; Ardakani ve ark., 2003; Ardakani ve ark, 2007; Broncova ve ark., 2008). Burada kaplama genellikle Pt, Ag, Cu veya Ag/AgCl yüzeyin üzerine yapılmaktadır. Bu tür elektrotlardaki en önemli sıkıntılardan bir tanesi, kaplanan membranın metal yapı ile uyumsuzluğundan dolayı metal yüzeyine iyi yapışmamasıdır.

2.1.3.3. Katı-Hal İyon-Seçici Membran Elektrotlar

Bu tür elektrotlar, özel yöntemlerle hazırlanan iyonik kristallerden ibarettir. Katı-hal veya kristal membran iyon-seçici elektrotlarda, katı materyal, iç çözelti ile dış çözelti arasında bir iyon seçici zar gibi davranır.

Bu tip elektrotların herhangi bir iyon duyarlılığı, bu iyonun membran matriksi içinde bağıl hareketliliğine ve membranın iyon değişim kapasitesine bağlıdır. Şekil 2.6'da, 1969 yılından beri kullanılan F^- -seçici katı-hal kristalin elektrotun şematik yapısı görülmektedir. Bu elektrotta membran olarak içerisinde EuF_3 dope edilmiş LaF_3 kristali kullanılmıştır. Ayrıca bu sınıf elektrotlarda sülfür seçici elektrotta olduğu gibi bazı az çözünür tuzların (Ag_2S) preslenmiş peletleri de membran olarak kullanılabilir (Eggins, 2007).



Şekil 2.6. F^- iyonu seçici katı-hal kristalin elektrot

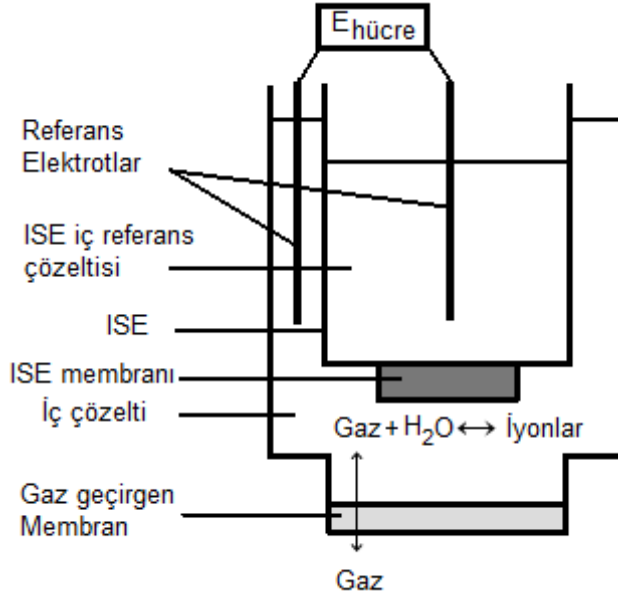
Çizelge 2.1'de bazı katı-hal membran iyon-seçici elektrotlar ve seçici oldukları iyonlar için çalışma aralıkları verilmiştir.

Çizelge 2.1. Bazı katı-hal iyon-seçici elektrotlar ve çalışma aralıkları (Fry ve Langley, 2001)

Ölçülen İyon	Membran	Ölçüm Aralığı, M	Ölçülen İyon	Membran	Ölçüm Aralığı, M
F^-	LaF_3	$Doygun-1.10^{-7}$	Ag^+	Ag_2S	$Doygun-10^{-8}$
Cl^-	$AgCl$	$1-10^{-5}$	Cd^{2+}	CdS/Ag_2S	$10^{-1}-10^{-7}$
Br^-	$AgBr$	$1-10^{-6}$	Cu^{2+}	CuS/Ag_2S	$1-10^{-9}$
I^-	AgI	$1-10^{-8}$	Pb^{2+}	CuS/Ag_2S	$10^{-1}-1.10^{-7}$
SCN^-	$AgSCN$	$1-10^{-5}$			

2.1.3.4. Gaz ve Enzim Elektrotlar

Gaz duyarlı ve enzim esaslı elektrotlar, genellikle yaygın bir elektrotun yüzeyine ilave bir membranın kaplanmasıyla hazırlanır. Şekil 2.7'de gaz-duyarlı bir elektrotun yapısı şematik olarak verilmiştir.



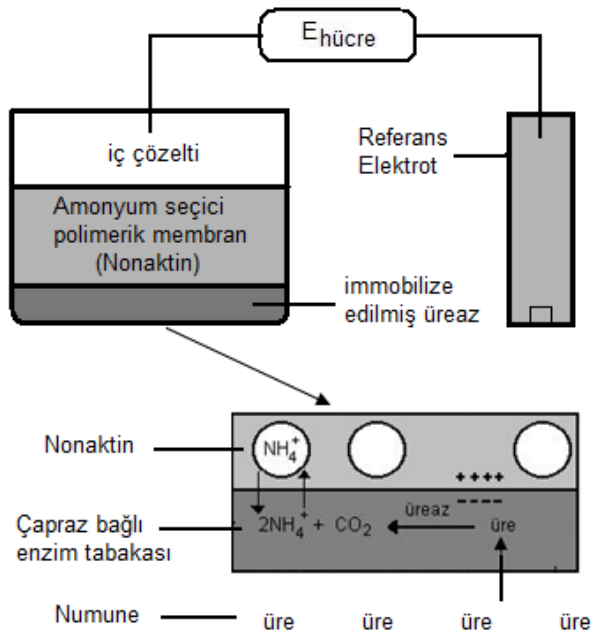
Şekil 2.7. Gaz duyarlı bir elektrot

Bu elektrot kauçuk, teflon veya polietilenden yapılmış yarı geçirgen bir zarla kaplanmış normal bir cam pH elektrottan ibarettir. Elektrolit çözeltisine daldırılmış gümüş/gümüş klorür elektrot referans görevi görür. Örneğin, CO₂ duyarlı bir elektrotta yarı geçirgen zardan CO₂ elektrolit çözeltisine doğru difüzlendiğinde, elektrolitin pH'sını değiştirir. Cam elektrotun pH değişimine cevabı ölçülerek CO₂ tayini yapılır. NH₃, SO₂, H₂S ve NO_x (azot oksitler) gibi diğer asidik ve bazik gazlar da benzer şekilde tayin edilebilmektedir. Bu elektrotlar, çoğunlukla gaz fazındaki veya çözeltide çözünmüş gazları ölçmek için kullanılmaktadır. Bazı gaz duyarlı potansiyometrik sensörler ve sensörlerde meydana gelen denge reaksiyonları Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Bazı gaz duyarlı potansiyometrik sensörler ve sensörlerde gerçekleşen denge reaksiyonları (Ross ve ark., 1973)

Gaz	Denge Reaksiyonu	Duyarlı Elektrot
NH ₃	$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^-$	pH
SO ₂	$SO_2 + H_2O \rightleftharpoons HSO_3^- + H^+$	pH
HCN	$Ag(CN)_2^- \rightleftharpoons 2CN^- + Ag^+$	pAg
HF	$HF \rightleftharpoons H^+ + F^-$	pF
H ₂ S	$H_2S \rightleftharpoons 2H^+ + S^{2-}$	pS
CO ₂	$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$	pH
NO ₂	$2NO_2 + H_2O \rightleftharpoons NO_3^- + NO_2^- + 2H^+$	pH, pNO ₃

Biyolojik önem taşıyan bazı türlerin tayini için enzimlerin kullanıldığı biyosensörler de üretilmiştir. Bu tür biyosensörler çoğunlukla ölçüm çözeltisindeki maddenin reaksiyonunu katalizleyen bir enzimin, yaygın olarak kullanılan bir membran elektrotun yüzeyine kaplanmasıyla üretilir. Reaksiyon ürünü elektrotla izlenerek tayinler gerçekleştirilir (Covington, 1974). Üre tayininde kullanılan bir enzim elektrotun yapısı ve ölçüm mekanizması şematik olarak Şekil 2.8’de görülmektedir.



Şekil 2.8. Üreye duyarlı bir enzim elektrotun yapısı

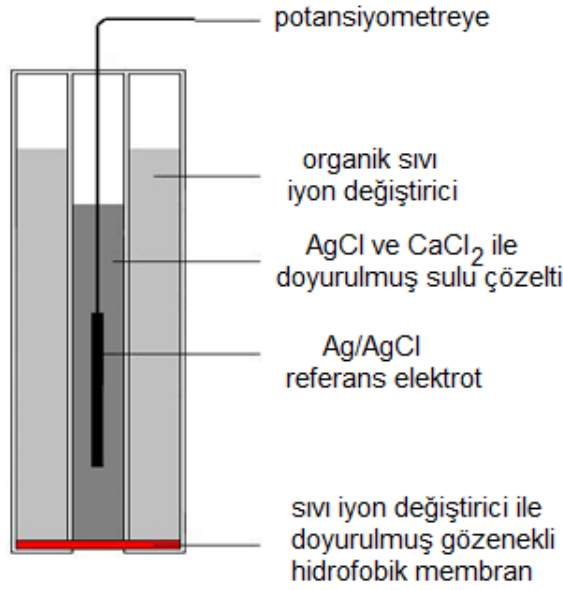
Çizelge 2.3’de bazı biyosensörler, biyosensörlerin yapısında kullanılan enzimler, tayinlerin dayandığı kimyasal reaksiyonlar ve enzimin yüzeyine kaplandığı temel elektrotlar özetlenmiştir.

Çizelge 2.3. Literatürde çalışılmış olan bazı enzim sensörler ve özellikleri

Tayin Edilen Tür	Enzim	Enzim Reaksiyonu	Duyarlı Elektrot	Referans
Üre	Üreaz	$\text{Üre} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}^+ \rightleftharpoons 2\text{NH}_4^+ + \text{HCO}_3^-$	NH_4^+	(Karakuş ve ark., 2005)
Glikoz	Glikozoksidaz	$\text{DGlukoz} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{D - Glukano 1,5 - lakton} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{DGlukanat} + \text{H}^+$	pH	(Tinkiliç ve ark., 2002)
Ürik Asit	Ürikaz, katalaz	$\text{Ürik asit} + \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Allantoin} + 2\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	pH	(Liao ve ark., 2006)
Lisin	Lisinoksidaz	$\text{Lisin} + \text{O}_2 \rightleftharpoons 2 - \text{aminokaproik asit} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	NH_4^+	(Saurina ve ark., 1998)
Kreatinin	Kreatinin iminohidrolaz	$\text{Kreatinin} \rightleftharpoons \text{NH}_3 + \text{Kreatin}$	NH_4^+	(Radomska ve ark., 2004)
Laktat	Laktat Dehidrojenaz	$\text{Laktat} + \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} + 2\text{H}^+$	Redoks	(Shinbo ve Sugiura, 1979)
Penisilin	Penisilinaz	$\text{Penisilin} \rightleftharpoons \text{Penisiloid asit} + \text{H}^+$	pH	(Koncki ve ark., 1996)

2.1.3.5. Sıvı-Membran İyon-Seçici Elektrotlar

Sıvı esaslı iyon-seçici elektrotların çalışma prensibi katı-hal ve cam elektrotların çalışma prensibi ile benzerdir. İyon miktarıyla ilişkili bir membran potansiyelinin oluşabilmesi için, membranın her iki yüzeyinde bir iyon değişim dengesi mevcut olmalıdır ve potansiyelin ölçülebilmesi için membrandan çok küçük bir elektrik akımının herhangi bir şekilde geçebilmesi gerekir. Cam elektrotta bu akım, cam içerisindeki hareketli H^+ iyonları ile taşınır. Sıvı membranlarda ise akım, membran içinde hareketli anyon veya katyonlar vasıtasıyla taşınır. Klasik bir sıvı-membran iyon seçici elektrot Şekil 2.9’da görülmektedir.



Şekil 2.9. Sıvı-membran iyon seçici bir elektrotun şematik gösterimi

Literatürde mevcut olan bazı sıvı membran iyon seçici elektrotlar ve özellikleri Çizelge 2.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 2.4. Bazı sıvı membran iyon seçici elektrotlar ve özellikleri

ISE	Doğrusal Çalışma aralığı, (M)	İyon değiştirici	Plastikleştirici	pH aralığı	Girişim yapan türler	Referanslar
Ca^{2+}	8×10^{-7} - 10^{-1}	Dimetil 1-(4-nitrobenzill)-8-okso-2,8-dihidro-1H-pirazolo[5,1a]izindol-2,3-dikarboksilat	Nitrofenil oktileter (NPOE)	3-11	K^+ , Ba^{2+}	(Zamani ve ark., 2006)
Na^+	3×10^{-5} - 10^{-1}	N,N-dialkil-sim-dibenzo-16-crown-5-oksiasetamit	Dioktil sebakat (DOS)	2-9	K^+	(Ohki ve Maeda, 1994)
NO_3^-	5×10^{-6} -1	Trioktilmetil amonyum klorür	Dibütilftalat (DBP)	2-9.5	Salsilat, I^- , Br^- , SCN^- , CN^-	(Ardakani ve ark., 2004)
ClO_4^-	10^{-6} -1	2,2'-[1,2-etandil-bis(nitriloetilidin)]-bis-fenolato uranil	Dibütilftalat (DBP)	3.5-12	Cl^- , F^- , NO_2^- , HCO_3^-	(Ardakani ve ark., 2005)
I^-	10^{-6} - 10^{-1}	bis(2-merkaptobenzotiazolato) civa(II)	Dibütilftalat (DBP)	2.5-11	SCN^- , NO_2^- , ClO_4^-	(Amini ve ark., 2003)

Sıvı membranlar değişik bileşenlerin uygun oranlarda bir araya getirilmesiyle oluşturulmaktadır. Bu bileşenlerin tamamı sıvı membranın yapısında bulunabilirken, bazı membran yapılarında bileşenlerden bazılarının kullanılmadığı durumlara da rastlamak mümkündür. Bu bileşenleri ve özelliklerini kısaca şu şekilde açıklayabiliriz:

Polimer Matriks; Polimer matriksler, içerisinde iyonofor maddelerin katılmasıyla birçok farklı türe seçici elektrotların oluşturulmasında kullanılmaktadırlar. Polimer yapı membrana mekanik kararlılık sağladığı gibi biyolojik uyumluluk, tutunma gibi ekstra özellikler de kazandırır. ISE hazırlamada kullanılan polimerlerin taşıması gereken önemli özelliklerden birisi camsı geçiş sıcaklıklarının oda sıcaklığının altında olmasıdır (Fiedler ve Ruzicka, 1973). Silikon (Tsujimura ve ark., 1996), bazı metakrilatlar (Qin ve ark., 2002) ve poliüretanlar (Yun ve ark., 1997) bu özelliği taşıyan polimerlerler olarak belirtilseler de, en yaygın kullanılan polimer PVC'dir. PVC kullanılarak hazırlanan membranlarda plastikleştirici kullanılması gerekmektedir. PVC membranların hazırlanmasında PVC:plastikleştirici oranı genelde 1:2 olarak alınmaktadır.

Plastikleştirici; Plastikleştiriciler polimer matriksin vizkozitesini azaltmak ve membran fazında yer alan bileşenlerin hareketliliğini sağlamak için kullanılır. PVC membranların ağırlıklı bileşenleri olan plastikleştiriciler, hem iyonların organik faza taşınımını, hem de iyonofor maddeyle kompleksleşmelerini etkileyen bir membran çözücüsü olarak işlev görürler (Ammann ve ark., 1975; Anker ve ark., 1981; Sakaki ve ark., 1994). Homojen bir organik faz elde etmek için kullanılan plastikleştiriciler polimerle uyumlu olmalı ve diğer membran bileşenlerini de içerisinde çözebilmelidir. ISE membranlarının yapılarında yaygın olarak kullanılan plastikleştiriciler 2-nitrofenil oktil eter (o-NPOE, polar) ve bis(2-etilhekzil) sebekat (DOS, apolar)'tır.

Lipofilik iyonik katkı maddesi; lipofilik iyonik katkı maddeleri, iyon değişimine katılmayan lipofilik anyon/katyon ve iyon değişimine katılan karşıt iyonlardan oluşan tuzlardır. İyonik kısımlar nötral iyonik taşıyıcı içeren membranların elektronötralitesini sağlayarak ana iyonla birlikte önemli miktarda karşıt iyonun membran fazına geçişini azaltır. Böylece membran sadece ana iyonla aynı yük ve işarete sahip olan iyonlar için geçirgen özelliğe sahip olur ve teorik Nernst davranışı gösterir. Bununla birlikte lipofilik iyonik kısımlar, özellikle mikro boyutlarda elektrotlar için daha da önemli olan, membranın elektriksel direncini azaltırlar. ISE membranları çok küçük miktarlarda iyonik katkı maddeleriyle (örneğin polimer safsızlıkları gibi) uygun bir şekilde çalıştıkları halde, iyonik kısımların katkı maddelerinin eklenmesi tavsiye edilen bir durumdur. Lipofilik iyonik kısımların varlığı, ölçülen iyonun toplam konsantrasyonunu membran fazında sabit tutar ve iyon-iyonofor kompleksinin optimum stokiometrisi ile membran seçiciliğinin ayarlamasında kullanılabilir (Muslinkina, 2004).

Lipofilik tuz; membrana iyon değiştirici özelliği olmayan lipofilik tuzların veya lipofilik inert elektrolitlerin ilavesi, başlangıçta membranın elektriksel direncini düşürmek için önerilmiştir (Ammann ve ark., 1985). Daha sonra membrana tetradodesilamonyum tetrakis(4-klorofenil)borat (ETH 500) ilavesinin, eğer membran düşük polarlığa sahip ve düşük miktarda aktif bölge içeriyorsa, çift yüklü iyonların seçiciliklerini tek yüklü iyonlara karşı artırdığı bulunmuştur (Nagele ve ark., 1998).

İyonofor; membranın seçiciliğini belirleyen anahtar bileşen iyonofordur. İdealde iyonoforlar hedef iyonla geri dönüşümlü ve kısmen güçlü kompleksler oluştururlarken, diğer iyonlarla kompleks oluşturmazlar. Membran bileşimini sabit tutmak için, iyonofor madde membranın içerisinde tutuklanmalıdır. Bunun için iyonofor madde bağlanma merkezleri haricinde çok sayıda lipofilik gruplar da bulundurulmalıdır.

Sıvı-membran elektrotlarda, membran hidrofobik bir iyon değiştirici emdirilmiş sıvıdır. İyon değiştiricilerin genel özelliği, zıt işaretle yüklü bölgelerinden ve organik nötral bölümlerinden küçük iyonları bağlama yeteneğine sahip olmalarıdır. Membran yüzeyinde iyon-değişim işlemi daha hızlıdır. Elektrotun seçiciliği özellikle bu iyon değişim işlemi sırasında oluşan kompleksin kararlılığına bağlıdır.

2.1.3.6. Kompozit Elektrotlar

İyon-seçici elektrotların yeni bir türü olarak 1980'li yıllarda üretilmeye başlanan bu tür elektrotlara "non-konvensiyonel katı-hal iyon-seçici elektrotlar" da denilmektedir. Minyatür olarak hazırlanabilme ve uzun ömürlü olma özelliklerinden dolayı ilgi çekici bir elektrot tipidir. Bu elektrotlar karbon ve polimerik inert bir matriks içine organik veya inorganik iyon-değişim reğinesinin ilavesi yoluyla hazırlanmaktadır (Lee ve Rhim, 1989). Son yıllarda hazırlanan metakrilat ve akrilat temelli kompozit elektrotlar düşük tayin limitlerine sahip olma özellikleri ile dikkat çekicidir (Michalska ve ark., 2009).

2.1.4. İyon-Seçici Elektrotların Performans Özellikleri

2.1.4.1. Seçicilik

Sadece tek bir iyonik türü ölçen bir ISE yoktur. A iyonunu ölçmek için kullanılan bir elektrot B iyonuna da duyarlı olabilir. Diğer iyonların varlığı elektrot performansını önemli ölçüde etkiler. Bu iyonların girişimi, elektrot membranının yapısına bağlı olarak çeşitli şekillerde olabilir.

Seçicilik ilk kez Nikolskii tarafından hidrojen ve sodyum iyonlarına duyarlılık gösteren cam elektrot için kullanılmıştır. Elektrot potansiyeli, seçicilik katsayıları kullanılarak Eşitlik 2.9'daki Nikolskii-Eisenman eşitliği ile ifade edilmektedir.

$$E = E^0 + \frac{0.0592}{n} \log [a_A + \sum (k_{A,B}^{pot} a_B^{z_A/z_B})] \quad (2.9)$$

a_A = Ölçülecek iyonun aktivitesi

a_B = Girişim yapan iyonun aktivitesi

z_A, z_B = Herbir türün yükü

$k_{A,B}^{pot}$ = Seçicilik katsayısı

ISE'lerin seçicilik katsayılarının hesaplanması, temelde karışık çözelti (mixed solution) metotları ve ayrı çözelti (separate solution) metotları olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilir. Bu yöntemler de kendi içlerinde farklı hesaplama şekilleri içerir (Umezawa ve ark., 2000). Nikolskii-Eisenman eşitliğine göre elektrotlar sadece ana iyon için değil, girişim yapan iyonlar için de Nernst cevabı sergiler. Potansiyometrik seçicilik katsayılarının belirlenmesinde kullanılan çoğu deneysel yöntem bu eşitliğe dayanır. Nikolskii-Eisenman eşitliği, ana iyon ve farklı yüklü girişim yapan iyonların potansiyele önemli derecede katkıda bulunduğu konsantrasyon aralıklarında, potansiyometrik cevabı doğru olarak tanımlayamaz. Bu şekildeki iyon karışım çözeltilerinde elektrotun ana iyona cevabını doğru olarak tanımlamak için daha karmaşık eşitlikler kullanılmalıdır.

Karışık Çözelti Metotları:

Bu metod kullanılarak seçicilik katsayıları dört farklı şekilde hesaplanabilmektedir.

Girişim Yapan İyonun Sabitlenmesi (fixed interference) Metodu kullanılarak seçicilik katsayıları hesaplanırken; ISE ve referans elektrottan oluşan hücrenin potansiyeli girişim yapan iyon aktivitesinin (a_B) sabit tutulduğu, fakat ana iyon aktivitesinin (a_A) değiştirildiği çözeltilerde alınan ölçümler kullanılır. Elde edilen potansiyel değerleri, $\log a_A$ 'ya karşı grafiğe geçirilir. Grafiğin iki doğrusal bölümünün ekstrapolasyonu ile doğruların kesiştiği nokta bulunur. Bu noktaya karşılık gelen ana iyon aktivitesi, Eşitlik 2.10'da yerine yazılarak seçicilik katsayılarının hesaplanmasında kullanılır.

$$k_{A,B}^{pot} = a_A / (a_B)^{Z_A/Z_B} \quad (2.10)$$

İki Çözelti (two solution) Metodu ile seçicilik katsayısı hesabı, ana iyon çözeltisinin potansiyeli (E_A) ile ana iyon ve girişim yapan iyonun karışımından oluşan çözeltinin potansiyelinin (E_{A+B}) ölçümünü kapsar. Seçicilik katsayısı, iki çözeltide ölçülen potansiyel değerlerinin farkı ($\Delta E = E_{A+B} - E_A$) Eşitlik 2.11'de yerine yazılarak hesaplanır.

$$k_{A,B}^{pot} = a_A \cdot [e^{\Delta E \cdot Z_A \cdot F / R \cdot T} - 1] / a_B^{Z_A/Z_B} \quad (2.11)$$

Ana İyonun Sabitlenmesi (fixed primary ion) Metodunda, ISE ve referans elektrottan oluşan hücrenin potansiyeli, ana iyonun aktivitesinin (a_A) sabit tutulduğu fakat girişim yapan iyonun aktivitesinin (a_B) değiştirildiği çözeltiler kullanılarak ölçülür. Elde edilen potansiyel değerleri $\log a_B$ 'ye karşı grafiğe geçirilir. Bu grafiğin ekstrapole edilmiş iki doğrusal kısmının birbiriyle kesiştiği nokta hesaplanır. Bu noktaya karşılık gelen girişim yapan iyonun aktivitesi, Eşitlik 2.12'de yerine konularak seçicilik katsayılarının hesaplanmasında kullanılır.

$$k_{A,B}^{pot} = a_A / (a_B)^{Z_A/Z_B} \quad (2.12)$$

Potansiyel Karşılaştırma (matched potential) Metodu ile seçicilik katsayısı hesabı Nikolskii-Eisenman eşitliğine dayanmaz. Bu metotta, potansiyometrik seçicilik katsayıları aynı koşullar altında aynı potansiyel değişimini veren ana iyon ve girişim

yapan iyonun aktivitelerinin oranı olarak tanımlanır. İlk olarak, ana iyonun bilinen aktivitedeki (a_A') bir çözeltisi ana iyonun aktivitesinin (a_A) önceden ayarlanmış olduğu referans çözeltiye ilave edilir ve potansiyel değişimi kaydedilir. Daha sonra, girişim yapan iyonun çözeltisi (a_B) aynı potansiyel değişimi kaydedilene kadar referans çözeltisine ilave edilir. a_B 'ye karşılık gelen potansiyel fark ölçümü süresince çözeltide a_A daima değişmeden kalmalıdır. Dolayısıyla girişim yapan türün ilave edilen çözeltisi, a_A aktivitede ana iyonu da içerecek şekilde hazırlanmalıdır. Bu yöntemde seçicilik katsayısı Eşitlik 2.13'e göre hesaplanır.

$$k_{A,B}^{pot} = (a_A' - a_A) / a_B \quad (2.13)$$

Ayrı Çözelti Metotları:

Ayrı çözelti metoduna göre seçicilik katsayısının hesaplanması, iki farklı şekilde gerçekleştirilir.

İlkinde, ISE ve referans elektrottan oluşan hücrenin potansiyeli iki ayrı çözeltiyle ölçülür. Bu çözeltilerin birincisinde a_A aktivitede A iyonu bulunurken, hiç B iyonu bulunmaz. Bu çözeltinin ölçülen potansiyeli E_A 'dır. İkinci çözeltide ise, ilk çözeltideki ana iyonunun aktivitesine eşit aktivitede B iyonu (a_B) bulunurken, A iyonundan hiç bulunmaz. Bu çözeltinin ölçülen potansiyeli E_B 'dir. Bu yöntemde göre seçicilik katsayıları, okunan potansiyel değerleri kullanılarak Eşitlik 2.14'e göre hesaplanır. Bu yöntemde $a_A=a_B$ durumu dikkate alınır.

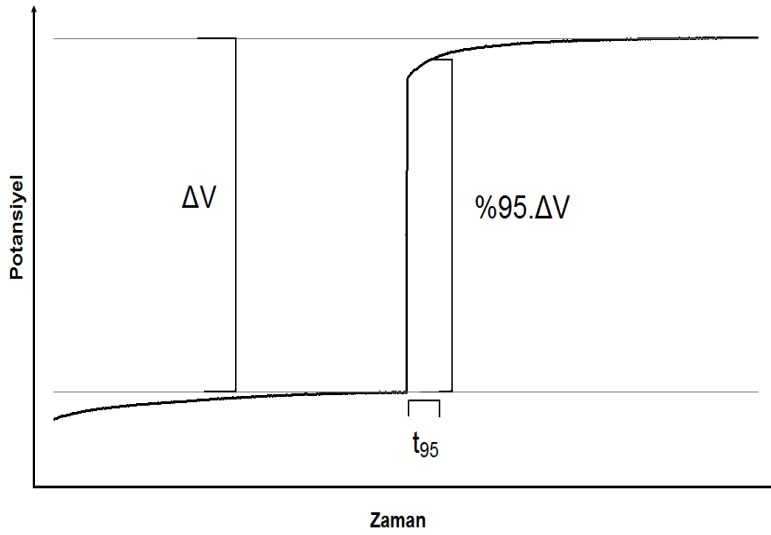
$$\log k_{A,B}^{pot} = \frac{(E_B - E_A) \cdot z_A \cdot F}{R.T. \ln 10} + (1 - z_A/z_B) \cdot \log a_A \quad (2.14)$$

İkincisinde, $\log a$ ve E arasındaki ilişki ana iyon ve girişim yapan iyon için elde edilir. Bu ilişki yardımıyla aynı potansiyel değerine karşılık gelen aktiviteler, Eşitlik 2.15'de yerine yazılarak seçicilik katsayıları belirlenir. Bu yöntemde $E_A=E_B$ durumu dikkate alınır.

$$k_{A,B}^{pot} = a_A / (a_B)^{z_A/z_B} \quad (2.15)$$

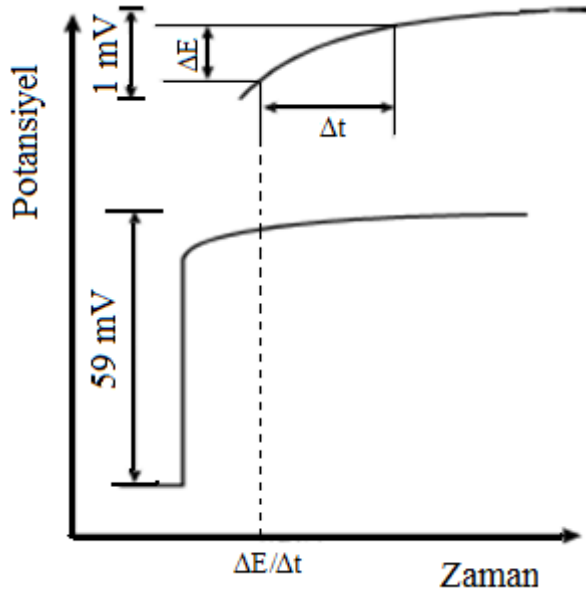
2.1.4.2. Cevap Zamanı

Temelde elektrodun fiziksel yapısıyla ilgili bir özellik olan cevap zamanı, genel olarak membranın duyarlı kısmıyla çözeltideki iyonlar arasında bir dengenin kurulabilmesi için geçen süre olarak bilinir. Cevap zamanı için IUPAC tarafından günümüze kadar farklı hesaplama yöntemleri önerilmiştir. Bu yöntemlerden birinde cevap zamanı, dengedeki hallerde gözlenen potansiyel değişiminin % 95'inin gerçekleşmesi için geçen süre olarak ifade edilir ve t_{95} şeklinde gösterilir (Buck ve Lindner, 1994). Şekil 2.10'da IUPAC'a göre cevap zamanı (t_{95}) grafiksel olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.10. IUPAC'a göre cevap zamanı (t_{95})

Diğer bir yöntemde de, birim zamandaki potansiyel değişimi için bir kriter belirlenir ($\Delta E/\Delta t < 1$ mV gibi). Bu kriterin sağlanması için geçen süre, cevap zamanı olarak alınmaktadır (Lindner ve ark., 1986) (Şekil 2.11). Bu kriter, deney koşullarına göre veya ölçümlerden beklenen doğruluk derecesine göre değişebilmektedir. Örneğin; klinik ölçümlerde elektrotların potansiyel değişim aralıkları dar olduğundan, bu kriter 0.1 mV/dk olarak seçilebilir



Şekil 2.11. IUPAC'a göre cevap zamanı ($\Delta E/\Delta t$)

Girişim yapan türler, bir Nernst cevabı oluşması için ana iyonların taşınmasını geciktirir ve cevap zamanını etkiler. Elektrotların cevap süreleri aşağıdaki işlemlerle kısaltılabilir;

- ✓ Etkili karıştırma (veya akış hızının artırılması)
- ✓ Membran yüzeyinden kirliliklerin uzaklaştırılması veya çok küçük membran yüzeyli mikroelettrotlar kullanılması
- ✓ Ölçüm sırasında çözelti konsantrasyonunun düşükten yükseğe doğru olması.

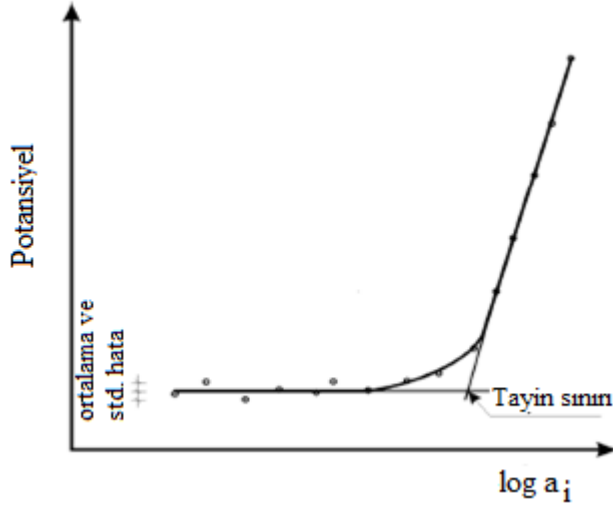
Nötral taşıyıcı membranlarda, çözeltideki iyonun aktif maddeye (ligant veya kompleks) tutunma hızı, cevap zamanını etkileyen en önemli faktördür. Bunun dışında; iyon ekstraksiyon kapasitesi, difüzyona karşı direnç, membran kalınlığı ve membrandaki çözücünün polaritesi de cevap zamanını etkileyen diğer önemli faktörlerdir.

2.1.4.3. Tayin Limiti

İyon-seçici elektrotların tayin limiti, membran ara fazında ölçülebilir bir potansiyel fark meydana getiren en düşük iyon konsantrasyonu olarak tanımlanır.

İyon-seçici bir elektrotun kalibrasyon grafiği genel olarak Şekil 2.12'deki gibidir. Şekilde görüldüğü gibi kalibrasyon grafiği iki doğrusal kısımdan oluşmaktadır. Pratik kullanımlara uygunluk açısından; durgun ortam ölçümlerinde elektrotların tayin limitleri,

bu iki doğrusal bölgenin ekstrapolasyonlarının kesiştiği noktaya karşılık gelen aktivite değeri olarak verilir (Buck ve Lindner, 1994) (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. İyon-Seçici elektrotların tayin sınırlarının belirlenmesini gösteren örnek bir grafik

Hareketli ortam ölçümlerinde ise tayin limiti hareketli faza göre ölçülebilir bir sinyal üreten konsantrasyon değeri olarak verilmektedir. Gürültü değerinin 3 katı yüksekliğe sahip pikler genellikle ölçülebilir sinyal olarak kabul edilmektedir (Schöning ve ark. 2003).

2.1.4.4. Tekrarlanabilirlik

Hazırlanan iyon seçici elektrotların tekrarlanabilir potansiyeller vermesi, analiz işlemlerinde hataların en aza indirilebilmesi ve analizin güvenilirliği yönlerinden arzu edilen bir özelliktir. Tekrarlanabilirlik, standart çözeltilerde okunan bir seri potansiyel değerinin standart sapması olarak verilmektedir (Buck ve Lindner, 1994).

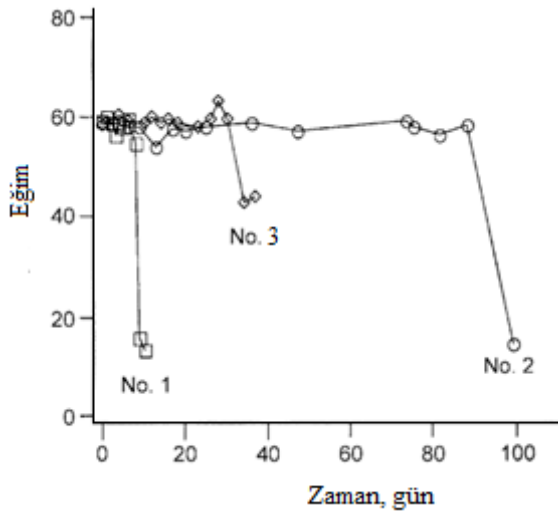
2.1.4.5. Doğrusal Çalışma Aralığı

Elektrotların doğrusal çalışma aralıkları, çizilen kalibrasyon grafiklerinden hesaplanabilir. Elektrotun doğrusal çalışma aralığı, kalibrasyon eğrisinde veri noktalarının doğrusallıktan 2 mV'tan daha fazla sapmadığı aralık olarak tanımlanır

(Rundle, <http://www.nico2000.net/Book/Guide8.html>, 03.03.2010). Çalışılan aralıktaki konsantrasyon-potansiyel değişiminin doğrusallığı R^2 değeri ile verilmektedir.

2.1.4.6. Kullanım Ömrü

İyon-seçici bir elektrot için kullanım ömrü en önemli karakteristik özelliklerden birisidir. Elektrotların kullanım ömürleri, Nernst cevabı sergiledikleri süre olarak bilinir (Zareh, 1994). Elektrotların kullanım ömürleri, on katlık konsantrasyon değişiminde belirli periyotlarla sergiledikleri potansiyel farklar incelenerek belirlenir. Ölçülen bu potansiyel farklar kullanılarak, zamana karşı grafikler oluşturulur. Eğimde önemli bir azalmanın meydana geldiği süre, kullanım ömrü olarak verilebilir. Sim ve ark.(2001) tarafından geliştirilen farklı kompozisyonlara sahip üç adet Li^+ -seçici elektrotun kullanım ömürlerini belirlemede kullanılan bir grafik Şekil 2.13'te görülmektedir.

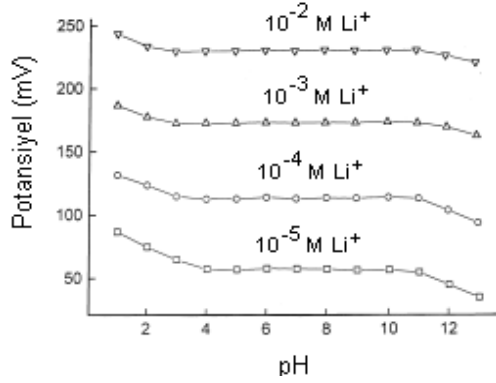


Şekil 2.13. Kullanım ömrü tespitinde kullanılan bir grafik (Sim ve ark., 2001)

2.1.4.7. pH Çalışma Aralığı

Elektrotların pH çalışma aralıkları incelenirken, genelde elektrodun seçici olduğu ana iyon konsantrasyonunun 10^{-1} , 10^{-2} veya 10^{-3} M'da sabit tutulduğu, farklı pH'lardaki tampon çözeltiler kullanılır. Bu tampon çözeltilerin pH'sı genelde 2-12 arasında değişmektedir. Bu çözeltilerde elektrottan potansiyel değerleri okunur ve çözeltilerin pH değerlerine karşı grafiğe geçirilir. Potansiyelde önemli bir değişimin meydana

gelmediği pH aralığı, elektrodun pH çalışma aralığı olarak ifade edilir. Li^+ -seçici bir elektrotun, Li^+ konsantrasyonlarının sabit tutulduğu bir seri tampon çözeltide sergilediği potansiyometrik davranış Şekil 2.14'te gösterilmiştir (Teixeira ve ark., 2000).



Şekil 2.14. Li^+ -seçici bir elektrotun pH etkisi (Teixeira ve ark., 2000)

2.1.5. İyon-Seçici Elektrotların Avantaj ve Dezavantajları

ISE'lerin avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.5'te özetlenmiştir.

Çizelge 2.5. ISE'lerin avantaj ve dezavantajları

ISE'lerin Avantajları	ISE'lerin Dezavantajları
Pek çok kimyasal tür için geniş bir konsantrasyon aralığında doğrusal olarak değişim gösterirler.	Elektrotlarla çalışılırken olumlu sonuç elde edebilmek için çok dikkatli olmak gerekir.
Bilinmeyen numunenin bozunmasına neden olmazlar. Sadece numuneyi ihmal edilebilir ölçüde kirlendirirler.	Alınan ölçümlerin kesinliği nadiren % 1'den daha iyi olup, genellikle daha düşüktür.
Cevap süreleri genellikle kısadır (saniye ve dakika seviyelerinde). Bu nedenle klinik ve endüstriyel numunelerin tayininde kullanılırlar.	Potansiyellerin kararsız olmasına ve kaymasına yol açan proteinler ve diğer organik maddeler tarafından kirlenilebilirler.
Spektrofotometrik ölçümlere uygun olmayan, koyu renkli ve bulanık çözeltilerde ölçümlere imkan verirler.	Bazı iyonik türler girişim yapar veya elektrotları zehirlerler.
Özel olarak hazırlanan elektrotlar kullanılarak canlı hücrelerin içi gibi değişik yollarla ulaşılması zor ortamlarda ölçümler alınabilir.	Kompleks halinde olmayan iyonlara cevap verirler. Bu nedenle ISE'lerle yapılan ölçümlerde ortamda ligant bulunmaması, varsa da varolan ligantların maskelenmesi gerekir.
Kromatografi ve AEA'da dedektör olarak kullanılabilirler.	Analiz işlemlerinin doğruluğu açısından ölçümler esnasında ortamın iyonik şiddeti sabit tutulmalıdır.
Hem pozitif hem de negatif iyon derişimini ölçebilirler.	
Hızlı ve kolay bir biçimde kullanılabilirler. Tamamıyla katı hal kontakt ve jel dolgu modelleri sağlam ve kararlıdır.	

2.2. Kemometri

Kemometri terimi ilk olarak 1970’li yılların başında Wold and Bruce R. Kowalski tarafından kullanılmıştır (Wold, 1995; Brown, 1995). Wold’un ifade ettiği şekliyle kemometri, ölçülen bir kimyasal veriden ilgili kimyasal bilgilerin nasıl elde edileceğinin, bu bilgilerin nasıl ifade edilip sergileneceğini, ve bu tür bilgilerin de verilere nasıl dönüştürüleceğinin araştırıldığı bir alandır. Danzer (1990) tarafından yapılan başka bir tanımda ise kemometri; kimya, matematik, bilgisayar yazılımı ve donanımları arasında bağlantı sağlayan bir unsur olarak ifade edilmiştir. Kemometri disiplinler arası bir alan olup; çok değişkenli istatistik, matematiksel modelleme, bilgisayar bilimleri, mühendislik, organik kimya, biyoloji ve analitik kimya gibi disiplinleri içerir (Gamperline, 2006). Kemometrinin bazı ana uygulama alanları arasında; sinyal işleme, modelleme, kalibrasyon, validasyon, deneysel tasarım, yapı tanıma, sınıflandırma, yapay zeka yöntemleri ve resim işleme sayılabilir (Dinç, 2009). Kemometrinin özellikle son yıllarda yoğun bir şekilde kullanılması iki temel sebebe bağlanabilir. Birincisi, son yıllarda gelişen analitik cihazlardan çok sayıda verinin kısa sürelerde elde edilebilme imkanının olması; ikincisi de, mikroelektronik teknolojisindeki gelişmeler sayesinde bilgisayarların özelliklerindeki iyileşmelerle birlikte kemometricilerin veri kullanma ve sinyal işleme kabiliyetlerinin artmasıdır (Chau ve ark., 2004).

Bu tezin genel bilgiler bölümünde kemometriyle ilgili tüm teoriyi sunmanın imkanı yoktur. Bu nedenle teorik kısımda açıklanan kemometrik konular, deneysel kısımda kullanılan kemometrik kavramlar göz önünde bulundurularak seçilmiştir. Seçilen konular; örüntü tanıma, deneysel tasarım, kalibrasyon yöntemleri ve modelleme, verilerin ön işlenmesi ve validasyon alt başlıkları şeklinde sunulmuştur.

2.2.1. Örüntü Tanıma (Pattern Recognition)

Temelde açıklayıcı veri analizi (exploratory data analysis) ve sınıflandırma (classification) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

2.2.1.1. Açıklayıcı Veri Analizi (Exploratory Data Analysis-EDA)

EDA aşağıdaki işlemlerin gerçekleştirilmesine yardım eder:

- ✓ Aralarında önemli farklılıklar olan numune gruplarının tanımlanması
- ✓ Her bir örnek grubu içerisindeki farklılıkların belirlenmesi
- ✓ Herbir örneğin doğru olarak etiketlenmesi
- ✓ Herhangi bir gruba ilgisi olmayan örneklerin bulunması

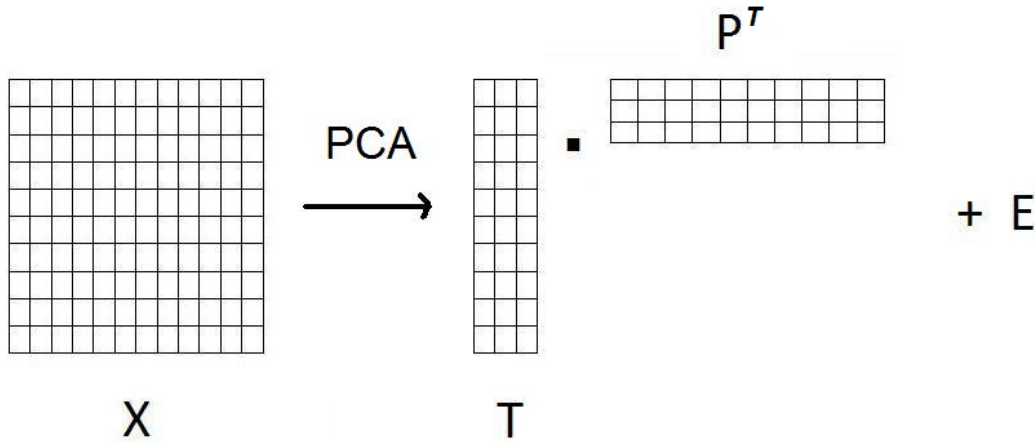
Bu amaçlara ulaşabilmek için, Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Kümeleme Analizi (Cluster Analysis-CA) yaygın olarak kullanılmaktadır.

Temel Bileşen Analizi (Principle Component Analysis-PCA)

Günümüzde gelişen enstrümantasyon imkanları sayesinde çok sayıda veriyi kısa sürede elde etmek mümkündür. Enstrümantasyondaki bu gelişme, birbiriyle korele olan çok sayıda verinin de toplanmasına neden olduğundan, toplanan verilerin birçoğu gereksizdir ve onlardan işe yarar bilgiler elde edilemez. Ayrıca; ihtiyaç duyulan bilgiler sıklıkla sadece tek bir değişkende değil, birden fazla değişkende bulunabilir (bir değişkenin diğer bir değişkene göre nasıl değiştiği). Bu yüzden en önemli problem, elde etmek istediğimiz bilgilerde herhangi önemli bir kayıp olmaksızın, toplanan verilerin işe yarar daha az sayıda verilere dönüştürülmesidir (Wise ve ark., 2006).

Temel Bileşen Analizi; verilerin toplam varyansında herhangi bir kayıp olmaksızın, orijinal veri setindeki değişkenlerin sayısını daha az sayıda faktöre (temel bileşene) indirir. Orijinal veri setinin oluşturduğu matris; orijinal değişken sayısından daha az sayıda değişken içeren, daha küçük boyuttaki bir matrise dönüştürülür. Burada elde edilen yeni değişkenler, temel bileşenler olarak bilinir ve ayrıştırılmış orijinal matrisin doğrusal projeksiyonundan elde edilir. Birinci temel bileşen diğer temel bileşenlerle karşılaştırıldığında, orijinal verideki varyansın en büyük oranını içerir. Sonraki temel bileşen, 1. temel bileşenle ortogonaldır ve 1. temel bileşenden sonra en yüksek oranda varyansı içerir. Ardarda gelen her bir temel bileşen, bir önceki temel bileşenle ortogonaldır ve toplam varyansın giderek azalan yüzdelerini içerir.

Orjinal veri seti (X), temel bileşen analizi ile ayrıştırıldığında sayı (T) ve yük (P) olmak üzere iki matris elde edilir. T matrisi, orijinal veri seti matrisinin satırlarıyla, yani ölçümler ya da deney sayısı ile ilişkili iken; P matrisi, veri seti matrisinin sütunlarıyla yani dalga boyu, potansiyel vb. ile ilişkilidir. (Brereton, 2003; Otto, 2007; Wise ve Gallagher, 2006). Orijinal veri setinin ayrıştırılması Şekil 2.15'te gösterilmiştir.



Şekil 2.15. Orijinal veri setinin PCA ile ayrıştırılmasının şematik gösterimi

T 'deki satır sayısı, ölçümlerin sayısına (X matrisindeki satır sayısına) eşittir. T 'deki sütun sayısı, kullanılan temel bileşen sayısına karşılık gelmektedir. P^T 'deki sütunların sayısı, her bir elektrottan elde edilen potansiyel ölçümleri veya her bir dalga boyunda ölçülen absorbanlara (X matrisindeki sütun sayısına) eşittir. P^T 'deki satır sayısı ise kullanılan temel bileşenlerin sayısına eşittir.

$$X = T \cdot P^T + E \quad (2.16)$$

Artık matrisi (E), X matrisi ile aynı boyuta sahiptir. Temel bileşenler X matrisi varyansının büyük bir kısmını tutarken, gürültü yapısındaki korele olmayan verilerden kaynaklanan varyans artıkları da E matrisini oluşturur. T matrisindeki sütunların birbirlerine karşı grafiğe geçirilmesi, örnekler arasındaki ilişkinin gözlemlenmesini mümkün kılar.

Kümeleme Analizi (Cluster Analysis)

Kümeleme analizi; organizmalarda gövde uzunluğu, yaş, cinsiyet gibi gruplar arasındaki benzerlikleri, tespit eden bir diğer açıklayıcı veri analiz yöntemidir. Kümeleme analizi, benzer grupları birbirine bağlayan bir ağaç diyagramının oluşturulmasını kapsar. Bu ağaç diyagramı, dendogram olarak isimlendirilir ve bu dendogramdaki belirli bir örneğin, diğer örneklerle benzerliğini gösterir. Dal uzunluğu, her bir örnek arasındaki göreceli uzaklıkların hesabıyla elde edilir. Farklı metotlar da kullanılmakla beraber, bu mesafe genellikle öklit metodu kullanılarak hesaplanır (Otto, 2007).

2.2.1.2. Sınıflandırma (Classification)

Sınıflandırma, kimyanın en önemli bölümlerinden birisidir. Sınıflandırmada, grupları net olarak bilinen bir eğitim seti kullanılarak, bilinmeyen bir örneğin sınıfının ne olduğu sorusuna cevap bulunmaya çalışılır. Sınıflandırma, kümeleme analizinden farklı bir kavramdır. Kümeleme analizinde de örnekler arasındaki ilişki önemli iken, sınıflandırmada olduğu gibi önceden tanımlanmış gruplar bulunmaz (Brereton, 2003). Yaygın olarak kullanılan sınıflandırma metotlarından birisi, sınıfsal benzerliklerin soft bağımsız modellenmesi (soft independent modelling of class analogies-SIMCA)'dır. SIMCA temel bileşen grafiklerinde gözlenen gruplar için her bir sınıfa has modeller üretir. Bilinmeyen örnek, her bir model kullanılarak en iyi model uyumu bulunana kadar regresyon işlemine tabi tutulur. En iyi regresyon uyumunu sağlayan modelin ait olduğu sınıf, örneğin sınıfı olarak belirlenmiş olur. SIMCA'dan başka Diskriminant Analizi (DA), PLS Diskriminant Analizi (PLS-DA) ve K-En Yakın Komşular metotları da sınıflandırma metotları arasında yer alırlar.

2.2.2. Sinyal İşleme (Signal Processing)

Sinyal işleme metotları, veri analiz işlemlerinden önce verilere uygulanır. Sisteme özel (dönüştürme, normalizasyon, temel çizgi kaymasının giderilmesi, veri sıkıştırma) ve genel (gürültü giderme, fourier dönüşümü) olmak üzere iki grup altında toplanabilir. Ön işleme metodunun seçimi, sonuçta elde edilen performansı önemli derecede etkilemektedir (Pravdova ve ark., 2002).

Elde edilen sinyallere kemometrik olarak sinyal işleme yöntemlerinin uygulanması; kör numunenin sinyale etkisinin düzeltilmesi (background correction), ölçeklendirme (scaling), düzleştirme (smoothing) ya da bahsedilen yöntemlerin kombinasyonları şeklinde olabilir. Kör numunenin sinyale etkisinin düzeltilmesi daha doğrusal bir temel çizgi (baseline) elde edilmesini sağlar. Böylece; elde edilen sinyal, uygulamalarda daha kullanışlı hale getirilmiş olur (Otto, 2007). Verinin ölçeklendirilmesi, genellikle değişkenlerin eksenlerini aynı uzunluklarda olacak şekilde tekrar boyutlandırılmasını içerir. Ölçeklendirme tekniklerinden iki tanesi, ortalama merkezileştirme (mean-centring) ve oto-ölçeklendirme (auto-scaling) olup sırasıyla Eşitlik 2.17 ve Eşitlik 2.18 kullanılarak gerçekleştirilir.

$$X_{i,j}^{OM} = X_{i,j} - \bar{X}_{i,j} \quad (2.17)$$

$$X_{i,j}^{OÖ} = \frac{X_{i,j}^{OM}}{stdsapma(X_{i,j})} \quad (2.18)$$

Eşitlik 2.17'ye göre ortalama merkezileştirme yapılırken, X matrisindeki sütunların her birindeki değerlerin ortalaması hesaplanır ve bulunan değer ilgili sütunun her bir değerinden çıkarılır. Eşitlik 2.18'e göre ortalama merkezileştirme işlemine tabi tutulan X matrisi, standart sapma değerine bölünerek oto ölçeklendirme işlemi gerçekleştirilmiş olur.

Filtreleme işlemi, sinyal/gürültü oranında iyileşme sağlamaktadır. Filtreleme işleminde çok çeşitli algoritmalar kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları hareketli ortalama (moving average-MA), Savitzky-Golay (S-G) veya Fourier Dönüşümü (Fourier Transform-FT)'dür. Temel çizgisinde sistematik değişimler içeren spektrumlar, ikinci dereceden bir polinomial ve 13 noktalı bir pencere kullanılarak S-G fonksiyonu ile filtrelenebilir (Galvo ve ark., 2004). S-G fonksiyonunun filtrelemede kullanımı, MA fonksiyonuna göre daha avantajlıdır. Çünkü MA'da kullanışlı bilgilerde belli derecede bir kayıp meydana gelir (Savitzky ve Golay, 1964).

2.2.3.. Tek Değişkenli Kalibrasyonlar

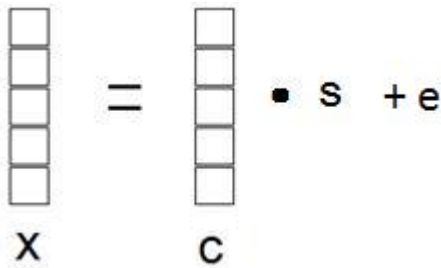
2.2.3.1. Klasik Doğrusal Regresyon (Classical Linear Regression-CLR)

Tek değişkenli doğrusal kalibrasyon, doğrusal ilişki içerisindeki iki değişkenin birbiri ile ilişkilendirilmesini içerir ve genel olarak doğrusal regresyon olarak bilinir. Basit veri analiz paket programları kullanılarak, kolaylıkla gerçekleştirilmesi mümkündür. Örneğin tek bir spektroskopik dalga boyunda okunan absorpsiyon değerleri ile konsantrasyon değerlerini ilişkilendirmek, tek değişkenli klasik doğrusal kalibrasyondur.

$$x \approx c \cdot s \quad (2.19)$$

Burada; x, örnekler için tek bir dalga boyundaki absorpsiyonlardan oluşan bir sinyal vektörü; c, bu değerlerle bağlantılı konsantrasyon değerlerinden oluşan vektör, s ise absorpsiyon ve konsantrasyon değerlerini ilişkilendiren bir skalerdir. x ve c vektörlerinin uzunlukları birbirine eşittir. Regresyon paket programlarının çoğu, klasik olarak s'yi bulmayı dener.

Şekil 2.16'da CLR eşitliği ilgili vektörlerle şematik olarak gösterilmiştir. Bu eşitliği çözenin basit bir yolu vektörün yalancı tersi (pseudo-invers)'ni kullanmaktır (Eşitlik 2.20).



Şekil 2.16. CLR hesaplamasının şematik gösterimi

$$s \approx (c^T \cdot c)^{-1} \cdot c^T \cdot x = \frac{\sum_{i=1}^I x_i \cdot c_i}{\sum_{i=1}^I c_i^2} \quad (2.20)$$

Çoğu kaynakta regresyon eşitlikleri matris gösterimi yerine toplam eşitlikleri şeklinde ifade edilmekle birlikte aynı sonucu verirler. Matris temelli programlama ortamlarında, özellikle de problemin daha karmaşık olduğu durumlarda, matris eşitlikleri kullanmak daha kolay olup, toplamlar eşitliğini kullanmak gereksizdir.

Kalibrasyon sisteminin tahmin gücü, gözlenen ve kalibrasyonla tahmin edilen değerler arasındaki farklar kullanılarak belirlenebilir. Bu hatalar ne kadar küçükse değişkenler arasında o kadar iyi bir ilişki kurulmuş demektir. Kalibrasyonun tahmin gücü genellikle hata kareleri ortalamasının karekökü hesaplanarak belirlenir.

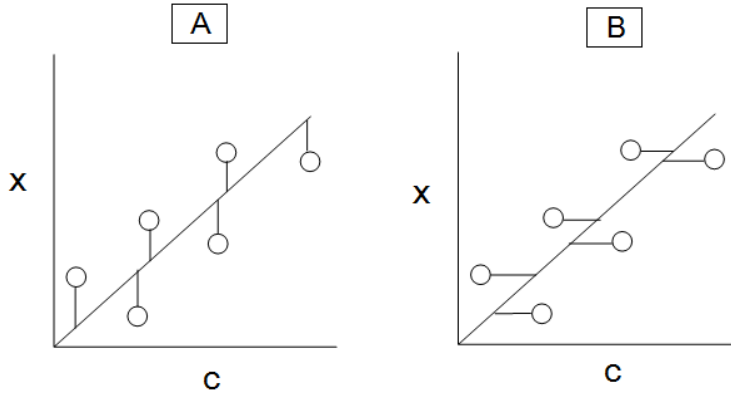
$$E = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (x_i - \hat{x}_i)^2}{d}} \quad (2.21)$$

Burada d, serbestlik derecesidir. Tek değişkenli kalibrasyonlarda d'nin değeri, gözlem sayısından modeldeki parametre sayısı çıkarılarak hesaplanır. Tek değişkenli kalibrasyonlarda parametre sayısı 1 olduğundan, d değeri gözlem sayısının 1 eksiğidir.

2.2.3.2. Ters Doğrusal Kalibrasyon (Inverse Linear Regression-ILR)

Klasik kalibrasyon, yaygın bir şekilde kullanıldığı halde, iki nedenden dolayı her zaman en uygun yaklaşım değildir. Birincisi; temel amaç, klasik kalibrasyondakinin tersine, genellikle sinyalden (spektrum, kromatogram, potansiyel vs) konsantrasyonu tahmin etmektir. İkinci neden ise hata dağılımlarıyla ilgilidir. Daha önceki yıllarda, ölçümlerdeki hatalar sıklıkla aletlerden kaynaklanmaktaydı. Yıllar geçtikçe teknolojinin ilerlemesiyle daha hassas ve tekrarlanabilir sonuçlar veren aletler üretilmiştir. Kalibrasyonda maddelerin miktarlarıyla ilişkili değişkenler (çoğunlukla konsantrasyon), genellikle tartılarak, seyreltilerek vb. şekillerde ayarlanırlar ve sıklıkla en büyük hata kaynaklarıdır. Çünkü volumetrik kapların, şırıngaların vb. aletlerin hassaslıkları yıllar geçtikçe çok fazla değişmemiştir, fakat analitik aletlerin hassaslıkları ve tekrarlanabilirlikleri katlarca artmıştır. Klasik kalibrasyonda, tüm hataların kaynağının sinyalden kaynakladığı yaklaşımından hareketle modelleme gerçekleştirilir. Halbuki, daha uygun bir kabul yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı hataların ağırlıklı olarak

konsantrasyon ölçümlerinden kaynaklandığıdır. Şekil 2.17’de klasik ve ters kalibrasyonda eksenler boyunca hata yönelimleri gösterilmiştir. Şekil 2.18’de ise, ILR eşitliği ilgili vektörlerle şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.17. Klasik (A) ve ters (B) kalibrasyon çeşitlerinde hatalar arasındaki farklılık (Brereton, 2003)

Şekil 2.18, ILR hesaplamasının şematik gösterimini göstermektedir. Sol tarafta, 'C' etiketli bir vektör (dikey bir sütun) yer almaktadır. Bu vektör, eşittir işaretiyle, 'X' etiketli bir vektörün (dikey bir sütun) 'S' (skalardır) ile çarpılması ve 'e' (hata) ile toplanmasıyla elde edildiği gösterilmektedir.

Şekil 2.18. ILR hesaplamasının şematik gösterimi

Ters doğrusal kalibrasyonda, kalibrasyon eşitliği Eşitlik 2.22’deki gibi ifade edilebilir.

$$c \approx x \cdot s \quad (2.22)$$

Klasik doğrusal kalibrasyona benzer şekilde; x , örnekler için tek bir dalga boyundaki absorpsiyonlardan oluşan vektör; c , bu değerlere karşılık gelen konsantrasyon değerlerinden oluşan vektör, s ise absorbans ve konsantrasyon değerlerini ilişkilendiren bir skalerdir. x ve c vektörlerinin uzunlukları birbirine eşittir. Kalibrasyon katsayısı, s Eşitlik 2.23 kullanılarak hesaplanabilir.

$$s \approx (X^T X)^{-1} X^T c, c = \frac{\sum_{i=1}^I x_i \cdot c_i}{\sum_{i=1}^I x_i^2} \quad (2.23)$$

2.2.3.3. Kesim noktası ve Merkezileştirme

Bir kalibrasyon modelinde birçok durumda modele ilave terimler eklemek değişkenler arasında daha iyi bir ilişki elde edilmesini sağlamaktadır. Bir çok durumda, bir kesişim terimi modele dahil edilir ve model Eşitlik 2.24'teki yapıya dönüşür.

$$c \approx s_0 + s_1 \cdot x \quad (2.24)$$

Bu eşitlik matris formunda Eşitlik 2.25'teki gibi yazılabilir.

$$c \approx X \cdot s \quad (2.25)$$

Burada; c, konsantrasyonların oluşturduğu bir sütun vektörü, X, ilk sütunu 1 değerlerinden ikinci sütunu da absorbans değerlerinden oluşan iki sütunlu bir matris, s ise 2 adet skalerden oluşan bir sütun vektörüdür. s vektöründeki ilk sayı s_0 , ikinci sayı da s_1 değerine eşittir. Kesişim terimi içeren ILR eşitliği Şekil 2.19'da şematik olarak gösterilmiştir.

$$\begin{matrix} \boxed{} \\ \boxed{} \\ \boxed{} \\ \boxed{} \\ \boxed{} \end{matrix} = \begin{matrix} \boxed{1} & \boxed{} \\ \boxed{1} & \boxed{} \\ \boxed{1} & \boxed{} \\ \boxed{1} & \boxed{} \\ \boxed{1} & \boxed{} \end{matrix} \cdot \begin{matrix} \boxed{s_0} \\ \boxed{s_1} \end{matrix} + e$$

c **X** **s**

Şekil 2.19. Kesişim noktası terimi içeren ILS hesaplamasının şematik gösterimi

Kesişim teriminin dahil edilmediği kalibrasyon modellerinde regresyon; en uygun doğruyu, doğrunun başlangıcı orijin olacak şekilde oluşturur. Kesişim terimi ilave edildiğinde değişkenler arasındaki ilişki daha gerçekçi bir hal alır. Kesişim değerini

modele dahil etmek için yaygın olarak kullanılan alternatif bir metot da hem x hem de c değişkenlerine ortalama merkezileştirme işleminin uygulanmasıdır (Eşitlik 2.26). Bu yöntemde, her bir değişken sütununun ortalamaları alınır. Her bir sütundaki değerlerin bu ortalama değerlerden farkı kullanılarak yeni x ve c sütunları oluşturulur.

$$c - \bar{c} \approx (x - \bar{x}) \cdot s \quad (2.26)$$

$${}^{mer}c \approx {}^{mer}x \cdot s \quad (2.27)$$

$$s \approx ({}^{mer}x^T, {}^{mer}x)^{-1} \cdot {}^{mer}x^T, {}^{mer}c = \frac{\sum_{i=1}^I (x_i - \bar{x}) \cdot (c_i - \bar{c})}{\sum_{i=1}^I (x_i - \bar{x})} \quad (2.28)$$

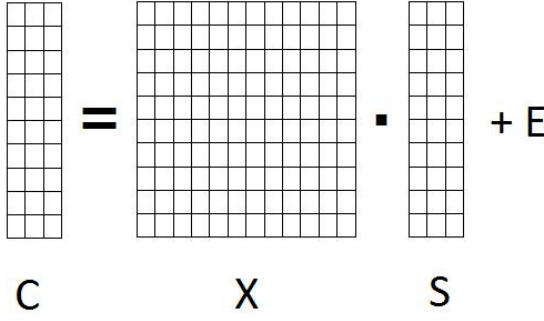
Eşitlik 2.28 kullanılarak, kalibrasyon eşitliğindeki s değerleri hesaplanabilir. Gerek kesişim noktası ilave edilerek bulunan s_1 değeri, gerekse ortalama merkezileştirme işleminden elde edilen s değerleri birbirine eşittir. Fakat ortalama merkezileştirme uygulandıktan sonra elde edilen regrasyon eşitliği kullanılarak konsantrasyonlar tahmin edilecekse, tahmin edilen konsantrasyon değerine, ortalama konsantrasyon değeri daha sonra tekrar ilave edilmelidir (Brereton, 2000). Ortalama merkezileştirme işlemi klasik kalibrasyon ve çok değişkenli kalibrasyon işlemlerinde de kullanılabilmektedir.

2.2.4. Çok Değişkenli Kalibrasyonlar

2.2.4.1. Çoklu Doğrusal Kalibrasyon (Multiple Linear Regression-MLR)

Çok değişkenli doğrusal kalibrasyon, tek değişkenli doğrusal kalibrasyonun genişletilmiş hali olarak düşünülebilir. Çünkü, birden fazla sayıda sinyal (cevap) kullanılmaktadır (Şekil 2.20). Birden fazla sinyal kullanılmasının iki temel nedeni vardır. Birincisi, karışımda birden fazla bileşen bulunabilir. Bu durumda, bu bileşenleri de ölçmek için birden fazla sinyalin kullanılması normal bir durumdur (N tane bileşen için en az N tane dalga boyundaki ölçümler kullanılmalıdır). İkincisi ise, her bir dedektör

sinyalinin sistem hakkında tamamlayıcı ekstra bilgiler sağlamasıdır. Çok değişkenli doğrusal regresyon, spesifik bir bileşenin konsantrasyonunu bir regresyon vektörü aracılığıyla bir seri ölçüm (sinyal) değeri ile ilişkilendirir (Wise ve ark., 2006; Otto, 2007).



Şekil 2.20. Çok değişkenli kalibrasyon eşitliğinin şematik gösterim

Çok değişkenli doğrusal kalibrasyon eşitliği, matris gösterimi kullanılarak Eşitlik 2.29'daki eşitlikle gösterilebilir.

$$C \approx X \cdot S \quad (2.29)$$

Eşitlikte C , tek bir sütun vektöründen oluşabileceği gibi, birden fazla maddenin konsantrasyonu ile ilgileniliyorsa bir matris de olabilir. S değerlerinin sütun vektörü ya da matris olması konsantrasyonu belirlenecek tür sayısına bağlıdır. S 'de her bir sütun vektörü X matrisini C 'deki her bir sütunla ilişkilendiren katsayılardan oluşmaktadır. Bu kalibrasyon türünde de S katsayıları diğer kalibrasyon çeşitlerinde olduğu gibi Eşitlik 2.30 kullanılarak hesaplanabilir.

$$S \approx (X^T \cdot X)^{-1} \cdot X^T \cdot C \quad (2.30)$$

Eşitlik 2.30'dan hesaplanan S değerleri, örnekten okunan alet sinyalleri ile çarpılarak konsantrasyonların tahminlerinde kullanılabilir (Eşitlik 2.29).

Duyarlı bir model elde etmek için; bileşenlerin sayısının, değişkenlerin sayısı veya deney sayısından küçük olanına eşit ya da ondan daha az olması gerekir. Aksi takdirde sistem tanımsızdır ve tek bir çözüm bulunamaz. Diğer bir zorunlulukta X değişkenlerin birbiri ile doğrusal bir ilişki içerisinde olmamasıdır. X matrisindeki sütunlardan bazıları,

diğer sütunların doğrusal kombinasyonu ise, değişkenler arasında doğrusal bir bağımlılığın var olduğu söylenir (Otto, 2007). X değişkenlerinin birbiri ile doğrusal olması kararlı olmayan çözümlere yol açar (Ipatow, 2001).

Çoklu doğrusal kalibrasyonun klasik doğrusal kalibrasyona göre önemli bir avantajı konsantrasyonlarda hata karelerini azaltmasıdır (Torralba ve ark., 1994). Diğer bir avantajı da analitlerin sayısının analizi doğrudan etkilememesidir. Ayrıca, numunelerden okunan sinyal değerleri eşitlikte yerine konduğu zaman doğrudan konsantrasyonları hesaplamak mümkündür. Bu da zaman kaybını önler. Bununla birlikte yöntemin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Kalibrasyon için kullanılan dalga boyunun seçimi zor ve zaman alıcı olabilir. Dalga boylarının sayısı kalibrasyon numunelerinin sayısı ile sınırlandırılır. Kalibrasyon için çok sayıda numune kullanımı gerekir çünkü kalibrasyon katsayılarının hesaplanmasında matris determinant değerinin “0” çıkması sonsuz çözüm gerektirmesi nedeniyle sakınca doğurur. Bunu aşmak için de kalibrasyon setindeki seri sayısını arttırmak gerekir. Kalibrasyon numunelerinin hazırlanması ve bir ön kalibrasyon vasıtasıyla ölçüm son derece zor ve sıkıntılıdır (Dinç, 2009).

2.2.4.2. Temel Bileşen Regresyonu (Principle Component Regression-PCR)

PCR, X matrisinin Y ile regresyonu gerçekleştirilmeden önce X matrisine temel bileşen analizinin uygulanması yönüyle MLR’den farklılık arz eder. Temel bileşen analizi X matrisinde baskın olan temel bileşenleri ortaya çıkarır (Wold ve ark., 1987).

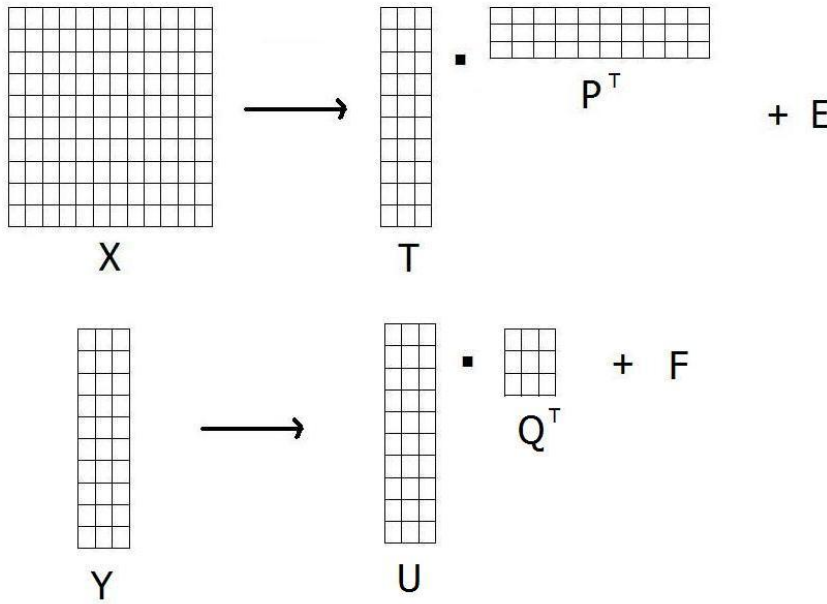
T ve P nin Y ile regresyonu eşitlik 2.31’e göre yürütülmektedir.

$$B = P.((T^T . T)^{-1} . T^T . Y) \quad (2.31)$$

Bilinmeyen konsantrasyonların tahmini eşitlik 2.29’a göre gerçekleştirilir. Bununla birlikte, tüm temel bileşenler modele dahil edilerek hesaplamalar gerçekleştirilirse, MLR kullanılarak elde edilen sonuçlarla aynı sonuçlar elde edilir (Richards ve ark., 2002).

2.2.4.3. Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (Partial-Least-Squares Regression-PLS)

PLS, çok değişkenli kalibrasyon işlemi için kemometride en yaygın kullanılan metottur ve kemometri dışındaki alanlarda da kullanımı günden güne yaygınlaşmaktadır. MLR ve PCR'nin önemli bir dezavantajı konsantrasyon matrisinden kaynaklanan herhangi bir hatanın olmadığını farzetmeleridir. Başka bir deyişle; konsantrasyon değerlerinin kesin olarak bilindiği, tüm hataların ölçülen veriden kaynaklandığı düşünülür (Brereton, 2007). Halbuki, PLS yönteminde Y matrisinden gelen hatalar da dikkate alınır. Bu metotta X ve Y matrisi arasındaki kovaryansın maksimum seviyede olmasını sağlamak için aynı anda hem X, hem de Y matrisleri ayrıştırılır (Şekil 2.21).

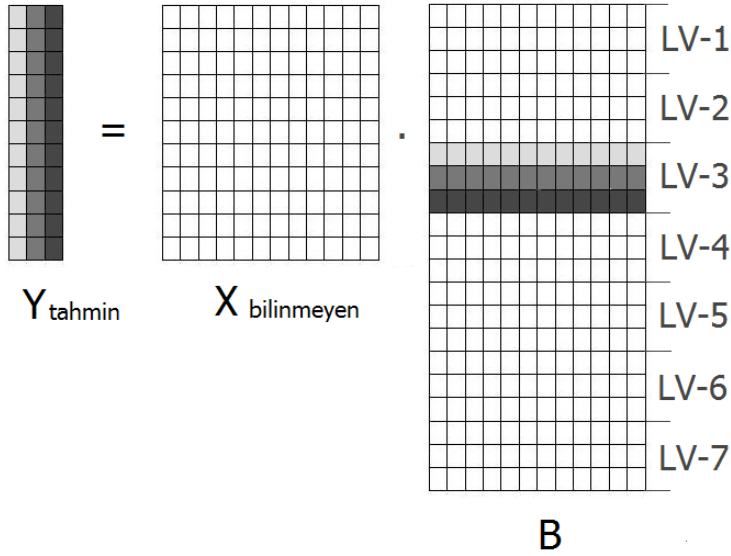


Şekil 2.21. PLS regresyonunda X ve Y matrislerinin ayrıştırılmasının şematik gösterimi

U, Q ve F sırasıyla T, P ve E ile benzerdir; fakat burada F, Y'nin boyutlarına eşit boyutlardadır. Buna göre, X matrisinden elde edilen herhangi önemli bir bilgi Y matrisinin uygun bir bölümüyle doğrudan ilişkilendirilebilir. Regresyon matrisi B Eşitlik 2.32 kullanılarak hesaplanabilir.

$$B = W \cdot (P^T \cdot W)^{-1} \cdot Q^T \quad (2.32)$$

Burada W, Y matrisiyle ilişkili olarak X matrisinin yeniden yönlendirilmesini sağlayan PLS ağırlıklarıdır. Şekil 2.22’de uygun sayıda gizli değişken (Latent Variable, LV) kullanılarak yapılan bir tahmin gösterilmiştir. Burada LV, bir temel bileşene benzemekle birlikte, Y den elde edilen bilgiyi de içerir.



Şekil 2.22. PLS regresyonu ile bilinmeyen Y değerlerinin hesaplanmasında kullanılan eşitliğin şematik gösterimi

Bu örnekte, X’teki her bir satır B matrisindeki 3. gizli değişken aracılığıyla Y de eşdeğer bir satır oluşturur. PLS’nin, doğrusal olmayan iteratif PLS (non-linear iterative partial-least-squares, NIPALS), istatistiksel olarak uyarlanmış PLS (statistically inspired modification of PLS, SIMPLS) gibi çok sayıda çeşidi vardır. Burada, NIPALS ve SIMPLS hesaplamaları kısaca tanımlanmıştır.

NIPALS

NIPALS 1966 yılında Wold tarafından tanımlanmıştır. PLS1 ve PLS2 olmak üzere 2 tipi mevcuttur (Brereton, 2003). PLS1’in, PLS2’den farkı; X verilerinin tümünün yalnızca bir Y sütunuyla regresyonunu içermesidir. Halbuki, PLS2 tüm X verilerinin Y matrisinin tamamına karşı regresyonunu içerir. PLS1 ile gerçekleştirilen regresyon kullanılarak elde edilen tahmin sonuçlarının, PLS2 kullanılarak elde edilen tahmin sonuçlarından daha iyi olması yaygın olarak karşılaşılan bir durumdur. Çünkü PLS1 algoritması kullanıldığında, araştırılan her bir analit için bağımsız ayrı modeller elde

edilir. Diğer taraftan, konsantrasyon matrisinde analitlerle ilgili değişkenlerin tümü modellendiğinden, PLS2’de bilgisayar aracılığıyla yapılan hesaplamalar daha kolaydır.

NIPALS Klasik PLS algoritması olarakta bilinir. Algoritma basamakları aşağıda özetlenmiştir (Lindgren ve ark., 1993; Wise ve Gallagher, 2006). Herbir gizli değişken için aşağıdaki hesaplamalar gerçekleştirilir. İlk olarak Y matrisi için sayı (skor) vektörü hesaplanır. Eğer sadece bir sütun varsa bu sütun sayı vektörü (u) olarak alınır. Eğer birden fazla sütun varsa sayı vektörü kareler toplamı maksimum olan sütun olarak alınır. Aşağıda verilen Eşitlik 2.33’ten PLS ağırlık vektörü elde edilir.

$$w^T = \frac{u^T.X}{u^T.u} \quad (2.33)$$

Ağırlık vektörü norm seti kullanılarak normalize edilir.

$$w = \frac{w}{\|w\|} \quad (2.34)$$

İlgili X –sayı vektörü hesaplanır.

$$t = \frac{X.w}{w^T.w} \quad (2.35)$$

Y-yük vektörü hesaplanır.

$$q^T = \frac{t^T.Y}{t^T.t} \quad (2.36)$$

Y-sayı vektörü hesaplanır.

$$u = \frac{Y.q}{q^T.q} \quad (2.37)$$

Eşitlik 2.37’deki u belli bir değer etrafında seyredene kadar Eşitlik 2.33’te yerine konur. Başka bir ifadeyle; yeni t vektörü ve eski t vektörü arasındaki fark çok az olana kadar (10^{-10} ’dan daha az), döngüdeki hesaplamalar tekrar edilir. Bu kriter sağlandığında

daha sonraki hesaplamalara geçilir. İlk olarak, gizli değişken için Eşitlik 2.38'e göre X'in yük vektörü hesaplanır.

$$p^T = \frac{t^T . X}{t^T . t} \quad (2.38)$$

X sayı vektörü (t), X'in PLS ağırlıkları (w) ve X yük vektörleri (p) sırasıyla eşitlik 2.38 den elde edilen p'nin normu kullanılarak hesaplanır.

$$t = t . \|p\| \quad (2.39)$$

$$w = w . \|p\| \quad (2.40)$$

$$p = \frac{p}{\|p\|} \quad (2.41)$$

X ve Y için artıklar Eşitlik 2.42 ve Eşitlik 2.43 aracılığıyla hesaplanabilir.

$$E = X . t . p^T \quad (2.42)$$

$$F = Y - t . q^T \quad (2.43)$$

Sonraki gizli değişken için E ve F yukarıdaki eşitliklerde sırasıyla X ve Y'nin yerine konur. Seçilen bütün gizli değişkenler için hesaplamalar yapılana kadar işlem basamaklarına devam edilir. Bu durumda regresyon katsayısı B; W, P ve Q matrislerinden Eşitlik 2.44 kullanılarak hesaplanabilir.

$$B = W . (P^T . W)^{-1} . Q^T \quad (2.44)$$

Eğer X'in boyutu $m \times n$, Y'nin boyutu $m \times h$ ve seçilen gizli değişkenler a olursa; B, W, P ve Q için ilgili boyutlar sırasıyla $n \times h$, $n \times a$, $n \times a$ ve $h \times a$ olur.

SIMPLS

SIMPLS ilk olarak 1993’de Simjen de Jong tarafından kullanılmıştır (de Jong, 1993). Birçok yönden NIPALS’tan farklılık gösterir. Birincisi, indirgenmiş veri matrisi (deflated data matrix) oluşturulmaz. İndirgenmiş matris tek bir döngü esnasında orijinal matristen skor vektörüne göre regresyonu gerçekleştirilen değişkenlerin çıkarılmasıyla hesaplanan artık matrisidir. Eşitlik 2.45, NIPALS hesaplamalarında gerçekleştirilen ilk döngü için bir indirgenmiş matrisin hesaplanışını göstermektedir.

$$X_1 = X_0 - [t_1 \cdot (t_1^T \cdot X_0) / (t_1^T \cdot t_1)] \quad (2.45)$$

Burada X_1 indirgenmiş matris, X_0 orijinal veri matrisi, t_1 ise sayı vektörüdür. İkinci önemli fark PLS faktörlerinin (gizli değişkenler) orijinal değişkenlerin direkt doğrusal kombinasyonları olarak hesaplanmasıdır. Bu durum gerçekte PCA’ya benzer. Üçüncüsü; bilgisayar hesaplamalarında, SIMPLS NIPALS’tan daha hızlıdır (de Jong, 1993). Fakat, sadece bir tane Y değişkeni varsa, o zaman SIMPLS PLS1’e eşdeğer olmaktadır. Birden fazla Y değişkeninin olduğu durumda SIMPLS PLS2’den farklılaşır.

X merkezleştirilsin ya da merkezleştirilmesin, sonuçta sayı matrisi (T) otomatik olarak merkezleştirilir. Ayrıca Y matrisi için ilgili sayı matrisi (U)’de merkezleştirilebilir fakat bir gereklilik değildir.

Ayrıca SIMPLS’de X -sayı vektörleri, t ortonormaldir ve X -yükleri, p normalize edilmemiştir. Bu da varyansla ilgili bilgileri yük vektörlerinin içerdiği anlamına gelir (Wise and Gallagher, 2006).

SIMPLS algoritmasının ilk basamağı, Y matrisinin ortalama merkezileştirme işlemine tabi tutulmasıdır. Böylece Y_0 değeri elde edilir. X ve Y_0 ’ın çapraz çarpımı Eşitlik 2.46’ya göre hesaplanır.

$$Z = X^T \cdot Y_0 \quad (2.46)$$

İlk gizli değişken için başlangıç basamağı, Y -yük vektörü, q ’nun Z^T ve Z ’nin çapraz çarpımının en baskın öz vektörüne göre ayarlanmasıdır. X -ağırlık vektörü, r Eşitlik 2.47’ye göre hesaplanır ve ardından da Eşitlik 2.48’e göre X -sayı vektörü, t hesaplanır.

$$r = Z . q \quad (2.47)$$

$$t = X . r \quad (2.48)$$

Sayı vektörlerine ortalama merkezileştirme işlemi uygulanır, ardından da sırasıyla sayı vektörlerinin normalizasyonu (Eşitlik 2.49) ve ağırlıkların uyarlanması işlemi (Eşitlik 2.50) gerçekleştirilir. Daha sonra, X bloğu faktörü yük vektörü hesaplanır (Eşitlik 2.51) ve ardından da Y bloğu yük vektörü (Eşitlik 2.52) ve ilgili Y bloğu faktörünün sayı vektörü hesaplanır (Eşitlik 2.53).

$$t = \frac{t_0}{\|t_0\|} \quad (2.49)$$

$$r = \frac{r}{\|r\|} \quad (2.50)$$

$$p = X^T . t \quad (2.51)$$

$$q = Y_0^T . t \quad (2.52)$$

$$u = Y_0^T . q \quad (2.53)$$

$v = p$ alınarak ortogonal yüklerin hesabı başlatılır. Eşitlik 2.54 ve Eşitlik 2.55 birinci gizli değişken dışındaki tüm gizli değişkenler için hesaplanır.

$$v = v - V . (V^T . p) \quad (2.54)$$

$$u = u - T . (T^T . u) \quad (2.55)$$

Ortogonal yükler Eşitlik 2.56'ya göre normalize edilir ve ardından da Z matrisinin indirgenmesi gerçekleştirilir (Eşitlik 2.57).

$$v = \frac{v}{\|v\|} \quad (2.56)$$

$$Z = Z - v \cdot (v^T \cdot Z) \quad (2.57)$$

Yukarıda hesaplanan tüm vektörler kendileriyle ilgili matrislerde saklanır ve tüm gizli değişkenler için hesaplamalar tamamlanana kadar işleme devam edilir. Regresyon katsayı matrisi, B Eşitlik 2.58'deki gibi hesaplanır.

$$B = (R \cdot Q)^T \quad (2.58)$$

X ve Y için varyanslar sırasıyla P ve Q'nun çapraz çarpımlarından hesaplanır.

$$\text{var } X = \frac{\text{diag } (P^T \cdot P)}{n-1} \quad (2.59)$$

$$\text{var } Y = \frac{\text{diag } (Q^T \cdot Q)}{n-1} \quad (2.60)$$

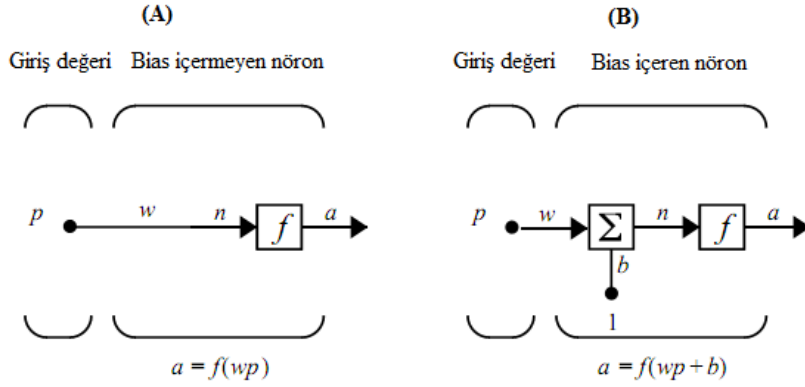
Diag terimi matrisin ana köşegeni boyunca uzanan elementleri ifade etmektedir. Gözlemlerin sayısı (X matrisindeki satırlar) n olarak verilmiştir.

2.2.4.4. Yapay Sinir Ağları (ANN)

ANN'lerin kemometriye uygulandığının kısa bir tekrarı bazı referanslarda açıklanmıştır (Richards ve ark., 2002; Cabanillas ve ark., 2000). Despagne ve Massart (1998) tarafından yazılan bir makalede ANN'lerin daha özlü ve detaylı açıklamalarına yer verilmiştir. Sinir ağları kavramı, yapay zeka alanından doğmuştur. Sinir ağları ilk olarak insan beyninin çalışma biçimini, özellikle de öğrenme yeteneğini taklit etmek üzere ortaya atılmış bir yöntemdir. Biyolojik sinirler 1 KHz'lik bir ateşleme frekansına sahip oldukları halde, bu nöronların milyonlarcasının beraber kullanımı, işlemlerin oldukça hızlı ve verimli bir şekilde gerçekleştirilmesini sağlar. Bir bilgisayarda her birisi 100 MHz'den daha büyük ateşleme frekansına sahip olan daha az sayıda sinire ihtiyaç duyulur.

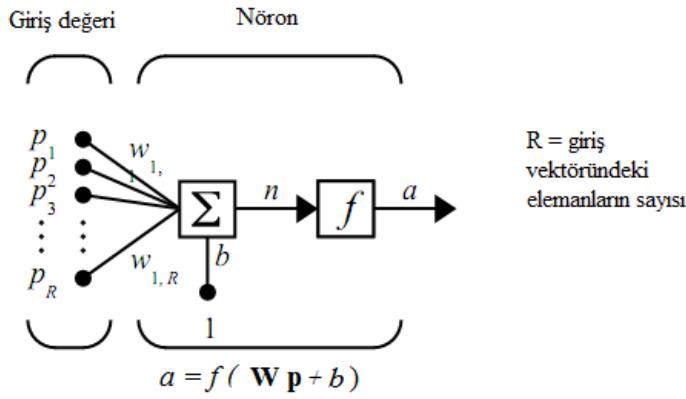
Son zamanlarda biyolojik ve yapay sinirler artık birbirinin benzeri olarak düşünülmemektedir (Despagne ve Massart, 1998). Sinir ağı algoritmasını yürüten bilgisayar, akıllı bir makine değildir. Çünkü bilgisayara ne yapacağı söylenmek

zorundadır. Sinir ağırları bağımsız giriş değişkenleri (tanımlayıcı) seti ile bir veya daha fazla sayıda çıkış değişkenleri arasında ilişki kurulmasında kullanılır. Şekil 2.23'te tek bir skaler giriş değerine sahip olan, bias değeri içermeyen ve bias değeri içeren nöronların çalışma prensibi özetlenmiştir.



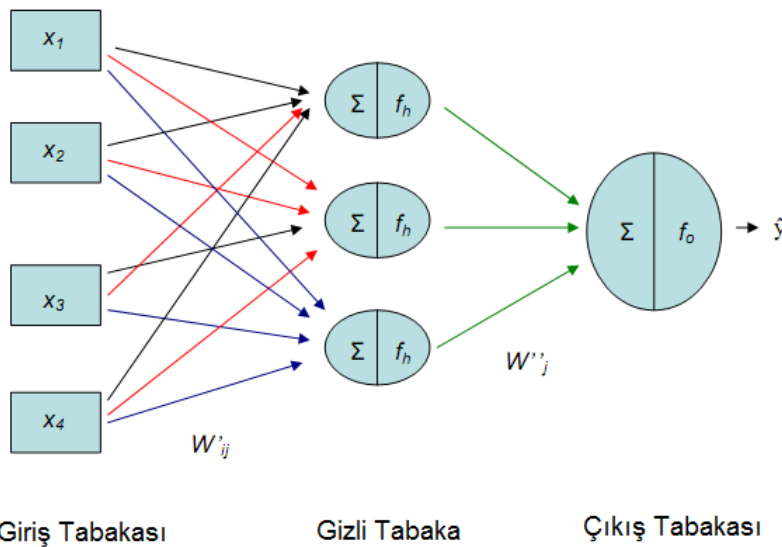
Şekil 2.23. (A) Bias değeri içermeyen ve (B) bias değeri içeren nöronların çalışma prensibi

Skaler giriş değeri p , p 'nin şiddetiyle skaler ağırlık değerini çarparak $w.p$ çarpım değerini oluşturan bir bağlantı aracılığıyla bir değere dönüştürülür. Burada ağırlıklandırılmış giriş değeri $w.p$, skaler çıkış değeri a 'yı meydana getiren transfer fonksiyonu, f 'nin tek parametresidir. Şekil 2.23 (B)'deki nöron skaler bir bias değerine sahiptir. Bias değeri basitçe $w.p$ çarpımına yapılan bir ekleme olarak düşünülebilir. Bias daha çok bir ağırlığa benzer fakat ağırlıktan farklı olarak giriş değeri sabit olup, 1 değerindedir. Nöronda b ve w değerleri ayarlanabilme özelliğine sahiptir (Demuth ve ark., 2007). Şekil 2.23'te giriş değerleri skaler bir değerdir. Ancak giriş değeri bir vektörden de oluşabilir. Giriş değeri vektör olan bir nöronun çalışma prensibi Şekil 2.24'te gösterilmiştir (Demuth ve ark., 2007). Burada giriş vektörünün her bir elemanı ağırlıklarla çarpılarak toplanmış, üzerine bias değeri eklenmiş ve transfer fonksiyonunun girdisini oluşturmuştur.



Şekil 2.24. Giriş değeri vektörden oluşan ve bias değeri içeren bir nöronun çalışma prensibi

Şekil 2.25'te nöronların bir araya getirilmesiyle oluşturulan bir sinir ağının yapısı gösterilmiştir. Nöronlar ağırlık değerleri aracılığıyla birbirine bağlanır. w'_{ij} giriş tabakasındaki nöronları, gizli tabakadaki nöronlara bağlamak için kullanılan ağırlık değerini gösterirken; w''_{ij} gizli tabakadaki nöronları, çıkış tabakasındaki nöronlara bağlamak için kullanılan ağırlık değerlerini göstermektedir. Gizli tabaka ve çıkış tabakasındaki her bir nöron iki görevi yerine getirir. Birincisi, giriş tabakasından alınan ağırlıklandırılmış giriş sinyallerini toplamak; ikincisi ise bu toplamları almak ve bir aktivasyon üretmek üzere bir transfer fonksiyonu aracılığıyla projeksiyonunu gerçekleştirmektir. Bu transfer fonksiyonu doğrusal, sigmoid veya hiperbolik tanjant fonksiyonu gibi birkaç türde olabilir (Otto, 2007).



Şekil 2.25. Bir yapay sinir ağının yapısı

Eşitlik 2. 61, çıkış cevabı değerlerini (y_{tahmin}) giriş değişkenleri (x_i) ile ilişkilendirir.

$$y_{tahmin} = f_0 \left[\theta'' + \sum_{j=1}^{nh} w_j'' \cdot f_h \left(\sum_{i=1}^{nd} w_{ij}' \cdot x_i + \theta' \right) \right] \quad (2.61)$$

Eşitlik 2.61’de çıkış nöronları ve gizli nöronlar için transfer fonksiyonları sırasıyla f_0 ve f_h simgeleriyle gösterilmiştir. θ'' ve θ' dengeleyici terim olarak görev yapan bias değerleridir ve ağırlık eğitimi esnasında hesaplanırlar. Ağırlık ve bias değerleri ayarlanabilir özelliktedir ve ilk iterasyonda rastgele belirlenir. Herbir iterasyon iki adımdan oluşur. İlk adımda eğitim seti kullanılarak bağımlı değişken tahmin edilir ve doğru değerle karşılaştırılır. İkinci adımda ise, iki değer arasındaki fark kullanılarak ağırlıklar yeniden ayarlanır. Hata önceden özel olarak tanımlanmış seviyeye ulaşana kadar iterasyon işlemine devam edilir.

Güçlü bir araç olan sinir ağlarının avantajı, hem doğrusal hem de doğrusal olmayan sistemlerin modellenmesine imkan vermesidir (Despaigne ve Massart, 1998). Doğrusal sistemler için yapay sinir ağları PCR veya PLS gibi aynı kapsamda değerlendirilebilir. Fakat doğrusal olmayan sistemler için PCR ve PLS benzer görevi yerine getiremez. Başlangıçta ağırlık ve bias değerlerinin rast gele seçiminden dolayı yapay sinir ağları sınırsız sayıda farklı modeller üretebilmektedir. Bu durum optimizasyon yönünden dezavantajlı olabilir. Çünkü gizli tabaka ya da tabakalar için belirlenmiş olan nöronların sayıları değişken olabilir. Bu durum işlemin daha da zaman alıcı olmasına neden olmaktadır. Veri setinin doğrusal olmadığının kesin olarak bilindiği durumlarda, yapay sinir ağlarının kullanılması önerilir. MLR, PCR ve PLS doğrusal olmama durumunu test etmek için kullanılabilir. Artıklar incelendiğinde eğer bir eğrilik veya eğilim gözlenirse, bu durum muhtemelen doğrusal olmamanın göstergesidir. Sinyallerin üst üste binmesi, örneklerin homojen olmaması, tanecik boyutunun sabit olmaması, eğer optik spektroskopi kullanılıyorsa ışın kayıpları ilişkinin doğrusallıktan uzaklaşmasının nedenleri arasında sayılabilir. Yapay sinir ağlarının PCR ve PLS ye göre en önemli avantajı, rastgele gürültülerin varlığında, daha az sayıda giriş değişkeninden sağlam doğrusal olmayan modeller oluşturabilme kabiliyetidir.

Sinir ağları değişkenler arasında karmaşık ilişkileri modellemede kullanılan çok yönlü ve esnek bir yöntem olmasına rağmen, geçerli model hakkında bir varsayım

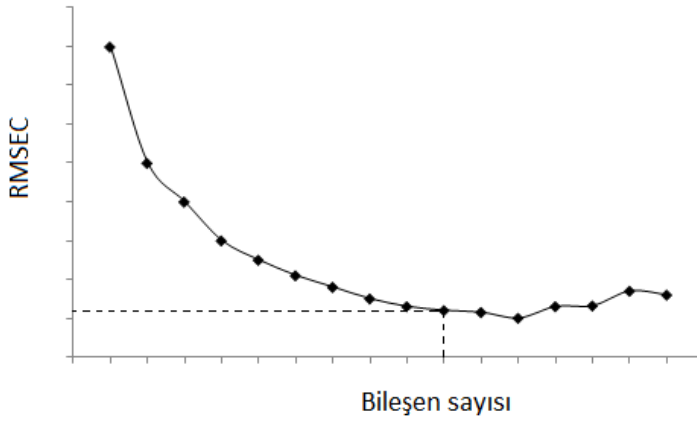
yapmaması nedeniyle kullanımlarında bazı çekinceler vardır. Bunun anlamı MLR, PLS ve PCR den daha büyük bir eğitim seti (kalibrasyon seti) gerektirmesidir. Ayrıca değişkenler arasındaki ilişkiyi gösterecek veya güven aralıklarını matematiksel olarak hesaplayacak uygun matematiksel model hakkında doğrudan bilgi verecek bir yol mevcut değildir (Miller ve Miller, 2008).

2.2.5. Kalibrasyon Modellerinin Geçerliliği

Model, değişken (konsantrasyon) tahmininde kullanılmadan önce geçerliliği ortaya konulmalıdır. Bir veri setini tanımlamak için kaç tane önemli bileşene ihtiyaç duyulacağı, bir bilinmeyen tahmininin ne kadar iyi olduğu, kullanılan verilerin bir model oluşturmada ne derece işe yaradığı modelin validasyonu ile ortaya çıkarılabilir. Model validasyonu, modelin uygun tahminler yapmada yeterli olduğunu garanti altına almak için uygulanır (Brereton, 2003). Tahminci değişkenler modellendiğinde, en önemli bilgiler ilk birkaç temel bileşen veya gizli değişkenden tutturken, gürültü daha sonraki temel bileşen veya gizli değişkenlerde modellenir. Model validasyonu nihai modelin oluşturulmasında gerekli olan maksimum temel bileşen veya gizli değişken sayısının belirlenmesine (gürültüden gelen katkıyı gidererek) ve daha sonrada bu modelin tahminlerde kullanılmasına yardım eder. Kısacası, validasyon tekniklerinin amacı validasyon modelinin kullanılabilirliğini test etmektir. Oto-tahmin, çapraz geçerlilik ve test seti geçerliliği kullanılan en önemli üç validasyon metodudur.

2.2.5.1. Oto-Tahmin (Auto-Prediction)

Oto-tahmin, kalibrasyon hata kareleri ortalamasının karekökü (RMSEC) olarak da bilinir. RMSEC, model parametrelerini tahmin etmede kullanılan kalibrasyon örnekleri için doğru kabul edilen konsantrasyon değerleri ile, onların kalibrasyon modeli ile tahmin edilen konsantrasyon değerleri arasındaki uyum derecesini tanımlar (Gemperline, 2006).



Şekil 2.26. RMSEC değerinin modele dahil edilen temel bileşen sayısına göre değişimi

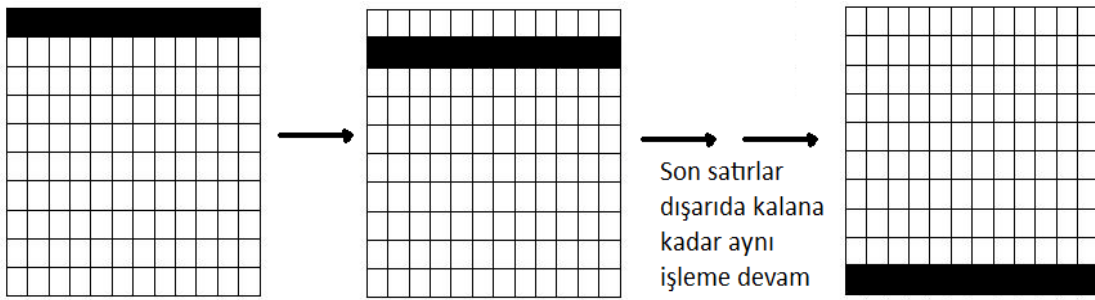
RMSEC kalibrasyon seti (eğitim seti) kullanılarak hesaplanır. Bileşenlerin (PCA veya PLS bileşenleri) sayısı arttığında RMSEC değeri genelde azalır (Şekil 2.26). RMSEC değerlerinde bir kriter (örneğin % 1) belirlenir. Belirlenen hata oranına ulaşılan kadar bileşenler teker teker modele dahil edilir ve bu hata yüzdesine inildiğinde geride kalan bileşenler önemsizdir. Bu kriter farklı şekillerde de belirlenebilir, örneğin hatanın gürültü seviyesine düşmesi gibi. RMSEC değeri, Eşitlik 2.62 kullanılarak hesaplanmaktadır.

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (c_i - \hat{c}_i)^2}{I - a - 1}} \quad (2.62)$$

Eşitlikte c_i , i 'inci satır için gerçek konsantrasyonu; $\hat{c}_i$, i 'inci satır için tahmin edilen konsantrasyonu; I , test setindeki satırların toplam sayısını; a , modeldeki bileşenlerin (temel bileşen ya da gizli değişken) sayısını; -1 terimi ise verilere ortalama merkezileştirme işlemi uygulandığından dolayı serbestlik derecesindeki azalmayı ifade etmektedir. Bu metod sadece bileşenlerin sayısının artırılmasıyla bile mükemmel bir veri uyumu sağladığından dolayı normalde tercih edilmez. Bununla birlikte RMSEC değerindeki artıştan, veri setinde herhangi bir hatanın olup olmadığının belirlenmesine yardım eder.

2.2.5.2. Çapraz-Geçerlilik (Cross-Validation)

Çapraz geçerlilik önemli bir kemometri aracı olarak ifade edilmektedir (Brereton, 2003). Oto tahmin gibi, çapraz geçerlilik de kalibrasyon seti (eğitim seti)'ne uygulanır. Fakat seçilen çapraz geçerlilik metoduna bağlı olarak farklılık arzeder. Çeşitli çapraz geçerlilik metotları mevcuttur ancak bunların içerisinde en yaygın olarak uygulanan metot, birini dışarıda bırakma (leave-one-out) metodudur. Bu metotla validasyon işleminin yürütülüşü, grafiksel olarak Şekil 2.27'de ifade edilmiştir.



Şekil 2.27. Birini dışarıda bırakma (leave-one-out) çapraz geçerlilik işlemi

Bu yöntemde önce hem X hemde Y matrislerinden bir örnek (satır) çıkarılır ve a sayıda bileşen (temel bileşen ya da gizli değişken) kullanılarak geride kalan örnekler arasında model oluşturulur. Daha sonra oluşturulan model çıkarılan örneğin Y değerinin tahmininde kullanılır. Tahmin edilen artık hataların kareleri toplamı (predicted residual error sum of squares, PRESS) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır.

$$PRESS_a = (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (2.63)$$

$PRESS_a$ çıkarılan her bir satır için basitçe gözlenen konsantrasyon değeri (y_i) ve tahmin edilen konsantrasyon değeri ($\hat{y}_i$) arasındaki farkın karesinden hesaplanabilir. Bu işleme tüm örnekler (I) için devam edilir. Böylece; her bir satır bir defa dışarıda bırakılıp model elde edilmiş ve daha sonra da bu model üzerinden, dışarıda bırakılan satır tahmin edilmiş olur. a bileşen kullanıldığında toplamsal PRESS (CUMPRESS) değerini oluşturmak üzere, tüm PRESS değerleri Eşitlik 2.64'te gösterildiği gibi toplanır.

$$CUMPRESS_a = \sum_i^I PRESS_a \quad (2.64)$$

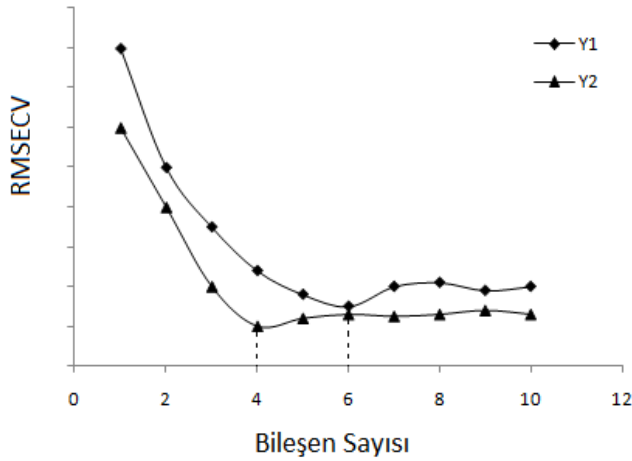
Çapraz geçerlilik işleminde hata kareleri ortalamasının karekökü (root mean square errors of cross validation, RMSECV) Eşitlik 2.65 kullanılarak elde edilebilir. Burada I, kalibrasyon seti (eğitim seti)'ndeki toplam satır sayısını ifade eder.

$$RMSECV_a = \sqrt{\frac{CUMPRESS_a}{I}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (y_i - \hat{y}_i)^2}{I}} \quad (2.65)$$

Bu işlem her bir *a* bileşen sayısı için tekrarlanır. Yukarıdaki terimin boyutlarının, ölçümü amaçlanan analit sayısı ile ilişkili olan konsantrasyon matrisindeki sütunların sayısına bağlı olduğunu ifade etmek gerekir. Örneğin; Y matrisi 4 analit için 30 konsantrasyon değerinden oluşan 30x4 boyutlarında bir matris, X matrisi de bu 30 çözeltide 5 adet potansiyometrik elektrotla okunan potansiyel değerlerinden oluşan 30x5 boyutlarında bir matris olsun. Bu koşullarda, çapraz geçerlilik işlemi 3 gizli değişken üzerinden gerçekleştirildiğinde elde edilen RMSECV değerleri, 4x3 boyutlarında bir matris olur.

RMSECV değerleri bileşen sayılarının bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde; grafikteki minimum, son modelin oluşturulmasında kullanılacak olan optimum bileşen sayısını ifade eder. NIPALS ya da SIMPLS ile çalışılıyorken, bazı durumlarda, grafikte gösterilen minimum değeri, optimum gizli değişken sayısı olarak seçmek yerine, seçilen bir kritere göre optimum değişken sayısı belirlenebilir. Örneğin, ekstra bir gizli değişkenin eklenmesi RMSECV değerinde öncekine göre en azından % 2'lik bir iyileşme meydana getiriyorsa modele dahil edilmelidir şeklinde bir kriter belirlenerek, uygun gizli değişken sayısı seçilebilir (Wise ve Gallagher, 2006).

Pratikte, optimum bileşen sayıları kullanılarak tüm analitler için model oluşturulabilir. Şekil 2.28, farklı analit türleri için optimum bileşen sayılarını belirlemede kullanılan bir RMSECV grafiğini göstermektedir.



Şekil 2.28. Birden fazla analit türü için optimum bileşen sayılarını bulmada kullanılan bir RMSECV grafiği

Şekil 2.28'deki grafiğe göre, RMSECV matrisi 2x10 boyutunda bir matristir (2 tane analit, 10 tane de bileşen bulunduğundan). Burada Y1, RMSECV matrisinin ilk satırını temsil ederken aynı zamanda konsantrasyon matrisinin ilk sütununa karşılık gelen değerlerdir. Benzer durum Y2 için de geçerli olup, RMSECV matrisinin ikinci satırı olup, konsantrasyon matrisinin 2. Sütununa karşılık gelen değerlerdir. Bu grafikte; Y1 ve Y2 analitleri için en iyi tahminler, sırasıyla 6 ve 4 bileşen kullanılarak yapılabilmektedir. Çünkü en küçük RMSECV değerleri bu bileşen sayılarında elde edilmiştir.

2.2.5.3. Bağımsız Test Seti Geçerliliği (Independent Test Set Validation)

Çapraz geçerlilik ve oto tahmin geçerliliği hesaplarının tamamıyla orijinal veri seti kullanılarak gerçekleştirilmesi önemli bir problemdir. Eğer iki analit birbiriyle doğrusal ilişki içerisindeyse (co-linear); yani, birinin konsantrasyonunda artış varken diğerinin konsantrasyonunda da artış varsa, veya tam tersine birinin konsantrasyonunda azalma varken diğerinin konsantrasyonu da azalıyorsa, her iki durumda da bu veriler arasında iyi bir kalibrasyon modeli elde edilebilir. Fakat, birinin konsantrasyonunun düşük diğerinin konsantrasyonunun yüksek olduğu durumda bir tahmin yapmak istediğimizde, çok kötü tahmin sonuçları elde etmemiz muhtemeldir. Çünkü, model bu yeni durumun üstesinden gelecek şekilde eğitilmemiştir. Çapraz geçerlilik alet gürültüsü yada seyrelme hataları gibi iç faktörlerin etkisini gidermede çok kullanışlı olsa da, kalibrasyon setindeki analit konsantrasyonlarında korelasyon olduğunda çok kullanışlı olamaz (Brereton, 2003).

Kalibrasyon işlemiyle elde edilen modeller, bilinmeyen örneklerde tahmin yapmada başarılı olmalıdır. Bunu sağlamak için iki adet veri seti kullanılır. Bunlardan birincisi kalibrasyon seti (eğitim seti) diğeri de dış test (validasyon) setidir. Modeller, ilk önce kalibrasyon seti kullanılarak oluşturulur. Daha sonra da oluşturulan modeller, test seti konsantrasyonlarının tahmininde kullanılarak modellerin geçerliliği test edilir. Tahminlerin hata kareleri ortalamalarının karekökü (root mean square error of prediction, RMSEP) Eşitlik 2.66'ya göre hesaplanır.

$$RMSEP_a = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_{test} - \hat{y}_{test})^2}{N}} \quad (2.66)$$

N, test seti matrisindeki örnek (sıra) sayısıdır. Çapraz geçerlilik yanlış anlamalara yol açan çok iyimser sonuçlara götürebilirken; test seti geçerliliği, normal olarak RMSECV değerinden daha büyük RMSEP değerinin gözlenmesine yol açsa da, daha doğrudur.

2.2.6. Deneysel Tasarım

Kemometride deneysel tasarım özellikle kalibrasyon seti verilerine gerek duyulduğunda çok önemlidir. Deneysel tasarım, alet ya da örnekten doğan herhangi bir girişim etkisinin tanımlanmasını mümkün kıldığı gibi, alet ve hedef analitler arasındaki ilişkinin yeterli derecede tanımlanmasını da sağlamaktadır. Bunun yanında, parametrelerin (örneğin farklı oranlarda dört farklı metal iyonunun konsantrasyonları) maksimum kombinasyonlarından oluşmuş olan bir veri setini basit bir şekilde elde etmek için çok sayıda deney yapmak oldukça maliyetlidir. Deneysel tasarım, ölçümlerin sayısının azaltıldığı bir prosedür tasarlamaya yardım ettiği için maliyeti düşürmekte, zaman ve harcanan emekten tasarruf edilmesini sağlamaktadır (Brereton, 2003).

Sensör dizileri kullanılarak gerçekleştirilen çok değişkenli kalibrasyonlar, ölçümü hedeflenen tüm maddelerin olası tüm konsantrasyon aralıklarındaki değişimlerini hesaba katmalıdır. Bu durumda tüm faktörleri çalışmak için en iyi yaklaşım, faktörleri full-faktöriyel tasarım (full-factorial design)'a uygun olarak değiştirmek, başka bir ifadeyle

maddelerin konsantrasyon seviyelerinin muhtemel tüm kombinasyonlarını denemektir. Bu tasarım çeşidi oldukça uygundur. Fakat gerekli kalibrasyon çözeltilerinin sayısı ve yapılacak ölçümlerin sayısı, faktör sayısı ile geometrik olarak arttığından, faktör sayısının fazla olduğu durumlarda kullanışlı değildir. Eğer bir kimse 2 seviyeli 5 faktörlü bir ful-faktöriyel deneysel tasarım seti oluşturacaksa kullanacağı çözelti sayısı $2^5 = 32$ 'dir. Eğer faktör sayısı 6 olursa kullanılacak deneysel tasarım setindeki çözeltilerin sayısı $64 (2^6)$ 'e çıkmaktadır. Burada tabandaki sayı değişkenlerin (konsantrasyonlar) seviyelerini gösterirken, üslü kısım değişken sayısını ifade etmektedir. Çok sayıda kalibrasyon çözeltisinin kullanıldığı kalibrasyonlar, zaman ve emek harcaması olduğundan dolayı, ful faktöriyel tasarımın yerine fraksiyonel-faktöriyel tasarım (fractional-factorial design) sıklıkla kullanılır. Fraksiyonel tasarımlarda ana etkilerin doğru bir şekilde hesaplanabilmesi için faktörler arası etkileşimler feda edilir. Fakat, bu tasarımlar daha az sayıda çalışma (kalibrasyon çözeltisi) gerektirirler ve harcanan emek açısından da daha makuldürler. Örneğin; 2 seviyeli 5 faktörlü ful-faktöriyel tasarımda 32 adet (2^5) kalibrasyon çözeltisi gerekirken, fraksiyonel-faktöriyel tasarımda 16 adet (2^{5-1}) kalibrasyon çözeltisi gerekir. Fraksiyonel-faktöriyel tasarım, ful-faktöriyel tasarımda kullanılan kalibrasyon çözeltilerinin sayısını yarıya düşürmektedir.

Seviye sayısını artırmak kalibrasyon aralıkları içerisinde daha fazla sayıda ölçüm değeri oluşturacağından 2 seviyeli tasarımlardan daha doğru ve daha gerçekçi kalibrasyonlar oluşturulmasını sağlamaktadır. Ancak seviye sayısını artırmak fazla sayıda kalibrasyon çözeltisinin oluşturulmasını gerekli kılmaktadır. Deneysel tasarımlar, zaman, emek, doğruluk ve maliyet açısından değerlendirilerek uygun seviyede seçilmelidir.

Son yıllarda potansiyometrik sensör dizileri kullanılarak gerçekleştirilen çok değişkenli kalibrasyonlarda; 3 faktörlü 3 seviyeli ful-faktöriyel deneysel tasarımlar, faktör sayısı 3'ten fazlaysa da, 3 seviyeli fraksiyonel-faktöriyel deneysel tasarımlar tercih edilmektedir.

Çizelge 2.6'da 3 seviyeli 3 faktörlü ful-faktöriyel deneysel tasarıma göre oluşturulmuş çözeltilerdeki iyonların konsantrasyon kombinasyonları görülmektedir. Çizelgede; 0, 1 ve 2 sayıları seçilen konsantrasyon aralıklarında türlerin, sırasıyla düşük, orta ve yüksek konsantrasyon seviyelerini temsil etmektedir.

Çizelge 2.6. 3 faktörlü 3 seviyeli ful-faktöriyel deneysel tasarımda (full-factorial experimental design) faktör seviyeleri, 0: düşük seviye 1: orta seviye 2: yüksek seviye

	Çözelti No	Türler		
		Faktör A	Faktör B	Faktör C
FUL FAKTÖRİYEL DENEYSEL TASARIM	1	0	0	0
	2	0	0	1
	3	0	0	2
	4	0	1	0
	4	0	1	1
	6	0	1	2
	7	0	2	0
	8	0	2	1
	9	0	2	2
	10	1	0	0
	11	1	0	1
	12	1	0	2
	13	1	1	0
	14	1	1	1
	15	1	1	2
	16	1	2	0
	17	1	2	1
	18	1	2	2
	19	2	0	0
	20	2	0	1
	21	2	0	2
	22	2	1	0
	23	2	1	1
	24	2	1	2
	25	2	2	0
	26	2	2	1
	27	2	2	2

Çizelge 2.7’de ise 3 seviyeli 3 faktörlü fraksiyonel-faktöriyel deneysel tasarım (fractional-factorial experimental design)’a göre oluşturulmuş çözeltilerdeki iyonların konsantrasyon seviyelerinin kombinasyonları görülmektedir. Tasarımda ilk iki sütun (ilk iki faktör) 2 faktörlü ful-faktöriyel deneysel tasarıma göre oluşturulur. Üçüncü sütun (üçüncü faktör), ilk iki faktörle bağlantılı olarak belirlenir. Üçüncü faktörün seviyesi aşağıdaki eşitlik aracılığıyla özel olarak hesaplanmaktadır.

$$Faktör C = 3 - mod_3(Faktör A + Faktör B) \quad (2.67)$$

Burada $mod_3(x)$, temel matematiksel işlemlerden bilinen 3 tabanına göre modüler aritmetik işlemcisini ifade etmektedir.

Çizelge 2.7’de ifade edilen 3^{3-1} fraksiyonel faktöriyel tasarım incelendiğinde, aynı çözelti için üç sütundaki sayılar toplanırsa, toplamalarının 0, 3 ve 6 olduğu ve 3 ile

bölünebildikleri görülmektedir ($\text{mod}_3(\text{Faktör A} + \text{Faktör B} + \text{Faktör C}) = 0$) (Ipatov, 2002).

Çizelge 2.7. 3 faktörlü 3 seviyeli fraksiyonel-faktöriyel deneysel tasarımda (fractional-factorial experimental design) faktör seviyeleri, 0: düşük seviye 1: orta seviye 2: yüksek seviye

FRAKSİYONEL FAKTÖRİYEL DENEYSEL TASARIM	Çözümlü No	Türler		
		Faktör A	Faktör B	Faktör C
	1	0	0	0
	2	0	1	2
	3	0	2	1
	4	1	0	2
	5	1	1	1
	6	1	2	0
	7	2	0	1
	8	2	1	0
	9	2	2	2

2.3. Akış Enjeksiyon Analizi (AEA)

Akış Enjeksiyon Analiz (AEA) tekniği, 1975 yılında Ruzicka ve Hansen tarafından tanımlanmıştır (Ruzicka ve Hansen, 1975). Ruzicka ve Hansen'in Danimarka'da, Stewart'ın Amerikada aynı zamanda aldıkları patentlerle başlatılan bu teknoloji dünyada hızlı bir şekilde kabul görmüştür. Tanımlandığından günümüze kadar, bu konudaki gelişmeler çok sayıda monograf ve araştırma yayınında yer almıştır.

Analizlerin otomasyon olanakları, analitik metotların seçiminde önemli bir rol oynamaktadır. Otomasyon, insanların çalışmalarının daha verimli olmasını ve rutin işlemlerden arındırılmasını sağlar. Bu yönüyle Akış Enjeksiyon Analizi (AEA) klasik elle yapılan analizlerle karşılaştırıldığında önemli avantajlara sahiptir. Çünkü, AEA tekniği basit temelli, oldukça ucuz donanımlı, elle gerçekleştirilen seyreltme, deriştirme, karıştırma, çözücü ekstraksiyonu vb. pek çok analitik işlemin otomasyonunu sağlayan, hızlılık, kesinlik, doğruluk açısından mükemmel sonuçları elde edebilme kapasitesine sahip pratik bir tekniktir (Kolev ve Mckelvie, 2009). AEA yöntemi gelişmiş ekipmanlar gerektirmektedir. Ancak bilgisayar ve endüstri alanlarındaki modern teknolojilerin gelişmesi, AEA yönteminin de gelişimine önemli katkılar sağlamıştır. Günümüzde hem laboratuvar, hem de endüstrideki kullanımlar için, tercihe göre farklı akış enjeksiyon analizörlerine ulaşmak son derece kolaydır. Bu analizörlerin, her bir saatte yüzlerce analizi gerçekleştirme fırsatını sunmaları oldukça önemlidir. Sistemde mevcut olan

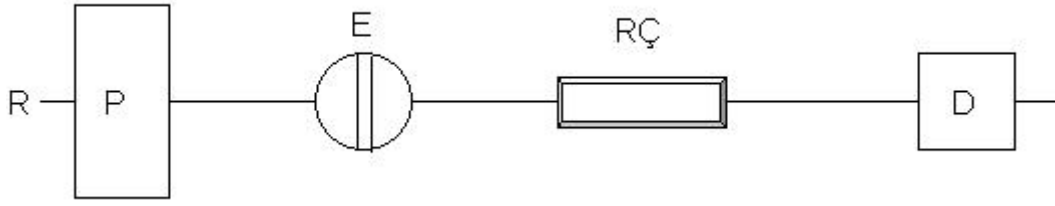
bilgisayar programları, verilerin hızlı bir şekilde işlenmesini ve ölçüm sonuçlarının kullanıcı veya araştırmacıya istenilen özellikte sunulmasını sağlar. Şu ana kadar AEA ile ilgili on binlerce çalışma yapılmış ve literatürde yayınlanmıştır. AEA ile ilgili periyodik olarak tekrarlanan birkaç tane uluslararası konferans ve sempozyum da mevcuttur. Buna ilave olarak, AEA tekniğinin uygulama alanlarını, teknik ve metodolojilerini bulmaya imkan veren çok sayıda bilgisayar veri tabanına ulaşmak mümkündür (<http://www.fia.unf.edu/>, 06.03.2010).

2.3.1. AEA Tekniğinin Prensipleri ve Bileşenleri

AEA'nın açıklanmasında tüm dünyada Hansen ve Ruzicka'nın kitap ve kritiklerinden faydalanılır (Ipatow, 2001). Birçok kaynak kitapta AEA'nın tayin metotları, teorisi, gelişim tarihi ve uygulama alanları hakkında geniş bilgiler verilmiştir (Trojanowicz, 2008; Kolev ve McKelvie, 2009; Valcarcel ve de Castro, 1994; Karlberg ve Pacey, 1989; Calatayud, 1996).

AEA tekniği, basit bir ifadeyle, belirli hacimdeki örnek çözeltisini uygun bir taşıyıcı faz içerisine enjekte etmeye dayanır. Enjeksiyonu yapılan örnek, taşıyıcı faz tarafından doğrudan dedektöre doğru taşınabileceği gibi, taşınma esnasında örnek reaktifle reaksiyona girerek, belirlenebilir türevlerine de dönüşebilir. Bu olay sonucunda, örnek bölgesinin taşınması nedeniyle sürekli olarak değişen absorbans, elektrot potansiyeli vb. değerleri devamlı olarak kaydeden dedektörde bir pik oluşur. Oluşan pikin yükseklik veya alanı konsantrasyonla orantılıdır. Örnek çözeltisine karşılık elde edilen pik yüksekliği veya alanı, standart çözeltilerden elde edilen pik yükseklikleri veya alanlarıyla karşılaştırılarak, kantitatif tayin amacıyla kullanılır.

Şekil 2.29'da basit bir AEA sisteminin bileşenleri görülmektedir (Karlberg ve Pacey, 1989). Burada verilen AEA sistemi son derece basit bir AEA sistemi olup, analiz amacına uygun olacak biçimde, farklı bileşenler de ilave edilerek, daha karmaşık şekillerde de tasarlanabilir.



Şekil 2.29. Basit bir AEA sisteminin şematik gösterimi

R : Hareketli faz veya Reaktif akışı

P : Pompa

E : Enjeksiyon bölgesi

RÇ : Reaksiyon çemberi

D : Dedektör

Pompa, dar kolonlar boyunca taşıyıcı ve reaktif çözeltilerini göndermek amacıyla kullanılır. En sık kullanılan pompa türü peristaltik pompadır. Ancak, şırınga tipi pompalar da piyasada mevcuttur. Bu pompalar, farklı hacimlerde akış hızı tercihleri sunabilen çok kanallı pompalar olabilmektedir.

Örnek enjeksiyon bölgesi, küçük hacimlerdeki örneğin tekrarlanabilir bir şekilde taşıyıcı fazın akış yolu içine enjeksiyonunu sağlamak amacıyla kullanılır. En yaygın olarak tercih edileni, düşük basınçlı ve dört yöne dönebilen enjeksiyon vanasıdır. Bunlar; elle, elektronik olarak veya sıkıştırılmış havayla harekete geçirilebilirler. Enjektör tamamıyla otomatik işlemler için oto örnekleyiciye bağlanabilir.

Reaksiyon çemberinin görevi, radyal karışmanın şiddetini dolayısıyla örnek ile reaktif arasındaki reaksiyonu artırmaktır.

AEA sisteminde; absorbans, floresans, atomik emisyon veya absorpsiyon, pH, elektrot potansiyeli, difüzyon akımı, elektriksel iletkenlik gibi değişimleri hissedebilen bir veya daha fazla sayıda dedektör kullanılabilir. Kullanılan dedektörün küçük hacim, düşük gürültü düzeyi, geniş bir konsantrasyon aralığı için hızlı ve doğrusal cevap, yüksek duyarlılık gibi özelliklere sahip olması arzulanır.

AEA’de tanımlanmış tekrarlanabilir bir örnek hacminin taşıyıcı faza gönderilmesi önemli bir gerekliliktir. Bunun için birkaç çeşit enjektör tipi geliştirilmiş ve gerek kromatografide, gerekse AEA’da kullanılmıştır. Gerçekte birçok sıvı kromatografi vanası, AEA ölçümlerinde enjektörle aynı görevi yerine getirebilmektedir (Karlberg ve Pacey, 1989). Ayrıca gelişen teknoloji, farklı enjeksiyon hacmi tercihleri sunan bilgisayar kontrollü otomatik örnekleyicileri araştırmacıların kullanımına sunmuştur.

AEA sistemleri, yukarıda bahsedilen bileşenlerin dışında, kullanılan yöntem ve tekniklere bağlı olarak, filtreler, diyaliz üniteleri, seyreltme ve deriştirme üniteleri, sıvı-

sıvı ekstraksiyon üniteleri, gaz difüzyon üniteleri, bağlantı birimleri, akış yolları ve gaz giderme üniteleri gibi birçok bileşenden de oluşabilmektedir (Kolev ve Mckelvie, 2009).

2.3.2. AEA Sisteminin Optimizasyonu

AEA metodunun iyi bir şekilde optimize edilmesi, sonuçların kalitesi üzerine önemli etkilere sahip olup, sistemin bileşenlerine bağlı olarak çok sayıda deneysel parametrenin incelenmesini mecburi kılar. Bu deneysel parametreler; pH, sıcaklık ve reaktif konsantrasyonu gibi kimyasal parametreler, enjeksiyon hacmi, karıştırma çemberinin özellikleri, bağlantıların uzunluk ve şekilleri gibi AEA parametreleri ya da elektrodun şekli, akış hücresinde düzenlenmesi ve akış hücresinin ölü hacmi gibi tayin parametrelerinden oluşabilir (Calatayud, 1996).

AEA'daki tüm sistem parametreleri kolaylıkla optimize edilebilir, kontrol edilebilir, en iyi performans ve doğruluğu sağlayacak şekilde ayarlanabilir. Bu yüzden son zamanlarda, AEA'da elektrokimyasal metotlarla tayine karşı bir eğilim göze çarpmaktadır. Elektrokimyasal dedektörler, özellikle yaygın olarak kullanılan optik sensörlerle karşılaştırıldıklarında; basitlik, düşük maliyet, hızlı cevap ve geniş bir konsantrasyon aralığında çalışabilme gibi avantajlara sahiptirler.

Optimizasyonun en temel amacı; duyarlılık, doğruluk ve tekrarlanabilirlik gibi analitik özellikleri iyileştirmektir. Örnekleme sayısı, örnek ve reaktif tüketimi, çalışma maliyeti yukarıda sayılanlara göre daha geri planda kalmaktadır (Calatayud, 1996).

AEA'da akış yolunun uzunluğu, enjeksiyon hacmi ve hareketli fazın akış hızı gibi parametreler sistemin duyarlılık ve örnekleme sıklığı gibi özelliklerini etkilemektedir. Akış yolunun uzunluğu örneğin dağılmasını artırdığından dolayı, piklerin genişemesine yol açmaktadır. Bu nedenle, akış yolunun uzunluğu mümkün olduğu kadar küçük tutulmalıdır. Diğer taraftan, örnek enjeksiyonundan dolayı akışta meydana gelen ani değişikliklerin dedektöre ulaşmadan önce dengelenebilmesi için de belli bir uzunluğa sahip olması gerekmektedir. Tayin edilecek tür bir reaksiyon sonucu oluşuyorsa, örnekle reaktifin birbiriyle yeterli derecede karışmasını mümkün kılacak dağılmayı sağlayacak uzunluğa sahip olmalıdır. Akış hızının artışı, genel olarak potansiyometrik sensörlerden elde edilen piklerin yükseklik ve genişliklerinde azalmaya, buna karşılık örnekleme sıklığında da artışa neden olmaktadır. Diğer bir faktör olan enjeksiyon hacminin artışı, potansiyometrik piklerin yüksekliklerinde artışa neden olmaktadır fakat aynı etki elektrot

yüzeyinin hareketli faz tarafından temizlenme süresini artırdığından, pikin temel çizgiye (baseline) dönüş süresini uzatmakta dolayısıyla örnekleme sıklığında azalmaya neden olmaktadır. Ayrıca, hareketli fazın bileşimi ve iyonik şiddeti de pik yüksekliği ve pik genişliklerini etkilemektedir. AEA sistemi tüm bu parametreler göz önünde bulundurularak, analiz işlemlerinden önce optimize edilmelidir.

Elektrokimyasal dedektörler için çok sayıda farklı akış hücresi tipleri vardır. Bunların direkt potansiyometri için kullanılan klasik tipleri olduğu gibi, duyarlı tabakanın iç kanalın yüzeyine tuturulduğu ve akış yolunun bir parçası olduğu, özenle hazırlanmış tipleri de mevcuttur. Bununla birlikte, endüstriyel analizler için geliştirilen AEA sistemlerinde, elektrokimyasal sensörlerin uygulamaları hala birçok zorlukla karşı karşıyadır. Spesifik olmayan sensör sistemleri ile matematiksel yapı belirleme metotları veya çok değişkenli analiz yöntemlerinin birlikte kullanıldığı yeni yaklaşımlar yardımıyla bu problemlerden bazılarını çözmek mümkündür.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Materyaller

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

Membranların hazırlanmasında çözücü olarak kullanılan tetrahidrofuran (THF) Merck (Almanya) firmasından; membran polimeri olarak kullanılan, yüksek molekül ağırlıklı polivinilklorür (PVC); plastikleştirici olarak kullanılan, dibütilsebakat (DBS), dioktilsebakat (DOS), Dibütilftalat (DBP); iyonikleştirici olarak kullanılan Potasyum tetrakis(4-klorofenil)borat (KTPClPB) ve tridodesilmetilamonyumklorür (TDDMACl) Fluka (Almanya) firmasından temin edildi. Bir diğer plastikleştirici çeşidi olan 2-Nitrofeniloktileter (NPOE) Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından temin edildi. Membranların yapısında iyonofor madde olarak kullanılan; Lityum İyonofor VI (6,6-dibenzil-1,4,8-11-tetra okzosiklotetradekan), Sodyum İyonofor X (4-tert-Butilkalix[4]aren-tetraasetik asit tetraetilester), Potasyum İyonofor I (Valinomisin), Amonyum İyonofor I (Nonaktin), Klorür İyonofor II ([4,5-dimetil-3,6-dioctiloksi-1,2-fenilen]-bis-(civa-trifloroasetat)), Tetradodesilamonyumnitrat (TDDA-NO₃), tetradodesilamonyumbromür (TDDA-Br), Monensin ve Dibenzo-18-Crown-6 Fluka (Almanya) firmasından temin edildi. Trioktilfosfinoksit (TOPO) iyonofor maddesi Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından temin edildi.

Katı-kontakların hazırlanmasında kullanılan epoksi (Macroplast Su 2227) Henkel (İstanbul AŞ., Türkiye), sertleştirici (Desmodur RFE) Bayer AG (Almanya) ve grafit (tanecik boyutu ≤ 0.1 mm) Fluka (Almanya) firmalarından temin edildi.

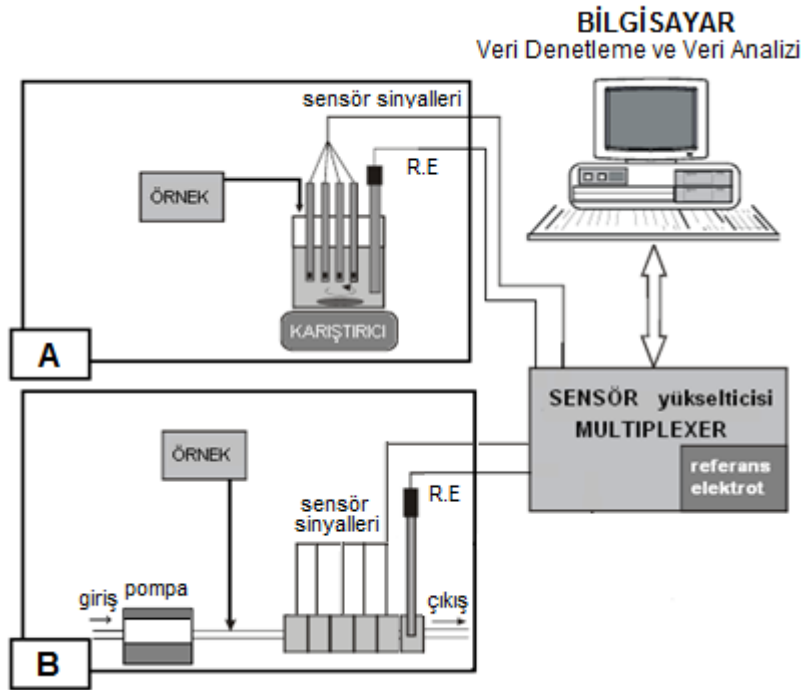
II. sınıf Cl⁻-seçici elektrotun hazırlanmasında kullanılan % 99.99 saflıktaki gümüş tel Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından temin edildi.

Çalışmada, çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan bütün tuzlar analitik saflıkta olup, Merck (Germany) firmasından temin edildi.

Tüm çözeltilerin hazırlanmasında ultra saflıkta deiyonize su (R=18.2 MΩ) kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Durgun ve hareketli ortamlardaki potansiyometrik ölçümler, tasarımı ve program yazılımı laboratuvarımızda gerçekleştirilen, bilgisayar kontrollü yüksek empedanslı çok kanallı potansiyometrik ölçüm sistemi kullanılarak alındı. Kullanılan ölçüm sistemi Şekil 3.1’de şematik olarak görülmektedir. Bütün potansiyel ölçümlerinde referans elektrot olarak çift hücreli doygun kalomel elektrot (Gamry, ABD) kullanıldı. Kromatografik ölçümler, ICS-1000 İyon Kromatografi Sistemi (Dionex, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Sistem; bilgisayar yazılımı ve grafik arayüzü sayesinde bilgisayar kontrollü olarak enjeksiyonların yapılmasına, akış hızının ayarlamasına ve elde edilen piklerin yükseklik ve alanlarının hesaplanmasına imkan tanımaktadır. Sistemde dedektör olarak iletkenlik dedektörü bulunmaktadır. Katyonların kromatografik analizlerinde; ayırım kolonu ve koruyucu kolon olarak sırasıyla, CS12A (Dionex, ABD) ve CG 12A (Dionex, ABD) kullanıldı. Katyon analizlerinde, baskılayıcı olarak CSRS Ultra-4mm (Dionex, ABD) kullanıldı. Anyonların analizlerinde ise ayırım kolonu olarak AS 11 (Dionex, ABD), koruyucu kolon olarak AG 9HC (Dionex, ABD) ve baskılayıcı olarak ASRS 300-4mm (Dionex, ABD) kullanıldı.



Şekil 3.1. Kullanılan çok kanallı potansiyometrik ölçüm sisteminin şematik gösterimi (A) Durgun ortam ölçümleri (B) Hareketli ortam ölçümleri

Akış Enjeksiyon Analiz ölçümlerinde ICS-1000 İyon Kromatografi Sisteminin bilgisayar kontrollü pompası ve enjeksiyon vanası kullanılmıştır. Tampon çözeltilerin pH'ları iyon metre (Jenway 3040, İngiltere)'ye bağlanmış olan cam pH elektrot (Schott, Almanya) kullanılarak ayarlandı. Çözeltilerin ve hazırlanan membranların homojenleştirilmesinde ultrasonik karıştırıcı (Ultrasonic LC30, Almanya) kullanıldı.

Kimyasal maddelerin tartımları 0.0001 g hassaslığa sahip olan bir elektronik terazi (Vibra, Japonya) kullanılarak gerçekleştirildi. Çözeltilerin küçük hacimlerinin alınmaları ve aktarılmasında 10-100 µL ve 100-1000 µL hacim aralıklarına sahip mikro pipetler (Brand, ABD) kullanıldı. Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan ultra saflıktaki deiyonize su, normal saf suyun Simplicity UV deiyonize su sistemi (Millipore, ABD)'nden geçirilmesiyle elde edildi.

3.1.3. Kullanılan Bilgisayar Yazılımları

Elektrotların potansiyometrik performans parametrelerinin hesaplanmasında Excell Office 2007 (Microsoft Co., ABD) kullanıldı. Regresyon parametrelerinin hesaplanmasında MATLAB 7.5 (The Math Works Inc., ABD) üzerinden çalışan PLS_Toolbox 5.5 (Eigenvector Research Inc., ABD) kemometri programı kullanıldı. Yapay sinir ağları ile ilgili hesaplamalar SPSS Statistics 17.0 (SPSS Inc., ABD) programı kullanılarak gerçekleştirildi.

3.1.4. Analiz Edilen Su Numuneleri

Çalışmada analiz edilen su numuneleri, Samsun ve Ordu illerindeki bazı doğal su kaynakları, akarsular, deniz suyu ve şebeke sularından elde edilmiştir.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Elektrotların Hazırlanışı

3.2.1.1. PVC-Membran Elektrotların Hazırlanışı

Çalışma süresince kullanılan PVC membran elektrotların hazırlanması dört temel basamaktan oluşmaktadır:

- ✓ Katı-kontakların hazırlanması
- ✓ Elektrot membranların hazırlanması
- ✓ Membranların katı-kontak yüzeylere kaplanması
- ✓ Elektrotların koşullandırılması

Katı kontak hazırlanışı: Kütlece %50 grafit, % 35 epoksi ve % 15 sertleştiriciden oluşan karışıma yeterli miktarda THF ilave edilerek homojen olacak şekilde iyice karıştırıldı. Elektrot gövdesini teşkil eden, çapı 1.0 mm olan bakır telin yüzeyi, THF içeriği uçurularak uygun kıvama getirilen katı-kontak karışımına daldırılarak kaplandı. Katı-kontakla kaplanan bakır teller, 24 saat süreyle 50 °C'teki etüvde kurutuldu.

Elektrot membranlarının hazırlanışı: Elektrot membranları toplam kütle 200 mg olacak şekilde Çizelge 3.1'de verilen oranlar kullanılarak hazırlandı. İlk önce, tartılan PVC'ler 4 mL'lik cam tüp içerisinde bulunan 0.5 mL THF'ye ilave edildi ve iyice çözünene kadar ultrasonik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra, plastikleştirici başka bir cam tüp içerisinde bulunan 0.25 mL THF'ye eklenerek iyice karıştırıp çözüldü. Tartılan iyonofor ve varsa iyonikleştirici bileşen başka bir cam tüp içerisinde bulunan 0.25 mL THF'ye ilave edilip iyice karıştırılarak çözüldü. Son olarak; iyonofor karışımı ve plastikleştirici karışımı, daha vizkoz olması nedeniyle aktarımı güç olan çözünmüş PVC karışımına eklendi ve iyice homojen olana kadar ultrasonik karıştırıcıda karıştırıldı. Böylece, katı kontakt yüzeylere kaplanacak olan elektrot membranları elde edildi.

Çizelge 3.1. Hazırlanan elektrot membran bileşimleri

Elektrot	İyonofor	İyonikleştirici	Plastikleştirici	Polimer
Li⁺-Seçici-1	% 1.5 Li ⁺ İyonofor VI	% 0.5 KTpCIPB	% 70.0 NPOE	%28.0 PVC
Li⁺-Seçici-2	% 1.5 Li ⁺ İyonofor VI % 1.0 TOPO	% 0.5 KTpCIPB	% 69.0 NPOE	%28.0 PVC
Na⁺-Seçici	% 1.5 Na ⁺ İyonofor X	-	% 60.0 DOS	% 38.5 PVC
K⁺-Seçici	% 2.0 K ⁺ İyonofor I	% 0.5 KTpCIPB	% 64.5 DOS	% 33.0 PVC
NH₄⁺-Seçici	% 1.5 NH ₄ ⁺ İyonofor I	% 0.5 KTpCIPB	% 65.5 DOS	% 32.0 PVC
Kasyon Duyarlı-1	% 4.0 Dibenzo -18-Crown-6	% 1.0 KTpCIPB	% 67.0 NPOE	%28.0 PVC
Kasyon Duyarlı-1	% 3.0 Monensin	-	% 70.0 DBS	% 27.0 PVC
Cl⁻-Seçici	% 2.0 Cl ⁻ İyonofor II	%0.03 TDDMACl	% 64.97 DOS	% 33.0 PVC
NO₃⁻-Seçici	% 4.0 TDDA-NO ₃	-	% 68.0 DBP	% 28.0 PVC
Anyon Duyarlı	% 4.0 TDDA-Br	-	% 68.0 DBP	% 28.0 PVC

Membranların katı-kontak yüzeylere kaplanması: Yüzeyleri katı kontakla kaplanmış olan bakır teller, hazırlanan membran çözeltilerine uygun kalınlıkta membran elde edilecek şekilde 2-3 defa daldırılarak kaplandı. Membranların kaplanması esnasında, elektrot uçlarında hava kabarcıkları kalmamasına özen gösterildi. Kaplanan elektrot membranları, 6 saat süresince karanlıkta oda koşullarında kurumaya bırakıldı.

Elektrotların koşullandırılması: Kasyon seçici ve kasyon duyarlı elektrotlar kurutulduktan sonra, ana iyonlarının nitrat tuzlarından hazırlanan 10⁻¹ M'lık çözeltilerde 12 saat süreyle koşullandırıldı. Anyon seçici ve anyon duyarlı elektrotlar ise ana iyonlarının sodyum tuzlarından hazırlanan 10⁻¹ M'lık çözeltilerde 12 saat süreyle koşullandırıldı. Elektrotlar, kullanım zamanları dışında, oda koşullarında karanlıkta tutuldu. Kullanımdan önce her bir PVC membran elektrot, kendi ana iyonunun 10⁻¹ M'lık çözeltisinde yaklaşık 15 dk. koşullandırıldı.

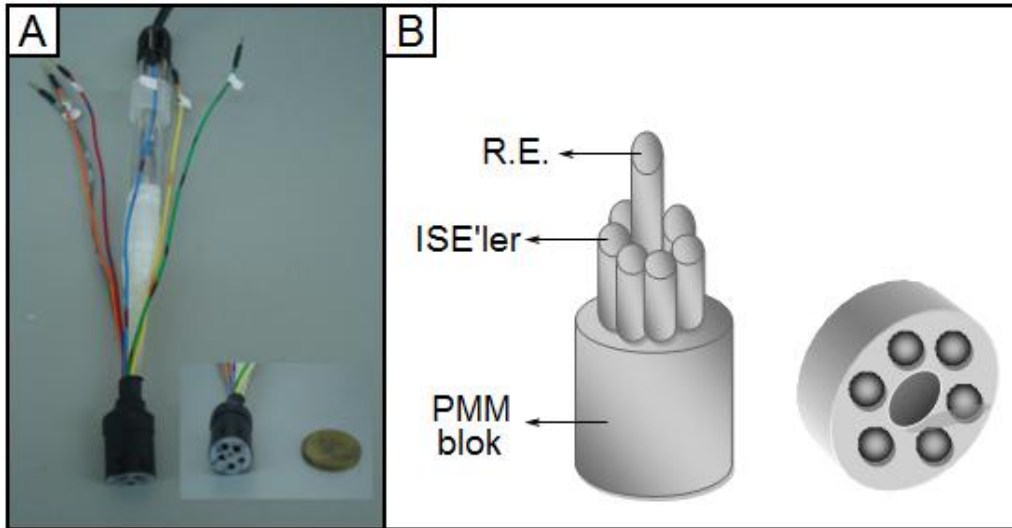
3.2.1.2. II. Sınıf Cl⁻-Seçici Elektrotun Hazırlanışı

1 mm çapında, % 99.9 saflıktaki Ag telden 1 cm uzunluğunda bir parça kesilerek bakır kablonun ucuna lehimlendi. Ag telin yüzeyi zımpara kağıdı kullanılarak temizlendi ve deiyonize suyla iyice yıkandı. Ag telin kaplanmak istenen bölgesinin dışında kalan

yüzeyleri izole edildi. Temizlenen Ag tel elektroliz hücrenin anot ucuna bağlandı. Elektroliz hücrenin katot ucuna ise Pt tel bağlandı. Elektrokimyasal hücrede elektrolit olarak 0.1 M HCl çözeltisi kullanıldı. Devreden 1 dk. boyunca 10 mA/cm^2 lik sabit akım geçirildi. Elektroliz sonunda, Ag telin yüzeyi AgCl ile kaplanmış oldu.

3.2.2. Sensör Dizilerinin Tasarımı

Çalışmada durgun ortam ölçümlerinde kullanılmak üzere tasarlanan sensör dizilerinde, elektrotlar polimer bir blok içerisine yerleştirildi. Böylece, elektrotların hem ölçüm esnasında zarar görmemesi hem de referans elektrota eşit mesafede olmaları sağlanmış oldu. Bunu gerçekleştirmek için; boyu 1.0 cm yarı çapı 0.4 cm olan silindirik bir polimetilmetakrilat (PMM) bloğun üzerinde merkezinde referans elektrot, referans elektrotun çevresinde de dairesel olarak çalışma elektrotlarının yerleştirilebileceği şekilde delikler açıldı. Çalışma elektrotlarını ve referans elektrotu yerleştirmek için deliklerin açılmasında sırasıyla kalınlığı 1.2 mm ve 0.3 mm olan matkap uçları kullanıldı. Elektrotlar bloğa yerleştirildikten sonra bir yapıştırıcı aracılığıyla bloğa sabitlendi ve dip kısımlarından izole edildi (Şekil 3.2). Referans elektrotun boyutlarını küçültmek için büyük boyutlara sahip olan tuz köprüsü kısmı çıkarılarak yerine mikropipet ucu bağlandı ve içi KCl ile dolduruldu. Mikropipetin uç kısmı cam pamuğu ile kapatıldı.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan durgun ortam ölçümlerinin alındığı sensör dizilerinden birinin şekli (A) Sensör dizisinin resmi (B) Sensör dizisinin şematik gösterimi

Hareketli ortam ölçümlerinde kullanılan sensör dizileri, polikarbonattan üretilmiş akış hücrelerine elektrotların yerleştirilmesiyle oluşturuldu. Akış hücreleri laboratuvar tasarımı olup, çok sayıda sensörden eş zamanlı olarak sinyal alınmasını mümkün kılmaktadır. Akış hücresinde akış yolu, 0.8 mm çapa sahip olup elektrotlar akış yolunun üzerine matkapla delinen delikler aracılığıyla yerleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan akış hücrelerinden birisi Şekil 3.3'te görülmektedir.



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan hareketli ortam ölçümlerinin alındığı sensör dizisi hücrelerinden biri (A) Hücresinin resmi (B) Hücresinin şematik gösterimi

3.2.3. Standart Çözeltiler ve Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

Elektrotların potansiyometrik performans özelliklerinin araştırılmasında kullanılan 10^{-1} M'lık standart çözeltiler, anyon seçici ve anyon duyarlı elektrotlar için sodyum tuzlarından, kation seçici ve kation duyarlı elektrotlar için de nitrat tuzlarından hazırlandı. İhtiyaç duyulan derişimlerdeki çözeltiler, standart çözeltilerden ardışık olarak uygun oranlarda seyreltilerek hazırlandı.

Elektrotların pH çalışma aralıklarının araştırılmasında, 10^{-2} M Tris-HCl ya da fosfat tamponlarından uygun olan (ana iyon içermeyen) tampon seçilerek kullanıldı. Elektrotların pH çalışma aralıklarının araştırılmasında kullanılan tampon çözeltilerde ana iyonun konsantrasyonu 10^{-2} M'da sabit tutuldu.

Fosfat tamponunun hazırlanışı: 2-5 aralığında pH'ya sahip fosfat tamponları, $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ çiftinden, 6-8 aralığında pH'ya sahip fosfat tamponları, $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ tuz çiftinden, 9-12 aralığında pH'ya sahip fosfat tamponları da $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{Na}_3\text{PO}_4$ tuz çiftlerinden hazırlandı. Çözeltilerdeki toplam fosfat derişimi 10^{-2} M olacak şekilde çiftlerin her birinden 5.0×10^{-3} M derişime karşılık gelen miktarlar alınarak, hazırlanması düşünülen hacimden 4-5 mL kadar eksik suda çözüldü. Çözeltilerin pH

değerlerini ayarlarken, pH değerini düşürmek için uygun derişimlerde H_3PO_4 , yükseltmek için de Na_3PO_4 çözeltilerinden gerekli miktarlarda ilave edildi. Ayarlama işleminden sonra çözeltilerin hacmi su eklenerek hazırlanması düşünülen son hacme tamamlandı.

Tris-HCl tamponunun hazırlanışı: Çözeltideki Tris konsantrasyonu 10^{-2} M olacak şekilde tartılan Tris, toplam hazırlanması düşünülen hacmin 4-5 mL eksiği kadar suda çözüldü. Daha sonra çözeltinin pH değerini ayarlarken pH'yı düşürmek için çözeltiliye HCl yükseltmek içinde pH çalışma aralığı incelenen elektrotta girişim etkisi düşük olan bir baz çözeltisinden uygun miktarlarda eklendi. pH ayarlandıktan sonra su ilave edilerek çözeltinin hacmi hazırlanması düşünülen hacme tamamlandı.

3.2.4. Sensör Dizileri Ölçüm Prosedürü

Sensör dizileriyle durgun ortamda deneysel tasarıma göre hazırlanmış çözeltilerde ölçümler şu şekilde alındı:

İlk olarak rastgele sırada kalibrasyon seti çözeltilerinde ölçümler alındı. Tüm kalibrasyon seti ölçümleri tamamlandıktan sonra, dış test seti çözeltilerinin ölçümlerine geçildi. Gerçek numune ölçümleri ise dış test seti çözeltilerinin ölçümleri tamamlandıktan sonra alındı. Elektrotlar, ölçüm çözeltisine daldırıldıktan sonra denge potansiyeline ulaşması beklendi (yaklaşık 3 dk.) ve bu sürenin sonunda ölçüm değerleri kaydedildi. Elektrotlar, çözeltiden çıkarılarak deiyonize suyla yıkandı ve elektrotların yüzeyi yumuşak selpak kağıdıyla kurulandı. Daha sonra diğer çözeltilerin ölçüm değerleri de aynı prosedür takip edilerek kaydedildi. Potansiyel kaymasını düzeltmek için eğer bir referans çözelti kullanılmışsa herbir çözeltiden önce bu referans çözeltinin ölçümü alınmış, çözeltiden okunan potansiyelden referans çözeltinin potansiyel değeri çıkarılarak kalibrasyon işlemlerinde kullanılacak yeni potansiyel değerleri elde edilmiştir.

Hareketli ortamdaki ölçümlerde de durgun ortamdaki ölçümlere benzer şekilde, ilk olarak rastgele sıralarda kalibrasyon seti çözeltileri, daha sonra da, sırasıyla test seti çözeltileri ve numune ölçümleri gerçekleştirildi. Elde edilen pik yükseklikleri kaydedilerek kalibrasyon işlemlerinin girdileri olarak kullanıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada elde edilen bulgular aşağıda belirtilen ana başlıklar altında sunulmuştur:

- 1- Sensörlerin durgun ortamdaki potansiyometrik performans özellikleri
- 2- Sensörlerin hareketli ortamdaki potansiyometrik performans özellikleri
- 3- Durgun ortamda sensör dizilerinin kemometrik yöntemlerle kalibrasyon uygulamaları
- 4- Hareketli ortamda sensör dizilerinin kemometrik yöntemlerle kalibrasyon uygulamaları
- 5- Sensör dizileriyle durgun ortamda gerçek numune analizi uygulaması
- 6- Sensör dizileriyle hareketli ortamda gerçek numune analizi uygulaması

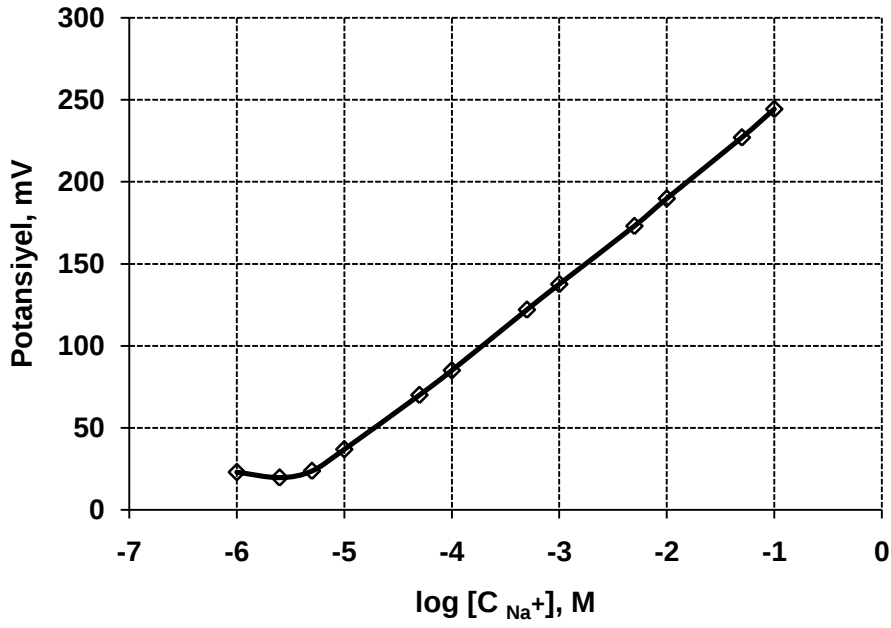
4.1. Sensörlerin Durgun Ortamdaki Potansiyometrik Performans Özellikleri

4.1.1. Katyon-Seçici Elektrotların Potansiyometrik Performans Özellikleri

Şekil 4.1 bütünüyle katı hal PVC-membran Na^+ -seçici elektrotun, derişimi 1×10^{-1} - 1×10^{-6} M aralığında değişen standart Na^+ çözeltilerinde alınan ölçümlerden elde edilen kalibrasyon grafiğı görülmektedir. Elektrotun tayin limiti yaklaşık olarak 3×10^{-6} M olarak hesaplanmıştır. Elektrot 5×10^{-6} - 1×10^{-1} M derişim aralığında doğrusal cevap sergilemektedir ($R^2=0.9993$, % 95 güven aralığında). Doğrusal çalışma aralığında elektrot potansiyeli ile çözeltilerdeki Na^+ konsantrasyonları arasındaki ilişki % 95 güven aralığında Eşitlik 4.1'e uymaktadır.

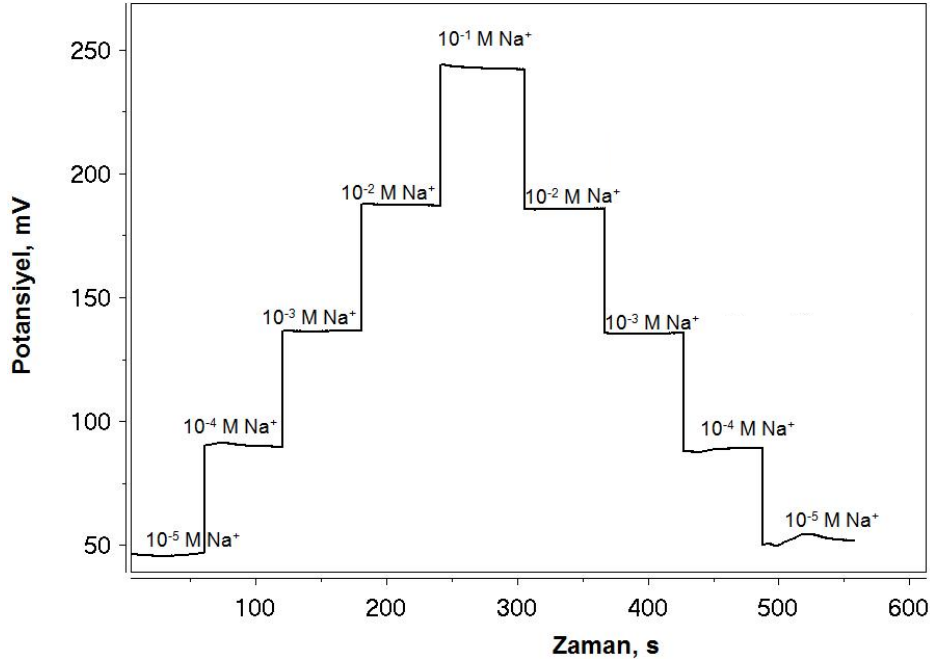
$$E_{\text{Na}^+} = 51.46(\pm 0.46) \log[\text{Na}^+] + 293.06(\pm 1.60) \quad (4.1)$$

Eşitlik 4.1'e göre doğrusal çalışma aralığında Na^+ iyonu derişimindeki her 10 katlık değişiminde ortalama olarak 51.46 mV potansiyel fark gözlenmektedir.



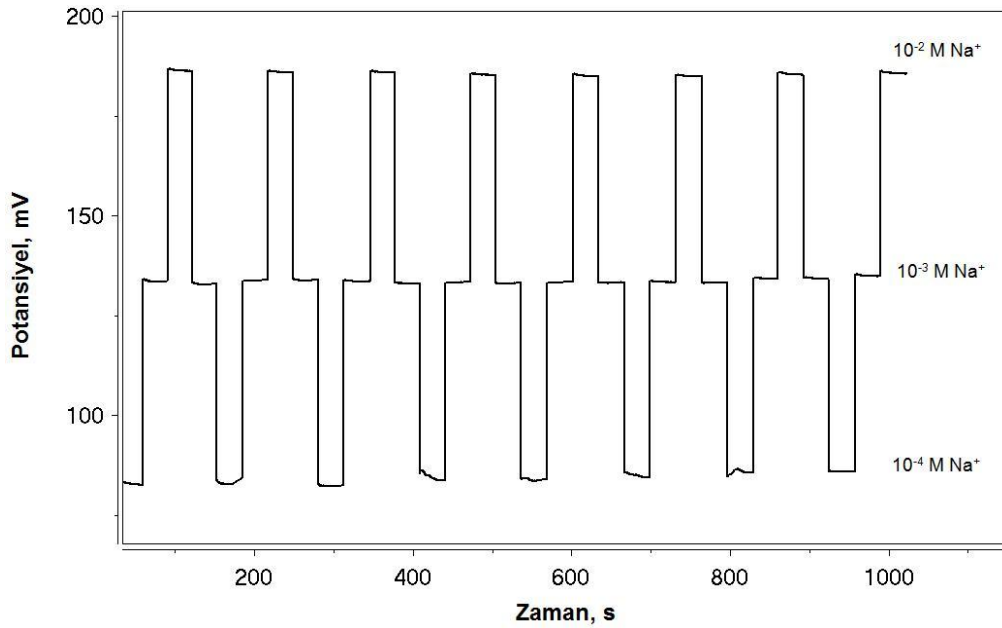
Şekil 4.1. 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M konsantrasyon aralığında Na^+ iyonu içeren standart çözeltilerde Na^+ -seçici elektrotla elde edilen kalibrasyon grafiği

Na^+ -seçici elektrotun farklı derişimlere sahip Na^+ çözeltileri arasındaki geçişlerde cevap zamanı Şekil 4.2’de görölmektedir. Cevap zamanları farklı konsantrasyonlar arasındaki geçişlerde, yüksek konsantrasyonlardan düşük konsantrasyonlara ya da düşük konsantrasyonlardan yüksek konsantrasyonlara geçişlerde bir miktar farklılık gösterse de, genel olarak $t_{95} < 20$ s’dir. 10^{-3} M Na^+ çözeltisinden 10^{-2} M Na^+ çözeltisine geçişte gözlenen cevap zamanının 20 s’den daha da kısa olduğu görölmektedir. Hazırlanan Na^+ -seçici elektrot oldukça kısa bir cevap zamanına sahiptir.



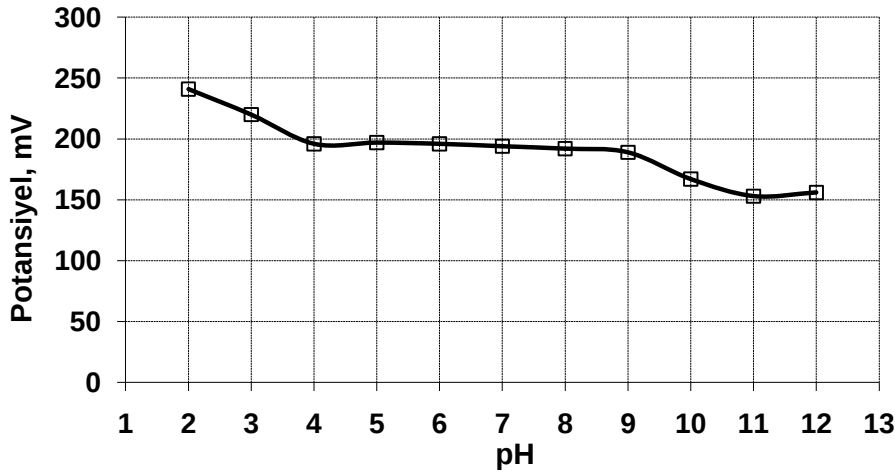
Şekil 4.2. Hazırlanan Na⁺-seçici elektrotun cevap zamanı

Şekil 4.3'teki grafik ise 10⁻², 10⁻³ ve 10⁻⁴ M Na⁺ çözeltilerinde ardarda alınan ölçümlerde Na⁺-seçici elektrotun tekrarlanabilirliğini göstermektedir. Bu ölçümlerde 10⁻², 10⁻³ ve 10⁻⁴ M Na⁺ çözeltilerinde elde edilen ortalama potansiyel değerleri standart sapmalarıyla birlikte % 95 güven aralığında sırasıyla 185.5±0.7, 133.5±0.3 ve 83.9±0.5 mV olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.3. Hazırlanan Na⁺-seçici elektrotun tekrarlanabilirliği

Na^+ -seçici elektrotun pH çalışma aralığı 10^{-2} M sabit Na^+ iyonu içeren ve pH'sı 2-12 arasında değişen 1.0×10^{-2} M Tris-HCl tampon çözeltilerinde alınan ölçümlerle belirlendi. Fosfat tamponu sodyum tuzları içerdiğinden, pH değişiminden kaynaklanan sinyal değişiminin gözlenmesini engelleyebilir. Bu endişeyi gidermek için fosfat tamponu kullanmaktan kaçınıldı. Tris-HCl tamponunun pH'sı derişik HCl kullanılarak düşürölürken, yüksek pH değerleri elde edebilmek için çözeltiliye KOH çözeltilisinden ilave edildi. Şekil 4.4'te göröldüğü gibi elektrotun potansiyeli 4-9 aralığındaki pH'larda önemli derecede değişmemiştir. Bu pH aralığının dışında, ortamdaki Na^+ derişimi aynı olmasına rağmen potansiyel değerleri önemli derecede farklılaşmıştır. Elektrot, pH'nın 4-9 aralığında olduğı ortamlarda, pH'dan etkilenmeden çalışabilmektedir.



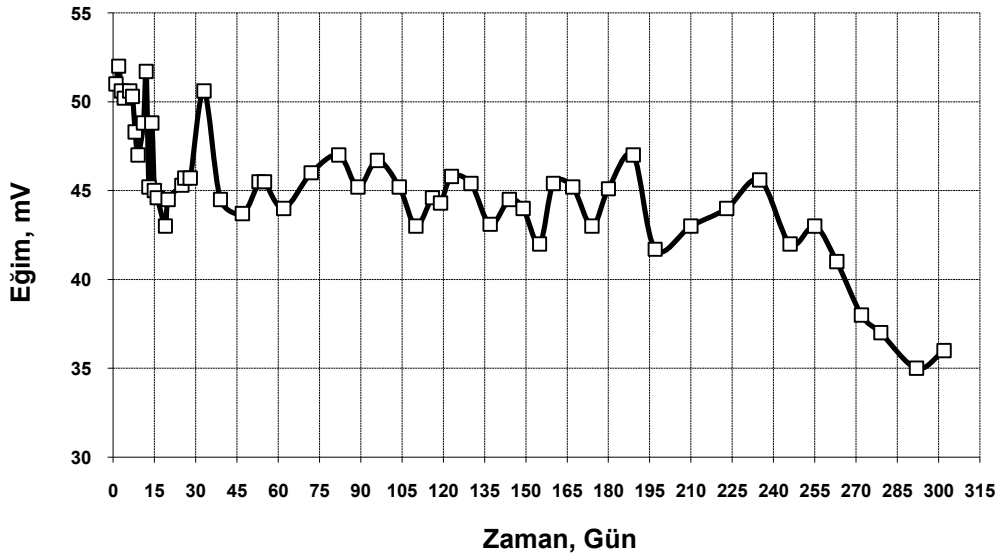
Şekil 4.4. Na^+ -seçici elektrotun pH çalışma aralığı

Elektrotun değışik iyonlara karşı seçiciliğinin bir ifadesi olan seçicilik katsayıları ($K_{i,j}$), ayrı çözeltili metoduna göre hesaplanarak Çizelge 4.1'de verilmiştir. Tezde ayrı çözeltili metoduna göre elektrotların seçicilik katsayıları hesaplanırken, girişim yapan iyonların 10^{-2} M çözeltilerine karşılık gelen potansiyel değerleri kullanılmıştır. Girişim yapan iyonların 10^{-2} M iyon konsantrasyonlarına karşılık gelen potansiyel değerleri ana iyon için ölçülen konsantrasyon aralığının altındaki potansiyellere karşılık geliyorsa, seçicilik katsayıları tek yüklü iyonlar için < -4.00 , çift yüklü iyonlar için de < -5.00 şeklinde ifade edilmiştir. Çünkü, ölçüm aralığında girişim yapan iyon konsantrasyonları için okunan potansiyel değerlerine karşılık gelen ana iyon konsantrasyonlarını mevcut grafikten hesaplamak mümkün olmamıştır. Dolayısıyla, bu iyon türlerinin elektrota önemli bir girişim etkisinin olmadığı söylenebilir.

Çizelge 4.1. Hazırlanan Na⁺-seçici elektrot için hesaplanan seçicilik katsayıları

İyonlar	log K _{i,j}	İyonlar	log K _{i,j}
Na ⁺	0.00	Mg ²⁺	< -5.00
Li ⁺	-3.23	Ca ²⁺	-4.60
K ⁺	-2.41	Ba ²⁺	< -5.00
NH ₄ ⁺	< -4.00	Sr ²⁺	< -5.00

Elektrotun kullanım ömrü, 10⁻¹-10⁻⁴ M konsantrasyon aralığında Na⁺ iyonu içeren standart çözeltilerde alınan ölçümlerin kalibrasyon grafiğindeki eğimin zamana bağlı olarak değişiminin izlenmesiyle belirlenmiştir. 300 gün süresince hesaplanan eğim değerleri ve eğim değerlerinin zamana bağlı olarak değişimi Şekil 4.5'teki grafikte görülmektedir. Ölçümlerde kullanılan elektrot, her ölçümden önce yaklaşık yarım saat süresince 10⁻¹ M'lık Na⁺ çözeltisinde koşullandırılmıştır. İlk iki hafta boyunca elektrotun eğimi 48 mV'un üzerinde seyrederken, 2. haftadan sonra 45 mV civarına düşmüştür. 2 haftadan sonra 5.5 ay süresince eğim değeri yaklaşık olarak 45 mV civarında kalmıştır. 6. aydan sonra elektrotun eğimi hızla azalmaya başlamıştır. Bu eğim değerlerine göre elektrotun kullanım ömrünün yaklaşık 6 ay olduğu anlaşılmaktadır.

**Şekil 4.5.** Na⁺-seçici elektrotun zamana bağlı olarak eğiminde meydana gelen değişim.

Çalışmada kullanılan diğer katyon seçici elektrotların potansiyometrik performans özellikleri benzer şekilde test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar toplu olarak Çizelge 4.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2. Katyon-seçici elektrotların potansiyometrik performans özellikleri

ISE	Doğru Denklemi (% 95 güven aralığında)	Eğim ^a	Doğrusal Aralık (M)	Tayin Limiti (M)	pH Aralığı	Cevap Zamanı, t ₉₅ (s)	Tekrarlanabilirlik (% 95 güven aralığında)	Kullanım Ömrü (ay)	Seçicilik (logK _{i,j})
Li⁺-1	$E_{Li}=268.48(\pm 2.30) + 50.30(\pm 0.64).log [Li^+]$ (R ² = 0.9979)	50.3	8.0×10^{-6} - 1.0×10^{-1}	5.5×10^{-6}	6-10 ^b	< 50	10^{-2} M; 184.0±2.0 (n=8) 10^{-3} M; 130.9±1.5 (n=15) 10^{-4} M; 81.6±4.9 (n=8)	6	logK _{Li⁺/Na⁺} = -1.96 logK _{Li⁺/K⁺} = -1.55 logK _{Li⁺/NH₄⁺} = -2.12 logK _{Li⁺/Mg²⁺} < -5.00 logK _{Li⁺/Ca²⁺} < -5.00 logK _{Li⁺/Ba²⁺} < -5.00 log K _{Li⁺/Sr²⁺} < -5.00
Li⁺-2	$E_{Li}=324.99(\pm 2.05) + 47.60(\pm 0.54).log [Li^+]$ (R ² = 0.9981)	47.6	5.0×10^{-6} - 1.0×10^{-1}	2.7×10^{-6}	6-10 ^b	< 40	10^{-2} M; 177.0±2.0 (n=8) 10^{-3} M; 124.5±1.2 (n=15) 10^{-4} M; 73.6±3.6 (n=8)	>2	logK _{Li⁺/Na⁺} = -3.14 logK _{Li⁺/K⁺} = -3.01 logK _{Li⁺/NH₄⁺} = -3.06 logK _{Li⁺/Mg²⁺} = -4.30 logK _{Li⁺/Ca²⁺} = -3.93 logK _{Li⁺/Ba²⁺} = -4.36 log K _{Li⁺/Sr²⁺} = -4.01
Na⁺	$E_{Na}=293.06(\pm 1.60) + 51.46(\pm 0.46).log [Na^+]$ (R ² = 0.9993)	51.5	5.0×10^{-6} - 1.0×10^{-1}	3.0×10^{-6}	4-9 ^c	< 20	10^{-2} M; 185.5±0.7 (n=8) 10^{-3} M; 133.5±0.3 (n=15) 10^{-4} M; 83.9±0.5 (n=8)	6	logK _{Na⁺/Li⁺} = -3.23 logK _{Na⁺/K⁺} = -2.41 logK _{Na⁺/NH₄⁺} < -4.00 logK _{Na⁺/Mg²⁺} < -5.00 logK _{Na⁺/Ca²⁺} = -4.60 logK _{Na⁺/Ba²⁺} < -5.00 log K _{Na⁺/Sr²⁺} < -5.00
K⁺	$E_K=315.77(\pm 2.07) + 48.13(\pm 0.56).log [K^+]$ (R ² = 0.9994)	48.1	5.0×10^{-6} - 1.0×10^{-1}	3.2×10^{-6}	5-9 ^b	< 30	10^{-2} M; 216.5±0.5 (n=8) 10^{-3} M; 164.1±0.5 (n=15) 10^{-4} M; 117.5±1.4 (n=8)	5.5	logK _{K⁺/Li⁺} = -3.19 logK _{K⁺/Na⁺} = -3.17 logK _{K⁺/NH₄⁺} = -1.79 logK _{K⁺/Mg²⁺} < -5.00 logK _{K⁺/Ca²⁺} = -4.23 logK _{K⁺/Ba²⁺} = -4.28 log K _{K⁺/Sr²⁺} = -4.19
NH₄⁺	$E_{NH_4}=264.77(\pm 2.85) + 47.96(\pm 0.70).log [NH_4^+]$ (R ² = 0.9994)	48.0	5.0×10^{-6} - 1.0×10^{-2}	2.5×10^{-6}	2-7 ^b	< 20	10^{-2} M; 166.5±0.5 (n=8) 10^{-3} M; 118.7±0.5 (n=15) 10^{-4} M; 67.6±1.4 (n=8)	4	logK _{NH₄⁺/Li⁺} = -3.58 logK _{NH₄⁺/Na⁺} = -2.88 logK _{NH₄⁺/K⁺} = -0.90 logK _{NH₄⁺/Mg²⁺} < -5.00 logK _{NH₄⁺/Ca²⁺} = -4.12 logK _{NH₄⁺/Ba²⁺} < -5.00 log K _{NH₄⁺/Sr²⁺} < -5.00

^a Doğrusal çalışma aralığında, ana iyonun 10 katlık konsantrasyon değişimine karşılık elektrot potansiyelinde meydana gelen değişim

^b pH'ları 2-12 aralığında değişen ve 1.0×10^{-2} M ana iyon içeren 1.0×10^{-2} M fosfat tampon çözeltileri kullanıldı

^c pH'ları 2-12 aralığında değişen ve 1.0×10^{-2} M ana iyon içeren 1.0×10^{-2} M Tris-HCl tampon çözeltileri kullanıldı

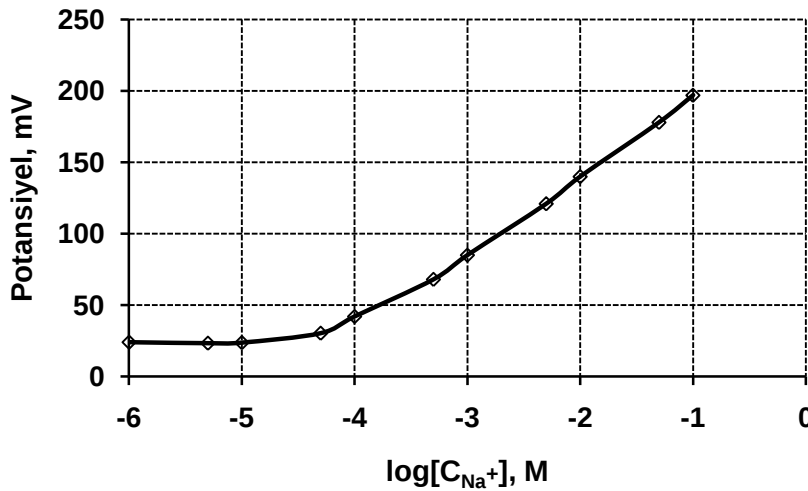
4.1.2. Katyon Duyarlı Elektrotların Potansiyometrik Performans Özellikleri

4.1.2.1. Monensin-Temelli Katyon-Duyarlı Elektrotun Potansiyometrik Performans Özellikleri

Şekil 4.6’da bütünüyle katı hal PVC-membran monensin temelli katyon duyarlı elektrotun, derişimi 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M aralığında değişen standart Na^+ çözeltilerinde alınan ölçümlerden elde edilen kalibrasyon grafiği görölmektedir. Elektrotun en duyarlı olduğu iyon Na^+ iyonu olduğu için, elektrotun performans özelliklerinin belirlenmesinde Na^+ iyonu çözeltileri kullanıldı. Diğer iyonlar için elektrotun performans özelliklerinin farklı olacağı bilinmektedir. Elektrotun tayin limiti yaklaşık olarak 3.0×10^{-5} M olarak hesaplanmıştır. Elektrot 5×10^{-5} - 1×10^{-1} M derişim aralığında doğrusal cevap sergilemektedir ($R^2=0.9935$, % 95 güven aralığında). Doğrusal çalışma aralığında elektrot potansiyeli ile çözeltilerdeki Na^+ konsantrasyonları arasındaki ilişki % 95 güven aralığında eşitlik 4.2’ye uymaktadır.

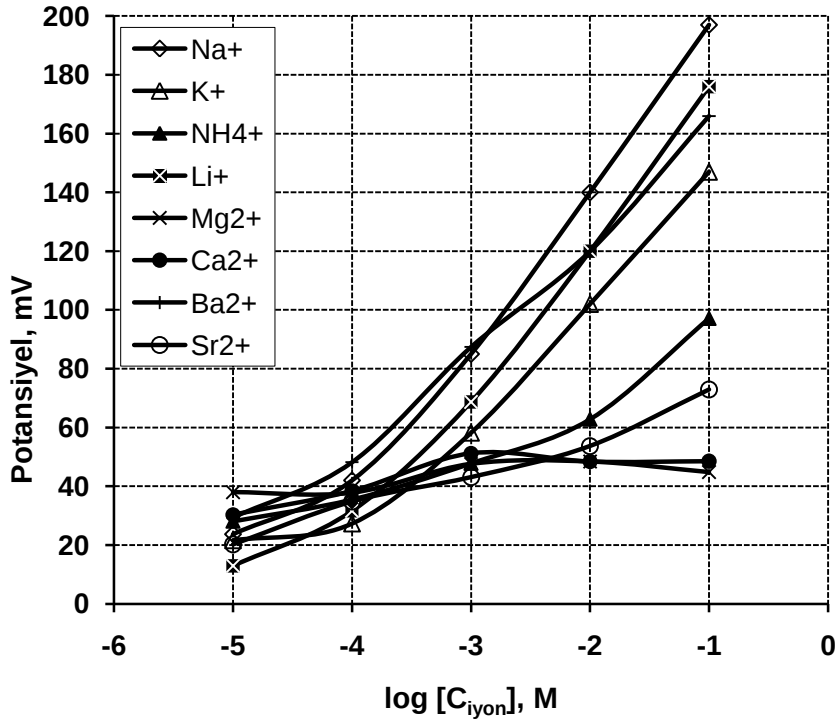
$$E_{\text{Na}^+} = 50.89(\pm 1.68)\log[\text{Na}^+] + 242.54(\pm 4.83) \quad (4.2)$$

Eşitliğe göre doğrusal çalışma aralığında Na^+ iyonu konsantrasyonundaki her 10 katlık değişimde, ortalama olarak 50.89 mV potansiyel değişimi gözlenmektedir.



Şekil 4.6. Monensin temelli katyon duyarlı elektrot kullanılarak 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M konsantrasyon aralığında Na^+ iyonları içeren çözeltilerde alınan ölçümlerin kalibrasyon grafiği

Şekil 4.7, bazı katyonların 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığındaki standart çözeltilerinde elektrotla alınan ölçümlerin toplu olarak kalibrasyon grafiklerini göstermektedir.



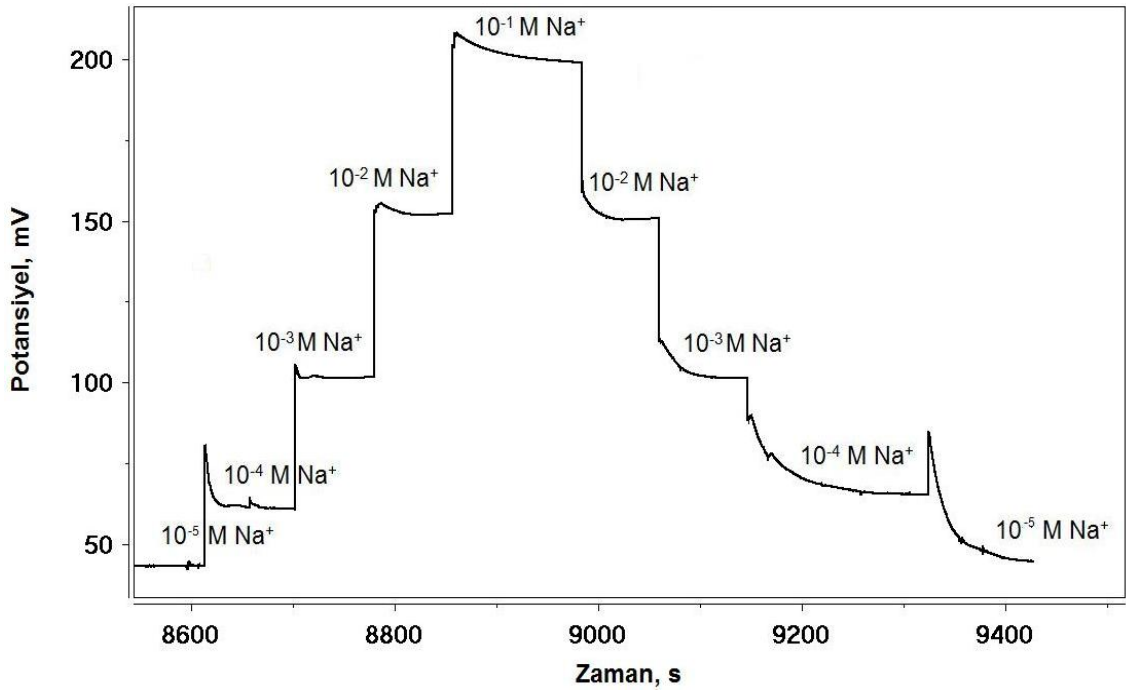
Şekil 4.7. Monensin-temelli katyon duyarlı elektrotun 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığında farklı iyonlara karşı cevabı

Elektrotun değişik iyonlara karşı seçiciliğinin ifadesi olan seçicilik katsayıları ($K_{i,j}$) ayrı çözelti metoduna göre hesaplanarak Çizelge 4.3'te verilmiştir. Elektrot için ayrı çözelti metoduna göre seçicilik katsayıları hesaplanırken seçicilik katsayısı en büyük olan Na^+ iyonu ana iyon olarak kabul edilmiştir. Ayrıca seçicilik katsayıları hesaplanırken iyonların 10^{-2} M çözeltilerine karşılık gelen potansiyel değerleri referans alınmıştır.

Çizelge 4.3. Hazırlanan monensin-temelli katyon-duyarlı elektrotun seçicilik katsayıları

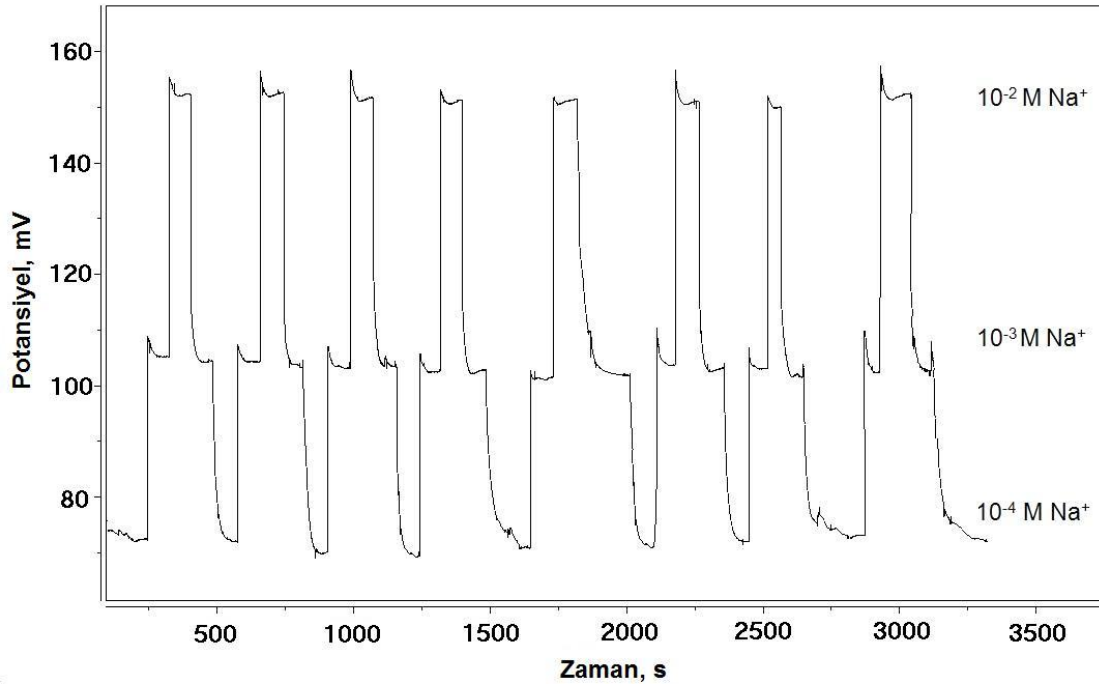
İyonlar	log $K_{i,j}$	İyonlar	log $K_{i,j}$
Na^+	0.00	Mg^{2+}	-2.80
Li^+	-0.42	Ca^{2+}	-2.80
K^+	-0.77	Ba^{2+}	-1.42
NH_4^+	-1.52	Sr^{2+}	-2.70

Monensin-temelli katyon-duyarlı elektrotun farklı derişimlerde Na^+ iyonu içeren çözeltiler arasındaki geçişlerde sergilediği cevap zamanı Şekil 4.8’de görölmektedir. Düşük konsantrasyonlardan yüksek konsantrasyonlara doğru çözelti değıştirildiğinde genel olarak elektrot 30 s’den daha kısa sürede, hemen hemen denge potansiyeline ulaşmaktadır. Ancak yüksek konsantrasyonlardan düşük konsantrasyonlardaki çözeltilere geçişlerde cevap süresi uzamakta, özellikle de düşük konsantrasyonlarda cevap zamanı 2 dk’yı bulmaktadır.



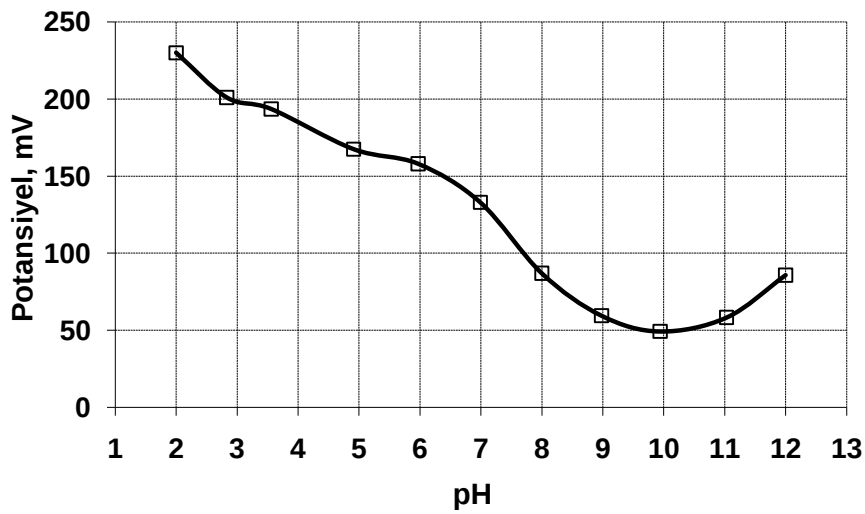
Şekil 4.8. Monensin temelli katyon-duyarlı elektrotun cevap zamanı

Şekil 4.9’deki grafik ise 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} M Na^+ çözeltilerinde ardarda alınan ölçümlerde monensin-temelli katyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliğini göstermektedir. Bu ölçümlerde 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} M Na^+ çözeltilerinde elde edilen ortalama potansiyel değeri % 95 güven aralığında standart sapmalarıyla birlikte sırasıyla 152.4 ± 1.4 , 104.0 ± 1.4 ve 72.3 ± 2.5 mV olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.9. Hazırlanan monensin temelli katyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliği

Elektrotun pH çalışma aralığı 10^{-2} M sabit Na^+ iyonu içeren ve pH'sı 2-12 arasında değişen 10^{-2} M Tris-HCl tampon çözeltilerinde alınan ölçümlerle belirlendi. Şekil 4.10'da görüldüğü gibi elektrotun potansiyeli pH değişiminden önemli miktarda etkilenmektedir. Bu nedenle elektrottan anlamlı ölçüm sonuçları elde edebilmek için, ölçüm çözeltilerin pH'sının belli bir değere ayarlanması (8-11) gerekir.



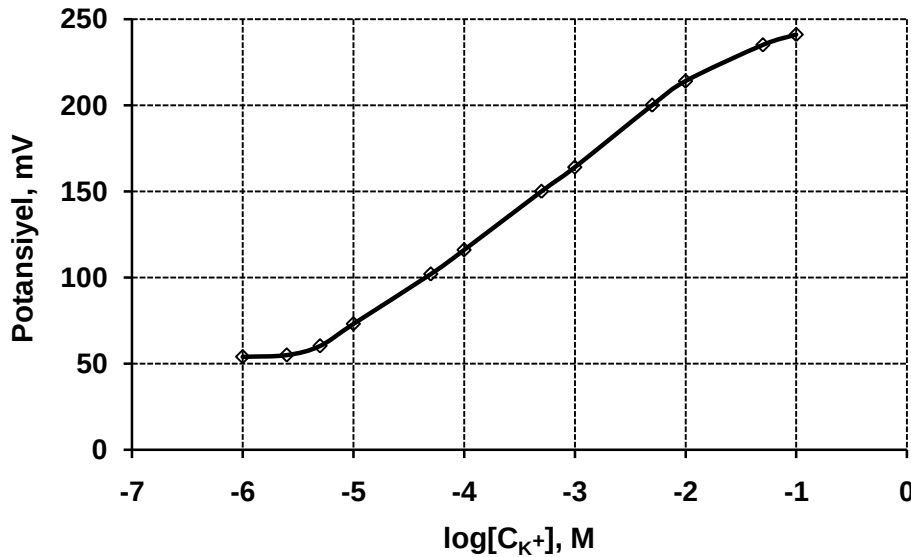
Şekil 4.10. Monensin temelli katyon-duyarlı elektrotun pH çalışma aralığı

4.1.2.2. Dibenzo-18-Crown-6-Temelli Katyon-Duyarlı Elektrotun Potansiyometrik Performans Özellikleri

Şekil 4.11’de Dibenzo-18-Crown-6 temelli katyon duyarlı elektrotun 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M aralığında değişen standart K^+ çözeltilerinde alınan ölçümlerden elde edilen kalibrasyon grafiği verilmiştir. Elektrotun en duyarlı olduğu iyon K^+ iyonlarıdır. Bu nedenle, K^+ iyonu için elektrotun potansiyometrik performans özellikleri hesaplanmıştır. K^+ iyonu için elektrotun tayin limiti yaklaşık 4.5×10^{-6} M olarak hesaplanmıştır. Elektrot 5×10^{-5} - 1×10^{-2} M derişim aralığında doğrusal cevap sergilemektedir ($R^2=0.9986$, % 95 güven aralığında). Doğrusal çalışma aralığında elektrot potansiyeli ile çözeltilerdeki K^+ konsantrasyonları arasındaki ilişki % 95 güven aralığında Eşitlik 4.3’e uymaktadır.

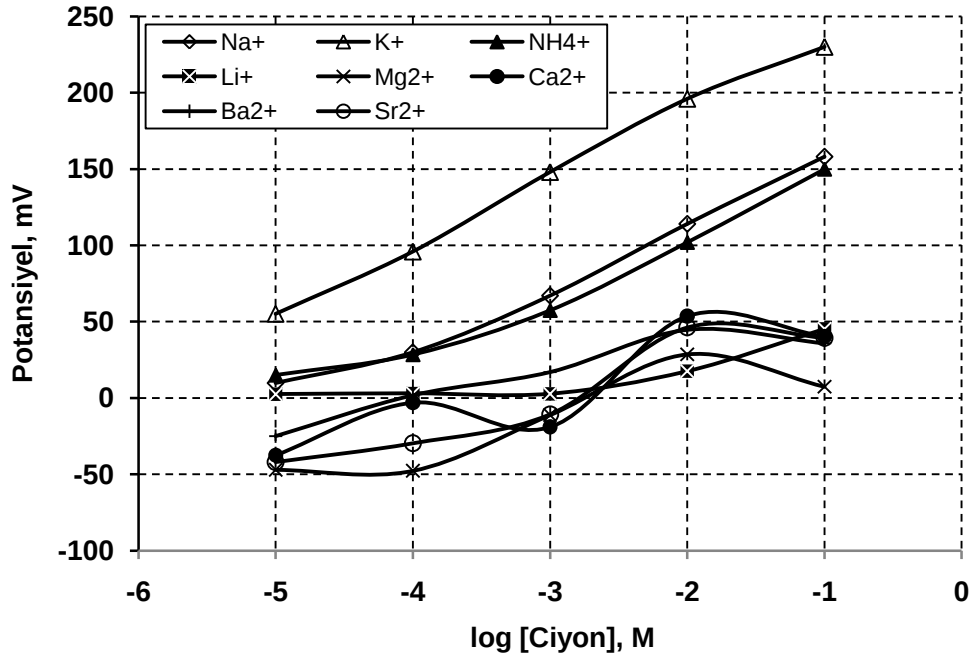
$$E_{K^+} = 47.87(\pm 0.72)\log[K^+] + 306.00(\pm 2.76) \quad (4.3)$$

Eşitliğe göre doğrusal çalışma aralığında K^+ iyonu konsantrasyonundaki her 10 katlık değişiminde, ortalama olarak 47.87 mV potansiyel değişimi gözlenmektedir.



Şekil 4.11. Dibenzo-18-crown-6-temelli katyon duyarlı elektrot kullanılarak 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M konsantrasyon aralığında K^+ iyonu içeren sulu çözeltilerde alınan ölçümlerin kalibrasyon grafiği

1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığındaki bazı katyon çözeltilerinde elektrotla alınan ölçümler kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafikleri toplu olarak Şekil 4.12’de verilmiştir.



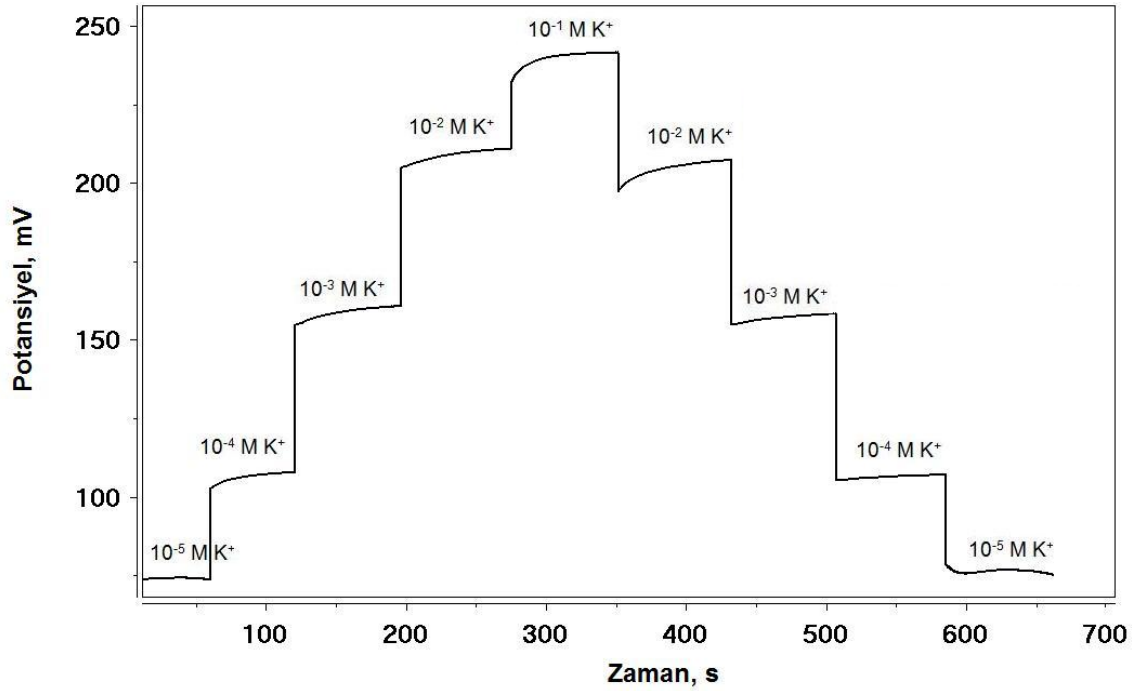
Şekil 4.12. Dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon duyarlı elektrotun 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığında farklı iyonlara karşı cevabı

Elektrotun değişik iyonlara karşı seçiciliğinin ifadesi olan seçicilik katsayıları ($K_{i,j}$) ayrı çözelti metoduyla Şekil 4.12’deki grafikteki potansiyel değerleri kullanılarak hesaplanmış ve Çizelge 4.4’te verilmiştir. Elektrot için ayrı çözelti metoduna göre seçicilik katsayıları hesaplanırken, seçicilik katsayısı en büyük olan K^+ iyonu ana iyon olarak kabul edilmiştir. Ayrıca; seçicilik katsayıları hesaplanırken iyonların 10^{-2} M çözeltilerine karşılık gelen potansiyel değerleri kullanılmıştır.

Çizelge 4.4. Hazırlanan dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun seçicilik katsayıları

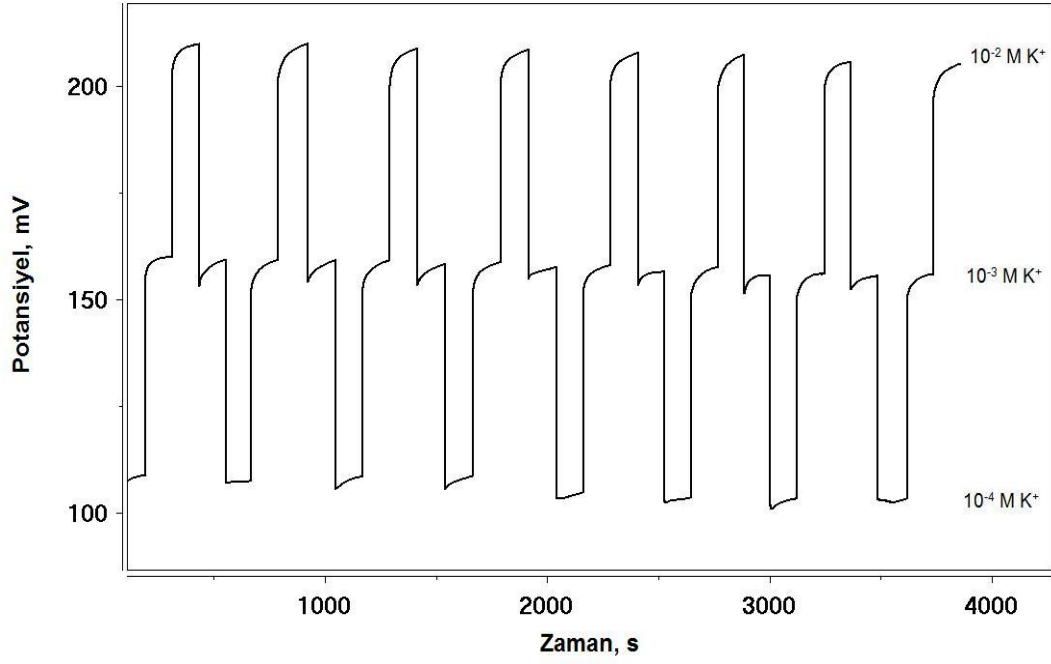
İyonlar	$\log K_{i,j}$	İyonlar	$\log K_{i,j}$
K^+	0.00	Mg^{2+}	<-4.00
Li^+	<-4.00	Ca^{2+}	-3.98
Na^+	-1.71	Ba^{2+}	<-4.00
NH_4^+	-1.96	Sr^{2+}	<-4.00

Dibenzo-18-Crown-6 temelli elektrotun farklı konsantrasyonlarda K^+ iyonu içeren çözeltiler arasındaki geçişlerde ölçülen potansiyelin zamana bağlı olarak değişimi Şekil 4.13'te görülmektedir. Şekilde dikkat çekici noktalardan birisi, elektrotun cevap zamanının normal iyon seçici elektrotlarla karşılaştırıldığında daha uzun olmasıdır. Bu durum, elektrotun doğasından kaynaklanan nedenlerden dolayı, membran ara yüzeyi ve çözelti arasında dengeye ulaşma süresinin uzun olmasıyla açıklanabilir. Elektrotun özellikle yüksek konsantrasyonlarda cevap süresinin daha da uzun oluşu dikkat çekici bir diğer noktadır. Elektrotun cevap zamanı (t_{95}) hesaplandığında yaklaşık olarak 1-1.5 dk. olduğu görüldü.



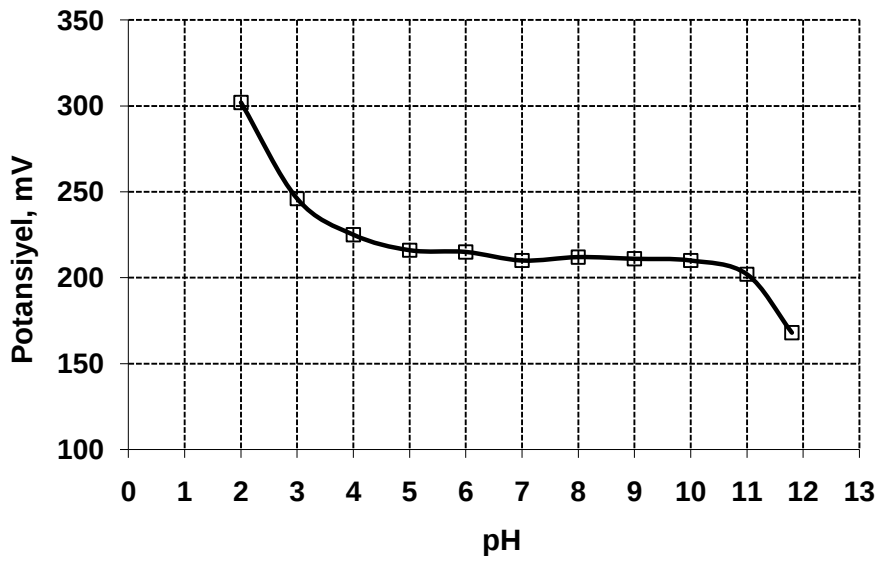
Şekil 4.13. Dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun cevap zamanı

Şekil 4.14'deki grafik; 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} M K^+ çözeltilerinde ardarda alınan ölçümlerde dibenzo-18-crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliğini göstermektedir. 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} M K^+ çözeltilerinde elektrotlarla yapılan ölçümlerden elde edilen ortalama potansiyel değerleri ve standart sapmaları % 95 güven aralığında sırasıyla 208.0 ± 2.1 , 157.9 ± 0.8 ve 106.4 ± 2.9 mV olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.14. Hazırlanan dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliği

Dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon duyarlı elektrotun pH çalışma aralığı 10^{-2} M sabit K^+ iyonu içeren ve pH'sı 2-12 arasında değişen 1.0×10^{-2} M fosfat tampon çözeltilerinde alınan ölçümlerle belirlendi. Şekil 4.15'te görüldüğü gibi elektrottan okunan potansiyel değerleri pH=5-10 aralığında değişmeden kalmıştır. Dolayısıyla, elektrot 5-10 aralığındaki pH'larda, ortamın pH değişimlerinden etkilenmeden çalışabilmektedir.



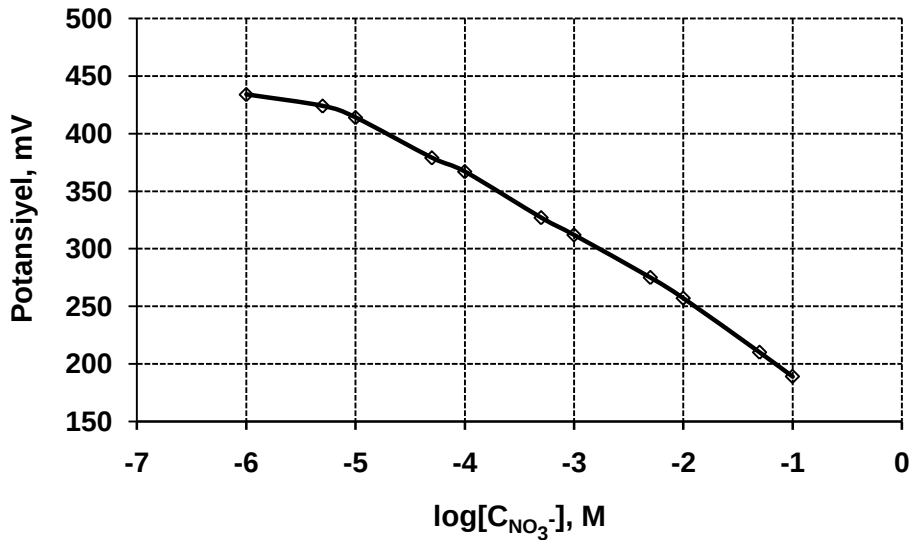
Şekil 4.15. Dibenzo-18-Crown-6-temelli katyon-duyarlı elektrotun pH çalışma aralığı

4.1.3. Anyon-Duyarlı Elektrotun Potansiyometrik Performans Özellikleri

Şekil 4.16, anyon-duyarlı TDDA-Br-temelli elektrotun, konsantrasyonu 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M aralığında değişen standart NO_3^- çözeltilerinde alınan ölçümlerden elde edilen kalibrasyon grafiğini göstermektedir. NO_3^- iyonu temel alınarak elektrotun potansiyometrik performans özellikleri hesaplanmıştır. Elektrotun tayin limiti yaklaşık olarak 7.1×10^{-6} M olarak hesaplanmıştır. Elektrot 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M derişim aralığında doğrusal cevap sergilemektedir ($R^2=0.9960$, % 95 güven aralığında). Doğrusal çalışma aralığında elektrot potansiyeli ile çözeltilerdeki NO_3^- konsantrasyonları arasındaki ilişki % 95 güven aralığında Eşitlik 4.4'e uymaktadır.

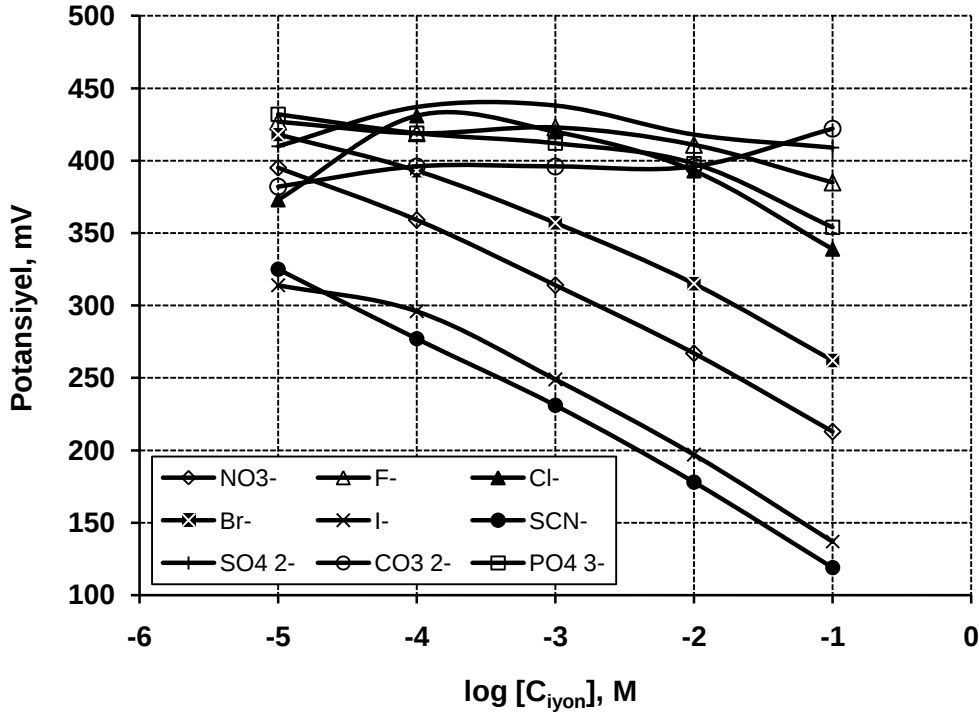
$$E_{\text{NO}_3^-} = -55.93(\pm 1.33)\log[\text{NO}_3^-] + 140.48(\pm 4.25) \quad (4.4)$$

Eşitliğe göre doğrusal çalışma aralığında NO_3^- iyonu konsantrasyonundaki her 10 katlık değişimde, ortalama olarak -55.9 mV potansiyel değişimi gözlenmektedir.



Şekil 4.16. 1.0×10^{-1} - 1.0×10^{-6} M konsantrasyon aralığında NO_3^- iyonları içeren sulu çözeltilerde anyon duyarlı elektrot kullanılarak alınan ölçümlerin kalibrasyon grafiği

1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığındaki standart çözeltilerinde bazı anyonlar için elektrot kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafikleri toplu olarak Şekil 4.17'de verilmiştir.



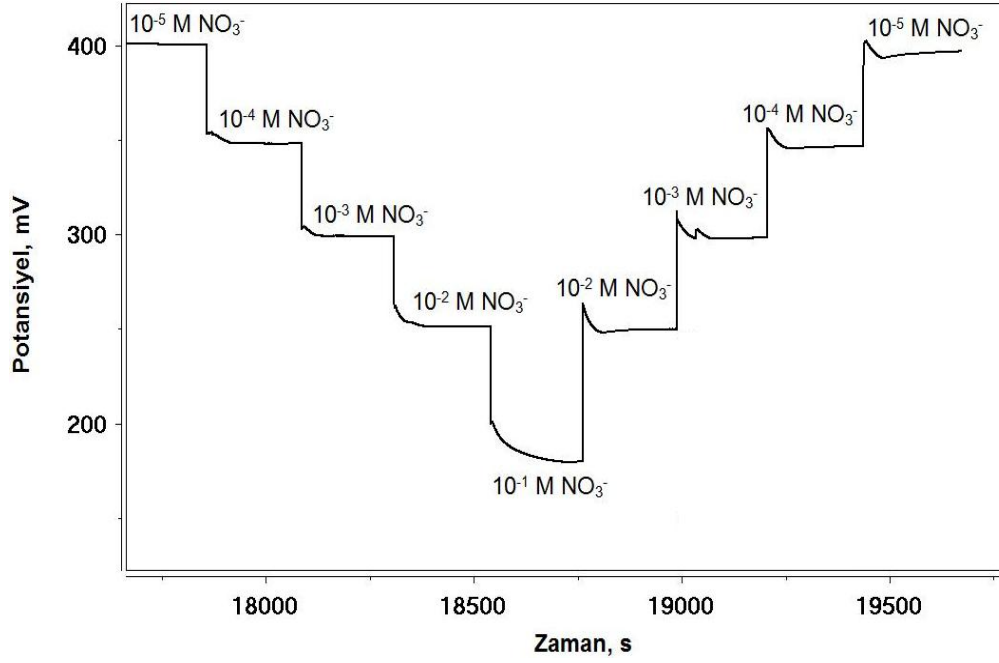
Şekil 4.17. Anyon duyarlı elektrotun 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M konsantrasyon aralığında farklı iyonlara karşı cevabı.

Elektrotun değişik iyonlara karşı seçicilik katsayıları ($K_{i,j}$) ayrı çözelti metoduna göre Şekil 4.17'deki grafikte verilen potansiyel değerleri kullanılarak hesaplanmış olup, Çizelge 4.5'te özetlenmiştir. Elektrotun seçicilik katsayıları hesaplanırken NO_3^- iyonu ana iyon olarak kabul edilmiştir. Ayrıca seçicilik katsayılarının hesaplanmasında, yabancı iyonların 10^{-2} M çözeltilerine karşılık gelen potansiyel değerleri kullanılmıştır.

Çizelge 4.5. Hazırlanan anyon-duyarlı elektrotun seçicilik katsayıları

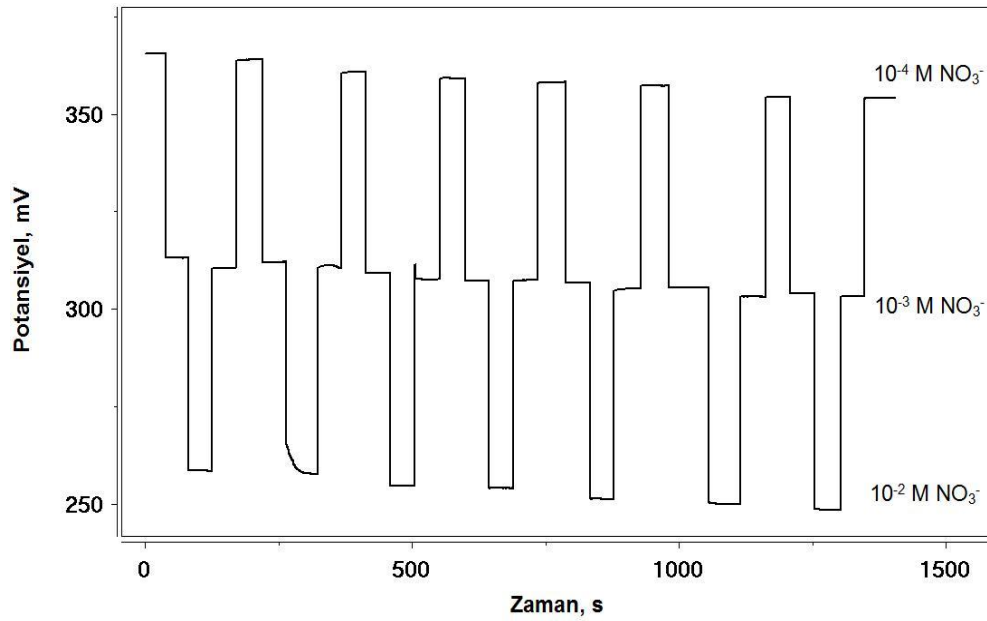
İyonlar	$\log K_{i,j}$	İyonlar	$\log K_{i,j}$
NO_3^-	0.00	SCN^-	1.73
F^-	-3.03	SO_4^{2-}	-4.37
Cl^-	-2.60	CO_3^{2-}	-3.73
Br^-	-1.04	PO_4^{3-}	-3.38
I^-	1.33		

Farklı konsantrasyonlarda NO_3^- iyonu içeren çözeltiler arasındaki geçişlerde, elektrot potansiyelinin zamanla değişimi Şekil 4.18'de görülmektedir. Elektrotun cevap zamanı (t_{95}) hesaplandığında, yaklaşık olarak 50-60 s olduğu görülmektedir.



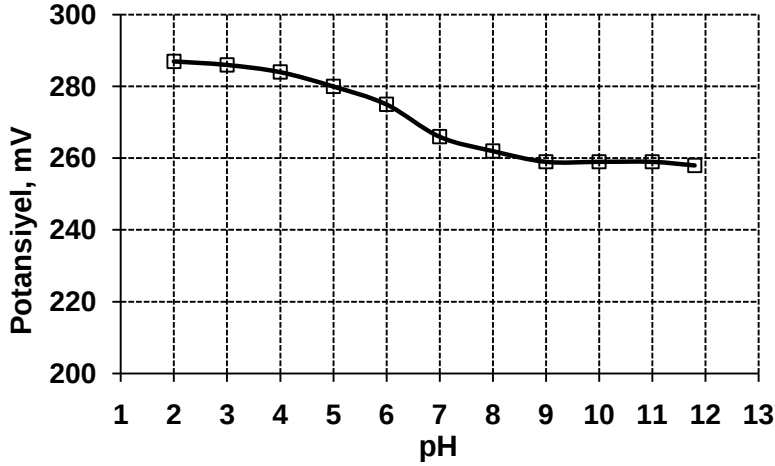
Şekil 4.18. Anyon-duyarlı elektrotun cevap zamanı

Şekil 4.19'daki grafik; 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} M NO_3^- çözeltilerinde ardarda alınan ölçümlerde anyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliğini göstermektedir. 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} M NO_3^- çözeltilerinde elektrotlarla yapılan ölçümlerde elde edilen ortalama potansiyel değerleri % 95 güven aralığında standart sapmalarıyla birlikte sırasıyla 253.4 ± 4.4 , 307.4 ± 1.9 ve 359.1 ± 4.9 mV olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.19. Hazırlanan anyon-duyarlı elektrotun tekrarlanabilirliği

Anyon-duyarlı elektrotun pH çalışma aralığı 10^{-2} M sabit NO_3^- iyonu içeren ve pH'sı 2-12 arasında değişen 1.0×10^{-2} M fosfat tampon çözeltilerinde alınan ölçümlerle belirlendi. Şekil 4.20'den anlaşılabacağı gibi elektrottan okunan potansiyel değerleri, 8-12 aralığındaki pH'larda değişmeden kalmıştır. Dolayısıyla, elektrot pH=8-12 aralığında ortamın pH değişimlerinden etkilenmeden çalışabilmektedir.



Şekil 4.20. Anyon-duyarlı elektrotun pH çalışma aralığı

4.1.4. Anyon-Seçici Elektrotların Potansiyometrik Performans Özellikleri

Çalışmada kullanılan diğer anyon-seçici elektrotların potansiyometrik performans özellikleri daha önceki kısımda özellikleri verilen katyon seçici elektrotlara benzer şekilde belirlenmiş olup, toplu olarak Çizelge 4.6'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.6. Anyon-seçici elektrotların durgun ortamda potansiyometrik performans özellikleri

ISE	Doğru Denklemi (% 95 güven aralığında)	Eğim ^a	Doğrusal Aralık (M)	Tayin Limiti (M)	pH Aralığı ^b	Cevap Zamanı, t ₉₅ (s)	Tekrarlanabilirlik (% 95 güven aralığında)	Seçicilik (logK _{i,j})
NO₃⁻	$E_{\text{NO}_3^-} = 212.89(\pm 4.60) - 55.60(\pm 1.44) \cdot \log [\text{NO}_3^-]$ (R ² = 0.9953)	-55.6	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-1}$	4.2×10^{-6}	2-7	< 40	10^{-2} M; 324.6±4.3 (n=8) 10^{-3} M; 378.4±1.8 (n=15) 10^{-4} M; 429.0±4.9 (n=8)	logK _{NO₃⁻/F⁻} = -3.14 logK _{NO₃⁻/SCN⁻} = 1.57 logK _{NO₃⁻/Cl⁻} = -2.64 logK _{NO₃⁻/SO₄²⁻} = -4.98 logK _{NO₃⁻/Br⁻} = -1.01 logK _{NO₃⁻/CO₃²⁻} = -4.00 log K _{NO₃⁻/I⁻} = 1.59 logK _{NO₃⁻/PO₄³⁻} = -3.10
Cl⁻-1 tel	$E_{\text{Cl}^-} = -4.52(\pm 1.26) - 52.57(\pm 0.44) \cdot \log [\text{Cl}^-]$ (R ² = 0.9995)	-52.6	$5.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-1}$	4.0×10^{-5}	2-12	< 60	10^{-2} M; 103.0±2.1 (n=8) 10^{-3} M; 151.3±0.6 (n=15) 10^{-4} M; 189.9±1.1 (n=8)	logK _{Cl⁻/F⁻} < -4.00 logK _{Cl⁻/SCN⁻} = 1.95 logK _{Cl⁻/NO₃⁻} = -1.15 logK _{Cl⁻/SO₄²⁻} = -3.17 logK _{Cl⁻/Br⁻} = 2.90 logK _{Cl⁻/PO₄³⁻} = -2.61 log K _{Cl⁻/I⁻} = 3.64
Cl⁻-2	$E_{\text{Cl}^-} = 71.01(\pm 2.17) - 54.37(\pm 0.76) \cdot \log [\text{Cl}^-]$ (R ² = 0.9988)	54.4	$5.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-1}$	2.0×10^{-5}	2-8	< 80	10^{-2} M; 157.9±1.0 (n=8) 10^{-3} M; 209.1±0.6 (n=15) 10^{-4} M; 253.5±1.6 (n=8)	logK _{Cl⁻/F⁻} < -4.00 logK _{Cl⁻/SCN⁻} = 1.12 logK _{Cl⁻/NO₃⁻} = -1.53 logK _{Cl⁻/SO₄²⁻} = -3.25 logK _{Cl⁻/Br⁻} = 1.50 logK _{Cl⁻/PO₄³⁻} = -3.33 log K _{Cl⁻/I⁻} = 1.40

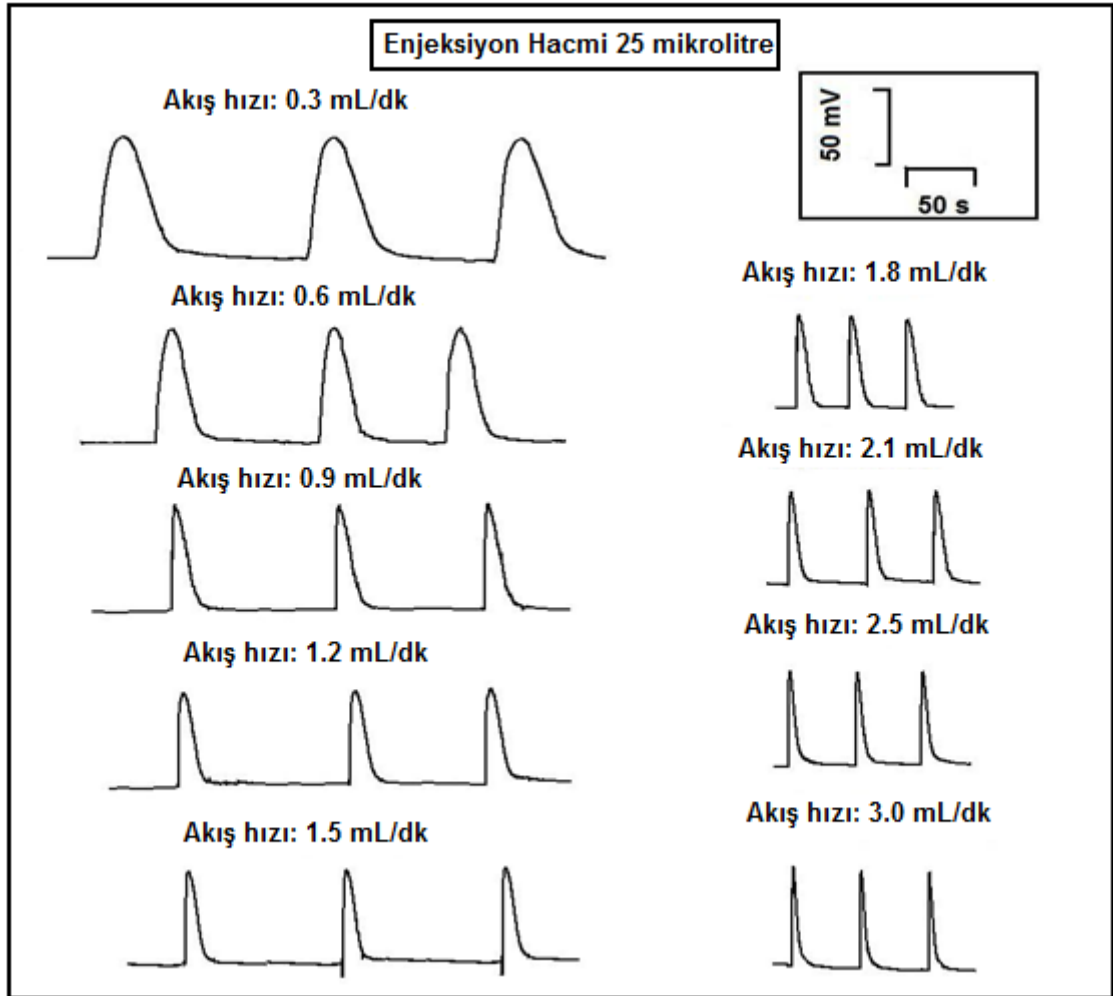
^a Doğrusal çalışma aralığında, ana iyonun 10 katlık konsantrasyon değişimine karşılık elektrot potansiyelinde meydana gelen değişim

^b pH'ları 2-12 aralığında değişen ve 1.0×10^{-2} M ana iyon içeren 1.0×10^{-2} M fosfat tampon çözeltileri kullanıldı

4.2. Sensörlerin Hareketli Ortam Potansiyometrik Performans Özellikleri

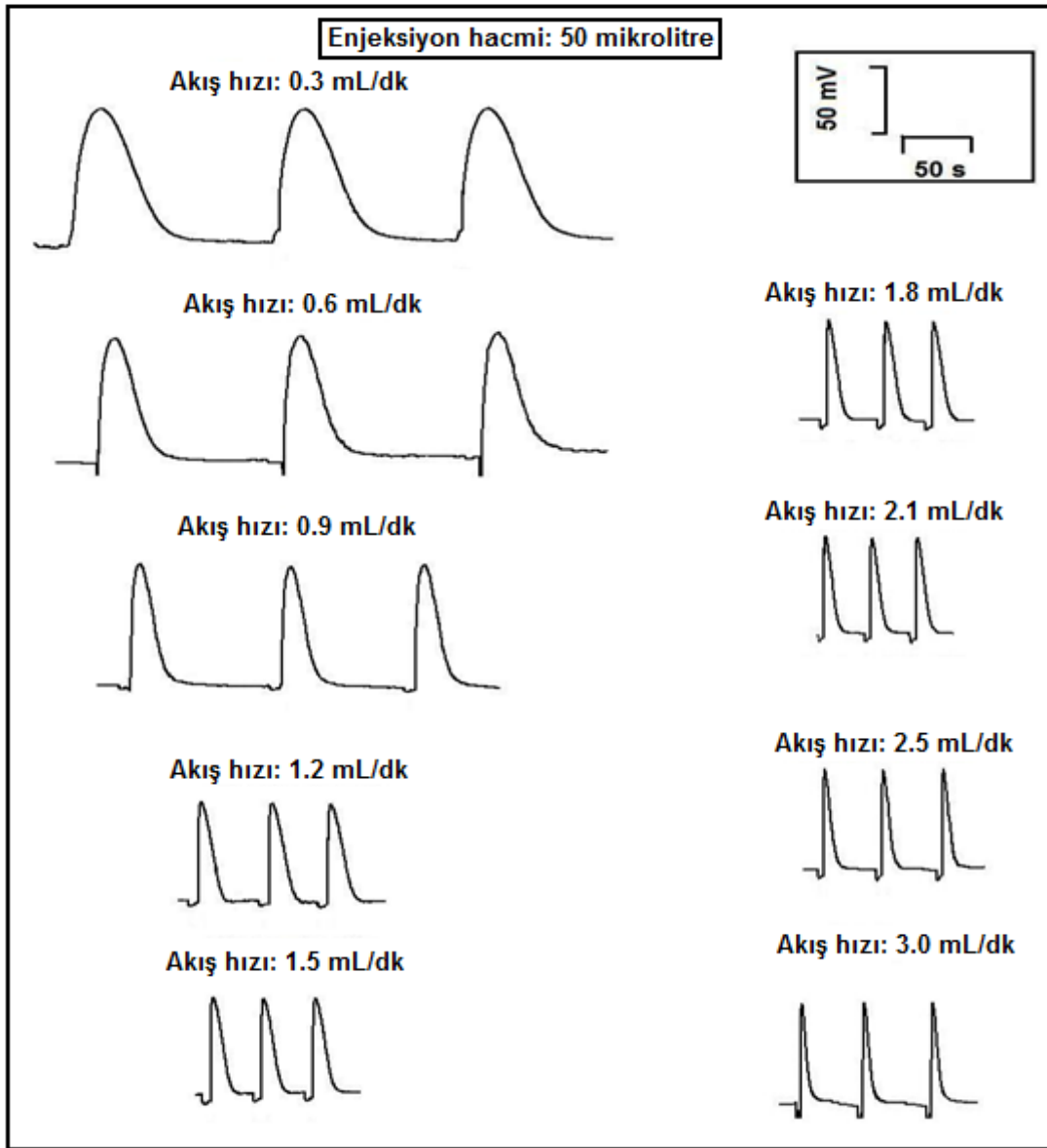
4.2.1. Katyon-Seçici Elektrotların Hareketli Ortamda Potansiyometrik Performans Özellikleri

K^+ -seçici elektrot ölçümlerinde optimum akış hızı ve enjeksiyon hacmini belirlemek için farklı enjeksiyon hacimlerinde (25, 50 ve 100 μ L) ve akış hızlarında (0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.1, 2.5 ve 3.0 mL/dk) 10^{-3} M K^+ çözeltisinin 5.0×10^{-6} M K^+ iyonu içeren hareketli faza enjeksiyonu gerçekleştirildi. Elde edilen pik yükseklikleri ve pik genişliklerindeki değişimler incelendi. Böylece, hem pik yükseklikleri hem de pik genişlikleri yönünden kullanışlı olabilecek optimum koşullar araştırıldı.

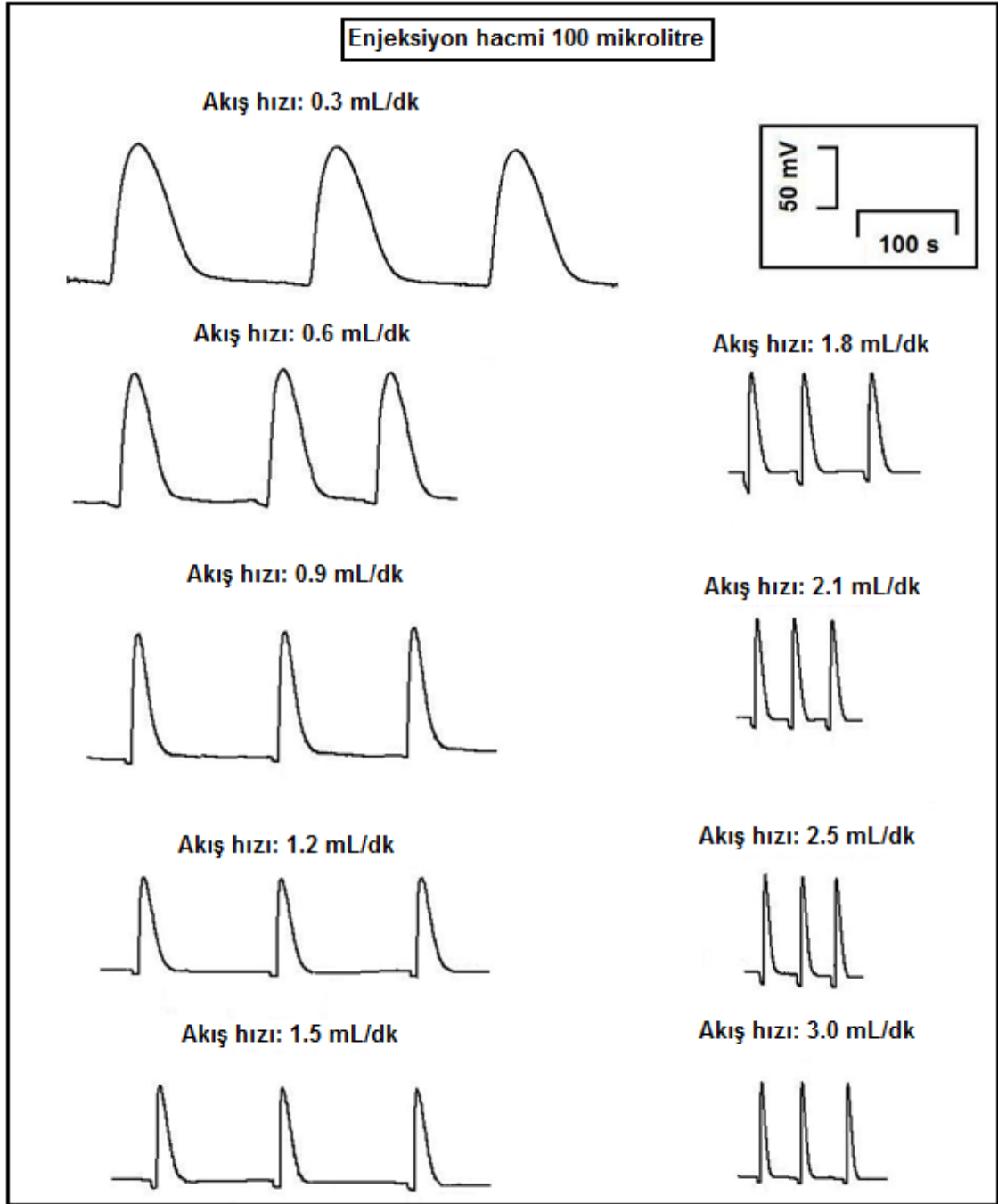


Şekil 4.21. 25 μ L enjeksiyon hacminde değişen akış hızlarında 10^{-3} M K^+ enjeksiyonuyla elde edilen pikler

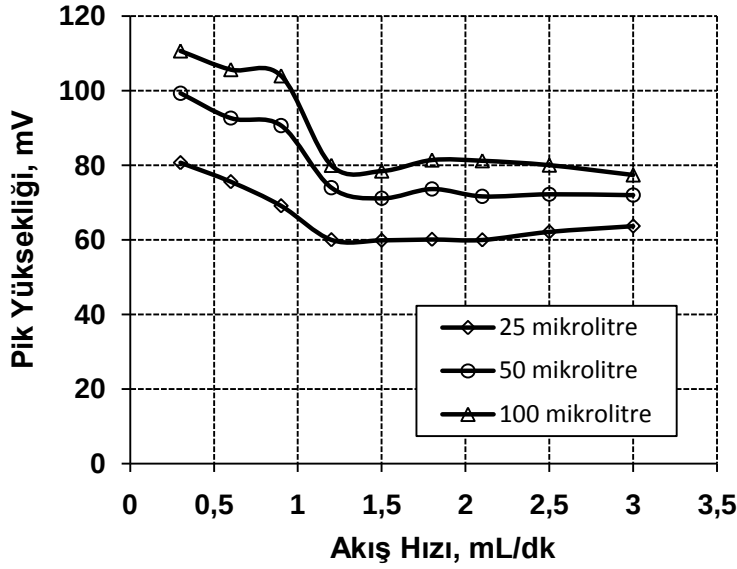
25, 50 ve 100 μL enjeksiyon hacimlerinde değişen akış hızlarında 10^{-3} M K^+ enjeksiyonuyla elde edilen pikler, sırasıyla Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23'te görölmektedir. Elde edilen piklerin yükseklikleri ve genişlikleri enjeksiyon hacimleri ve akış hızlarına göre toplu olarak grafiğe geçildiğinde Şekil 4.24 ve Şekil 4.25'deki grafikler elde edilmiştir. Piklerin boyları ölçümlerin duyarlılığı yönünden önem arz ederken, genişlikleri de birim zamanda gerçekleştirilebilecek analiz sayısı yönünden önemlidir. Dolayısıyla, hem duyarlılık yönünden önemli bir kaybın olmadığı, hem de analiz süresi yönünden kullanışlı olan optimum koşulların belirlenmesi gerekmektedir.



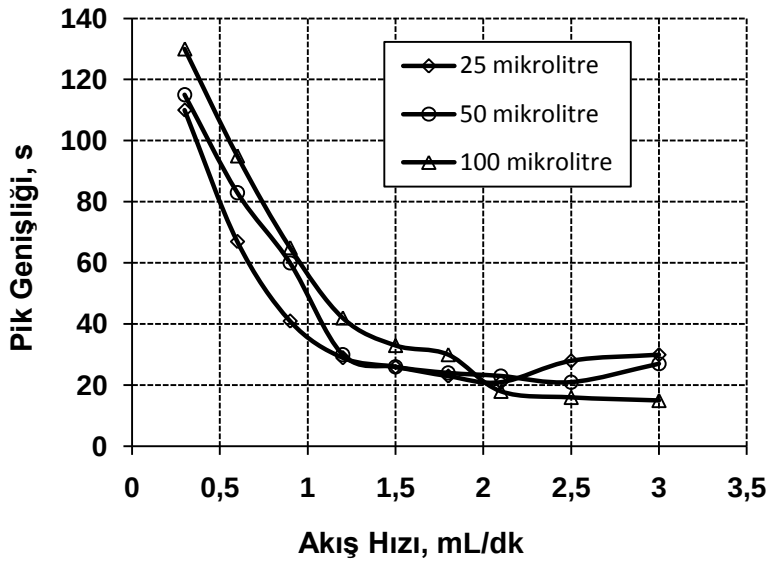
Şekil 4.22. 50 μL enjeksiyon hacminde değişen akış hızlarında 10^{-3} M K^+ enjeksiyonuyla elde edilen pikler



Şekil 4.23. 100 µL enjeksiyon hacminde değişen akış hızlarında 10^{-3} M K^{+} enjeksiyonuyla elde edilen pikler



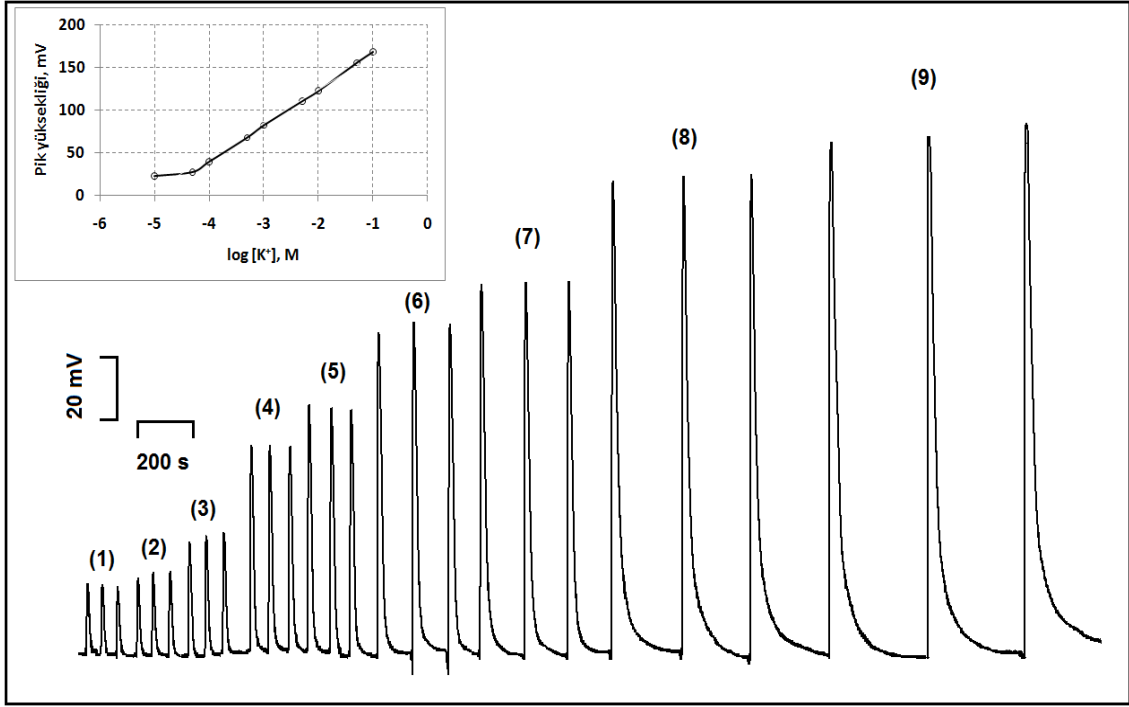
Şekil 4.24. K⁺ seçici elektrot için 10⁻³ M K⁺ enjeksiyonunda farklı akış hızı ve enjeksiyon hacimlerine göre elde edilen pik yükseklikleri grafiği



Şekil 4.25. K⁺ seçici elektrot için 10⁻³ M K⁺ enjeksiyonunda farklı akış hızı ve enjeksiyon hacimlerine göre elde edilen pik genişlikleri grafiği

Şekil 4.24 ve Şekil 4.25'deki grafikler incelendiğinde 50 µL enjeksiyon hacmi ve 1.2 mL/dk akış hızı hem duyarlılık hem de analiz süresi açısından uygun koşullar olarak belirlendi. Çünkü daha düşük akış hızlarında pik genişlikleri önemli derecede artmıştır. Daha yüksek akış hızları piklerin tekrarlanabilirliğinin düşmesine neden olduğundan dolayı tercih edilmemiştir. Belirlenen koşullarda farklı konsantrasyonlara sahip K⁺

çözeltilerinin enjeksiyonuyla Şekil 4.26'daki pikler ve kalibrasyon grafiği elde edilmiştir.

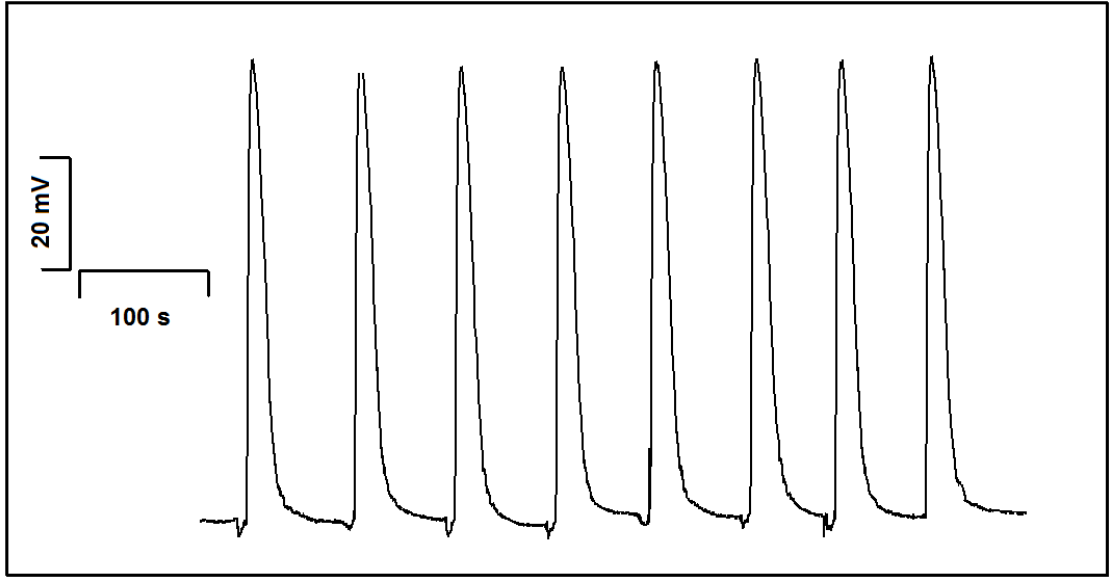


Şekil 4.26. K⁺ seçici elektrot ile değişen K⁺ konsantrasyonu enjeksiyonuna karşılık elde edilen pikler ve kalibrasyon grafiği ((1) 1.0x10⁻⁵ M (2) 5.0x10⁻⁵ M (3) 1.0x10⁻⁴ M (4) 5.0x10⁻⁴ M (5) 1.0x10⁻³ M (6) 5.0x10⁻³ M (7) 1.0x10⁻² M (8) 5.0x10⁻² M (9) 1.0x10⁻¹ M)

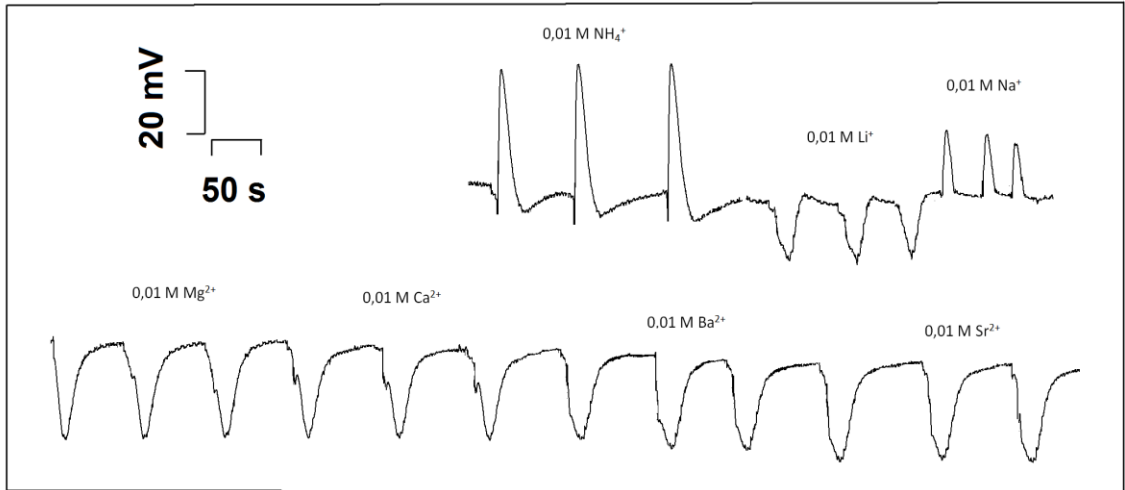
Elektrot 5x10⁻⁵-10⁻¹ M konsantrasyon aralığında doğrusal cevap sergilemektedir (R²=0.9994). Elektrotun tayin limiti, ölçülebilir pik boyu (3xtemel çizgi gürültüsü) değerine karşılık gelen konsantrasyon olarak alındı ve yaklaşık olarak 4x10⁻⁵ M olarak hesaplandı. Doğrusal çalışma aralığında elektrot potansiyeli ile çözeltilerdeki K⁺ konsantrasyonları arasındaki ilişki % 95 güven aralığında Eşitlik 4.5'e uymaktadır.

$$E_{K^+} = 42.69(\pm 0.43)\log[K^+] + 209.42(\pm 1.23) \quad (4.5)$$

Ayrıca ardarda 8 adet 10⁻³ M K⁺ enjeksiyonu gerçekleştirilerek elektrotun tekrarlanabilirliği % 95 güven aralığında, sırasıyla ortalama ve standart sapma değerleri şeklinde 77.6±1.0 mV olarak hesaplandı (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. K^+ seçici elektrot için 10^{-3} M K^+ enjeksiyonunda ölçümlerin tekrarlanabilirliği



Şekil 4.28. K^+ seçici elektrotta 10^{-2} M yabancı iyon enjeksiyonunda gözlenen pikler

Elektrota girişim yapan iyonların etkisini test etmek için, bu iyonların 10^{-2} M'lık çözeltileri hareketli faza enjekte edildi. Girişim yapan herbir iyon için elde edilen pikler Şekil 4.28'de görülmektedir. Bu iyonlardan pozitif yönde pik verenler için seçicilik katsayıları aynı pik boyunu veren K^+ konsantrasyonu kullanılarak hesaplandı. Negatif yönde pik veren iyonlar için seçicilik katsayısı, ana iyonun ölçüm aralığının dışına düştüğü için hesaplanamadı. Bu iyonlar için $\log K_{i,j}$ değerlerinin -3.00'den daha küçük olduğu kesindir. Hesaplanan seçicilik katsayıları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. K^+ -seçici elektrotun hareketli ortamda hesaplanan seçicilik katsayıları

İyonlar	$\log K_{i,j}$	İyonlar	$\log K_{i,j}$
Na^+	-2.46	Mg^{2+}	< -3.00
Li^+	< -3.00	Ca^{2+}	< -3.00
K^+	0.00	Ba^{2+}	< -3.00
NH_4^+	-2.04	Sr^{2+}	< -3.00

Diğer iyon seçici elektrotların (Li^+ -1, Li^+ -2, Na^+ ve NH_4^+) hareketli ortam performans özellikleri de, K^+ -seçici elektrotun performans özelliklerine benzer şekilde test edilerek hesaplanmıştır. Elde edilen değerler, Çizelge 4.8’de özet olarak verilmiştir.

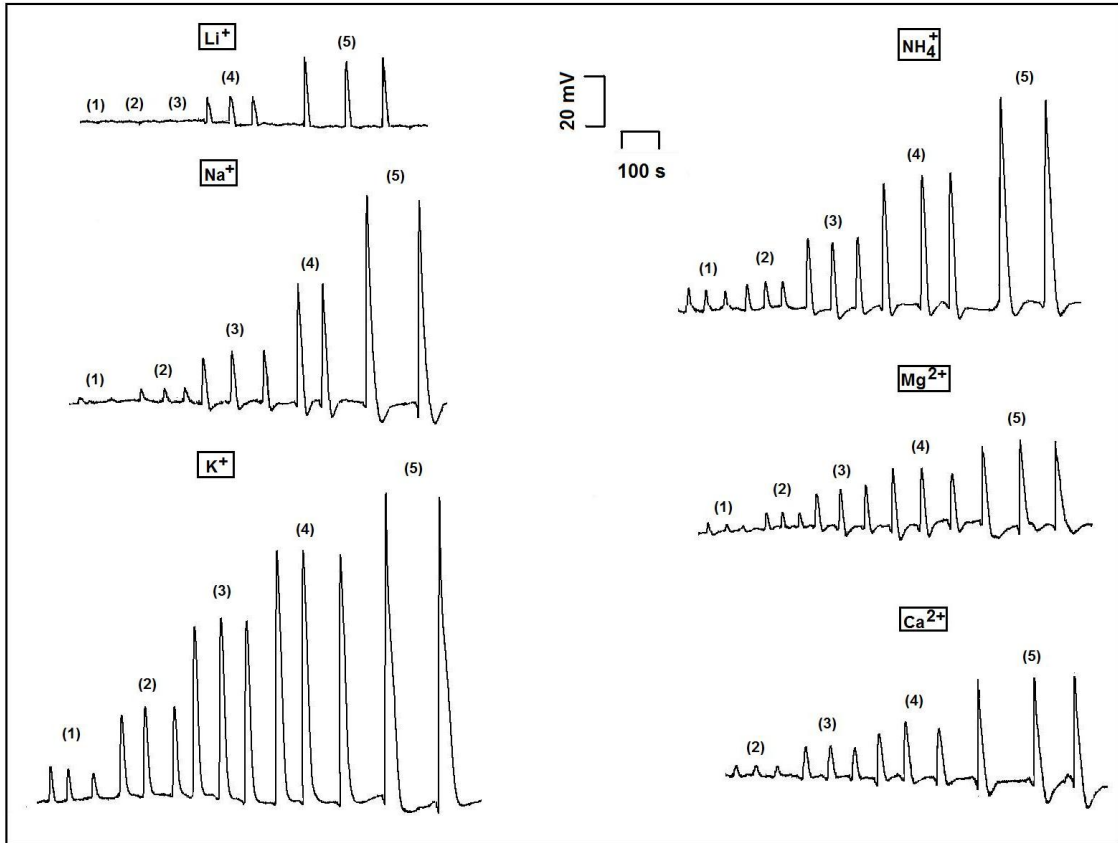
Çizelge 4.8. Çalışmada kullanılan iyon-seçici elektrotların hareketli ortam potansiyometrik performans özellikleri

ISE	Doğru Denklemi (% 95 güven aralığında)	Eğim ^a	Doğrusal Aralık (M)	Tayin Limiti (M)	Har. Faz	Enj./saat (10 ⁻³ M)	Tekrarlanabilirlik ^b (% 95 güven aralığında)	Optimum Koşullar	Seçicilik (logK _{i,j})
Li⁺-1	$E_{Li}=190.61(\pm 6.12) + 47.14(\pm 2.34).log [Li^+]$ (R ² = 0.9878)	47.1	1.0x10 ⁻⁴ - 1.0x10 ⁻¹	5.0x10 ⁻⁵	5x10 ⁻⁶ M Li ⁺	90	46.6±0.7	V _{enj} =25 µL V _{hf} = 1.2 mL/dk	logK _{Li⁺/Na⁺} = -1.83 logK _{Li⁺/K⁺} = -1.66 logK _{Li⁺/NH₄⁺} = -1.74 logK _{Li⁺/Mg²⁺} < -3.00 logK _{Li⁺/Ca²⁺} < -3.00 logK _{Li⁺/Ba²⁺} < -3.00 log K _{Li⁺/Sr²⁺} < -3.00
Li⁺-2	$E_{Li}=187.39(\pm 7.66) + 46.76(\pm 2.93).log [Li^+]$ (R ² = 0.9808)	46.8	4.0x10 ⁻⁵ - 1.0x10 ⁻¹	1.0x10 ⁻⁵	5x10 ⁻⁶ M Li ⁺	75	46.7±1.0	V _{enj} =25 µL V _{hf} = 1.2 mL/dk	logK _{Li⁺/Na⁺} = -2.23 logK _{Li⁺/K⁺} = < -3.00 logK _{Li⁺/NH₄⁺} < -3.00 logK _{Li⁺/Mg²⁺} = -1.86 logK _{Li⁺/Ca²⁺} = -1.53 logK _{Li⁺/Ba²⁺} = -1.74 log K _{Li⁺/Sr²⁺} = -1.75
Na⁺	$E_{Na}=163.26(\pm 3.35) + 40.31(\pm 1.28).log [Na^+]$ (R ² = 0.9950)	40.3	1.0x10 ⁻⁴ - 1.0x10 ⁻¹	5.0x10 ⁻⁵	5x10 ⁻⁶ M Na ⁺	40	40.3±0.3	V _{enj} =25 µL V _{hf} = 1.2 mL/dk	logK _{Na⁺/Li⁺} < -3.00 logK _{Na⁺/K⁺} < -3.00 logK _{Na⁺/NH₄⁺} < -3.00 logK _{Na⁺/Mg²⁺} < -3.00 logK _{Na⁺/Ca²⁺} < -3.00 logK _{Na⁺/Ba²⁺} < -3.00 log K _{Na⁺/Sr²⁺} < -3.00
K⁺	$E_K=209.42(\pm 1.43) + 42.69(\pm 0.43).log [K^+]$ (R ² = 0.9994)	42.7	5.0x10 ⁻⁵ - 1.0x10 ⁻¹	4.0x10 ⁻⁵	5x10 ⁻⁶ M K ⁺	70	77.6±1.0	V _{enj} =50 µL V _{hf} = 1.2 mL/dk	logK _{K⁺/Li⁺} < -3.00 logK _{K⁺/Na⁺} = -2.46 logK _{K⁺/NH₄⁺} = -2.04 logK _{K⁺/Mg²⁺} < -3.00 logK _{K⁺/Ca²⁺} < -3.00 logK _{K⁺/Ba²⁺} < -3.00 log K _{K⁺/Sr²⁺} < -3.00
NH₄⁺	$E_{NH_4}=133.50(\pm 1.75) + 38.20(\pm 0.61).log [NH_4^+]$ (R ² = 0.9972)	38.2	5.0x10 ⁻⁵ - 1.0x10 ⁻¹	<1.0x10 ⁻⁵	5x10 ⁻⁶ M NH ₄ ⁺	45	48.7±0.7	V _{enj} =25 µL V _{hf} = 1.2 mL/dk	logK _{NH₄⁺/Li⁺} = -3.58 logK _{NH₄⁺/Na⁺} < -3.00 logK _{NH₄⁺/K⁺} = -0.89 logK _{NH₄⁺/Mg²⁺} < -3.00 logK _{NH₄⁺/Ca²⁺} < -3.00 logK _{NH₄⁺/Ba²⁺} < -3.00 log K _{NH₄⁺/Sr²⁺} < -3.00

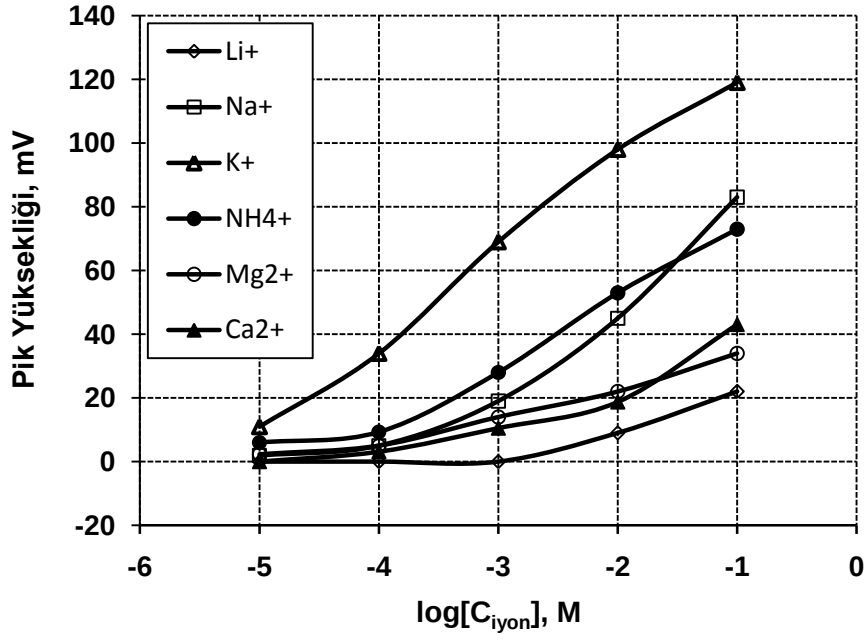
^a Doğrusal çalışma aralığında, ana iyonun 10 katlık konsantrasyon değişimine karşılık mV cinsinden pik yüksekliklerinde meydana gelen değişim^b 10⁻³ M ana iyon çözeltisinin enjeksiyonuyla elde edilen 8 adet pikin yükseklikleri kullanılarak hesaplanmıştır

4.2.2. Katyon Duyarlı Elektrotların Hareketli Ortamdaki Potansiyometrik Performans Özellikleri

Dibenzo-18-Crown-6 temelli katyon duyarlı elektrot için, daha önce özellikleri verilen iyon seçici elektrotlarda olduğu gibi optimum enjeksiyon hacmi ve hareketli faz akış hızı belirlendi ($V_{hf}= 1.2 \text{ mL/dk}$, $V_{enj}= 25 \text{ } \mu\text{L}$). Bu koşullarda farklı konsantrasyonlara sahip Li^+ , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Mg^{2+} ve Ca^{2+} çözeltilerinin enjeksiyonuyla Şekil 4.29'daki pikler elde edildi. Pikler grafiğe geçirildiğinde Şekil 4.30'daki kalibrasyon grafikleri elde edildi. Elektrotun en duyarlı cevap sergilediği iyonların sırasıyla K^+ , NH_4^+ ve Na^+ iyonları olduğu görülmektedir.

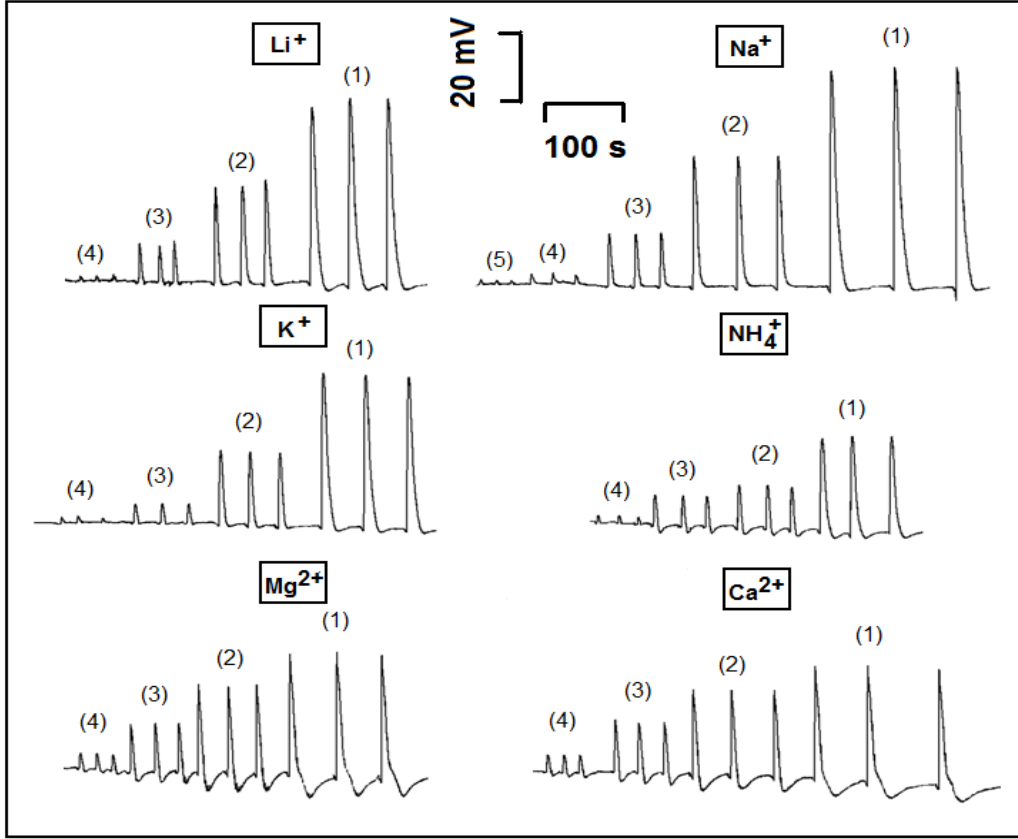


Şekil 4.29. Dibenzo-18-Crown-6 temelli katyon duyarlı elektrot için farklı katyonların farklı derişimlerine karşılık elde edilen pikler (1: 10^{-5} M 2: 10^{-4} M 3: 10^{-3} M 4: 10^{-2} M 5: 10^{-1} M)

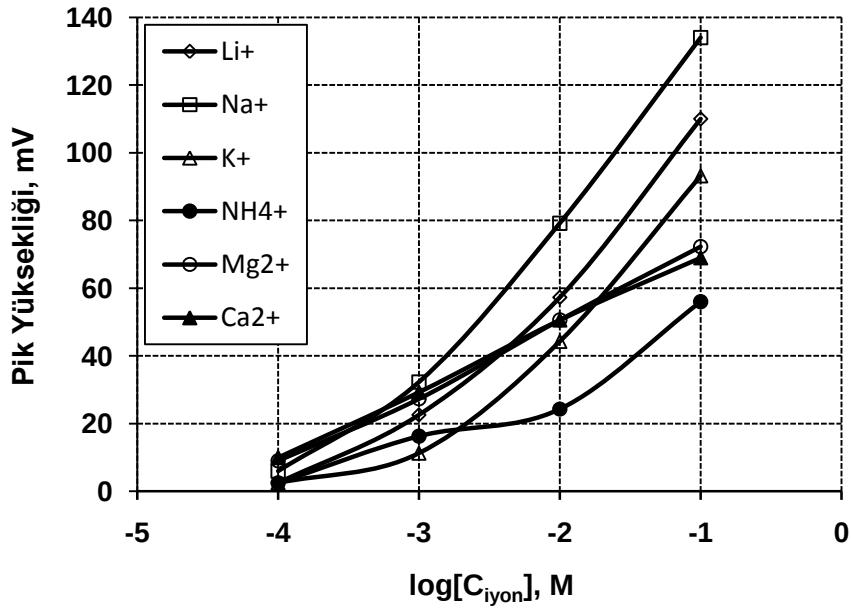


Şekil 4.30. Dibenzo-18-Crown-6 temelli katyon duyarlı elektrot için farklı katyonların farklı derişimlerine karşılık elde edilen kalibrasyon grafiği

Benzer şekilde monensin temelli katyon duyarlı elektrot için V_{enj} ve V_{hf} sırasıyla 25 μ L ve 1.2 mL/dk olarak belirlendi. Bu koşullarda; farklı konsantrasyonlara sahip Li^+ , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Mg^{2+} ve Ca^{2+} çözeltilerinin enjeksiyonuyla Şekil 4.31'deki pikler elde edilmiştir. Pikler grafiğe geçirildiğinde, Şekil 4.32'deki kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Elektrotun en duyarlı cevap sergilediği iyonların, sırasıyla Na^+ , Li^+ ve K^+ iyonları olduğu görülmektedir. Ayrıca elektrotun çift yüklü iyonlar olan Mg^{2+} ve Ca^{2+} iyonlarına karşı da duyarlı bir cevap sergilemesi dikkat çekmektedir.



Şekil 4.31. Monensin temelli katyon duyarlı elektrot için farklı katyonların farklı derişimlerine karşılık elde edilen pikler (1: 10^{-1} M 2: 10^{-2} M 3: 10^{-3} M 4: 10^{-4} M 5: 10^{-5} M)



Şekil 4.32. Monensin temelli katyon duyarlı elektrot için farklı katyonların farklı derişimlerine karşılık elde edilen kalibrasyon grafiğı

4.3. Durgun Ortamda Sensör Dizilerinin Kemometrik Yöntemlerle Kalibrasyon Uygulamaları

4.3.1. Li^+ , Na^+ ve K^+ İyonlarının Potansiyometrik Sensör Dizisiyle Eşzamanlı Tayin Uygulaması

Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının eş zamanlı analizini gerçekleştirmek için; 2 adet Li^+ -seçici elektrot (Li-1 ve Li-2), 1 adet Na^+ -seçici elektrot, 1 adet K^+ -seçici elektrot ve 2 adet katyon duyarlı elektrot (monensin temelli, G-1; dibenzo-18-Crown-6 temelli, G-2) olmak üzere toplam 6 adet elektrottan oluşan potansiyometrik bir sensör dizisi kullanıldı.

Elektrotların çok değişkenli kalibrasyonları, iyon içerikleri 3 seviyeli 3 faktörlü faktöriyel deneysel tasarım ($3^3=27$)'a göre ayarlanmış olan kalibrasyon seti çözeltilerinde alınan ölçümler kullanılarak gerçekleştirildi. Bu çözeltilerde; Li^+ iyonunun konsantrasyon aralığı, 10^{-4} - 10^{-3} M, Na^+ iyonunun konsantrasyon aralığı, 10^{-2} - 4×10^{-2} M, K^+ iyonunun konsantrasyon aralığı da, 2×10^{-4} - 2×10^{-3} M olarak seçildi. Deneysel tasarıma göre hazırlanmış olan deney seti çözeltilerinin iyon konsantrasyonları, Çizelge 4.9'da verilmiştir. Ayrıca, kalibrasyon seti çözeltilerinden elde edilen kalibrasyon modellerinin validasyonunu gerçekleştirmek için 13 çözeltiden oluşan bir dış test çözelti seti oluşturuldu. Çözeltilerin hazırlamasından kaynaklanan hataların kalibrasyonlarda önemli bir hata kaynağı olup olmadığını test etmek için, bu dış test çözeltilerinden 5 tanesi birbirinin aynı iyon konsantrasyonuna sahip olacak şekilde ayrı ayrı hazırlandı. Dış test seti çözeltilerinin iyon konsantrasyonları, kalibrasyon setindeki iyonların konsantrasyon aralıklarına düşecek şekilde rastgele belirlendi. Dış test seti çözeltilerinin iyon konsantrasyonları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Çözeltilerin hazırlanmasında deiyonize su yerine pH'sı 7.3 olan 10^{-2} M Tris-HCl çözeltisi kullanıldı. Kalibrasyon ve dış test seti çözeltilerine karşılık elektrotlardan okunan potansiyel değerleri, sırasıyla Çizelge 4.10 ve Çizelge 4.11'de verilmiştir. Çözeltilerin iyon konsantrasyonları ve elektrotlardan okunan potansiyel değerleri arasındaki ilişkiyi belirlemek için aşağıda ifade edilen çok değişkenli kalibrasyon teknikleri kullanıldı. Herbir metotla elde edilen modellerin tahmin güçleri karşılaştırıldı.

Çizelge 4.9. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının eş zamanlı analizi için oluşturulan kalibrasyon seti ve test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri

	Çözelti No	İYON KONSANTRASYONLARI		
		$\log[\text{Li}^+]$, M	$\log[\text{Na}^+]$, M	$\log[\text{K}^+]$, M
KALİBRASYON SETİ	CS-1	-4.00	-2.00	-3.12
	CS-2	-3.87	-1.87	-2.86
	CS-3	-3.77	-1.77	-2.70
	CS-4	-3.69	-1.69	-3.16
	CS-5	-3.62	-1.62	-2.88
	CS-6	-3.56	-1.56	-2.71
	CS-7	-3.51	-1.51	-3.21
	CS-8	-3.47	-1.47	-2.91
	CS-9	-3.42	-1.42	-2.73
	CS-10	-3.39	-1.95	-3.26
	CS-11	-3.35	-1.84	-2.93
	CS-12	-3.32	-1.74	-2.75
	CS-13	-3.29	-1.67	-3.32
	CS-14	-3.26	-1.60	-2.96
	CS-15	-3.23	-1.55	-2.76
	CS-16	-3.21	-1.50	-3.39
	CS-17	-3.18	-1.45	-2.99
	CS-18	-3.16	-1.41	-2.78
	CS-19	-3.14	-1.91	-3.47
	CS-20	-3.12	-1.80	-3.02
	CS-21	-3.10	-1.72	-2.80
	CS-22	-3.08	-1.64	-3.57
	CS-23	-3.06	-1.58	-3.05
	CS-24	-3.05	-1.53	-2.82
	CS-25	-3.03	-1.48	-3.70
	CS-26	-3.02	-1.44	-3.08
	CS-27	-3.00	-1.40	-2.84
DIŞ TEST SETİ	TS-1a	-3.82	-1.62	-3.22
	TS-1b	-3.82	-1.62	-3.22
	TS-1c	-3.82	-1.62	-3.22
	TS-1d	-3.82	-1.62	-3.22
	TS-1e	-3.82	-1.62	-3.22
	TS-2	-3.70	-1.82	-3.00
	TS-3	-3.60	-1.70	-2.92
	TS-4	-3.52	-1.55	-2.85
	TS-5	-3.40	-1.52	-2.74
	TS-6	-3.30	-1.49	-3.10
	TS-7	-3.15	-1.47	-2.80
	TS-8	-3.10	-1.42	-2.72
	TS-9	-3.22	-1.55	-2.70

Çizelge 4.10. Kalibrasyon çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri

	Çözelti No	POTANSİYELLER, mV					
		ELEKTROTLAR					
		Li-1	Li-2	Na	K	G-1	G-2
KALİBRASYON SETİ	CS-1	39.15	-10.06	92.93	80.81	33.88	30.85
	CS-2	44.22	-6.51	98.54	93.10	36.02	39.00
	CS-3	52.53	2.06	107.15	103.54	42.06	48.69
	CS-4	52.44	3.31	105.3	80.03	34.78	36.63
	CS-5	58.08	8.35	113.75	92.97	43.13	43.67
	CS-6	63.72	13.78	118.83	102.56	47.66	52.66
	CS-7	63.89	14.82	120.28	75.92	43.82	39.27
	CS-8	63.03	14.98	121.13	93.35	44.51	48.10
	CS-9	67.43	18.35	123.27	101.69	45.66	50.56
	CS-10	62.34	20.31	97.07	75.04	33.50	27.44
	CS-11	66.88	23.62	104.62	92.26	41.02	41.64
	CS-12	66.44	23.06	106.32	102.42	37.66	45.52
	CS-13	66.55	23.11	108.17	72.61	38.54	33.14
	CS-14	70.55	25.97	114.5	88.92	41.71	41.07
	CS-15	74.59	30.05	119.77	100.27	46.84	49.97
	CS-16	75.02	31.46	121.64	68.79	40.92	33.95
	CS-17	76.88	32.71	123.85	90.79	44.47	43.18
	CS-18	79.93	35.22	127.86	100.06	47.14	50.61
	CS-19	74.45	34.69	99.38	64.91	33.68	23.26
	CS-20	70.73	31.13	101.01	89.40	37.63	42.51
	CS-21	78.53	36.97	110.29	98.57	41.81	45.44
	CS-22	80.44	38.94	114.69	58.72	42.69	31.56
	CS-23	82.36	40.43	118.85	85.22	45.62	43.19
	CS-24	81.83	39.87	119.55	98.55	43.49	45.49
	CS-25	83.70	41.54	123.36	53.36	42.96	34.43
	CS-26	86.04	43.39	126.51	84.37	48.82	44.73
	CS-27	83.73	41.07	124.47	97.93	45.33	48.76

Çizelge 4.11. Test çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri

DİŞ TEST SETİ	Çözelti No	POTANSİYELLER, mV					
		ELEKTROTLAR					
		Li-1	Li-2	Na	K	G-1	G-2
	TS-1a	55.57	3.20	117.12	76.84	44.34	38.21
	TS-1b	55.72	3.51	116.84	76.62	44.15	37.42
	TS-1c	56.77	5.06	117.61	77.66	45.57	36.97
	TS-1d	57.82	6.27	117.79	76.17	47.11	39.97
	TS-1e	57.22	5.65	117.57	77.58	46.64	39.39
	TS-2	54.99	7.49	105.81	88.76	40.81	40.70
	TS-3	60.17	12.71	112.25	91.82	43.06	43.75
	TS-4	65.35	17.02	119.43	94.05	47.44	48.97
	TS-5	72.22	25.78	122.37	101.02	50.81	51.61
	TS-6	76.73	32.19	124.94	83.09	51.45	45.42
	TS-7	82.48	39.38	125.74	99.32	52.88	52.13
	TS-8	85.08	41.84	128.41	102.62	54.48	54.87
	TS-9	79.42	36.12	121.45	103.87	52.23	55.84

4.3.1.1. MLR Modelleri ve Model Parametreleri

Çizelge 4.12. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen çoklu doğrusal regresyon modellerinin parametreleri

MLR	İyonlar	Elektrot Kombinasyonları	R ²	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
	log[Li ⁺]	Li-2, G-1, G-2	0.983	0.0249	0.0295	0.0698	0.001738
		Li-2, G-1, G-2, K	0.986	0.0237	0.03	0.0636	0.001507
		Li-2, G-1, G-2, K, Li-1	0.985	0.0236	0.0319	0.0663	0.001565
		Li-2, G-1, G-2, K, Li-1, Na	0.985	0.0232	0.0341	0.0646	0.001499
	log[Na ⁺]	Na, G-2, G-1	0.945	0.0418	0.05	0.023	0.000961
		Na, G-2, G-1, K	0.956	0.0356	0.0495	0.0254	0.000904
		Na, G-2, G-1, K, Li-1	0.956	0.0356	0.0549	0.0253	0.000901
		Na, G-2, G-1, K, Li-1, Li-2	0.954	0.035	0.0562	0.0293	0.001026
	log[K ⁺]	K, Li-2, G-1	0.995	0.0145	0.0166	0.0234	0.000339
		K, Li-2, G-1, G-2	0.994	0.0131	0.0151	0.0311	0.000407
		K, Li-2, G-1, G-2, Li-1	0.994	0.013	0.0152	0.0305	0.000397
		K, Li-2, G-1, G-2, Li-1, Na	0.993	0.012	0.016	0.0348	0.000418

İlk olarak adımsal değişken seçimi tekniği kullanılarak, hangi elektrot kombinasyonlarının kullanışlı RMSEC değerleri üretebildiği tespit edildi. Değişken seçim işlemi, adımsal değişken seçimi tekniğine en iyi üç değişkeni (elektrot) seçtirerek

başlatıldı ve sırasıyla bu üç değişkene geri kalan değişkenler teker teker eklenerek yeni elektrot kombinasyonları oluşturuldu. Her elektrot kombinasyonu için model parametreleri hesaplandı. Hesaplanan model parametreleri Çizelge 4.12’de verilmiştir.

4.3.1.2. PCR Modelleri ve Model Parametreleri

Çizelge 4.13. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen PCR modellerinin parametreleri

	İyonlar	Elektrot Komb.	Temel Bileşen Sayısı	R ²	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
PCR	log[Li ⁺]	Li-2, G-1, G-2	2	0.954	0.0331	0.0373	0.1195	0.003955
			3	0.983	0.0249	0.0295	0.0698	0.001738
		Li-2, G-1, G-2, K	2	0.935	0.0399	0.0448	0.1407	0.005614
			3	0.971	0.0287	0.0337	0.0937	0.002689
			4	0.986	0.0237	0.03	0.0636	0.001507
		Li-2, G-1, G-2, K, Li-1	2	0.924	0.0465	0.0517	0.1491	0.006933
			3	0.972	0.0308	0.0361	0.09	0.002772
			4	0.988	0.0244	0.0319	0.0575	0.001403
		Li-2, G-1, G-2, K, Li-1, Na	2	0.856	0.0743	0.0827	0.1908	0.014176
			3	0.969	0.0289	0.0351	0.0968	0.002798
			4	0.969	0.0289	0.039	0.0981	0.002835
	log[Na ⁺]	Na, G-2, K	2	0.919	0.0433	0.0477	0.058	0.002511
			3	0.916	0.0426	0.0522	0.0621	0.002645
		Na, G-2, K, G-1	2	0.892	0.0468	0.0515	0.0756	0.003538
			3	0.899	0.0466	0.0575	0.0704	0.003281
			4	0.956	0.0356	0.0495	0.0254	0.000904
		Na, G-2, K, G-1, Li-1	2	0.735	0.085	0.0948	0.0737	0.006265
			3	0.889	0.0464	0.0534	0.0794	0.003684
			4	0.896	0.0461	0.0646	0.0737	0.003398
		Na, G-2, K, G-1, Li-1, Li-2	2	0.544	0.1111	0.1246	0.1022	0.011354
			3	0.899	0.0466	0.0539	0.0788	0.003672
			4	0.896	0.0463	0.0651	0.0731	0.003385
	log[K ⁺]	K, Li-2, G-1	2	0.994	0.0148	0.0165	0.028	0.000414
			3	0.995	0.0145	0.0166	0.0234	0.000339
		K, Li-2, G-1, G-2	2	0.977	0.0343	0.0404	0.0519	0.001780
			3	0.995	0.0186	0.022	0.0162	0.000301
			4	0.994	0.0131	0.0151	0.0311	0.000407
		K, Li-2, G-1, G-2, Li-1	2	0.978	0.0341	0.0401	0.0517	0.001763
			3	0.995	0.019	0.0224	0.0151	0.000287
			4	0.994	0.0131	0.0152	0.0313	0.000410
		K, Li-2, G-1, G-2, Li-1, Na	2	0.941	0.053	0.0626	0.0851	0.004510
			3	0.993	0.0228	0.0283	0.0191	0.000436
			4	0.995	0.0171	0.0225	0.0187	0.000320

PCR kalibrasyon işlemine de MLR’de olduğu gibi ilk olarak değişken seçimi ile başlandı. Fakat değişken seçiminde iteratif PCR kullanıldı. Seçilen elektrot kombinasyonları ve her elektrot kombinasyonu için hesaplanan model parametreleri Çizelge 4.13’te verilmiştir.

4.3.1.3. Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (PLS) Modelleri

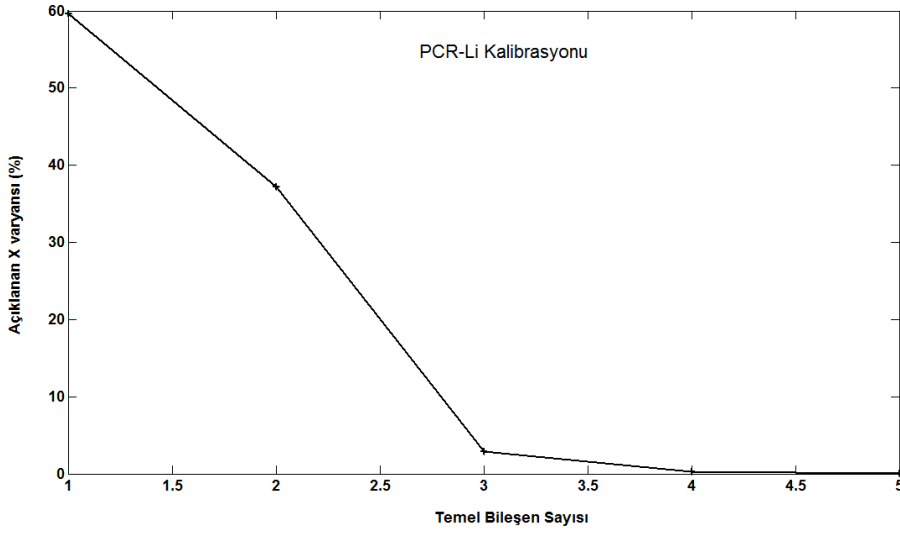
PLS kalibrasyonunda da, MLR ve PCR’de olduğu gibi ilk olarak değişken seçimi gerçekleştirildi. Değişken seçiminde iteratif PLS kullanıldı. Seçilen elektrot kombinasyonları ve her elektrot kombinasyonu için hesaplanan model parametreleri Çizelge 4.14’te verilmiştir.

Çizelge 4.14. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen PLS modellerinin parametreleri

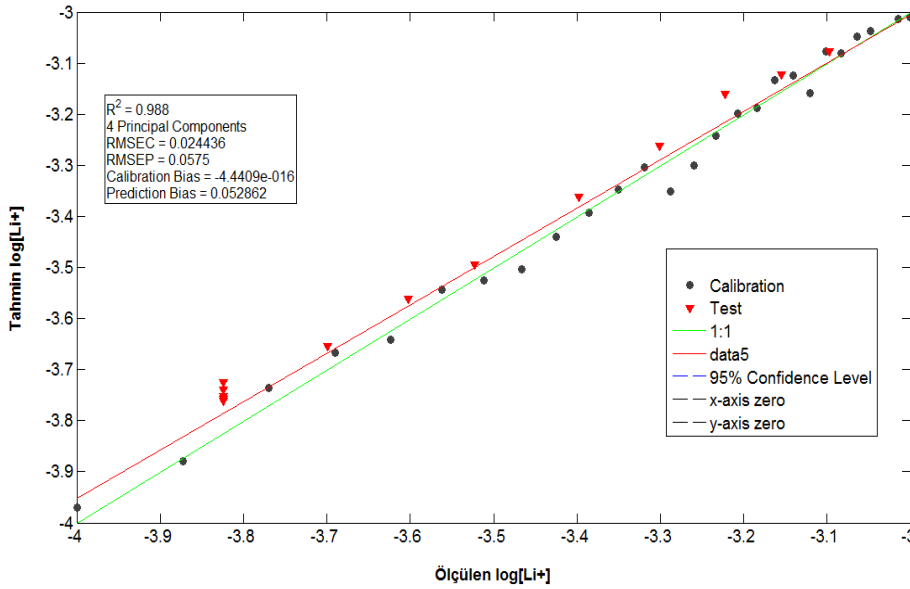
	İyonlar	Elektrot Komb.	Gizli Değişken Sayısı	R ²	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECxRMSEP
PLS	log[Li ⁺]	Li-2, G-1, G-2	2	0.959	0.0318	0.0365	0.1134	0.003606
			3	0.983	0.0249	0.0295	0.0698	0.001738
		Li-2, G-1, G-2, K	2	0.943	0.0370	0.0413	0.1331	0.004925
			3	0.974	0.0278	0.0329	0.0890	0.002474
			4	0.986	0.0237	0.0300	0.0636	0.001507
		Li-2, G-1, G-2, K, Li-1	2	0.934	0.0429	0.0494	0.1393	0.005976
			3	0.975	0.0297	0.0352	0.0851	0.002527
			4	0.987	0.0241	0.0317	0.0587	0.001415
		Li-2, G-1, G-2, K, Li-1, Na	2	0.963	0.0346	0.0451	0.1049	0.003630
			3	0.970	0.0287	0.0348	0.0957	0.002747
			4	0.985	0.0245	0.0376	0.0662	0.001622
	log[Na ⁺]	Na, G-2, K	2	0.919	0.0432	0.0479	0.0582	0.002514
			3	0.916	0.0426	0.0522	0.0621	0.002645
		Na, G-2, K, G-1	2	0.895	0.0465	0.0514	0.0743	0.003455
			3	0.955	0.0369	0.0512	0.0227	0.000838
			4	0.956	0.0356	0.0495	0.0254	0.000904
		Na, G-2, K, G-1, Li-1	2	0.879	0.0597	0.0637	0.0474	0.002830
			3	0.895	0.0455	0.0537	0.0760	0.003458
			4	0.955	0.0370	0.0573	0.0229	0.000847
		Na, G-2, K, G-1, Li-1, Li-2	2	0.807	0.0706	0.0814	0.0721	0.005090
			3	0.893	0.046	0.0541	0.0764	0.003514
			4	0.955	0.0372	0.0577	0.0227	0.000844
	log[K ⁺]	K, Li-2, G-1	2	0.995	0.0147	0.0164	0.0275	0.000404
			3	0.995	0.0145	0.0166	0.0234	0.000339
		K, Li-2, G-1, G-2	2	0.983	0.0306	0.0367	0.0436	0.001334
			3	0.995	0.0177	0.0208	0.0165	0.000292
			4	0.994	0.0131	0.0151	0.0311	0.000407
		K, Li-2, G-1, G-2, Li-1	2	0.982	0.0312	0.0370	0.0458	0.001429
			3	0.995	0.0180	0.0212	0.0155	0.000279
			4	0.994	0.0131	0.0151	0.0311	0.000407
		K, Li-2, G-1, G-2, Li-1, Na	2	0.971	0.0382	0.0404	0.0581	0.002219
			3	0.994	0.0216	0.0269	0.0181	0.000391
			4	0.996	0.0151	0.0183	0.0206	0.000311

Yukarıdaki tablolarda model parametreleri verilmiş olan çok değişkenli doğrusal kalibrasyon modellerinden RMSECxRMSEP değerleri en küçük olanlar, o türün tahmini için en iyi model olarak seçilmiştir. Li⁺ için en iyi modelin Li-1, Li-2, K, G-1 ve

G-2 elektrot kombinasyonu için 4 temel bileşen üzerinden hesaplanan model olduğu görülmektedir. Şekil 4.33'te görüldüğü gibi, 4 temel bileşen X varyansının çok büyük bir yüzdesini açıklamak için yeterli olmaktadır. Daha fazla sayıda temel bileşeni modele dahil etmek anlamsızdır. Çünkü bu temel bileşenlerin etkisi sistemin gürültü seviyesinin altındadır.



Şekil 4.33. Temel bileşen sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri



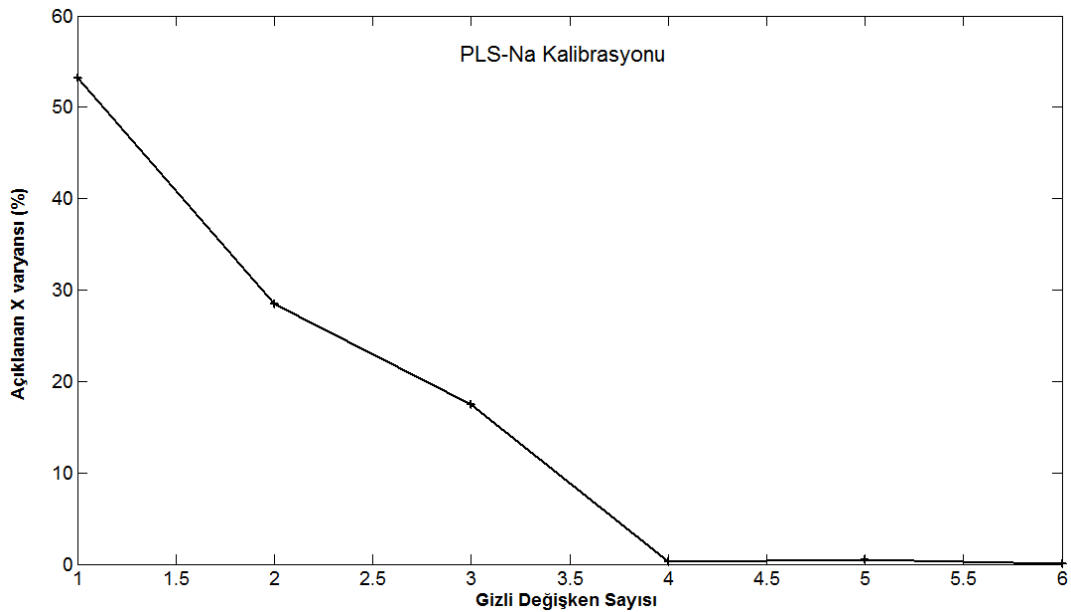
Şekil 4.34. Kalibrasyon ve dış test çözeltilerinde bilinen Li^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen Li^+ miktarları

Li^+ tahmini için oluşturulan PCR modelinin, gerek kalibrasyon çözeltilerinde, gerekse test çözeltilerinde mevcut olan Li^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi

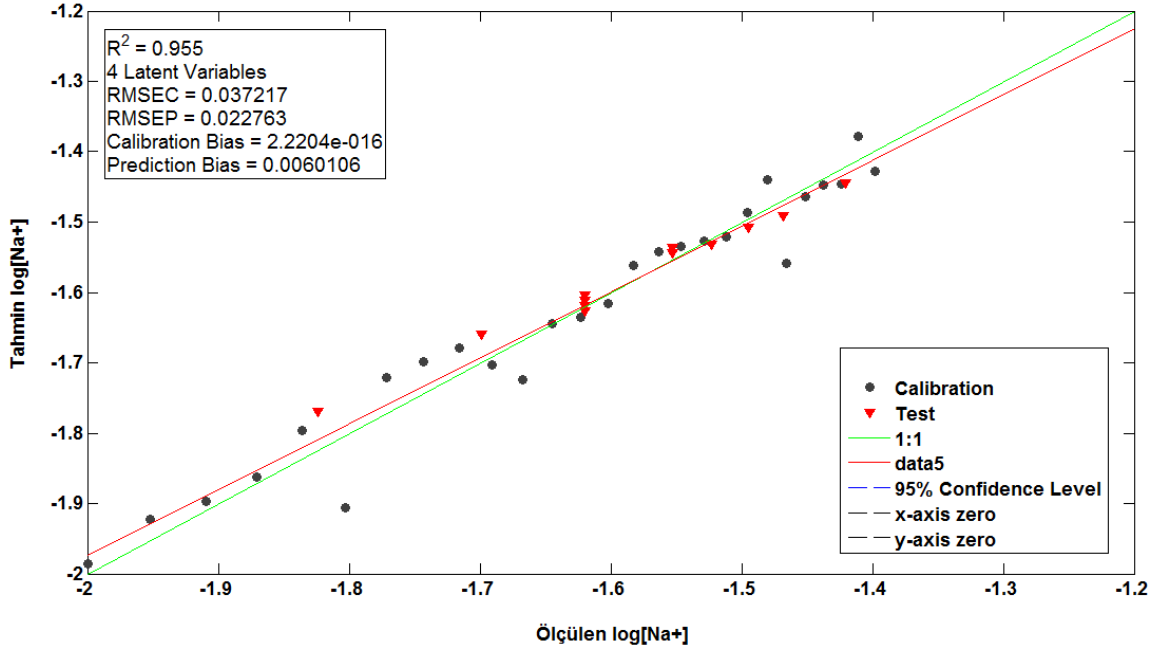
Şekil 4.34'te görülmektedir. Grafik incelendiğinde, modelin aynı yollarla hazırlanan aynı iyon bileşimine sahip çözeltilerde birbirine yakın tahmin değerleri ürettiği görülmektedir. Bu durum çözelti hazırlamadan kaynaklanan hataların çok önemli olmadığını göstergesidir.

Na^+ için en iyi modelin, tüm elektrotların sinyalleri kullanılarak 4 gizli değişken üzerinden hesaplanan PLS modeli olduğu görülmektedir. Şekil 4.35'te görüldüğü gibi 4 gizli değişken X varyansının büyük bir yüzdesini açıklamak için yeterli olmaktadır. Na^+ tahmini için oluşturulan PLS modelinin gerek kalibrasyon çözeltilerinde, gerekse test çözeltilerinde mevcut olan Na^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi Şekil 4.36'da görülmektedir. Grafik incelendiğinde modelin aynı yollarla hazırlanan, aynı iyon bileşimine sahip çözeltilerde birbirine yakın tahmin değerleri ürettiği görülmektedir.

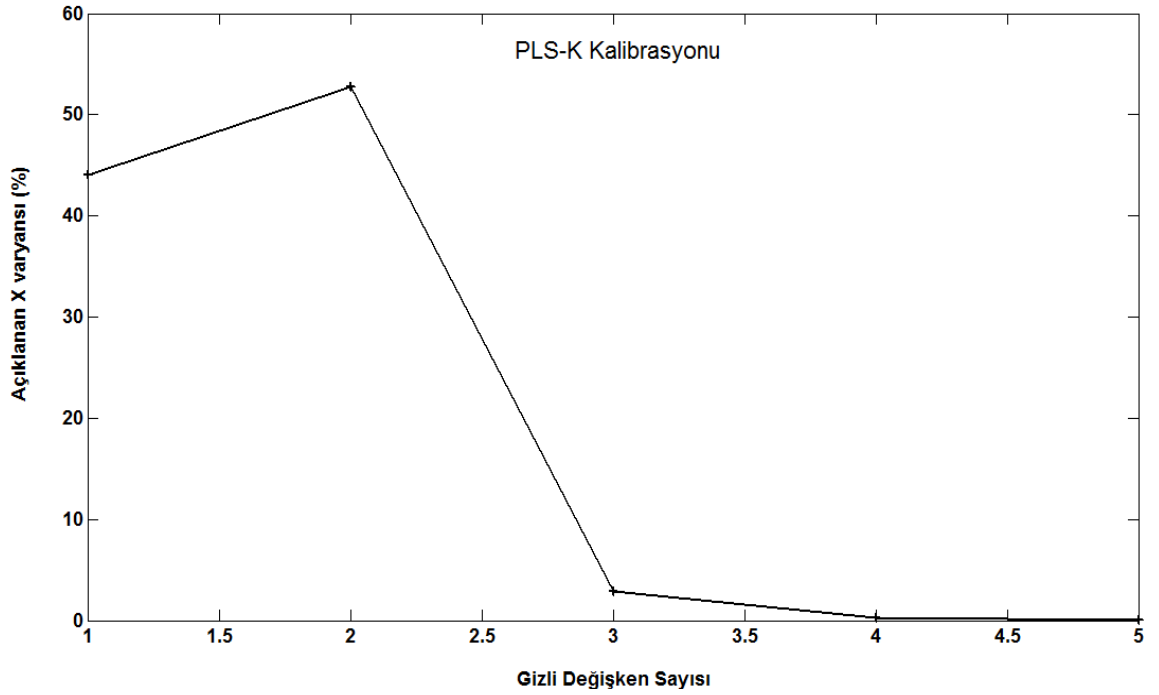
K^+ için en iyi modelin Li-1, Li-2, K, G-1 ve G-2 elektrot kombinasyonu için 3 gizli değişken üzerinden hesaplanan PLS modeli olduğu görülmektedir. Şekil 4.37'de görüldüğü gibi 3 gizli değişken X varyansının büyük bir yüzdesini açıklamak için yeterli olmaktadır. K^+ tahmini için oluşturulan PLS modelinin gerek kalibrasyon çözeltilerinde, gerekse test çözeltilerinde mevcut olan K^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi Şekil 4.38'de görülmektedir. Grafik incelendiğinde modelin aynı yollarla hazırlanan, aynı iyon bileşimine sahip çözeltilerde birbirine yakın tahmin değerleri ürettiği görülmektedir.



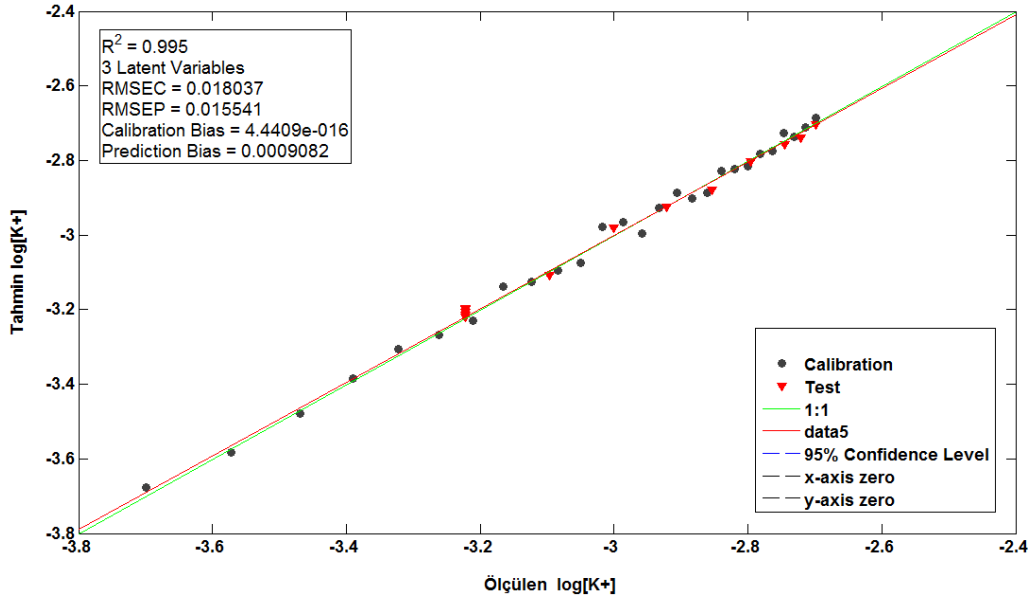
Şekil 4.35. Gizli değişken sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri



Şekil 4.36. Kalibrasyon ve dış test çözümlerinde bilinen Na^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen Na^+ miktarları



Şekil 4.37. Gizli değişken sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri



Şekil 4.38. Kalibrasyon ve dış test çözümlerinde bilinen K^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen K^+ miktarları

4.3.1.4. ANN Modelleri

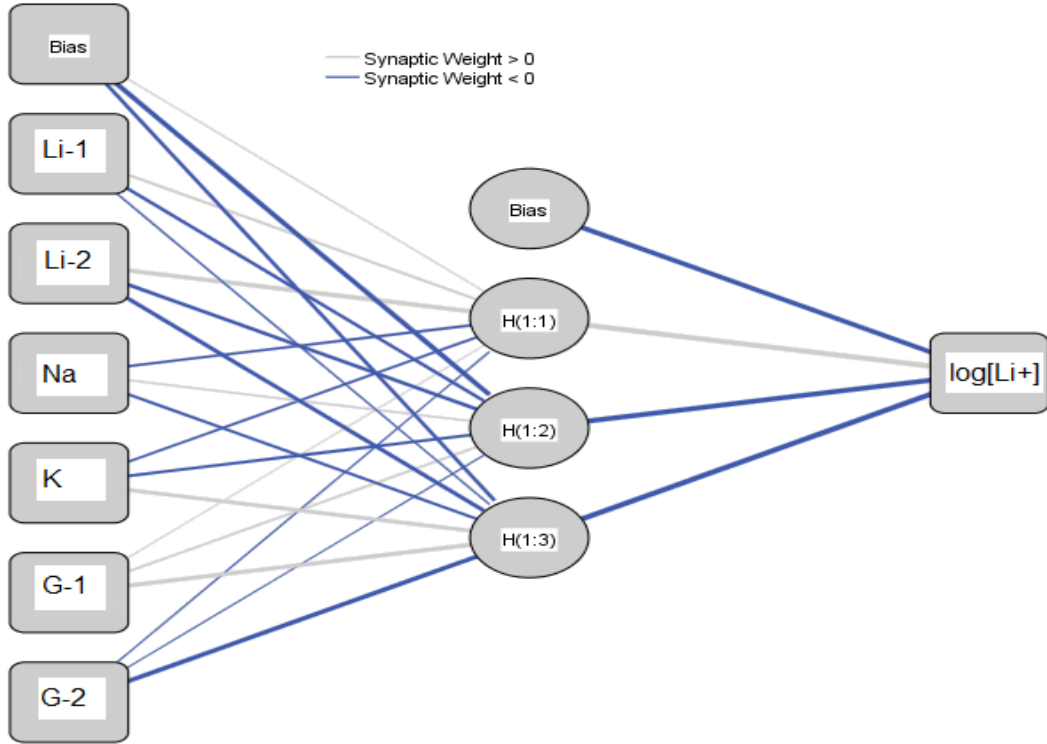
ANN kalibrasyon modellerinin oluşturulmasında; sensör dizisinde bulunan tüm elektrotlardan okunan potansiyel değerlerinin standartlaştırılmış halleri, ANN modellerinin giriş değerleri olarak kullanıldı. Tüm ANN modelleri 1 tane gizli tabaka kullanılarak oluşturuldu. ANN'nin mimarisi gizli tabakanın en az 1 en çok 50 birim içerecek şekilde sınırlandırıldığı, otomatik yapı seçimi kullanılarak oluşturuldu. Gizli tabaka aktivasyon fonksiyonu olarak, hiperbolik tanjant fonksiyonu; çıkış tabakası aktivasyon fonksiyonu olarakta, özdeşlik fonksiyonu kullanıldı. Ağın eğitilmesinde grup eğitimi yöntemi seçildi. ANN ile sensör dizisinin kalibrasyonu gerçekleştirilirken farklı yaklaşımlar kullanılarak farklı ANN modelleri oluşturuldu. Bu yaklaşımların bazılarında; çıkış değeri olarak elektrotların konsantrasyon değerleri doğrudan kullanılırken, bazılarında da konsantrasyon değerlerinin logaritması kullanıldı. Yine bazı yaklaşımlarda tayin edilecek tür tek başına çıkış değeri alınarak ANN modeli oluşturulurken, bazı yaklaşımlarda da türlerin tamamı çıkış değerleri olarak alınarak model oluşturuldu. Elde edilen modeller için RMSEC ve RMSEP değerleri hesaplanarak, RMSECxRMSEP değerleri aracılığıyla modellerin tahmin güçleri karşılaştırıldı. Her bir model için RMSEC ve RMSEP değerlerinin hesaplanmasında, hem bilinen konsantrasyonların hem de modelle tahmin edilen konsantrasyonların

logaritmik değerleri kullanıldı. Böylece; aynı ölçekte hem ANN, hem de diğer kalibrasyon modellerinin tahmin güçlerinin karşılaştırılması sağlanmış oldu. Çizelge 4.15'te kurulan ANN modelleri ve modellerin karşılaştırma parametreleri özetlenmiştir.

Çizelge 4.15. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için üretilen ANN modelleri ve modellerinin karşılaştırma parametreleri

	Tahmin Edilen Tür	Çıkış Değeri	RMSEC	RMSEP	RMSECxRMSEP
ANN	Li^+	$[\text{Li}^+], [\text{Na}^+], [\text{K}^+]$	0.05318	0.1129	0.006004
		$[\text{Li}^+]$	0.0572	0.0836	0.004782
		$\log[\text{Li}^+], \log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+]$	0.0381	0.0459	0.001749
		$\log[\text{Li}^+]$	0.0422	0.0277	0.001169
	Na^+	$[\text{Li}^+], [\text{Na}^+], [\text{K}^+]$	0.0435	0.0237	0.001031
		$[\text{Na}^+]$	0.0407	0.0127	0.000517
		$\log[\text{Li}^+], \log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+]$	0.0300	0.0248	0.000744
		$\log[\text{Na}^+]$	0.0376	0.0225	0.000846
	K^+	$[\text{Li}^+], [\text{Na}^+], [\text{K}^+]$	0.0442	0.0170	0.000751
		$[\text{K}^+]$	0.0483	0.0163	0.000787
		$\log[\text{Li}^+], \log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+]$	0.0269	0.0242	0.000651
		$\log[\text{K}^+]$	0.0268	0.0235	0.000630

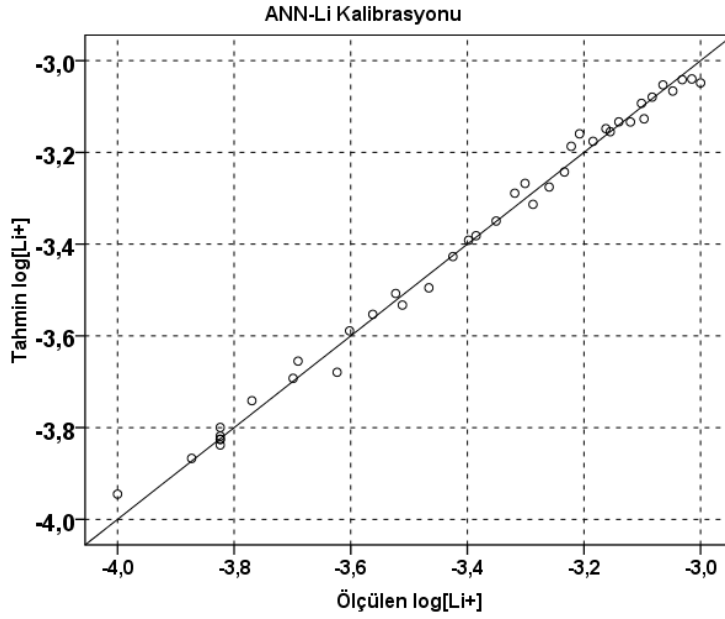
Li^+ tahmini için çıkış değeri olarak yalnızca $\log[\text{Li}^+]$ değerlerinin kullanıldığı ANN modelinin, en iyi tahmin gücüne sahip model olduğu görölmektedir. Li^+ için elde edilen bu ANN modelinin RMSECxRMSEP değerleri karşılaştırıldığında, doğrusal kalibrasyon modelleri olan MLR, PCR ve PLS'den daha iyi tahmin gücüne sahip olduğu anlaşılmaktadır. Kalibrasyon çözeltilerinde bulunan iyon konsantrasyonları ile (özellikle Na^+ iyonları) karşılaştırıldığında, Li^+ iyonlarının konsantrasyonları oldukça düşüktür. Girişim yapan iyonların varlığında ISE'lerin cevapları doğrusallıktan sapmaktadır. Bu durumda doğrusal olmayan bir teknik olan ANN kullanıldığında Li^+ için daha iyi tahmin sonuçları elde edilmesi şaşırtıcı değildir. Li^+ için oluşturulan ANN modelinin ağ yapısı Şekil 4.39'da, nöronlar arası ağırlıklar da Çizelge 4.16'da görölmektedir. ANN modelinin çözeltilerde mevcut olan Li^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi Şekil 4.40'da görölmektedir.



Şekil 4.39. Li^+ tahmini için oluşturulan ANN'nin yapısı

Çizelge 4.16. Li^+ tahmini için oluşturulan ANN modelinde nöronlar arasındaki ağırlıklar

Tahminci		Tahmin			
		Gizli Tabaka 1			Çıkış Tabakası
		H(1:1)	H(1:2)	H(1:3)	Log[Li+]
Giriş Tabakası	(Bias)	0.023	-0.526	-0.260	
	Li-1	0.169	-0.234	-0.113	
	Li-2	0.422	-0.271	-0.357	
	Na	-0.184	0.126	-0.217	
	K	-0.184	-0.230	0.328	
	G-1	0.006	0.150	0.386	
	G-2	-0.104	-0.045	-0.469	
Gizli Tabaka 1	(Bias)				-0.561
	H(1:1)				0.583
	H(1:2)				-0.855
	H(1:3)				-0.998

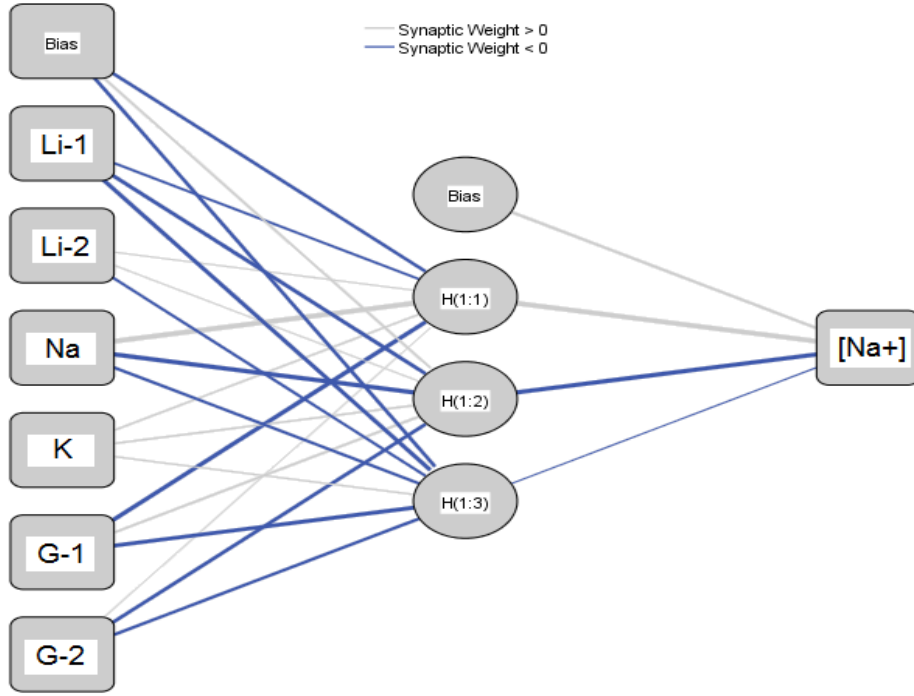


Şekil 4.40. Çözeltilerde bilinen Li^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen Li^+ miktarları

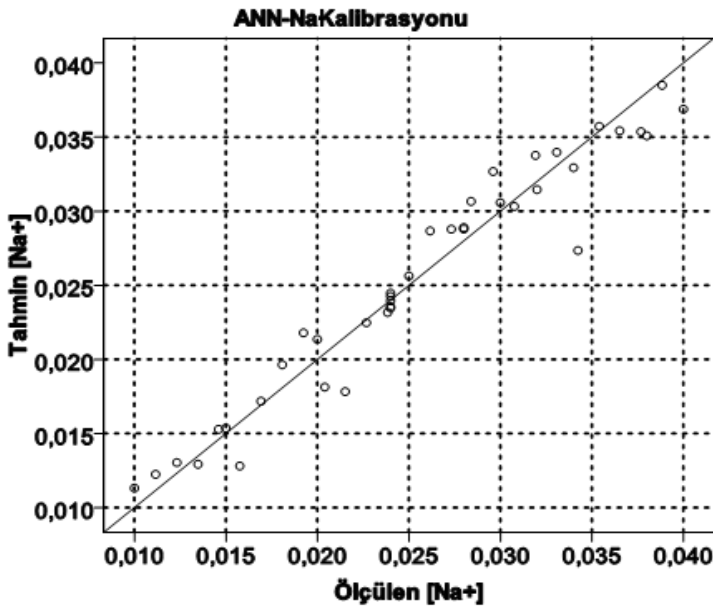
Na^+ tahmini için çıkış değeri olarak yalnızca $[\text{Na}^+]$ değerlerinin kullanıldığı ANN modelinin en iyi tahmin gücüne sahip model olduğu görülmektedir. Na^+ için elde edilen bu ANN modelinin RMSECxRMSEP değerleri karşılaştırıldığında, doğrusal kalibrasyon modelleri olan MLR, PCR ve PLS'den daha iyi tahmin gücüne sahip olduğu anlaşılmaktadır. Na^+ için oluşturulan ANN modelinin ağ yapısı Şekil 4.41'de, nöronlar arası ağırlıklar da Çizelge 4.17'de görülmektedir. ANN modelinin çözeltilerde mevcut olan Na^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi Şekil 4.42'de görülmektedir.

Çizelge 4.17. Na^+ tahmini için oluşturulan ANN modelinde nöronlar arasındaki ağırlıklar

Tahminci		Tahmin			
		Gizli Tabaka 1			Çıkış Tabakası
		H(1:1)	H(1:2)	H(1:3)	$[\text{Na}^+]$
Giriş Tabakası	(Bias)	-0.300	0.169	-0.326	
	Li-1	-0.203	-0.382	-0.445	0.000
	Li-2	0.079	0.054	-0.246	
	Na	1.201	-0.518	-0.265	
	K	0.118	0.165	0.103	
	G-1	-0.507	0.193	-0.446	
	G-2	0.035	-0.353	-0.297	
Gizli Tabaka 1	(Bias)				0.240
	H(1:1)				1.191
	H(1:2)				-0.511
	H(1:3)		0.000		-0.102



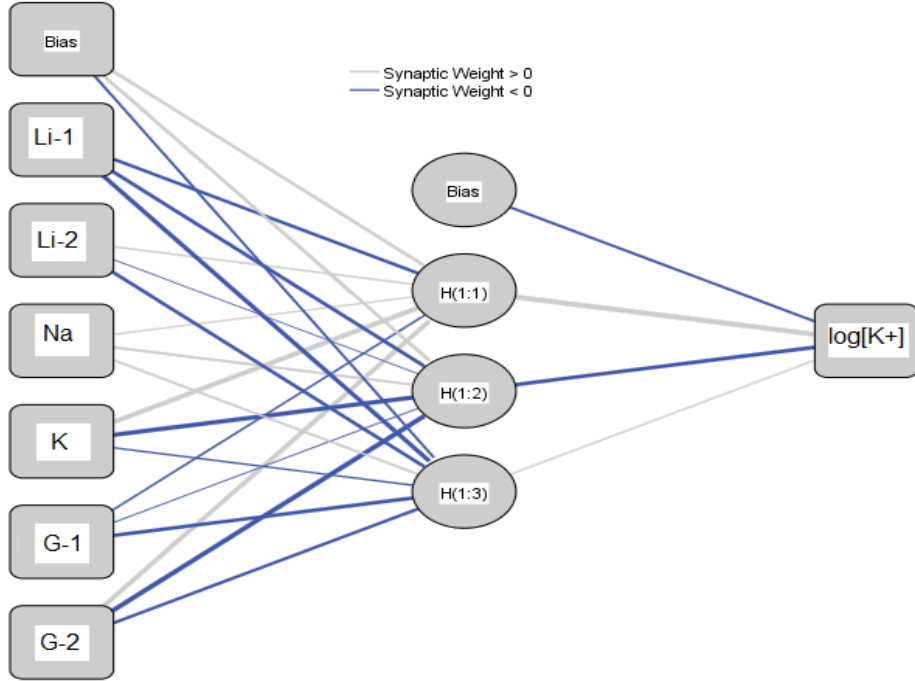
Şekil 4.41. Na^+ tahmini için oluşturulan ANN'nin yapısı



Şekil 4.42. Çözeltilerde bilinen Na^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen Na^+ miktarları

K^+ tahmini için çıkış değeri olarak yalnızca $\log[\text{K}^+]$ değerlerinin kullanıldığı ANN modelinin, en iyi tahmin gücüne sahip model olduğu görülmektedir. K^+ için elde edilen bu ANN modelinin RMSECxRMSEP değerleri diğer modellerle karşılaştırıldığında, PLS'nin daha iyi tahmin gücüne sahip olduğu anlaşılmaktadır. K^+ için oluşturulan ANN

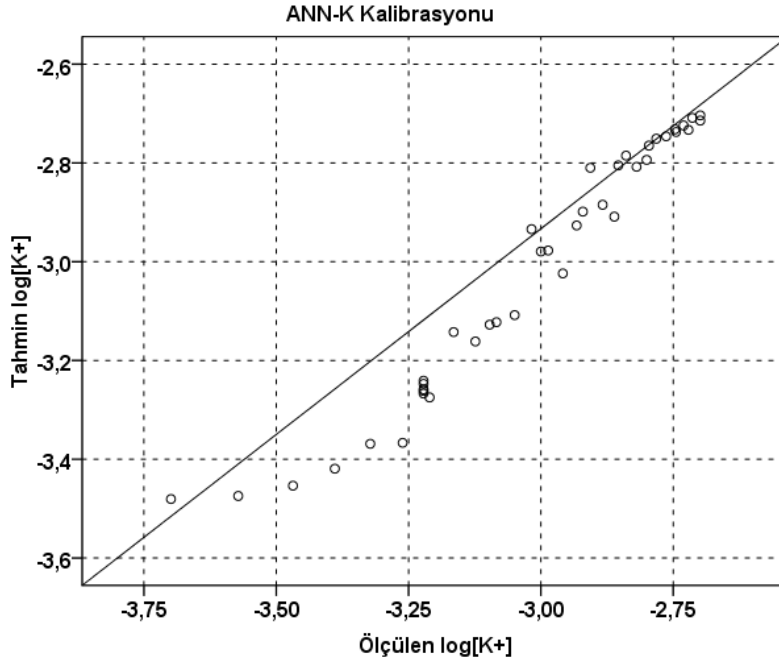
modelinin ağ yapısı Şekil 4.43'te, nöronlar arası ağırlıklar da Çizelge 4.18'de görülmektedir. ANN modelinin çözümlerde mevcut olan K^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi Şekil 4.44'de görülmektedir.



Şekil 4.43. K^+ tahmini için oluşturulan ANN'nin yapısı

Çizelge 4.18. K^+ tahmini için oluşturulan ANN modelinde nöronlar arasındaki ağırlıklar

Tahminci		Tahmin			
		Gizli Tabaka 1			Çıkış Tabakası
		H(1:1)	H(1:2)	H(1:3)	log[K ⁺]
Giriş Tabakası	(Bias)	0.298	0.306	-0.203	
	Li-1	-0.324	-0.351	-0.468	
	Li-2	0.124	-0.025	-0.343	
	Na	0.044	0.195	0.139	
	K	0.714	-0.800	-0.128	
	G-1	-0.138	-0.043	-0.357	
	G-2	0.430	-0.898	-0.320	
Gizli Tabaka 1	(Bias)				-0.245
	H(1:1)				1.112
	H(1:2)				-0.375
	H(1:3)				0.072



Şekil 4.44. Çözeltilerde bilinen K^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen K^+ miktarları

4.3.2. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ İyonlarının Potansiyometrik Sensör Dizisiyle Eşzamanlı Tayin Uygulaması

Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının eş zamanlı analizini gerçekleştirmek için 1'er adet Na^+ -seçici elektrot, K^+ -seçici elektrot, NH_4^+ -seçici elektrot ve 2 adet katyon duyarlı elektrot (dibenzo-18-Crown-6 temelli, G-1; monensin temelli, G-2) olmak üzere, toplam 5 adet elektrottan oluşan, potansiyometrik bir sensör dizisi kullanıldı.

Kalibrasyon ve test çözeltilerinin iyon bileşimleri daha önceki bölümde anlatıldığı gibi, deneysel tasarım kurallarına göre ayarlandı. Bu çözeltilerde Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının konsantrasyonları aralığı 10^{-4} - 10^{-2} M aralığında dağıtıldı. Kalibrasyon çözeltilerinin ve dış test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri Çizelge 4.19'da verilmiştir. Çözeltilerin hazırlanmasında deiyonize su yerine pH'sı 7.3 olan 10^{-2} M Tris-HCl çözeltisi kullanıldı. Kalibrasyon ve dış test seti çözeltilerine karşılık elektrotlardan okunan potansiyel değerleri de, sırasıyla Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.21'de verilmiştir. Kalibrasyon modellerinin belirlenmesinde daha önceki sensör dizisi kısmında anlatılan işlemler tekrarlanarak modellerin tahmin güçleri karşılaştırıldı.

Çizelge 4.19. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının eş zamanlı analizi için oluşturulan kalibrasyon seti ve test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri.

	Çözelti No	İYON KONSANTRASYONLARI		
		$\log[\text{Na}^+], \text{M}$	$\log[\text{K}^+], \text{M}$	$\log[\text{NH}_4^+], \text{M}$
KALİBRASYON SETİ	CS-1	-2.00	-2.00	-2.00
	CS-2	-2.07	-2.22	-2.70
	CS-3	-2.15	-2.46	-3.37
	CS-4	-2.22	-2.70	-2.07
	CS-5	-2.30	-2.92	-2.77
	CS-6	-2.40	-3.15	-3.46
	CS-7	-2.46	-3.37	-2.15
	CS-8	-2.52	-3.60	-2.85
	CS-9	-2.60	-3.82	-3.52
	CS-10	-2.70	-2.07	-2.22
	CS-11	-2.77	-2.30	-2.92
	CS-12	-2.85	-2.52	-3.60
	CS-13	-2.92	-2.77	-2.30
	CS-14	-3.00	-3.00	-3.00
	CS-15	-3.07	-3.22	-3.70
	CS-16	-3.15	-3.46	-2.40
	CS-17	-3.22	-3.70	-3.07
	CS-18	-3.30	-3.95	-3.76
	CS-19	-3.37	-2.15	-2.46
	CS-20	-3.46	-2.40	-3.15
	CS-21	-3.52	-2.60	-3.82
	CS-22	-3.60	-2.85	-2.52
	CS-23	-3.70	-3.07	-3.22
	CS-24	-3.76	-3.30	-3.95
	CS-25	-3.82	-3.52	-2.60
	CS-26	-3.95	-3.76	-3.30
	CS-27	-4.00	-4.00	-4.00
DIŞ TEST SETİ	TS-1a	-3.60	-2.22	-2.15
	TS-1b	-3.60	-2.22	-2.15
	TS-1c	-3.60	-2.22	-2.15
	TS-1d	-3.60	-2.22	-2.15
	TS-1e	-3.60	-2.22	-2.15
	TS-2	-3.95	-2.92	-3.82
	TS-3	-3.37	-3.76	-3.30
	TS-4	-3.00	-2.40	-2.40
	TS-5	-2.77	-3.07	-3.60
	TS-6	-3.22	-2.30	-3.00
	TS-7	-2.07	-3.82	-2.60
	TS-8	-2.46	-3.46	-3.37
	TS-9	-2.22	-3.00	-2.70

Çizelge 4.20. Kalibrasyon çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri

	Çözelti No	POTANSİYELLER, mV				
		ELEKTROTLAR				
		NH ₄ ⁺	Na	K	G-1	G-2
KALİBRASYON SETİ	CS-1	198	202	192	85.9	92.3
	CS-2	178	193	188	80.4	88.9
	CS-3	153	178	184	66.6	77.9
	CS-4	204	171	183	73.0	79.3
	CS-5	166	153	176	49.1	64.5
	CS-6	139	144	174	45.8	53.7
	CS-7	192	132	167	30.3	61.5
	CS-8	167	121	164	40.4	47.6
	CS-9	125	105	161	10.9	42.9
	CS-10	195	203	156	86.6	87
	CS-11	167	189	153	75.7	76.8
	CS-12	152	179	147	77.0	77.3
	CS-13	188	162	144	47.4	66.3
	CS-14	160	152	140	45.9	51.7
	CS-15	120	132	134	24.1	42.6
	CS-16	184	127	129	22.4	46.7
	CS-17	150	111	124	5.6	35.7
	CS-18	120	100	121	3.7	24.7
	CS-19	183	194	117	86.9	84.3
	CS-20	159	183	112	70.2	72.1
	CS-21	136	171	108	63.3	64.9
	CS-22	181	161	107	51.8	58.2
	CS-23	145	146	101	37.1	48.5
	CS-24	122	135	97.6	32	41.6
	CS-25	171	122	92.1	12.3	41.9
	CS-26	142	111	89.0	1.50	24.0
	CS-27	102	94.5	82.8	-13.8	16.3

Çizelge 4.21. Test çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri

DİŞ TEST SETİ	Çözelti No	POTANSİYELLER, mV				
		ELEKTROTLAR				
		NH ₄ ⁺	Na	K	G-1	G-2
	TS-1a	194	191	105	70.2	82.7
	TS-1b	195	191	106	67	82.8
	TS-1c	193	192	108	70.4	81.2
	TS-1d	193	188	106	65.8	85.5
	TS-1e	194	189	108	66.4	84.1
	TS-2	125	152	88.3	34.7	52.3
	TS-3	135	106	120	-2.5	31.1
	TS-4	183	180	139	59.2	75.0
	TS-5	128	141	151	30.7	56.4
	TS-6	162	184	129	61.5	77.5
	TS-7	170	107	189	19.8	60.4
	TS-8	132	122	168	16.5	47.9
	TS-9	166	146	180	35.2	62.2

4.3.2.1. MLR Modelleri ve Model Parametreleri

İlk olarak adımsal değişken seçimi tekniği kullanılarak, hangi elektrot kombinasyonlarının kullanışlı RMSEC değerleri üretebildiği tespit edildi. Değişken seçimine adımsal değişken seçimi tekniğine en iyi üç değişkeni (elektrot) seçtirerek başlandı ve sırasıyla bu üç değişkene geri kalan değişkenler teker teker eklenerek, yeni elektrot kombinasyonları oluşturuldu. Her elektrot kombinasyonu için model parametreleri hesaplandı. Her bir iyonik tür için hesaplanan model parametreleri Çizelge 4.22’de verilmiştir.

Çizelge 4.22. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen çoklu doğrusal regresyon modellerinin parametreleri

MLR	İyonlar	Elektrot Kombinasyonları	R ²	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
	log[Na ⁺]	Na, NH ₄ , G-2	0.998	0.0252	0.0296	0.0299	0.000753
		Na, NH ₄ , G-2, K	0.998	0.0222	0.0283	0.0426	0.000946
		Na, NH ₄ , G-2, K, G-1	0.997	0.0214	0.0302	0.0427	0.000914
	log[K ⁺]	K, G-1, NH ₄	0.997	0.033	0.0382	0.0463	0.001528
		K, G-1, NH ₄ , G-2	0.998	0.0294	0.0367	0.0275	0.000809
		K, G-1, NH ₄ , G-2, Na	0.998	0.0294	0.0395	0.0274	0.000806
	log[NH ₄ ⁺]	NH ₄ , G-1, K	0.975	0.1091	0.1283	0.0715	0.007801
		NH ₄ , G-1, K, Na	0.977	0.1039	0.1317	0.0704	0.007315
		NH ₄ , G-1, K, Na, G-2	0.977	0.1038	0.1402	0.0752	0.007806

4.3.2.2. PCR Modelleri ve Model Parametreleri

İteratif PCR kullanılarak seçilen elektrot kombinasyonları ve her bir elektrot kombinasyonu için hesaplanan PCR modellerinin parametreleri Çizelge 4.23'te verilmiştir.

Çizelge 4.23. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen PCR modellerinin parametreleri

	İyonlar	Elektrot Komb.	Temel Bileşen Sayısı	R ²	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
PCR	log[Na ⁺]	Na, NH ₄ , K	2	0.992	0.055	0.0664	0.0492	0.002706
			3	0.998	0.0253	0.0297	0.0275	0.000696
		Na, NH ₄ , K, G-2	2	0.992	0.0547	0.0665	0.0594	0.003249
			3	0.998	0.0228	0.0267	0.0349	0.000796
			4	0.998	0.0222	0.0283	0.0426	0.000946
		Na, NH ₄ , K, G-2, G-1	2	0.982	0.0786	0.0944	0.0903	0.007098
			3	0.998	0.0238	0.028	0.0311	0.000740
			4	0.998	0.0224	0.0266	0.0393	0.000880
	log[K ⁺]	K, G-1, NH ₄	2	0.972	0.0839	0.0947	0.1584	0.013290
			3	0.977	0.033	0.0382	0.0463	0.001528
		K, G-1, NH ₄ , G-2	2	0.971	0.0876	0.0991	0.1531	0.013412
			3	0.994	0.0403	0.0559	0.073	0.002942
			4	0.998	0.0294	0.0367	0.0275	0.000809
		K, G-1, NH ₄ , G-2, Na	2	0.959	0.117	0.1348	0.1383	0.016181
			3	0.98	0.076	0.089	0.116	0.008816
			4	0.997	0.0317	0.0375	0.0316	0.001002
	log[NH ₄ ⁺]	NH ₄ , G-1, G-2	2	0.972	0.1111	0.1275	0.886	0.098435
			3	0.975	0.1085	0.1285	0.0646	0.007009
		NH ₄ , G-1, G-2, Na	2	0.579	0.4241	0.4798	0.3521	0.149326
			3	0.971	0.1095	0.1311	0.1031	0.011290
			4	0.975	0.1081	0.1322	0.0755	0.008162
		NH ₄ , G-1, G-2, Na, K	2	0.408	0.4641	0.5328	0.5046	0.234185
			3	0.968	0.1148	0.136	0.1118	0.012835
			4	0.977	0.1046	0.1299	0.0609	0.006370

4.3.2.3. PLS Modelleri ve Model Parametreleri

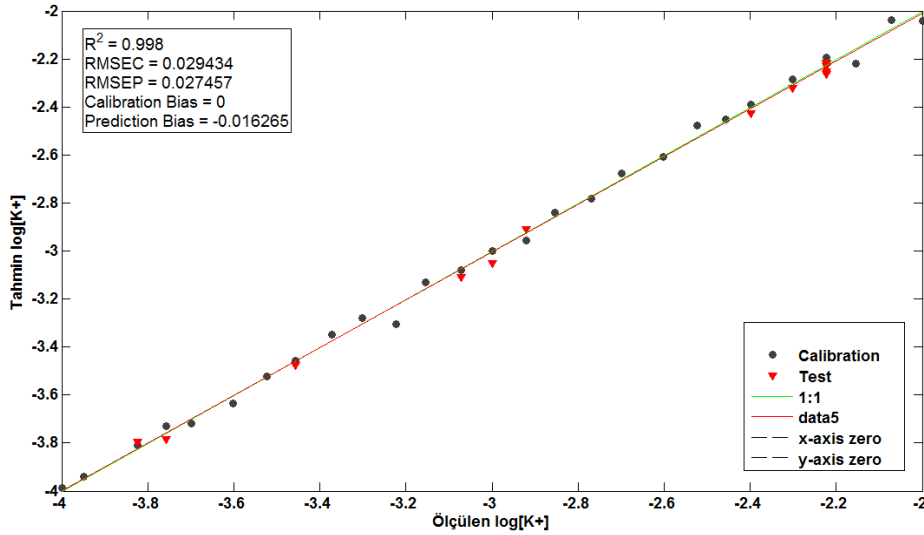
PLS kalibrasyon işlemine, iteratif PLS tekniğine değişken seçimi yaptırılarak başlandı. Seçilen elektrot kombinasyonları ve her elektrot kombinasyonu için hesaplanan model parametreleri Çizelge 4.24'te verilmiştir.

Çizelge 4.24. Elektrot kombinasyonları ve bunlara karşılık üretilen PLS modellerinin parametreleri

	İyonlar	Elektrot Komb.	Gizli Değişken Sayısı	R ²	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
PLS	log[Na ⁺]	Na, G-1, G-2	2	0.985	0.0686	0.0779	0.0989	0.006785
			3	0.989	0.0518	0.0599	0.0952	0.004931
		Na, G-1, G-2, NH ₄	2	0.985	0.0693	0.0815	0.0974	0.006750
			3	0.989	0.059	0.0708	0.0835	0.004927
			4	0.991	0.0475	0.0575	0.0821	0.003900
		Na, G-1, G-2, NH ₄ , K	2	0.98	0.0786	0.0923	0.114	0.008960
			3	0.986	0.0671	0.0801	0.0934	0.006267
			4	0.992	0.0465	0.0588	0.0801	0.003725
	log[K ⁺]	K, G-1, NH ₄	2	0.975	0.0789	0.09	0.1495	0.011796
			3	0.997	0.033	0.0382	0.0463	0.001528
		K, G-1, NH ₄ , G-2	2	0.974	0.0818	0.0936	0.1435	0.011738
			3	0.997	0.0313	0.0366	0.042	0.001315
			4	0.998	0.0294	0.0367	0.0275	0.000809
		K, G-1, NH ₄ , G-2, Na	2	0.978	0.0819	0.0951	0.1123	0.009197
			3	0.983	0.0705	0.0836	0.1085	0.007649
			4	0.998	0.03	0.0385	0.0263	0.000789
	log[NH ₄ ⁺]	NH ₄ , G-1, G-2	2	0.973	0.1108	0.1274	0.0868	0.009617
			3	0.975	0.1085	0.1285	0.0646	0.007009
		NH ₄ , G-1, G-2, K	2	0.964	0.1241	0.1318	0.0995	0.012348
			3	0.972	0.1093	0.1298	0.1012	0.011061
			4	0.975	0.1081	0.1322	0.0755	0.008162
		NH ₄ , G-1, G-2, K, Na	2	0.951	0.1244	0.1569	0.1712	0.021297
			3	0.969	0.1132	0.1348	0.1061	0.012011
			4	0.977	0.104	0.1347	0.0665	0.006916

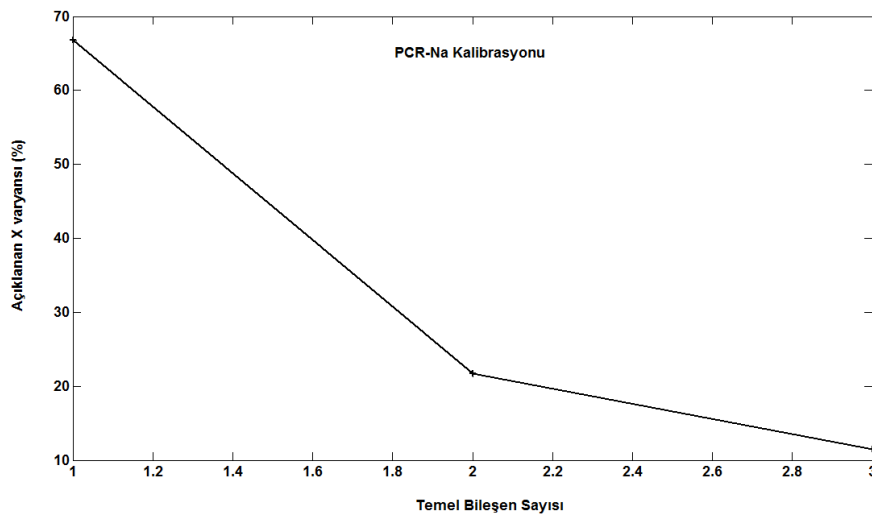
Ayrıca, tüm Y değişkenleri, tüm elektrotlardan okunan cevaplarla birlikte aynı model üzerinde kullanılarak PLS modelleri (PLS2) oluşturuldu. Ancak literatürde de ifade edildiği gibi; PLS2 ile elde edilen modellerin tahmin güçleri çalışmada kullanılan PLS tekniğiyle elde edilen modellerin tahmin güçlerinden daha zayıftı. Bu nedenle, PLS modelleri kurulurken bundan sonraki çalışmalarda PLS2 tercih edilmemiştir.

K⁺ için çok değişkenli doğrusal kalibrasyon modelleri arasında en iyi tahmin gücüne sahip model, sensör dizisinde bulunan tüm elektrotların potansiyelleri kullanılarak oluşturulan MLR modeli olmuştur. Çözeltilerde bilinen K⁺ iyonu konsantrasyonlarına karşılık, MLR modeli ile tahmin edilen K⁺ iyonu konsantrasyonları Şekil 4.45'te görülmektedir.

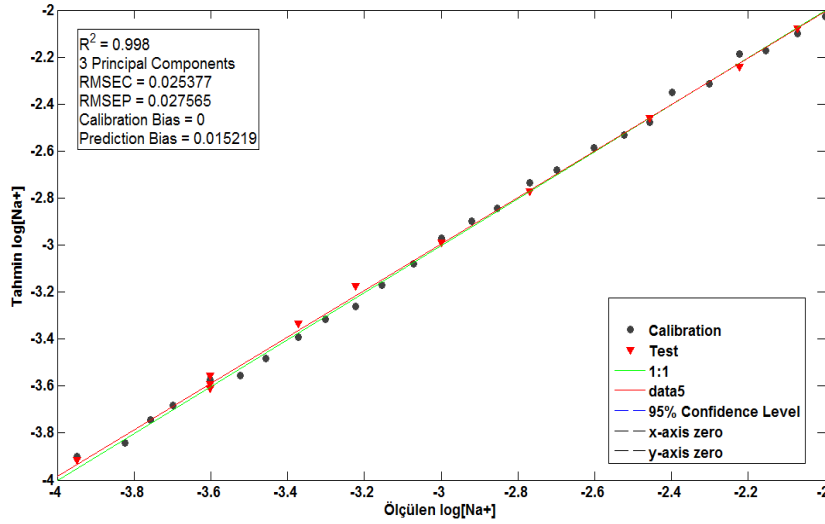


Şekil 4.45. Çözeltilerde bilinen K^+ miktarına karşılık MLR modeli ile tahmin edilen K^+ miktarları

Na^+ için en iyi modelin; Na^+ , K^+ ve NH_4^+ -seçici elektrot kombinasyonu için 3 temel bileşen üzerinden hesaplanan PCR modeli olduğu görülmektedir. Şekil 4.46'da görüldüğü gibi 3 temel bileşen X varyansının çok büyük bir yüzdesini açıklamak için yeterli olmaktadır. Na^+ tahmini için oluşturulan PCR modelinin gerek kalibrasyon çözeltilerinde, gerekse test çözeltilerinde mevcut olan Na^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi Şekil 4.47'de görülmektedir. Grafik incelendiğinde, modelin aynı yollarla hazırlanan aynı iyon bileşimine sahip çözeltilerde, birbirine yakın tahmin değerleri ürettiği görülmektedir. Bu durum, çözelti hazırlamadan kaynaklanan hataların kalibrasyon doğrusunun eğilimini önemli derecede etkilemediğini göstermektedir.

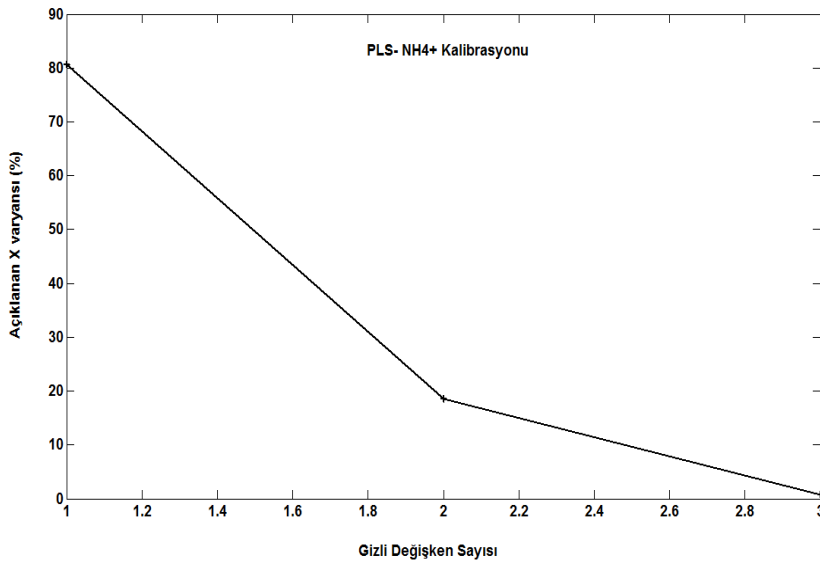


Şekil 4.46. Temel bileşen sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri

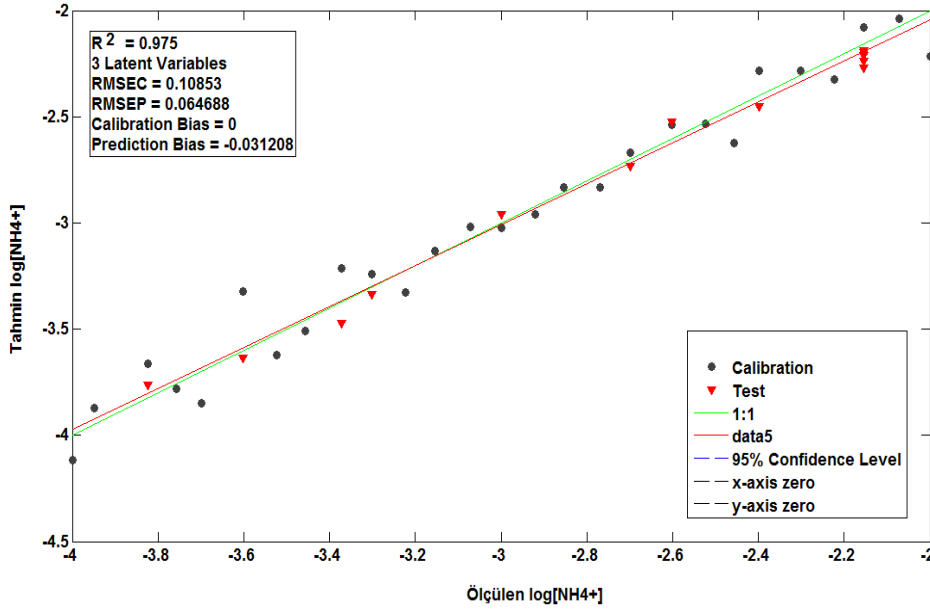


Şekil 4.47. Çözeltilerde bilinen Na^+ miktarına karşılık PCR modeli ile tahmin edilen Na^+ miktarları

NH_4^+ tahmini için en iyi modelin; G-1, G-2 ve NH_4^+ -seçici elektrot kombinasyonu için 3 gizli değişken üzerinden hesaplanan PLS modeli olduğu görülmektedir. Yine aynı elektrot kombinasyonu için hesaplanan MLR modelinin de benzer sonuçlar verdiği görülmektedir. Şekil 4.48'de görüldüğü gibi, 3 gizli değişken X varyansının çok büyük bir yüzdesini açıklamak için yeterli olmaktadır. NH_4^+ tahmini için oluşturulan PCR modelinin gerek kalibrasyon çözeltilerinde, gerekse test çözeltilerinde mevcut olan NH_4^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi Şekil 4.49'da görülmektedir.



Şekil 4.48. Temel bileşen sayısına göre X varyansının açıklanan yüzdeleri



Şekil 4.49. Çözeltilerde bilinen NH_4^+ miktarına karşılık PLS modeli ile tahmin edilen NH_4^+ miktarları

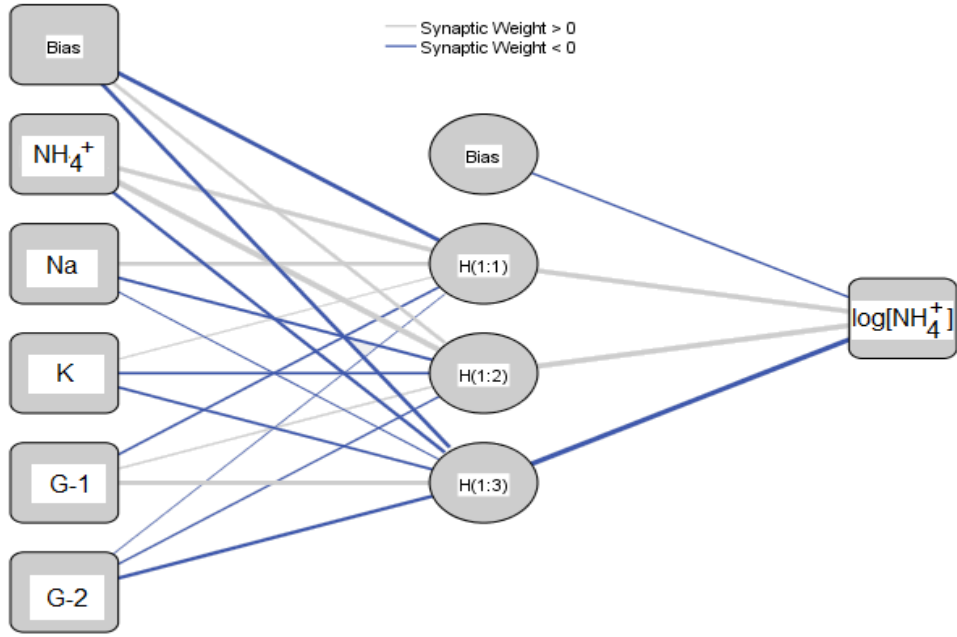
Yukarıda ifade edilen tüm çok değişkenli doğrusal kalibrasyon işlemleri, zamanla elektrot potansiyellerinde meydana gelen kaymanın düzeltildiği, düzeltilmiş potansiyel değerleri kullanılarak da gerçekleştirildi. Bunun için, her çözelti ölçümünden önce bir referans çözeltide ölçüm alındı. Referans çözelti herbir iyonun 10^{-6} M içermekte olup, pH'sı 7.3 olan 10^{-2} M Tris-HCl kullanılarak hazırlandı. Çözeltilerde okunan potansiyel değerlerinden referans çözeltide okunan potansiyel değerleri çıkarılarak düzeltilmiş potansiyel değerleri elde edildi. Düzeltilmiş potansiyeller kullanılarak oluşturulan kalibrasyon modellerinin tahmin güçlerinde herhangi bir iyileşme olmadığı gibi, daha kötü tahmin sonuçları elde edilmiştir. Bu durum elektrot potansiyellerinde zamanla meydana gelen kaymaların, ölçümlerin tekrarlanabilirliği yanında önemli olmadığını göstermektedir. Burada kullanılan referans çözeltide iyon konsantrasyonları çok düşüktür. Seyreltik çözeltilerde, özellikle de yabancı iyonların bulunduğu seyreltik çözeltilerde, ISE'lerin dengeye gelme süreleri oldukça uzun olup, elektrotların tekrarlanabilirliğinde bir düşüş göze çarpmaktadır. Bu tür çözeltiler referans alındığında, çözeltilerdeki ölçüm tekrarlanabilirlikleri potansiyellerin farkı alındığından dolayı, doğrudan derişik çözeltilerde alınan ölçümlerin tekrarlanabilirliği olmaktadır. Bu nedenle, elektrotlarda zamanla meydana gelen potansiyel kaymasını düzeltmede kullanılan bu yöntem kullanışlı olmamaktadır.

4.3.2.4. ANN Modelleri ve Model Parametreleri

Bir önceki sensör dizisi uygulamasındaki ANN modelleri oluşturma basamakları, bu sensör dizisinde de Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının tahmininde uygulandı ve benzer şekilde model parametreleri elde edildi. Modeller ve modellerin tahmin güçlerini karşılaştırmada kullanılan parametreler Çizelge 4.25'te verilmiştir. Elde edilen ANN modelleri, çok değişkenli doğrusal kalibrasyon modelleriyle karşılaştırıldığında, Na^+ ve K^+ iyonları tahmininde kullanılan ANN modellerinin tümünün tahmin güçlerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Ancak NH_4^+ tahmini için çıkış değeri olarak yalnızca $\log[\text{NH}_4^+]$ değerlerinin kullanıldığı ANN modelinin, tüm çok değişkenli doğrusal kalibrasyon modellerinden daha iyi tahmin gücüne sahip olduğu görülmektedir. NH_4^+ -seçici elektrot sensör dizisinde yer alan iyon seçici elektrotlar arasında seçiciliği en düşük olan elektrottur. Özellikle K^+ iyonunun yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ortamlarda, elektrotun potansiyometrik cevabı önemli ölçüde değişmekte, girişim yapıcı iyonların etkisiyle doğrusallıktan sapmaktadır. ANN doğrusal olmayan bir kalibrasyon modeli ürettiğinden, NH_4^+ iyonları için daha doğru tahminler yapılmasını sağlamaktadır. NH_4^+ iyonu için oluşturulan ANN modelinin ağ yapısı Şekil 4.50'de, nöronlar arası ağırlıklar da Çizelge 4.26'da görülmektedir. ANN modelinin çözeltilerde mevcut olan NH_4^+ iyonu miktarlarını tahmin etme derecesi Şekil 4.51'de görülmektedir.

Çizelge 4.25. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının tahmini için üretilen ANN modelleri ve modellerinin karşılaştırma parametreleri

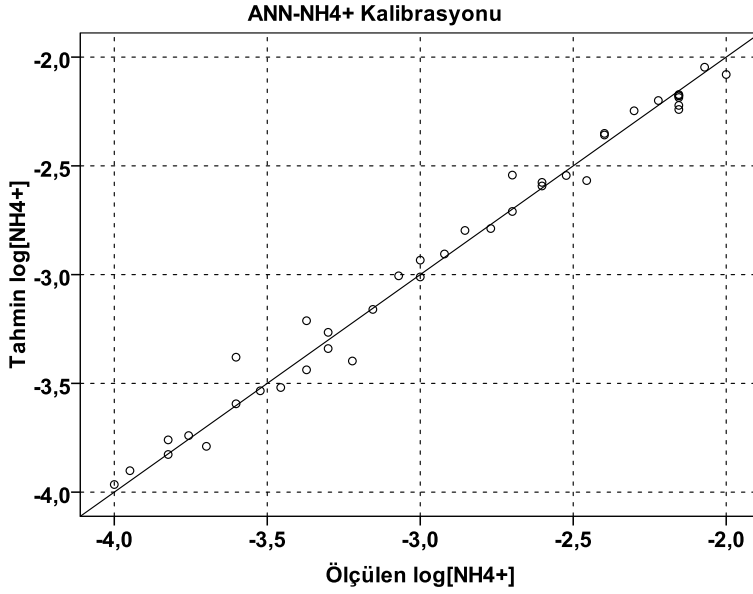
	Tahmin Edilen Tür	Çıkış Değeri	RMSEC	RMSEP	RMSECx RMSEP
ANN	Na^+	$[\text{Na}^+], [\text{K}^+], [\text{NH}_4^+]$	-	-	-
		$[\text{Na}^+]$	0.1318	0.1376	0.018136
		$\log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+], \log[\text{NH}_4^+]$	0.0422	0.0448	0.001890
		$\log[\text{Na}^+]$	0.0434	0.0256	0.001110
	K^+	$[\text{Na}^+], [\text{K}^+], [\text{NH}_4^+]$	-	-	-
		$[\text{K}^+]$	-	-	-
		$\log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+], \log[\text{NH}_4^+]$	0.0444	0.0537	0.002385
		$\log[\text{K}^+]$	0.0630	0.0342	0.002159
	NH_4^+	$[\text{Na}^+], [\text{K}^+], [\text{NH}_4^+]$	-	-	-
		$[\text{NH}_4^+]$	0.2451	0.1553	0.038072
		$\log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+], \log[\text{NH}_4^+]$	0.0710	0.0610	0.004333
		$\log[\text{NH}_4^+]$	0.0828	0.0456	0.003776



Şekil 4.50. NH_4^+ tahmini için oluşturulan ANN'nin yapısı

Çizelge 4.26. NH_4^+ tahmini için oluşturulan ANN modelinde nöronlar arasındaki ağırlıklar

Tahminci		Tahmin			
		Gizli Tabaka 1			Çıkış Tabakası
		H(1:1)	H(1:2)	H(1:3)	$\log[\text{NH}_4^+]$
Giriş Tabakası	(Bias)	-0.505	0.253	-0.355	
	NH_4^+	0.509	0.998	-0.289	
	Na	0.370	-0.224	-0.019	
	K	0.015	-0.177	-0.224	
	G-1	-0.149	0.065	0.555	
	G-2	-0.005	-0.098	-0.354	
Gizli Tabaka 1	(Bias)				-0.141
	H(1:1)				0.688
	H(1:2)				0.844
	H(1:3)				-0.809



Şekil 4.51. Çözeltilerde bilinen NH_4^+ miktarına karşılık modelle tahmin edilen NH_4^+ miktarları

4.4. AEA’da Sensör Dizilerinin Kemometrik Yöntemlerle Kalibrasyon Uygulaması

Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının AEA’da eş zamanlı analizini gerçekleştirmek için 2 adet Li^+ -seçici elektrot (Li-1 ve Li-2), 1 adet Na^+ -seçici elektrot, 1 adet K^+ -seçici elektrot ve 2 adet katyon duyarlı elektrot (monensin temelli, G-1; dibenzo-18-Crown-6 temelli, G-2) olmak üzere toplam 6 adet elektrottan oluşan, potansiyometrik bir sensör dizisi oluşturuldu.

Bu sensör dizisinde, daha önce aynı iyonların durgun ortamda kalibrasyonlarının gerçekleştirildiği kalibrasyon seti ve test seti çözeltileri (Çizelge 4.9) kullanıldı. Bu çözeltiler içerisinde 10^{-6} M Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonları içeren ve pH’sı 7.2 olan 10^{-2} M Tris-HCl hareketli fazının içerisine enjekte edilerek pik yükseklikleri kaydedildi. Ölçümler, daha önce elektrotların hareketli ortam performans özellikleri araştırılırken belirlenmiş olan optimum koşullar altında alındı. Buna göre; hareketli fazın akış hızı 1.2 mL/dk, örnek enjeksiyon hacmi de 25 μL olarak seçildi. Bu koşullar altında kalibrasyon çözeltilerinin enjeksiyonu ile elektrotlardan elde edilen pik yükseklikleri Çizelge 4.27’de, dış test seti çözeltilerinin enjeksiyonuyla elde edilen pik yükseklikleri de Çizelge 4.28’de verilmiştir.

Çizelge 4.27. Kalibrasyon çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri

	Çözelti No	PİK YÜKSEKLİKLERİ, mV					
		ELEKTROTLAR					
		Li-1	Li-2	Na	K	G-1	G-2
KALİBRASYON SETİ	CS-1	5.3	5.7	96.2	91	68.2	25.9
	CS-2	10.9	10.8	108	109	71.3	33
	CS-3	12.8	12	122	121	79.6	41.8
	CS-4	13.3	13.7	123	100	73	36.2
	CS-5	10.3	10.7	120	103	73.5	34.9
	CS-6	15.7	15.3	131	119	78.3	42.6
	CS-7	14.9	15.1	128	94	78.7	36.2
	CS-8	18.7	19.1	142	118	90.6	49.5
	CS-9	17.4	17.1	136	119	85.8	47.5
	CS-10	10.8	15.2	113	98	79.6	32.2
	CS-11	10.4	13.7	113	106	76.5	33.5
	CS-12	18.2	21.7	120	118	79.6	39.3
	CS-13	17.4	21.5	126	95	79.2	36.6
	CS-14	12.7	15.8	128	108	79.2	39.8
	CS-15	14.9	17.3	123	109	77.9	36.9
	CS-16	18.9	21.9	134	93	84	42.9
	CS-17	17.6	20.5	130	103	82.7	40.3
	CS-18	23.1	25.9	140	120	87.1	48
	CS-19	15.5	22.8	109	84	79.6	28.6
	CS-20	15.3	21.4	119	112	78.3	37.1
	CS-21	13.8	18.9	121	114	84.9	38.4
	CS-22	17.9	24.7	126	84	78.7	45.6
	CS-23	15.5	20.4	106	85	71.7	28.6
	CS-24	18.6	23.2	126	110	81.4	40.7
	CS-25	19.6	25	136	81	82.7	40.3
	CS-26	21.3	26.4	139	107	86.2	35.5
	CS-27	19	23.6	121	99	76.5	34.1

Elde edilen pik yükseklikleri kalibrasyon modellerinin girdileri olarak kullanıldı. Daha önceki sensör dizilerindeki kalibrasyon uygulamalarında olduğu gibi; MLR, PCR, PLS ve ANN modelleri oluşturuldu. Herbir iyon için elde edilen en iyi MLR modelleri ve tahmin parametreleri Çizelge 4.29’da, PCR modelleri ve model parametreleri Çizelge 4.30’da, PLS modelleri ve model parametreleri de Çizelge 4.31’de verilmiştir.

Çizelge 4.28. Test çözeltilerinde yapılan ölçümlerde elektrotlardan okunan potansiyel değerleri

DİŞ TEST SETİ	Çözelti No	PİK YÜKSEKLİKLERİ, mV					
		ELEKTROTLAR					
		Li-1	Li-2	Na	K	G-1	G-2
	TS-1a	15.8	14.8	130	101	83.1	40.1
	TS-1b	13.2	12.7	125	96	77.9	35.8
	TS-1c	15.9	15.1	129	100	81.8	39.3
	TS-1d	13	11.5	117	89	74.3	31.4
	TS-1e	17	15.8	131	102	80.9	38.5
	TS-2	11	12.8	103	99	66	25.8
	TS-3	17.3	19.3	130	115	84.5	41.7
	TS-4	18.2	18.5	133	116	84.5	44.3
	TS-5	19	21.4	135	120	85.8	45.6
	TS-6	18.8	22.4	129	100	80.5	37.4
	TS-7	23	27.7	137	119	85.3	45.1
	TS-8	22.3	27.5	136	120	88.8	47.5
	TS-9	19.3	23.8	132	121	80.9	42.6

Çizelge 4.29. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için elde edilen en iyi MLR modelleri ve model parametreleri

MLR	İyonlar	Elektrot Kombinasyonları	R^2	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
	$\log[\text{Li}^+]$	Li-1, Li-2, K, Na, G-1	0.81	0.0904	0.119	0.1585	0.014328
	$\log[\text{Na}^+]$	Na, G-1, Li-1	0.765	0.0827	0.0999	0.0586	0.004846
	$\log[\text{K}^+]$	K, G-1, G-2	0.808	0.1045	0.1191	0.0694	0.007252

Çizelge 4.30. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için elde edilen en iyi PCR modelleri ve model parametreleri

PCR	İyonlar	Elektrot Kombinasyonları	Temel Bileşen Sayısı	R^2	RMS EC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
	$\log[\text{Li}^+]$	Li-2 Li-1 K Na G-1	3	0.704	0.1248	0.1480	0.2464	0.030751
	$\log[\text{Na}^+]$	Na Li-1 G-1 Li-2 G-2	4	0.634	0.0849	0.1066	0.0564	0.004788
	$\log[\text{K}^+]$	K G-1 G-2 Li-1 Li-2 Na	3	0.762	0.1125	0.1326	0.057	0.006413

Çizelge 4.31. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için elde edilen en iyi PLS modelleri ve model parametreleri

PLS	İyonlar	Elektrot Kombinasyonları	Gizli Değişken Sayısı	R^2	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
	$\log[\text{Li}^+]$	Li-2, Li-1, K, Na, G-1	4	0.716	0.0909	0.1487	0.1588	0.014435
	$\log[\text{Na}^+]$	Na, Li-1, G-1, Li-2	2	0.573	0.0846	0.1160	0.0569	0.004814
	$\log[\text{K}^+]$	K, G-1, G-2, Li-1, Li-2, Na	3	0.784	0.1041	0.1263	0.0568	0.005912

Daha önceki sensör dizilerinde kullanılan koşullar seçilerek bu sensör dizisinde de farklı kalibrasyon yaklaşımları kullanılarak ANN modelleri türetildi ve bu modellerin tahmin güçleri karşılaştırıldı. Herbir iyonik tür için elde edilen kalibrasyon modelleri ve model parametreleri Çizelge 4.32’de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.32. Li^+ , Na^+ ve K^+ iyonlarının tahmini için elde edilen ANN modelleri ve model parametreleri

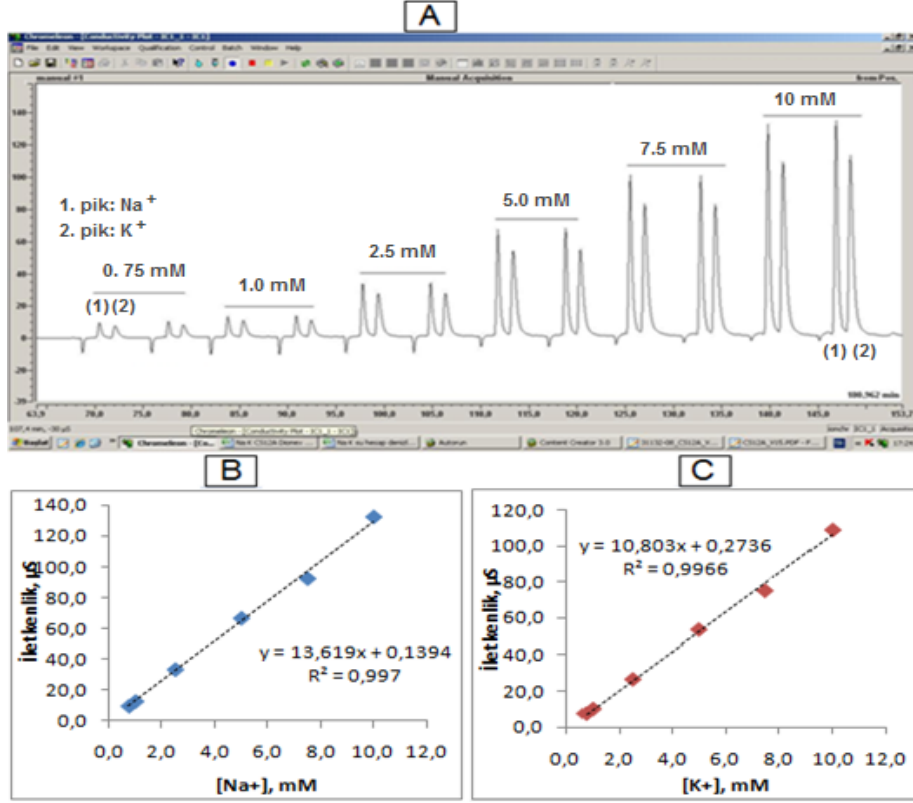
	Tahmin Edilen Tür	Çıkış Değeri	RMSEC	RMSEP	RMSECx RMSEP
ANN	Li^+	$[\text{Li}^+], [\text{Na}^+], [\text{K}^+]$	-	-	-
		$[\text{Li}^+]$	0.1216	0.1212	0.014735
		$\log[\text{Li}^+], \log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+]$	0.0626	0.1161	0.007265
		$\log[\text{Li}^+]$	0.1605	0.0894	0.014347
	Na^+	$[\text{Li}^+], [\text{Na}^+], [\text{K}^+]$	0.1042	0.0630	0.006572
		$[\text{Na}^+]$	0.0773	0.0623	0.004820
		$\log[\text{Li}^+], \log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+]$	0.0611	0.0520	0.003176
		$\log[\text{Na}^+]$	0.0932	0.0683	0.006365
	K^+	$[\text{Li}^+], [\text{Na}^+], [\text{K}^+]$	0.1301	0.0622	0.008089
		$[\text{K}^+]$	0.0882	0.0507	0.004473
		$\log[\text{Li}^+], \log[\text{Na}^+], \log[\text{K}^+]$	0.0933	0.0629	0.005867
		$\log[\text{K}^+]$	0.0787	0.0723	0.005691

Elde edilen kalibrasyon modelleri karşılaştırıldığında Li^+ tahmini için en iyi modelin Li-1, Li-2, K, Na ve G-1 elektrotları kullanılarak elde edilen MLR modeli olduğu görülmektedir. Na^+ tahmini için en iyi modelin $\log[\text{Li}^+]$, $\log[\text{Na}^+]$ ve $\log[\text{K}^+]$ değerlerinin birlikte ANN’nin çıktıları olarak kullanımıyla elde edilen model olduğu görülmektedir. K^+ iyonu tahmininde ise en iyi modelin, $[\text{K}^+]$ değerlerinin tek olarak ANN’nin çıktısı olarak seçildiği ANN modeli olduğu görülmektedir.

Burada dikkat çekici nokta, AEA uygulamasında elde edilen modellerin tahmin güçlerinin durgun ortam ölçümleriyle karşılaştırıldığında daha düşük olmasıdır. Bu durum elektrotların hareketli ortamda iyon karışım çözeltilerindeki davranışlarının durgun ortama göre önemli derecede farklılaştığını göstermektedir. Enjekte edilen çözeltinin elektrotla kısa süreli teması nedeniyle denge potansiyeline ulaşamaması ve ortamdaki girişim yapıcı türlerin ana iyonun elektrot yüzeyine taşınma süresini uzatması bu davranış farklılığının temel sebebidir. Ayrıca, elektrot yüzeyinin hareketli faz tarafından sürekli olarak yıkanması, membran aktif bileşenlerinin membrandan akmasına, dolayısıyla elektrotların potansiyometrik davranışlarının zamanla değişmesine sebep olmaktadır. Bu durum, sensör dizilerinde son derece önemli olan ölçümlerin tekrarlanabilirliğini düşürmektedir.

4.5. Sensör Dizilerinin Gerçek Numune Analizlerinde Uygulamaları

4.5.1.Durgun Ortamda Gerçek Numune Analizi



Şekil 4.52. (A) Na^+ ve K^+ iyonlarının standart çözeltileri için iyon kromatografide elde edilen pikler (B) IC’de Na^+ için elde edilen kalibrasyon grafiği (C) IC’de K^+ için elde edilen kalibrasyon grafiği

İlk olarak su numunelerinin Na^+ , K^+ , Cl^- ve NO_3^- içerikleri kromatografik yöntemle belirlendi. Çünkü, sensör dizisinin kalibrasyonunu gerçekleştirmede kullanılacak kalibrasyon seti çözeltilerinin deneysel tasarıma uygun olarak hazırlanabilmesi için, su numunelerinde bu iyonların hangi konsantrasyon aralıklarında bulunduğunu bilmek önem arz etmektedir. Daha duyarlı ve doğru ölçümler elde etmek amacıyla iyon kromatografik analizlerden önce su numunelerinin su içeriklerinin bir kısmı buharlaştırılarak, numunelere bir ön deriştirme işlemi uygulandı. Na^+ ve K^+ iyonları için 0.75-10 mM konsantrasyon aralığındaki standart çözeltilerinden elde edilen pikler ve ilgili kalibrasyon grafikleri Şekil 52’de gösterilmiştir.

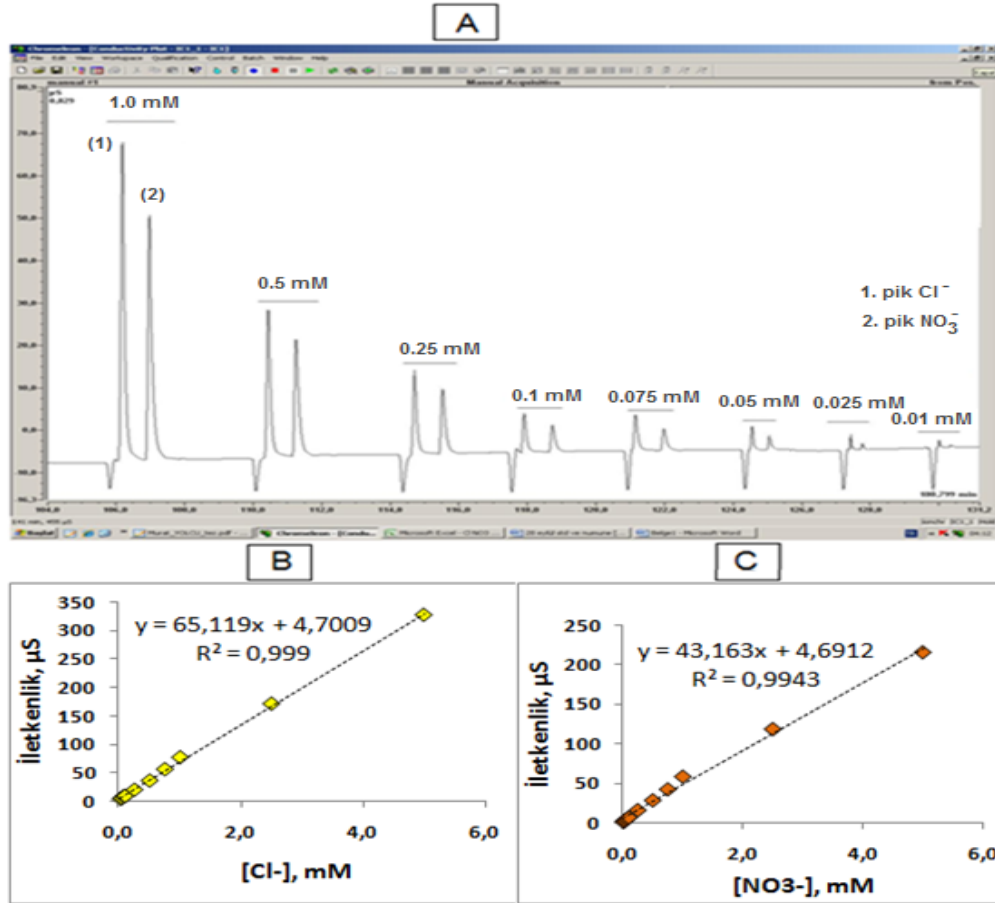
Na^+ ve K^+ iyonları için Şekil 4.52’de verilen kalibrasyon grafikleri kullanılarak, su numunelerinin Na^+ ve K^+ içerikleri hesaplandı. Bu hesaplamalarla ilgili ayrıntılı sayısal bilgiler Çizelge 4.33’te görülmektedir.

Çizelge 4.33. İyon kromatografisi tekniği kullanılarak su numunelerinde hesaplanan Na^+ ve K^+ iyonu miktarları

Numune	Çözelti Hacmi, mL ^a	Deriştirme Faktörü ^b	Na^+ Pik Yüksekliği, μS	Hesaplanan $[\text{Na}^+]$, mM	K^+ Pik Yüksekliği, μS	Hesaplanan $[\text{K}^+]$, mM
SU-1	8.3	6.02	28.3	0.36	3.2	0.045
SU-2	4.5	11.11	77.8	0.54	3.4	0.026
SU-3	6.0	8.33	131.5	1.22	7.2	0.077
SU-4	4.4	11.36	54.6	0.37	3.3	0.024
SU-5	6.8	7.35	43.9	0.46	3.1	0.035
SU-6	9.8	5.10	92.5	1.40	2.0	0.031
SU-7	3.8	13.16	22.4	0.13	3.7	0.024
SU-8	5.9	8.47	38.6	0.35	1.9	0.018
SU-9	7.5	6.67	48.5	0.56	1.8	0.021

^aBaşlangıçta 50 mL alınan su numuneleri deriştirildiğine geride kalan su hacmi

^bAnaliz edilen deriştirilmiş su numunelerindeki iyon içeriğini gerçek su numunelerinin iyon içeriklerine dönüştürmek için kullanılan katsayı



Şekil 4.53. (A) NO_3^- ve Cl^- iyonlarının standart çözeltileri için iyon kromatografide elde edilen pikler (B) IC'de Cl^- için elde edilen kalibrasyon grafiği (C) IC'de NO_3^- için elde edilen kalibrasyon grafiği (5 mM standart enjeksiyona karşılık elde edilen pikler verilmemiştir)

NO_3^- ve Cl^- iyonları için 0.01-5.0 mM konsantrasyon aralığındaki standart çözeltilerden elde edilen pikler ve ilgili kalibrasyon grafikleri Şekil 4.53'te verilmiştir.

NO_3^- ve Cl^- iyonları için elde edilen kalibrasyon grafikleri kullanılarak, su numunelerinin NO_3^- ve Cl^- içerikleri hesaplandı. Bu hesaplamalarla ilgili ayrıntılı sayısal bilgiler Çizelge 4.34'te verilmiştir.

Çizelge 4.34. İyon kromatografisi tekniği kullanılarak su numunelerinde hesaplanan NO_3^- ve Cl^- iyonu miktarları

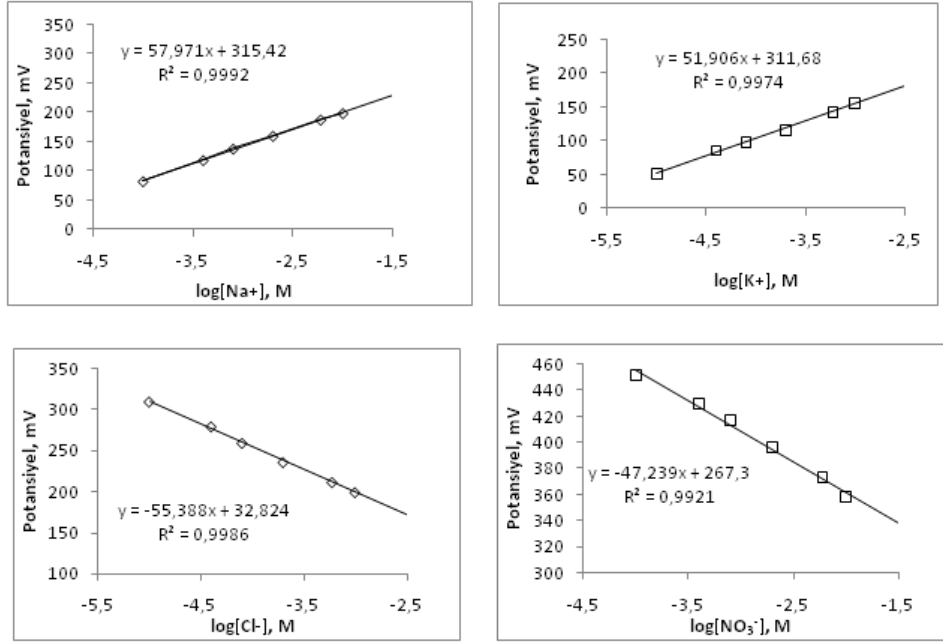
Numune	Çözelti Hacmi, mL ^a	Deriştirme Faktörü ^b	Cl^- Pik Yüksekliği, μS	Hesaplanan $[\text{Cl}^-]$, mM	NO_3^- Pik Yüksekliği, μS	Hesaplanan $[\text{NO}_3^-]$, mM
SU-1	8.3	6.02	112.8	0.28	148.2	0.552
SU-2	4.5	11.11	189.6	0.26	90.9	0.180
SU-3	6.0	8.33	140.1 ^c	2.08	14.1	0.026
SU-4	4.4	11.36	194.4	0.26	221.1	0.441
SU-5	6.8	7.35	203.4	0.41	151.2	0.462
SU-6	9.8	5.10	206.7	0.61	303	1.355
SU-7	3.8	13.16	30	0.03	54	0.087
SU-8	5.9	8.47	561	1.01	62.3 ^c	1.344
SU-9	7.5	6.67	99.9	0.22	128.7	0.431

^aBaşlangıçta 50 mL alınan su numuneleri deriştirildiğine geride kalan su hacmi

^bAnaliz edilen deriştirilmiş su numunelerindeki iyon içeriğini gerçek su numunelerinin iyon içeriklerine dönüştürmek için kullanılan katsayı

^cDeriştirme işlemi uygulanmadan doğrudan numune enjeksiyonuyla elde edilen pik

İyon kromatografik analizlerden sonra, tek değişkenli klasik kalibrasyonla kalibre edilen ilgili iyon-seçici elektrot tek başına kullanılarak, su numunelerindeki her bir iyonik türün tayini gerçekleştirildi. Herbir iyon-seçici elektrotun ilgili ana iyonun standart çözeltileriyle kalibrasyonundan elde edilen kalibrasyon grafikleri Şekil 4.54'te toplu olarak görülmektedir. Elektrotlardan okunan potansiyel değerleri ve bu değerlere karşılık hesaplanan iyon konsantrasyonları da Çizelge 4.35'te verilmiştir.



Şekil 4.54. Na⁺, K⁺, Cl⁻ ve NO₃⁻ iyonları için ilgili iyon-seçici elektrot kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafikleri

Çizelge 4.35. ISE'lerden okunan potansiyel değerleri ve bu değerlere karşılık tek değişkenli klasik kalibrasyon kullanılarak hesaplanan iyon konsantrasyonları

Numune	Na ⁺ -Seçici Elektrot		K ⁺ -Seçici Elektrot		Cl ⁻ -Seçici Elektrot		NO ₃ ⁻ -Seçici Elektrot	
	Potansiyel, mV	[Na ⁺], mM	Potansiyel, mV	[K ⁺], mM	Potansiyel, mV	[Cl ⁻], mM	Potansiyel, mV	[NO ₃ ⁻], mM
SU-1	118	0.393	101	0.087	207	0.717	411	0.908
SU-2	131	0.659	87	0.047	214	0.536	437	0.256
SU-3	155	1.709	118	0.186	169	3.479	475	0.040
SU-4	115	0.349	89	0.051	214	0.536	416	0.712
SU-5	129	0.608	95	0.067	216	0.493	414	0.784
SU-6	156	1.778	93	0.061	207	0.717	398	1.711
SU-7	97	0.171	81	0.036	279	0.036	443	0.191
SU-8	119	0.409	81	0.036	184	1.865	400	1.552
SU-9	133	0.713	84	0.041	214	0.536	423	0.506

Su numunelerinin sensör dizisi kullanılarak analizinde ilk olarak deneysel tasarım çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerdeki iyon konsantrasyonları, standart karşılaştırma yöntemi olarak kullanılan iyon kromatografik analizlerden elde edilen iyon konsantrasyonlarını kapsayacak aralıklarda hazırlandı. Deneysel tasarım 3 seviyeli 2 faktörlü ful faktöriyel deneysel tasarıma göre gerçekleştirildi. Bu nedenle, deney seti toplam 9 adet çözeltilerden meydana geldi ($3^2=9$). Ayrıca kalibrasyon modellerinin

validasyonu ve testi için de 9 adet test seti çözeltisi kullanıldı. Çözeltilerin hazırlanmasından kaynaklanan hataların önemli olup olmadığını gözlemlemek için 1 numaralı test seti çözeltisinden aynı yollarla hazırlanan 3 adet çözeltide iyonların tahmini gerçekleştirildi. Kalibrasyon parametrelerinin validasyonu için çapraz geçerlilik ve dış test seti validasyonu kullanıldı. Zamanla potansiyellerde meydana gelen kaymanın ölçümlere etkisini azaltmak için, 5 numaralı kalibrasyon çözeltisinde herbir elektrottan okunan potansiyel değerleri referans kabul edildi. Her bir çözelti ölçümünden önce 5 numaralı kalibrasyon çözeltisinde ölçümler alınarak okunan potansiyeller kaydedildi. 5 numaralı çözeltide okunan potansiyel değerleri, bu çözeltiden sonraki çözeltide okunan potansiyel değerlerinden çıkarılarak kalibrasyon ve analiz işlemlerinde kullanılan yeni potansiyel değerleri elde edildi. Daha önceki tecrübelerden hareketle, potansiyel kaymasından kaynaklanan etkiyi azaltmak için, referans çözelti olarak seyreltik çözelti tercih edilmemiştir. 5 numaralı çözelti ölçülen iyonlar dikkate alındığında her bir iyonun en yüksek konsantrasyonunu içeren optimum kalibrasyon çözeltisidir. Seyreltik çözeltinin referans çözelti olarak seçilmesinin yol açtığı dezavantajlar daha önceki uygulama bölümlerinde ifade edilmiştir. Kalibrasyon ve test seti çözeltilerinin iyon içerikleri, bu çözeltilere karşılık elektrotlardan okunan düzeltilmiş potansiyel değerleri Çizelge 4.36'da toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.36. Na^+ , K^+ , Cl^- ve NO_3^- iyonlarının eş zamanlı analizi için kullanılan deney seti ve dış test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri ve bu çözeltilere karşılık elektrotlardan okunan potansiyel değerleri

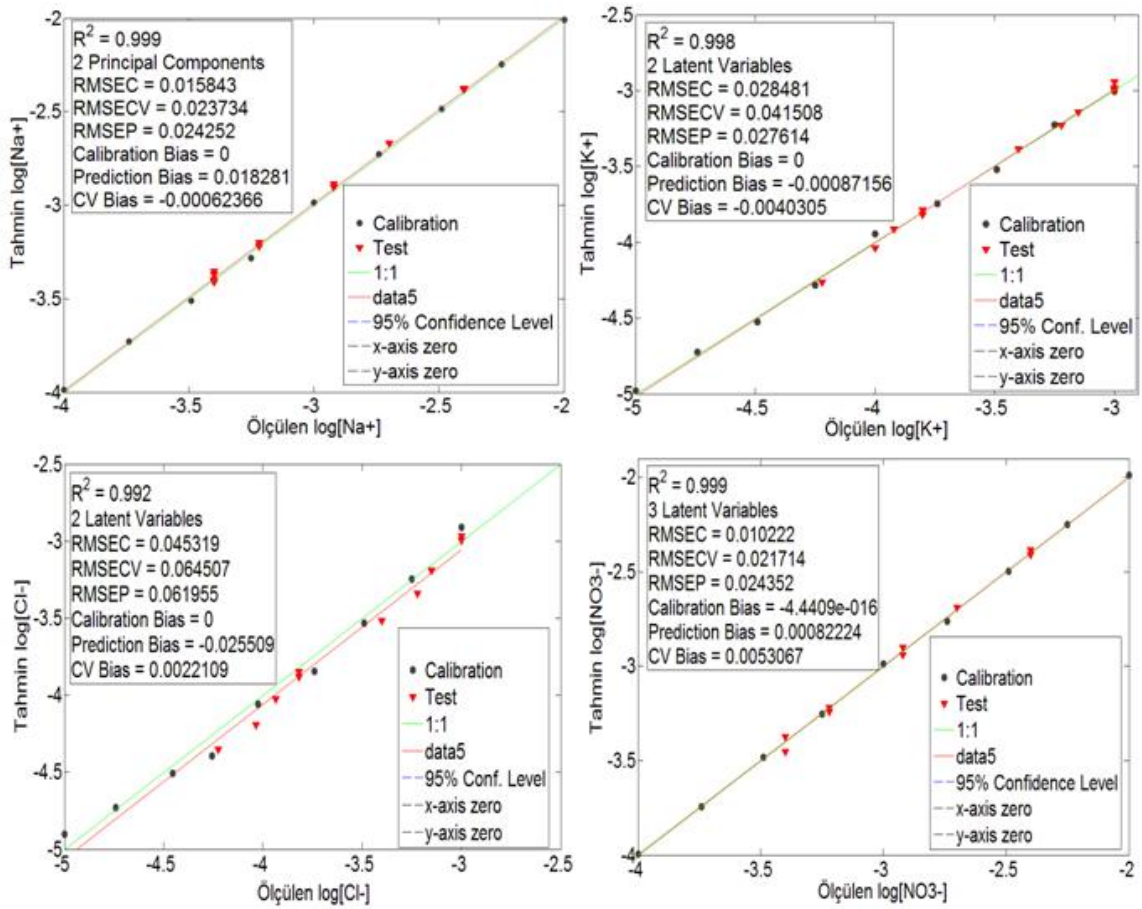
	Çözelti No	İYON KONS.		POTANSİYELLER, mV						
		$\log[\text{Na}^+]$	$\log[\text{K}^+]$	Na	K	GK (Dibenzo)	NO_3	Cl-1	Cl-2, (Ag/AgCl)	GA (TDDA-Br)
		$\log[\text{NO}_3^-]$	$\log[\text{Cl}^-]$							
KALİBRASYON SETİ	CS-1	-4.00	-4.49	-51	-28	-34	50	10	3	53
	CS-2	-3.74	-3.74	-38	12	7	40	-8	-13	41
	CS-3	-3.49	-3.00	-27	50	48	25	-43	-55	26
	CS-4	-3.25	-4.74	-15	-40	-28	13	15	33	14
	CS-5	-3.00	-4.00	0	0	0	0	0	0	0
	CS-6	-2.74	-3.25	13	37	34	-15	-29	-41	-14
	CS-7	-2.49	-5.00	26	-55	-10	-29	21	41	-28
	CS-8	-2.25	-4.25	38	-19	5	-43	13	14	-42
	CS-9	-2.00	-3.49	50	20	29	-58	-20	-27	-57
DIŞ TEST SETİ	TS-1a	-3.40	-3.00	-19	53	48	23	-37	-53	22
	TS-1b	-3.40	-3.00	-20	51	47	21	-40	-53	21
	TS-1c	-3.40	-3.00	-22	50	47	21	-40	-53	21
	TS-2	-3.40	-4.00	-21	-4	-6	22	5	6	24
	TS-3	-2.40	-4.22	31	-18	2	-34	7	15	-33
	TS-4	-2.40	-3.22	31	36	36	-36	-22	-39	-35
	TS-5	-2.92	-3.80	5	8	7	-5	-4	-9	-5
	TS-6	-2.92	-3.40	4	29	26	-3	-17	-30	-3
	TS-7	-3.22	-3.80	-12	7	5	12	-4	-7	13
	TS-8	-3.22	-3.92	-11	2	-1	13	4	0	13
	TS-9	-2.70	-3.15	16	41	39	-17	-33	-42	-17

Kalibrasyondan önce potansiyel değerlerine ortalama merkezileştirme ön işlemi uygulandı. Farklı elektrot kombinasyonlarına karşılık MLR, PCR ve PLS çok değişkenli kalibrasyon modelleri oluşturuldu ve model parametreleri kullanılarak tahmin güçleri karşılaştırıldı. En iyi tahmin gücüne sahip modeller kullanılarak, su numunelerinin iyon içerikleri belirlendi. ANN, çok sayıda kalibrasyon seti çözeltisi gerektirdiğinden dolayı, bu analiz uygulamasında kullanılamamıştır.

Na^+ iyonu için en iyi tahmin gücüne sahip model, Na^+ ve K^+ seçici elektrotların kullanımıyla 2 temel bileşen üzerinden gerçekleştirilen PCR modeli olmuştur. PCR modeli tüm temel bileşenler modele dahil edilmiş olduğundan aynı elektrot kombinasyonu için MLR ile aynı sonuçları vermektedir. Modelde 1. temel bileşen X varyansının % 49.46'sını, Y varyansının % 99.72'sini açıklarken; 2. temel bileşen de X

varyansının % 50.54'ünü, Y varyansının da % 0.22'sini açıklayabilmektedir. Modelin tahmin gücünü gösteren grafik Şekil 4.55'te görülmektedir.

K^+ iyonu için en iyi tahmin gücüne sahip model Na^+ ve K^+ seçici elektrotların kullanımıyla 2 gizli değişken üzerinden gerçekleştirilen PLS modeli olmuştur. Modelde 1. gizli değişken X varyansının % 50.98'ini, Y varyansının % 99.59'unu açıklarken; 2. gizli değişken de X varyansının % 49.02'sini, Y varyansının da % 0.21'ini açıklayabilmektedir. Modelin tahmin gücünü gösteren grafik Şekil 4.55'te görülmektedir.



Şekil 4.55. Na^+ , K^+ , Cl^- ve NO_3^- iyonları için oluşturulan en iyi tahmin gücüne sahip modeller ve çözeltilerde iyonların bilinen miktarlarına karşılık modellerle tahmin edilen miktarlarının karşılaştırması

NO_3^- iyonu için en iyi tahmin gücüne sahip model NO_3^- , Cl^- ve GA elektrotların kullanımıyla 3 gizli değişken üzerinden gerçekleştirilen PLS modeli olmuştur. Modelde 1. gizli değişken X varyansının % 71.35'ini, Y varyansının % 99.90'ını; 2. gizli değişken X varyansının % 28.35'ini, Y varyansının % 0.00'ını; 3. gizli değişken X

varyansının % 0.30'unu Y varyansının % 0.00'ını açıklayabilmektedir. Modelin tahmin gücünü gösteren grafik Şekil 4.55'te görülmektedir.

Cl⁻ iyonu için en iyi tahmin gücüne sahip model Cl-1 ve Cl-2 elektrotların kullanımıyla 2 gizli değişken üzerinden gerçekleştirilen PLS modeli olmuştur. Modelde 1. Gizli değişken X varyansının % 99.68'ini, Y varyansının % 98.57'sini açıklarken; 2. gizli değişken de X varyansının % 0.32'sini, Y varyansının da % 0.93'ünü açıklayabilmektedir. Modelin tahmin gücünü gösteren grafik Şekil 4.55'te görülmektedir

Belirlenen en iyi çok değişkenli doğrusal kalibrasyon modelleri aracılığıyla Çizelge 4.37'de verilen ve su numunelerine karşılık elektrotlardan okunan potansiyel değerleri kullanılarak, bahsedilen iyonların analizleri gerçekleştirildi. İyonların sensör dizisi kullanılarak tahmin edilen miktarları Çizelge 4.37'de görülmektedir.

Çizelge 4.37. Su numunelerinde okunan elektrot potansiyelleri ve bu potansiyel değerlerine karşılık çok değişkenli kalibrasyon teknikleriyle hesaplanan iyon konsantrasyonları

Su Numuneleri	Potansiyel, mV							Belirlenen İyon Konsantrasyonu, mM			
	Na	K	GK	NO3	Cl-1	Cl-2	GA	[Na ⁺]	[K ⁺]	[Cl ⁻]	[NO ₃]
SU-1	-25	-10	-33	8	-19	-26	10	0.332	0.069	0.310	0.613
SU-2	-12	-30	-35	40	-14	-25	38	0.594	0.029	0.346	0.228
SU-3	1	-2	-15	77	-40	-61	79	1.070	0.103	1.659	0.035
SU-4	-25	-23	-37	19	-20	-25	17	0.331	0.039	0.279	0.544
SU-5	-15	-22	-31	18	-25	-30	14	0.520	0.041	0.331	0.670
SU-6	4	-16	-23	-12	-32	-40	-5	1.220	0.056	0.515	0.916
SU-7	-43	-31	-48	52	8	20	52	0.147	0.026	0.034	0.120
SU-8	-26	-26	-44	-5	-34	-48	-8	0.316	0.034	0.835	1.580
SU-9	-16	-27	-36	16	-12	-19	21	0.496	0.033	0.245	0.343

Son olarak; iyon kromatografi sonuçları referans alınarak, hem elektrotların tek başına klasik kalibrasyonu ile elde edilen analiz sonuçlarının hem de çok değişkenli kalibrasyon modelleriyle birlikte sensör dizisinden elde edilen analiz sonuçlarının hata yüzdeleri hesaplandı. Hesaplanan % hata değerleri Çizelge 4.38'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, sensör dizisi ile birlikte çok değişkenli veri analiz teknikleri kullanımının, tek bir elektrotla yapılan klasik analizle karşılaştırıldığında hata yüzdeleri önemli derecede azalttığı görülmektedir.

Çizelge 4.38. IC sonuçları referans alındığında, direkt ölçüm ve sensör dizisi ölçümleriyle gerçekleştirilen analizlerin hata yüzdeleri

Su Numuneleri	[Na ⁺] % hata		[K ⁺] % hata		[Cl ⁻] % hata		[NO ₃ ⁻] % hata	
	Direkt Ölçüm	Sensör Dizisi	Direkt Ölçüm	Sensör Dizisi	Direkt Ölçüm	Sensör Dizisi	Direkt Ölçüm	Sensör Dizisi
SU-1	9.2	-7.8	94.0	53.3	156.1	10.8	64.5	11.1
SU-2	22.0	10.0	80.5	12.3	106.2	33.0	42.2	26.7
SU-3	40.2	-12.3	141.6	33.8	67.3	-20.2	54.2	33.5
SU-4	-5.7	-10.5	113.7	61.7	106.2	7.5	61.5	23.4
SU-5	32.2	13.0	91.2	18.0	20.2	-19.3	69.7	45.0
SU-6	27.1	-12.9	97.5	80.0	17.5	-15.5	26.2	-32.4
SU-7	31.5	13.1	49.8	9.6	19.7	11.8	119.5	37.9
SU-8	16.9	-9.7	99.8	88.3	84.2	-17.3	15.3	17.6
SU-9	27.3	-11.4	95.6	57.6	143.6	11.4	17.4	-20.4

4.5.2. Hareketli Ortamda Gerçek Numune Analizi

Su numunelerinin sensör dizisi kullanılarak analizinde ilk olarak deneysel tasarım çözeltileri hazırlandı. Deneysel tasarım 3 seviyeli 3 faktörlü ful faktöriyel deneysel tasarıma göre gerçekleştirildi. Bu nedenle deney seti 27 adet çözeltiden oluşmuştur ($3^3=27$). Çözeltilerde; Na⁺ iyonu konsantrasyonu 2.5×10^{-2} - 5.0×10^{-4} M aralığında, K⁺ iyonu konsantrasyonu 5.0×10^{-4} - 10^{-5} M aralığında, NH₄⁺ iyonu konsantrasyonu da 5.0×10^{-5} - 5.0×10^{-6} M aralığında olacak şekilde ayarlandı. Ayrıca kalibrasyon modellerinin validasyonu ve testi için de 13 adet test seti çözeltisi kullanılmıştır. Çözeltilerin hazırlanmasından kaynaklanan hataların önemli olup olmadığını gözlemlemek için 1 numaralı test seti çözeltisinden aynı yollarla hazırlanan 5 adet çözeltide iyonların tahmini gerçekleştirildi. Tüm çözeltilerin hazırlanmasında deiyonize su yerine, pH'sı 7.3 olan 10^{-2} M Tris-HCl çözeltisi kullanıldı. Kalibrasyon parametrelerinin validasyonu için çapraz geçerlilik ve dış test seti validasyonu kullanıldı. Kalibrasyon seti çözeltilerinin iyon içerikleri Çizelge 4.39'da, dış test seti çözeltilerinin iyon bileşimlerinde Çizelge 4.40'ta verilmiştir.

Çizelge 4.39. Hareketli ortamda su numunelerinde Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının analizi için kullanılan kalibrasyon seti çözeltilerinin iyon bileşimleri

KALİBRASYON SETİ	Çözelti No	İYON KONSANTRASYONLARI		
		$\log[\text{Na}^+], \text{M}$	$\log[\text{K}^+], \text{M}$	$\log[\text{NH}_4^+], \text{M}$
	CS-1	-1.6	-4.67	-4.3
	CS-2	-1.67	-4.93	-4.65
	CS-3	-1.73	-5.16	-5
	CS-4	-1.79	-4	-4.41
	CS-5	-1.86	-4.2	-4.76
	CS-6	-1.93	-4.43	-5.11
	CS-7	-2	-3.3	-4.53
	CS-8	-2.06	-3.52	-4.9
	CS-9	-2.12	-3.76	-5.22
	CS-10	-2.2	-4.76	-4.33
	CS-11	-2.26	-5	-4.69
	CS-12	-2.32	-5.2	-5.03
	CS-13	-2.4	-4.06	-4.46
	CS-14	-2.46	-4.3	-4.81
	CS-15	-2.52	-4.52	-5.15
	CS-16	-2.58	-3.37	-4.56
	CS-17	-2.65	-3.6	-4.92
	CS-18	-2.73	-3.86	-5.26
	CS-19	-2.77	-4.82	-4.37
	CS-20	-2.86	-5.06	-4.73
	CS-21	-2.9	-5.3	-5.07
	CS-22	-2.97	-4.16	-4.49
	CS-23	-3.03	-4.36	-4.84
	CS-24	-3.12	-4.6	-5.19
	CS-25	-3.16	-3.46	-4.6
	CS-26	-3.25	-3.7	-4.95
	CS-27	-3.3	-3.9	-5.3

Çizelge 4.40. Hareketli ortamda su numunelerinde Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının analizinde validasyon için kullanılan dış test seti çözeltilerinin iyon bileşimleri

DIŞ TEST SETİ	Çözelti No	İYON KONSANTRASYONLARI		
		$\log[\text{Na}^+], \text{M}$	$\log[\text{K}^+], \text{M}$	$\log[\text{NH}_4^+], \text{M}$
	TS-1a	-1.9	-4.6	-4.52
	TS-1b	-1.9	-4.6	-4.52
	TS-1c	-1.9	-4.6	-4.52
	TS-1d	-1.9	-4.6	-4.52
	TS-1e	-1.9	-4.6	-4.52
	TS-2	-1.73	-4.73	-4.9
	TS-3	-2.06	-3.43	-5.2
	TS-4	-1.95	-4.3	-4.43
	TS-5	-1.73	-4.9	-4.73
	TS-6	-1.6	-3.6	-5.12
	TS-7	-2.9	-3.9	-4.35
	TS-8	-3.0	-4.12	-4.6
	TS-9	-3.2	-3.9	-5.06

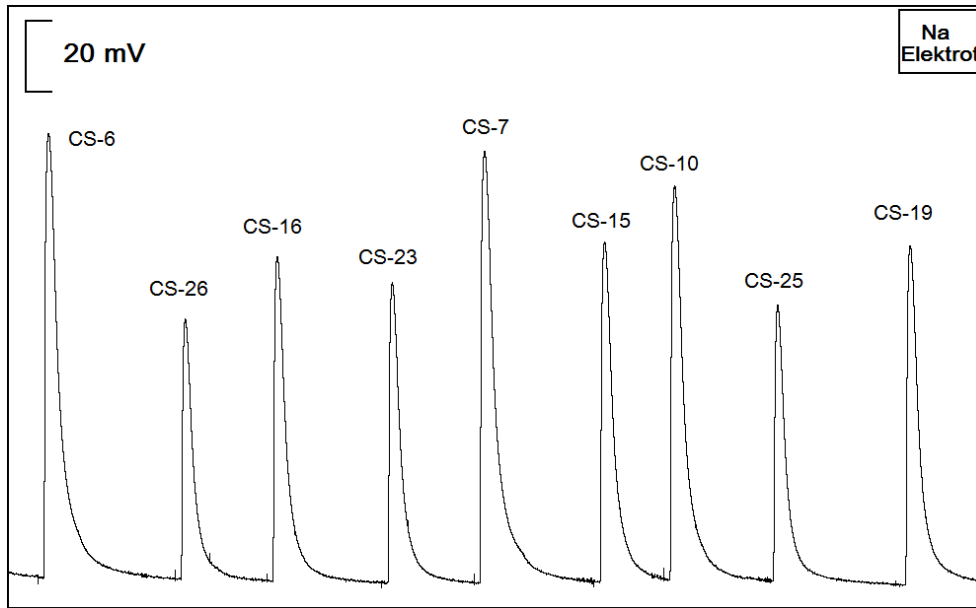
Kalibrasyon seti ve dış test seti çözeltilerine karşılık, Na^+ , K^+ , NH_4^+ , G-1 ve G-2 elektrotlarda gözlemlenen piklerin bir bölümü sırasıyla Şekil 4.56, Şekil 4.57, Şekil 4.58, Şekil 4.59 ve Şekil 4.60'ta görülmektedir. Tüm kalibrasyon seti çözeltilerine karşılık sensör dizisindeki elektrotlardan elde edilen pik yükseklikleri Çizelge 4.41'de, dış test çözeltilerine karşılık elektrotlardan elde edilen pik yükseklikleri de Çizelge 4.42'de verilmiştir.

Çizelge 4.41. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının hareketli ortamda analizi için kullanılan sensör dizisinde kalibrasyon seti çözeltilerinin enjeksiyonuna karşılık elektrotlardan okunan pik yükseklikleri

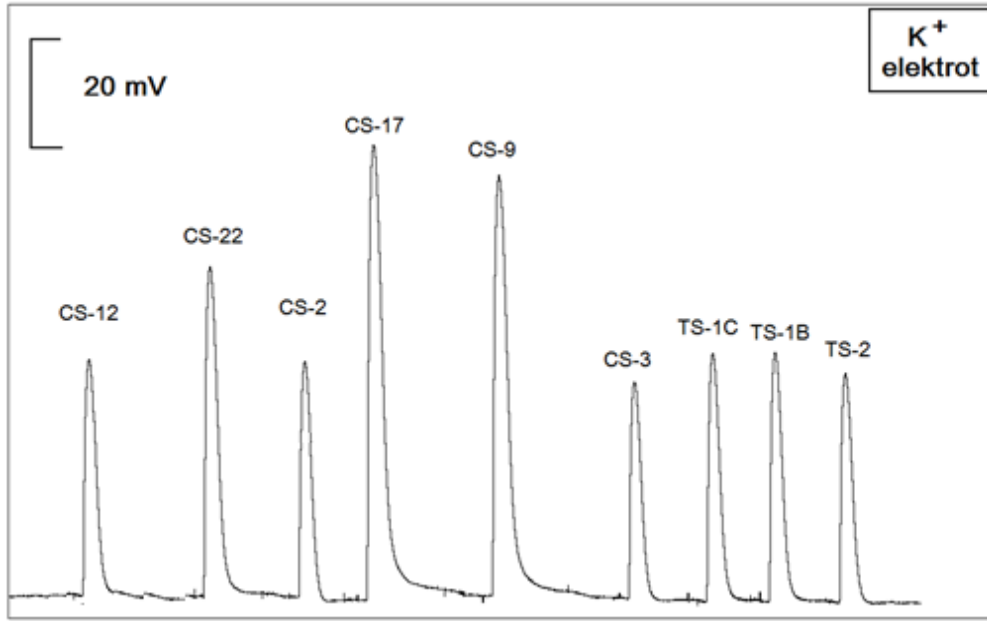
	Çözelti No	PİK YÜKSKLİKLERİ, mV				
		ELEKTROTLAR				
		Na	K	NH_4	G-1 (monensin)	G-2 (dibenzo)
KALİBRASYON SETİ	CS-1	143	48.9	81.8	89.1	41.5
	CS-2	139	41.6	82.6	84.9	37.6
	CS-3	137	40.2	80.2	81.1	34.8
	CS-4	134	64.5	72.8	83.5	36.6
	CS-5	130	61.1	68.8	80.1	31.6
	CS-6	127	52.6	66.9	75.9	29.1
	CS-7	123	98.1	80.4	74.5	32.4
	CS-8	120	88.8	69.4	74.1	28.5
	CS-9	117	78.7	68.4	67.5	24.4
	CS-10	113	45.1	65.3	69.9	26.8
	CS-11	109	35.3	55.9	68.2	24.9
	CS-12	106	41.3	57.7	64.0	22.2
	CS-13	103	61.9	59	67.8	24
	CS-14	99.9	57.3	54.1	62.6	19.4
	CS-15	96.4	55.5	51.1	55.2	18.2
	CS-16	92.4	95.7	68.6	59.8	24.9
	CS-17	91.5	84.7	61.6	61.2	19.3
	CS-18	87.9	72.9	57.7	56.6	16.8
	CS-19	96.8	45.4	57.1	62.6	22.2
	CS-20	98.6	34.1	51.4	61.9	20.1
	CS-21	93.7	25.5	43.9	59.4	18.1
	CS-22	88.8	61.6	57.1	56.3	18.9
	CS-23	85.2	57.3	47.1	51.4	15.8
	CS-24	78.5	39.9	40	52.4	15.2
	CS-25	78	92	65.3	55.6	22.4
	CS-26	74.5	80.7	53.3	46.5	17.8
	CS-27	72.3	66.2	43.7	43.3	18.1

Çizelge 4.42. Na^+ , K^+ ve NH_4^+ iyonlarının hareketli ortamda analizi için kullanılan sensör dizisinde dış test seti çözeltilerinin enjeksiyonuna karşılık elektrotlardan okunan pik yükseklikleri

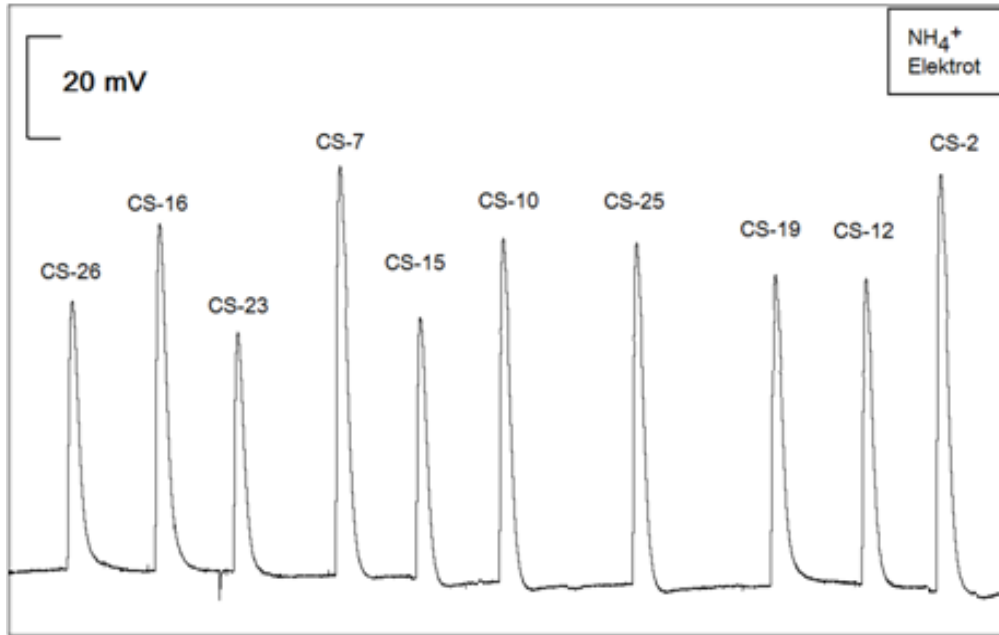
	Çözelti No	PİK YÜKSEKLİKLERİ, mV				
		ELEKTROTLAR				
		Na	K	NH_4	G-1 (monensin)	G-2 (dibenzo)
DİŞ TEST SETİ	TS-1a	128	46.6	75.9	80.8	30
	TS-1b	126.1	46.3	75.7	80.8	29.8
	TS-1c	126	46	73.5	80.4	30.3
	TS-1d	126	46	74.5	80.8	29.7
	TS-1e	129	47	74.5	78.3	31.3
	TS-2	135	42.8	80.8	86.7	35.3
	TS-3	119	94.6	78.8	79.4	31.3
	TS-4	127.1	57.3	54.4	59.4	18.4
	TS-5	135	38.2	61.4	67.8	20.1
	TS-6	144	86.2	73.3	72.4	24.5
	TS-7	96.4	61	58.8	70.6	18.3
	TS-8	89.7	62.8	59.2	61.2	16.7
	TS-9	79.9	70.3	55.9	52.8	15.7



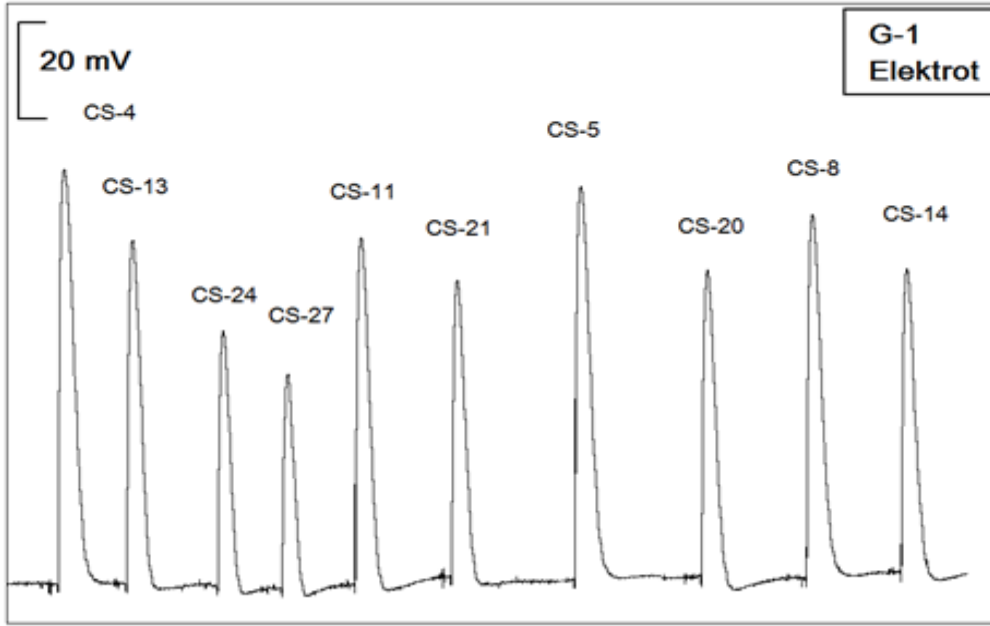
Şekil 4.56. Na^+ -seçici elektrottan elde edilen piklerden bir kesit



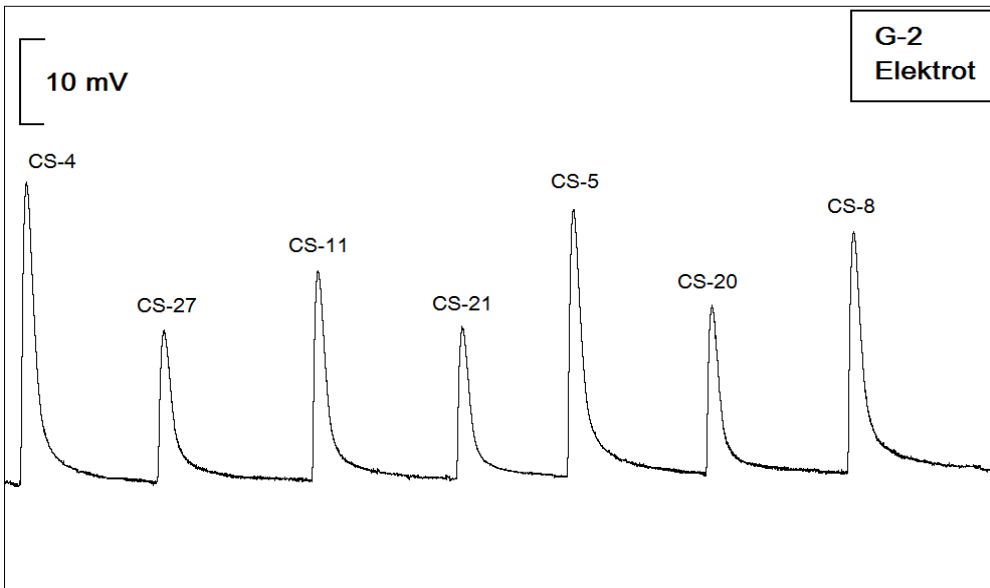
Şekil 4.57. K⁺-seçici elektrottan elde edilen piklerden bir kesit



Şekil 4.58. NH₄⁺-seçici elektrottan elde edilen piklerden bir kesit



Şekil 4.59. G-1 katyon duyarlı elektrottan elde edilen piklerden bir kesit



Şekil 4.60. G-2 katyon duyarlı elektrottan elde edilen piklerden bir kesit

Yukarıda verilen konsantrasyon değerleri ve bu konsantrasyon değerlerine karşılık elde edilen pik yükseklikleri kullanılarak çok değişkenli kalibrasyon modelleri elde edildi ve modellerin tahmin güçleri karşılaştırıldı. NH_4^+ iyonu tahmini için üretilen modellerin hiçbirisi bu iyon için iyi bir tahmin sağlamamıştır. Çünkü diğer iyonlarla karşılaştırıldığında, NH_4^+ iyonlarının konsantrasyonu ortamda çok düşüktür. NH_4^+ -seçici elektrotun seçiciliğinin de oldukça düşük oluşu nedeniyle, ortamdaki NH_4^+

konsantrasyonundan kaynaklanan sinyali ölçmek mümkün olmamıştır. Bu nedenle iyi bir tahmin elde edilememiştir. Ancak sistemde kullanılan NH_4^+ -seçici elektrottan alınan sinyaller sistemin daha iyi tanımlanmasına yardım etmektedir. Na^+ ve K^+ iyonları tahmini için; en iyi MLR tahminini veren modeller ve model parametreleri Çizelge 4.43'te, en iyi PCR tahmini veren modeller ve model parametreleri Çizelge 4.44'te ve en iyi PLS tahminini veren modeller ve model parametreleri de Çizelge 4.45'da verilmiştir.

Çizelge 4.43. Na^+ ve K^+ iyonu tahmini için elde edilen en iyi tahmin gücüne sahip MLR modelleri

MLR	İyonlar	Elektrot Kombinasyonları	R^2	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
	$\log[\text{Na}^+]$	Na, K	0.966	0.0956	0.1061	0.1074	0.010267
	$\log[\text{K}^+]$	K, NH_4^+	0.946	0.1208	0.1344	0.1665	0.020113

Çizelge 4.44. Na^+ ve K^+ iyonu tahmini için elde edilen en iyi tahmin gücüne sahip PCR modelleri

PCR	İyonlar	Elektrot Kombinasyonları	Temel Bileşen Sayısı	R^2	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
	$\log[\text{Na}^+]$	Na, K	2	0.966	0.0956	0.1061	0.1071	0.010239
	$\log[\text{K}^+]$	K, NH_4^+ , G-2, G-1	3	0.955	0.1054	0.1238	0.1646	0.017349

Çizelge 4.45. Na^+ ve K^+ iyonu tahmini için elde edilen en iyi tahmin gücüne sahip PLS modelleri

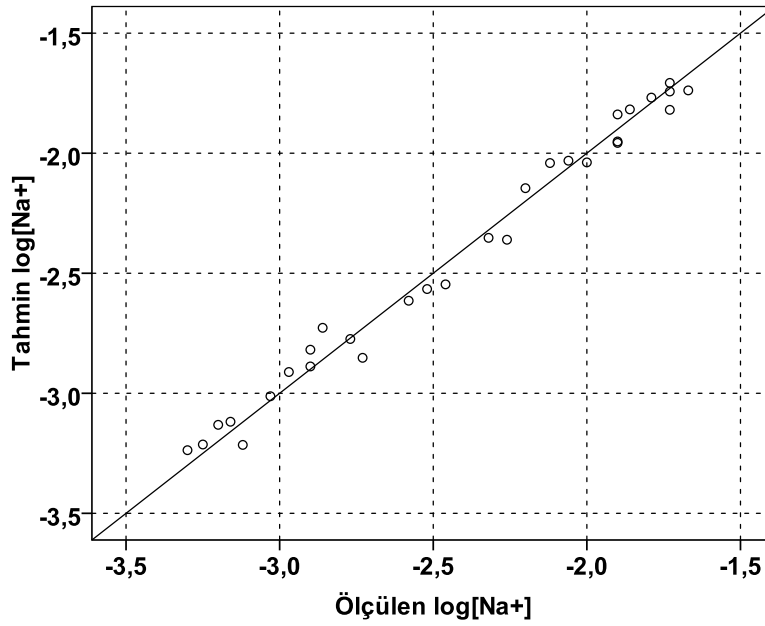
PLS	İyonlar	Elektrot Kombinasyonları	Gizli Değişken Sayısı	R^2	RMSEC	RMSECV	RMSEP	RMSECx RMSEP
	$\log[\text{Na}^+]$	Na, K, G-2	2	0.965	0.1029	0.1144	0.0993	0.010218
	$\log[\text{K}^+]$	K, NH_4^+ , G-2	2	0.946	0.1254	0.1401	0.1524	0.019111

Daha önceki sensör dizilerindeki ANN kalibrasyonlarında uygulanan yöntemler, buradaki deney seti için de uygulandı. Elde edilen modeller ve modellerin tahmin gücünü gösteren parametreler Çizelge 4.46'da özetlenmiştir. Tüm modeller incelendiğinde, Na^+ iyonu için en iyi modelin, $\log[\text{Na}^+]$ değerinin tek başına çıkış değeri olarak kullanıldığı ANN modeli olduğu görülmektedir. Çözeltilerde bilinen Na^+ iyonu konsantrasyonuna karşılık modelle tahmin edilen Na^+ iyonu miktarları arasındaki ilişki Şekil 4.61'de görülmektedir. Tüm modeller incelendiğinde, K^+ iyonu için en iyi modelin, tüm iyon konsantrasyonlarının logaritmik değerlerinin tamamının çıkış değeri olarak kullanıldığı ANN modeli olduğu görülmektedir. Çözeltilerde bilinen K^+ iyonu

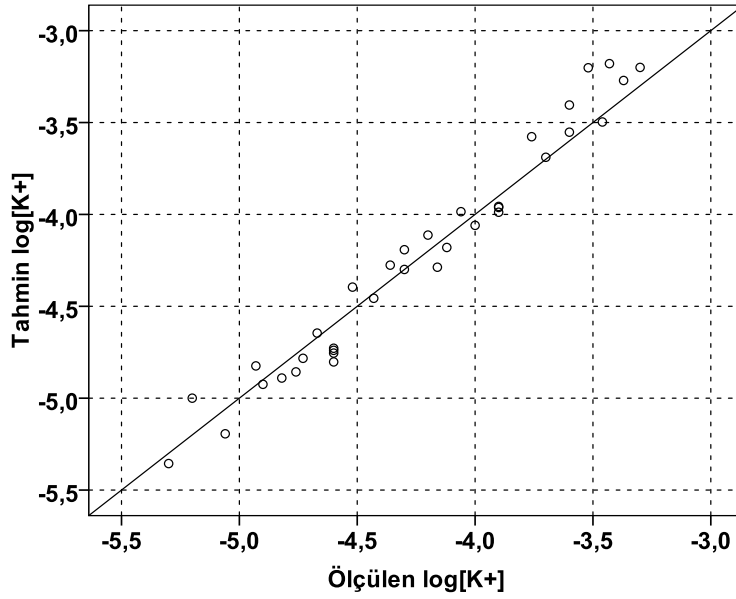
konsantrasyonuna karşılık, modelle tahmin edilen K^+ iyonu miktarları arasındaki ilişki Şekil 4.62’de görülmektedir.

Çizelge 4.46. Na^+ ve K^+ tahmini için elde edilen ANN modelleri ve model parametreleri

	Tahmin Edilen Tür	Çıkış Değeri	RMSEC	RMSEP	RMSECx RMSEP
ANN	Na^+	$[Na^+], [K^+], [NH_4^+]$	-	-	-
		$[Na^+]$	0.1175	0.0556	0.006530
		$[Na^+], [K^+]$	0.1659	0.1626	0.026969
		$\log[Na^+], \log[K^+], \log[NH_4^+]$	0.0702	0.1286	0.009026
		$\log[Na^+]$	0.0803	0.0712	0.005721
		$\log[Na^+], \log[K^+]$	0.0941	0.0691	0.006502
	K^+	$[Na^+], [K^+], [NH_4^+]$	-	-	-
		$[K^+]$	-	-	-
		$[Na^+], [K^+]$	0.2137	0.1152	0.024622
		$\log[Na^+], \log[K^+], \log[NH_4^+]$	0.1070	0.0719	0.007689
		$\log[K^+]$	0.1057	0.0850	0.008980
		$\log[Na^+], \log[K^+]$	0.1140	0.1038	0.011839



Şekil 4.61. Çözeltilerde bilinen Na^+ iyonu konsantrasyonuna karşılık ANN modeliyle tahmin edilen Na^+ iyonu miktarları



Şekil 4.62. Çözeltilerde bilinen K^+ iyonu konsantrasyonuna karşılık ANN modeliyle tahmin edilen K^+ iyonu miktarları

Gerçek su numuneleri, analiz edilmeden önce pH'sı 7.2 olan 2.0×10^{-2} M Tris-HCl tamponuyla 1:1 oranında seyreltilerek akış enjeksiyon sistemine enjekte edildi. Su numunelerinin enjeksiyonuna karşılık elektrotlardan elde edilen pik yükseklikleri Çizelge 4.47'de verilmiştir. Bu pik yüksekliği değerleri, ANN modellerinde kullanılarak Na^+ ve K^+ iyonlarının su numunelerindeki miktarları tahmin edildi. Aynı su numuneleri iyon kromatografik olarak da analiz edildi. Sensör dizisi kullanımı ile elde edilen analiz sonuçları, iyon kromatografik sonuçlarla karşılaştırıldı. Su numunelerinde iyon kromatografik analizle hesaplanan Na^+ ve K^+ iyonlarının miktarları, sensör dizisi kullanılarak hesaplanan Na^+ ve K^+ iyonlarının miktarları ile birlikte Çizelge 4.48'de verilmiştir. Çizelgede ayrıca iyon kromatografik analiz sonuçlarına göre, sensör dizisiyle bulunan analiz sonuçlarının logaritmik ölçekte hata yüzdeleri de verilmiştir. Burada, akış enjeksiyon analiz uygulamasındaki hata oranının durgun ortam analizlerine göre oldukça yüksek olması dikkat çekicidir. Hata oranları yüksek olduğundan Çizelge 4.48'deki % hata değerleri logaritmik ölçekte hesaplanmıştır.

Çizelge 4.47. Su numunelerinin enjeksiyonlarına karşılık sensör dizisinde yer alan elektrotlardan elde edilen pik yükseklikleri

Su Numuneleri	PİK YÜKSEKLİKLERİ, mV				
	ELEKTROTLAR				
	Na	K	NH ₄	G-1	G-2
SU-1	125.00	84.70	81.80	76.90	32.00
SU-2	111.20	80.70	69.20	66.10	21.70
SU-3	110.00	70.30	55.10	54.90	17.10
SU-4	119.30	110.10	80.20	68.90	30.50
SU-5	100.80	61.60	46.10	50.00	10.80
SU-6	80.40	54.20	27.30	33.20	6.20
SU-7	160.00	90.30	25.70	29.00	5.00
SU-8	95.40	61.50	42.00	34.30	8.00

Çizelge 4.48. Su numunelerinde kromatografik yöntemle ve sensör dizisi yöntemiyle belirlenen Na⁺ ve K⁺ iyonu miktarları ve hesaplanan hata yüzdeleri

Su Numuneleri	İyon Kromatografisi, log[iyon]		Sensör Dizisi, log[iyon]		% Hata	
	log[Na ⁺]	log[K ⁺]	log[Na ⁺]	log[K ⁺]	log[Na ⁺]	log[K ⁺]
SU-1	-2.23	-3.63	-1.99	-4.00	-10.8	10.2
SU-2	-1.84	-2.99	-2.07	-2.83	12.5	-5.4
SU-3	-2.49	-3.85	-2.21	-4.21	-11.2	9.3
SU-4	-2.81	-3.81	-2.86	-4.35	1.8	14.1
SU-5	-1.28	-3.13	-1.61	-3.32	25.8	6.1
SU-6	-2.56	-4.25	-2.13	-4.36	-16.8	2.6
SU-7	-2.08	-3.54	-2.13	-3.71	2.4	4.8
SU-8	-2.94	-4.36	-2.96	-4.29	0.7	-1.6

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bütünüyle katı-hal elektrot üretim teknolojisi kullanılarak, iç referans çözelti içermeyen PVC-membran potansiyometrik mikro sensörler hazırlandı. Hazırlanan sensörlerin hem durgun ortamda, hem de hareketli ortamdaki potansiyometrik performans özellikleri belirlendi. Sensör dizilerinde genel duyarlılık gösteren elektrotların bulunması, sensör dizisinin doğruluk ve hassaslığını artırdığı için, katyonlara ve anyonlara karşı genel bir duyarlılık sergileyen elektrotlar da hazırlandı. Hazırlanan elektrotlarla farklı iyonların eş zamanlı analizlerinde kullanılmak üzere sensör dizileri tasarlandı. Hareketli ortam ölçümlerinde daha duyarlı sonuçların alınabilmesi için, seyrelmenin mümkün olduğu kadar az seviyede olduğu ölçüm hücreleri gerekmektedir. Bu nedenle, hareketli ortam ölçümlerinde kullanılmak üzere düşük ölü hacimli mikro akış hücreleri tasarlandı.

Eş zamanlı olarak analiz edilmesi düşünülen iyonların deneysel tasarım kurallarına göre hazırlanan iyon karışım çözeltilerine karşılık, ilgili sensör dizisinden elde edilen sinyaller değişik kemometrik çok değişkenli regresyon teknikleriyle birlikte sensör dizisi sisteminin kalibrasyonunda kullanıldı. Sensör dizilerinin çok değişkenli doğrusal kalibrasyonlarında; MLR, PCR ve PLS teknikleri kullanıldı. Çok değişkenli doğrusal olmayan kalibrasyonlarda ise ANN kullanıldı. Kullanılan sensör dizisi için, RMSECxRMSEP değerleri en küçük olan modeller, tayin edilen tür için en iyi tahmin gücüne sahip kalibrasyon modeli olarak belirlendi. Durgun ortamda sensör dizileri ve çok değişkenli kalibrasyonların birlikte kullanımıyla elde edilen analiz sonuçlarının, sensörlerin tek başına klasik kalibrasyonuyla elde edilen sonuçlardan daha iyi olduğu görüldü. Çoklu doğrusal regresyonda PLS2 kalibrasyonları da gerçekleştirildi. Ancak, tüm PLS2 kalibrasyonlarının tahmin güçlerinin PLS1 kalibrasyonlarından daha kötü olduğu belirlendi.

Durgun ortam ölçümlerinde, referans bir çözelti kullanılarak elektrotların potansiyelinde zamanla meydana gelen kayma değerleri düzeltilerek, yeni değerler üzerinden kalibrasyon modelleri türetildi. Düzeltilmiş potansiyel değerleri kullanılarak elde edilen kalibrasyon modellerinin tahmin güçlerinde, beklendiği gibi bir iyileşme gözlenemedi. Potansiyel kaymasını düzeltmede kullanılan referans çözeltideki iyon konsantrasyonunun düşük olmasının daha doğru düzeltme işlemi yapılmasını engellediği görüldü.

Sensör dizisi kullanılarak gerçekleştirilen su numunesi analiz sonuçlarının, iyon kromatografisi ile elde edilen analiz sonuçlarına yakın olduğu görüldü. Hareketli ortam ölçümlerinin hızlı ve pratik olmasına rağmen, durgun ortam ölçümleri kadar doğru sonuçlar vermediği gözlemlendi. Bu çalışmada, hareketli ortam ölçümlerinde sinyal olarak pik yükseklikleri kullanıldı. Bu tür çok değişkenli kalibrasyon uygulamalarında, pik yüksekliği değerlerinin kullanılmasının sistem hakkındaki kullanışlı bilgilerin bir çoğunun kaybedilmesine yol açtığı ifade edilmektedir. FIA ölçümlerindeki regresyon uygulamalarında, tek bir değer olan pik yüksekliği yerine, zamana bağlı olarak kaydedilen çok sayıda değerin kullanılması ile daha doğru sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmadaki ANN kalibrasyonlarında, gizli tabaka aktivasyon fonksiyonu olarak hiperbolik tanjant fonksiyonu tercih edildi. Ancak, farklı fonksiyonların kullanılması daha iyi kalibrasyon modelleri elde edilmesini sağlayabilir.

Çalışmada elde edilen veriler; gelecekte daha fazla sayıda türün, doğru bir şekilde eş zamanlı olarak analizine olanak tanıyacak sensör dizilerinin üretimi ve kalibrasyonu için umut vaad etmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abe, H., Kokufuta, E., 1990. Hydroxide ion-selective polymeric membrane-coated-wire electrode based on oxomolybdenum (V) tetraphenylporphyrin complex. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 63, 1360-1364.
- Abe, Y., Maedat, M., Hayakawa, N., 1997. Novel guidelines for the development of pM-selective glass electrodes from oxide glasses. *Journal of Materials Science*, 32, 4391-4395.
- Amini, M.K., Ghaedi, M., Rafi, A., Habibi, M.H., Zohory, M.M., 2003. Iodide selective electrodes based on bis(2-mercaptobenzo-thiazolato) mercury(II) and bis(4-chlorothiophenolato) mercury(II) carriers. *Sensors*, 3, 509-523.
- Ammann, D., Bissig, R., Güggi, M., Pretsch, E., Simon, W., Borowitz, I.J., Weiss, L., 1975. Preparation of neutral ionophores for alkali and alkaline earth metalcations and their application in ion selective membrane electrodes. *Helv. Chim. Acta*, 58, 1535-1548.
- Ammann, D., Pretsch, E., Simon, W., Lindner, E., Bezegh, A., Pungor, E., 1985. Lipophilic salts as membrane additives and their influence on the properties of macro- and microelectrodes based on neutral carriers. *Anal. Chim. Acta*, 171, 119-129.
- Anker, P., Wieland, E., Ammann, D., Dohner, R.E., Asper, R., Simon, W., 1981. Neutral carrier based ion-selective electrode for the determination of total calcium in blood serum. *Anal. Chem.*, 53, 1970-1974.
- Ardakani, M.M., Ensafi, A.A., Niasari M.S., Mirhoseini H., 2003. Silver(I)-selective coated-wire electrode based on an octahydroxycalix[4]arene derivative, *Analytical Sciences*, 19, 1187-1190.
- Ardakani, M.M., Salavati-Niasari, M., Jamshidpoor, M., 2004. Selective nitrate poly(vinylchloride) membrane electrode based on bis(2-hydroxyacetophenone)ethylenediimine vanadyl (IV). *Sensors and Actuators B*, 101(3), 302-307.
- Ardakani, M.M., Jalayer, M., Naeimi, H., Zare, H.R., Moradi, L., 2005. Perchlorate-selective membrane electrode based on a new complex of uranil. *Anal. Bioanal. Chem.*, 381, 1186-1192.
- Ardakani, M.M., Pourhakkak, P., Salavati-Niasari, M., 2007. Potentiometric coated wire electrode for salicylate based on Zinc(II) acetylacetonate. *J. Braz. Chem. Soc.*, 18(4), 782-788.
- Baret, M., Fabry, P., Massart, D.L., Menardo, C., Frayssé, M., 1998. Calibration procedure for a halide ion selective electrode array. *Analisis*, 26, 267-277.
- Baret, M., Massart, D.L., Fabry, P., Menardo, C., Conesa, F., 1999. Halide ion-selective electrode array calibration. *Talanta*, 50, 541-558.
- Baret, M., Massart, D.L., Fabry, P., Menardo, C., Conesa, F., Eichner, C., Menardo, C., 2000. Application of neural network calibrations to an halide ISE array. *Talanta*, 51, 863-877.
- Brereton, R.G., 2000. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. *Analyst*, 125, 2125-2154.
- Brereton, R.G., 2003. *Chemometrics-Data analysis for the laboratory and chemical plants*. John Wiley and Sons Ltd, 269 s, Wiltshire
- Brereton, R.G., 2007. *Applied chemometrics for scientists*. John Wiley and Sons Ltd, 379 s, Wiltshire

- Broncova, G., Shishkanova, T.V., Krondak, M., Volf, R., Kral, V., 2008. Optimalization of poly(neutral red) coated-wire electrode for determination of citrate in soft drinks, *Sensors*, 8, 594-606.
- Brown, S.D., 1995. Has the chemometrics revolution ended? Some views on the past, present and future of chemometrics. 30(1), 49-58.
- Buck, R.P., Lindner, E., 1994. Recommendations for nomenclature of ion-selective electrodes, *Pure Appl. Chem.*, 66(12), 2527-2536.
- Cabanillas, A.G., Diaz, T.G., Diez, N.M.M., Salinas, F., Burguillos, J.M.O., Vire, J.-C., 2000b. Resolution by polarographic techniques of atrazine-simazine and terbutryn-prometryn binary mixtures by using PLS calibration and artificial neural networks. *Analyst*, 125 (5), 909-914.
- Calatayud, J.M., 2003. *Flow injection analysis of pharmaceuticals automation in the laboratory*. Taylor and Francis, 394 s, Bristol
- Calvo, D., Grol, M., Cortina, M., del Valle, M., 2007a. Automated SIA system using an array of potentiometric sensors for determining alkaline-earth ions in water. *Electroanalysis*, 19(6), 644-651.
- Calvo, D., Duran, A., del Valle, M., 2007b. Use of sequential injection analysis to construct an electronic-tongue application to multidetermination employing the transient response of a potentiometric sensor array. *Anal. Chim. Acta*, 600(1-2), 97-104.
- Calvo, D., Duran, A., del Valle, M., 2008. Use of pulse transient response as input information for an automated SIA electronic tongue. *Sensors and Actuators B*, 131, 77-84.
- Cattrall, R.W., Tribuzio, S., Freiser, H., 1974. Potassium ion responsive coated wire electrode based on valinomycin. *Anal. Chem.*, 46(14), 2223-2224.
- Chau, F.-T., Liang, Y.Z., Gao, J., Shao, X.G., 2004. *Chemometrics, from basics to wavelet transform*. John Wiley and Sons Inc., 316 s, New Jersey.
- Ciosek, P., Brzoska, Z., Wroblewski, W., 2004. Classification of beverages using a reduced sensor array. *Sensors and Actuators B*, 103, 76-83.
- Ciosek, P., Brzoska, Z., Wroblewski, W., 2006. Electronic tongue for flow-through analysis of beverages. *Sensors and Actuators B*, 118, 454-460.
- Ciosek, P., Wroblewski, W., 2006. The recognition of beer with flow-through sensor array based on miniaturized solid-state electrodes. *Talanta*, 69, 1156-1161.
- Ciosek, P., Wroblewski, W., 2007. Performance of selective and partially selective sensors in the recognition of beverages. *Talanta*, 71(2), 738-746.
- Ciosek, P., Maminska, R., Dybko, A., Wroblewski, W., 2007. Potentiometric electronic tongue based on integrated array of microelectrodes. *Sensors and Actuators B*, 127(1), 8-14.
- Ciosek, P., Grabowska, I., Brzoska, Z., Wroblewski, W., 2008. Analysis of dialysate fluids with the use of a potentiometric electronic tongue. *Microchim. Acta.*, 163, 139-145.
- Commission on analytical nomenclature, 1976. Recommendations for nomenclature of ion-selective electrodes. *Pure Appl. Chem.*, 48(1), 127-132.
- Correia, D.P.A., Magalhaes, J.M.C.S., Machado, A.A.S.C., 2005. Array of potentiometric sensor for simultaneous analysis of urea and potassium. *Talanta*, 66(4), 773-782.
- Correia, D.P.A., Magalhaes, J.M.C.S., Machado, A.A.S.C., 2008. Array of potentiometric sensors for multicomponent analysis of blood serum. *Microchim. Acta*, 163, 131-137.

- Cortina, M., Gutes, A., Alegret, S., del Valle, M., 2005. Sequential injection system with higher dimensional electrochemical sensor signals: Part 2 Potentiometric e-tongue for the determination of alkaline ions. *Talanta*, 66, 1197-1206.
- Covington, A.K., 1974. Ion-selective electrodes, CRC critical reviews in analytical chemistry. *Anal. Chem.*, 3, 355-406.
- Duran, A., Cortina, M., Velasco, L., Rodriguez, J.A., Alegret, S., del Valle, M., 2006. Virtual instrument for an automated potentiometric e-tongue employing the SIA technique. *Sensors*, 6, 19-29.
- Dinç, E., 2009. *Kemometrik işlem ve yöntemlerin analitik kimyadaki tipik uygulamaları*. Uygulamalı Kemometri Yaz Okulu, Erzurum, 9-14 Haziran 2009, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 100 s, Ankara
- de Jong, S., 1993. SIMPLS: An alternative approach to partial least squares regression. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 18 (3), 251-263.
- Demuth, H., Beale, M., Hagan, M., 2007. *Neural Network Toolbox User's Guide*. The MathWorks-Inc., 797 s, Natick
- Despagne, F., Massart, D.L., 1998. Neural networks in multivariate calibration. *The Analyst*, 123 (11), 157-178.
- Eggins, B.R., 2007. *Chemical sensors and biosensors*. John Wiley and Sons Ltd., 273 s, Wiltshire.
- Eisenman, G., 1962. Cation selective glass electrodes and their mode of operation., *Biophys J.*, 2, 259-323.
- Eisenman, G., Rudin, D., Casby, J.U., 1957. Glass electrode for measuring sodium ion. *Science*, 126, 831-834.
- Forster, R.J., Regan, F., Diamond, D., 1991. Modelling of potentiometric electrode arrays for multicomponent analysis. *Anal. Chem.*, 63, 876-882.
- Forster, R.J., Diamond, D., 1992. Nonlinear calibration of ion-selective electrode arrays for flow injection analysis. *Anal. Chem.*, 64, 1721-1728.
- Fry, C.H., Langley, S.A.M., 2001. *Ion-selective electrodes for biological systems*. Harwood Academic Publishers Imprint, 160 s, Singapore
- Fiedler, U., Ruzicka, J., 1973. Valinomycin based potassium electrode with nonporous polymer membrane and solid-state inner reference system. *Anal. Chim. Acta*, 67, 179-193.
- Gallardo, J., Alegret, S., Munoz, R., Roman, M.D., Leija, L., Hernandez, P. R., del Valle, M., 2003. An electronic tongue using potentiometric all-solid-state PVC-membrane sensors for the simultaneous quantification of ammonium and potassium ions in water. *Anal. Bioanal. Chem.*, 377, 248-256.
- Gallardo, J., Alegret, S., del Valle, M., 2004. A flow-injection electronic tongue based on potentiometric sensors for the determination of nitrate in the presence of chloride, *Sensors and Actuators B*, 101, 72-80.
- Gallardo, J., Alegret, S., Munoz, R., Leija, L., Hernandez, P.R., del Valle, M., 2005a. Use of an electronic tongue based on all-solid-state potentiometric sensors for the quantitation of alkaline ions. *Electroanalysis*, 17, 348-355.
- Gallardo, J., Alegret, S., del Vale, M., 2005b. Application of a potentiometric electronic tongue as a classification tool in food analysis, *Talanta*, 66, 1303-1309.
- Galvao, R.K.H., Jose, G.E., Filho, H.A.D., Araujo, M.C.U., da Silva, E.C., Paiva, H.M., Saldanha, T.C.B., de Souza, E.S.O.N., 2004. Optimal wavelet filter construction using X and Y data. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 70 (1), 1-10.

- Gamperline, P., 2006. *Practical guide to chemometrics*. CRC Press Taylor and Francis Group, 520 s, Boca Raton
- Gismera, M.J., Arias, S., Sevilla, M.T., Procopio, J.R., 2009. Simultaneous quantification of heavy metals using a solid state potentiometric sensor array. *Electroanalysis*, 21(8), 979-987.
- Gutierrez, M., Alegret, S., Caceres, R., Casadesus, J., Marfa, O., del Valle, M., 2007a. Application of a potentiometric electronic tongue to fertigation strategy in greenhouse cultivation. *Computers and Electronics in Agriculture*, 57(1), 12-22.
- Gutierrez, M., Alegret, S., del Valle, M., 2007b. Potentiometric bioelectronic tongue for the analysis of urea and alkaline ions in clinical samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 2171-2178.
- Gutierrez, M., Alegret, S., Caceres, R., Casadesus, J., Marfa, O., del Valle, M., 2008a. Nutrient solution monitoring in greenhouse cultivation employing a potentiometric electronic tongue. *J. Agric. Food chem.*, 56, 1810-1817.
- Gutierrez, M., Alegret, S., del Valle, M., 2008b. Bioelectronic tongue for the simultaneous determination of urea, creatinine and alkaline ions in clinical samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 23, 795-802.
- Gutierrez, M., Gutierrez, J.M., Alegret, S., Leija, L., Hernandez, P.R., Favari, L., Munoz, R., del Valle, M., 2008c. Remote environmental monitoring employing a potentiometric electronic tongue. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 88(2), 103-117.
- Harvey, D., 2000. *Modern Analytical Chemistry*. Quebecor Printing Book Group, 797 s, Kingsport
- Ipatov, A., 2001. Flow-injection analysis of multicomponent liquids with multisensor detection. Roskilde University Center, Danish Research Councils, Danish-Russian Project, No: 9600866.
- Jawaheer, S., White, S.F., Rughooputh, S.D.D.V, Cullen, D.C., 2003. Development of a biosensor format for an enzyme based biosensor array to monitor fruit quality. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 1429-1437.
- Johnson, R.D., Bachas, L.G., 2003. Ionophore-based ion-selective potentiometric and optical sensors. *Anal. Bioanal. Chem.*, 376, 328-341.
- Kisiel, A., Michalska, A., Maksymiuk, K., 2007. Plastic reference electrodes and plastic potentiometric cells with dispersion cast poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and poly(vinyl chloride) based membranes. *Bioelectrochemistry*, 71, 75-80.
- Karakus, E., Pekyardimci, S., Kilic, E., 2005. Urea biosensors based on PVC membrane containing palmitic acid. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology*, 33, 329-341.
- Koncki, R., Leszczynska, E., Cybulska A., Glab, S., 1996. Penicillin enzyme biosensors based on pH membrane electrodes. *Anal. Chim. Acta*, 321(1), 27-34.
- Kolev, S.D., Mckelvie, I.D., 2009. *Comprehensive Analytical Chemistry-Advances in Flow Injection Analysis and Related Techniques*. 54, Elsevier B.V., Oxford
- Karlberg, B, Pacey, G.E., 1989. *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry-Flow Injection Analysis A Practical Guide*. 10, Elsevier Science B.V., 372 s, Amsterdam
- Lee, Y.K., Rhim, S.K., 1989. Construction of carbon paste coated wire ion-selective electrode for chloride and its application to environmental water analysis. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 10(6), 485-488.

- Legin, A.V., Rudnitskaya, A.M., Vlasov, Y.G., Natale, D.C., D'amico, A., 1999a. The features of the electronic tongue in comparison with the characteristics of the discrete ion-selective sensors. *Sensors and Actuators B*, 58, 464-468.
- Legin, A.V., Seleznev, B.L., Rudnitskaya, A.M., Vlasov, Y.G., Tverdokhlebov, S.V., 1999b. Multisensor system for determination of iron (II), iron (III), uranium (VI) and uranium (IV) in complex solutions. *Czechoslovak Journal of Physics*, 49, 679-685.
- Legin, A., Smirnova, A., Rudnitskaya, A., Lvova, L., Suglobova, E., Vlasov, Y., 1999c. Chemical sensor array for multicomponent analysis of biological liquids, *Analitica Chimica Acta*, 385, 131-135.
- Legin, A., Rudnitskaya, A., Seleznev, B., Vlasov, Y., 2005. Electronic tongue for quality assessment of ethanol, vodka and eau-de-vie. *Anal. Chim. Acta*, 534, 129-135.
- Liao, C.W., Chou, J.C., Sun, T.P., Hsiung, S.K., Hsieh, J.H., 2006. Preliminary investigations on a new disposable potentiometric biosensor for uric acid. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 53(7), 1401-1408.
- Lindgren, F., Geladi, P., Wold, S., 1993. The kernel algorithm for PLS. *Journal of Chemometrics*, 7, 45-60.
- Lindner, E., Toth, K., Pungor, E., 1986. Definition and determination of response time of ion-selective electrodes. *Pure Appl. Chem.*, 58(3), 469-479.
- Lvova, L., Kim, S.S., Legin, A., Vlasov, Y., Yang, J.S., Cha, G.S., Nam, H., 2002. All-solid-state electronic tongue and its application for beverage analysis. *Anal. Chim. Acta*, 468, 303-314.
- Lvova, L., Legin, A., Vlasov, Y., Cha, G.S., Nam, H., 2003. Multicomponent analysis of korean green tea by means of disposable all-solid-state potentiometric electronic tongue microsystem. *Sensors and Actuators B*, 95, 391-399.
- Magalhaes J.M.C.S., Machado, A.A.S.C., 2002. Array of potentiometric sensors for the analysis of creatinine in urine samples. *Analyst*, 127, 1069-1075.
- Maminska, R., Wroblewski, W., 2006. Solid-state microelectrodes for flow-cell analysis based on planar back-side contact transducers. *Electroanalysis*, 18, 1347-1353.
- Maminska, R., Dybko, A., Wroblewski, W., 2006. All-solid-state miniaturised planar reference electrodes based on ionic liquids. *Sensors and Actuators B*, 115, 552-557.
- Michalska, A., Wojciechowski, M., Bulska, E., Mieczkowski, J., Maksymiuk, K., 2009. Poly(n-butyl acrylate) based lead (II) selective electrodes. *Talanta*, 7, 1247-1251.
- Miller, J., Miller, J., 2008. *Analitik kimyacılar için istatistik ve kemometri*. (Çeviri Editörü: A. Uyanık), İlke Yayınevi, 312 s, Ankara
- Moreno, L., Merlos, A., Abramova, N., Jimenez, C., Bratov, A., 2006. Multi-sensor array used as an "electronic tongue" for mineral water analysis. *Sensors and Actuators B*, 116, 130-134.
- Morf, W.E., 1981. *The principles of ion-selective electrodes and of membrane transport*. Elsevier Science Ltd, 446 s, Amsterdam
- Mottram, T., Rudnitskaya, A., Legin, A., Fitzpatrick, J.L., Eckersall, P.D., 2007. Evaluation of a novel chemical sensor system to detect clinical mastitis in bovine milk. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(11), 2689-2693.
- Mourzina, Y. G., Schubert, J., Zander, W., Legin, A., Vlasov, Y.G., Lüth, H., Schöning, M.J., 2001. Development of multisensor systems based on chalcogenide thin film chemical sensors for the simultaneous multicomponent analysis of metal ions in complex solutions. *Electrochimica Acta*, 47, 251-258.

- Muslinkina, L., 2004. Molecular recognition studies with ion-selective membranes: Complexation in the bulk and molecular recognition on the surface. PhD thesis, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, 131 s.
- Nagele, M., Mi, Y., Bakker, E., Pretsch, E., 1998. Influence of lipophilic inert electrolyte on the selectivity of polymer membrane electrodes. *Anal. Chem.*, 70, 1686-1691.
- Nolan, M.A., Tan, S.H., Kounaves, S.P., 1997. Fabrication and characterization of a solid state reference electrode for electroanalysis of natural waters with ultramicroelectrodes. *Anal. Chem.*, 69, 1244-1247.
- Otto, M., 2007. *Chemometrics: Statistics and Computer Applications in Analytical Chemistry*, Wiley-VCH, 348 s, Darmstadt
- Otto, M., Thomas, J.D.R., 1985. Model studies on multiple channel analysis of free magnesium, calcium, sodium and potassium at physiological concentration levels with ion-selective-electrodes. *Anal. Chem.*, 57, 2647-2651.
- Ohkl, A., Maeda, S., 1994. Sodium ion-selective electrodes based on dibenzo-16-crown-5 compounds with pendent amide groups. *Anal. Chem.*, 66, 1743-1746.
- Persaud, K., Dodd, G., 1982. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. *Nature*, 299, 352-355.
- Pravdova, V., Pravda, M., Guilbault, G.G., 2002. Role of chemometrics for electrochemical sensors. *Anal. Lett.*, 35(15), 2389-2419.
- Qin, Y., Peper, S., Bakker, E., 2002. Plastisizer-free polymer membrane ion-selective electrodes containing methacrylic copolymer matrix. *Electroanalysis*, 14, 1375-138.
- Radomska, A., Bodenszac, E., Glab, S., Koncki, R., 2004. Creatinine biosensor based on ammonium ion selective electrode and its application in flow-injection analysis. *Talanta*, 64, 603-608.
- Ramirez, G.V., Romero, G.A.A., Vidal, C.A.G., Rodriguez, P.R.H., Silva, M.T.R., 2005. Composites: A novel alternative to construct solid state Ag/AgCl reference electrodes. *Sensors and Actuators B*, 110, 261-270.
- Richards, E., Bessant, C., Saini, S., 2002. Multivariate data analysis in electroanalytical chemistry. *Electroanalysis*, 14 (22), 1533-1542.
- Ross, J.W., Riseman, J.H., Krueger, J.A., 1973. Potentiometric gas sensing electrodes. *Pure Appl. Chem.*, 36(4), 473-487.
- Rudnitskaya, A., Ehlert, A., Legin, A., Vlasov, Y., Büttgenbach, S., 2001. Multisensor system on the basis of an array of non-specific chemical sensors and artificial neural networks for determination of inorganic pollutants in a model groundwater. *Talanta*, 55, 425-431.
- Rudnitskaya, A., Legin, A., Sleznev, B., Kirsanov, D., Vlasov, Y., 2008. Detection of ultra-low activities of heavy metal ions by an array of potentiometric chemical sensors. *Microchim. Acta*, 163, 71-80.
- Rundle, C.C., 2000. A beginners guide to ion-selective electrode measurements. <http://www.nico2000.net/Book/Guide8.html> (03.03.2010).
- Ruzicka, J., Hansen, E.H., 1975. Flow injection analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. *Anal. Chim. Acta*, 78, 145-157.
- Sakaki, T., Harada, T., Deng, G., Kawabata, H., Kawahara, Y., Shinkai, S., 1994. On the selection of the optimal plasticizer for calix[n]arene-based ion-selectiveelectrodes: Possible correlation between the ion selectivity and the "softness" of plasticizer. *J. Inclusion Phenom.*, 15, 285-302.

- Saurina, J., Hernandez-Cassou, S., Fabregas, E., Alegret, S., 1998. Potentiometric biosensor for lysine analysis based on a chemically immobilized lysine oxidase membrane. *Anal. Chim. Acta*, 371, 49-56.
- Saurina, J., Aviles, E.L., Moal, A.L., Cassou, S.H., 2002. Determination of calcium and total hardness in natural waters using a potentiometric sensor arrays. *Anal. Chim. Acta*, 464, 89-98.
- Savitzky, A., Golay, M.J.E., 1964. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Anal. Chem.*, 36 (8), 1627-1639.
- Schiller, H., 1924. The electromotive properties of glasses. *Ann. Physik*, 74, 105.
- Schöning, M.J., Krause, R., Block, K., Musahmeh, M., Mulchandani, A., Wang, J., 2003. A dual amperometric/potentiometric FIA-based biosensor for the distinctive detection of organophosphorus pesticides. *Sensors and Actuators B*, 95, 291-296.
- Settle, F.A., 1997. *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*. Prentice-Hall Inc., 994 s, New Jersey
- Shinbo, T., Sugiura, M., 1979. Potentiometric enzyme electrode for lactate. *Anal. Chem.*, 51(1), 100-1004.
- Sim, J.H., Lee, K.M., Cho, D.H., Nam, H., Cha, G.S., 2001. Lithium ion-selective electrode with improved lifetime. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 22(7), 765-768.
- Stetter, J.R., Findlay, M.W., Schroeder, K.M., Yue, C., Penrose, W.R., 1993. Quality classification of grain using sensor array and pattern recognition. *Anal. Chim. Acta*, 284, 1-11.
- Teixeira, M.F., Fatibello-Filho, O., Ferracin, L.C., Rocha-Filho, R C., Bocchi, N., 2000. A λ -MnO₂-based graphite-epoxy electrode as lithium ion sensor. *Sensors and Actuators B*, 67, 96-100.
- Tinkilic, N., Cubuk, O., Isildak, I., 2002. Glucose and urea biosensors based on all solid-state PVC-NH₂ membrane electrodes. *Anal. Chim. Acta*, 452, 29-34.
- Torralba, R., Bonilla, M., Perez-Arribas, L.V., Palacios, A., Camara, C., 1994. Analytical Note: Speciation and simultaneous determination of arsenic (III), arsenic (V), monomethylarsonate and dimethylarsinate by atomic absorption using inverse least squares multivariate calibration. *Spectrochimica Acta*, 49B (9), 893-899.
- Trojanowicz, M., 2008. *Advances in Flow Analysis*. Wiley-VCH, 672 s, Mörlenbach
- Tsujimura, Y., Sunagawa, T., Yokoyama, M., Kimura, K., 1996. Sodium ion-selective electrodes based on silicone-rubber membranes covalently incorporating neutral carriers. *Analyst*, 121, 1705-1709.
- Umezawa, Y., Buhlmann, P., Umezawa, K., Tohda, K., Amemiya, S., 2000. Potentiometric selectivity coefficients of ion-selective electrodes Part 1 Inorganic cations. *Pure Appl. Chem.*, 72(10), 1851-2082.
- UNF, The Flow Analysis Database, 2000. <http://www.fia.unf.edu/> (06.03.2010).
- Valcarcel, M., de Castro, M.D.L., 1994. *Flow-through (bio)chemical sensors*. Elsevier Science B.V., 331 s, Amsterdam
- Villar, N.G., Saurina, J., Cassou, S.H., 2001. Potentiometric sensor array for the determination of lysine in feed samples using multivariate calibration methods. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 371, 1001-1008.
- Viteri F.J.S.D., Diamond, D., 1994. Determination and application of ion-selective electrode model parameters using flow injection and simplex optimisation. *Analyst*, 119, 749-758.

- Vlasov, Y., Legin, A., 1998. Non-selective chemical sensors in analytical chemistry: from “electronic nose” to “electronic tongue”. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 361, 255-260.
- Wang, J., 2001. *Analytical Electrochemistry*. John Wiley and Sons, 203 s, New York
- Wise, B.M., Gallagher, Bro, R., N.B., Shaver, J.M., Windig, W., Koch, R.S., 2006. *PLS_Toolbox 4.0 for use with MATLAB™*, 414 s, Washington, USA: Eigenvector Research Incorporated.
- Wold, S., 1995. Chemometrics: What do we mean with it, and what do we want from it?. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 30, 109-115.
- Wold, S., Esbensen, K., Geladi, P., 1987. Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2 (1-3), 37-52.
- Yun, S.Y., Hong, Y.K., Oh, B.K., Cha, G.S., Nam, H., 1997. Potentiometric properties of ion-selective electrodes membranes based on segmented polyetherurethane matrices. *Anal. Chem.*, 69, 868-873.
- Zamani, H.A., Abedini-Torghabeh, J., Ganjali, M.R., 2006. A highly selective and sensitive calcium(II)-selective PVC membrane based on dimethyl 1-(4-nitrobenzoyl)-8-oxo-2,8-dihydro-1H-pyrazolo[5,1-a]isoindole-2,3-dicarboxylate as a novel ionophore. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 27(6), 835-840.
- Zareh, M.M., 1994. Fabrication of an ion-selective electrode for determination of propylhexedrine. *Mikrochim. Acta*, 116, 239-246.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fatih ÇOLDUR
Doğum Yeri : Ünye
Doğum Tarihi : 27.04.1981
Medeni Hali : Bekar
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi
Kimya Öğretmenliği (2001)
Yüksek Lisans: : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri
Enstitüsü (2004)

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Gebze Dilovası Çok Programlı Lisesi (2002-2005)
Samsun Karşıyaka Lisesi (2005-2006)
Samsun Anadolu Otelcilik ve Turizm Meslek
Lisesi (2006-)

İletişim Bilgileri

Adres : Cumhuriyet M. Azerbaycan C. 88.Sok.
Mavigöl Apt.No:7 K:3 D:6 Atakum-SAMSUN
e-mail : fatihcoldur@hotmail.com