

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAĞIT TABANLI PLATFORM İLE ŞARAP ÖRNEKLERİNDE ALTERNATİF
ANALİZ YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

Gizem HÜLAĞA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2020**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Gizem HÜLAĞA tarafından hazırlanan “Kağıt Tabanlı Platform İle Şarap Örneklerinde Alternatif Analiz Yönteminin Geliştirilmesi” adlı tez çalışması 06/03/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Rahmi Ertan ANLI
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri:

Başkan : Prof. Dr. Hami ALPAS
Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Rahmi Ertan ANLI
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Ferruh ERDOĞDU
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özlem YILDIRIM
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyaz ederim.

06/03/2020



Gizem HÜLAĞA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KAĞIT TABANLI PLATFORM İLE ŞARAP ÖRNEKLERİNDE ALTERNATİF ANALİZ YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Gizem HÜLAĞA

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Rahmi Ertan ANLI
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Deniz BAŞ

Bu çalışmada, Öküzgözü ve Narince üzümlerinden elde edilen kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilen analizleri, kağıt tabanlı platformlar üzerinde denenmiştir. Kağıt tabanlı platformda yonteme özgü enzimlerin, işlem basamakları ve kimyasalların katkısıyla toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivite yöntemlerinden CUPRAC ve organik asitlerden malik, laktik asit analizlerinin gerçekleştirilebildiği sonucuna varılmıştır. Malik asit analizinde; kırmızı şarap örneğinin seyreltilmeden platforma uygulanması ile elde edilen 211 ve 118 ppm değerlerinin, HPLC ile elde edilen 200 ppm değeriyle paralellik gösterdiği; beyaz şarap örneği ile paralellik göstermediği tespit edilmiştir. Laktik asit analizinde; şarap örneklerinin uygulaması ile elde edilen sonucun HPLC ile elde edilen sonuçlarla hem kırmızı hem de beyaz şarap için paralellik göstermediği tespit edilmiştir. Organik asitlerden tartarik asit analizinde; kağıt tabanlı platformda yapılan çeşitli denemeler sonucunda doğrusallık elde edilememiştir. Toplam fenolik madde miktarı analizinde, kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin spektrofotometrede sırasıyla elde edilen 1617 ve 170 ppm değerlerinin literatürdeki aralıkta yer aldığı tespit edilmiştir. Ancak kağıt tabanlı platformda gallik asit standartları yerine şarap örneklerinin verilmesiyle elde edilen sonuçlar spektrofotometredeki sonuçlar ile paralellik göstermemiştir. Toplam antioksidan aktivite analizinde, tercih edilen metodlardan CUPRAC yöntemi için kağıt tabanlı platformda doğrusallık elde edilmiştir. Spektrofotometrede elde edilen kırmızı şarap örneği için 1507 ppm ve beyaz şarap örneği için 558 ppm değerlerinin literatürdeki değer aralığında yer aldığı bulunmuştur. Ancak kağıt tabanlı platformlara troloks standartları yerine şarap örneklerinin ilavesi sonucunda; beyaz şarap örneğinin seyreltilmeden uygulaması ile elde edilen 536 ppm değerinin spektrofotometre ile paralellik gösterdiği sonucuna ulaşılırken; kırmızı şarap örneğinin uygulanması ile spektrofotometre sonuçlarına göre paralellik elde edilemediği tespit edilmiştir.

Mart 2020, 93 sayfa

Anahtar Kelimeler: Akıllı teknolojiler, Kağıt tabanlı platform, Laktik asit, Malik asit, Şarap, Tartarik asit, Toplam antioksidan aktivite, Toplam fenolik madde

ABSTRACT

Master Thesis

THE DEVELOPMENT OF ALTERNATIVE ANALYSIS METHOD WITH PAPER-BASED PLATFORM IN WINE SAMPLES

Gizem HÜLAĞA

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Rahmi Ertan ANLI
Co-Supervisor: Asst. Prof. Deniz BAŞ

In this study, the analyzes of red and white wine samples obtained from Öküzgözü and Narince grapes by conventional methods were tried to be carried out on paper based platforms. It was concluded that the analysis of total phenolic substances, total antioxidant activity methods CUPRAC and malic and lactic acid analyzes of organic acids were performed on paper-based platform with the contribution of process-specific enzymes, process steps and chemicals. In malic acid analysis; 211 and 118 ppm values obtained by applying the red wine sample to the platform without dilution are in parallel with the 200 ppm values obtained by HPLC; It was found that it isn't parallel with the white wine sample. In lactic acid analysis; it was found that the results obtained by the application of wine samples aren't parallel with the results obtained by HPLC for both red and white wine. In tartaric acid analysis of organic acids; as a result of various experiments on paper-based platform, linearity could not be obtained. In the total phenolic content analysis, it was determined that the values of 1617 and 170 ppm obtained from the spectrophotometer of the red and white wine samples were in the range in the literature. However, the results obtained by giving wine samples instead of gallic acid standards on paper based platform aren't parallel with the results in spectrophotometer. In the total antioxidant activity analysis, linearity was obtained on paper-based platform for CUPRAC method which is the preferred method. It was found that 1507 ppm for red wine sample and 558 ppm for white wine sample values obtained by spectrophotometer were in the range in the literature. However, as a result of the addition of wine samples to paper-based platforms instead of trolox standards; 536 ppm obtained by the application of undiluted white wine sample was found to be in parallel with the spectrophotometer; it was found that parallel to the spectrophotometer results could not be obtained with the application of red wine sample.

March 2020, 93 pages

Key Words: Smart technologies, Paper-based platforms, Lactic acid, Malic acid, Wine, Tartaric acid, Total antioxidant activity, Total phenolic content

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması ve yürütülmesinde emeği geçen, bilgi ve önerileri ile yardımcı olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Rahmi Ertan ANLI'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), ilgilendiğim alanda yenilikçi teknolojilerle tanışmamı sağlayan, eş danışmanlığımı kabul etmesi ile kalmayıp tezimin her aşamasında bilgi ve becerileri ile çözüm önerileri sunarak takıldığım noktaları atlatmamı sağlayan, Çankırı Karatekin Üniversitesi'ndeki laboratuvarında analizlerimi gerçekleştirmeme imkan tanıyan, sorularımı muhteşem sabrı ile her daim cevaplayan ve tüm süreçteki cesaretlendiriciliği ile yanımda olan, maddi-manevi desteğini tez dışında kalan zamanlarda da hissettiğim ve hakkını hayatım boyunca ödeyemeyeceğim çalışma ilkeleri ve idolleri ile akademi alanında hep örnek alacağım saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Deniz BAŞ'a (Çankırı Karatekin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), yüksek lisans eğitimimi tamamlamam için desteğini sürekli arkamda hissettiğim saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi İsmail Hakkı TEKİNER'e (İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı), desteği için Dr. Öğr. Üyesi Serdar ÇÖP'e (İstanbul Gelişim Üniversitesi Gastronomi-İngilizce Bölümü), tükenmeyen sabrı, ilgi, yol göstericiliği ve destekleri için Dr. Öğr. Üyesi Sema AYDIN'a (İstanbul Gelişim Üniversitesi Gastronomi- İngilizce Bölümü), lisans eğitimimde olduğu gibi yüksek lisans eğitimimde de desteğini yanımda hissettiğim Dr. Öğr. Üyesi Ayşe AVCI'ya, yüksek lisans eğitimimim her aşamasına ve kişisel hayatıma her an destek sağlayabilme gücüne sahip, inanılmaz sabrı ile öğretici ve yardımcı olan iş ortamından arkadaşlığa dönüşen bağımızla hakkını ne yapsam ödeyemeyeceğim çok kıymetli Sn. Ayşegül ULUSOY'a (Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü Sekreteri / Özel Kalem), bilgi ve önerilerine her zaman rahatça danışabildiğim Arş. Gör. Fatma GÜLER'e (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), tez analizlerime yardımcı olan Düzen Norwest Çevre, Gıda ve Veteriner Sağlık Hizmetleri Eğitim Danışmanlık Ticaret Anonim Şirketi'ne, kurumda çalışan gıda mühendisi Sn. Şükran Selin MİRAN'a, eğitim hayatım boyunca her türlü destekte bulunan aileme, kıymetli ablam Didem HÜLAĞA SÖKER'e, tez sürecim başta olmak üzere hayatım boyunca desteğini hep hissettiğim hayat arkadaşım Ender KADEROĞLU'na, abim Hasan SÖKER'e, farklı anneden kardeşlerim olan Tuğba DENİZCİ ve Arş. Gör. Nevra ÇELİKKOL ÜÇLER'e (İstanbul Gelişim Üniversitesi Halkla İlişkiler ve Reklamcılık Bölümü), sevgili arkadaşım Öğr. Gör. Ali KARPUZ'a (Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Pazarlama ve Reklamcılık Bölümü), özellikle eğitim hayatım boyunca kendisinden hep uzakta kalıp ihmal ettiğim, aramızdan ayrılan çok kıymetli annem Sünniye HÜLAĞA'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, “Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından Lisansüstü Tez Proje Türünde (17L0443002)” desteklenmiştir.

Gizem HÜLAĞA
Ankara, Mart 2020

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Hızlı Analiz Yöntemleri	4
2.1.1 Biyosensörler	7
2.1.2 Yanal akış sistemleri	12
2.1.3 Kağıt tabanlı platformlar	15
2.1.4 Uygulama alanları.....	21
2.1.4.1 Klinik analizler	21
2.1.4.2 Çevre analizleri.....	23
2.1.4.3 Gıda analizleri	27
2.1.4.4 Akıllı telefon uygulamaları.....	34
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	38
3.1 Materyal	38
3.1.1 Analiz edilen şarap örnekleri	38
3.1.2 Kullanılan ekipmanlar	38
3.1.3 Kullanılan kimyasallar	38
3.2 Yöntem	39
3.2.1 Geleneksel yöntemler	39
3.2.1.1 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC).....	39
3.2.1.2 Spektrofotometre.....	40
3.2.2 Kağıt tabanlı platform yöntemleri.....	40
3.2.2.1 Kağıt tabanlı platform üretimi	40
3.2.2.2 Kağıt seçimi ve tasarımı.....	41

3.2.2.3 Kağıdın boyanması	41
3.2.2.4 Kağıt tabanlı platformların okuması	41
3.2.2.5 Toplam antioksidan aktivite analizi	42
3.2.2.5.1 2,2'-azino-bis (3- etil benzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) radikali giderme aktivitesi (ABTS) analizi.....	42
3.2.2.5.2 Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) analizi....	43
3.2.2.5.3 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilserbest radikal giderme aktivitesi (DPPH) analizi	44
3.2.2.6 Toplam fenolik madde analizi.....	45
3.2.2.7 Organik asit analizleri	46
3.2.2.7.1 Tartarik asit analizi.....	46
3.2.2.7.2 Malik asit analizi	46
3.2.2.7.3 Laktik asit analizi.....	48
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	49
4.1 Geleneksel Yöntemlere Ait Sonuçlar	49
4.1.1 HPLC.....	49
4.1.2 Spektrofotometre.....	49
4.1.2.1 Toplam antioksidan aktivite analizi	49
4.1.2.2 Toplam fenolik madde analizi.....	50
4.2 Kağıt Tabanlı Platform Yöntemlerine Ait Sonuçlar.....	51
4.2.1 Toplam antioksidan aktivite analizi	51
4.2.2 Toplam fenolik madde analizi.....	62
4.2.3 Organik asit analizi	67
4.2.3.1 Tartarik asit analizi	67
4.2.3.2 Malik asit analizi	70
4.2.3.3 Laktik asit analizi	73
5. SONUÇ.....	75
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ.....	92

SİMGELER DİZİNİ

*	Çarpma işareti
~	Yaklaşık
<	Küçük işareti
%	Yüzde işareti
ABTS	2,2 -azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
As	Arsenik
Au(III)	Altın (III) iyonları
Ca	Kalsiyum
Cd	Kadmiyum
Cl	Klor
cm ²	Santimetre kare
Cu	Bakır
Cu (I)	Bakır (I) iyonları
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cu (II)	Bakır (II) iyonları
CUPRAC	Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
Fe	Demir
Fe (III)	Demir (III) iyonları
Fe ₃ O ₄	Demir oksit
g	gram
H ⁺	Hidrojen
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat
Hg ₂	Cıva (II) iyonları
KH ₂ PO ₄	Mono potasyum fosfat
l	Litre
L (+)	Laktik asit
L(-)	Laktik asit
L*a*b	Renk koordinatları
LDH	L(+) laktat dehidrogenaz
L-MDH	L-malat dehidrogenaz
M	Molar
mg	Miligram
mm	Milimetre
Mm	Mikromolar
Mn	Mangan
Mo (VI)	Molibden (VI) iyonları
N	Normalite
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NAD ⁺	NADH'nin yükseltgenmiş hali
NADH	NAD ⁺ 'nin indirgenmiş hali
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

NaOH	Sodyum hidroksit
Nc	Neokuproin
NH ₄ ⁺	Amonyum
nm	Nanometre
O ₂	Oksijen
Pb	Kurşun
PMS	Fenazin metosülfat
PMS	Fenazin metosülfat ve 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5 difeniltetrazolyum bromür
ppm	Milyonda bir
R ²	Determinasyon katsayısı
X	Yatay eksen
Y	Dikey eksen
β	Beta
β-NAD ⁺	Beta- nicotinamide adenine dinucleotide
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre

Kısaltmalar

2D	İki boyutlu uzay
3D	Üç boyutlu uzay
4G	Dördüncü nesil kablosuz telefon teknolojisi
5G	Beşinci nesil kablosuz telefon teknolojisi
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome (Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu)
ASSURED	Uygun fiyatlı, hassas, spesifik, kullanıcı dostu, hızlı ve sağlam, ekipmansız ve ilgili kullanıcıya teslimi mümkün
AST	Aspartat aminotransferaz
CYMK	Camgöbeği, sarı, magenta, siyah
dk	Dakika
DLC	Doluca
E.coli	Escherichia coli
E. coli O157:H7	Enterohemorajik E. coli
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
GA	Gallik asit
GAE	Gallik asit ekivalenti
GPS	Global Positioning System (Küresel Konumlama Sistemi)
HIV	Human Immunodeficiency Virus (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi)
HRP	Horseradish peroxidase (Yaban Turbu Peroksidaz)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Uluslararası Saf

	ve Uygulamalı Kimya Birliği)
L.A.	Laktik asit
LOC	Lab-on-a-chip (Çip Üstü Laboratuvar)
L. monocytogenes	Listeria monocytogenes
M.A.	Malik asit
MBTH	3-metil-2- benzotiazolinon hidrazon hidroklorid hidrat
MTT	2,2 difenil-1-pikrilhidrazil, tiyazolil mavi tetrazolyum bromit
No	Numara
pH	Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
POC	Point of Care (Bakım noktası)
RGB	Renk uzayı (Red-green-blue)
Santa Cruz B.	Santa Cruz Biyoteknoloji
S. enterica	Salmonella enterica
spp.	Türleri
S.typhimurium	Salmonella typhimurium
t	Dakika
TE	Troloks eşdeğerliği
Troloks	6-hidroksi-2,5,7,8- tetrametilkroman -2-karboksilik asit
UNFAO	United Nations' Food and Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
U.S.	United States (Amerika Birleşik Devletleri)
USB	Universal Serial Bus (Evrensel Seri)
UV-Vis	Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorpsiyon
Wi-Fi	Wireless Fidelity (Kablosuz Bağlantı Alanı)
v	Volume (Hacim)
vd.	Ve diğerleri
µPAD	Mikroakışkan kağıda dayalı analitik aygıtlar
QR	Quick Response (Çabuk Tepki)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 (0-1000 ppm) aralığındaki troloks konsantrasyonlarına karşılık gelen değerler	50
Şekil 4.2 (0-1000 ppm) aralığındaki gallik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen değerler	51
Şekil 4.3 Farklı oranlarda seyreltilmiş ABTS denemesinin 2 ve 4 mikrolt uygulaması.	52
Şekil 4.4 (1:1) oranında seyreltilmiş tekrarlı ABTS denemesi	53
Şekil 4.5 (1:1) oranında seyreltilmiş ve farklı konsantrasyonlardaki gallik asitlerin kullanımı ile tekrarlı ABTS denemesi	54
Şekil 4.6 Belirtilen gallik asit konsantrasyonlarıyla gerçekleştirilen deneme	54
Şekil 4.7 Belirtilen miktarlardaki gallik asit ve troloks standartlarının uygulanması.....	55
Şekil 4.8 Belirtilen miktarlardaki gallik asit ve troloks standartlarının uygulanması.....	55
Şekil 4.9 Belirtilen miktarlardaki gallik asit ve troloks standartlarının bir diğer denemesi	56
Şekil 4.10 Farklı konsantrasyonlardaki H ₂ O ₂ içeren karışımların ependorflarda uygulaması.....	57
Şekil 4.11 Kırmızı ve beyaz şarap örnekleri ile deneme.....	58
Şekil 4.12 Asetik asit tamponunun seyreltilerek kullanıldığı denemeler.....	58
Şekil 4.13 Farklı oranlarda bileşenleri içeren gallik asit kullanılarak M1, M2, M3 karışımları denemesi.....	59
Şekil 4.14 Farklı konsantrasyonlardaki gallik asit ve M1 karışımı kullanılarak gerçekleştirilen deneme	60
Şekil 4.15 Standart olarak troloksun kullanıldığı bir çalışma	61
Şekil 4.16 Kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin uygulaması	61
Şekil 4.17 (0-2000 ppm) aralığındaki troloks konsantrasyonlarına karşılık gelen a değerleri	62
Şekil 4.18 Doymuş karbonat için seyreltme çalışmaları	63
Şekil 4.19 Doymuş karbonat için seyreltme çalışmaları	64
Şekil 4.20 Gallik asit konsantrasyon denemeleri	64
Şekil 4.21 Kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin uygulaması.....	66
Şekil 4.22 Seyreltik şarap örneklerinin uygulaması.....	66
Şekil 4.23 (0-200 ppm) aralığındaki gallik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen b değerleri	66
Şekil 4.24 Tartarik asit konsantrasyonlarının ependorflardaki renk değişimi	68
Şekil 4.25 Karışımda su yerine asetik asit ve sodyum asetat kullanılarak gerçekleştirilen deneme	68
Şekil 4.26 (0,375-4,5 mg/ml) aralığında ependorflardaki tartarik asit miktarlarına karşılık gelen a değerleri.....	69
Şekil 4.27 (0,375 - 3 mg/ml) aralığındaki tartarik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen ortalama b değerleri	70
Şekil 4.28 Belirtilen aralıktaki malik asit konsantrasyonlarına ait tekrarlı deneme	71
Şekil 4.29 (0-6 Mm) aralığındaki malik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen b değerleri	71

Şekil 4.30 Belirtilen konsantrasyonlardaki 3 boyutlu kağıt tabanlı platform denemesi .	72
Şekil 4.31 Belirtilen konsantrasyonlardaki 3 boyutlu kağıt tabanlı platform denemesi .	73
Şekil 4.32 (0-6 Mm) aralığındaki laktik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen b değerleri.....	74



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Gıda sektöründe gerçekleştirilen biyosensör uygulamalarına örnekler	10
Çizelge 2.2 Yanal akış sistemlerinin kullanım alanına örnekler.....	15
Çizelge 2.3 Kağıt tabanlı platformların kullanım alanına örnekler	20
Çizelge 4.1 Kırmızı ve beyaz şarap numunelerindeki organik asit miktarları.....	49



1. GİRİŞ

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (UNFAO) 2009 raporunda, Dünya çapındaki insan sayısının 9.1 milyara çıkacağı öngörüsünde bulunmaktadır (FAO 2009). Gelişmekte olan ülkelerde nüfusta beklenen artış daha fazla olduğu görülmektedir. Nüfusun ihtiyacını karşılamak amacıyla gıda üretiminde artış gözlemlenmektedir. Gıda üretimi ihtiyacını karşılamak için mahsul verimi ve yoğunluğunun artırma çalışmalarına yoğunlaşılması, insan sağlığının önemini arka planlara ötelemiştir. İnsan sağlığına verilen önemin arka plana atılması ile de gıda kaynaklı hastalıklar yaygın hale gelmiştir.

Yaygınlaşan sağlık problemleri nedeniyle, sağlık ve gıda endüstrisinde kalite ve kontrol parametrelerinin hızlı ve eşzamanlı ölçümünün gerçekleştirilmesine yönelik artan bir talep ortaya çıkmıştır. Bu talebe istinaden teknolojinin ilerlemesi ile sağlık, gıda gibi sektörlerde gelişmiş uygulamaların kullanımı başlamış ve artan gıda kaynaklı hastalık vakalarında hastalıklara sebep olan etkenlerin hızlı, ucuz ve kolay bir yoldan tespit edilmesi için çalışmalara başlanılmıştır.

Bu çalışmalar sensörlerin farklı özelliklerde kullanımı ile geliştirilmiştir. Düşük maliyetli sensörler, temel olarak bakım noktası (POC) teşhis araçları olarak, küresel halk sağlığının iyileştirilmesinde önemli bir rol oynaması amacıyla üretilmişlerdir (Yager vd. 2006). Taşınabilir ve uygun fiyatlı analitik ve biyomedikal algılama cihazları, bakım noktası (POC) teşhisi sağlamak için yüksek talep görmektedir. POC teşhisi, bir klinik laboratuvarın dışındaki hasta sahasındaki bir klinisyen veya hastanın kendisi tarafından teşhis konulmasını sağlar. Teşhis genellikle portatiftir ve kısa sürede sonuç veren kolay bir işlemdir. Böylece hızlı klinik karar verilebilmekte ve tedavi gecikmesi hafifletilebilmektedir. Kullanılan bu sistemleri minimize etmek için lab-on-a-chip (LOC) teknolojisi gelişmiştir (Huang 2018). LOC teknolojisi, analitik alanda, örnek ön işleme, kimyasal reaksiyonlar, sinyal tanıma ve işlemeyi tek bir cihazda birleştirmek için yenilikçi araçlar sağlayan güçlü bir yöntemdir. Genel olarak, LOC cihazları ucuz, doğru, güvenilir, düşük güç tüketen ve farklı çevresel koşullara uyarlabilir olma özelliklerine sahip bazı tasarım kriterlerini karşılamaktadır (Lopez-

Ruiz vd. 2014). LOC cihaz uygulamalarında platform olarak kağıdın tercih edilmesi bu teknolojiye farklı bir boyut kazandırmıştır. İlk kez Martinez vd. (2007) bir desenli kağıtta test alanlarına uygun reaktifler ekleyerek çeşitli biyolojik deneyler için türevlendirilebilen bir platform geliştirmişlerdir. Oluşturdukları desenli kağıtta glikoz ve protein analizini gerçekleştirdiklerini ve aynı platformun birçok analiti de ölçmek için uygun olduğunu belirtmişlerdir (Martinez vd. 2007).

Kağıt, düşük maliyet, çok yönlülük, biyouyumluluk, düşük reaktif kullanımı gibi özellikleri ile basit ve tek kullanımlık biyoanalitik cihazların üretimini sağlamaktadır. Kağıt, esas olarak selüloz elyaflarından oluşur. Selüloz, kağıt substratın sulu sıvılar için geçirgen olmasını sağlayan bir hidrofilik polimerdir. Bu özelliği sayesinde desenli kağıtlar, küçük hacimlerde sıvı ile harici pompalama olmadan kılcal hareketle yürütülen minyatürleştirilmiş testlerin gerçekleştirilmesini sağlamaktadır. Kağıt şeritler, biyomedikal deneylerde kolorimetrik kimyasal testler için ucuz bir platform sunduğu için kullanılmaya başlanmıştır. Martinez vd. (2007) çalışmasında belirtildiği gibi kromatografik kağıt test şeritleri üzerinde idrarda glikoz analizi gerçekleştirilmesi kağıt bazlı analizlerin başlangıcını oluşturmaktadır. Kağıt tabanlı platformlar, teknolojinin ilerlemesiyle kağıt yüzeyinde iyi tanımlanmış kanalların tasarımına izin veren, mikroakışkan özellikleri geliştiren, balmumu desenine dayalı yöntemlerin ve daha pek çok farklı uygulamanın gelişmesini sağlamıştır. Bu yöntemler, uzak ortamlarda ve özellikle de çevresel testlerde hastalığı tespit etmek ve sağlığı izlemek amacıyla basit analizlerin giderek daha önemli hale geldiği daha az sanayileşmiş ülkelerde, veterinerlik, tarım ve diğer uygulamalar için basit, ucuz ve taşınabilir teşhis deneylerinin geliştirilmesinde alternatif bir çözüm haline gelmiştir.

Veterinerlik, tarım gibi alanlar ve insan sağlığı ile ilgili durumlarda geleneksel yöntemlerin yerini kağıt tabanlı platformlar gibi yeni akıllı teknolojiler almaya başlamıştır. Çünkü geleneksel yöntemler zaman, iş gücü ve maliyet gibi konularda dezavantajlara sahiptir. Hızlı tespit fazla hasarın önüne geçilmesini sağlamaktadır. Yerinde uygulama yapılmasını sağlayan kağıt tabanlı platformların okuması, analizi, aktarılması veya görüntülenmesi için başka aksesuar ekipmanlarına ihtiyaç duymadan pratik olarak uygulanabilmesi için son zamanlarda araştırmacılar akıllı telefonları tercih

etmeye başlamıştır. Akıllı telefonlar ile platformun alınan görüntüsü, herhangi bir noktada telefona indirilen bir uygulama aracılığıyla sayısal bir veriye dönüştürülerek yorumlaması yapılabilmektedir (Huang vd. 2018).

Kağıt tabanlı platformların akıllı telefonlarla kullanımı üzerine literatür taraması gerçekleştirilmiş ve sağlık üzerinde çalışmaların daha yaygın olduğu görülürken; gıda alanında yeni yeni çalışmaların artmaya başladığı söylenebilmektedir. Bu amaç doğrultusunda bu tez çalışmasında, akıllı telefon kullanımı ile kağıt tabanlı platformlarda analizler gerçekleştirilmiştir. Kırmızı ve beyaz şarap örneklerindeki toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, malik, laktik ve tartarik asit organik asit miktarlarını tespit etmek için analiz platformları geliştirilmiştir. Kağıt tabanlı platformda gerçekleştirilmesi hedeflenen toplam antioksidan aktivite miktarı için CUPRAC, ABTS, DPPH yöntemlerinin kullanımı tercih edilirken; toplam fenolik madde miktarı için Folin-Ciocalteu yönteminin kullanımı tercih edilmiştir. Her analiz için farklı kimyasallar ve işlem basamakları uygulanmıştır. Desenlemesi yapılmış kağıtların akışkanlığı sağlaması için bantlaması yapıldıktan sonra her analize özgü tampon, enzim, ilgili ajan ve standartların farklı miktarlarda uygulaması yapılarak, farklı dakikalarda akıllı telefon ile fotoğraflaması gerçekleştirilmiştir. Akıllı telefon uygulamasında çekilen fotoğrafların L^*a^*b renk uzayındaki değerleri okunmuş ve ardından Microsoft Excel'e girilerek grafikleri oluşturulmuştur. Standartlarla doğrusal grafiği elde edilen analizlerin kırmızı ve beyaz şarap numunelerinin farklı konsantrasyonları ile uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmanın amacı; kırmızı ve beyaz şarap örneklerindeki toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, malik, laktik ve tartarik asit organik asit miktarlarının HPLC ve spektrofotometre geleneksel yöntemleri ile tespit edilmesi ve aynı analizlerin denemeler sonucu elde edilen kağıt tabanlı platformlarda gerçekleştirilmesi ve sonuçların karşılaştırılması, kağıt tabanlı platformların avantaj ve dezavantajlarının belirtilmesidir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Hızlı Analiz Yöntemleri

Modern ve sağlıklı toplumlar için gıda güvenliği ve kalitesi vazgeçilmezdir. Dünya çapında gerçekleştirilen bilimsel çalışmalar, gıda güvenliğini sağlamak amacıyla çeşitli kısıtlamalar ve yeni yasal düzenlemeler sunmaktadır (Baş 2017). Güvenli gıda; mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal özellikleri yasal kurallara uygun, insan tüketimi ve sağlık açısından herhangi bir sorun teşkil etmeyen, nitelikli ve besin değerini koruyan gıda maddesi olarak tanımlanmaktadır. Gıda güvenliği, ham maddenin temini, depolanması, proseslerinin tamamı dahil sofraya ulaşana kadar olan süreçlerin kontrolünün yapılmasını ve önlemler alınmasını gerektiren bir süreçtir. Süreçlerdeki bu basamakların kontrolünün düzgün ve mevzuata uygun bir şekilde gerçekleştirilmesi için, gerekli analizlerin yapılması zorunludur. Gıda güvenliği parametrelerini belirleyen bu analizlerin gerçekleştirilmesi hem malzeme ve insan gücünden dolayı maliyetli hem de zaman alıcıdır. Bu sebeple gıda sektöründeki işletmeler, analizleri düşük maliyetli ve hızlı bir şekilde gerçekleştirmenin yollarını araştırmaktadır (Baş ve Deniz 2015; Koçak 2007). Tüketici endişeleri ve kapsamlı yasal kısıtlamalar nedeniyle, gıda üretimini ve işlenmesini sürekli izlemek, hem tüketiciyi hem de üreticiyi korumak için hızlı ve güvenilir sonuçlar almak esastır (Baş 2017). Hızla gelişmekte olan gıda sanayilerine ait sistemlerin düzgün çalışması, proses esnasında izlemenin hızlı ve doğru bir şekilde gerçekleştirilmesi, ürün bileşenleri hakkında fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik bilgilere hızlıca ulaşılması kaliteli ürünleri dolayısıyla da güvenli gıda üretimini sağlayacaktır (Aykut ve Temiz 2006).

Güvenli gıda için artan tüketici talebi, uygun fiyatlı ve sürdürülebilir gıda ihtiyacı, üretim verimini arttırmanın yollarını bulmak için üreticileri zorlamaktadır. Bu zorluklara ekonomik olarak uygulanabilir çözümler sağlamak için bilim ve teknolojide yeni gelişmeler ortaya çıkmaktadır (King vd. 2018). Günümüzde gıda, kimya, çevre ve sağlık alanları hızlı büyüme ve gelişme göstermektedir. Bu sektörlerde süreç kontrolleri ve kalite güvencesi için gerçekleştirilen rutin analizler uzun zaman alan, yorucu ve eğitilmiş personele ihtiyaç duyan geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilmektedir (Özoğlu

vd. 2017). Genel olarak, kromatografik ve spektroskopik yöntemler, gıda bileşenlerinin, katkı maddelerinin, kalıntıların, kirletici maddelerin ve biyolojik aktivitelerin tespiti için kullanılmaktadır. Ancak bu geleneksel yöntemler zaman alıcıdır; uzmanlık gerektirmekte, pahalı kimyasal ve ekipmana ihtiyaç duymaktadır (Baş 2017). Hızla büyüyen küresel nüfusla, düşük maliyet, düşük çevresel etki ile güvenli yiyecek ve içecek sunmak için gıda, tarım ve biyosistem araştırmalarında önemli bir talep mevcuttur. Bu amaçla araştırmacılar, hammaddeleri gıda ve biyomateryallere dönüştürmek, gıda kalitesini, miktarını ve güvenliğini artırmak için yeni teknolojiler geliştirmeye odaklanmaktadır. Tarım-gıda sektöründe mühendislik alanındaki bilimsel zorlukları ele alırken, yeni süreçler, ürünler ve araçlar için inovasyona ihtiyaç vardır (Neethirajan ve Jayas 2011).

Yeni teknolojik gelişmelerden bir diğeri olan yeşil analitik kimya araştırmaları, malzeme ve enerji tüketimi, atık üretimi, içsel güvenlik, toksisite, çevre koruma vb. ilgili analitik süreçlerin optimize edilmesine yönelik çalışmalardır. Optimize edilmesi düşünülen bu hedefler, asgari miktarda madde ve enerji tüketen, geleneksel emsâlleriyle karşılaştırılabilir şekilde çalışan analitik yöntemlerin geliştirilmesini gerektirmektedir. Yeşil analitik kimya araştırmalarında yapılan deneysel çalışmalar, numune hazırlama ve kromatografide zararlı çözücülerini kullanmayan veya en azından kullanımını azaltan analitik yöntemler geliştirme üzerine yoğunlaşmaktadır. Ortaya çıkan birçok analitik yöntem, çözücülerin ve diğer reaktiflerin kullanımını azaltıp, analiz hızını artırarak ve ekipmanı minyatürleştirip taşınabilir hale getirerek ihtiyaç duyulan enerji tüketimini azaltması sonucunda yeşil kimya araştırmaları için gereksinimleri karşılamaktadır (Vaher ve Kaljurand 2012).

Ayrıca günümüzde sıklıkla ortaya çıkan yumurtalarda bulunan fipronil, aşırı miktarda kadmiyum içeren pilav, *Salmonella* salgınları ve formül sütünün melaminle kontaminasyonu gibi dünya genelindeki gıda skandallarının, yalnızca gıda güvenilirliği değil gıda güvenliğini de küresel bir endişe haline getirmiştir (Li vd. 2019). Bu nedenle, gıda bulaşanlarının hızlı, yerinde ve uygun maliyetli analizi son derece gerekli hale gelmiştir (Li vd. 2019; Baş 2017).

Gıdada bulunan çeşitli kirletici maddeler gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilir ve insan sağlığına ciddi bir tehdit oluşturabilir; bu yüzden gıdaların değerlendirilmesinde etkin ve güvenilir yöntemler gerekmektedir (Li vd. 2019). Gelişmekte olan bölgelerde yaşayan dünya nüfusunun yaklaşık üçte ikisinin, sağlık olanaklarına erişimi kısıtlıdır. Bu bölgelerde sağlık bakımı için portatif, hızlı sonuç veren, kullanımında eğitimli personel gerekmeyen, ekonomik analitik cihazlara duyulan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır (Baysal 2014). Yıllık olarak edinilmiş immün yetmezliği içeren bulaşıcı hastalıklar AIDS, tüberküloz ve sıtma, dünya çapında ölümlerin % 25'ini oluşturan yaklaşık 15 milyon kişinin ölümüne neden olmaktadır. Ölümlerin % 95'inden fazlası, gelişmekte olan ülkelerde düşük maliyetli tıbbi müdahale eksikliğinden kaynaklanmaktadır (Hu vd. 2014). Sağlık sektöründe tanı cihazlarının geliştirilmesiyle, deneyimli personel ihtiyacının fazla olduğu az gelişmiş ülkelerde sağlık olanaklarından faydalanma kolaylaşmaktadır. Tanı cihazlarına yönelik teknolojilerin güvenilir, düşük maliyetli, basit kullanılabilir olması; kolay tespit ve ölçüm sağlaması gerekmektedir (Baysal 2014). Hızlı analiz yöntemleri bu sebeple sağlık sisteminde ve karar noktasında klinik ve epidemiyolojik olarak kritik bir etkiye sahiptir (Hu vd. 2014).

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, gelişmekte olan ülkeler için teşhis cihazlarının 'ASSURED' yani güvenilir olması gerekir: 'ASSURED' açılımı olarak uygun fiyatlı, hassas, spesifik, kullanıcı dostu, hızlı ve sağlam, ekipmansız ve ilgili kullanıcıya teslimi mümkün anlamları taşımaktadır. Mikroakışkan kağıda dayalı analitik aygıtlar (μ PAD) olarak adlandırdığımız desenli kağıtlardan yapılan tanı aygıtları, ASSURED tanı deneyleri için tasarlanmış yeni bir platformdur (Martinez vd. 2010). Hızlı analiz metotları arasında kağıt bazlı test platformları önemli bir rol oynar ve kağıt bazlı algılamaya artan bir ilgi vardır (Baş 2017). Kağıt (membran dahil) bazlı malzemeler, şerit deneyleri, yanal akış deneyleri ve mikroakışkan kağıt bazlı analitik cihazlar dahil olmak üzere biyokimyasal analizler için kullanılmıştır (Hu vd. 2014).

Mikroakışkan kağıda dayalı analitik aygıtlar (μ PAD) olarak adlandırılan desenli kağıtlardan yapılan tanı aygıtları, geleneksel mikroakışkan cihazların bazı yeteneklerini, tanı şerit testlerinin basitliği ile birleştirmektedir. Geliştirilen μ PAD'ler, mevcut analizlerden daha hızlı olup ve analiz maliyetini düşürerek daha ekonomik olmaktadır.

μ PAD'lerde sıvı hareketi büyük ölçüde kılcallık ve buharlaşma ile kontrol edildiği için harici destek teçhizatı veya gücüne çok az ihtiyaç duyulmaktadır. Martinez vd. μ PAD'lerin, tarım, su, gıda ve çevre alanlarında uygulanabilecek kadar ucuz olabileceğini vurgulamıştır (Martinez vd. 2010).

Gıda güvenliği ve kalitesi ile ilgili mevzuatta uygulanması gereken gereklilikler, toplumda duyulan endişeler hızlı, güvenilir, ileri teknolojilere sahip analiz platformlarına duyulan ihtiyaç başta biyosensörler olmak üzere yeni hızlı analiz yöntemlerinin ortaya çıkmasını sağlamıştır (Baş ve Deniz 2015). Bu doğrultuda biyosensörler, yanal akış sistemler, kağıt tabanlı sensörler, mikroakışkan cihaz uygulamaları vb. hızlı analiz yöntemlerine ait teknolojik gelişmeler üzerindeki çalışmalar artmıştır (Baysal 2014).

2.1.1 Biyosensörler

Geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilen analizler, işletmelerin önüne maliyet, zaman, uzman gücü gerektirme gibi zorluklar çıkarmaktadır. İşletmeler bu sebeplerden dolayı, diğer bir açıdan gıda kalitesi ve güvenliğinin sağlanması amacıyla hızlı, ekonomik, kolay, taşınabilir özelliklere sahip yeni analiz platformlarının gelişmesinin önünü açmıştır. Hızlı analiz platformlarından biyosensörler, moleküler boyutta tespit için kullanılan biyoanalitik araçlar olarak tanımlanmaktadır (Torul 2015). Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) kimyasal bir maddeye karşı verilen biyolojik yanıtı optik, termal ya da elektriksel sinyallere dönüştüren cihazları biyosensör olarak tanımlamaktadır (Malekghasemi 2015). Literatürde, örnekte bulunan analit miktarını ya da aktiviteyi tespit etmek için dönüştürücü ile biyoreseptörün biraraya geldiği cihaz biyosensör olarak tanımlanmaktadır (Özoğlu vd. 2017). Baş ve Deniz (2015) çalışmasında biyoanaliz ve biyosensör kavramlarına değinerek; bir biyoanaliz yönteminin herhangi bir dönüştürücü ile entegre edilmiş analitik cihazın biyosensör olarak tanımlandığını belirtmiştir (Baş ve Deniz 2015). Aykut ve Temiz (2006), biyoreseptörün seçiciliği ve hedef analitin konsantrasyonu ile orantılı şekilde sinyal üreten dönüştürücünün birleşiminden biyosensör yapısının oluştuğunu belirtmiştir. Biyosensörün biyolojik hassasiyet taşıyan kısmı biyoreseptör; sinyaller elde etmeyi

sağlayan kısmı transduser (dönüştürücü) olarak adlandırılmaktadır (Aykut ve Temiz 2006).

Basitçe bir biyosensör; biyolojik bir materyal, tanımlayıcı biyolojik bir yüzey (reseptör), dönüştürücü (transducer) ve sinyal işleyici (signal processor) bölümlerinden oluşmaktadır (Tothill 2001). Biyolojik yüzey ile etkileşime girecek biyolojik materyaller, bir biyosensörün en önemli kısmıdır. Biyomateryaller farklı çeşitlerde olup hızlı, hassas ve seçici sistemlerin meydana gelmesini sağlamaktadır (Torul 2015). Analit miktarı ya da aktivitesi, dönüştürücünün spesifikliği ve konsantrasyonu ile orantılı olarak elde edilen biyosensörün diğer bir bölümü olan sinyal işleyici tarafından belirlenir. Kısaca bir reseptör ile dönüştürücü biyosensör üretmek amacıyla bir araya getirilebilmektedir. Bir biyosensör temel olarak biyolojik yüzey ve dönüştürücü ana kısımlarından oluşmaktadır. Analit tanımlanması, sensör spesifikliği ve hassasiyeti ile ilgili bölüm biyolojik yüzey kısmı aracılığıyla; sinyalin çıkış alanından elektriksel geçişi sağlayan bölüm dönüştürücü kısmı ile gerçekleştirilmektedir. Biyosensörün biyolojik yüzeyi enzim, tüm hücre ve biyoaffinite temelli olmak üzere üç grup altında sınıflandırılmaktadır (Özoğlu vd. 2017). Dönüştürü sistemleri farklı özelliklerde kullanılabilirlerine rağmen sıklıkla kullanılan çeşitleri elektrokimyasal ve optik sinyal işleme sistemleridir (Baş ve Deniz 2015). Seçicilik, hassasiyet, yanıtların doğruluğu, sinyal yanıtlarının tekrarlanabilirliği, hızlı tepki ve iyileşme süresi, işlevsellik, kararlılık ve çalışma ömrü, kullanıcı dostu olma biyosensörlerin temel özellikleridir (Serra 2001).

Geleneksel analiz cihazlarının büyük ebatlı, ağır ve çalışma karmaşıklığı gibi bazı dezavantajları vardır. Kullanılan cihazlar pahalı ve çoğunlukla karmaşıktır (Yang vd. 2016). Biyosensör teknolojisi; geleneksel yöntemlere güçlü bir rakip olarak küçük ve düşük maliyetli ekipmanlarla biyolojik sistemlerin hassas ve özgül olarak çalışmasını sağlamaktadır (Özoğlu vd. 2017). Biyosensörler, geleneksel analitik tekniklerle karşılaştırıldığında çevrede bulunan bileşikler, kimyasal prosesleri, gıda maddelerini ve insan vücuduna ait değerleri düşük maliyetle ölçebilmektedir (Serra 2001). Kullanım kolaylığı, hızlı, minyatürize edilebilirliği sayesinde taşınabilir, otomasyona uygun, küçük ve ekonomik cihazlar olması ile hassas ve doğru sonuçlar vermesi biyosensörler üzerindeki çalışmaları son yıllarda arttırmıştır (Teengam vd. 2013; Baş ve Deniz 2015).

Avantajları sayesinde sağlık ve gıda alanında pek çok kullanım alanı doğmuştur (Teengam vd. 2013).

Hızlı analiz yöntemlerinin olduğu gibi biyosensörlerin uygulamalarda bilinirliğinin artması klinik alandaki çalışmalarla başlamıştır. Biyosensörlerin klinik alandaki kullanımı, tedavilerin başarılı olması için hastalıkların erken teşhisinde hayati önem taşır. Ge vd. (2012) çalışmalarında kan örnekleri kullanılarak dört kanser biyo-belirtecinin kemilüminesans tespitini gerçekleştirmişlerdir (Ge vd. 2012). İnsan ve hayvanlar için bulaşıcı bakteri ajanları da hayati problem teşkil etmektedir. Bu amaçla *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* gibi hasarlı dokulara enfeksiyon bulaştıran ya da bağışıklık sistemine zarar vererek nekrotizan pnömoni gibi tehlikeli hastalıklara yol açan yaygın bakteriler üzerinde inceleme amaçlı çalışma gerçekleştirilerek ilgili genler tespit edilmiştir (Francis vd. 2005).

Klinik alanda artan çalışmalar çevre, tarım ve gıda alanlarında da ilginin doğmasına yol açmıştır. Gıda güvenliği ve kalite kontrolü ile ilgili olarak kimyasal (pestisit ve herbisit kalıntıları) bulaşan, mikrobiyolojik bulaşan, doğal toksinler (mikotoksinler, patojen toksinleri vb.), allerjenler, proses kontaminantları (biyojen aminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar), gıda bileşen analizi ile proses kalite ve kontrol uygulamaları gerçekleştirilmektedir (Baş ve Deniz 2015).

Gıda sektöründe, üretim prosesinden paketleme aşamasına kadar olan tüm süreçte markete girmeden gıda kalite kontrolü çok önemlidir. Ayrıca, bir ürünü rafa ulaşmasından tüketim süresini tamamlayana kadar izlemek de aynı derecede önemlidir. Gıdadaki etanol potansiyelini göstermek amacıyla, alkol dehidrojenaz ve etanolün enzimatik tespitine dayanan ve ticari bir glükometre ile entegre halde elektrokimyasal kağıt algılama cihazı kullanılarak β -NAD⁺ ve ferrisiyanid varlığında bu sistemde elektron transferinin gerçekleştiği tespit edilmiştir (Nie vd. 2010).

Son zamanlarda bakteriler, mikotoksinler, algal toksinler, virüsler, ilaçlar, böcek ilaçları ve metal iyonları dahil olmak üzere gıda ve su güvenliği ile ilgili analitlerin tespiti için E-aptasensörler geliştirilmiştir. Burada incelenen e-aptasensörler, genellikle, bir enzimatik katalitik reaksiyon ve / veya nanomalzemelerin kullanımı gibi bir veya daha fazla sinyal amplifikasyon yönteminin kullanılmasıyla gerçekleştirilmektedir (Li vd. 2019).

Yiyecek ve içecek örneklerinde ilaç kalıntıları yani pestisitler, insan sağlığını etkilediği için analizlerle kontrol altında tutulmalı ve kalite kontrolünün sağlanması gerekmektedir. Bu sebeple asetilkolinesteraz enzimi ve ikisinin kombinasyonunun mavi bir renk oluşturduğu test için indofenil asetat reaktifinden oluşan bir biyosensör geliştirilmiştir. Pestisitlerin varlığında, dijital bir kamera kullanılarak mavi renk yoğunluğunda bir azalma görüldüğü belirtilmiştir. Her ne kadar analiz bilgisayar kullanarak ek işlem adımları gerektirse de, sensör diğer karmaşık laboratuvar cihazlarına kıyasla basit ve hızlı kabul edilmektedir (Hossain vd. 2009). Jiang vd. (2019)'a ait çalışmada düşük maliyetli, üretimi basit, tek kullanımlık, elektrokimyasal hücre bazlı bir kağıt sensörü, temel süt alerjen maddesi kazeinin duyarlı bir şekilde belirlenmesi için geliştirilmiştir. Sonuçların geleneksel analizler ile tutarlı olduğu tespit edilmiş, iyi bir stabilite ve tekrar kullanılabilirlik gösterilmiştir (Jiang vd. 2019).

Çizelge 2.1 Gıda sektöründe gerçekleştirilen biyosensör uygulamalarına örnekler (Aykut ve Temiz 2006; Mello ve Kubato 2002; Kulkarni vd. 2014)

Analit	Örnek	Kaynak
Glikoz	Meyve suları ve süt Şıra ve şarap Bal ve meyve suları Bisküviler, meyve suları ve süt Şarap İçecekler	Centonze vd. 1997 Del Cerro vd. 1997 Gavalas vd. 2000 Mannino vd. 1997 Svorc vd. 1997 Wu vd. 2000
Glikoz ve laktoz	Süt Domates suyu	Liu vd. 1998 Palmisano vd. 2000

Çizelge 2.1 Gıda sektöründe gerçekleştirilen biyosensör uygulamalarına örnekler (Aykut ve Temiz 2006; Mello ve Kubato 2002; Kulkarni vd. 2014) (devam)

Glikoz ve galaktoz	Yoğurt ve süt	Mannino vd. 1999
Glikoz, fruktoz ve etanol	Şarap	Miertus vd. 1998
Fruktoz	Bal Meyve suları Tatlandırıcılar ve diyet ürünleri	Bassi vd. 1998 Boujtita ve Murr 2000 Garcia vd. 1998
Laktoz	Süt	Amarita vd. 1997
Nişasta	Buğday unu	Marconi vd. 1998
Etanol	Bira Şarap Alkollü içecekler	Boujtita vd. 2000 Katrlik vs. 1998 Leca ve Marty 1998
Polifenoller	Zeytinyağı Çay	Campanella vd. 1999; Dall'Orto vd. 1999 Thakur ve Raghvan 2013
Askorbik asit	Meyve suları	Alkylmaz ve Dinçkaya 1999
L-malat	Şarap, meyve suları, hafif içecekler	Gajovic vd. 1997
L-malat ve L-laktat	Şarap	Katrlik vd. 1999
Aminler	Balık Meyveler ve sebzeler Et	Bouvrette vd. 1997 Esti vd. 1998 Park vd. 2000
Biyojenik aminler Histamin	Balık Deniz ürünleri Balık	Tombelli ve Mascini 1998 Hibi ve Senda 2000 Niculescu vd. 2000
Sülfid	Şarap	Situmorang vd. 1999
Nitrat	Sentetik örnekler	Moretto vd. 1998
Antibiyotikler	Süt Gıdalar	Baxter vd. 2001; Bergstrom vd. 1999 Haasnoot ve Verheijen 2001

Çizelge 2.1 Gıda sektöründe gerçekleştirilen biyosensör uygulamalarına örnekler (Aykut ve Temiz 2006; Mello ve Kubato 2002; Kulkarni vd. 2014) (devam)

Bakteri	Et Tavuk ve yumurta	DeMarco vd. 1999 Su vd. 2001
Herbisit	Sebzeler İçme suyu	Starodub vd. 2000 Steegeborn ve Skladal 1997
Pestisit	Sentetik örnekler Süt Sebze ve meyve suları Meyve ve sebzeler	Abad vd. 1998; Campenalla vd. 1999 Medyantseva vd. 1998 Nunes vd. 1998 Palchetti vd. 1997
Aspartam	Gıdalar	Campagnone vd. 1997
Toksin	Gıdalar	Carter vd. 1997

Biyosensörler, avantajları sayesinde genellikle toksik etkideki madde analizlerinde, klinik alanda glukoz, ürik asit, protein, laktat, nitrat, keton, kolesterol, nükleik asit, kanser ve diğer insan sağlığını tehdit eden hastalıklarda; çevre alanında içme suları vb. örneklerde; gıda alanında pestisit, herbisit, nitrat, sülfid, laktat, laktoz, glikoz, früktoz, polifenol, biyojen amin, etanol gibi analitlerin analizlerinde kullanılmaktadır.

2.1.2 Yanal akış sistemleri

Mikroakışkan sistemler veya çip üzerinde laboratuvar teknolojileri, dünya pazarını değiştirecek en yeni teknolojilerden biri olarak kabul edilir (Neethirajan vd. 2011). ELISA'daki mikrotitre kuyucuklarının yerine şeritlerin kullanılması, yanal akış şeridi teknolojisinin gelişmesine yol açmıştır (Ahmed 2002). Yüksek mühendislikle tasarlanmış yanal akış immünolojik analizler, etiketli antikolar veya analitler kullanılarak çok çeşitli analitlerin “evet / hayır” tespitini sağlayabilen ve yaygın olarak kullanılan analizlerdir (Frank 2002; Bowman vd. 2004). Yanal akışkan sistemler, farklı parçaları plastik bir sırt üzerine monte edilmiş bir şerit üzerinde gerçekleştirilir. Bu parçalar örnek uygulama pedi, birleşik ped, nitroselüloz membran ve adsorpsiyon

pedidir. Nitroselüloz membran ayrıca test ve kontrol hatlarına ayrılmaktadır. Şeridin farklı bölümlerinde önceden immobilize edilmiş reaktifler, sıvı numunenin akışıyla aktif hale getirilir (Sajid vd. 2015).

Akışkan numunesi uygulanarak aktifleştirilen, kuru reaktifler içeren bir taşıyıcı malzemenin önceden hazırlanmış şeritleri olan yanal akış sistemleri, hamilelik ve organ yetersizliği, spesifik patojenlerle enfeksiyon, kontaminasyon, gıda, yem ve çevrede bulunan toksik bileşen varlığı, yasadışı ilaçların kötüye kullanım durumlarında tanı amaçlı kullanımı önemli bir yere sahiptir. Yanal akış sistemleri, özellikle bakım/ihtiyaç noktası, yani laboratuvar dışında tek kullanım için tasarlanmışlardır. En bilinen uygulaması hamilelik testidir. Sonuçlar kısa sürede çıkar; yüksek hassasiyete, seçiciliğe ve kullanım kolaylığına sahiptir (Posthuma-Trumpie vd. 2009). Yanal akış formatı 5-10 dakikada sonuç verir, ekonomiktir, satış noktası uygulamasına daha elverişlidir ve gıda tedarik zincirinin başlarında ilk eleme yöntemi olarak kullanılmaya uygundur (Ahmed 2002). Ayrıca tek adımda analiz imkanı, basit enstrümantasyon, kullanıcı dostu format, kromatografik ayırmaya göre kolay kullanım, yüksek özgüllük, biyouyumluluk, sonuçların tekrarlanabilirliği, geniş çalışma aralığı ve daha iyi hassasiyet, analizin doğruluğu, yüksek verim, farklı çevresel koşullar altında uzun süreli stabilite, minyatürleştirme imkanı ve taşınabilirlik, işletme kolaylığı, konfigürasyon esnekliği ve seri üretim potansiyeli iyi bir yanal akışkan biyosensörünün özellikleridir (Sajid vd. 2015; Liu vd. 2011). Bu sebeple tıbbi teşhis, evde, bakım noktasında teşhis ve çeşitli çevresel ve tarımsal kirlenmelerin tespiti için kullanılmaktadırlar (Liu vd. 2011). Yanal akış sistemlerinin kullanım alanlarının daha anlaşılır olması için gerçekleştirilen çalışmalardan bazıları örnek olarak verilmiştir. Gıda ve su güvenliğinin sağlanmasında, gıda ve içme suyuna bakteri kontaminasyonunun önemli bir tehlike arz ettiği bilinmektedir. *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri temel olarak kontamine su ve yiyecek tüketimi ile bulaşır. Gıda güvenliği açısından analizler ile kontrolünün sağlanması gereken bu familyanın tespiti için Singh vd. (2014)'e ait çalışmada yanal akış testi kullanılmıştır. Yanal akış sistemi altın nanoparçacık bazlı olarak geliştirilmiştir. Çalışma sonucunda *Enterobacteriaceae* familyasından *E. coli* ve *Salmonella* serotiplerinin gıda ve su kaynaklı enfeksiyonlarda rol aldığı tespit edilmiştir (Singh vd. 2014). Diğer bir çalışma, insan sağlığına zararları olan pestisit analizine

yönelik gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada manyetik Fe₃O₄ nanoparçacıklarına dayanan hassas bir manyetik yanıl akış immünokromatografik testi oluşturularak, manyetik sinyal aracılığıyla oldukça hassas bir pestisit analiz yöntemi sağlanmıştır (Liu vd. 2011). Başka bir pestisit analiz çalışmasında; reaktifsiz bir yanıl akışlı kağıt sensörü, çeşitli "bioink" tabakalarının lekelenme veya mürekkep püskürtmeli baskısı kullanılarak kağıda kaplanmasıyla geliştirilmiştir. Çıplak gözle veya dijital bir kamera tarafından tahmin edilen renk yoğunluğunun, pestisit konsantrasyonuyla ters orantılı olduğu belirtilmiştir. Bu sayede, gıda örneklerinden toplanan pestisit kalıntılarının elektrik enerjisine veya karmaşık enstrümantasyona ihtiyaç duyulmadan analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonunda; yanıl akışlı biyoaktif kağıt tabanlı analiz platformunun, çevre ve gıda maddelerinde eser miktarda organofosfat ve karbamat pestisitlerinin hızlı bir şekilde taranması için uygun olduğu tespit edilmiştir (Hossain vd. 2009).

Mikotoksinleri tespit etmek ve ölçmek, gıda güvenliğini sağlamak için önemli noktalardan birisidir. Bunun için son derece hassas ve basit bir yöntem olan yanıl akış sistemlerinin tercih edildiği çalışmada, bir adımlık test ile mikotoksinlerin kalitatif veya yarı kantitatif olarak belirlenebildiği, enstrümantasyon ve ilave kimyasallara ihtiyaç duyulmaksızın birkaç dakika içinde analizin gerçekleştirilebildiği ve uzman gerekmeden sonuçların yorumlanabildiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada, yiyecek numunelerinde model bir bileşik olarak aflatoksin B₂'nin hızlı bir şekilde taranması için membran bazlı yanıl akış immüno-çubuk testi kullanılmıştır. Hedef antikoru kontrol ederek gerçekleştirilen analizin, diğer gıdalarla ilgili toksinlerde de kullanımın kolayca genişletilebilir olduğu tespit edilmiştir (Tang vd. 2009).

Çizelge 2.2 Yanal akış sistemlerinin kullanım alanına örnekler (Posthuma-Trumpie vd. 2009)

Analit	Kaynak
Çiğ süt, kıyılmış et, elma suyu ve salamda <i>E.coli</i>	Aldus vd. 2003, Capps vd. 2004
Aflatoksin B1	Delmulle vd. 2005
<i>Botulinum</i> nörotoksin D	Klewitz vd. 2006
Tahıl ve sebze ekstratlarında karbaril ve endosülfan	Zhang vd. 2006
Tahıl ve fıstıkta fumonisin B1	Wang vd. 2006
Yumurta ve tavuk kasında sulfonamidler	Wang vd. 2007
Aflatoksin B2	Tang vd. 2009
Pestisit	Liu vd. 2011
<i>E. coli</i> ve <i>Salmonella</i>	Singh vd. 2014

2.1.3 Kağıt tabanlı platformlar

1956 yılında hamilelik test kiti oluşturulurken, kağıt cihazının (ileride immünokromatografik kağıt test şeritleri ya da dipstik testleri olarak geliştirilen) idrar örneği için glikoz tespitinde kullanımının, hızlı analiz yöntemlerinden kağıt tabanlı platformlarla gerçekleştirilen ilk çalışma olduğu bilinmektedir (Comer 1956).

2007 yılında Ulusal Sağlık Enstitüleri (National Institutes of Health) tarafından desteklenen bir araştırmada, kağıda dayalı algılama için dönüm noktası olan desenli kağıt üzerinde düşük maliyetli, taşınabilir ve çok katlı bir biyo-analiz platformunun oluşturulduğu açıklanmıştır. Andrews ve çalışma arkadaşlarının gerçekleştirdiği tarihe geçen bu çalışmada, hidrofobik polimer ile sınırlandırılmış hidrofilik kağıt içeren iyi tanımlanmış, milimetre boyutunda kanallar oluşturmak ve kağıdın desenlenmesi için basit bir yöntem açıklanmıştır. Desenli kağıtta düşük maliyetli, taşınabilir ve teknik olarak basitçe biyolojik deneylerin gerçekleştirmenin temellerini bu çalışma ile attıklarını belirtmişlerdir. Desenli kağıtta 5 µl idrarda glikoz ve proteinin eşzamanlı tespiti gerçekleştirilmiştir. Analiz sistemi küçük, tek kullanımlık, kullanımı ve taşınması

kolay bir sistem olup harici ekipman, reaktif veya güç kaynağı gerektirmediği belirtilmiştir. Çalışmada kullanılan yöntemle, özellikle daha az sanayileşmiş ülkelerde basit analizlerin gerçekleştirilmesi, hastalıkların tespit edilmesi, sağlık durumlarının izlenmesi ve klinik ortamlarda kullanılan daha ileri teknolojilere alternatif olması sebebiyle basit, ucuz ve taşınabilir analizlerin geliştirilmesinin cazip hale geleceği vurgulanmıştır (Martinez vd. 2007).

Öncü çalışmayı gerçekleştiren Whitesides ve ekibi 2008 yılında, biyoanalitlerin miktarlarını belirlemek ve saha dışında bulunan uzmanlarla tahlil sonuçlarını dijital olarak transfer etmek için bir prototip sistemi açıklamıştır. Taşınabilir tarayıcılar ya da telefon kameraları aracılığıyla gerçekleştirilen kolorimetrik analizlerle ilişkili renk yoğunluğunun sayısallaştırılması ve eğitilmiş bir uzman tarafından saha dışındaki analizden dijital bilgilerin transferi için eş zamanlı çoklu analizleri gerçekleştiren mikroakışkan kağıt tabanlı cihazlara ait altyapı kurulmuştur. Mikroakışkan cihazlar kağıtta fotolitografi kullanılarak imal edilerek ve kolorimetrik deneyler için reaktifler ile işlevselleştirilmiştir. Analiz sonuçları, kalibrasyon eğrileri ile tespit edilen her örnekte gelişen renk yoğunluklarının karşılaştırılmasıyla elde edilmiştir. Ortaya konan sistemin bir örneğinin, yapay idrarda klinik olarak ilgili glikoz ve protein konsantrasyonlarını başarıyla tespit edebildiği rapor edilmiştir. Ayrıca dünyada, acil durum yönetiminde ve askeri operasyonlar sırasında analiz konusunda deneyimli olmayan personel tarafından analizlerin gerçekleştirilebileceği ve etkili sonuçların elde edilebileceği belirtilmiştir (Martinez vd. 2008).

2007 yılında piyasaya sunulduğundan beri, kağıt tabanlı mikroakışkan cihazlar (mikroPAD'ler), bakım noktası tanı testleri ve platformlar için temel araçlar olarak kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Strong vd. 2019). Mikroakışkan kağıda dayalı analitik cihazların, ucuz, kullanımı kolay ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde kullanılmak üzere tasarlanmış bakım noktasında kullanılabilen yeni bir tanı cihazı olduğu belirtilmiştir (Martinez vd. 2010). Kağıt tabanlı tanılama araçları, özellikle gelişmekte olan ülkeler için umut verici, uygun maliyetli bir format olarak ortaya çıkmaktadır (Pelton 2009).

Platformların üretiminde kullanılan kâğıt çok ucuz, bol, hafif, ince, esnek bir malzemedir ve ana bileşeni yanal akış sistemlerinde teşhis potansiyeli bulunan selüloz lifidir. Kağıda dayalı cihazlar, kolay şekillendirme, daha az numune hacmi gereksinimi ve testten sonra kağıdın atılmasında kolaylık sağlayan benzersiz avantajlara sahiptir (Pelton 2009). Mikroakışkan sistemlerin üretiminde kağıdın çekici bir substrat haline gelmesinin nedenleri arasında, her yerde bulunan ve çok ucuz yenilebilir kaynaklardan üretilen bir selülozik malzeme olması; birçok kimyasal/biyokimyasal/tıbbi uygulama ile uyumlu olması; dış kuvvetlerin yardımı olmadan kılcal kuvvetler kullanarak sıvıları taşıması, sıvı akışının kağıdın içinde oluşturulan kanalların içinde tutulması ve bu sayede sıvı akışının kontrollü bir şekilde yönlendirilebilmesi, gibi özellikler bulunmaktadır. Kağıt, üzerinde önceden tasarlanmış yollardaki sıvıları taşıyabilen çeşitli 2D ve hatta 3D mikroakışkan kanalların oluşturulmasına imkan tanımaktadır (Li vd. 2012). Ayrıca kağıdın, ince, hafif ($\sim 10 \text{ mg / cm}^2$), çok çeşitli kalınlıklarda (0.07-1 mm), depolanabilmesi ve taşınabilirliği, proteinlere, DNA'ya veya küçük kovalent olarak bağlanabilen çok çeşitli fonksiyonel grupları içerecek şekilde kimyasal olarak modifiye edilebilirliği ve yine çok çeşitli malzeme özelliklerine sahip (örneğin; elektriksel olarak iletken, manyetik olarak duyarlı, vb.) olması tercih edilme nedenleri olarak belirtilmektedir (Giddings ve Keller 1965; Macek ve Becvarova 1971; Pelton 2009; Zhao ve van den Berg 2008; Dolin ve Adams Dolin 2001; Martinez vd. 2010). Kağıdın ana bileşeni olan selüloz elyafları, hidrofilitiklik, geçirgenlik, piezoelektriklik ve reaktivite gibi özelliklerini uyarlamak için kolayca işlevselleştirilebilir, kullanımdan sonra kolayca ve güvenle atılabilir, analiz sonuçlarına ait tespit limitini artırabilir (Pelton 2009; Martinez vd. 2010).

Günümüzde, pratik uygulanabilmeleri açısından, gözeneklilik, yüzey kimyası optik özelliklerine sahip çeşitli kağıt malzemeleri geliştirilmiştir ve bu malzemeler bakım noktası teşhis cihazlarını imal etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. En yaygın substratlar filtre kağıdı, kromatografi kağıdı, nitroselüloz membran ve kağıt / polimer veya kağıt / nanomalzeme kompozitleridir (Hu vd. 2014). Literatürde kâğıt bazlı mikroakışkan cihazların imalatı için; fotolitografi, analog çizici ile çizme, mürekkep püskürtmeli gravür, plazma işlemi, kağıt kesme, balmumu baskı, mürekkep

püskürtmeli baskı, fleksografi baskı, serigrafi ve lazer işleme tekniklerini kullanılmaktadır (Li vd. 2012).

Gelişmiş dünyadaki hastalıkları saptamak için mevcut teknolojiler, şeritler, yanal akış gibi basit olan sistemler dahi, gelişmekte olan ekonomilerde yaygın kullanım için çok pahalıdır veya bu bölgelerde bulunan analitik ihtiyaçlar ve zorlu ortamlar için tasarlanmamıştır (Silveria vd. 2016). Whitesides vd. (2008) ucuz ve kullanımı kolay bir teşhis platformunu (desenli kağıt), ihtiyaçları gidermek için tasarlamıştır. Sistemin idrarda glikoz ve proteini tespit ederken, küçük miktarlarda numune kullanarak (<5 µL), nicel analiz için kesin bir numune hacmi gerektirmeden doğru ve kantitatif sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (Martinez vd. 2008).

Kağıt tabanlı analiz tekniklerinin ilk önce klinik alanda uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Daha sonra diğer alanlarda dikkat çektiği için ihtiyaç doğrultusunda araştırmalar ve denemeler yapılmaya başlanmıştır. Günümüze kadar klinik tanıda idrar, tükürük ve kan benzeri gerçek örnekler kullanılarak glukoz, ürik asit, protein, laktat, nitrat, keton, kolesterol, nükleik asit gibi çeşitli analit türlerinin tespitinde kağıt tabanlı sensörlerin kullanıldığı çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Liana vd. 2012). Kağıt algılama cihazları sağlık teşhisi, teletıp, çevresel izleme ve gıda kalite kontrolü gibi uygulama alanlarında umut verici bir platform oluşturarak uygulanabilmektedir (Malekghasemi 2015). Martinez vd. (2007) çalışmasında glikoz ve protein analiz sonuçları tespit edilerek kavramın doğruluğu gösterilmektedir (Martinez vd. 2007). Kağıt tabanlı platformların ana malzemesi olan kağıt, analitik ve klinik kimyada yaygın olarak kullanılmaktadır (Feigel 1946). 19. yüzyılda geliştirilen kağıt kromatografisi, küçük moleküller, amino asitler, proteinler ve antikorların karışımlarını ayırmak ve tanımlamak için kullanılmıştır (Giddings ve Keller 1965; Clegg 1950). Ürinaliz ölçüm çubukları ve turnusol kağıdı en çok kullanılan kâğıt bazlı teşhis cihazlarıdır. Aynı zamanda kağıt, klinik teşhis, organik ve inorganik kimyasal analiz, çevresel ve jeokimyasal analiz, farmasötik ve gıda kimyasalı içeren uygulamalarda da kullanılır (Feigel 1946; Hossain vd. 2009). Kağıt ayrıca, peptidlerin ve küçük moleküllerin sentezi için kimyada bir platform olarak kullanılır (Wong 2009; Su vd. 2008). Klinik

olarak başlayan bu tanısal testler/yöntemler avantajları sebebiyle gıda sektöründe de yayılmıştır. Ancak kullanımları kısıtlı haldedir.

Neethirajan (2011)'e ait çalışmada; gıda, tarım ve biyosistem endüstrileri ile ilgili mevcut uygulamalar ve devam eden mikroakışkan sistemlerinin araştırılmasında beş spesifik alanda denemeler yapıldığı belirtilmiştir: (1) gıda güvenliği, (2) gıda işleme, (3) hayvan bilimi, (4) bitki üretimi ve (5) biyoyakıt üretimi. Bu alanların yanısıra gıda kaynaklı hastalıkların mevcut durumu, mikrobiyal kontaminasyon, pestisitler, metal kirleticiler ve mikotoksinler tespitinde de kullanılmaktadır. Gıda kaynaklı hastalıklar ile ilgili sorunları yönetmek ve üstesinden gelmek için, gıdada toksik kirleticilerin varlığını hızlı bir şekilde ölçmek ve düzeltici önlemlerin alınabilmesi için kullanımı kolay testler geliştirmek önemlidir. Geleneksel analitik enstrümantasyonun alternatifi olarak çeşitli enzim bazlı ve biyo-afinite analizleri bildirilmiştir. Taşınabilir, düşük maliyetli ve kullanıcı dostu sensörler, bakım noktası medikal teşhis, çevresel izleme ve gıda kalite kontrolü için geleneksel analitik yöntemlere alternatif olarak geliştirilmiştir. (Bülbül vd. 2015).

Kağıt tabanlı platformların, gerek kullanılan malzemeleri gerekse kullanım alanlarındaki avantajları sayesinde gerçekleştirilmiş çalışmalar ve araştırmalar çok fazladır ve her geçen gün artmaktadır. Kağıdın mikroakışkan uygulamalarda bir substrat olarak kullanılmasıyla, enzimatik reaksiyonlar (glukoz tespiti); immünojenik tahliller (antikorlar *anti-Layishmania* saptama); nükleik asit sekans tanımlaması (*Mycobacterium tuberculosis* kompleksi tespiti) gibi kolorimetrik temelli yöntemlerin gerçekleştirildiği belirtilmiştir (Costa vd. 2014). Zhao ve arkadaşları (2008), basit, hızlı ve ucuz kağıt tabanlı platform deneylerinin bakteri ve diğer patojenler açısından gıda ve su kirliliğinin izlenmesi için kullanıldığını çalışmalarında aktarmışlardır (Zhao vd. 2008). Bu kapsamda gerçekleştirilen çalışmalardan birinde; geleneksel numune hazırlama adımlarını atlayan, gömülü QR kod kullanan sistem ile indol üreten *Escherichia coli* (*E. coli*) 'yi hızlı bir şekilde tespit edebilen bir mikroakışkan cihaz tasarlanmıştır. Bu QR kağıt mikroakışkan platformunun, hem teletıp hem de uçucu biyobelirteçleri kullanarak tanı koymada yeni bir gelişme olduğu, sıvı ortamda üç *E. coli* suşunun baş boşluğundaki indolü belirleyebildiği, kağıt tabanlı bir QR cihazının

etkin bir kolorimetrik tanı analizi olarak kullanıldığını gösteren ilk çalışma olduğu belirtilmiştir (Burklund vd. 2018). Diğer bir çalışmada; biyoaktif kağıt tabanlı analiz platformun, çevre ve gıda maddelerinde eser miktarda organofosfat ve karbamat pestisitlerinin hızlı bir şekilde taranması için uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Hossain vd. 2009). İmmunoanalizler, bulaşıcı hastalıklar, solunum, kardiyovasküler, onkoloji ve kadın sağlığı konularında; ürün analizleri, hamilelik, glukoz, protein, keton, lökositler, nitrit, billirubin, madde bağımlılığı tanılarında; su, toprak ve havadaki kontaminasyon için çevresel izlemede; şarbon, veba, tularemi, *Botulinum* toksini, *Brucella* ve sinir ajanları için biyoterörizmde; mikotoksinler, gıda alerjenleri, genetiği değiştirilmiş organizmalar, ilaç kalıntıları, içecek ve gıda kaynaklı patojenler gıda güvenliğinde; bakteriyel, viral, parazit patojenler veterinerlik alanında kağıt tabanlı platformların kullanıldığı belirtilmiştir (Yetisen vd. 2013).

Çalışmalara genel açıdan bakıldığında; son yıllarda yeni bir biyoanalitik araç olarak, kağıt tabanlı analitik cihazların protein, nükleik asit ve hücresel maddeler için klinik analizlerde, çevre araştırmalarında, gıda güvenliği analizlerinde ve moleküler tanılamalarda yaygın olarak kullanıldığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 2.3 Kağıt tabanlı platformların kullanım alanına örnekler (Li vd. 2012)

Analit	Örnek	Kaynak
Glukoz	Ürün Gözyaşı Vişne nektarı ve bal	Martinez vd. 2007, 2008 Abe vd. 2008 Nie vd. 2009 Dungchai vd. 2009 Songjaroen vd. 2011 Garcia vd. 2016 Baş 2017
Protein bovine serum albumin Protein	Ürün	Martinez vd. 2007 Abe vd. 2008 Dou vd. 2015
Plazma protein	İnsan kanı	Wang vd. 2013
pH	Ürün	Abe vd. 2008
Ağır metaller	Su ve toprak	Nie vd. 2009
Laktat	Serum örnekleri	Dungchai vd. 2009
Keton	Ürün	Klasner vd. 2010
Au(III), Fe(III)	Çevresel örnekler	Apilux vd. 2010

Çizelge 2.4 Kağıt tabanlı platformların kullanım alanına örnekler (Li vd. 2012) (devam)

Nitrit	Salya Kanal suyu	Klasner vd. 2010 Metters vd. 2012
Polifenol ve flavonoidler	Şarap	Vaher ve Kaljurand 2012
Fenolik bileşenler	<i>Catharanthus roseus</i> , <i>Vinca minor</i> bitkileri	Aid vd. 2015
Nükleik asit	Kan	Dou vd. 2015 Choi vd. 2015
Pestisitler	Süt ve elma Elma ve marul	Dou vd. 2015 Meredith vd. 2016
Bakteriler (<i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> ve <i>S. enterica</i>)	Hazır Et	Meredith vd. 2016
Organik moleküller	Su	Meredith vd. 2016
Metal, metal olmayan bileşikler	Nehir suları	Meredith vd. 2016

2.1.4 Uygulama alanları

Hızlı analiz yöntemlerinden kağıt tabanlı platformların belirtilen avantajları sayesinde kullanımları, farklı alanlarda yayılmıştır. Literatürdeki uygulamalar incelendiğinde; klinik, çevresel ve gıda alandaki analiz sonuçlarının ağırlıklı olarak çıplak gözle veya bilgisayar ortamında okuma yapılarak elde edildiği saptanmıştır. Yerinde yani sahada analiz yapılmasını sağlayan çalışmalar literatürde çok azdır. Bu tez çalışmasındaki analizlere ait sonuçlar, literatürdeki açığı kapatmak amacıyla akıllı telefonların kullanımı ile elde edilmiştir.

2.1.4.1 Klinik analizler

Hızlı analiz yöntemleri ve alt kollarından biri olan kağıt tabanlı platformların kullanım alanının Martinez ve arkadaşlarının gerçekleştirmiş olduğu çalışma ile ilk olarak sağlık sektöründe başladığı bilinmektedir (Martinez vd. 2007). Çünkü insan sağlığını tehdit eden toksik, kanserojen maddelerin ve diğer hastalık etkenlerinin analizlerini hızlı bir şekilde gerçekleştirmek çok önemlidir. Bu sebeple kağıt tabanlı platformların kullanım kolaylığı, ekonomik, hızlı, güvenilir ve hassas oluşu gibi özellikler sağlık sektöründe, klinik alanda çalışmaların hızla yayılmasını sağlamıştır. Klinik alanda gerçekleştirilen ilk çalışmalardan Martinez vd. (2008) ait çalışmada, az miktarlarda kullanılan idrar

numunelerinde glikoz ve protein miktarlarına ait doğru ve kantitatif sonuçlar elde edildiği, nicel analiz için kesin bir numune hacmi gerekmediği belirtilmiştir (Martinez vd. 2008).

Kağıt tabanlı platformların klinik alandaki analizlerde yaygın kullanım nedenleri arasında, az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde diyabet ve diğer glukoz endikasyon hastalıklarının ilerlemesi gelmektedir. Bu amaçla, glukoz tespiti için düşük maliyetli ve güvenilir ticari mikroPAD'lerde kanalların üretimi ile glukoz tespitinin stabilitesinin ve doğruluğunun artırılması için gelişmiş teknik kullanımlarının gerçekleştirildiği belirtilmiştir (Liu vd. 2016). Glukoz analizi başka bir çalışmada, minyatürleştirilmiş mikroPAD'lerin enzim fonksiyonelliği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan glukoz oksidaz ve yabanturbu peroksidaz enzimlerinin aktivitesinin analiz için gerekli olduğu ve analiz sonuçlarının dijital görüntü kolorimetrisi ile ölçülerek doğrusalık elde edildiği tespit edilmiştir (Strong vd. 2019). Li vd. (2016)'ya ait çalışmada ise; glukoz miktarını ölçmek için tam çekilmiş grafit kalem elektrotları ile birleştirilmiş bir origami kağıt tabanlı analitik cihaz geliştirilmiştir. Kağıt üzerinde oluşturulan hidrofilik noktalardan birinde hareketsiz hale getirilmiş enzim ve redoks medyatör kullanımının çalışmada, iyi analitik performans ve kısa deney süresi ile insan kanındaki glukozun saptanmasına izin verdiği belirtilmiştir (Li vd. 2016). Ayrıca kronik komplikasyonlu ve uzun süreli diabetik olgularda kan viskozitesinin önemli düzeyde artmış olduğu ve bu nedenle viskozite seviye ölçümünün klinik alanda önemli olduğu vurgulanmaktadır. Kang vd. (2019)'a ait çalışmada; özellikle klinik tanı için geliştirilen kağıt tabanlı bir viskozimetre kullanılarak kan plazmasının viskozitesini ölçmede kolorimetrik bir yöntem sunulmuştur. Önerilen analitik cihaz, sıvı yükleme, karıştırma ve ölçüm bölgelerine sahip çok katmanlı kağıtlardan oluşmaktadır ve bu üç katmanlı kağıt kanalları kullanılarak cihazın basit bir şekilde imal edilebilir olduğu belirtilmektedir. Çalışmada; viskozite ölçümleri için kağıt tabanlı viskozimetrenin rahatlığını ve kullanımını arttırmaya yardımcı olan basit bir akıllı telefon uygulaması geliştirilmiştir. Kolorimetrik analiz, tek bir görüntüdeki bir maddenin rengindeki değişim derecesinin akıllı telefon kullanılarak ölçülmesi ve sonuçların uygulama aracılığıyla verilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Kullanılan kağıt tabanlı viskozimetre için, akıllı telefon uygulamasının literatürde bildirilen değerlerle iyi bir uyum içinde olduğu

bulunmuştur. Kang vd. (2019) çalışmasında ayrıca viskozimetre kullanımının; gliserinli çözelti, bovine serum albümin çözeltisi, dimetil sülfoksit ve insan kan plazması gibi sıvılarda gerçekleştirildiği bildirilmiştir (Kang vd. 2019).

Diyabet tespitinde kağıt tabanlı platformların kullanımı diğer klinik alanlarda da ilgi uyandırarak hızla yaygınlaşmıştır. Diyabet gibi, dünya çapında neredeyse salgın haline gelen kronik kardiyovasküler ve böbrek hastalıklarının önüne geçilmesi için erken ve doğru tanı çok önemlidir. Bu hastalıklara ait incelemelerin maliyetli oluşu, gelir seviyesi düşük olan hastalarda geç tanı konmasına sebep olabilmektedir. Alandaki bu boşluğu gidermek için, ekonomik, kullanımı kolay kağıt tabanlı bir mikroakışkan immünoanaliz sistem geliştirilmiştir. Dong vd. (2017)'ye ait çalışmada; kronik kalp ve böbrek hastalıklarında prognozun güçlü bir belirleyici olması sayesinde C-reaktif protein kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. Kanda hızlı ve düşük maliyetli C-reaktif protein tespiti için akıllı telefona C-reaktif protein çipi entegre edilerek sonuçlar elde edilmiştir (Dong vd. 2017). Torul (2015) çalışmasında da, kağıt tabanlı mikroçipler glikoz ve biyobelirteç tayinleri için kullanılmıştır (Torul 2015). Genel olarak, insan sağlığı için hızlı ve doğru hastalık tanılarının konması, gerekli önlemlerin alınması için kağıt tabanlı platformların klinik alandaki kullanımı yayılmaya devam etmektedir.

2.1.4.2 Çevre analizleri

Pek çok avantaja sahip kağıt tabanlı hızlı analiz yöntemlerinin klinik alanda kullanımı bilinirliğini arttırmış; diğer alanlarda da deneme çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Salgın ya da bulaşıcı hastalıklar gibi çevre koşulları da insan sağlığını etkileyen parametrelerden biridir. Bir ortamda temiz hava, toprak ve su bulunmazsa o ortamda hastalıkların artması, canlıların hayatlarını kaybetmesi olasıdır. Bu sebeple canlıların sağlığını tehdit eden, doğanın devamlılığını engelleyen zararlı etkenlerin teşhis edilmesi önem arz etmektedir. Çevresel analitler, kabaca, inorganik (metaller ve fosfat gibi metal olmayanlar), organik (küçük moleküller, böcek ilaçları, vb.) ve biyolojik (bakteriler vb.) - veya özel uygulamalar (patlayıcı maddeler) olmak üzere üç sınıfa ayrılabilir (Meredith vd. 2016). Çevresel analitler üzerinde gerçekleştirilecek teşhis analizlerinin hızlı, güvenilir ve hassas olması çalışmaların artmasını dolayısıyla da kontrolleri

arttırmaktadır. Hızlı, ekonomik, taşınabilir, kolay ve diğer avantajları sayesinde literatürde, çevre analizlerinin gerçekleştirilmesi için kağıt tabanlı platformların kullanıldığı çalışmalar mevcuttur.

Çevresel tehdidin bir nedeni de kontaminasyonlardır. Suyun, toprağın ve / veya havanın metal kirlenmesine ilişkin katı düzenlemelerin bulunmadığı bölgelerde, morbidite ve mortaliteye katkıda bulunmak için insanlar metallere maruz bırakılmaktadır. Fe, Cu, Cr ve Co gibi redoks aktif metaller, organizmalarda oksidatif strese neden olabilen serbest radikal üretme kabiliyetine sahipken; Pb ve Cd gibi metaller iyi bilinen nörotoksinlerdir. Metal kirlenmesine neden olan bu elementlerin mikroPAD'ler üzerinde analizleri gerçekleştirilmiştir (Meredith vd. 2016). Çevresel ve biyolojik numunelerin gerçek zamanlı ve yerinde izlenebilirliği de kağıt tabanlı platform gibi hızlı analiz yöntemleri sayesinde mevcut hale gelmiştir. Su, toprak ve balık örneklerinde kompakt ve taşınabilir enstrümantasyon ile çevresel ve biyolojik numunelerin gerçek zamanlı ve yerinde cıva taramasının yapılabildiği bir cihaz geliştirdiklerini belirtmiştir (Tothill 2003). Cıva, kurşun ve kadmiyum gibi toksik olan ağır metal iyonları; biyolojik olarak çözünmez; bitkiler ve hayvanlarda birikme eğilimi gösterirler. Toprak ve sudaki ağır metal kirliliğinin daha önceden belirtildiği gibi küresel bir sorun teşkil etmekte ve hem ekosisteme hem de insanlara ciddi bir tehdit oluşturduğu bilinmektedir. Bu kapsamda Nie vd. (2010) çalışmasında; glikozun kronoamperometrik analizi ve μ PAD'lerin kullanımı ile ağır metal iyonlarının ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçlarında elde edilen μ PAD'lerdeki ağır metal iyonlarının ölçümlerinin, konvansiyonel sistemlere göre daha yüksek hassasiyete ve düşük tespit sınırına sahip olduğu belirtilmiştir (Nie vd. 2010). Literatürde gerçekleştirilen çalışmalarda da belirtildiği gibi çevrenin cıva (II) iyonları (Hg_2^+) ile kirlenmesi insan sağlığı ve ekosistemler için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Kullanılan birçok Hg_2^+ sensörü, karmaşık prosedürler ve enstrümanlar, uzun ölçüm süreleri gerektirmektedir. Chen ve arkadaşları (2016) çalışmalarında, kağıt tabanlı bir kolorimetrik cihaz kullanarak Hg_2^+ 'in çevre analizleri için basit, hızlı, düşük dirençli çıplak gözle nicel bir yöntem geliştirmişlerdir. Çalışmada kullanılan kağıt tabanlı platformun avantajları sayesinde, özellikle azgelişmiş ülkelerdeki çevre analizlerinde Hg_2^+ 'in tespiti için alanında büyük bir kullanım potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Chen vd. 2016). Birçok metal olmayan inorganik bileşiğe maruz

kalmayla ilgili de sağlık endişeleri duyulmakta ve izin verilen konsantrasyonları belirlemek için bu maddelerin analizlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Çevrede bulunan metal olmayan inorganik bileşiklere ait hızlı, ucuz yöntemlerden kağıt tabanlı platformla bu amaçla çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Fosfat, nitrat, nitrit, amonyak, arsenik, siyanidin bileşiklerinin ve belirteç elektrot aracılığıyla da iyot, bromit, klorit, potasyum, amonyum bileşiklerinin mikroakışkan kağıt tabanlı platformlarla analizleri gerçekleştirilmiştir (Meredith vd. 2016). Çevresel açıdan kalıcı organik kirleticilere maruz kalmanın, insan sağlığına çok sayıda olumsuz etkisi vardır. Kimyasal mücadele ajanlarının, rekreasyon ilaçlarının, uçucu organik bileşiklerin ve fenolik bileşiklerin tespiti için kağıt tabanlı sensörler bildirilmiştir. Fenolik bileşikler, ortamdaki potansiyel biyolojik birikimlerinden ve geniş kapsamlı insan ve ekolojik sağlık etkilerinden dolayı önemli bir risk oluşturmaktadır. Alkasir ve arkadaşları tarafından fenolik bileşiklerin kağıt tabanlı platformda uygulanabilirliği ilk defa kanıtlanmıştır (Alkasir vd. 2012).

Çevresel tehditlerden hava kirleticilerinin potansiyel olumsuz etkilerinin açığa çıkartılması için; trafikten yayılan hava kirleticileri örnek alınarak biyoanalizler gerçekleştirilmiştir. Ciganek ve arkadaşları (2004) çalışmasında, az-kirlenmiş kentsel alanlarda toplanan dış hava örneklerinde genişletilmiş bir dizi polisiklik aromatik hidrokarbon ve nitratlanmış polisiklik aromatik hidrokarbon konsantrasyonlarının belirlenmesine yönelik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmanın in vitro analizler için uygun olduğu açıkça gösterilmiştir (Ciganek vd. 2004).

Çevre analizlerinde kağıt tabanlı platformlara en kritik düzeyde ihtiyaç duyulan alanlardan birisi su kirliliğinin tespitidir. İnsan, hayvan sağlığını ve doğayı etkilediği için uygun analiz platformlarının geliştirilmesi çok önemlidir. Pestisitlerin, hava, su, toprak, gıda ve yem ürünlerinde bulunan toksinler olduğu iyi bilinmektedir (Casarett vd. 2008). Bu kapsamda, Arduini ve arkadaşları (2018) çalışmalarında üç boyutlu origami kağıt cihazı, filtre ve ofis kağıtları, serigrafı, balmumu baskı ve nanomalzeme teknolojilerinin birleştirilmesinin bir sonucu olarak yüzey suyunda hızlı, düşük maliyetli ve doğru pestisit tespiti gerçekleştirmiştir. Kullanılan origami tasarımı, birkaç ölçümü aynı anda yapabilen tek bir cihazın geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Böylelikle üç farklı pestisit varlığında; çoklu ped sistemiyle aracılığıyla pestisitlerin sınıflarını tespit

etme olasılığı ortaya konulmuştur (Arduini vd. 2018). Trang ve arkadaşları (2005) ise; gerçekleştirdikleri çalışmada; doğal su kaynaklarındaki arsenik konsantrasyonlarını ölçmek amacıyla mikrobiyal raportör bazlı bir testin oluşturulduğunu ve bu testin büyük ölçekte gerçekleştirilen ilk çalışma olduğu bildirilmiştir. Bu tür bir mikrobiyal raportör sistemin, çok çeşitli çevresel numunelerde yerel şartlar altında ilk defa test edildiği belirtilmiştir. Yer altı sularından alınan örneklerdeki pH ve As, Fe, Mn, Ca, NH_4^+ , HCO_3^- , Cl^- , O_2 kimyasal bileşenleri üzerinde bu analiz gerçekleştirilerek uygulanabilirlik gösterilmiştir (Trang vd. 2005). Sudaki nitrit konsantrasyonunu güvenle ölçmek ve suyun içilebilirlik kabiliyetini değerlendirmek amacıyla daha hassas ve güvenilir, düşük saptama limiti sağlayan kağıt tabanlı platformlarda bakteriyel kontaminasyonun bir göstergesi olan nitrit ile bitkilerin ve sudaki yaşamın sağlığı için ana göstergelerden biri olan pH analizleri geliştirilmiştir. Carrell ve arkadaşlarının (2019) gerçekleştirildiği çalışmada analizlerin uygulanabilirliği tespit edilmiştir (Carrell vd. 2019). Nehir sularında gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise; çevresel izleme ve gıda güvenliği açısından bisfenol A tespiti, duman, su ve pişmiş yiyecek numuneleri analiz edilerek yöntemin uygulanabilirliğini kanıtlanmıştır (Yeo 2016). Jayawardane vd. (2013) ait çalışmada; üç boyutlu μPAD 'ler kullanılarak suda reaktif amonyak / amonyum katyon, fosfat ve nitrit / nitratın saptanması için yeni yaklaşımları tarif eden bir dizi çalışma yayınlanmıştır (Jayawardane vd. 2013). Çevre örneklerinde, gıda ve sudaki bakteriyel kirlenmenin tespiti için de μPAD 'lerin kullanılması, hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde daha hızlı, basit, düşük maliyetli yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Çevresel örneklerde üç ana bakteri suşu (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella*) incelenerek kağıt tabanlı mikroakışkan platformların uygulanabilirliği gösterilmiştir (Jokerst 2012).

Literatürde yer alan çalışmalar göz önüne alındığında; çevre koşullarındaki olumsuz etkenlerin doğrudan gıda alanını da etkileyeceği, dolayısıyla gıda güvenliğinin, hijyeninin ve insan sağlığının riske atılacağı anlaşılmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde hızlı analiz yöntemlerinin yayılması, çevre ile bağlantılı olan gıda alanında da gerçekleştirilerek bu yolla oluşabilecek kontaminasyonların ve hastalıkların önüne geçilmesini sağlayacaktır.

2.1.4.3 Gıda analizleri

Gıdaların kimyasal yapısı, gıda kalitesi üzerinde önemli etkidir. Gıda bileşenleri, insan sağlığı açısından yararlı, enerji veren yapılara sahiptir. İnsan sağlığı üzerine böyle bir etkide olan yapıların, kullanım alanlarında kontrolleri, içeriklerinin incelenmesi ve kontaminasyon, gıda kaynaklı hastalık gibi risklerin gözlemlenmesi için periyodik olarak analiz edilmeleri gerekmektedir. Nüfus yoğunluğunun giderek artması, ortaya çıkan yeni hastalık etkenli mikroorganizmalar, gıda kaynaklı hastalıklar vb. durumlar gıda sektörünü etkileyen parametrelerdir (Dudak vd. 2011). 2005 yılında, Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre; bir milyon 800 bin kişi ishalleri hastalıklardan hayatını kaybetmiştir. Gıda kaynaklı hastalıkların toplam nüfusta görülme oranının %30'a çıktığı bilinmektedir. Bu ve benzeri olumsuz senaryoların gıda güvenliği eksikliği, kontamine gıda ve su tüketimi gibi sebeplerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Koçak 2007). Bir gıdanın kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan temiz olması insanların artık çok önemseydiği iki önemli noktadır. Mikrobiyal gıda güvenliği, gıda geri çağırılmalarından ve ticari engellerden kaynaklanan gıda endüstrisinde finansal kayıplara neden olması ve tüketicinin sağlığı üzerindeki nihai etkisinden dolayı da küresel bir endişe olarak ortaya çıkmıştır (Dudak vd. 2011). Gıda güvenliğinin ana tehdidi, biyolojik ve kimyasal kirleticilerin varlığından kaynaklanan tehlikeleri içermesidir. Kimyasal kirletici maddeler gıdalarda çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilir ve genellikle sağlık sorunlarına neden olurlar. Pestisit kalıntıları ve gıda veya yem ürünlerinde bulunan gıda kaynaklı patojenler dünya çapında daha fazla halk sağlığı sorununa neden olmaktadır. Ayrıca bulaşıcı olmaları ve insanlar için toksisiteleri nedeniyle önemli bir güvenlik sorunudur (Dou vd. 2015). Gıda güvenliği ve kalitesinin tespit ihtiyacı arttıkça, mevzuatlara ve bu doğrultuda gıda kontrolünün, güvenliğinin sağlanması için elzem analizlere karşı olan ilgi artmıştır. Bu analizler geleneksel olarak kromatografi, spektrofotometri, elektroforez, titrasyon gibi tekniklerdir. Bu yöntemler sürekli takibe izin vermezler; pahalı ve yavaşlardır; iyi eğitilmiş personele ihtiyaç duyarlar ve bazı durumlarda analiz zamanını arttırarak ekstraksiyon veya numune ön işlem adımları gerektirmektedirler (Mello vd. 2002).

Gıda endüstrileri hızı, hassasiyeti, kararlılığı, kullanım kolaylığı olan bir cihazla sürekli yiyecek ve içecek üretiminin izlenememesinden yoksundur (Kulkarni vd. 2014). Başta maliyet olmak üzere belirtilen diğer dezavantajlar ve yasal düzenlemelerdeki kısıtlamalar sebebiyle gıda endüstrisinin tüm alt birimleri, tüketicinin talepleri doğrultusunda gerekli analizler konusunda yenilik arayışına girerek bu alana ayırdıkları bütçeyi attırmaya başlamışlardır (Baş ve Deniz 2015). Belirtilen nedenlerden dolayı, karmaşık araçlara ihtiyaç duymadan hızlı bakım noktasında gıda güvenliği analizi için düşük maliyetli stratejilerin geliştirilmesinin ihtiyacı dahilinde, gıda güvenliği analizi için ucuz, taşınabilir, tek kullanımlık ve kullanımı kolay mikro akışkan kağıt tabanlı platformlar geliştirilmiştir (Dou vd. 2015). Bölümde bu kısımdan sonra, kağıt tabanlı platformların gıda alanındaki kullanımlarına örnekler verilecektir.

Gıda güvenliği uygulamalarına ait yerinde rutin analizler yapabilmesi için hızlı ve güvenilir araç sunan kağıt tabanlı mikroakışkan platformlar ortaya konulmuştur. Prasad vd. (2019) çalışmasında, tek bir platformda paketlenmiş meyve sularında bulunan besin bileşenlerinin, alerjenlerin ve yan ürünlerin analizi için kağıt tabanlı mikro akışkan platform kullanılmıştır. Bu çalışmada; pH, C vitamini, şekerler, koruyucular, süt alerjisi ve paketlenmiş meyve sularında bulunan gıda bozulmalarından sorumlu biyokimyasal bileşik tespit edilmiştir. Ayrıca, gıda güvenliği uygulamaları için kağıt bazlı analitik cihazların ucuz ve kolay bir yol olduğu gösterilmiştir (Prasad vd. 2019). Mikroorganizmalar üzerinde çalışmalar gerçekleştirilen kağıt tabanlı platform analizleri, sıklıkla insan sağlığını tehdit eden patojenik bakteriler üzerinde gerçekleştirilmektedir. Gıda kaynaklı patojenlerin, yalnızca ABD'de her yıl meydana gelen yaklaşık 76 milyon gıda kaynaklı hastalık vakasıyla gıda endüstrisi, bireyler ve toplum için büyük bir halk sağlığı tehdidi ve finansal yük oluşturduğu bilinmektedir. Gıda kaynaklı hastalıkların en önemli bakteriyel ajanlarından üçü, hastalığın ciddiyeti, sıklığı ve orantısız derecede yüksek ölüm oranı nedenleriyle *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* ve *Listeria monocytogenes* patojenik türleridir. Jokerst vd. (2012) çalışmasına göre; *E. coli O157:H7*, *Salmonella typhimurium* ve *L. monocytogenes*'in bir tarama sistemi olarak tespit edilmesi için kağıt bazlı bir analitik cihaz geliştirilmiştir. İlgili patojen ile ilişkili bir enzim, kromojenik substrat ile reaksiyona girdiğinde renk değişiminin ölçülmesiyle tespitini sağlandığı belirtilmiştir. Seçicilik ve hassasiyetle ilgili mevcut sınırlamalara

rağmen, kağıda dayalı analitik cihazın hazır et ve su örneklerinde üç patojenik bakteri türünü tespit etme kabiliyetini gösterdiği kanıtlanmıştır (Jokerst vd. 2012) Bir diğer çalışmada bakteri ile ilgili analizlerin en yaygın gıda kalitesi uygulamaları olduğu belirtilmiştir. Carrell vd. (2018)'a ait çalışmada balıklardan elde edilen amin buharları, tahıllardaki mikotoksinler ve bakteriler gibi çeşitli analizlerin değerlendirilebilir olduğu belirtilmiştir. *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Salmonella typhimurium* (*Salmonella*) gibi bakteriler, gıda kaynaklı hastalığa neden olan yiyecek ve sularda bulunmaktadır. Bu nedenle analizlerinin doğru ve hassas bir şekilde gerçekleştirilmesi, insan sağlığı ve gıda kalitesi için önem arz etmektedir. Gerçekleştirilen denemeler sonucunda, cihazın sahada uygulanabilmesi için daha kesin ve hassas olması gerektiği sonucuna varılmıştır (Carrell vd. 2018). Bu çalışmada analizi gerçekleştirilen *Salmonella* bakterisinin bir başka platformda da tespiti denenmiştir. Srisa-Art vd. (2017) çalışmasında önerilen platform, aşılansız *Starling* ve süt örneklerinde *Salmonella typhimurium* tespiti için uygulanmış olup kuş dışkısı ve sütte *S.typhimurium* için yayınlanmış ilk kağıt-bazlı tespit yöntemi olduğu belirtilmiştir. İmmünomagnetik ayırma ile birleşmiş kolorimetrik PAD'ler, *S. typhimurium*'un kompleksleştirme öncesi matrislerde önceden zenginleştirmeden basit, hızlı ve hassas tespiti için geliştirildiği ve bu yöntemin yerinde gıda güvenliği potansiyelini göstermek için pastörize sütte *S. typhimurium* tespiti gerçekleştirdiği doğrulanmıştır. Ayrıca yöntem, geleneksel kültür yöntemlerine ilk alternatif seçenek olduğu ve karmaşık örnek matrislerinde *S. typhimurium*'un yerinde tespiti için potansiyel çalışmaların gerçekleştirilebileceği belirtilmiştir (Srisa-Art vd. 2017). Bir diğer analiz Adkins vd. (2017)'ye ait çalışmada yonca filizi ve lagün suyu örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Saydamlık bazlı elektrokimyasal ve kâğıt bazlı kolorimetrik analitik algılama platformlarının geliştirildiği ve geliştirilen platformların tek bir analizden gıda ve su kaynaklı bakteri tespiti için tamamlayıcı yöntemler olarak sunulduğu belirtilmiştir. Yapılan denemeler sonucunda; hem elektrokimyasal hem de kolorimetrik deneylerin ve bunların algılama platformlarının daha da iyileştirilmesi, gıda ve su bakteriyel kontaminasyonun daha iyi tespit edilmesinin gerekliliğine karar verildiği vurgulanmıştır (Adkins vd. 2017).

Gıda güvenliği ve kalitesini riske sokan yapılardan bir diğeri mikotoksinlerdir. Mikotoksinler, bazı durumlarda yüksek sağlık tehlikesi sergileyebilecek fungal

metabolitlerdir. Kanserojen, mutajenik, toksik, teratojenik veya immünotoksik etkiler gösterebilmektedirler. İşyerinde, hayvan yemi, gıda ürünleri veya atık gibi organik maddelerin işlenmesi sırasında mikotoksin maruziyeti, solunması veya ciltle teması potansiyel sağlık riskleri oluşturmaktadır. Bu nedenle mikotoksinlerin incelenmesi amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalardan birinde aflatoksin analizi için bir platform oluşturulmuştur. Yönteme göre klorofil renk değişimi spektrofotometre veya reflektometre kullanımı ile ölçülerek analiz gerçekleştirilmiştir (Mayer vd. 1969). Mikotoksinler gibi insan sağlığına zararlı yapılardan bir diğeri tarımda koruma amaçlı kullanılan ilaçların kalıntıları olan pestisitlerdir. Gıdalarda tespitlerinin insan sağlığı ve gıda güvenliği için önemli olması, analizlerinde hızlı ve ucuz bir yöntem olan kağıt tabanlı platformların kullanımının önünü açmıştır. Bu amaçla literatüre bakıldığında; Nouanthavong vd. (2016)'ya ait çalışmada, kurutulmuş yeşil midye ve kabak gıda örneklerinde nanoserya kaplı kağıt bazlı cihazın kolorimetrik yöntemle dayalı analizi uygulanarak organofosfat pestisiti incelenmiş ve sonuçta geleneksel yöntemlerle paralel sonuçlar elde edilmiştir (Nouanthavong vd. 2016). Bir diğeri analiz Liu vd. (2014)'e ait çalışmada gerçekleştirilmiştir. Kemilüminesans bazlı kağıt kromatografi yöntemi kullanılarak domates, salatalık ve kabak gıda örneklerinde organofosfat pestisitinin hassas tespiti için analiz yöntemi geliştirilmiştir. Geleneksel kağıt kromatografi yöntemine kıyasla, çip bazlı kağıt kromatografi yöntemi, pestisitinin ayrılması ve tespit limitinde mükemmel performans gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmada kullanılan stratejinin, pestisit kalıntılarını ve diğeri çevresel zararlı kimyasalları tespit etmek için çeşitli kağıt bazlı çipleri üretmek için daha da genişletilebileceği bildirilmiştir (Liu vd. 2014). Gıda mevzuatı gereği hayvanlardan elde edilen süt ve yumurta için maksimum katkı ve kalıntı limitleri mevcuttur. Mevzuatta belirtildiği üzere; toltrazuril ve türevlerinin yem, yumurta ve tavuk örneklerinde hızlı başlangıç taramasının yapılmasının faydalı olacağı Wang vd. (2019) çalışmasında belirtilmiştir. Toltrazuril metabolitlerinin numunelerde hızlı bir şekilde taranması için kolorimetrik kağıt bazlı sensörün geliştirildiği bildirilmiştir. Yem, yumurta ve tavuk örneklerinde geleneksel yöntemlerle kıyaslandığında; numunelerdeki toltrazuril ve türevleri için oluşturulan kağıt bazlı analizin doğru sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (Wang vd. 2019). Bu çalışmaların yanında, son zamanlarda katkı ve kalıntı analizleri içerisinde tespiti gerçekleştirilen bir diğeri yapı melamindir. Kütle olarak % 66 kadar yüksek azot içeriği ve düşük maliyetli

olması nedeniyle, bazı satıcılar, görünür protein içeriğini arttırmak için yasa dışı olarak gıda ürünlerine melamin eklemektedir. Melamin, düşük akut toksisiteye sahip olmasına rağmen; güvenlik sınırının üzerindeki seviyelerde melamin yutulması (ABD ve AB'de 2.5 ppm; Çin'de bebek formülü için 1 ppm), bebeklerde ve çocuklarda akut böbrek patolojisine ve hatta ölüme neden olabilmekte olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple hızlı, doğru ve kolay melamin analizlerinin gerçekleştirilebildiği analiz platformları geliştirilmeye başlamıştır. Bu çalışmalardan birinde, kolorimetrik melamin tespiti araştırılmış ve ABD ve Çin'in gerektirdiği tespit sınırını karşılayan, çıplak gözle ayırt edilen sıvı sütte 0.1 ppm tespit limitiyle dikkat çekici bir ölçüm sonucu elde edilmiştir. Sinyallerin, çıplak gözle ayırt edilebilir ve ev yapımı akıllı telefon uygulaması ile ölçülebilmekte olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada geliştirilen üretim stratejisinin, teşhis testi, gıda güvenliği kontrolü ve çevresel izleme dahil olmak üzere, bakım noktası uygulamaları için basit mPAD'lerin geliştirilmesinde umut verici ve çekici olduğu belirtilmiştir (Xie vd. 2018). Diğer melamin çalışmasında ise; geliştirilen prob ile sütteki melamin tespitinin başarıyla uygulandığı ve bu kolorimetrik probu kullanan kağıt bazlı kantitatif algılama sisteminin bir akıllı telefon ile entegre edilerek de gösterildiği belirtilmiştir. Ayrıca algılama sistem renginin, melamin konsantrasyonunun artmasıyla birlikte şarap kırmızısından maviye döndüğü bildirilerek çalışmanın süt örnekleri için uygulamasının diğer çalışmalara örnek niteliğinde olacağı belirtilmiştir (Gao vd. 2018).

Antioksidanlar, diğer organizmalar tarafından istenen, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı önleyen, aksi halde insanları da kapsayan bir ölçekte kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve katarakt gibi çeşitli hastalıklara neden olabilecek bileşiklerdir. Doğal antioksidanlar arasında yer alan fenolik bileşiklerden ferulik asit, diyet takviyeleri, içecekler ve kozmetik kremlerinde bulunan veya bunlara eklenen önemli bir fenolik antioksidandır. Teengam vd. (2013) ait çalışmada gıda ve kozmetik numunelerdeki ferulik asit belirlenmesi için, alternatif yöntem sunularak kağıt tabanlı analitik platformlarda çeşitli örneklerdeki ferulik asit seviyelerinin tespitinin gerçekleştirebildiği, beslenme ve klinik araştırmalarda yararlı olabileceği vurgulanmıştır (Teengam vd. 2013). Bir diğer gıda olan çay, polifenoller içerir; antikanser, anti-enflamatuar, antibakteriyel, obezite, anti HIV ve antidiyabetik olma gibi biyolojik

aktiviteye sahiptir. Piyanan vd. (2018) çalışmasında; geleneksel yöntemlere kıyasla 11 çay örneğine ait yaygın antioksidan analizleri kağıt sensörle gerçekleştirilmiştir. Çay örneklerinin antioksidan aktivitelerinin, geleneksel yöntemle elde edilen sonuçlarla paralellik gösterdiği; doğru, hızlı, ucuz maliyetli, taşınabilir, az örnekle uygulamanın yapıldığı belirtilmiştir (Piyanan vd. 2018). Başka bir çay örneklerinin kullanıldığı çalışmada ise; filtre kağıdına immobilize edilmiş çay örneklerindeki polifenollerin belirlenmesi için analiz yürütülmüş ve çay örneklerindeki renk oluşumu çıplak gözle kolayca tespit edilmiştir (Hidayat vd. 2016). Çayın yanısıra kahve de diyabet riskini ve Parkinson hastalığını azaltmak gibi çeşitli farmakolojik etkiler sergiler ve biliş ve ruh halini artırabilir. Kahvede bulunan polifenolik bileşikler, özellikle klorojenik asitler, sağlık etkilerinden ve kahvenin aromatik özelliklerinden sorumludur. Bu nedenle, kahve örnekleri için kalite parametresi olarak polifenol içeriği kullanılabilir. Bu çalışmada, geliştirilen platform, doğrusal bir yanıt vermiş ve sonuçların tekrarlanabilir, iyi düzelme ve polifenol ölçümü için seçici olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca önerilen yöntem hızlı, kullanımı kolay, düşük maliyetli ve saha uygulamasında basit bir polifenol platformu olarak güvenilir olduğu vurgulanmıştır. Çalışma yönteminin, çeşitli demlenmiş filtreli kahvelerde toplam fenolik maddeleri ölçmek için alternatif bir yöntem olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (Hidayat ve Kuswandi 2017). Polifenollerin, flavonoidlerin ve antosiyaninlerin konsantrasyonunun kolorimetrik olarak belirlenmesi, şarap örnekleri için de uygulanmıştır. Bir kağıt mikrozonu üzerinde numunenin fotoğraflanması için bir cep telefonu kamerası ve miktar tayini için gerekli yazılıma sahip bir bilgisayar aracılığıyla uygulama gerçekleştirilmiştir. Kolorimetrik test kullanılarak analitlerin belirlenmesi ucuz, hızlı, minimum miktarda reaktif kullanımıyla gerekli doğruluk ve tespit limitlerini verdiği ve bu yöntemin diğer yiyecek ve içecekler için de uyarlanabileceği belirtilmiştir (Vaher ve Kaljurand 2012). Son yıllarda, fenolik bileşiklerin iyonik sıvı çözeltileri kullanarak bitkilerden ekstraksiyonuna olan ilgi artmaktadır. Aid vd. (2015) çalışmasında, iyonik sıvı kullanılarak çeşitli bitkilerin toplam fenolik madde içeriğini analiz etmek için kolorimetrik bir kağıt mikrozon deneyi geliştirilmiştir. Geliştirilen testin hiç bir enstrümantasyon gerektirmediği, bakım noktasında uygulanabildiği ve yeşil analitik kimyanın tüm özelliklerine sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yöntemin, UV-Vis spektroskopisine karşı başarıyla paralel sonuç verdiği tespit edilmiştir (Aid vd. 2015). Arciuli vd. (2013)'e ait çalışmada şarap

örnekleri kullanılarak Whatman filtre kağıdında tirozinaz enzimi aracılığıyla stabil pembe renk oluşturarak fenollerin oksidasyon ürünlerinin tespitine olanak sağlayan renklendirici madde kullanılmıştır. Analizin gözle ve saha ölçümü ile elde edilebildiği, geçici bir enstrümantasyon ve eğitimli personel ihtiyacını önleyerek, taşınabilir bir bilgisayarda çalışan bir kameralı telefon ve görüntü analiz yazılımı kullanılarak kolayca yapılabilmesinin yanı sıra geleneksel ve yeni yöntemle elde edilen ortalama analiz sonuç değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu aralarında anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir (Arciuli vd. 2013). Puangbanlang vd. (2019) çalışmasında ise; çay, meyve suyu ve şarap örneklerini içeren 10 içecekte antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriğini tespit etmek için, % 95 güven aralığında geleneksel deneylerden elde edilenlere benzer şekilde gallik asit eşdeğerince sonuçları verilen kağıt tabanlı analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz, imageJ yazılımı kullanılarak ölçülen renk değişikliğine göre uygulanmıştır. Analiz sonuçlarının doğru sonuçlar verdiği ve gerçek numunelerde antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriğinin eşzamanlı analizi için uygun olduğu belirtilmiştir (Puangbanlang vd. 2019). Bir başka antioksidan aktivite çalışmasında ise; çay örnekleri üzerinde kağıt tabanlı 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) bazlı analiz gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kolorimetrik analiz sonuçlarının masaüstü bilgisayar ve uygun görüntüleme yazılımı aracılığıyla verildiği ve sonuçların geleneksel yöntemle %95 güven aralığında doğruluk gösterdiği belirtilmiştir (Sirivibulkovit vd. 2018). Oksidatif hasara karşı koruyucu rolleri nedeniyle fenolik bileşiklerin insan sağlığına yararlı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Alkasir vd. (2012)'ye ait çalışma, taşınabilir, kullanımı kolay, ucuz ve saha analizi için uygun fenolik bileşiklerin tespiti için yeni bir kağıt bazlı kolorimetrik biyoanaliz formatını göstermiştir. Çalışmada, fenolik bileşiklerin tirozinaz ile girdiği enzimatik oksidasyon baz alınmıştır. Enzimatik reaksiyon ile kolorimetrik renk değişimleri gözlemlenerek çeşitli aygıtlarla ölçümleri sonucu değerler sayısallaştırılmıştır. Su örneklerinde uygulanarak elde edilen kolorimetrik dönüşümde; Bisfenol A için mavi-yeşil; fenol için kırmızı; kresoller için turuncu-kahverengi renklerinin açığa çıktığı belirtilmiştir (Alkasir vd. 2012).

Gıdalarda enzimatik temelli kağıt tabanlı platform analizlerinin gerçekleştiğini göstermek amacıyla Monosik vd. (2015) çalışmasında, kromatografi kağıdında bir renk

reaksiyon ürünü geliştirmek için dehidrojenaz ailesinden enzimler kullanılmıştır. Dört farklı dehidrojenaz ile test edilerek bulyon, şarap örneklerinin analizinde uygulanabilir olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca çalışmada; renk reaksiyonunun görsel olarak tanımlanabilmesi için, kırmızı şarap gibi koyu renkli numunelerin renklerinin çözümlenmesi gerektiği; bu nedenle kırmızı şarap numuneleri renk giderimi elde edilene kadar tekrar tekrar polivinilpolipirrolidon ile ön işleme tabi tutulduğu belirtilmiştir (Monosik vd. 2015).

2.1.4.4 Akıllı telefon uygulamaları

Akıllı telefonlar ilk olarak 90'ların sonunda tüketici pazarına girerek elde tutulan bilgisayarlara dönüştürmüştür (Huang vd. 2018). Akıllı telefonların sürekli artan yayılma oranı ile kullanıcılarının sayısının 2016 yılında 2,1 milyardan 2019'da yaklaşık 2,8 milyara çıkacağı ve dünyadaki toplam nüfusun üçte birinden daha fazla olacağı tahmin edilmektedir (Arne Holst, <https://www.statista.com/statistics/330695/number-of-smartphone-usersworldwide/>, 2019). Kameralı telefonlar taşınabilir ve gittikçe uygun fiyatlı, hafif ve yüksek çözünürlüklü dijital kameralarla donatılmıştır. Kaybolmaları, alınmaları veya kırılmaları durumunda kolayca değiştirilebilme avantajına sahiptir. Avantajlarının yanında dijital görüntülerin yoğunluğunun aydınlatma koşullarından etkilenmesi gibi dezavantajı vardır ve görüntünün odağı tarayıcılardan daha az güvenilirlidir. Kameralı telefonlar aynı zamanda, çoğu telefonun, temin edildiği gibi, kameraya ~20 cm'den daha yakın nesnelere odaklanamayacağı ve dolayısıyla küçük test alanlarının yüksek çözünürlüklü görüntülerini sağlamak için kullanılmayan kameralar içermesi dezavantajına sahiptir. Farklı kameralarla ve tarayıcılarla çekilen görüntüler arasında önemli farklılıklar oluşabilmekte ve her görüntüleme cihazının bilinen renk ve yoğunluk standartları kullanılarak kalibrasyon gerektirmekte olduğu tespit edilmiştir. (Martinez vd. 2008).

Bir akıllı telefonun, veri algılayıcı, ivmeölçer ve termometre gibi sayısız çeşitli amaçlar için sensör türleriyle donatıldığı bilinmektedir. Tüketiciler tarafından en yaygın kullanılan sensör türünün, optik kamera olduğu düşünölmektedir. Akıllı telefonların sensör olarak kullanılabilme avantajının yanısıra hızlı işlemci, büyük bellek, yeterli pil

özellikleri; ses ve USB bağlantı noktasına ve dokunmatik ekrana sahip olma, güçlü hesaplama yeteneği, taşınabilir güç kaynağı ve harici ile etkileşime geçmek için uygun kullanıcı arayüzü sunma gibi avantajları bulunmaktadır. 4G hücrel veri servisi, Bluetooth, Wi-Fi ve benzeri kablosuz veri aktarım yöntemleri, elde edilen akıllı telefon verilerinin profesyonellere veya buluta aktarılmasını ve uzaklığın olduğu, acil durumlarda yerel tıbbi tesisler için veri yönetimine olanak sağlayabilmektedir. Akıllı telefon teknolojisi, temel olarak daha fazla genişletilmiş piksel dizisi, azaltılmış piksel boyutu ve akıllı telefon kamerası için geliştirilmiş piksel yoğunluğu, daha güçlü işlemci, 5G ile daha hızlı kablosuz bağlantı gibi diğer analizlerdeki okuma yöntemlerinden kritik önemdeki farklılıklara sahiptir (Huang vd. 2018). Ayrıca, cep telefonlarının bağlanabilirliği, bilgileri paylaşmak ve ihtiyaç anında gerçek zamanlı sonuçlar sağlamak için kolayca bir ağ platformuna veri göndermeyi sağlamaktadır (Lopez-Ruiz vd. 2014). Akıllı telefonların yetenekleri gittikçe daha güçlenmekte, araştırmacıların yalnızca aydınlatma kaynakları, sinyal dedektörleri veya güç ve proses verileri için arabirimler sağlayan bazı aksesuar eklerini tasarlamaları gerekmektedir (Roda vd. 2016).

Kağıt tabanlı algılama yöntemlerindeki görüntülerin akıllı telefon kameraları tarafından alınmasına rağmen; görüntü işleme ve renk ölçümlerinin çoğunlukla bilgisayar sistemlerinde gerçekleştirilmesi yöntemin avantajlarına (düşük maliyetli, taşınabilir) uygun olmayan bir durumdur. Hem görüntüleme hem de renk ölçümü için akıllı telefonlar kullanarak kantitatif analiz yapmak daha kolaydır. Bu şekilde analizleri akıllı telefonlarda gerçekleştirmek amacıyla kağıt tabanlı platformların görüntü analizi için geliştirilen çeşitli yazılım uygulamaları bulunmaktadır (Lopez-Ruiz vd. 2014; Sicard vd. 2015). Akıllı telefon tabanlı kolorimetrik renk ölçümünün, fazladan bilgisayar işlemesi yapılmadan akıllı telefon uygulamaları ile gerçekleştirilebilmekte olduğu bildirilmiştir (Huang vd. 2018).

Bahsi geçen avantajları sayesinde akıllı telefonlar hızlı analiz yöntemlerinde sonuç verme amacıyla kullanılmaktadır. Akıllı telefon; özellikle tek başına çıplak gözün yeterli olmadığı durumlarda, nicel kolorimetrik analiz için sensör görüntülerinin red-green-blue (RGB) yoğunluk değerlerini kolayca ayıklayarak basit bir çözüm sunabilmektedir (Wang vd. 2017). Çeşitli sensörlerde, kağıt tabanlı kolorimetrik

ölçümlerde telefon uygulamaları sayesinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalardan biri, akıllı telefon bazlı kolorimetrik biyomedikal bir sensörün gerçekleştirilmesidir. Sensör, herbisitlerin hızlı tespiti amacıyla geliştirilmiştir. Çalışmada ışığın ölçüm doğruluğunun sağlanması için açısız olarak diğer ışıkları engelleyen 3D baskılı eklentinin kullanıldığı belirtilmiştir (Wang vd. 2017). Kolorimetri teorisine dayanan bir başka çalışmada protein analizi gerçekleştirilmiştir. Tıbbi teşhis, patojen tespiti için uygun, kesin ve hızlı protein algılama yöntemleri büyük öneme sahiptir. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmada, on iki proteini ayırt etmek için akıllı telefon kullanımı ile doğrudan renk değeri okunmuştur. Belirtilen çalışma sonrası, sinyal okumada ucuz ve kullanışlı akıllı telefon kullanılarak oluşturulan kolorimetrik sensör dizisinin, ek cihazlar olmadan bakım noktası teşhisi için her alanda büyük bir potansiyele sahip olacağı belirtilmiştir (Wang vd. 2017). Patojen bakterilerinin insan sağlığına verebileceği riskler bilindiği için analizlerine yönelik hızlı analiz platformlarının geliştirilmesi her geçen gün artmaktadır. Patojen bakterilerden *E. coli* tespiti için, su örneklerinde üç-kanallı telefon bazlı kağıt tabanlı mikroakışkan çip ile analiz gerçekleştirilmiştir (Park vd. 2015). Patojenler gibi insan sağlığını tehdit eden bir diğer unsur olan nitritin içme suyundaki miktarının maksimum değerleri Avrupa Topluluğu, Dünya Sağlık Örgütü gibi kuruluşlar tarafından belirlenmiştir. Bu nedenle nitrit tespiti sadece istenmeyen karakteristiğinden dolayı ya da nitrattan yaklaşık on kat daha toksik olmasından dolayı değil; aynı zamanda bakteriyel kontaminasyonun bir göstergesi olduğu için de gereklidir. Dedektör ve veri aktarım kaynağı olarak kullanılan akıllı ve kameralı telefonların dünya çapında dağıtılması, sensörün geliştirilme maliyetini önemli ölçüde düşürmüştür. Lopez-Ruiz vd. (2014) çalışması örnek verilecek olursa; akıllı telefon kullanarak alanda yoğunluğa dayalı sudaki pH ve nitrit konsantrasyonunu aynı anda değerlendirmek için kolorimetrik ölçümlerde kullanılmak üzere yeni yazılım programları geliştirmiştir. Oluşturulan platformun fotoğrafını çekmek için özel bir akıllı telefon uygulaması kullanılmıştır. Bu uygulamada bir yazılım algoritmasının, ton-doygunluk-parlaklık indekslerini çözelti pH'ı ve nitrit konsantrasyonu ile ilişkilendirmiş olduğu belirtilmiştir. Çalışmada nitrit konsantrasyonu ile pH değerleri için kağıt tabanlı mikroakışkan bir cihaz oluşturularak çeşitli örneklerdeki alt limit değerleri ve uygulanabilirliği akıllı telefon aracılığıyla açıklanmıştır. Akıllı telefon kamerası ışık kaynağı için herhangi ekstra bir ekipmana ihtiyaç duymamakta

olduğu ve indirilen uygulama aracılığıyla renk değişimi belirlenen bölgede tespit edilerek ölümün yapılabilirdiği belirtilmiştir (Lopez-Ruiz 2014; Meredith vd. 2016).

Her gün 4900 çocuğun, ishal ve su ile ilgili hastalıklardan ölmekte olduğu ve hastalık nedeniyle 440 milyondan fazla okul gününü kaçırdığı, temiz suya erişimin, küresel sağlığın iyileştirilmesi için kritik bir adım olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, sudaki ve sahadaki kirleticilerin miktar tayininde bulunmak için kapsamlı bir su izleme platformu geliştirmek ve hızlı bir uyarı sistemi sağlamak amacıyla μ PAD'ler akıllı telefonlar aracılığıyla kullanılmaktadır. Su izleme sensörleri günümüze kadar karbamat ve organofosfat pestisitlerin, çeşitli metallerin, koliform bakterilerin, fenolik bileşiklerin analizleri için gerçekleştirilmiştir (Hossain ve Brennan 2011; Apilux vd. 2010; Aragay vd. 2012; Nie vd. 2010). Günümüzde belirtilen çalışmaların yanısıra eksik kalan analiz kısmı su kalitesinin saptanmasıdır. Bu amaçla Sicard vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada; büyük ölçekte düşük maliyetli su kalitesinin izlenmesi için çevresel kirletici maddeleri izlemek amacıyla μ PAD'lerden, cep telefonlarından ve merkezi bir web portalından oluşan geliştirme ve entegre izleme sisteminin önemi ve potansiyeli vurgulanmıştır. Aynı çalışmada akıllı telefonların kullanımına ek olarak, dünya çapındaki çevresel izlemeyi ve erken tespiti sağlamak amacıyla sosyal medyadaki bağlantı özellikleri ve akıllı telefonlardaki GPS özelliği kullanılarak coğrafı etiketleme ve yükleme aracılığıyla edinilen bilgilerin merkezi bir web sitesinde birleştirildiği belirtilmiştir (Sicard vd. 2015). Ayrıca başka bir çalışmada Delaney vd. (2013), kağıt tabanlı platformdaki elektrokimyasal ölçümlere akıllı telefon analizini uyguladıklarını, ses çıkışının genliğini ve dalga biçimini kontrol eden bir akıllı telefon prosedürü kullandıklarını belirtmişlerdir (Delaney vd. 2013). Ek olarak, bazı cihazlarda hızlı yanıt (QR) kodları uygulanmıştır ve bu kodların gelecekte kullanıcı girişi gerektirmeden numune hakkındaki hayati tanı/tanımlayıcı bilgilerini paylaşmak için kullanılabilir olduğu belirtilmiştir (Myers vd. 2015).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Analiz edilen şarap örnekleri

Çalışma kapsamında; Doluca Bağcılık ve Şarapçılık Anonim Şirketi' ne ait 2015 yılında Doğu Anadolu Bölgesi'nden hasat edilen Öküzgözü üzümlerinden elde edilerek 4 ay Fransız meçe fiçılarında dinlendirilmiş DLC Öküzgözü kırmızı şarap ile Doluca Bağcılık ve Şarapçılık Anonim Şirketi' ne ait 2016 yılında Tokat'tan hasat edilen Narince üzümlerinden elde edilen DLC Narince beyaz şarap numuneleri kullanılmıştır.

3.1.2 Kullanılan ekipmanlar

Kağıt platform için 1-2 µm partikül tutma kapasitesine sahip Sartorius Grade 293 filtre kağıtları yüzey olarak kullanılmıştır. Platformlarda desenlemenin gerçekleştirilebilmesi için permanent marker olarak adlandırılan, Edding marka suda çözünmeyen kalıcı mürekkep kalemler kullanılmıştır. Bu kalemlerin içeriğinde n-propanol, pirolidon, trigliserit, terpen fenolik reçine ve en az bir renklendirici bulunmaktadır. Bu sayede mürekkep substrata uygulandığında saptanabilir bir renk elde edilmektedir (U.S. Patent No. 10/325,138, 2014). Farklı çap seçenekleri bulunan kalemler içerisinde; 0.4 mm çapı olan F harf kodlu Eddinger marka permanent marker kalem bu tez çalışması kapsamında kullanılmıştır. Kağıt tabanlı platformların fotoğraflanmasında yerinde ölçüm imkanı sağlayan Iphone 5 model akıllı telefon ve renk yoğunluklarının ölçümü için Iphone 5 ile uyumlu C-Measure uygulaması kullanılmıştır.

3.1.3 Kullanılan kimyasallar

3 4 5-trihidroksibenzoikasit asit monohidrat (Gallik asit), iyodonitrotetrazolyum viyole (95), L (+) tartarik Asit (99), L-laktik asit, susuz (98) Alfa Aesar'dan; amonyum monovanadat, Folin-Ciocalteu fenol ajanı, Cu(II) nitrat hidrat, trehaloz Merck'ten; 3,4-

dihidroksi-L- fenilalanin, poli (vinilpolipirrolidon) L-(-) malik asit, 2 2'- azino-bis (3- etilbenzotiazolin -6- sulfonik asit) diamonyum tuzu, 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil, tiyazolil mavi tetrazolyum bromit (MTT), neokuproin, 3-metil-2- benzotiazolinon hidrazon hidroklorid hidrat (MBTH), 6-hidroksi-2,5,7,8- tetrametilkroman -2-karboksilik asit (trolloks), l-laktik dehidrojenaz, malik dehidrojenaz, *Klostridyum kluuyveri* 'den elde edilen diyaferez, fenazin metosulfat, mantar kaynaklı tirozinaz, *Pichia pastoris*'den elde edilen alkol oksidaz çözeltisi Sigma'dan; β -nikotinamid adenin dinükleotidi, indirgenmiş dipotasyum tuzu Santa Cruz B.'den; β -nikotinamid adenin dinükleotit dihidrat Fluka'dan temin edilmiştir.

3.2 Yöntem

Tez çalışması kapsamında planlanan analizler, hem geleneksel yöntemler ile hem de kağıt tabanlı platformlar ile gerçekleştirmiştir. Geleneksel yöntemlerden yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), şarap örneklerinin organik asit analizlerini gerçekleştirmek için; örneklere ait toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivite analizleri spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Kağıt tabanlı platform üzerinde elde edilen sonuçlar, geleneksel yöntemlerle elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılmıştır.

3.2.1 Geleneksel yöntemler

3.2.1.1 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC)

Şarap örneklerine ait organik asit analizleri, Tasév vd. (2016) makalesindeki yöntem kullanılarak Düzen Norwest Çevre, Gıda ve Veteriner Sağlık Hizmetleri Eğitim Danışmanlık Ticaret Anonim Şirketi tarafından gerçekleştirilmiştir (Tasév vd. 2016).

3.2.1.2 Spektrofotometre

Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir (Singleton ve Rossi 1965). Elde edilen sonuçlar gallik asit (GA) eşdeğerliğince (mg/mL) olarak verilmiştir.

Toplam antioksidan aktivite analizi, ABTS [2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolin -6-sulfonik asit) diamonyum tuzu]' nun peroksidaz (metmyoglobin) ve H₂O₂ ile inkübasyonu ile ABTS+ radikal katyonun oluşturulması esasına dayanmaktadır. Analiz spektrofotometrede CUPRAC yöntemi esas alınarak gerçekleştirilmiş ve sonuçları mg/mL Troloks eşdeğerleri olarak verilmiştir.

3.2.2 Kağıt tabanlı platform yöntemleri

Kolorimetrik analiz prensibi, enzim reaksiyonu durdurduktan sonra başka bir reaktif ekleyerek kolorimetrik olarak renkli, ışık emici bir kompleks oluşturmak ve absorbansı tahmin etmek için bir enzim ve substrat arasındaki etkileşimin incelenmesi prensibine dayanmaktadır (Huang vd. 2006). Kağıt tabanlı platformlarda gerçekleştirilen analizlerin temel prensibi de buna dayanmaktadır. Tezin bu bölümünde kağıt tabanlı platform hazırlık aşamaları aktarılmıştır.

3.2.2.1 Kağıt tabanlı platform üretimi

Kağıt tabanlı platform üretiminde ilk olarak kullanılacak platform yani kağıt seçimi gerçekleştirilir. Gerçekleştirilmesi planlanan analizlere uygun olan kağıt tercih edilir. Platform tercihinin ardından kağıttaki tasarımının nasıl olacağına karar verilir. Ona uygun desenleme gerçekleştirilir. Desenlemeler permanent marker kalemler ile çift taraflı boyanır. Boyama işlemi biten platformların arka yüzeyi şeffaf bant ile kaplanır. Bu işlemler sonrası kağıt tabanlı platform analiz basamaklarının uygulanması için hazır hale gelir.

3.2.2.2 Kağıt seçimi ve tasarımı

Üretim sürecinde ana malzeme olarak kullanılan kağıt, pasif kılcal sıvı taşınmasına izin verdiği, kimyasallar ve biyokimyasallar ile uyumlu olduğu, üzerinde tek ve/veya çoklu analiz imkanı sağladığı için tercih edilmiştir (Baş 2017). Tanecik tutuşu, gözeneklilik ve akış hızı gibi özellikler filtre kağıtlarının analiz platformu olarak seçilmesinde etkili özellikler arasındadır (Babür 2015). Kağıt platform için 1-2 µm partikül tutma kapasitesine sahip Sartorius Grade 293 filtre kağıtları yüzey olarak kullanılmıştır. Desenlerin tasarımı açık kaynaklı yazılım paketi, Inkscape 0.91 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Filtre kağıtları 193 mm x 290 mm'lik parçalar halinde kesilerek desenler lazer yazısı aracılığıyla parçalara basılmıştır.

3.2.2.3 Kağıdın boyanması

Edding marka F boyutundaki kalemler ile desenler çift taraflı olarak boyanmıştır. Bu boyama sonucu kalıcı mürekkep kalem özellikleri sayesinde hidrofobik engeller elde edilerek uygulanacak analiz örneklerinin belirlenen hacim kullanıldığında dışarı taşmaması sağlanmıştır. Örneklerin kağıda uygulanmasından önce kağıt platformunun bir tarafı, çözelti sızıntısını önlemek, buharlaşmayı kontrol etmek ve yapısal bütünlük eklemek için Baş (2017) çalışmasında belirtildiği gibi şeffaf paketleme bandı ile kaplanmıştır (Baş 2017).

3.2.2.4 Kağıt tabanlı platformların okuması

Renk ölçümü ve veri analizi için akıllı telefonların kullanılması yerinde analiz yapılmasına ve böylece anında sonuç alınmasına olanak tanır (Baş 2017). Bu tez çalışmasında Iphone 5 model akıllı telefon ve bu telefona uyumlu C-Measure uygulaması kullanılarak analizlerin okuması gerçekleştirilmiştir. C-Measure uygulaması, analiz platformlarında oluşan renklerin L^*a^*b renk uzayındaki karşılıklarını vererek değerlendirmeye olanak sağlamaktadır. Bu renk uzayındaki L: açıklığı belirtirken; pozitif a: kırmızı, negatif a: yeşil renk koordinatlarının; pozitif b: sarı, negatif b: mavi renk koordinatlarının gösteriminde kullanılmaktadır. L^*a^*b renk

uzayı kırmızı, yeşil, mavi (RGB) ve Camgöbeği, sarı, magenta, siyah (CYMK) renk uzaylarına göre daha doğrusal sonuçlar verdiği için tercih edilmiştir (Baş 2017). L*a*b renk uzayında elde edilen değerler ile analiz konsantrasyonları arasında ilişkilendirme yapılarak grafikler ve istatistiksel sonuçlar oluşturulur. Elde edilen sonuçlara göre analiz için değerlendirme yapılır.

3.2.2.5 Toplam antioksidan aktivite analizi

Toplam antioksidan aktivite analizi, birden fazla yöntemle gerçekleştirilebilir. Tez çalışmasında bu yöntemlerden üçü tercih edilmiştir. 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin) - 6-sülfonik asit (ABTS) radikali giderme aktivitesi, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali giderme aktivitesi ve bakır iyon azaltıcı antioksidan kapasite (CUPRAC) analizleri sırasıyla Miller ve Rice-Evans (1997); Kumaran ve Karunakaran (2006) ve Apak vd. (2004) makalelerindeki yöntemlere göre uygulanmıştır (Peri vd. 2014).

3.2.2.5.1 2,2'- azino-bis (3- etil benzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) radikali giderme aktivitesi (ABTS) analizi

Toplam antioksidan aktiviteyi ölçmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde genellikle, analizde bir tür radikal oluşturulur ve numunenin radikale karşı antioksidan aktivitesi ölçülür. En yaygın olarak kullanılan kolorimetrik metot, renksiz bir molekül olan ABTS'yi azaltan, karakteristik mavi-yeşil bir ABTS + 'ya oksitlenen 2,2 -azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS +) bazlı yöntemlerdir (Erel 2004).

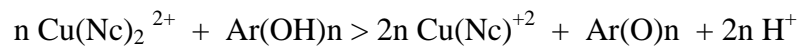
Bu tez çalışması kapsamında; Re vd. (1999) yöntemi baz alınarak ABTS analiz yöntemi gerçekleştirilmiştir. Baz alınan çalışmada (Re vd. 1999), ABTS reaksiyonunun bir renksizleşme reaksiyonu olduğu belirtilmiştir. Reaksiyonda (ABTS*+), ABTS ile potasyum persülfatın tepkimeye girmesi sonucunda renk değişimi görülür. oluşur. Bu reaksiyonun kağıt tabanlı platformda gerçekleştirilmesi için; enzim olarak yaban turbu peroksidaz (Horseradish peroxidase -HRP) kullanılarak aşağıda belirtilen adımlar izlenmiştir:

- a. 20 mM ABTS hazırlanması
- b. 4 mg HRP/ 1 ml su karışımı hazırlanması
- c. Ependorfta karıştırılmış 0,0017 M H₂O₂ ve (0-20-50-100-150-200 ppm) gallik asit konsantrasyonlarının hazırlanması.
 1. (a.)'da belirtilen maddeden 2 µl spotlara damlatılarak 1-2 dk kurutma
 2. (b.)'de belirtilen maddeden 2 µl spotlara damlatılarak kurutulmadan fotoğraflama
 3. (c.)'de belirtilen ependorflardaki karışımlar spotlara 2 µl spotlara damlatılarak 0, 3, 5, 7 ve 10. dakikalarda fotoğraflama
 4. Excel dosyasına gallik asit konsantrasyonları girilerek paralel çalışma ile fotoğrafların C-Measure uygulaması kullanılarak elde edilen L*a*b, a ve b değerleri konsantrasyonların karşı sütununa girme.

(c.)'de belirtilen ependorf karışımlarının eklenmesinden önce ve sonra elde edilen değerlerin farkları ile gallik asit konsantrasyonlarının 0, 3, 5, 7 ve 10. dakikalarda farklarının alınması ile elde edilen değerleri içeren grafik oluşturulmuştur. Gerçekleştirilen bu analiz basamakları ile kağıt tabanlı platformda ABTS yöntemi ile şarap örneklerinde toplam antioksidan aktivitenin ortaya konulması amaçlanmıştır.

3.2.2.5.2 Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) analizi

Metot, Cu (II) 'nin Cu (I)' e indirgeyiciler (antioksidanlar) ile indirgenmesine dayanır. CUPRAC'ın avantajlarından biri, yöntemin reaktifi diğer kromojenik reaktiflere (örn., ABTS, DPPH) göre daha kararlı ve erişilebilir olmasıdır (Karadag vd. 2009). CUPRAC yönteminde kromojenik oksitleyici ajan olarak bakır (II)-neokuproin [Cu (II)-Nc] reaktifi kullanılır (Apak vd. 2004). 1 mol R-tokoferolün 2 mol Cu (II) 'nin Cu (I)' e indirgenebileceği bulunmuştur (Huang vd. 2006).



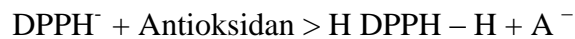
Bu tez çalışmasında; Gouda ve Amin (2010) makalesine göre uyarlanmış aşağıdaki işlemler platform spotlarına uygulanarak CUPRAC analizi gerçekleştirilmiştir:

- i. 100 mM Na ve Cu(II)nitrat hidrit, pH= 5 (0.2 M) asetat tamponu (v1:1), 0-125-250-500-1000-2000-2500 ppm miktarlarındaki 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks) konsantrasyonları hazırlığı
- ii. Platform üzerinde sırasıyla adımların gerçekleştirilmesi
- iii. Tampondan (1:1) oranında 2 µl alınarak platforma uygulanması ve 1 dk kurutulması
- iv. (20.8 mg Neocuproin + 1 ml etanol) karışımından 50 µl alınarak ve (18.8 mg Cu(NO₃)₂ + 1 ml su) karışımından 50 µl alınarak oluşturulan M1 karışımından 2 µl alınarak platforma uygulanması ve 2-3 dk kurutulması
- v. Troloks konsantrasyonlarından (0-125-250-500-1000-2000-2500 ppm) 2 µl alınarak platforma uygulanması ve t=5. dakikada fotoğraflanması
- vi. Troloks konsantrasyonlarına karşılık gelen a değerlerinin grafiğinin çizilmesi.

3.2.2.5.3 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilserbst radikal giderme aktivitesi (DPPH) analizi

DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), tüm molekül üzerindeki yedek elektronun delokalizasyonu nedeniyle stabil bir serbest radikaldir. DPPH• molekülü üzerindeki delokalizasyon, mor bir rengin ortaya çıkmasını belirler ve bu molekül maksimum 520 nm'lik bir absorpsiyon bandına sahiptir. DPPH bir hidrojen vericisi ile reaksiyona girdiğinde, menekşe renginin kaybolmasıyla birlikte indirgenmiş (moleküler) form olan (DPPH) açığa çıkar (Pisoschi ve Negulescu 2011).

Antioksidan-DPPH radikali reaksiyon mekanizması aşağıda olduğu gibidir:

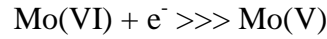


Yapılan bir çalışmaya göre; reaksiyon karışımı karanlıkta oda sıcaklığında tutulduğunda 4 günlük bir süre boyunca stabil kalır. Reaksiyon, 980 µl DPPH (60 µl), 20 µl örnek (su içinde 1:50 seyreltmede) ile karıştırıldığında gerçekleşir. 2 saat reaksiyon süresi, oda sıcaklığında hesaplanır; bu, numuneyle reaktif bir stabil okumaya ulaşmak için gereken süredir. Sonuçlar, bu madde tarafından tarif edilen doz-cevap eğrisi kullanılarak milimolar Troloks cinsinden ifade edilir (Rivero- Pérez vd. 2007).

3.2.2.6 Toplam fenolik madde analizi

Kağıt tabanlı platformda toplam fenolik madde miktarı, (Slinkard ve Singleton 1997) ve (Singleton ve Rossi 1965) baz alınarak Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar gallik asit kalibrasyon eğrisinden mg L⁻¹ olarak gallik asit ekivalenti (GAE) olarak hesaplanmıştır.

Bu yöntemde gerçekleşen renk değişimi, molibdenin kompleksteki indirgenmesinden yani indirgeyiciler ile Mo (VI) arasında elektron transfer reaksiyonu meydana gerçekleşmesi sonucu görülür:



Toplam fenolik madde yönteminde kullanılacak doymuş karbonat için seyreltme denemeleri yapılmıştır. Gallik asit konsantrasyonları için de hazırlanan platform üzerinde denemeler yapılarak örnekler için uygun aralık belirlenmeye çalışılmıştır.

Baz alınan yöntemler sonucu işlem basamakları aşağıdaki gibi uygulanmıştır:

- i. 1:9 oranındaki doymuş karbonat çözeltisinden 2 µl alınarak platforma uygulama
- ii. 3 dk kurutma
- iii. 2 µl Folin-ciocalteu alınarak platforma uygulanma
- iv. 5-6 dk kurutma
- v. Gallik asit konsantrasyonlarından (0-40-80-120-160-200 ppm) 2 µl alınarak platforma uygulanma

- vi. 0-4-5-5.5 dakikalarda fotoğraflama
- vii. 5. dakikadaki konsantrasyon ile b değerlerinin grafiğini oluşturma.

3.2.2.7 Organik asit analizleri

Bu tez çalışması kapsamında kağıt tabanlı platformlar üzerinde şarap örnekleri için tartarik, malik ve laktik asit analizleri için denemeler gerçekleştirilmiştir.

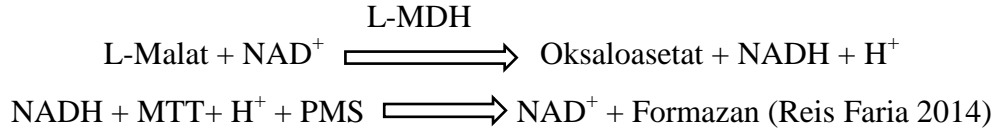
3.2.2.7.1 Tartarik asit analizi

Bir şarabın kararsızlık derecesinin değerlendirilmesi, stabilizasyon uygulamalarını yönetmek ve kullanılan katkı maddelerinin etkisini ölçmek amacı gibi pek çok önemi sebebiyle tartarik asit, şarap asidi olarak bilinir (Bosso vd. 2016). Spektrofotometrede renk değişimi ile ölçülen değerlerin, enzimatik metotlar ile uygulanması için bazı aşamalar izlenir: ilk aşamada uygun pH derecesindeki tampon kullanılır. Ardından, analiz edilecek örneğin seyreltilmiş hali ve indirgenmiş NAD solüsyonu ilave edilir. Diğer aşamada reaksiyona özgü enzim eklenir ve karıştırma sonrası belirli zamanda okuması yapılır (Peynaud vd. 1966).

Bu tez çalışmasında şarap örneklerine uygulanacak enzimatik yöntemle tartarik analizi için (Rebelein 1973), (Hill ve Caputi 1970) makalelerindeki çalışmalar örnek alınarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Enzimatik reaksiyonun temeli, amonyum monovanadat ve NaOH ile oluşan sarı rengin tartarik asit ilavesi ile turuncuya dönüşümünün $L*a*b$ değerlerinin ölçülmesidir. Baz alınan makalelere göre ependorflarda ve kağıt tabanlı platformlar üzerinde amonyum monovanadat ile NaOH ve ayrı ayrı su, asetik asit ve sodyum asetat kullanılmasıyla elde edilen karışımların uygulaması gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.7.2 Malik asit analizi

Malik asit analizinde, aşağıda belirtilen reaksiyon sonucu renk değişimi görülür. Bu renk değişiminden faydalanılarak kağıt tabanlı platformlarda analiz denemeleri gerçekleştirilmiştir.



Reaksiyonda, koenzimler olarak NADH veya NADPH kullanan dehidrojenazlar, MTT tuzunun sarı şeklini çözünmeyen mor formazan kristallerine dönüştürür. L-Malik asit, malat dehidrojenaz ile oksaloasetata dönüştürülür ve oluşan NADH hidrojenini, mor renkli MTT formazanın MTT'nin indirgenmesi ile elde edilebilmesi için fenazin metosülfat ve 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolyum bromür (PMS-MTT) sistemine aktarır (Peres vd. 2008).

(Peres vd. 2008)' de geçen yöntem esas alınarak; NAD^+ (40 mM), MTT (12 mM), PMS (12 mM), 12-6-3-1.5-0.75-0 mM malik asit konsantrasyonları, mono ve dibasik KH_2PO_4 (1M) ile NaOH (1M)'dan elde edilen KH_2PO_4 (1M) tampon çözeltisi hazırlanarak aşağıdaki basamaklar kağıt tabanlı platformlara uygulanmıştır:

- i. NAD^+ ve Malik asit konsantrasyonlarından 50'şer μl alınarak ependorflarda karıştırma
- ii. pH= 8.5 KH_2PO_4 (1 M) tampondan 2 μl alınarak spotlara pipetle uygulama
- iii. 1 dk kurutma
- iv. L-MDH'den 2 μl alınarak spotlara uygulama
- v. 2 dk kurutma
- vi. MTT'den 2 μl alınarak spotlara uygulama
- vii. 6-7 dk kurutma
- viii. PMS'den 2 μl alınarak spotlara uygulama
- ix. 8-9 dk kurutma
- x. (M.A.+ NAD^+) karışımlarından 2'şer μl alınarak spotlara uygulama
- xi. Fotoğraflama
- xii. t=5 (0-12 Mm) aralığındaki a değerlerinin grafiğini çizme.
- xiii.

3.2.2.7.3 Laktik asit analizi

Metodoloji, L(+) laktik ve L(-) laktik asitlerin, L(+) laktat dehidrogenaz (LDH) enzimleri tarafından katalize edilen nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) koenzimiyle reaksiyonuna dayanır (Lima vd. 1998).



(Abe ve Matsuki 2000)'e göre; kolorimetrik laktik asit analizinde görülen dönüşümler şu şekildedir:

LDH > Laktat+Piruvat > NAD-NADH dönüşümü > MTT(sarı)'dan MTT(mor)'a dönüşüm

Laktik asidin kolorimetrik olarak analiz prensibi ve kullanılan kimyasallar malik asit analiziyle benzerlik göstermektedir. Bu nedenle malik asit için oluşturulan işlem basamakları ve konsantrasyonlar laktik analizi için de sadece enzim ve laktik asit farklılığı ile aynı şekilde uygulanmıştır. İşlem basamakları şu şekilde gerçekleştirilmiştir:

- i. NAD^+ ve Laktik asit konsantrasyonlarından 50'şer μl alınarak ependorflarda karıştırma
- ii. $\text{pH} = 8.5$ KH_2PO_4 (1 M) tampondan 2 μl alınarak spotlara pipetle uygulama
- iii. 1-2 dk kurutma
- iv. L-LDH'den 2 μl alınarak spotlara uygulama
- v. 5-6 dk kurutma
- vi. MTT'den 2 μl alınarak spotlara uygulama
- vii. 8-9 dk kurutma
- viii. PMS'den 2 μl alınarak spotlara uygulama
- ix. 5-6 dk kurutma
- x. (L.A.+ NAD^+) karışımlarından 2'şer μl alınarak spotlara uygulama
- xi. Fotoğraflama
- xii. $t=5$ (0-12 Mm) aralığındaki a değerlerinin grafiğini çizme.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Geleneksel Yöntemlere Ait Sonuçlar

4.1.1 HPLC

(Taşev vd. 2016)'nın kullandığı yöntem baz alınarak Düzen Norwest Çevre, Gıda ve Veteriner Sağlık Hizmetleri Eğitim Danışmanlık Ticaret Anonim Şirketi tarafından gerçekleştirilen örneklerdeki organik asit analizlerine ait sonuçlar aşağıdaki çizelgede yer almaktadır:

Çizelge 4.1 Kırmızı ve beyaz şarap numunelerindeki organik asit miktarları (g/L)

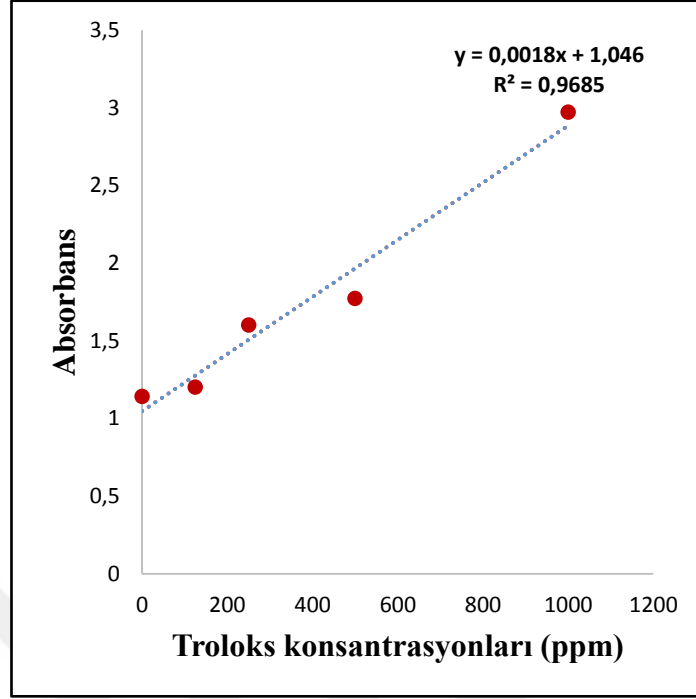
Organik Asit Profili	Kırmızı Şarap (g/L)	Beyaz Şarap (g/L)
Malik Asit	0,2	1,1
Tartarik Asit	1,4	1,2
Laktik Asit	0,6	0,52

4.1.2 Spektrofotometre

Toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı analizleri için geleneksel yöntem olarak kullanılan spektrofotometre yöntemine ait bulgular aşağıdaki gibidir:

4.1.2.1 Toplam antioksidan aktivite analizi

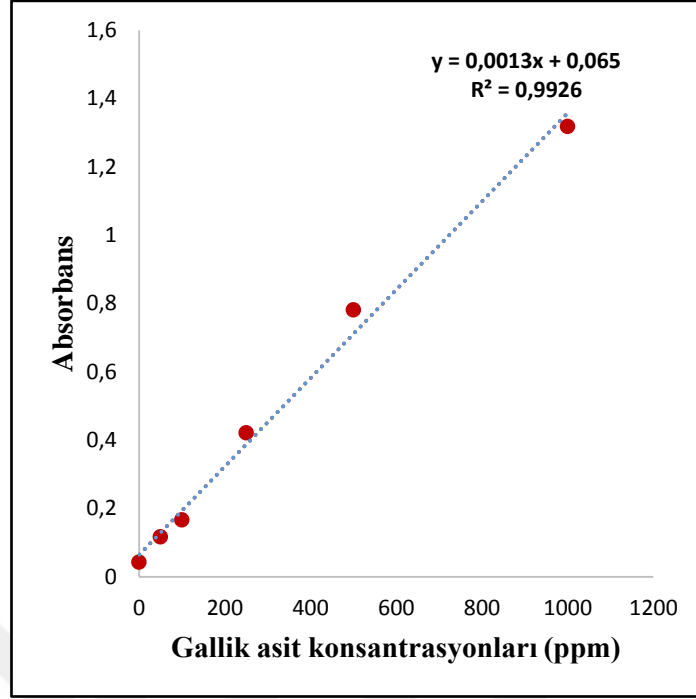
Kağıt tabanlı platform ile toplam antioksidan aktivite yöntemlerinden sadece CUPRAC metodu ile doğrusalılık elde edilmiş olduğu için; spektrofotometrede de sadece CUPRAC metodu kullanılmıştır. Spektrofotometrede elde edilen kalibrasyon grafiği aşağıdaki gibidir:



Şekil 4.1 (0-1000 ppm) aralığındaki troloks konsantrasyonlarına karşılık gelen değerler

4.1.2.2 Toplam fenolik madde analizi

Kağıt tabanlı platformda toplam fenolik madde analizi Folin-ciocalteu yöntemi ile gerçekleştirildiği için kıyaslaması spektrofotometrede yapılmıştır. Spektrofotometrede elde edilen kalibrasyon grafiği aşağıdaki gibidir:



Şekil 4.2 (0-1000 ppm) aralığındaki gallik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen değerler

4.2 Kağıt Tabanlı Platform Yöntemlerine Ait Sonuçlar

4.2.1 Toplam antioksidan aktivite analizi

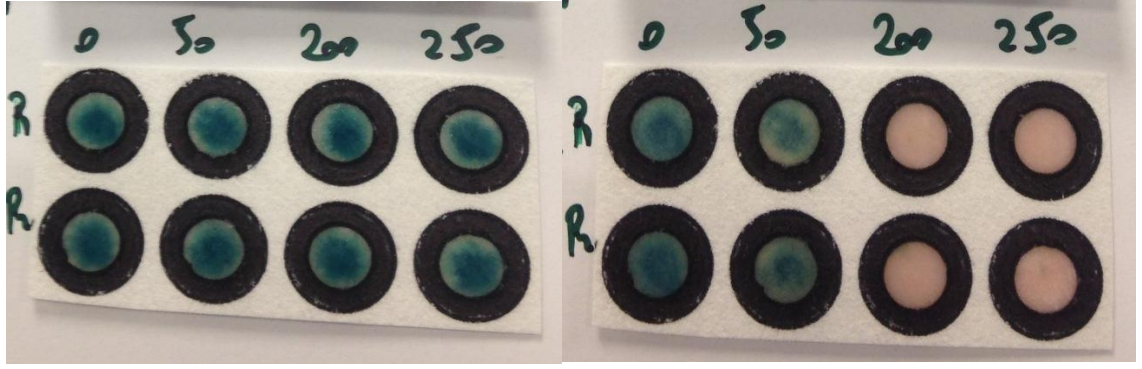
Kağıt tabanlı platformlar üzerinde numunelerdeki toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla ABTS, CUPRAC ve DPPH metotları denenmiştir. ABTS analizinde reaksiyonun başında ABTS maddesine ait yeşil renk, potasyum persülfat eklenmesi ile açılmaya ve gittikçe hafif pembe bir renk ile (ABTS*+) maddesini oluşturmaya başlar. Uygulanan analiz basamakları sonrası 5. dakikada elde edilen eğri (-) değerlerden (+) değerlere doğru; yani L*a*b renk uzayına göre de yeşilden pembeye doğru değişim göstermiştir. Ancak denemeler tekrarlandığında yakın ve doğrusal sonuçların elde edilemediği tespit edilmiştir.

Yapılan denemelerden bazıları aşağıda belirtildiği gibidir:



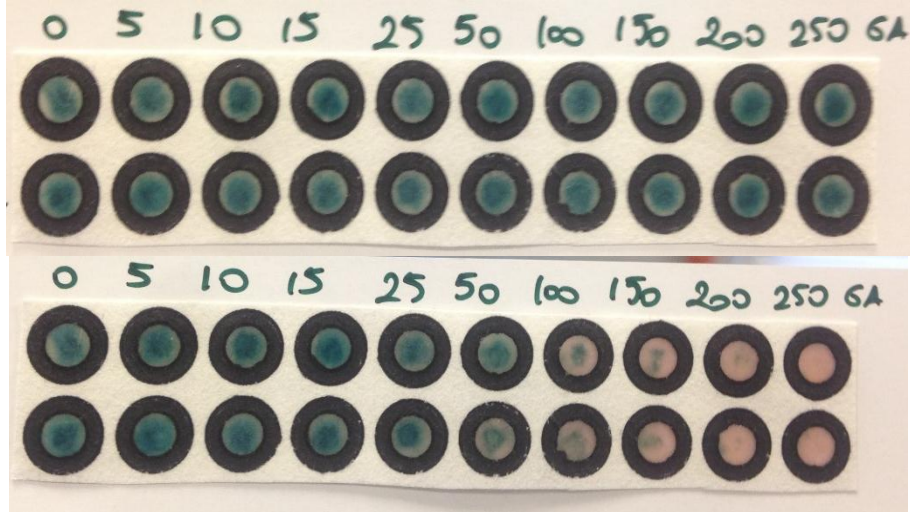
Şekil 4.3 Farklı oranlarda seyreltilmiş ABTS denemesinin 2 ve 4 mikrolit uygulaması

Şekil 4.3'te; 3.2.2.5.1 başlığı altında aktarılan işlem basamakları izlenirken a. maddesinde yer alan 20 mM ABTS kimyasalının seyreltilerek ve miktar olarak 2'şer ve 4'er µl kullanımlarının denemesi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.3'teki ilk üç dizaynın yer aldığı platformlara, belirlenmiş konsantrasyonlardaki 2'şer µl ABTS, HRP, H₂O₂ ve gallik asit konsantrasyonları yöntem kısmında belirtilen işlem basamaklarındaki sıralamaya göre uygulanmıştır. Üçlü dizaynın ilk sırasındaki dört spota (1:8) oranında; ikincisi sırasındaki dört spota (1:4) oranında; üçüncü sırasındaki dört spota (1:1) oranında seyreltilmiş 20 mM ABTS'den 2'şer µl uygulandıktan sonra işlem basamakları sırasıyla uygulanmıştır. Üçlü dizaynın ikinci sırasındaki dört spota (1:8) oranında; ikincisi sırasındaki dört spota (1:4) oranında; üçüncü sırasındaki dört spota (1:1) oranında seyreltilmiş 20 mM ABTS'den 4'er µl uygulandıktan sonra işlem basamakları sırasıyla uygulanmıştır.

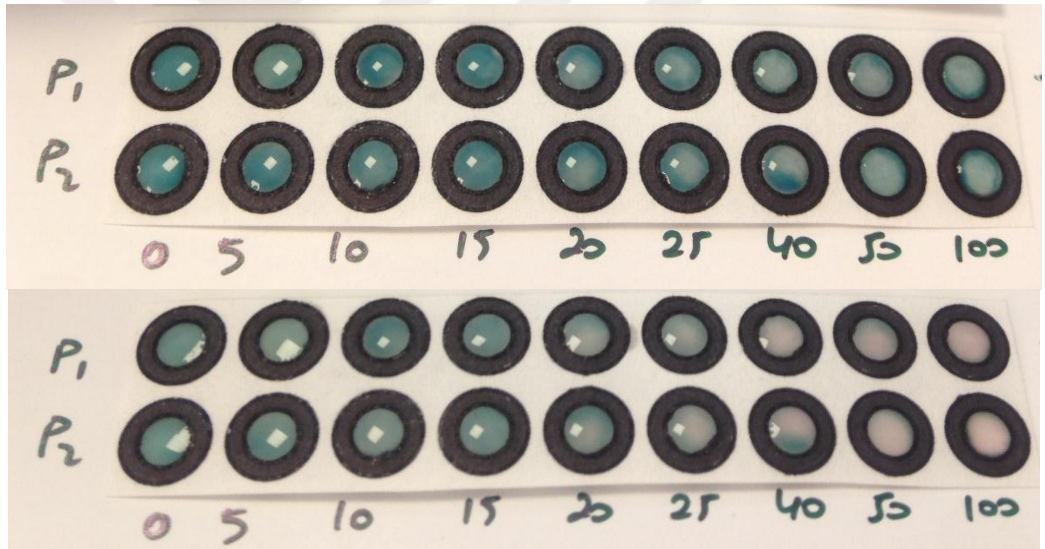


Şekil 4.4 (1:1) oranında seyreltilmiş tekrarlı ABTS denemesi

Şekil 4.3'teki uygulamalar sonrası seyreltme oranlarından (1:1) uygulaması, işlem basamağında kullanılacak her bir kimyasaldan 2'şer μ l olacak şekilde aynı konsantrasyonlarda iki paralel olacak şekilde Şekil 4.4'te görüldüğü gibi tekrarlanmıştır. Şekil 4.4'te yer alan ilk (2*4)'lük platform işlem basamakları sonrası sıfırıncı dakikaya; ikinci (2*4)'lük platform işlem basamakları sonrası beşinci dakikada çekilmiş görüntüye aittir. Bu deneme sonrası 0 ile 50 ppm gallik asit arasında daha küçük konsantrasyonların denenmesine karar verilmiş ve Şekil 4.5'te gösterildiği gibi aynı işlem basamakları ve konsantrasyonların kullanılması ile iki paralel olacak şekilde deneme gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.5'teki (2*10)'lük ilk platform işlem basamaklarının sırayla uygulaması sonrası sıfırıncı dakikadaki; ikinci platform işlem basamaklarının sırayla uygulaması sonrası beşinci dakikaya ait görüntüdür. Şekil 4.6'da aynı işlem basamaklarının ABTS maddesinin seyreltilmeden ve konsantrasyonu 7 mM olacak şekilde; H_2O_2 'nin 5 mM ve gallik asit konsantrasyonlarının (0-5-10-15-20-25-40-50-100 ppm) kullanımı ile deneme gerçekleştirilmiştir. Üstteki (2*9)'lük platform işlem basamakları sonrası sıfırıncı dakikayı; alttaki platform beşinci dakikayı göstermektedir.



Şekil 4.5 (1:1) oranında seyreltilmiş ve farklı konsantrasyonlardaki gallik asitlerin kullanımı ile tekrarlı ABTS denemesi



Şekil 4.6 Belirtilen gallik asit konsantrasyonlarıyla gerçekleştirilen deneme



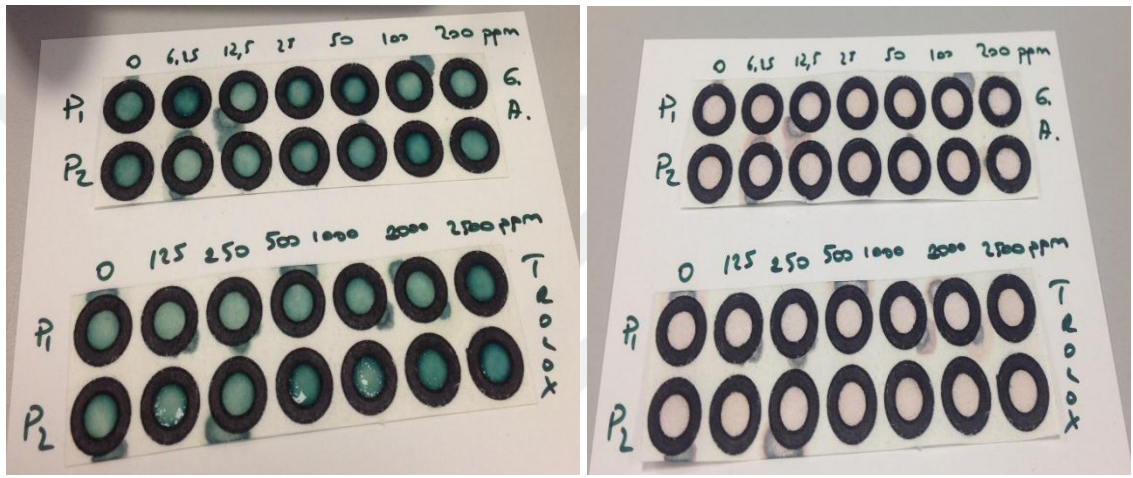
Şekil 4.7 Belirtilen miktarlardaki gallik asit ve troloks standartlarının uygulanması

Şekil 4.7’de ilk sırada yer alan (2*7)’lik platformda 7 mM ABTS, 5 mM H₂O₂ ve (0-6.25-12.5-25-50-100-200 ppm) gallik asit konsantrasyonları yöntem kısmında belirtilen işlem basamakları izlenerek paralel olarak denemesi sonrası beşinci dakikadaki görüntüsü yer almaktadır. Şekil 4.7’deki ikinci sıradaki (2*7)’lik platformda gallik asit hariç diğer malzemelerin miktarları ve konsantrasyonları aynı olup gallik asit yerine (0-125-250-500-1000-2000-2500 ppm) troloks kullanılarak izlenen işlem basamakları sonrası beşinci dakikada çekilmiş platformların görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 4.8 Belirtilen miktarlardaki gallik asit ve troloks standartlarının uygulanması

Şekil 4.8'in üst kısmında yer alan (2*7)'lik platformda; yöntem kısmında belirtilen konsantrasyonlardan sadece gallik asit konsantrasyonları (0-6.25-12.5-25-50-100-200 ppm) olacak şekilde farklı kullanılarak aynı işlem basamaklarının paralel uygulanması gerçekleştirilmesinin ardından beşinci dakikada çekilmiş fotoğrafı yer almaktadır. Şekil 4.8'in alt kısmında yer alan (2*7)'lik platformda; (0-125-250-500-1000-2000-2500 ppm) troloks konsantrasyonlarının aynı kimyasal ve işlem basamaklarının paralel yürütülmesi sonucu beşinci dakikada çekilmiş fotoğrafı yer almaktadır.



Şekil 4.9 Belirtilen miktarlardaki gallik asit ve troloks standartlarının bir diğer denemesi

Şekil 4.9'da soldaki spotların tamamı denemenin sıfırıncı dakikasında, sağdaki görsel denemenin beşinci dakikasında çekilmiştir. Soldaki görselin üst kısmındaki (2*7)'lik platformda Şekil 4.8'deki gallik asit konsantrasyonlarının kullanımı ile aynı şekilde deneme gerçekleştirilmiş ve sağdaki görselde de beşinci dakikadaki renk değişimi fotoğraflaması yapılmıştır. Şekil 4.9'da solda alt kısımda yer alan (2*7)'lik platformda Şekil 4.8'deki denemenin aynısı troloks konsantrasyonları da aynı olacak şekilde paraleliyle gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.9'da sağda yer alan platformlar, solda yer alan platformlardaki denemelerin beşinci dakikada renk değişiminin gözlenmesi amacıyla çekilmiştir.



Şekil 4.10 Farklı konsantrasyonlardaki H₂O₂ içeren karışımların ependorflarda uygulaması

Şekil 4.10'da H₂O₂ konsantrasyonlarındaki farklılığın reaksiyondaki renk değişimine olan etkisinin incelenmesi amacıyla kağıt yerine ependorflarda deneme gerçekleştirilmiştir. Bunun için tüm ependorflara H₂O₂'daki konsantrasyon farklılığı hariç, 50 µl 20 mM ABTS, 50 µl HRP, 50'şer µl (0-25-50-100-200 ppm) gallik asit konsantrasyonları ve 50 µl H₂O₂ eklenmiştir. En üst sıradan en alt sıraya doğru kullanılan H₂O₂ konsantrasyonları sırasıyla 17, 10, 5 ve 1.7 mM'dır. Ependorflar, gallik asit konsantrasyonları soldan sağa doğru artacak şekilde ilave edilmiştir (Sırasıyla

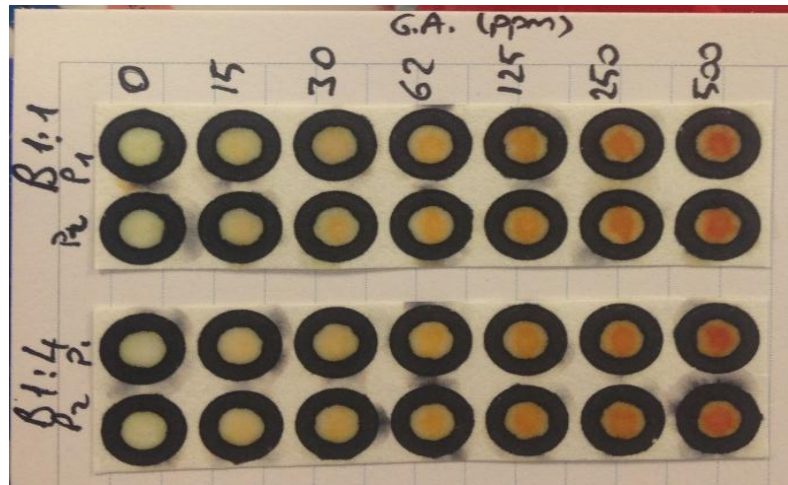
soldan sağa; 0-25-50-100-200 ppm). İşlem basamaklarının gerçekleştirilmesi sonrası beşinci dakikadaki denemenin fotoğraflaması Şekil 4.10'da yer almaktadır.

Kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin gallik asit konsantrasyonları yerine yöntem kısmında belirtilen işlem basamaklarının yürütülmesi ile denemesine ait görsel Şekil 4.11'de yer almaktadır. Şekildeki en sağdaki iki spot beyaz şarap örneğinin seyreltilmeden kullanılan denemesine, en soldaki altlı üstlü iki spot kırmızı şarabın (1:5) oranında seyreltilerek kullanılan denemesine; ortadaki altlı üstlü iki spot kırmızı şarabın (1:1) oranında seyreltilerek kullanılan denemesine aittir. Alt ve üstte yer alan spotlar birbirilerinin paraleli olması amacıyla kullanılmıştır.



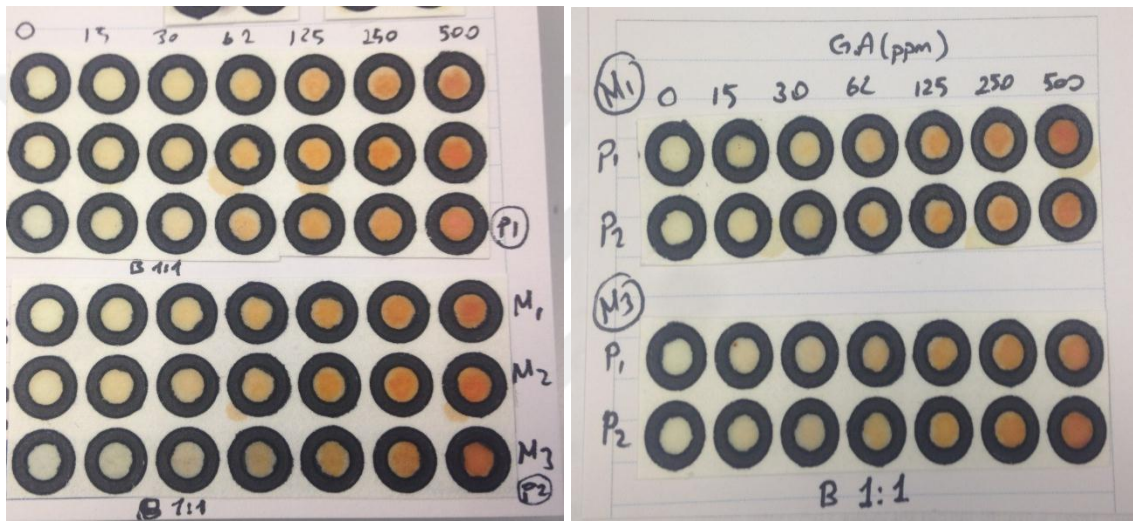
Şekil 4.11 Kırmızı ve beyaz şarap örnekleri ile deneme

CUPRAC yönteminin doğrusallığın elde edilmesi için çeşitli denemeler yapılmıştır.



Şekil 4.12 Asetik asit tamponunun seyreltilerek kullanıldığı denemeler

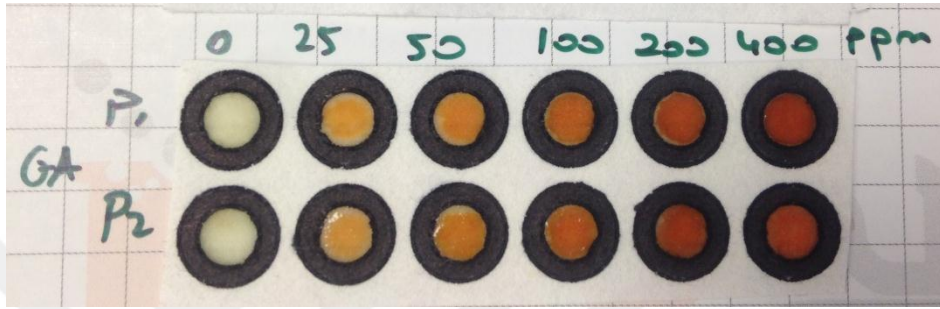
Şekil 4.12’de 0.2 M asetat tamponunun (1:1) ve (1:4) oranında seyreltilmiş halinin paralel çalışmasına ait deneme görülmektedir. Üst sırada yer alan (2*7)’lik platformda yöntem kısmında belirtilen işlem basamaklarının, (0-15-30-62-125-250-500 ppm) gallik asit konsantrasyonları tüm spotlar için soldan sağa azdan çoğa doğru olacak şekilde uygulaması gerçekleştirilmiştir. Alt sırada yer alan (2*7)’lik platformda üst kısmında yer alan platformdaki gibi uygulanmış; ancak tek fark kullanılan asetat tamponunun (1:4) oranında seyreltilmiş olmasıdır. Şekil 4.12’de denemenin beşinci dakikasındaki fotoğrafa yer verilmiştir.



Şekil 4.13 Farklı oranlarda bileşenleri içeren gallik asit kullanılarak M1, M2, M3 karışımları denemesi

(1:1) oranında seyreltilmiş asetat tamponunun ve reaksiyondaki diğer kimyasalların belirtilen miktarlarda (M1: 20.8 mg Neokuproin + 1 ml etanol karışımından ve 18.8 mg $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ + 1 ml su karışımından 50’şer μl alınarak oluşturulan karışım; M2: 20.8 mg Neokuproin + 1 ml etanol karışımından 50 μl , 18.8 mg $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ + 1 ml su karışımından 30 μl ve 20 μl su alınarak oluşturulan karışım; M3: 20.8 mg Neokuproin + 1 ml etanol karışımından 30 μl , 18.8 mg $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ + 1 ml su karışımından 50 μl ve 20 μl su alınarak oluşturulan karışım) karıştırılmasıyla elde edilen M1, M2, M3 karışımlarıyla gerçekleştirilen denemeye Şekil 4.13’te yer verilmiştir. Şeklin solunda üç karışımın P1 ve P2 olarak adlandırılan iki paralel denemesinin beşinci dakikadaki hali fotoğraflanmıştır. Üstteki (3*7)’lik platform ve alttaki (3*7)’lik platform birbirinin

paraleli olup yukarıdan aşağıya sırasıyla M1, M2 ve M3 olacak şekilde ve tüm platformda soldan sağa doğru artan gallik asit konsantrasyonları kullanılmıştır (0-15-30-62-125-250-500 ppm). Şeklin sağında yer alan üstteki (2*7)'lik platformda M1 karışımının paralel kullanımının beşinci dakikadaki haline; alttaki platformda ise M3 karışımının paralel kullanımının beşinci dakikadaki haline ait fotoğraflamaya yer verilmiştir.



Şekil 4.14 Farklı konsantrasyonlardaki gallik asit ve M1 karışımı kullanılarak gerçekleştirilen deneme

Şekil 4.14'te M1 (M1: (20.8 mg Neokuproin + 1 ml etanol) karışımından ve (18.8 mg Cu(NO₃)₂ + 1 ml su) karışımından 50'şer µl alınarak oluşturulan karışım) karışımının (0-25-50-100-200-400 ppm) konsantrasyonlarındaki gallik asit konsantrasyonlarının kullanılmasıyla gerçekleştirilen denemenin beşinci dakikadaki fotoğraflaması yer almaktadır.

Denemeler sonucunda kağıt tabanlı platformlarda gerçekleştirilerek doğrusallık elde edilebilen tek yöntem CUPRAC olmuştur.



Şekil 4.15 Standart olarak troloksun kullanıldığı bir çalışma

Şekil 4.15'te (0-125-250-500-1000-2000-2500 ppm) troloks konsantrasyonları M1 karışımı ve diğer kimyasallar aynı konsantrasyonlarda olacak şekilde kullanılarak uygulanmış denemenin beşinci dakikadaki fotoğraflanmış hali yer almaktadır. Şekilde iki paralel olacak şekilde çalışılmış ve soldan sağa doğru artan troloks konsantrasyonları uygulanmıştır.

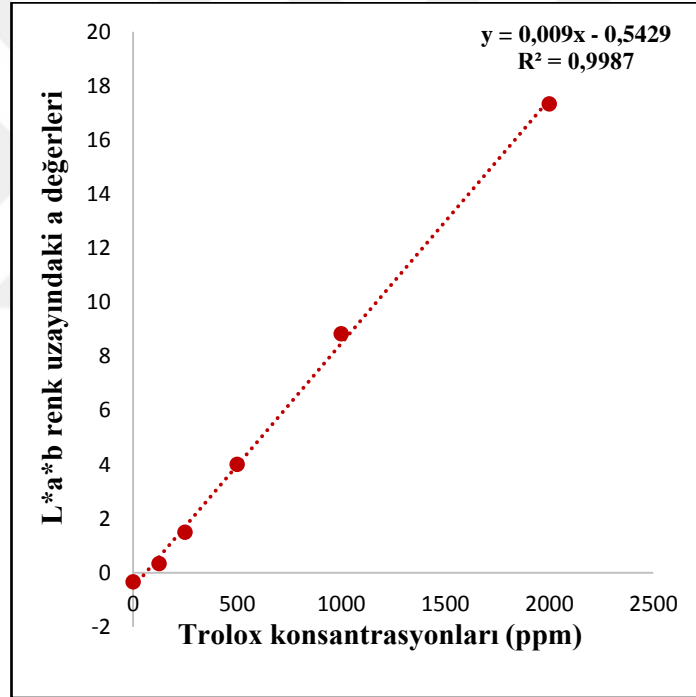


Şekil 4.16 Kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin uygulaması (son dört spot beyaz şaraplara ait)

Şekil 4.16'da üstteki fotoğrafta P1 ve P2 paralel olacak şekilde ilk beş spot yani (2*5)'lik platform kırmızı şarap örneği uygulamasına; aynı şekilde P1 ve P2 paralel olacak şekilde son dört spot yani (2*2)'lik platform beyaz şarap örneği uygulamasına ait beşinci dakikadaki renk değişimi yer almaktadır. Kırmızı şarap örnekleri, soldan sağa doğru paralel olacak şekilde sırasıyla seyreltilmeden, (1:1), (1:5), (1:10), (1:20)

oranlarında seyreltilerek spotlara uygulanmıştır. Beyaz şarap örnekleri için soldaki spotlara seyreltilmeden; sağdaki spotlara ise (1:1) oranında seyreltilmiş beyaz şarap örneği uygulanmıştır. Şekil 4.16'daki altta yer alan fotoğrafta ise; ilk (2*6)'lık platform kırmızı şarap örneğine; son (2*2)'lik platform beyaz şarap örneğine aittir. Kırmızı şarap örneklerinin platformlara uygulaması soldan sağa doğru sırasıyla (1:20), (1:10), (1:5), (1:1) ve seyreltilmeden olarak gerçekleştirilmiş ve beşinci dakikada fotoğraflaması yapılmıştır.

Troloks' un standart olarak kullanıldığı çalışmalar sonucunda (0-2000) ppm aralığında doğrusallık elde edilmiştir.

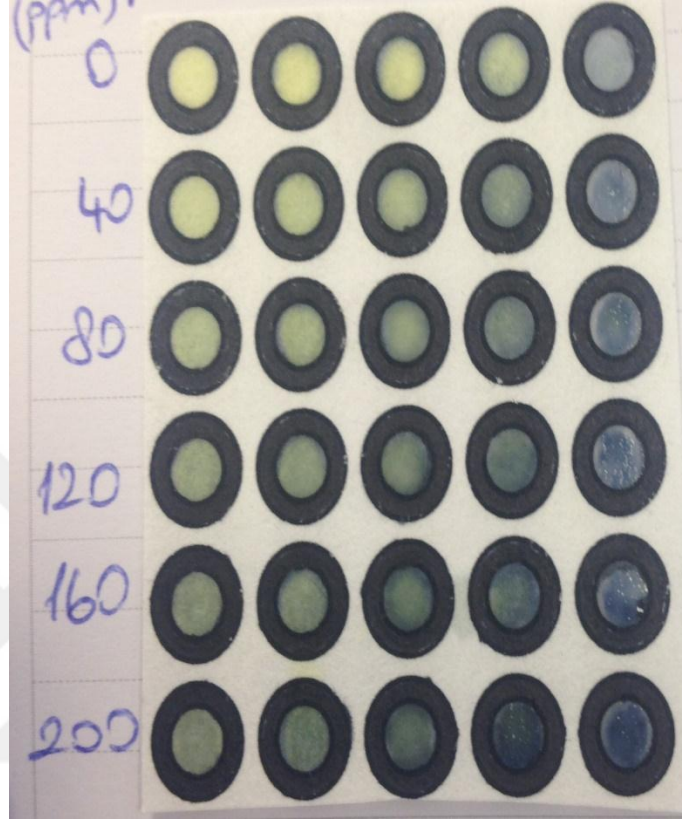


Şekil 4.17 (0-2000 ppm) aralığındaki troloks konsantrasyonlarına karşılık gelen a değerleri

4.2.2 Toplam fenolik madde analizi

Kağıt tabanlı platformda numuneler üzerinde gerçekleştirilen fenolik bileşen analizi sonucu doğrusallık elde edilmiş olup yöntemin uygulanabilirliği kanıtlanmıştır. Kağıt

tabanlı platform üzerinde doymuş karbonatın seyreltilme denemeleri sonucunda en uygun seyreltmenin 1:9 oranı olduğu tespit edilmiştir.



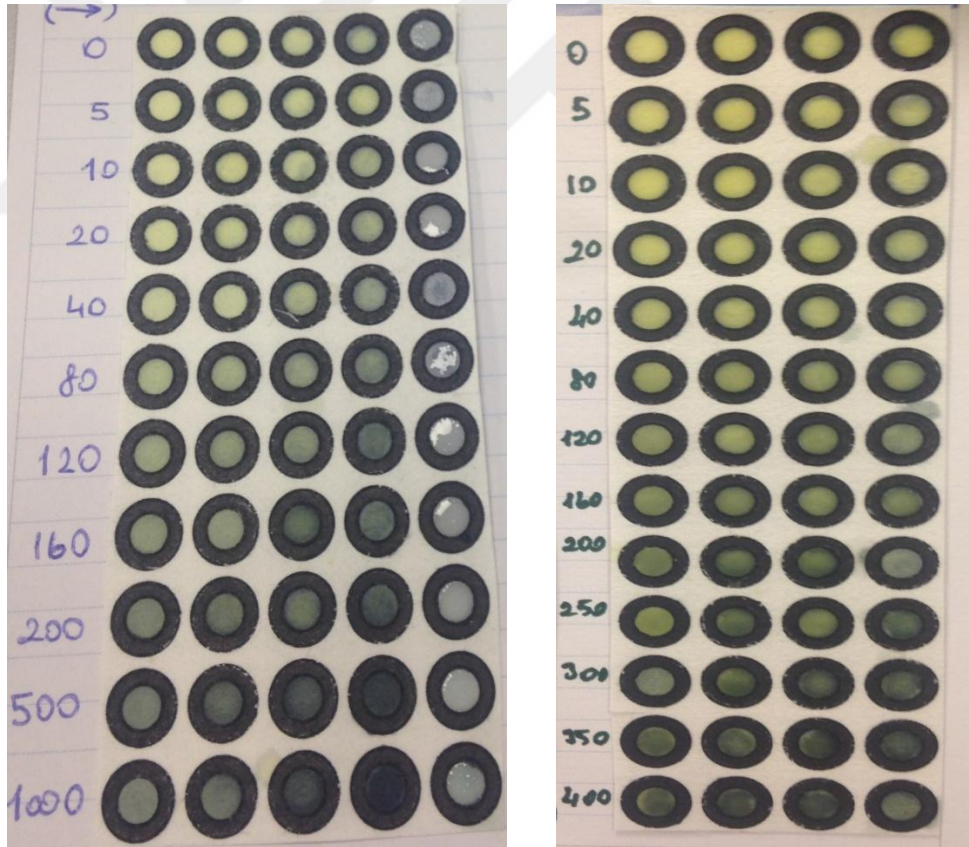
Şekil 4.18 Doymuş karbonat için seyreltme çalışmaları

Şekil 4.18’de tüm spotlara yukarıdan aşağıya doğru (0-40-80-120-160-200 ppm) galik asit konsantrasyonları ve soldan sağa doğru sırasıyla doymuş karbonat (1:8), (1:4), (1:1) oranında seyreltilerek ve en sağda seyreltilmeden kullanılarak platformlara uygulanmış ve beşinci dakikadaki fotoğraflamasına burada yer verilmiştir.



Şekil 4.19 Doymuş karbonat için seyreltme çalışmaları

Şekil 4.19’da seyreltme oranlarından (1:4) üstteki spotlara; (1:8) alttaki spotlara konulmuş ve diğer kimyasallarla (0-5-10-20-40-80-120-160-200-500-1000 ppm) gallik asit konsantrasyonları ilavesi yapılarak renk değişiminin beşinci dakikadaki fotoğraflamasına burada yer verilmiştir.



Şekil 4.20 Gallik asit konsantrasyon denemeleri (0-1000; 0-400 ppm)

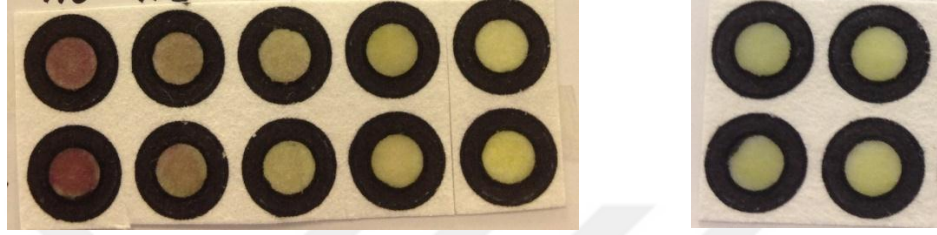
Şekil 4.20’de yöntem kısmındaki işlem basamaklarının izlenmesinin ardından soldaki görsel için (0-1000 ppm); sağdaki görsel için (0-400 ppm) aralığındaki gallik asit konsantrasyonlarının ilave edilmesi sonrası platformların beşinci dakikadaki fotoğrafları yer almaktadır. Soldaki platformda; soldan sağa doğru (1:8), (1:4), (1:2), (1:1) oranlarında seyreltilmiş ve seyreltilmeden kullanılan doymuş karbonat yukarıdan aşağıya doğru tüm spotlara ilave edilmiştir. Gallik asit konsantrasyonları her iki deneme için de yukarıdan aşağıya doğru belirtilen konsantrasyon aralıklarında artmaktadır. Sağdaki platformda; doymuş karbonatların seyreltilmesi soldan sağa doğru; (1:8), (1:4), (1:2), (1:1) oranlarında seyreltilme sonrası kullanılmıştır.

Gallik asit konsantrasyonlarının farklı miktarlarda standart olarak kullanıldığı denemelerin sonucunda en uygun aralığın (0-200) ppm olduğuna karar verilmiştir.

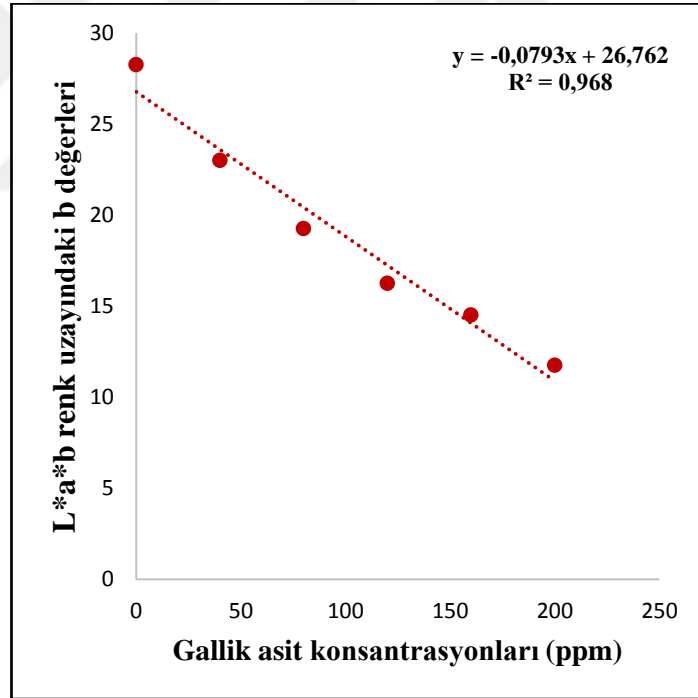
Şekil 4.21 ve Şekil 4.22’de platformlara gallik asit konsantrasyonları yerine şarap örneklerinin ilavesi ile denemeler gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.21’de iki paralel olacak şekilde çalışılmış ve sondaki P1 iki spotu ve P2 iki spotu beyaz şarap örneğine ait olup; soldaki beyaz şarap örneğinin (1:3) oranında seyreltilerek sağdaki seyreltilmeden uygulamasıyla gerçekleştirilen denemedir. Diğer (2*6)’lık platform kırmızı şarap örneklerinin denemesine aittir. P1 ve P2 aynı olacak şekilde soldan sağa doğru sırasıyla kontrol amaçlı su örneği, (1:20), (1:10), (1:3), (1:1) oranlarında seyreltilmiş ve seyreltilmeden kırmızı şarap örneği ilave edilmiştir. Şekildeki fotoğraf denemenin beşinci dakikasına aittir. Şekil 4.22’de ise; soldaki fotoğraf kırmızı şarap örneğinin, sağdaki fotoğraf beyaz şarap örneğinin denemesine aittir. Soldaki fotoğrafta P1 ve P2 aynı olacak şekilde kırmızı şarap örneği soldan sağa doğru sırasıyla seyreltilmeden, (1:2), (1:5), (1:10), (1:20) oranlarında seyreltilerek platformlara uygulanmıştır. Sağdaki platformda P1 ve P2 aynı olacak şekilde soldan sağa doğru seyreltilmeden ve (1:2) oranında seyreltilerek beyaz şarap örneği ilave edilmiştir. Görseller denemenin beşinci dakikasına aittir.



Şekil 4.21 Kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin uygulaması



Şekil 4.22 Seyreltik şarap örneklerinin uygulaması



Şekil 4.23 (0-200 ppm) aralığındaki gallik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen b değerleri

(0-200 ppm) aralığındaki gallik asit konsantrasyonlarının kullanılarak işlem basamaklarının uygulandığı deneme sonrası konsantrasyonlara karşılık gelen b değerlerinin R-kare değeri 0.97 olarak elde edilmiştir.

4.2.3 Organik asit analizi

Şarap örnekleri için literatürdeki kolorimetrik enzim bazlı yöntemlerin kağıt tabanlı platformlar için uyarlanması sonucunda organik asit analizleri denenmiştir. Yapılan denemeler sonucunda tartarik asidin analizi gerçekleştirilememiş olup malik ve laktik asit için sonuçlarda doğrusalılık elde edilmiştir. Organik asitler için elde edilen sonuçlar başlıklar altında belirtilmiştir.

4.2.3.1 Tartarik asit analizi

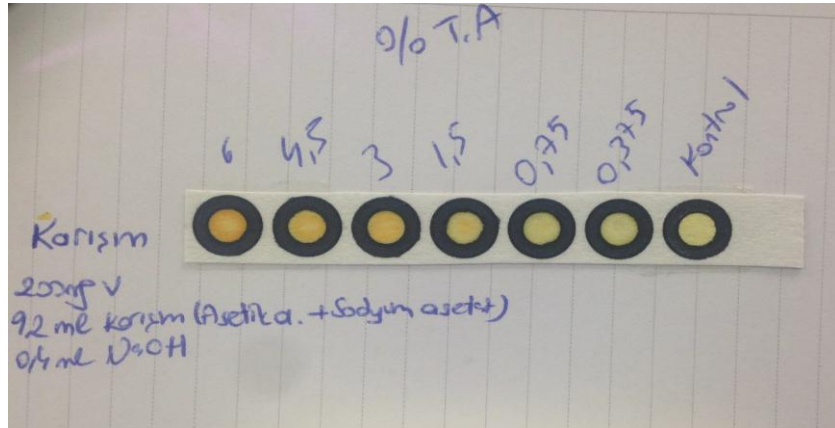
Örnek alınan tartarik asit miktarına yönelik makalelere göre kağıt tabanlı platformda gerçekleştirilen denemeler sonucunda sarıdan turuncu renge dönüş gözlenmiştir. Yöntem kısmında belirtilen karışımlar çeşitli varyasyonlarda kağıt tabanlı platform spotlarına uygulanmıştır. Bu varyasyonlar sonucunda, asetik asidin karışımında kullanılmamasına karar verilmiş ve NaOH ile amonyum vanadatın karıştırılma oranlarına ve seyreltme derecelerine karar verilmiştir. İlave edilecek tartarik asit miktarı da, renk değişiminin gerçekleştiği noktaya kadar belirli oranda konsantrasyonunun arttırılarak denenmesi ile karşılaştırılmıştır. Çalışmaların sonucunda; 200 mg amonyum monovanadat, 9.2 ml su, 0.4 ml NaOH (0.1 N), artan ve azalan doğrusal farklı tartarik asit konsantrasyonları, farklı pH'larda ve farklı uygulama yöntemleri ile 2'şer µl miktarında platformlara uygulanmıştır.

Denenen çalışmalara ait görseller aşağıda belirtilmiştir:



Şekil 4.24 Tartarik asit konsantrasyonlarının (mg/ml) ependorflardaki renk değişimi

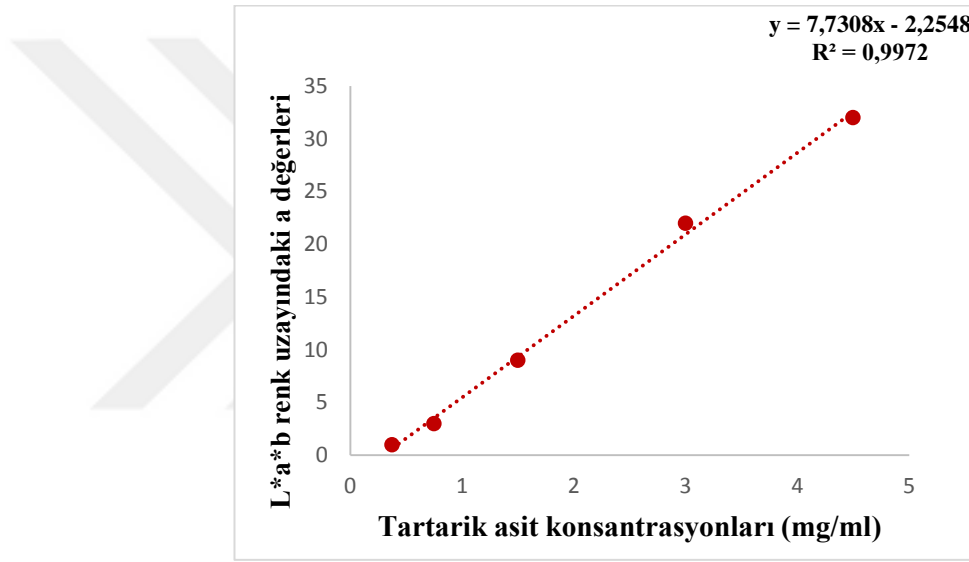
Şekil 4.24'te tartarik asit konsantrasyonlarının kağıt platformu öncesi yöntem kısmında belirtilen kimyasallarla karıştırılması ile elde edilen renk değişimine ait ilk an yer almaktadır. Burada tartarik asit konsantrasyonları yüzde üzerinden değerlendirilmiştir. Soldan sağa doğru sırasıyla % 4.5, 3, 1.5, 0.75, 0.375 tartarik asit ilave edilmiştir.



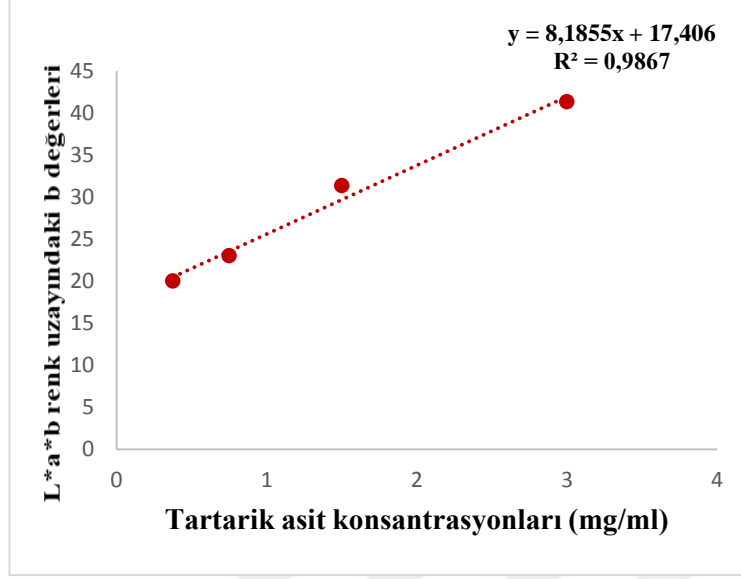
Şekil 4.25 Karışımında su yerine asetik asit ve sodyum asetat kullanılarak gerçekleştirilen deneme

Şekil 4.25'te 0.7 M asetat tamponu, 200 mg vanadat, 0.8 M NaOH kimyasallarının yöntem kısmında belirtilen sıraya göre platformlara uygulanışı sonrasında sırasıyla soldan sağa doğru % 6, 4.5, 3, 1.5, 0.75, 0.375 tartarik asit konsantrasyonları ve kontrol amaçlı su ilave edilmiştir. Şekilde denemenin kimyasallarının uygulanmasının ardından beşinci dakikasına ait fotoğraflamaya yer verilmiştir.

Denemelere ait sonuçlar aşağıdaki gibidir:



Şekil 4.26 (0,375-4,5 mg/ml) aralığında ependorflardaki tartarik asit miktarlarına karşılık gelen a değerleri



Şekil 4.27 (0,375 - 3 mg/ml) aralığındaki tartarik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen ortalama b değerleri

Doğrusallık gösterildiği düşünülen çalışma başka bir gün tekrarlandığında aynı sonuçlar elde edilememiştir. Asetik asidin baskın oluşturduğu sarı rengin turuncuya dönüşümü engellemesi, amonyum monovanadatın reaksiyon sonucu amonyak oluşturarak renk oluşumunu engellemesi veya kağıdın yapısının sonuçtaki farklılığa sebep olmuş olabileceği düşünülmüştür. Yöntem optimize edilemediği için şarap örneklerine uygulamasına da geçilememiştir.

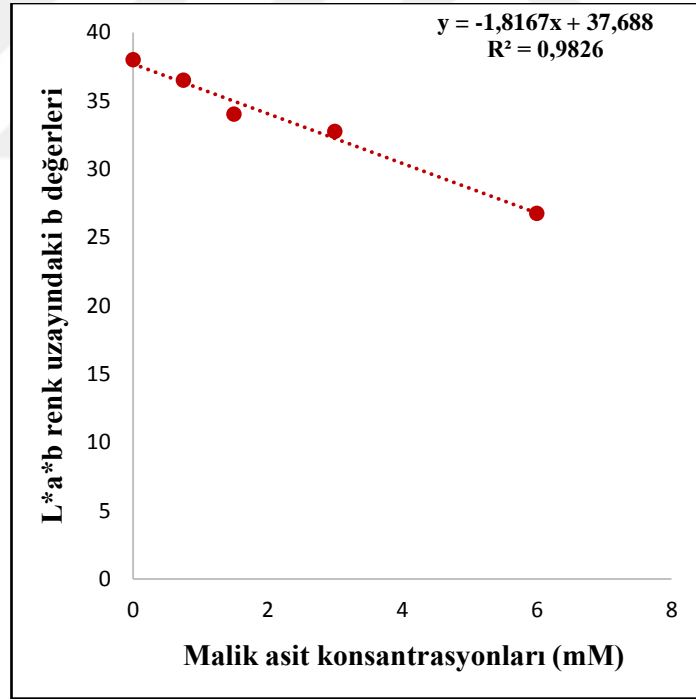
4.2.3.2 Malik asit analizi

Miktarı malolaktik fermantasyonda önemli olan malik asidin kağıt tabanlı platformlarda yapılan denemeler sonucunda 0-6 mM aralığında 5. dakikada b değerleri kullanılarak doğrusallık elde edilmiştir. Böylelikle şarap örneklerindeki malik asit miktarının kağıt tabanlı platformlarda gerçekleştirilebildiği söylenebilmektedir.

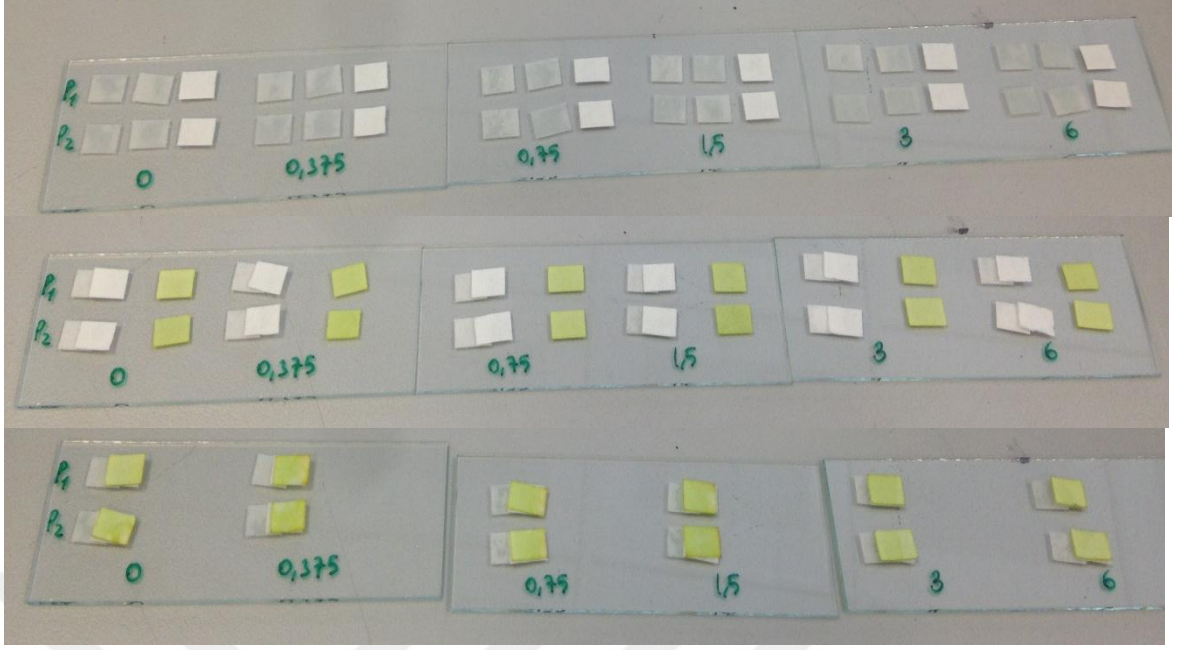


Şekil 4.28 Belirtilen aralıktaki malik asit konsantrasyonlarına ait tekrarlı deneme

Şekil 4.28'deki P1, P2 paralel olacak şekilde platformlarda yöntem kısmında belirtilen basamaklara uygun olarak işlem basamakları gerçekleştirildikten sonra soldan sağa doğru sırasıyla (0- 0.375-0.75-1.5-3-6 mM) malik asit konsantrasyonlarından ilave edilmiştir. İşlemlerin beşinci dakikasındaki fotoğraflama şekilde yer almaktadır.



Şekil 4.29 (0-6 Mm) aralığındaki malik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen b değerleri



Şekil 4.30 Belirtilen konsantrasyonlardaki 3 boyutlu kağıt tabanlı platform denemesi

Platformda uygulanan denemelere ek olarak üç boyutlu platform uygulaması için deneme gerçekleştirilmiştir. Bu denemenin gerçekleştirilmesinde aynı en ve boyda kesilmiş üç parça kağıt platform paralellik olacak şekilde denenmiştir. Platformlara yöntem kısmında belirtilen aşamalar sırasıyla uygulanmıştır. Şekil 4.30'da en üstte yer alan fotoğrafta üç adet lamın üzerine malik asit konsantrasyonlarına uygun olarak platformlar paralel olarak hazırlanmıştır. En üstte solda yer alan lam üzerine 0 ve 0.375 mM malik asit konsantrasyonlarının denemesi gerçekleştirilmiştir. P1 paraleli için yöntemin uygulanışı anlatılacak olursa; üç eşit kağıt parçasından ilkinde pH, ikincisine enzim (L-MDH), damlatılıp bir dakika sonra enzim dağıtılan kağıtlar pH damlatılan kağıtların üzerine yerleştirilmiştir. Üçüncü kağıda bu sırada MTT ilave edilmiştir. Bu Şekil 4.30'da ortadaki fotoğraflamada görülmektedir. MTT ilave edilen kağıt diğer iki kağıdın üzerine yerleştirilmiştir. Ardından PMS bu üç kağıdın üzerine ilave edilmiştir. PMS ilavesi sonrası malik asit ve NAD⁺ karışımlarından da tüm spotlara ilave yapılmıştır. Bu işlemler sonrası platformların beşinci dakikası Şekil 4.30'da son fotoğraflamada görülmektedir. Fotoğrafta da gözlenebileceği üzere malik asit renk reaksiyonu sonucu sarıdan mavi-mor tonlarına olan geçiş bu yöntem sonrası Şekil 4.30'da görülememiştir.



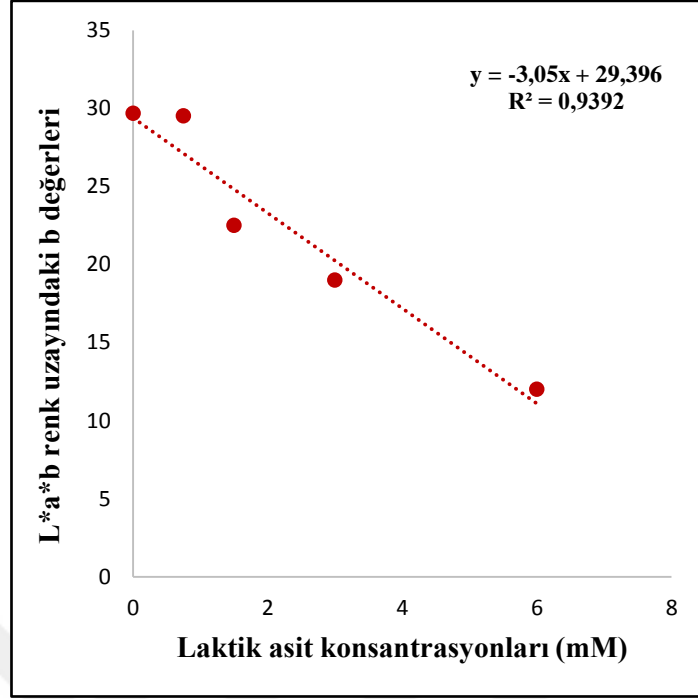
Şekil 4.31 Belirtilen konsantrasyonlardaki 3 boyutlu kağıt tabanlı platform denemesi

Şekil 4.30'da uygulanan yöntem ile sadece 0 ve 6 mM malik asit konsantrasyonları için tekrar bir paralelli deneme gerçekleştirilmiştir. İşlem basamaklarının aynı olmasına rağmen Şekil 4.31'de renk değişiminde sarıdan mavi-mor tonlarına geçiş görülmüştür. Ancak bu renk değişiminin 0-3-5. Dakikalardaki fotoğraflamasının C-measure'da okumasının yapılmasının ardından doğrusal bir değişim eldesi söz konusu olmamıştır.

Yukarıdaki şekillerde belirtilen üç boyutlu denemeler sonucunda da istenildiği gibi renk değişimi Şekil 4.31'de gerçekleşmiştir. Ancak onda da doğrusal bir renk değişim eldesi söz konusu olmamıştır.

4.2.3.3 Laktik asit analizi

Malik asidin önemli oluşu gibi laktik asit de malolaktik fermantasyon için önemli bir organik asittir. Ayrıca şarabın kalitesi hakkında ve oluşum evreleri hakkında bilgi vermesi açısından analizinin hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi önemlidir. Şarap örneklerinde laktik asit analizi, kağıt tabanlı platformlarda gerçekleştirilebilmiştir. Yapılan denemeler sonucunda 0-6 mM aralığında 5. dakikada b değerleri kullanılarak doğrusallık elde edilmiştir. İlgili analize ait sonuç aşağıdaki gibidir:



Şekil 4.32 (0-6 Mm) aralığındaki laktik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen b değerleri

5. SONUÇ

Tez kapsamındaki çalışmalar, geleneksel yöntemler ve hızlı analiz yöntemlerinden kağıt tabanlı platformlar ile gerçekleştirilen çalışmalardan oluşmaktadır.

Organik asit analizleri için geleneksel yöntem olarak HPLC; toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde analizleri için spektrofotometre cihazları kullanılmıştır. Hızlı analiz yöntemleri arasında yer alan kağıt tabanlı platformlarda da aynı analizler çeşitli denemelerle yürütülmüştür. Geleneksel yöntemlere ait analizler, materyal ve yöntem kısmında belirtilen literatürler baz alınarak gerçekleştirilmiştir. Kağıt tabanlı platformlar üzerinde ise; hedeflenen analize özgü farklı basamaklar takip edilerek analizler gerçekleştirilmiştir. Ancak genel hatlarıyla kağıt tabanlı platformlarda gerçekleştirilen analiz basamakları şu şekildedir: (i) kağıt platformların kesilmesi ve analiz için uygun hale getirilmesi, (ii) kağıdın boyanması, (iii) her analize uygun kimyasalların kağıda uygulanması, (iv) reaksiyonun gerçekleşmesi için her analize özgü sürenin beklenmesi ve ardından platformların fotoğraflanması, (v) akıllı telefon uygulamasında analiz platformlarının okumasının yapılması, (vi) okuması yapılan değerlerin Excel'e geçirilmesi ve kalibrasyon grafiklerinin elde edilerek yorumlanması.

Tez çalışmasının genel amacı geleneksel yöntemler ve kağıt tabanlı platformlar ile gerçekleştirilen analiz sonuçlarının karşılaştırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda HPLC ile organik asit analizlerine; spektrofotometre ile toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite analizlerine ait sonuçlar elde edilmiştir. Kağıt tabanlı platformlarda toplam antioksidan aktivite analizi için tercih edilen yöntemlerden CUPRAC ile doğrusal sonuçlar elde edilmiş; ancak aynı analiz için ABTS ve DPPH yöntemleri farklı denemelerle uygulanmasına rağmen doğrusal sonuçlar elde edilememiştir. Toplam fenolik madde analizi için Folin-Ciocalteu yöntemi uygulanarak doğrusal sonuçlar elde edilmiştir. Organik asitlerden malik ve laktik asit analizlerinde doğrusal sonuçlar elde edilirken; tartarik asit analizi için doğrusal sonuç elde edilememiştir.

Kağıt tabanlı platformda toplam fenolik madde analizi, (Slinkard ve Singleton 1997) ve (Singleton ve Rossi 1965) baz alınarak Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak

gerçekleştirilmiştir. Analiz prensibinde molibdenin elektron transferi sonucu renk değişimi gözlenmiştir. Denemelerde yöntemin uygulanabilirliğini izlemek amacıyla örnek kullanımı öncesi gallik asit konsantrasyonları kullanılmıştır. Konsantrasyon miktarlarına bağlı olarak renk değişikliği akıllı telefon uygulamasına gerek kalmadan çıplak gözle bile fark edilebilir şekilde açıktan koyu tona geçiş sıralaması göstermiştir. Konsantrasyonun az olduğu platform spotlarında açık sarı renk görülürken; konsantrasyon artışına paralel olarak açık sarı renk yeşil ve koyu mavi tonlarına doğru geçiş yapmıştır. Kağıt tabanlı platformda 0-40-80-120-160-200 ppm gallik asit konsantrasyonlarına karşılık gelen b değerleri ile elde edilen R-kare değeri 0,97 olarak elde edilmiştir. Aynı konsantrasyonlardaki gallik asit standartları spektrofotometreye de verilerek kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin uygulanması için absorbans ölçümü yapılmıştır. Kırmızı şarap örneği için spektrofotometrede elde edilen 1617 ppm değeri, literatürde belirtilen 940-2652 ppm gallik asit eşdeğerliği aralığında yer almaktadır. Beyaz şarap örneği için spektrofotometrede elde edilen 170 ppm değeri literatürde belirtilen 130-273 ppm gallik asit eşdeğerliği aralığında yer almaktadır. Kağıt tabanlı platformda gallik asit standartları ile elde edilen doğrusallık, kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin uygulanması sonrasında elde edilememiştir. Şarap örneklerinde doğrusallığın elde edilmeme sebebinin, spektrofotometrenin renk ölçüm prensibi ile telefon uygulaması C-measure renk ölçüm prensibinin aynı olmaması, ölçüm anındaki ışık, sıcaklık gibi koşullarının aynı olmaması, şarap seyreltmelerinin uygun oranlarda yapılmaması, şarapların yapısındaki herhangi bir bileşenin kağıtla anlaşılamayan etkileşimi sonucu konsantrasyonu etkilemesi gibi ihtimaller olabileceği düşünülmüştür.

Tez çalışmasında toplam antioksidan aktivite analizini yürütmek amacıyla; ABTS, DPPH, CUPRAC radikal giderme analizleri sırasıyla Miller ve Rice-Evans (1997); Kumaran ve Karunakaran (2006) ve Apak vd. (2004) makalelerindeki yöntemler baz alınarak yürütülmüş ve her yöntemde reaktif ile örnek yerine kullanılan maddeler arasında gerçekleşen tepkime sonrası renk değişiminin görülmesi beklenmiştir.

ABTS analizinde yabanturbu peroksidaz (Horseradish peroxidase-HRP), ABTS, H₂O₂ kimyasallarının ve gallik asit konsantrasyonlarının reaksiyonu sonucu renk değişikliğinin durumu gözlemlenmiştir. Denemenin başlangıcında oluşan yeşil rengin,

renksizleştirme tepkimesi sonucu kaybolması beklenmiş ve uygulama yapılan spotların tamamında gallik asit miktarlarının etkisi görülmeyerek renksizleşme aynı oranda olmuştur. ABTS kimyasalının seyreltilmeden, (1:8), (1:4), (1:1) oranlarında seyreltilerek yapılan denemelerinde (1:1) seyreltmenin iyi olacağı düşünüldü. (1:1) oranında seyreltmenin tekrarlanması sonucunda istenilen sonuç elde edilemedi. Bunun için (0-50 ppm) gallik asit konsantrasyon aralığına inilmesine karar verilmiş; buna istinaden gerçekleştirilen deneme sonrasında da renk değişimi beklenildiği gibi gerçekleşmemiştir. Seyreltilmeden ABTS kullanımı ve farklı konsantrasyonlardaki gallik asit, troloks konsantrasyonları ile gerçekleştirilen denemeler sonucunda da renk değişimi beklenildiği gibi olmamıştır. Farklı miktarlarda H₂O₂ kullanılan, farklı sürelerde uygulama ile gerçekleştirilen denemelerde doğrusal bir renk değişimi gözlenmemiştir. Kullanılan reaktifin karanlıkta bekletilmesi ile yapılan denemelerde de ya tepkime esnasında kimyasallardan birisinin çabuk tükenmesi ya da kağıda emdirilen karışımın sıvıdaki gibi reaksiyon gösterememesi gibi ihtimallerin veya kağıdın özelliklerinden kaynaklı doğrusallık elde edilemediği tahmin edilmiştir.

DPPH analizde radikalın antioksidan madde ile reaksiyona girerek platform renk değişiminin gözlenmesi beklenmiştir. Ancak mor renkli radikalın kağıt tabanlı platformda renginin açılması izlenememiştir. Kağıt platformunda spot bariyerlerini aşacak şekilde hızlı bir yayılım gözlenmiştir. Taşmayı engelleyecek sabitleme gerçekleştirilemediği için yöntemin kağıt tabanlı platformda uygulamasının gerçekleştirilemediği sonucuna varılmıştır.

Toplam antioksidan aktivite analizi için kullanılan yöntemlerden doğrusal renk değişimi sadece CUPRAC analizinde elde edilebilmiştir. Yöntem, Gouda ve Amin (2010) makalesine göre uyarlanmış basamakların izlenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Denemeler sonucunda işlem basamağında kullanılan asetat tamponunun (1:4) ve (1:1) oranlarındaki seyreltmelerden (1:4)'ün spotlardan taşma yapması sebebiyle (1:1) oranındaki seyreltmenin kullanılmasına karar verilmiştir. Yöntem ve bulgular kısmında belirtilen M1, M2, M3 karışımlarının ilk denemesi sonrası M2 elenmiş; aynı gallik asit konsantrasyonlarının M1 ve M3 karışımlarıyla uygulaması sonrasında M1 karışımının kullanılmasına karar verilmiştir. Gallik asit konsantrasyonları yerine troloks

konsantrasyonlarının kullanılması ile daha doğrusal sonuçlar elde edildiği için (0-2000 ppm) aralığındaki denemenin işlem basamağı olarak kullanılmasına karar verilmiştir. Troloks konsantrasyon miktarlarına bağlı olarak azdan çoğa doğru açık renkten turuncu hatta kırmızı renk tonlarına geçişin akıllı telefon uygulamasına gerek kalmadan fark edilebildiği tespit edilmiştir. C-Measure uygulaması aracılığıyla spotlara ilave edilen 0-125-250-500-100-2000 ppm troloks standartlarına karşılık gelen a değerleri ile elde edilen R-kare değeri 0,99 olup kağıt tabanlı platformda doğrusallığın elde edilebildiği anlaşılmıştır. Aynı konsantrasyonlardaki troloks standartları spektrofotometreye girilerek şarap örneklerinin uygulanması için hazırlanmıştır. Kırmızı şarap örneğinin spektrofotometredeki sonucu 1507 ppm olarak literatürdeki aralığa (1600-5800 ppm) yakın çıkmıştır. Bu farklılığa üzümün yetiştiği koşullar, üzümün fiziksel içeriği, şarap üretim koşulları vb. durumların sebep olabileceği düşünülmüştür. Beyaz şarap örneğinin spektrofotometrede elde edilen değeri 558 ppm olduğu ve literatürde belirtilen aralıktan (270-490 ppm) fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığa kırmızı şarapta olan sebeplerin neden olabileceği düşünülmüştür. CUPRAC analizinde işlem basamaklarına göre hazırlanan platformlara troloks standartlarının yerine kırmızı şarap örneklerinin seyreltilmeden ve seyreltilerek eklenmesi ile elde edilen sonuç, spektrofotometredeki sonuçla paralellik göstermemiştir. Troloks standartları yerine beyaz şarap örneklerinin ilavesi sonucu spektrofotometrede 558 ppm toplam antioksidan madde miktarı tespit edilirken; kağıt tabanlı platformda buna yaklaşık olarak 536 ppm miktarı tespit edilmiştir. Buradan kağıt tabanlı platformda toplam antioksidan madde analizi için CUPRAC yönteminin tercih edilebileceği ve analizde kullanılan beyaz şarap örneğinin seyreltilmeden uygulanması ile elde edilen sonucun spektrofotometre uygulaması ile paralellik gösterdiği çıkarılmıştır. Kırmızı şarap örneğinin uygulanması sonucu aynı paralellığın elde edilememesinin sebeplerinin kırmızı rengin baskın olarak tepkimedeki rengi etkilemesi, analizin gerçekleştirildiği andaki ışık ve sıcaklığın etkileri, renk ölçüm prensiplerindeki farklılıklar olabileceği düşünülmüştür.

Organik asitlerin kağıt tabanlı platformlarda uygulanabilirliği tartarik asit analizi için gerçekleştirilememiştir. Yöntem kısmında belirtilen farklı parametrelerin kullanıldığı denemeler sonucunda doğrusallık elde edilememiştir. Renk değişiminin görüldüğü denemelerde asetik asidin baskın oluşturduğu sarı rengin turuncuya dönüşümünün bir

şekilde engellendiği, amonyum monovanadatın reaksiyon sonucu amonyak oluşturarak renk oluşumunu engellediği, kullanılan tamponun pH'sının uygun olmaması veya kağıdın yapısının sonuçtaki farklılığa sebep olmuş olabileceği düşünülmüştür. Yöntem optimize edilemediği için şarap örneklerine uygulamasına da geçilememiştir.

Malik asit analizi için kullanılan L-MDH, MTT, PMS, NAD⁺ kimyasalları ile malik asit konsantrasyonları azdan çoğa doğru sarıdan koyu maviye hatta formazan oluşumu ile mora doğru renk değişimi gözlenmiştir. Literatür incelemesi sonucu baz alınan yöntem basamaklarında laktik ve malik asit analiz için kullanılan enzimler hariç farklılığın olmadığı göz önünde bulunarak aynı analiz sıralamasını izleyen denemeler gerçekleştirilmiştir. Yürütülen denemede laktik asit konsantrasyonlarının platform spotlarına uygulanması sonucu yine konsantrasyona paralel bir şekilde sarıdan koyu maviye doğru bir renk değişiminin gözlendiği tespit edilmiştir. Renk değişimlerinin C-Measure uygulamasında okunarak elde edilen değerleri Excel'e geçirilerek kalibrasyon eğrilerinde doğrusallık gözlenmiştir. Malik asit analizinde 0-6 mM yani (0-540.5 ppm) malik asit standartlarına karşılık gelen b değerleri ile elde edilen R-kare değeri 0,98 olarak bulunduğu için kağıt tabanlı platformda malik asit analizine ait doğrusallığın elde edildiği söylenebilmiştir. HPLC sonuçlarına bakıldığında beyaz şarapta 1.1 g/L (1100 ppm); kırmızı şarapta 0.2 g/L (200 ppm) malik asit tespit edilmiştir. Platforma malik asit yerine şarap örneklerinin ilavesinin yapıldığı denemeler sonucunda 1:10 oranında ve 1:5 oranında seyreltilen kırmızı şarap örneğindeki malik asit miktarı 211 ve 118 ppm olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin HPLC'de elde edilen değere yakın olduğu ve kağıt tabanlı platformlara belirtilen oranlarda seyreltik kırmızı şarap örneklerinin ilavesi ile gerçekleştirilen analiz sonucunun HPLC geleneksel yöntemi ile paralellik gösterdiği sonucu elde edilmiştir. Beyaz şarap örneğine ait denemeler 1:5 ve 1:10 oranlarında seyreltme yapılarak yürütülmüştür. HPLC'de elde edilen beyaz şaraptaki malik asit miktarı (1100 ppm) ile kağıt tabanlı platformda elde edilen malik asit miktarı (134, 174 ppm) arasındaki fark çoktur. Beyaz şarabın seyreltilmeden uygulaması ile HPLC sonucuna yaklaşık bir değer elde edilebileceği düşünülmüştür. Bu farklılığın, farklı renk ölçüm prensipleri, ortam ışığı ve sıcaklığı, reaksiyonun kırmızı şaraptaki gibi

gerçekleşememesi, oluşan formazan miktarı gibi sebeplerden ileri gelebileceği düşünülmüştür.

Laktik asit analizinde, 0-6 mM yani (0-540.5 ppm) laktik asit standartlarına karşılık gelen b değerleri ile elde edilen R-kare değeri 0,94 olarak bulunduğu için kağıt tabanlı platformda laktik asit analizine ait doğrusallığın elde edildiği söylenebilmiştir. HPLC sonuçlarına bakıldığında beyaz şaraptaki laktik asit miktarının 0.52 g/L (520 ppm); kırmızı şaraptaki laktik asit miktarının 0.6 g/L (600 ppm) olduğu tespit edilmiştir. Kağıt tabanlı platformda laktik asit standartları yerine kırmızı ve beyaz şarap örneklerinin ilavesi sonucu elde edilen değerler ile HPLC sonuçları paralellik göstermemiştir. Buna malik asit analizindeki ihtimallerin aynı şekilde sebep olabileceği düşünülmüştür.

Otomasyona uyarlanabilirlik, kısa analiz süresi, kullanım kolaylığı, taşınabilirlik gibi avantajları bulunan bu yeni kağıt tabanlı analiz platformlarındaki sonuçlar HPLC ve spektrofotometredeki sonuçlar ile paralellik göstermiştir. Kağıt tabanlı platformların, zaman alıcı geleneksel gıda analiz yöntemlerine göre alternatif olarak sunulabileceği görülmektedir.

Bu çalışmada, şarap kalitesini ve yapısını doğrudan etkileyen bileşenlerin miktarlarının tespiti için geleneksel yöntemlerin yanında akıllı teknolojiler kategorisine giren kağıt tabanlı platformların da kullanılabilmesi tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivite ve malik-laktik asit analizlerinin işlem basamaklarının belirlendiği bu çalışmanın, şarap ve diğer gıda örneklerine ait farklı analiz yöntemlerinin araştırılmasına ve yeni enzimatik-kolorimetrik analiz yöntemlerin keşfedilmesine olanak sağlayacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abe, K., Matsuki, N. 2000. Measurement of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction activity and lactate dehydrogenase release using MTT, *Neuroscience Research* 38, 325–329.
- Adkins, J. A., Boehle, K., Friend, C., Chamberlain, B., Bisha, B., Henry, C.S. 2017. Colorimetric and electrochemical bacteria detection using printed paper- and transparency-based analytic devices. *Anal. Chem.*, 89, 6, 3613-3621.
- Ahmed, F. E. 2002. Detection of genetically modified organisms in foods. *Trends in Biotechnology*, 20(5), 215–223. doi:10.1016/s0167-7799(01)01920-5
- Aid, T., Kaljurand, M., & Vaher, M. 2015. Colorimetric determination of total phenolic contents in ionic liquid extracts by paper microzones and digital camera. *Analytical Methods*, 7(7), 3193–3199. doi:10.1039/c5ay00194c
- Alkasir, R. S. J., Ornatska, M., & Andreescu, S. 2012. Colorimetric paper bioassay for the detection of phenolic compounds. *Analytical Chemistry*, 84(22), 9729–9737. doi:10.1021/ac301110d
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: Cuprac Method. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 7970-7981.
- Apilux, A., Dungchai, W., Siangproh, W., Praphairaksit, N., Henry, C. S., Chailapakul, O. 2010. Lab-on-Paper with dual electrochemical/colorimetric detection for simultaneous determination of gold and iron. *Analytical Chemistry*, 82(5), 1727–1732. doi:10.1021/ac9022555
- Aragay, G., Mont on, H., Pons, J., Font-Bardí'a, M., Merkoç, i, A. 2012. Rapid and highly sensitive detection of mercury ions using a fluorescence-based paper test strip with an Nalkylaminopyrazole ligand as a receptor. *J. Mater. Chem.*, 22, 5978-5983.
- Arciuli, M., Palazzo, G., Gallone, A., & Mallardi, A. 2013. Bioactive paper platform for colorimetric phenols detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 186, 557–562. doi:10.1016/j.snb.2013.06.042
- Arduini, F., Cinti, S., Caratelli, V., Amendola, L., Palleschi, G., Moscone, D. 2018. Origami multiple paper-based electrochemical biosensors for pesticide detection. *Biosensors and Bioelectronics*. doi:10.1016/j.bios.2018.10.014
- Arne Holst, <https://www.statista.com/statistics/330695/number-of-smartphone-usersworldwide/>, 2019.

- Aykut U., Temiz H. 2006. Biyosensörler ve Gıdalarda Kullanımı, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi. 3: 51-59.
- Babür, E. 2015. Bakım noktası testler için kağıt tabanlı mikro ve makro akışkan platformlar. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Baş, D. 2017. Sensitive and reliable paper-based glucose sensing mechanisms with smartphone readout using the L*a*b* color space. Analytical Methods. DOI: 10.1039/C7AY02124K.
- Baş, D., Deniz, E. 2015. Gıda güvenliği ve kalite kontrolünde biyosensörler. Gıda Dergisi, 40 (4): 225-232.
- Baysal, G. (2014). Nonwoven tekstil yüzeylerine mikro kanal sistemi entegrasyonu ile biyosensör tasarımı, üretimi ve karakterizasyonu. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi /Fen Bilimleri Enstitüsü/Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara. Yüksek Lisans Tezi.
- Bosso, A., Motta, S., Petrozziello, M., Guaita, M., Asproudi, A., & Panero, L. 2016. Validation of a rapid conductimetric test for the measurement of wine tartaric stability. Food Chemistry, 212, 821–827. doi:10.1016/j.foodchem.2016.06.044
- Bowman, M. D., Jeske, R. C., & Blackwell, H. E. 2004. Microwave-accelerated spot-synthesis on cellulose supports. Organic Letters, 6(12), 2019–2022. doi:10.1021/ol049313f
- Burklund, A., Saturley-Hall, H. K., Franchina, F. A., Hill, J. E., Zhang, J. X. J. 2018. Printable QR code paper microfluidic colorimetric assay for screening volatile biomarkers. Biosensors and Bioelectronics. doi:10.1016/j.bios.2018.12.026
- Bülbül, G., Hayat, A., Andreescu, S. 2015. Portable nanoparticle-based sensors for food safety assessment. Sensors, 15, 30736-30758. Doi:10.3390/s151229826
- Carrell, C., Kava, A., Nguyen, M., Menger, R., Munshi, Z., Call, Z., Nussbaum, M., Henry, C. 2018. Beyond the lateral flow assay: a review of paper-based microfluidics. Microelectronic Engineering, Volume 206, 45-54.
- Casarett, L. J., Klaassen, C. D., Amdur, M. O. 2008. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, New York: McGraw-Hill, , 7th edn.:883.
- Chen, W., Fang, X., Li, H., Cao, H., Kong, J. 2016. A simple paper-based colorimetric device for rapid mercury(II) assay. Scientific Reports, 6(1). doi:10.1038/srep31948
- Ciganek, M., Neca, J., Adamec, V., Janosek, J., & Machala, M. 2004. A combined chemical and bioassay analysis of traffic-emitted polycyclic aromatic

- hydrocarbons. *Science of The Total Environment*, 334-335, 141–148. doi:10.1016/j.scitotenv.2004.04.034
- Clegg, D. L. 1950. Paper Chromatography. *Analytical Chemistry*, 22(1), 48–59. doi:10.1021/ac60037a014
- Comer, J. P. 1956. Semiquantitative specific test paper for glucose in urine. *Analytical Chemistry*, 28(11), 1748–1750. doi:10.1021/ac60119a030
- Costa, M. N., Veigas, B., Jacob, J. M., Santos, D. S., Gomes, J., Baptista, P. V., Martins, R., Inacio, J., Fortunato, E. 2014. A low cost, safe, disposable, rapid and self-sustainable paper-based platform for diagnostic testing: lab-on-paper. *Nanotechnology*, 25(9), 094006. doi:10.1088/0957-4484/25/9/094006
- Delaney, J. L., Doeven, E. H., Harsant, A. J., & Hogan, C. F. 2013. Use of a mobile phone for potentiostatic control with low cost paper-based microfluidic sensors. *Analytica Chimica Acta*, 790, 56–60. doi:10.1016/j.aca.2013.06.005
- Dolin, P. A., Adams, J. M. 2001. *Printing Technology (Design Concepts)*. New York: Delamr Cengage Learning.
- Dong, M., Wu, J., Ma, Z., Peretz-Soroka, H., Zhang, M., Komenda, P., Tangri, N., Liu, Y., Rigatto, C., Lin, F. 2017. Rapid and low-cost crp measurement by integrating a paper-based microfluidic immunoassay with smartphone (CRP-Chip). *Sensors*, 17(4), 684. doi:10.3390/s17040684
- Dos Reis Faria, A. C. 2014. Development of rapid tests for the detection of L-malic acid in wine using enzymes immobilized on paper via carbohydrate-binding modules. *Yüksek Lisans Tezi. Lizbon Üniversitesi, Mühendislik ve Teknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı*, 82
- Dou, M., Sanjay, S. T., Benhabib, M., Xu, F., Li, X. 2015. Low-cost bioanalysis on paper-based and its hybrid microfluidic platforms. *Talanta*, 145, 43–54. doi:10.1016/j.talanta.2015.04.068
- Dudak, F. C., Baş, D., Başaran Akgül, N., Tamer, U., Boyacı, İ. H. 2011. Nano-sized structures for the detection of food components and contaminants. *Frontiers in Bioscience E3*, 1109-1127
- Erel, O. 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277–285. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015
- Feigel, F. 1946. Qualitative analysis by spot tests. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific Ed.)*, 36(4), 128. doi:10.1002/jps.3030360412

- Food and Agriculture Organization. How to feed the world in 2050 executive summary 2009; 2050, 1–35.
- Francis, J.S., Doherty, M.C., Lopatin, U., Johnston, C.P., Sinha, G., Ross, T., Cai, M., Hansel, N.N., Perl, T., Ticehurst, J.R. 2005. Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicillin-resistant staphylococcus aureus carrying the panton-valentine leukocidin genes. *Clin. Infect. Dis.*, 40, 100–107.
- Frank, R. 2002. The SPOT-synthesis technique. *Journal of Immunological Methods*, 267(1), 13–26. Doi:10.1016/s0022-1759(02)00137-0
- Gao, N., WANG, P., Wu, F. 2018. Colorimetric detection of melamine in milk based on Triton X-100 modified gold nanoparticles and its paper-based application. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 192, 174–180.
- Ge, L., Wang, S.M., Song, X.R., Ge, S.G., Yu, J.H. 2012. 3D origami-based multifunction-integrated immunodevice: Low-cost and multiplexed sandwich chemiluminescence immunoassay on microfluidic paper-based analytical device. *Lab Chip*, 12, 3150–3158.
- Giddings, J. C., Keller, R. A. 1965. *Advances in Chromatography*. New York: Verlag Marcel Dekker.
- Gouda, A. A., Amin, A. S. 2010. Copper(II)–neocuproine reagent for spectrophotometric determination of captopril in pure form and pharmaceutical formulations. *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 159–165.
- Hidayat, M. A., Jannah, F., Kuswandi, B. 2016. Development of paper based sensor for the determination of total phenolic content in green tea beverages. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9, 424 – 430.
- Hidayat, M. A., Kuswandi, B. 2017. Rapid test for the determination of total phenolic content in brewed-filtered coffee using colorimetric paper. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 54(11). DOI: 10.1007/s13197-017-2757-7
- Hill, G., Caputi, A. 1970. Colorimetric determination of tartaric acid in wine. *Am J Enol Vitic.*, 21: 153-161.
- Hossain, S. M. Z., Luckham, R. E., McFadden, M. J., Brennan, J. D. 2009. Reagentless bidirectional lateral flow bioactive paper sensors for detection of pesticides in beverage and food samples. *Anal. Chem.*, 81, 9055–9064.
- Hossain, S. M., Brennan, J. D. 2011. β -Galactosidase-based colorimetric paper sensor for determination of heavy metals. *Anal. Chem.*, 83, 8772–8778.

- Hu, J., Wang, S., Wang, L., Li, F., Pingguan-Murphy, B., Lu, T. J., Xu, F. 2014. Advances in paper-based point-of-care diagnostics. *Biosensors and Bioelectronics*, 54, 585–597.
- Huang, X. J., Choi, Y. K., Im, H. S., Yarimaga, O., Yoon, E., Kim, H. S. 2006. Aspartate aminotransferase (ast/got) and alanine aminotransferase (alt/gpt) detection techniques. *Sensors*, 6, 756-782.
- Huang, X., Xu, D., Chen, J., Liu, J., Li, Y., Song, J., Ma, X., Guo, J. 2018. Smartphone-based analytical biosensors. *Analyst*, 143, 5339-5351.
- Jayawardane, B. M., Coo, L. dI, Cattrall, R. W., Kolev, S. D. 2013. The use of a polymer inclusion membrane in a paper-based sensor for the selective determination of Cu(II). *Analytica Chimica Acta*, 803 2013 106– 112.
- Jiang, D., Ge, P., Wang, L., Jiang, H., Yang, M., Yuan, L., Ge, Q., Fang, W., Ju, X. 2019. A novel electrochemical mast cell-based paper biosensor for the rapid detection of milk allergen casein. *Biosensors and Bioelectroni*, Volume 130, 299-306.
- Jokerst, J. C., Adkins, J. A., Bisha, B., Mentele, M. M., Goodridge, L. D., Henry, C. S. 2012. Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens. *Anal. Chem.*, 84, 2900–2907.
- Kang, H., Jang, I., Song, S., Bae, S. C. 2019. Development of paper-based viscometer for blood plasma using colorimetric analysis. *Anal. Chem.*, Just Accepted Manuscript •DOI: 10.1021/acs.analchem.9b00624
- Karadag, A., Ozcelik, B., Saner, S. 2009. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Anal. Methods*, 2:41–60. DOI 10.1007/s12161-008-9067-7
- King, T., Osmon-McLeod, M. J., Duffy, L. L. 2018. Nanotechnology in the food sector and potential applications for the poultry industry. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 62–73.
- Koçak, N. 2007. ISO 22000: Gıda güvenliği yönetim sistemleri uygulama sürecinde temel adımlar. *Dokuz Eylül Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, Cilt 9, Sayı: 4, 135-159.
- Kulkarni, A. S., Joshi, D. C., Tagalpallewar, G. P. 2014. Biosensors for food and dairy industry. *Asian J. Dairy & Food Res.*, 33 (4), 292-296.
- Kumaran, A., Karunakaran, R. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus Aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1), 109-114.
- Li, X., Ballerini, D. R., Shen, W. 2012. A perspective on paper-based microfluidics: Current status and future trends. *Biomicrofluidics* 6, 011301.

- Li, F., Yu, Z., Han, X., Lai, R. Y. 2018. Electrochemical aptamer-based sensors for food and water analysis: A review. *Analytica Chimica Acta*. doi:10.1016/j.aca.2018.10.058
- Liana, D. D., Raguse, B., Gooding, J. J., Chow, E. 2012. Recent advances in paper-based sensors. *Sensors*,12, 11505-11526. Doi:10.3390/s120911505
- Lima, J. L., Lopes, T. I. M. S., Rangel, A. O. S. S. 1998. Enzymatic determination of L(+) lactic and L(-) malic acids in wines by flow-injection spectrophotometry. *Analytica Chimica Acta*, Volume 366, Issues 1–3, 187-191.
- Liu, C., Jia, Q., Yang, C., Qiao, R., Jing, L., Wang, L., Xu, C., Gao, M. 2011. Lateral flow immunochromatographic assay for sensitive pesticide detection by using Fe₃O₄ nanoparticle aggregates as color reagents. *Anal. Chem.*, 83, 6778–6784.
- Liu, W., Kou, J., Xing, H., Baoxin, L. 2014. Paper-based chromatographic chemiluminescence chip for the detection of dichlorvos in vegetables. *Biosensors and Bioelectronics*,52, 76–81.
- Liu, S., Su, W., Ding, X. 2016. A review on microfluidic paper-based analytical devices for glucose detection. *Sensors*, 16, 2086. Doi:10.3390/s16122086
- Lopez-Ruiz, N., Curto, V. F., Erenas, M. M., Benito-Lopez, F., Diamond, D., Lopez, A. J. P., Capitan-Valley, L. F. 2014. Smartphone-based simultaneous pH and nitrite colorimetric determination for paper microfluidic devices. *Anal. Chem.*, Just Accepted Manuscript.
- Macek, K., Bečvářová, H. 1971. Papers, ready-for-use plates, and flexible sheets for chromatography. *Chromatographic Reviews*, Volume 15, Issue 1, 1-28.
- Malekghasemi, S. 2015. Kağıt-tabanlı biyosensör tasarımı ve geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Nanoteknoloji-Nanotıp Anabilim Dalı, 103, Ankara.
- Mammen, T., Valadez, R. 2014. Ink Composition Resistant To Solvent Evaporation. United States. Patent No. 10/325,138.
- Martinez, A. W., Philips, S. T., Butte, M. J., Whitesides, G. M. 2007. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46, 1318–1320.
- Martinez, A. W., Philips, S. T., Carrilho, E., Thomas III, S. W., Sindi, H., Whitesides, G. M. 2008. Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis. *Anal. Chem.*, 80, 3699–3707.
- Martinez, A. W., Philips, S. T., Whitesides, G. M. 2010. Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices. *Anal. Chem.*, 82, 3–10.

- Mayer, A. M., Polijakoff-Mayber, A., Robinson, P., Slowatizky, I. 1969. A simple bioassay for detection of aflatoxin in milk. *Toxicon*, Vol. 7, 13-14.
- Mello, L. D., Kubota, L. T. 2002. Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chemistry*, 77, 237–256.
- Meredith, N. A., Quinn, C., Cate, D. M., Reily III, T. H., Volckens, J., Henry, C. S. 2016. Paper-based analytical devices for environmental analysis. *Analyst*, 2016, 141, 1874.
- Miller, N., Rice-Evans, C. A. 1997. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS•+ radical cation assay. *Free Radical Research*, 26:3,195-199. DOI: 10.3109/10715769709097799
- Monošík, R., dos Santos, V. B., Angnes, L. 2015. A simple paper-strip colorimetric method utilizing dehydrogenase enzymes for analysis of food components. *Analytical Methods*, 19. DOI: 10.1039/c5ay01556a
- Myers, N. M., Kernisan, E. N., Lieberman, M. 2015. Lab on paper: iodometric titration on a printed card. *Anal. Chem.*, 87, 3764–3770.
- Narovlyansky, A. W., Whitesides, G. M. 2010. Electrochemical sensing in paper-based microfluidic devices. *Lab Chip.*, 10(4): 477–483. doi:10.1039/b917150a.
- Neethirajan, S., Jayas, D. S. 2011. Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and Bioprocess Technology*, 4(1), 39-47.
- Neethirajan, S., Kobayashi, I., Nkajima, M., Wu, D., Nandagopal, S., Lin, F. 2011. Microfluidics for food, agriculture and biosystems industries. *Lab Chip*, 11, 1574- 1586. Nie, Z., Nijhuis, C. A., Gong, J., Chen, X., Kumachev, A., Martinez,
- Nouanthavong, S., Nacapricha, D., Henry C., Sameenoi, Y. 2016. Pesticide analysis using nanoceria-coated paper-based devices as a detection platform. *Analyst*. DOI: 10.1039/C5AN02403J.
- Özoglu O., Unal M.A., Altuntas E.G. 2017. Biyosensörler: Gıda ve sağlık alanında laktat biyosensörleri, *Türk Yaşam Bilimleri Dergisi*, 2 (2): 180-193.
- Park, S., Yoon, J. Y. 2015. Smartphone detection of *Escherichia coli* from field water samples on paper microfluidics. *IEEE Sens. J.*, 15(3), 1902–1907.
- Pelton R. 2009. Bioactive paper provides a low-cost platform for diagnostics. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 28:925–942. Doi: 10.1016/j.trac.2009.05.005.

- Peres, M. F. S., Laluze, C., Gattas, E. A. L. 2008. Colorimetric enzymatic assay of l-malic acid using dehydrogenase from baker's yeast. *Food Technol. Biotechnol.*, 46 (2), 229–233.
- Peri, P. Kamiloglu, S., Capanoglu, E., Ozcelik, B. 2014. Investigating the effect of aging on the phenolic content, antioxidant activity and anthocyanins in Turkish wines. *Journal of Food Processing and Preservation* ISSN 1745- 4549
- Peynaud, E., Blouin, J., Lafon-Lafourcade, S. 1966. Review of applications of enzymatic methods to the determination of some organic acids in wines. *Am J Enol Vitic.*, 17: 218-224.
- Pisoschi, A. M., Negulescu, G. P. 2011. Methods for total antioxidant activity determination: A review. *Biochem & Anal Biochem.*, 1(1):106,1-10.
- Piyanan, T., Athipornchai, A., Henry, C. S., Sameenoi, Y. 2018. An instrument-free detection of antioxidant activity using paper-based analytical devices coated with Nanoceria. *Analytical Sciences*, Vol. 34, 97-102.
- Posthuma-Trumpie, G. A., Korf, J., Van Amerongen A. 2009. Lateral flow (immuno)assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. *Anal Bioanal Chem.*, 393:569–582.
- Prasad, A., Tran, T., Gartia, M. R. 2019. Multiplexed paper microfluidics for titration and detection of ingredients in beverages. *Sensors*, 19, 1286. Doi:10.3390/s19061286
- Puangbanlang, C., Sirivibulkovit, K., Nacapricha, D., Sameenoi, Y. 2019. A paper-based device for simultaneous determination of antioxidant activity and total phenolic content in food samples. *Talanta*, 198, 542–549.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, Nos. 9/10, 1231–1237.
- Rebelein, H. 1973. Rapid quantitative determination of tartaric acid. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.*, 2, 33-8.
- Rivero- Pérez, M. D., Muniz, P., Gonzalez-Saniosé, M. L. 2007. Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5476-5483.
- Roda, A., Michelini, E., Zangheri, M., Di Fusco, M., Calabria, D., Simoni, P. 2016. Smartphone-based biosensors: A critical review and perspectives. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 79, 317–325.

- Sajid, M., Kawde, A. N., Daud, M. 2015. Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*,19, 689–705.
- Serra, P. A. 2001. *Biosensors for health, environment and biosecurity*. London: IntechOpen Limited., DOI: 10.5772/928
- Sicard, C., Glen, C., Aubie, B., Wallace, D., Jahanshahi-Anbuhi, S., Pennings, K., Daigger, G. T., Pelton, R., Brennan, J. D., Filipe, C. D. M. 2015. Tools for water quality monitoring and mapping using paper-based sensors and cell phones. *Water research*, 70, 360-369.
- Silveria, C. M., Monteiro, T., Almeida, M. G. 2016. Biosensing with paper-based miniaturized printed electrodes-a modern trend. *Biosensors*, 6, 51. Doi:10.3390/bios6040051
- Singh, J., Sharma, S., Nara, S. 2014. Evaluation of gold nanoparticle based lateral flow assays for diagnosis of Enterobacteriaceae members in food and water. *Food Chemistry*, Volume 170, 470-483.
- Singleton, V., L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.*, 16, 144-158.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., Sameenoi, Y. 2018. Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical Sciences*, 34, 795-800.
- Slinkard, K., Singleton, V. L. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Vitic.*, 28: 49-55.
- Srisa-Art, M., Boehle, K. E., Geiss, B. J., Henry, C. S. 2017. Highly sensitive and rapid detection of *Salmonella typhimurium* using a colorimetric paper based analytical device coupled with immunomagnetic separation. *Analytical Chemistry*, Just Accepted Manuscript. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b04628
- Strong, E. B., Schultz, S. A., Martinez, A. W., Martinez, N. W. 2019. Fabrication of miniaturized paper-based microfluidic devices (MicroPADs). *Scientific Reports*, 9:7. DOI:10.1038/s41598-018-37029-0
- Su, S., Ali, M. M., Filipe, C. D., Li, Y., Pelton, R. 2008. Microgel-based inks for paper-supported biosensing applications. *Biomacromolecules*, 9, 935–941.
- Tang, D., Saucedo, J. C., Lin, Z., Ott, S., Basova, E., Goryacheva, I., Biselli, S., Lin, J., Niessner, R., Knopp, D. 2009. Magnetic nanogold microspheres-based lateral-flow immunodipstick for rapid detection of aflatoxin B2 in food. *Biosensors and Bioelectronics*,25, 514–518.

- Tasév, K., Stefova, M., Ivanova-Petropulos, V. 2016. HPLC method validation and application for organic acid analysis in wine after solid-phase extraction. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, Vol. 35, No. 2, 225–233.
- Teengam, P., Nunant, N., Rattanarat, P., Siangproh, W., Chailapakul, O. 2013. Simple and rapid determination of ferulic acid levels in food and cosmetic samples using paper-based platforms. *Sensors*, 13, 13039-13053. doi:10.3390/s131013039
- Torul, H., Çiftçi, H., Çetin, D., Suludere, Z., Boyacı, I. H., Tamer, U. 2015. Paper membrane- based SERS platform for the determination of glucose in blood samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(27), 8243–8251. Doi:10.1007/s00216-015-8966-x
- Tothill, I. E. 2001. Biosensors developments and potential applications in the agricultural diagnosis sector. *Comput Electron Agric*, 30/1–3:205–218.
- Tothill, I. E. 2003. *Rapid and on-line instrumentation for food quality assurance*. Cambridge: oodhead Publishing Limited, 425.
- Trang, P. T. K., Berg, M., Viet, P. H., Mui, N. V., & van der Meer, J. R. 2005. Bacterial bioassay for rapid and accurate analysis of arsenic in highly variable groundwater samples. *Environmental Science & Technology*, 39(19), 7625–7630. doi:10.1021/es050992e
- Vaher, M., Kaljurand, M. 2012. The development of paper microzone-based green analytical chemistry methods for determining the quality of wines. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404:627–633.
- Wang, F., Lu, Y., Yang, J., Chen, Y., Jing, W., He L., Liu, Y. 2013. Smartphone readable colorimetric sensing platform for rapid multiple proteins detection. *Analyst*, 2017, DOI: 10.1039/C7AN00990A.
- Wang, Y., Zeinhom, M. M., Yang, M., Sun, R., Wang, S., Smith, J. N., Timchalk, C., Li, L., Lin, Y., Du, D. 2017. A 3Dprinted, portable, optical-sensing platform for smartphones capable of detecting the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Anal. Chem.*, 89(17), 9339–9346.
- Wang, Z., Zhang, J., Liu, L., Wu, X., Kuang, H., Xu, C., Xu, L. 2019. A colorimetric paper- based sensor for toltrazuril and its metabolites in feed, chicken, and egg samples. *Food Chemistry*, 276, 707–713.
- Wong, R., Tse, H. 2009. *Lateral Flow Immunoassay*. New York: Humana Press.
- Xie, L., Zi, X., Zeng, H., Sun, J., Xu, L., Chen, S. 2018. Low-cost fabrication of a paper-based microfluidic using a folded pattern paper. *Analytica Chimica Acta*, 1053:131-138.

- Yager, P., Edwards, T., Fu, E., Helton, K., Nelson, K., Tam, M.R., Weigl, B.H., 2006. Microfluidic diagnostic technologies for global public health. *Nature* 442 (7101), 412e418.
- Yang, X., Fu, T., Kota, P. K., Tija, M., Nguyen, C. M., Chiao, J. C. 2016. Lactate sensors on flexible substrates. *Biosensors*,6, 48. Doi:10.3390/bios6030048
- Yeo, M. K. 2016. Paper-based microfluidic device for bisphenol a based chemical reaction and image analysis. *BioChip J.*, 10(1): 25-33.
- Yetişen, A. K., Akram, M. S., Lowe, C. R. 2013. Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices. *Lab Chip*, 13, 2210-2251.
- Zhao, W., Ali, M., Aguirre, S. D., Brook, M. A., Li, Y. 2008. Paper-based bioassays using gold nanoparticle colorimetric probes. *Anal. Chem.*, 80, 8431–8437.
- Zhao, W., van der Berg, A. 2008. Lab on paper. *Lab on a Chip*, 8(12), 1988–1991.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gizem HÜLAĞA
Doğum Yeri : Fatih /İSTANBUL
Doğum Tarihi : 14.07.1990
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Samiha Ayverdi Anadolu Lisesi (2008)
Lisans : Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2014)
Lisans (Erasmus Programı) : Floransa Üniversitesi Tarım Fakültesi Gıda Teknolojisi Bölümü Floransa / İTALYA (2010- 3 ay)
Yüksek Lisans :Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Mart 2020)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

İstanbul Gelişim Üniversitesi Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu Gastronomi (İngilizce) Bölümü (Araştırma Görevlisi / 2017-...)

Yayımlar

Hakemli Dergiler

Tekiner İ. H., Tabak T., **Hülağa G.**, Köklü, O., Orhan, H. İ (2019). Gastronomide Evrensel Dil: Bilim ve Mühendislik “Eleştirel Bir Bakış”. Aydın Gastronomy.

Uluslararası Kongre Sunum

Tekiner İ. H., Orhan H. İ., **Hülağa G.**, Köklü O. Gıda Kaynaklı Dirençli Bakteriler: Gıda Güvenliği ve Gastronomi Disiplini Açısından Önemi, Uluslararası Gastronomi Turizmi Araştırmaları Kongresi, 20-22 Eylül 2018, Kocaeli, Türkiye.

Projeler

1. **Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri/ Lisansüstü Tez Projesi (Yardımcı)** – Kağıt Tabanlı Platform ile Şarap Örneklerinde Alternatif Analiz Yönteminin Geliştirilmesi (16.01.2017-16.04.2019).
2. **TÜBİTAK BİDEB-2237-A Bilimsel Eğitim Etkinlikleri Destekleme Programı (Düzenleme Kurulu)**- Gastronomide Bilim ve Teknik: Mutfakta Mühendis Var (23-25 Ocak 2019).

3. İstanbul Gelişim Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri/ Yardımcı Doçentler ve Uzmanlar İçin Araştırmada Hızlı Destek Projesi (YUP) (Araştırmacı) - Çiğ ve Yarı-İşlenmiş Somon (Salmo salar) Balığında Alerjen Parvalbumin Yapının Düzeyi ve Gen Ekspresyonunun Araştırılması (14.01.2019- 26.06.2019).

