

**T.C.
NEVŞEHİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**KATI FAZ EKSTRAKSİYONU İLE PONCEAU 4R VE
SUDAN ORANGE G
BOYALARININ ZENGİNLEŞTİRİLMESİ VE
SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ**

**Tezi Hazırlayan
Çağrı AKALIN**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE**

**Kimya Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Ağustos 2012
NEVŞEHİR**

**T.C.
NEVŞEHİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**KATI FAZ EKSTRAKSİYONU İLE PONCEAU 4R VE
SUDAN ORANGE G
BOYALARININ ZENGİNLEŞTİRİLMESİ VE
SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ**

**Tezi Hazırlayan
Çağrı AKALIN**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE**

**Kimya Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Ağustos 2012
NEVŞEHİR**

Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE danışmanlığında **Çağrı AKALIN** tarafından hazırlanan “**Katı Faz Ekstraksiyonu ile Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Zenginleştirilmesi ve Spektrofotometrik Tayini**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

03/08/2012

JÜRİ :

Danışman : Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE

Üye : Prof. Dr. Mustafa SOYLAK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Sıtkı BAYTAK

CA. Akalin
34
22

ONAY:

Bu Tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 07/08/2012 tarih ve 2012-51-2 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

09.../08/2012

Prof. Dr. Selçuk KERVAN
Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Tez danışmanlığımı üstlenen ve çalışmalarım sırasında bana destek ve emeğini esirgemeyen, üstün bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren değerli hocam sayın Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE ve Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa SOYLAK'a sonsuz saygı ve içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında araştırma laboratuvarlarını kullanma imkanı sağlayan Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölüm Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

Güler yüzü, disiplinli çalışması ve araştırmacı kişiliğiyle örnek aldığım, çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Araştırma Görevlisi Sayın Erkan YILMAZ' a ve emeği geçen tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

KATI FAZ EKSTRAKSİYONU İLE PONCEAU 4R VE SUDAN ORANGE G BOYALARININ ZENGİNLEŞTİRİLMESİ VE SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ

Çağrı AKALIN
Nevşehir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2012
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Aslıhan KARATEPE

ÖZET

Bu çalışmada, Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının katı faz ekstraksiyonu yöntemiyle zenginleştirilmesi ve UV-Vis spektrofotometresi ile tayini gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla deniz süngeri ilk kez kullanılmıştır. Deniz süngerinde adsorbe olan Ponceau 4R ve Sudan Orange G 10 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edildikten sonra spektrofotometrik olarak tayin edildi. Yöntemin optimizasyonu için pH, örnek ve elüent akış hızları, örnek hacmi, sünger miktarı, HCl derişimi, diğer boyaların etkisi ve matriks etkileri gibi değişik analitik parametrelerin etkisi incelendi. Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının geri kazanım değerleri % 95 den yüksektir. Gözlenebilme sınırı Ponceau 4R için 0,002 µg/L, Sudan Orange G için $1,9 \times 10^{-4}$ µg/L olarak bulundu. Yöntemin doğruluğunu test etmek için Ponceau 4R boyası içeren kuşburnu aromalı içecek tozuna ve Sudan Orange G için toz biber örneğine analit ekleme çalışmaları yapıldı. Yöntem çeşitli toz içecekler ve şeker örneklerinde Ponceau 4R tayini için ve çeşitli biber ve biber salçası örneklerindeki Sudan Orange G tayini için uygulandı.

Anahtar Kelimeler: Deniz süngeri, Katı Faz ekstraksiyonu, Ponceau 4R, Sudan Orange G ve UV-Vis Spektrofotometresi

**SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PONCEAU 4R AND
THEIR SUDAN ORANGE G DYES AFTER PRECONCENTRATION WITH
SOLID PHASE EXTRACTION METHOD**

Çağrı AKALIN

Nevşehir University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M. Sc. Thesis, August 2012

Thesis Supervisor: Associate Prof. Dr. Ashhan KARATEPE

ABSTRACT

In this study, a solid phase extraction method for preconcentration of Ponceau 4R and Sudan Orange G dyes prior to their UV-Vis spectrophotometric determinations has been investigated. For this purpose, sea sponge was used for first time. Ponceau 4R and Sudan Orange G adsorbed on sea sponge was eluted with 10 mL pH= 4.5 (acetate) buffer before spectrophotometric determination. The effect of various analytical parameters such as; pH, the amount of Ponceau 4R and Sudan Orange G, sample and eluent flow rates, sample volume, the amount of sponge, HCl concentration, effects of some ions and other dyes were examined for the optimization of the method. Ponceau 4R and Sudan Orange G recovery values were higher than 95%. The detection limits for Ponceau 4R and Sudan Orange G were found as 0.002 µg/L, 1.9×10^{-4} µg/L respectively. In order to test the accuracy of the method analyte addition method is applied to a powder drink for Ponceau 4R and to a pepper for Sudan Orange G. The method is applied to determine Ponceau 4R in various powder drinks and candy samples, and Sudan Orange G in various pepper and pepper paste samples.

Keywords: Sea Sponge, Solid-phase extraction, Ponceau 4R, Sudan Orange G, UV-Vis Spectrophotometer

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Gıda Katkı Maddeleri.....	4
2.1.1. Boyarmadde.....	5
2.1.2. Gıda Boyaları.....	6
2.1.3. Gıda Boyalarının Yapısı.....	6
2.1.3.1. Doğal Gıda Boyaları.....	7
2.1.3.2. Yarı Sentetik Gıda Boyaları.....	7
2.1.3.3. Sentetik Gıda Boyaları.....	7
2.1.4. Azo Boyar Maddeleri.....	8
2.1.5. Renk Maddelerinin Gıda Sanayinde Kullanımı.....	11
2.2. Zenginleştirme Yöntemleri.....	13
2.2.1. İyon Değişirme.....	14
2.2.2. Çöktürme- Birlikte Çöktürme.....	14
2.2.3. Buharlaştırma.....	15

2.2.4. Elektrokimyasal Zenginleştirme.....	15
2.2.5. Sıvı-sıvı Ekstraksiyon.....	15
2.2.6. Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu.....	16
2.2.7. Katı Faz Ekstraksiyonu.....	17
2.2.7.1. Katı Faz Ekstraksiyon Teknikleri.....	18
2.2.7.2. Katı Faz Ekstraksiyonu İle Gıda Boyası Analizi İçin Yapılan Bazı Çalışmalar.....	21
2.3. Görünür Bölge Spektrofotometresi.....	23
2.3.1. Absorpsiyon Spektrofotometresi.....	24
2.3.2. Görünür Bölge Spektrofotometresinin Nicel Kullanımı.....	25
2.4. Analitik Metotların Değerlendirilmesinde Kullanılan Bazı Terimler.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. GEREÇ.....	28
3.1.1. Kullanılan Cihazlar.....	28
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışları.....	31
3.2. UV-Vis Spektrofotometresi.....	33
3.3. YÖNTEM.....	34
3.3.1. Sudan Orange G ve Ponceau 4R Boyalarının Dalga Boyu Taraması.....	34
3.3.2. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Zenginleştirilmesi.....	36
3.3.3. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Zenginleştirme Yönteminin Optimizasyonu.....	37
4. DENEYSEL BULGULAR	
4.1. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına pH'nin Etkisi.....	38

4.2. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına	
HCl Derişiminin Etkisi.....	39
4.3. Elüent Türü ve Hacminin Etkisi.....	40
4.4. Örnek Akış Hızının Etkisi.....	42
4.5. Elüent Akış Hızının Etkisi.....	42
4.6. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Örnek	
Hacminin Etkisi.....	43
4.7. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına	
Matriks İyonlarının Etkisi.....	44
4.8. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına	
Sünger Miktarının Etkisi.....	46
4.9. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Diğer	
Boyaların Etkisi.....	47
4.10. Gözlenebilme Sınırı.....	47
4.11. Gerçek Örneklerin Analizi.....	48
4.11.1. Ponceau 4R İçeren Örneğe Analit İlavesi.....	48
4.11.2. Ponceau 4R Boyası İçin Gerçek Örneklerin Analizi.....	49
4.11.3. Sudan Orange G İçin Toz Biber Örneğine Analit İlavesi.....	50
4.11.4. Sudan Orange G İçin Gerçek Örneklerin Analizi.....	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	53
6. KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Absorbans
UV- Vis	: Ultraviyole Görünür Bölge Spektrofotometresi
LOD	: Gözlenebilme Sınırı
LOQ	: Tayin Sınırı
ZF	: Zenginleştirme Faktörü
L	: Litre
mL	: Mililitre
M	: Molarite
G	: Gram
s	: Saniye
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
nm	: Nanometre
N	: Çalışılan Paralel Sayısı
FDAC	: Amerikan Gıda ve İlaç Ajansı
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı
INS	: Uluslararası Numaralama Sistemi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
FAO	: Gıda Tarım Örgütü
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
JECF	: Birleşik FAO/WHO Gıda Katkıları Uzmanlar Komitesi
ADI	: Kabul Edilebilir Günlük En Yüksek Tüketim Miktarı
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ε	: Molar Absorpsiyon Katsayısı

c	: Işıık Hızı
I_s	: Numune ışınının şiddeti
I_r	: Referans ışının şiddeti
L	: Numune hücreşinden geçen ışık ışınının yol uzunluğu
λ	: Dalga Boyu

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Gıdalarda Çeşitli Gıda Boyası Uygulamaları.....	12
Tablo 4.1. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Elüent Türü ve Hacminin Etkisi.....	41
Tablo 4.2. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Matriks İyonlarının Etkisi.....	45
Tablo 4.3. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Diğer Boyaların Etkisi.....	47
Tablo 4.4. Ponceau 4R İçeren Örneğe Analit İlavesi.....	48
Tablo 4.5. Ponceau 4R Boyası İçeren Örneklerin Analizi.....	50
Tablo 4.6. Sudan Orange G İçin Toz Biber Örneğine Analit İlavesi.....	51
Tablo 4.7. Sudan Orange G İçin Gerçek Örneklerin Analizi.....	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Ponceau 4R'nin Yapısı.....	9
Şekil 2.2. Sudan Orange G nin Yapısı.....	10
Şekil 2.3. Katı Faz Özütlemesinde Kullanılan Adsorbanlar.....	18
Şekil 2.4. Katı Faz Ekstraksiyonu Kolonu.....	19
Şekil 2.5. Katı Faz Ekstraksiyonunun Genel İşlem Basamakları.....	20
Şekil 2.6. Bir Spektrofotometrenin Temel Bileşenleri.....	24
Şekil 3.1. Deneyleerde Kullanılan Deniz Süngerinin Fotoğrafi.....	30
Şekil 3.2. Deneyleerde Kullanılan Deniz Süngerinin SEM Fotoğrafi.....	30
Şekil 3.3. UV-Vis Spektrofotometresi.....	33
Şekil 3.4. Sudan Orange G Boyasının Dalga Boyu Taraması.....	34
Şekil 3.5. Ponceau 4R Boyasının Dalga Boyu Taraması.....	35
Şekil 3.6. Sudan Orange G ve Ponceau 4R Boyası Karışımının Dalga Boyu Taraması.....	36
Şekil 4.1. Sudan Orange G ve Ponceau 4R Boyasının Geri Kazanılmasına pH'nın Etkisi.....	39
Şekil 4.2. Geri Kazanma Verimlerinin HCl ile Değişimi.....	40
Şekil 4.3. Geri Kazanım Değerlerine Örnek Akış Hızının Etkisi.....	42
Şekil 4.4. Geri kazanım Değerlerine Elüent Akış Hızının Etkisi.....	43
Şekil 4.5. Geri kazanım Değerlerine Örnek Hacminin Etkisi.....	44
Şekil 4.6. Geri kazanım Değerlerine Sünger Miktarının Etkisi.....	46

1. BÖLÜM

GİRİŞ VE AMAÇ

Birçok gıda maddesinde, üretimin yılın belirli dönemlerinde gerçekleştirilme zorunluluğu ve tüketicilerin mevsimlik gıdaları istedikleri her an bulabilme arzusu içinde olmaları, özellikle çabuk bozulan gıda ürünlerinin raf ömürlerini uzatma ve çeşitli gıda muhafaza yöntemleri geliştirme gereğini ortaya koymuştur.

Dünya nüfusunun hızlı artışı, insanların hayat standartlarını yükseltme eğilimi ve hızlı endüstrileşme, hazır yiyeceklere talebi arttırmış, özellikle gelişmekte olan tüm ülkelerde, gıda maddeleri üretiminin bir sanayi kolu haline gelmesine neden olmuştur. Böylece, işlenmiş gıda ürünleri son derece çeşitlenmiş ve üretimde kullanılan gıda katkı maddelerinin sayıları da büyük bir hızla artmıştır. Günümüzde, 2000'den fazla katkı maddesinin gıda sanayinde kullanımına değişik amaçlarla izin verilmiş ve kullanımları birçok ülkede yasal düzenlemelerle belirlenmiştir.

Gıda katkı maddeleri gıda sanayinde verimliliğin artırılması ve kayıpların azaltılması, ürünlerde kalitenin yükseltilmesi ve standardizasyonu ve raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanılmaktadır [1].

Katkı maddeleri ile ilgili tarihsel gelişmeler incelendiğinde, gıda boyaları ilk olarak Mısırlılar tarafından renklendirici amaçla kullanılmıştır [2].

Gıda katkı maddelerinin bir grubunu oluşturan gıda boyaları günümüzde ayrı ve özel bir önem taşımaktadır [3].

Gıdanın albenisini artıran özelliği rengidir. Cisimlerde renk, ışık spektral dağılımına bağlı olarak ortaya çıkan bir görünüş olgusudur. Hemen her gıda maddesi için alışılmış bir renk istenmektedir. Teknolojik işlem görmüş gıda maddelerinde renk kaybı mutlaka görölmektedir. Bu nedenle modern gıda endüstrisi açısından gıda maddelerini çekici hale getirmek ve gıdaların albenisini artırmak için gıda boyaları etkili olmaktadır. Gıda boyaları, gıdalarda çeşitli işlemler ve depolama sırasında kaybolan doğal rengi vermek, zayıf olan doğal rengi kuvvetlendirmek, gerçekte renksiz olan gıdalara renk vermek ve renk stabilitesini sağlamak amacıyla ilave edilmektedir [4,5].

Gıda boyaları düşük kaliteyi yükseltmek ve tüketiciyi yanıltmak amacı ile kullanılmamalıdır ve sağlığa zararlı olmamalıdır. Gıda boyalarının bu amaçla kullanımına dair yasal düzenlemeler kontrol altına alınmıştır [6].

Boyar maddelerin tayinlerinde, birçok enstrümental yöntem kullanılmaktadır. UV/Vis spektrofotometresi boyar maddelerin için en sık kullanılan tekniklerden birisidir. Bu teknikte tayinde karşılaşılan en büyük problem matriks etkisidir. Bu problemleri çözmek için analiti gerek uygun ortam içerisine almak, gerekse küçük hacim içerisinde toplayarak deriştirme amacıyla ayırma/zenginleştirme işlemleri uygulanır. Bu amaçla kullanılan çeşitli ayırma ve zenginleştirme teknikleri arasında katı faz ekstraksiyonu, çözücü ekstraksiyonu ve iyon değiştirme yöntemleri önemli bir yer tutar.

Katı faz ekstraksiyonu yöntemi boyaların ayrılması ve zenginleştirilmesi için yaygın olarak kullanılan yöntemlerinden biridir. Katı faz ekstraksiyon tekniğinin basit, doğru ve kesinliği yüksek sonuçlar elde edilmesi gibi avantajları vardır. Çevre kirliliği açısından daha az riskli olması sebebiyle de katı faz ekstraksiyon yöntemi üstünlüğe sahiptir. Ayrıca, akış enjeksiyonlu sistemlerle de kolaylıkla kombine edilebilmektedir [7].

Katı faz ekstraksiyonu bir katı faz üzerinde uygun forma dönüştürölen analitlerin adsorpsiyonu ve sonrasında uygun elüsyon çözeltisi ile katı faz üzerinden desorpsiyonu esasına dayalıdır [8].

Bu tez çalışmasında adsorban olarak deniz süngeri kullanılarak katı faz ekstraksiyonu yöntemiyle çeşitli örneklerdeki Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının tayini amaçlanmıştır. Geliştirilen yöntemin optimizasyonu için; pH' nın, elüent türünün, örnek hacminin, sünger miktarının, HCl derişiminin, örnek ve elüent akış hızlarının ve ortam bileşenlerinin geri kazanmaya etkisi incelenmiştir. Gözlenebilme sınırı tayin edilerek geliştirilen yöntemin doğruluğu analit ilavesi ile test edildikten sonra çeşitli şekerleme, toz içecek ve sıvı içeceklerdeki Ponceau 4R ve çeşitli toz biber ve biber salçası örneklerindeki Sudan Orange G tayin edilmiştir. Tez çalışmasında ölçümler UV/Vis spektrofotometresi ile gerçekleştirilmiştir

2. BÖLÜM GENEL BİLGİLER

2.1. Gıda Katkı Maddeleri

Gıda katkı maddeleri tek başına gıda olarak tüketilmeyen, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması ve depolanması sırasında teknolojik amaçla veya belirli bir özelliği kazandırmak için bilinçli olarak dışarıdan ilave edilen maddelerdir [9].

Günümüzde 2000'den fazla katkı maddesinin gıda sanayinde kullanımına izin verilmektedir. Bu katkı maddeleri sayesinde; gıda kalite standartları yükselmekte, verim artışları sağlanmakta ve işlenmiş gıdaların raf ömrünün uzatılarak gıda kayıpları daha da azaltılmaktadır [9].

Gıda katkı maddelerinin temel kullanım amaçları şunlardır;

Gıdanın besin değerini arttırmak, gıdayı dayanıklı hale getirmek veya raf ömrünü arttırmak, gıda işlemeyi kolaylaştırmak, gıda kalite artırılması ve standardizasyonu, yeni tip gıda veya çeşidi geliştirmek, işlenmiş gıdalarda verim artışı sağlamak, gıda kayıplarını azaltmak, mevcut kusuru örtmek, gıdayı daha cazip hale getirmektir [9,10].

Gıdalara katkı maddeleri gıdalara mevzuatlarda ön görülen miktarlarda ve üretimin belirli aşamalarında katkılandırılmaktadır. Bu katkı maddelerinin özellikleri ve gıdalarda kullanım sınırları, uluslar arası düzeyde yapılan araştırmalarla belirlenmektedir.

Bu amaçla Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda Tarım Örgütü'nün (FAO) oluşturduğu ve ülkemizin de üye olduğu gıdalarla ilgili komisyon (Codex Alimentarius Commission CAC) ve bu kuruluşun gıda katkı maddeleri ile alt komitesi olan Birleşik Gıda Katkı Uzmanları Komitesi (JECFA) katkı maddelerinin toksikolojik değerlendirmelerini yaparak gıdalarda bulunmasına izin verilebilecek maksimum miktarlarını belirlemekte ve bunların bir listelerini hazırlamaktadır [9].

2.1.1. Boyar Madde

Cisimlerin yüzeyinin ya dış tesirlerden korunması ya da güzel bir görünüm sağlanması için renkli hale getirilmesinde kullanılan maddelere “boya” denir [11].

Ürüne sağladıkları renkler açısından düzenlendiğinde boyalar; sarı, kırmızı, turuncu, yeşil, mavi, kahverengi, siyah ve beyaz boyalar olarak gruplandırılabilir [12].

Eski çağlarda insanların resim yapmada, kömür başta olmak üzere bitki öz suyu, kan, böğürtlen ve farklı renklerde çamurlar kullandıkları bilinmektedir. Renklendirmenin çoğunlukla çamurlara renklerini veren sarı, kırmızı ve kahverengi doğal demir oksitlerle yapıldığı anlaşılmaktadır [13].

Genellikle organik esaslı olan, ürüne fiziksel ve kimyasal kuvvetlerle tutunabilen; kazıma, silme, yıkama gibi fiziksel işlemlerle çıkmayan maddelere “boyarmadde” adı verilir [14].

Günümüzde kullanılan boyar maddelerin çoğu, petrolden veya kömür katranından elde edilen benzen grubu hidrokarbonlardan hazırlanır. Bilinen ilk boyar maddeler, bitkisel kökenli kök boya, indigo ve safrandır [12].

2.1.2. Gıda Boyaları

Gıda maddelerini çekici hale getirmek için gıda boyalarının kullanımı günümüzde vazgeçilmez bir işlemdir. Bu gıda boyaları yeni gıdaların üretim aşamasında, üretim sonunda ve depolama sırasında meydana gelebilecek renk değişimlerini düzeltmek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Boyalar doğal ve sentetik olarak gruplandırılabilir. Doğal kaynaklı olan renk katkıları çok hassas olmaları ve kolay bozulmalarından dolayı sentetik boyaların kullanımı daha yaygındır [1].

Gıdaları estetik ve psikolojik bakımdan cazip hale getirmek için renklendiricilerin kullanımı yüzyıllardır bilinmektedir ve gıdaların renklendirilmesi gıda endüstrisi için önemlidir [15,16].

Genel bir tanımla, gıda boyaları gıdalara işleme ve depolama sırasında gıda boyasının kaybolan doğal rengini yeniden vermek, zayıf olan doğal rengi kuvvetlendirmek yani renksiz olan gıdalara renk vermek için katılmaktadır[17].

Boya maddeleri gerek elde edildikleri kaynaklar ve kimyasal yapıları, gerekse ürüne sağladıkları renkler açısından çok geniş farklılıklar arz eder [4].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 1956 yılında 40 ülkeyi kapsayan ve 114 yapay renk maddesi ile 50 doğal renk maddesini içeren listeleri yayımlayarak renklendiricilerin kullanımına izin vermiş ve gıda sektöründe uygulamaya alınmasına yol açmıştır [5].

2.1.3. Gıda Boyalarının Yapısı

Gıda boyaları genellikle doğal (veya doğala özdeş) veya sentetik olarak sınıflandırılırlar. Doğal boyalar genellikle sentetik boyalardan daha düşük renk verme kuvvetine sahiptirler ve genellikle ışık, sıcaklık, pH ve redoks ajanlarına daha fazla hassastırlar. Doğal ve yapay renkler gıda boyar maddesi olarak kullanılır. Böylece gıda boyalarını 3 grupta incelemek mümkündür [18,19].

2.1.3.1. Doğal Gıda Boyaları

Doğal gıda boyaları doğal kaynaklardan elde edilmekte ve bu renk maddelerinin ihtiyaç duyulduğu gıdalarda kullanılmaktadır [20].

Doğal gıda boyaları organik kökenli (bitkisel veya hayvansal organizma veya mikroorganizmalar tarafından sentez edilen) renk maddeleridir. Bir kısmı da minerallerin doğal yapısında mevcuttur. Annatto, alkannet, antosiyaninler, β -apo-8-karotenol, betaalaninler, kantaksantin, klorofil, kurkumin, β -karoten ve diğer karotenoitler, turmerik, riboflavin, ksantofil, orçil, yenebilen bitkisel hammaddelerden elde edilen diğer doğal renk maddeleri bunların ilkinde; karbon siyahı, ultramarin, titanyumdioksit ikincisine örnektir. Bitkisel kaynaklı gıda boyalarının büyük kısmı, çeşitli çözücülerle ekstraksiyon yolu ile elde edilmektedir. Çözücü olarak genellikle etanol, aseton veya su kullanılmaktadır. Boyar maddeyi içeren ekstraktın tercihen 60 °C'yi geçmeyen sıcaklıklarda ve vakum altında konsantre edilmesiyle elde edilirler [1].

2.1.3.2. Yarı Sentetik Gıda Boyaları: Bunlar doğal kaynaklardan elde edilen maddelere uygulanan çeşitli proseslerle üretilirler. Örneğin, klorofilin bakır kompleksi veya sodyum ve potasyum tuzları ile şekerin yaklaşık 150 °C'de NaOH, NH₄OH vb. maddelerle yakılması sonucu elde edilen karamel buna örnektir [1].

2.1.3.3. Sentetik Gıda Boyaları: Sentetik gıda boyalarının suda çözünen ancak organik çözücülerde aynı özelliği göstermeyen bir karakteri vardır. Bu yüzden gıda endüstrisinde kullanımları kolaydır ve hiçbir sorun yaratmamaktadır.

Gıdalarda sıklıkla kullanılan suda çözünen yapay renklendiriciler; Allura Red, Amaranth, Azorubin, Brilliant Black, Brilliant Blue, Brown HT, Eritrosin, Green S, İndigotin, Kinolin Sarısı, Litolrubin BK, Patent Blue V, Ponceau 4R, Red 2G, Sunset Yellow ve Tartrazin'dir [21].

Büyük çoğunluğunun yapısında azo grubu bulunduğundan bir kısmı azo boyalar olarak da tanınırlar.

2.1.4. Azo Boyarmaddeleri

Bu sınıf boyarmaddelerin yapısında iki ya da daha fazla sayıda aromatik halkayı birleştiren ve meydana gelen konjuge yapının bir parçasını oluşturan kromofor olarak azo grubu (-N=N-) bulunmaktadır. Bu sebeple azo grubunu bulunduran bileşiklere azo boyarmaddeleri adı verilmiştir. Yapılarında bulundukları azo grubunun sayısına göre; mono-, di-, tri-, tetra- boyarmaddeleri olarak sınıflandırılabilir.

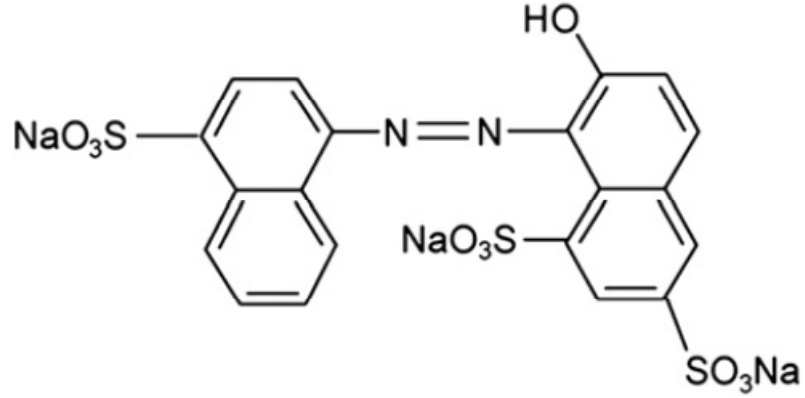
Aril -N=N- Aril	Sarı, Oranj, Kırmızı, Mavi
Aril -N=N- Heterosiklik Halka	Sarı, Kırmızı, Violet, Mavi
Aril -N=N- Aril -N=N- Aril	Kırmızı, Violet , Mavi, Yeşil, Siyah [14].

Gıdalara eklenen sentetik renklendiricilerin miktarını kontrol etmek ve sınırlamak için son yıllarda gayret edilmektedir. Bu nedenle azo boyar maddelerinin sağlık açısından önemini incelenmesi için bazı çalışmalar yapılmıştır. Gıda katkılarının epidemiyolojik çalışmaları insanlar için toksikolojik risk değerlendirmesinde önemli olmakla beraber, bu çalışmalar zordur çünkü maruz kalma tam olarak ölçülemeyebilir. Bu nedenle, risk değerlendirmesi büyük ölçüde laboratuvar toksisite çalışmalarına bağlıdır [22,23].

Tehlike, bazı sentetik azo boyalarının insan sağlığına zararlı olmasından kaynaklanmaktadır. Bazı ilaçlara temas edildiği zaman bazı insanlarda alerji ve astım reaksiyonlarına, kanser gelişimine ve diğer hastalıklara neden olabilmektedir [24-26].

Ponceau 4R: Ponceau 4R (Ponso 4R) gıda endüstrisinde gıdalara kırmızı renk vermek için kullanılan sentetik bir azo boyasıdır [27].

Ponceau 4R monoazo yapıda, sertifikalı, sentetik bir boyadır. Azo boyaları içerisinde en çok kullanılanlardan birisidir.



Şekil 2.1. Ponceau 4R'nin Yapısı [28]

Ponceau 4R; CI Food Red 7, Cochineal Red A, New Coccine; CI(1975) No, 16255; INS No. 124 gibi isimlerle de bilinir.

Molekül formülü : $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$

Molekül ağırlığı : 604.48

Adlandırılması : Trisodyum 2-hidroksi-1-(4-sülfonat-1-naftilazo) naftelen-6,8-disülfonat

Ponceau 4R kırmızı toz veya granüller halinde bulunmaktadır. Suda çözünebilir nitelikte olan bu boya, etanolde çok az çözünmektedir [2].

Kabul edilebilir günlük en yüksek tüketim miktarı (ADI) insanlar için 0-4.0 mg/kg vücut ağırlığıdır [29].

Ponceau 4R yaygın olarak kuru gıda ürünleri, meşrubatlar, şekerlemeler, süt ürünleri, tatlılar ve unlu mamüller gibi gıda ürünlerinde bulunabilen, sentetik, organik azo grubu gıda renklendiricisidir [30].

Gıda kalitesi, mikrobiyolojik husus dışında genel olarak renk, aroma, yapı ve besleyicilik değerine bağlıdır. Bununla birlikte bir gıdanın kalite göstergelerinin en önemlilerinden biri renktir. Çünkü bir gıda ne kadar besleyici, aromatik ya da düzgün yapıya olursa olsun doğru renge sahip değilse yenmesi pek olası değildir [31].

Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA) son zamanlarda kullanımıyla ortaya çıkan sağlık risklerinden dolayı Ponceau 4R'nin günlük kabul edilebilir alım dozunu 4 mg/kg'dan 0.7 mg/kg vücut ağırlığına düşürmeyi kararlaştırmıştır [32].

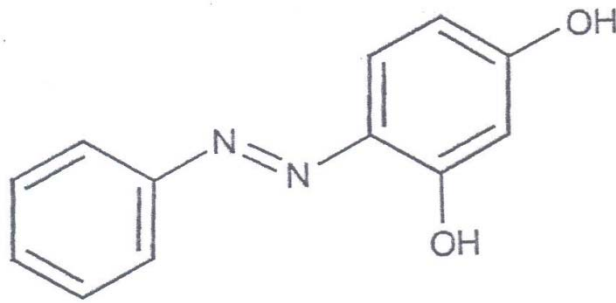
Gıda standartları ajansı tarafından yapılan araştırmalarda Ponceau 4R'nin diğer gıda renklendiricileri ve koruyucu maddelerle birlikte kullanıldığında çocuklarda hiperaktivite artışı tetiklediğini, ayrıca Ponceau 4R bir azo boyası olması sebebiyle salisilatlara alerjik olan insanlarda duyarlılığa sebep olduğu görülmüştür.

Bu boya ayrıca astıma eğilimli insanlarda astıma eğilimli insanlarda astım semptomlarını artırıcı olarak bilinir [33].

Gıda boyalarının gelişigüzel kullanımını önlemek amacıyla birçok ülke tarafından gıdalarda kullanılmasına izin verilen gıda boyalarının tiplerini, saflıklarını, kullanımlarını ve miktarlarını kısıtlayan yasalar yapılmıştır [34].

Bu boya Norveç, Amerika ve Finlandiya'nın da içinde bulunduğu bazı ülkelerde kanserojen olarak sınıflandırılmış ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDAC) tarafından yasaklanmış madde olarak listelenmiştir [32].

Sudan Orange G:



Şekil 2.2. Sudan Orange G Yapısı [35]

Özellikleri:

Molekül formülü : $C_{12}H_{10}N_2O_2$ Molekül Ağırlığı : 214.22
 Adlandırılması : 2,4- Dihidroksiazobenzen

Sudan boyaları, genellikle lizokrom olarak adlandırılan yağda çözünen bir grup boyadır. Yapısal sınıflandırmada diazo boyalardır. Belli çözücülerin kullanımı ile parafin bölümlerinde proteine bağlı yağların boyanmasında kullanılabilir [36-37].

Sudan boyaları, yaygın olarak endüstriyel uygulama ve araştırmalarda kullanılan azo boyalardır. Sudan boyaları; boyalarda, kozmetik ürünlerde, yakıt ve yağların mali işaretlenmelerinde kullanılmaktadır [38-40]. Ayrıca, görselleştirme ve analitik amaçlı yağ boyama dahil bilimsel amaçlarla da kullanılmaktadır [41].

Sudan boyalarının insanlar için kanserojen bir madde olduğundan şüphelenilmiş ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından kanserojen maddeler sınıflandırılmasında 3. seviyedeki madde olarak sınıflandırılmıştır ve bu yüzden Avrupada gıdalardaki kullanımı yasaklanmıştır [42].

Azo boyası olan Sudan Orange G HPLC-UV/Vis yöntemi ile kozmetik ürünlerde belirlenmiştir [43]. Ayrıca, kırmızı biber gibi ürünlerde Sudan Orange G boyası saptanmıştır [44]. Saç boyası olarak kullanılan bu boyanın alerjik kontakt dermatit ile ilgili güçlü/ orta hassasiyet sınıfa ait olduğu tahmin edilmiştir [45].

Sudan Orange G'nin enzimatik oksidasyonu ve bir çeşit maya türünün çoğalmasını durdurucu etkisi incelenmiş ve enzimatik boya arıtma prosesinin Sudan Orange G'nin toksitesini 3 kat düşürdüğü gösterilmiştir. Sudan Orange G polimer araştırmalarında spesifik olmayan etkileşimleri baskılamak için kullanılır [36-37].

2.1.5. Gıda Boyalarının Gıda Sanayinde Kullanımı

Gıda Boyaları; alkolsüz içecek endüstrisinde, fırın ürünlerinde, şekerleme sanayinde, süt endüstrisinde, dondurmacılıkta ve pastacılık ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli gıda boyalarının kullanıldığı ürünler ve kullanım miktarları Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Gıdalarda Çeşitli Gıda Maddesi Uygulamaları [1]

Gıda	Boya	Kullanım Miktarları(mg/kg)
Meyve Suları		
Portakal suyu	Sunset Yellow	40
Limon suyu	Tartrazin	30
Vişne suyu	Ponceau 4R	50
Çilek suyu	Carmoisine+Sunset Yellow	50
Ahududu suyu	Carmoisine+Ponceau 4R	60
Şekerli Ürünler		
Portakallı şeker	Sunset Yellow	80
Limonlu şeker	Tartrazin	60
Çilekli şeker	Ponceau 4R	60
Vişneli şeker	Kantaksantin(%10'luk)	150
Çikolatalı şeker	Chocolate Brown HT	120
Karemelalar	S.Yellow +Amarant+Tartrazin +Green S	80
Ahududulu şeker	Carmosin	100
Meyan şekerleri	Carmosine +Tartrazin +Green S	120
Vişne reçeli	Amarant	60
Pastacılık Ürünleri		
Çikolatalı pasta	Chocolate Brown	200
Kahvaltılık çerezler	Tartrazin	70
Sade kekler	Tartrazin + Sunset Yellow	40
Gofretler	Ponceau 4R	60
Süt Ürünleri		
Çilekli yoğurt	Ponceau 4R	40
Muzlu süt	Sunset Yellow + Tartrazin	20
Çikolatalı tatlı süt	Sunset Yellow + Amarant + İndigo Karmin	100
Krem karamel	S.Yellow + Carmoisine + İndigo Karmin	60
Eritme peynirler	Apokarotenal (%2'lik)	300-400

2.2. Zenginleştirme Yöntemleri

Zenginleştirme yöntemlerinin esas amacı analiz maddesini girişim yapan maddelerden oldukça saf olarak ayırarak elde etmektir.

Ayrılması istenen X maddesi için “geri kazama faktörü” aşağıdaki eşitlikle ifade edilmektedir.

$$R_x = Q_x / Q_x^0$$

Q_x : Ayrılan madde miktarı,

Q_x^0 : Ayrılan maddenin orijinal numunedeki miktarıdır.

Numune içerisinde bulunan girişim yapan Y maddesinden analizi yapılacak olan X maddesinin ayrılması için “ayırma ve zenginleştirme faktörü” aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanabilir.

$$S_{Y/X} = (Q_Y / Q_X) / (Q_Y^0 / Q_X^0) = R_Y / R_X$$

Burada;

Q_Y ve Q_X : Geri kazanılan materyaldeki Y ve X'in miktarları,

Q_Y^0 ve Q_X^0 : Y ve X'in orijinal numunedeki miktarlarıdır [46].

Bu yöntemlerde büyük miktardaki bileşenden oluşan matriks içinde çok düşük derişimde bulunan madde, orijinal fazdan ayrılarak daha küçük hacimli ve daha uygun ikinci bir faz içine alınırlar. Böylece madde bozucu ortam bileşenlerinden ayrılarak, daha küçük hacim içine alınmakta ve dolayısıyla deriştirilmektedir.

Zenginleştirme yöntemlerinde maddenin derişimi attığından dolayı maddenin tayin kapasitesi artar. Matriksten gelebilecek zararlı etkiler azaltılarak yöntemin duyarlılığı arttırılır [47].

Yaygın olarak kullanılan boyarmadde zenginleştirme yöntemleri aşağıda verilmiştir.

2.2.1. İyon Değişirme

Bu teknikte küçük bir kolondan büyük hacimli eser element çözeltileri geçirilerek seçimli olarak tutulmaları sağlanır ve eser elementler daha küçük hacimli bir elüent ile ikinci bir faza alınarak zenginleştirilir. Bu son hacim buharlaştırma yolu ile de azaltılabilir. Bu yolla elde edilen zenginleştirme faktörü, başlangıçtaki numune hacmine bağlı olarak 10^3 - 10^5 büyüklüğündedir. Bu yöntemde matriks elementin dağılma katsayısının küçük, eser elementin dağılma katsayısının büyük olması istenir. Bu durumda eser element kolonda tutulur. İyon değiştirici seçiminde; değiştirme hızı, iyon değiştiricinin geri kazanılabilirliği, fonksiyonel grupların seçimliliği ve uygun elüent bulunması dikkate alınmalıdır [47].

Her ne kadar iyon değiştiriciler denince akla katı iyon değiştiriciler gelse de bu terim iyon değişimi yapabilen bütün maddeleri içermektedir [48].

Katyon değiştiriciler fonksiyonel grup olarak sülfonat ($-\text{SO}_3^-$), karboksilat ($-\text{COO}^-$), fenolat ($-\text{O}^-$), fosfonat ($-\text{PO}_3^-$) gibi grupları içermektedir. Anyon değiştirici reçineler fonksiyonel grup olarak primer, sekonder, tersiyer ve kuarterner aminleri içerirler. Kuvvetli baz tipi reçineler sık kullanılırlar. Bu reçinelere örnek olarak fonksiyonel grup olarak $-\text{N}(\text{CH}_3)_3$ grubu örnek verilebilir [49].

2.2.2. Çöktürme – Birlikte Çöktürme

Çöktürme işleminde analit uygun bir reaktif ile az çözünen bileşiği şekline dönüştürülerek çöktürülür. Bunun temeli Kç değerinin aşılmasına dayanır. AAS ile metal tayinlerinde hidroksit, sülfat, fosfat, glioksim, ditiyokarbamat gibi değişik çöktürücü reaktifler kullanılabilir. Çökelek matriks ortamından süzülerek veya diğer yöntemlerle ayrılarak tekrar çözülür ve ölçüm yapılır. Birlikte çöktürme işlemi, analitin Kç değeri aşılmamasına rağmen Kç değeri aşılan başka bir bileşik ile birlikte çökmesi işlemidir. Bu teknikte analiti çöktüren bileşiğe taşıyıcı veya toplayıcı (kolektör) reaktif

adı verilir. Toplatıcı reaktif olarak hidroksitler, karbonatlar glioksimatlar ve ditiyokarbamatlar gibi değişik bileşikler kullanılmaktadır [46].

2.2.3. Buharlaştırma

En yaygın zenginleştirme tekniklerinden biridir. Bazı çözeltilerdeki metaller çözeltinin kaynatılarak çözücüsünün uzaklaştırılması yoluyla konsantre edilirler. Bu teknik uçuculuğu yüksek olmayan metallere uygulanır.

Yöntemin kötü tarafı metallere birlikte ortamda bulunan diğer maddelerin de zenginleştirilmiş olması ve uçucu metallere uygulanamamasıdır [46].

2.2.4. Elektrokimyasal Zenginleştirme

Elektrolizle istenilen eser elementlerin bir elektrot üzerinde toplanmasına elektro biriktirme denir. Elektro biriktirme, çeşitli elektrolit çözeltilerden eser miktardaki ağır metallerin ayrılması için uygun bir yöntemdir. Uygun şartlar sağlanarak katı bir çalışma elektrodu üzerinde elektrolizle eser miktardaki ağır metallerin toplanıp, sonra küçük hacim içerisinde sıyrılarak yapılan bir zenginleştirme yöntemidir.

Bir elementin elektrolitik biriktirilmesine elektrolit ve örneğin bileşimi, elektrot türü ve şekli, elektroliz hücresi ve şekli etki eder. Genellikle çalışma elektrodu olarak Pt, Pt alaşımları, karbon çubuk kullanılabilir [50].

2.2.5. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon

Ekstraksiyonda (özütleme) birbiri ile karışmayan iki faz bulunur. Çoğu zaman bu fazlardan biri sulu fazdır, diğeri organik çözücüdür. İlgilenilen türler bir fazdan diğerine geçirilebilir. Ekstraksiyonda sulu fazdan organik faza analitin geçirilmesini esas alır. Ekstraksiyon çalışmaları, özellikle eser element analizlerinde geri ekstraksiyon şeklinde

de uygulanır. Geri ekstraksiyon organik fazdan sulu faza analitin çekilmesine veya özütlenmesine denir [46].

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile ilk sıvı faz içindeki bir madde bu maddeyi daha çok çözen ve ilk sıvı ile karışmayan bir ikinci sıvı kullanılarak çekilir. Örneğin suda çözülmüş olan bir organik madde daha çok çözünebileceği ve su ile karışmayan eter ya da kloroform gibi organik sıvılarla ekstrakte edilir. Bu tür basit ekstraksiyonlar genellikle ayırma hunisi adı verilen düzeneklerle yapılır. Alttaki faz açılan musluktan akıtılarak alındığında ayırma hunisinde yalnızca üst faz kalır [51].

2.2.6. Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu

Bulutlanma noktası ekstraksiyon işleminde ayrılması istenen tür ile etkileşen yüzey aktif madde ısıtma ile birlikte küçük bir hacim içerisinde yoğunlaşır. Bu uygulamada bir çözelti ortamına ilave yüzey aktif madde, ortamdan ayrılması düşünülen madde ile hidrofilik ve hidrofobik uç özelliklerini kullanarak misel yapı oluşturulur.

Miseller hidrofilik (su seven) baş kısmı ve hidrofobik (su sevmeyen) uç kısmı olmak üzere iki kısımdan oluşan küresel yapıdır. Oluşan misel ilk etapta çözelti ortamında tek fazlı görünüm sergiler. Isıtma işlemiyle birlikte bulutlanma noktasında çözelti iki ayrı faz oluşumu sergiler. Faz ayrımı gerçekleştiği sıcaklık yüzey aktif madde konsantrasyonunun etkisindedir. Bulutlanma noktası sıcaklığının üzerindeki değerlerde çözelti iki ayrı faza ayrılır.

Bunlar; yüzey aktif maddece zengin faz olarak isimlendirilen ortamda bulunan yüzey aktif maddenin miktarca fazla olduğu yoğun faz ve sulu faz olarak isimlendirilen yüzey aktif madde konsantrasyonunun çok daha düşük olduğu fazdır. Bu sistem geri dönüşümlü olarak elde edilebilir yani bulutlanma noktasına kadar ısıtılan çözelti bulutlanma noktasında iki ayrı faz oluşturmasına rağmen aynı sistem faz ayrımı gerçekleştirdikten sonra soğutularak tekrar tek fazlı homojen görünümlü sistem elde edilebilir [52].

Metal iyonları, proteinler, biyolojik örnekler veya güçlü bir polite farkı olan organik bileşikler gibi çok farklı karakterde doğaya sahip türlerin zenginleştirilmelerinde başarıyla kullanılmaktadır [53].

2.2.7. Katı Faz Ekstraksiyonu

Adsorpsiyon, bir yüzey veya arakesit üzerinde bir maddenin birikmesi ve derişiminin artması olarak tanımlanmaktadır. Tanımda kullanılan ara yüzey bir sıvı ile bir gaz, katı veya bir başka sıvı arasındaki temas yüzeyi olabilir. Başka bir tanıma göre adsorpsiyon, yüzeye saldırma kuvvetlerinden dolayı moleküllerin yüzeye yapışması olayıdır [50].

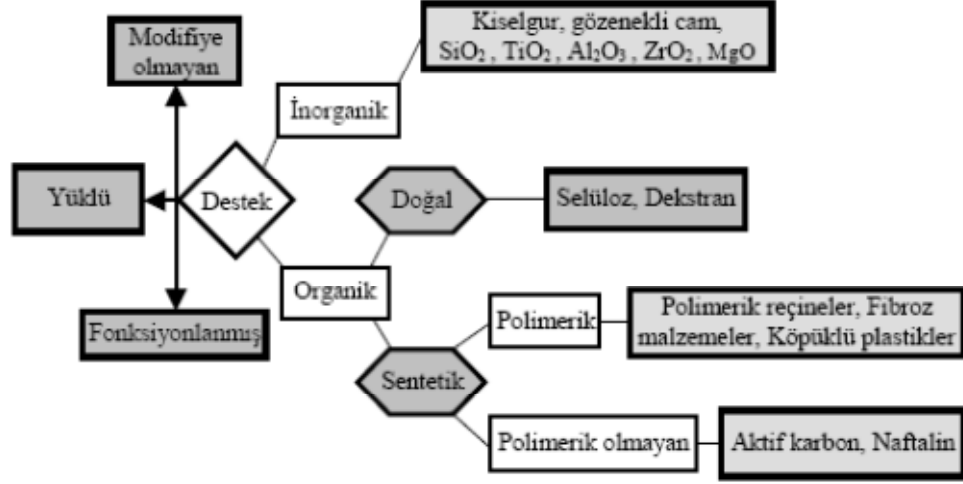
Katı faz ekstraksiyonunda fazlardan biri katı diğeri sıvıdır ve bu fazlar arasındaki etkileşime dayanır. Bu uygulama yöntemi, örnek içinde bulunan analit iyonlarının katı faz üzerinde tutunması ile saflaştırma ve deriştirme sağlar. Yöntem genellikle sıvı haldeki örneğin analitleri tutan bir katı içeren bir kolon, kartuş ya da diskten geçirilerek uygulanır. Örneğin, tamamı katı fazdan geçirildikten sonra analitler uygun bir çözücü yardımıyla katı fazdan çekilir [54].

Katı yüzeyde meydana gelen adsorpsiyon olayı fiziksel, kimyasal ve iyonik olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Fiziksel adsorpsiyonda, adsorplayan ile adsorplanan arasında Van der Walls etkileşimi, dipol-dipol etkileşimi ve hidrojen bağları oluşumu söz konusudur. Fiziksel adsorpsiyonda gerekli olan enerji küçüktür, bu nedenle adsorpsiyon ve desorpsiyon hızlıdır.

Kimyasal adsorpsiyonda ise adsorplanan moleküller ve adsorban yüzeyi arasında kovalent ve iyonik bağlar oluştuğu için kimyasal bağ oluşumu söz konusudur. Adsorplanan ve adsorplayıcı arasında elektron transferi olabilir. Adsorpsiyon ve desorpsiyonun yavaş olmasından dolayı, kromotografik ayırmalar için kimyasal adsorpsiyon çok uygun değildir [55].

Adsorpsiyon olayını etkileyen faktörlerin basında adsorban maddelerin fiziksel ve kimyasal özellikleri gelir. Katılar, metaller, plastikler az veya çok adsorplama gücüne sahiptirler. Adsorplama gücü yüksek olan bazı doğal katılar kömürler, killer, zeolitler ve

çeşitli metal filizleri, yapay katılar ise aktif kömürler, moleküler elekler, silikajeller ve özel polimerlerdir. Yukarıda anlatılanlar Şekil 2.3'te özetlenmiştir [56].



Şekil 2.3. Katı Faz Özütlemesinde Kullanılan Adsorbanlar [56]

Adsorplama gücü yüksek olan katılarda adsorplanan madde miktarı yüzey büyüklüğü ve gözenekli yapıya bağlı olarak değişir. Katı faz özütlemesinin temeli sulu faz içinde bulunan analitlerin katı faz üzerinde tutunmasına dayanır. Katı faz özütleme, sıvı-sıvı özütleme ile karşılaştırıldığında daha az çözücü kullanılması, daha az zaman alması gibi bazı avantajlara sahiptir [56].

2.2.7.1. Katı Faz Ekstraksiyon Teknikleri

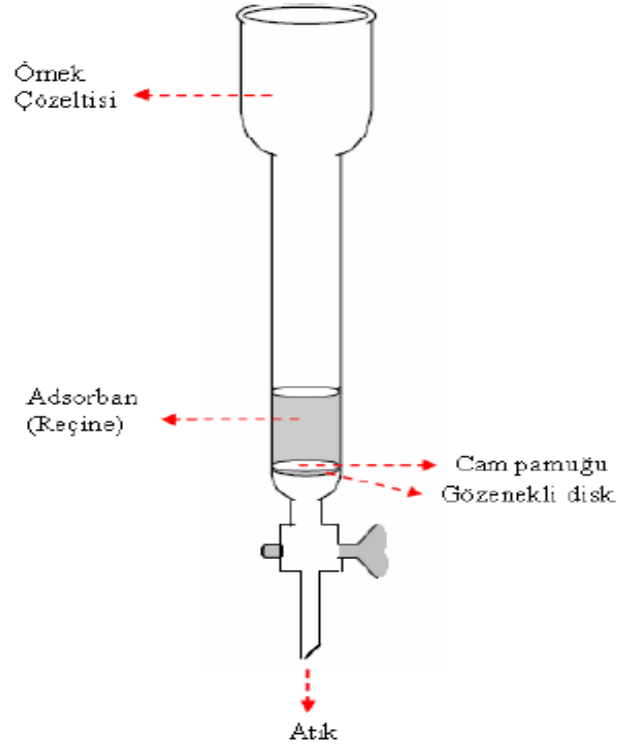
Çalkalama Tekniği

Çalkalama tekniğinde, analitin içinde bulunduğu çözeltiye katı faz maddesi konarak belirli bir süre birlikte çalkalanır. Çalkalama, mekanik veya ultrasonik yapılabilir. Tutunma dengesi kurulduktan sonra, çözeltiden katı faz, süzme veya dekantasyon ile ayrılır. Katı fazdaki elementler, uygun çözücü ile desorbe edilerek tayin gerçekleştirilir [57].

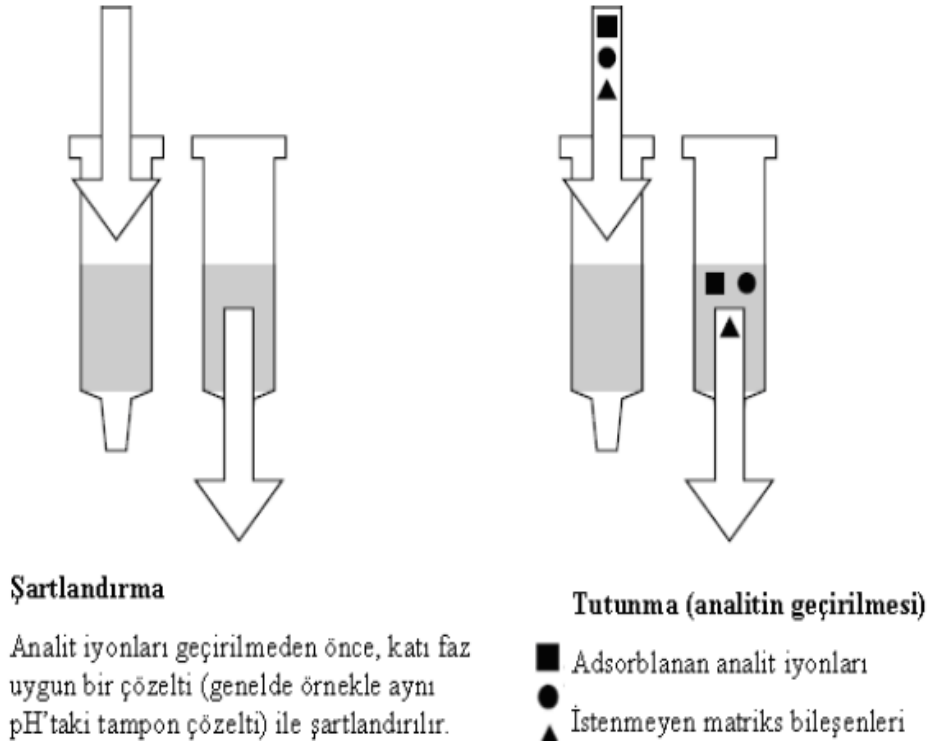
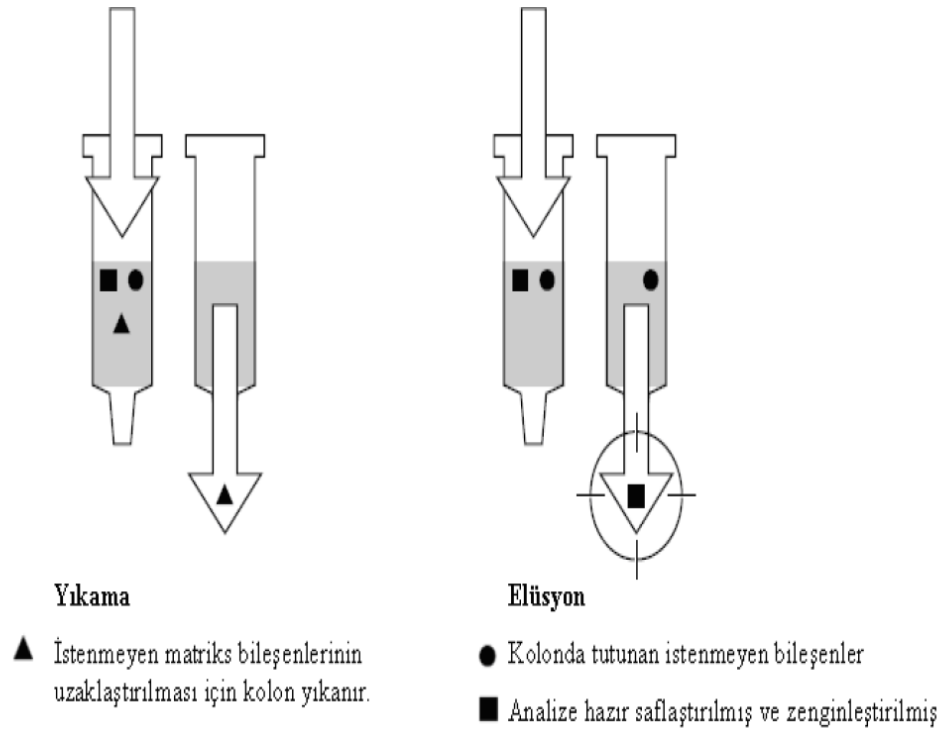
Kolon Tekniği

Kolon kromatografisi ile eser elementlerin zenginleştirilmesi uzun süredir kullanılan yöntemlerdendir. Yöntemin temeli kısaca şu şekildedir:

Bir kolona yerleştirilmiş ve pH gibi ortam şartları ayarlanmış katı faz üzerinden belli akış hızında geçirilen örnekte bulunan analit ve matriks bileşenleri, analitin kolonda tutunup matriks iyonu ya da moleküllerinin tutunmaması ile birbirinden ayrılmış olur. Kolonda kalabilecek matriks bileşenleri, kolonun yıkanmasıyla uzaklaştırılır. Analit ise belli hacimde elüent zltisi (genellikle seyreltik asitlerin sulu veya organik zcl zltileri) kullanılarak bir kaba elüe edilir. Elat (elüe edilmiş analit zltisi) hacmi örnek hacminden az ise bu durumda zenginleştirme de yapılmış olur. Katı Faz Ekstraksiyonunda kullanılan kolon şekil 2.4 'te gösterilmiştir [58].



şekil 2.4. Katı Faz Ekstraksiyonu Kolonu [59]



Şekil 2.5. Katı Faz Ekstraksiyonunun Genel İşlem Basamakları [59]

Diğer zenginleştirme yöntemleri ile kıyaslandığında katı faz ekstraksiyonunun tercih edilme nedenleri ve oldukça önemli avantajları söz konusudur. Bunlar şu şekilde sıralanabilir;

- Zenginleştirme faktörü daha yüksektir. (Zenginleştirme faktörü, bir analitin orijinal örneğe göre kaç kez daha derişik hale getirildiğinin ölçüsüdür.)
- Yüksek saflıkta örnekler elde edilebilir.
- Örnek hazırlama süresi daha kısadır.
- Katı faz üzerine tutunmuş olan örnek, uygun bir elüent kullanılarak hızlı bir şekilde daha küçük bir hacme alınabilir.
- Harcanan reaktif miktarı daha düşüktür.
- Daha az reaktif harcandığından maliyeti de düşüktür.
- Katı faz ekstraksiyonu işlemleri, akış enjeksiyon tekniklerinden olan on-line zenginleştirme tekniklerine de kombine edilerek kolaylıkla kullanılabilir.
- Katı faz ekstraksiyonu tekniğinde kullanılan çözücü miktarı çok az olduğundan çevreyi kirletme riski daha düşüktür.
- Katı faz tekrar tekrar kullanılabilir [60].

2.2.7.2. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Gıda Boyası Analizi İçin Yapılan Bazı Çalışmalar

Soylak ve arkadaşları; yaptıkları katı faz ekstraksiyon çalışmalarında Sepabeads SP 70 reçinesini adsorbent olarak kullanarak Rodamin B boyar maddesi için kolon sisteminde çalışmışlar ve çeşitli meşrubat, atık su ve ruj örneklerinde uygulamalarını yapmışlardır [61].

Yine bir adsorbent kullanarak Allura Red boyar maddesi için bir ayırma ve zenginleştirme yöntemi geliştirmişler ve çeşitli su örneklerinde uygulamalarını yapmışlardır [62].

Gaunt ve arkadaşları Ponceau 4R'nin toksikolojik çalışmalarında, erkek ve dişi fareler üzerinde çalışma yapmış ve oral LD50 değerini her iki türde de 8000 ppm den yüksek bulmuşlardır [63].

Brantom ve arkadaşları uzun dönem toksisite çalışmalarında Ponceau 4R'nin herhangi bir etki görülmeyen düzeyini 500 ppm/gün olarak rapor etmişlerdir [64].

Brantom ve arkadaşları üç jenerasyon çoğalma çalışmasında sıçanlarda Ponceau 4R'nin herhangi bir olumsuz etki görülmediği düzeyi 1250 ppm/gün olarak rapor etmişlerdir [65].

Bueno ve arkadaşları; balıklardaki Malachite green boyar maddesi kalıntılarının belirlenmesinde sıvı kromatografi-kütle spektrofotometrik tayini öncesi katı faz ekstraksiyon yöntemi geliştirmişlerdir [66].

Üretkenlik ve gelişmeye yönelik toksisite çalışmaları dikkate alındığında, Meyer ve Hansen (1975) lastik sonda ile beslenen (1000-4000 ppm/gün) sıçanlarda Ponceau 4R'nin embriyotoksik etkiye neden olmadığını bulmuşlardır. Momma ve arkadaşları (1981) farelerde gebelik boyunca diyetlerindeki Ponceau 4R'nin (0,05-0,7%) teratojenik veya doğum sonrası gelişmeye etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir [67].

Carolina ve arkadaşları, çok değişkenli sınıflandırma teknikleri ve UV\Vis spektrofotometresi ile Sudan I-II-III-IV boyar maddeleriyle baharat karışımlarının belirlenmesi ile ilgili çalışmışlardır [68].

Zhang ve arkadaşları tarafından; Allura red ve Panceau 4R'nin tayininde çok duvarlı karbon nanotüp bazlı elektrokimyasal sensörler kullanmışlardır [69].

Dinç, tez çalışmasında gıdalara katılan bazı suda çözünen sentetik boyalardan Tartrazin, Sunset Yellow, Karmoisin, Amarant, Ponceau 4R, Allura Red ve Brilliant Blue'nun analizini yapmıştır. Bu araştırmasında alkolsüz aromalı içeceklere, yenilebilir buzlara ve şekerlemelere renk vermek için katılan suda çözünen sentetik boyaların varlığı ve miktarı HPLC ile belirlemiştir. C18 kolon kullanılarak gerçekleştirilen kromatografik ayırım sonrasında Tartrazin, Sunset yellow, Karmoisin, Amarant, Ponceau 4R, Allura Red ve Brilliant Blue sırasıyla 430, 484, 520, 520, 512, 509, 630 nm dalga boylarında tespit etmiştir [70].

Turabik bazik red 46 ve yellow 28 boyar maddelerinin spektrofotometrik tayini öncesi adsorbent olarak Bentonite kullanarak katı faz ekstraksiyon yöntemini geliştirmiştir [71].

Tekeli, tez çalışmasında bazı gıdalarda Azoburine, Ponceau 4R ve Brilliant Blue'nun spektrofotometrik yöntemle yan yana tayini çalışmasını yapmıştır. Bu çalışmasında toz içeceklere renk vermek amacıyla kullanılan Ponceau 4R, Azorubine ve Brilliant Blue FCF'nin bir arada tayinini gerçekleştirmiştir [72].

Ishimitsu ve arkadaşları (1998) 1996 yılında Japonya'da üretilen Ponceau 4R'nin tahmin edilen miktarı yaklaşık olarak 32,78 ton olarak bulmuşlardır [29].

2.3. Görünür Bölge Spektroskopisi

Işın-madde etkileşmesini inceleyen bilim dalına “spektroskopi” denir. Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının ölçülmesi ve değerlendirilmesi şeklinde de tanımlanmaktadır. En geniş tanımıyla spektroskopi, yüklü ve yüksüz taneciklerle maddenin etkileşmesi sonucu meydana gelen olayların incelenmesine denir [73].

Elektromanyetik ışımaya, uzayda çok büyük bir hızla hareket eden enerji türüdür. Türleri arasında; görünür, ışık, ısı şeklinde algılanan infrared (kırmızı ötesi) ışınları, X-ışınları ve radyo dalgaları sayılabilir. Nükleer ışımalar, X-ışınları, mor ötesi (ultraviyole, UV), mikrodalga ve radyo ışınları ise elektro manyetik ışımının diğer türleridir [74].

Ultraviyole ve görünür (visible) bölgeye dayanan absorpsiyon ölçümleri, on binlerce inorganik ve organik bileşiğin tanınmasında ve tayininde yaygın kullanım alanı bulur. Moleküler ultraviyole/ görünür bölge absorpsiyon yöntemleri belki de dünyada kimya ve klinik laboratuvarlarında en çok kullanılan kantitatif analiz teknikleridir [75].

Moleküler absorpsiyon spektroskopisi 160-780 nm dalga boyları arasındaki ışığın b ışın yoluna sahip bir hücredeki çözeltinin geçirgenliğinin (T) veya absorbansının (A) ölçümüne dayanır. Bu absorpsiyon daha çok moleküllerdeki bağ elektronlarının

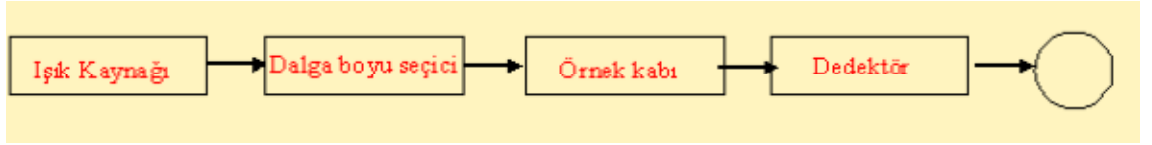
uyarılmasından kaynaklanır, bunun sonucu olarak moleküler absorpsiyon spektroskopisi bir moleküldeki fonksiyonel grupların tanımlanmasında ve aynı zamanda fonksiyonel grupları taşıyan bileşiklerin nicel tayininde kullanılır [75].

UV-Vis spektroskopisinde ışımının soğurulması, daha düşük enerjili orbitaldeki elektronların daha yüksek enerjili orbitale uyarılmasıyla ışımının enerjisinde bir azalmaya yol açar [76].

2.3.1. Absorpsiyon Spektrofotometresi

Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrometresi veya “absorpsiyon spektrofotometresi” adı verilir.

Bir spektrofotometre düzeneği, başlıca ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi (monokromatör), dedektörden oluşur; dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür [77].



Şekil 2.6. Bir Spektrofotometrenin Temel Bileşenleri [77]

Bu ana bileşenlere ek olarak spektrofotometrelerde ışığı toplamak, odaklamak, yansıtma, iki demete bölmek ve örnek üzerine belli bir şiddette göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüler ve giriş ve çıkış aralıkları vardır. Örnek ise, kullanılan dalga boyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına konularak ışık yoluna yerleştirilir [77].

Bir UV/Vis spektrofotometre, elektromanyetik spektrumun UV ve görünür bölgelerinde her dalga boyunda soğurulan ışığın miktarını ölçer. Standart bir cihazda bir ışık ışınına ikiye yarılar; ışının bir yarısı (numune ışını), doğrudan analiz edilecek bileşiğin bir çözeltisini içeren şeffaf bir hücreden geçer ve diğer yarısı (referans ışını) bileşiği içermeyen, fakat çözücüyü içeren benzer bir hücreden geçer. Çözücüler analiz için kullanılacak spektrum bölgesinde geçirgen olacak şekilde seçilir.

Alet istenilen dalga boylarında tarama yapmak için iki ışının şiddetlerinin bir karşılaştırmasını yapacak şekilde tasarlanmıştır. Eğer bileşik belirli bir dalga boyunda ışığı soğurursa, numune ışınının şiddeti (I_s), referans ışının (I_r) şiddetinden daha az olur [76].

UV-Vis spektrofotometreler bu bölgede absorbansa (A) karşı dalga boyu grafiğini otomatik olarak kaydeder. [Belirli bir dalga boyundaki absorbans $A_\lambda = \log (I_r / I_s)$ eşitliğiyle belirlenir.] Böyle bir grafik bir absorpsiyon soğurma spektrumu olarak adlandırılır. Soğurma maksimumu, soğurma şiddetini veya gücünü belirten bir başka nicelik olarak gösterilir ki bu da molar absorptivite (ϵ) olarak isimlendirilir [76].

Molar absorpsitivite, belirli bir dalga boyunda gözlenen soğurmanın (A), numune hücrelerinden geçen ışık ışınının yol uzunluğu (l) (santimetre olarak) ve numunenin molar derişimiyle (C) ilişkisini gösteren sabit bir orandır;

$$\epsilon = A / C \times l \quad [76]$$

2.3.2. Görünür Bölge Spektroskopisinin Nicel Kullanımı

Ultraviyole ve görünür bölge absorpsiyon spektrometresi, kimyacıların nicel analizlerde en çok yararlandıkları yöntemlerden biridir. Bu spektrofotometrik ve fotometrik yöntemin başlıca özellikleri aşağıda verildiği gibi sıralanabilir.

Yaygın uygulanabilirlik; daha önce bahsedildiği gibi pek çok sayıda inorganik, organik ve biyokimyasal madde, ultraviyole ve görünür ışınları absorplar ve bu yüzden doğrudan nicel tayinleri mümkündür. Pek çok madde de, kendisi absorpsiyon yapmasa da absorplayıcı türevlere dönüştürülerek tayin edilebilir.

Hassasiyet; absorpsiyon spektroskopisinin tipik tayin sınırları $10^{-4}M$ - $10^{-5}M$ arasındadır, işlemlerde bazı iyileştirmelerle bu sınırların $10^{-6} M$ a, hatta $10^{-7} M$ 'a indirilmesi de mümkündür.

Orta yüksek seçimlilik; analitin tek başına absorpsiyon yaptığı bir dalga boyu bulunabilirse, ön ayırımlara gerek kalmaz. Ayrıca, kimi hallerde, başka bir maddenin

absorbansı ile analitin ki örtüşse bile, başka dalga boylarında da ölçüm yapılarak bir ayırma işleminden kaçınılabılır.

Yüksek doğruluk; ultraviyole/görünür bölge spektrofotometrik veya fotometrik ölçümleri sonucu elde edilen derişim değerlerinin bağıl hatası % 1-5 arasındadır. Özel önlemler alınarak bu hatalar binde birkaç mertebesine indirilebilir.

Kolaylık ve rahatlık; modern cihazlarla, spektrofotometrik ve fotometrik ölçümler kolaylıkla ve hızlı bir şekilde yapılabilir. Ayrıca bu yöntemler otomasyona da uygundur [78].

2.4. Analitik Metotların Değerlendirilmesinde Kullanılan Bazı Terimler

Doğruluk: Alınan sonucun gerçek değere yakın olma özelliğidir. Mutlak hata gerçek değerden sapmayı verir. Bir sonucun doğruluğu, şüphesiz güvenilirliğinin ölçüsüdür. Ancak gerçek değer genellikle bilinmediğinden, sonucun doğruluğu ancak tahmin edilebilir. Bunun için ayrı yöntemle analiz edilen uluslararası sertifikalı standart örnekler esas alınabilir [79].

Doğruluk ve tekrarlanabilirlik farklı kavramlar olup, ideal analitik sonuçlar yüksek doğruluk ve yüksek tekrarlanabilirlik niteliklerini birlikte taşırlar.

Tekrarlanabilirlik: Sonuçların tekrarlanabilirliğine veya aynı metot ve teknikle elde edilen sonuçların birbirlerini tutarlılığına denir.

Bir analizde elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliğini belirtmek için; ortalama değerden sapma, orta değerden sapma, yayılma, bağıl hassaslık, standart sapma değerleri kullanılır.

Duyarlılık: Derişime karşı ölçülen sinyaldeki değışim, duyarlılık olarak tanımlanır.

Gözlenebilme (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ): Gözlenebilme sınırı (LOD), örnekte ölçülebilen fakat kesin olarak miktarı belirlenemeyen en düşük miktardır, örneğin sinyal

olarak okunabildiği en düşük derişimdir. Tayin sınırı (LOQ) ise kabul edilebilir doğrulukta ve tekrarlanabilirlikte ölçülebilen en düşük miktardır [80].

Geri Kazanım: Bileşimi bilinen bir maddenin analizi sonucunda elde edilen değerin başlangıç değerine oranı olarak tanımlanır. Geri kazanma verimi, yöntemin optimizasyonu için incelenen faktörlerin değerlendirilmesinde ölçüt olarak kullanılır.

Geri kazanma verimi aşağıdaki şekilde formüle edilebilir [81].

$$\% \text{ Geri kazanım} = (\text{ölçülen absorbands} / \text{referans madde absorbandsı}) \times 100$$

3. BÖLÜM

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, çeşitli gıda örneklerinde bulunan Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının tayinini ve katı faz ekstraksiyonunu esas alan bir ayırma ve zenginleştirme yöntemi geliştirildi. Bu amaçla adsorban olarak deniz süngeri ilk kez kullanıldı. Deniz süngeri dolgulu kolonda tutunan Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarını 10 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edildi. Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaları UV-Vis spektrofotometresi ile tayin edildi. Katı faz olarak deniz süngeri kullanıldı.

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Analitik terazi: Kullanılacak kimyasalların tartımları 0,1 g duyarlılıktaki OHAUS Adventurer Pro tipi analitik terazide yapılmıştır.

pH metre: Çalışmalar esnasında çözeltilerin pH değerlerinin ayarlanması için Sartorius marka PT-10 model pH metre kullanıldı.

Santrifüj Cihazı: Çalışmalar esnasında ALC marka PK 120 model santrifüj cihazı kullanılmıştır.

Saf Su Cihazı: Deneysel çalışmalar boyunca ihtiyaç duyulan suyun elde edilmesinde Elga marka Elgastat Maxima model saf su cihazı kullanılmıştır.

Mikropipet: Çözelti hazırlama ve aktarım işlemlerinde Nichiryo ve İsolab marka 20–200 µL 100–1000 µL arasında ayarlanabilen mikropipetler kullanılmıştır.

Etüv: Cam ve plastik malzemelerin kurutulması için 200 °C sıcaklığa kadar ısıtılabilen Nüve marka FN 400 model etüv kullanılmıştır.

Buzdolabı: Deneylerde kullanılan çözeltilerin saklanması ve numunelerin soğutulma işlemlerinde AEG marka ARCTIS model buzdolabı kullanılmıştır.

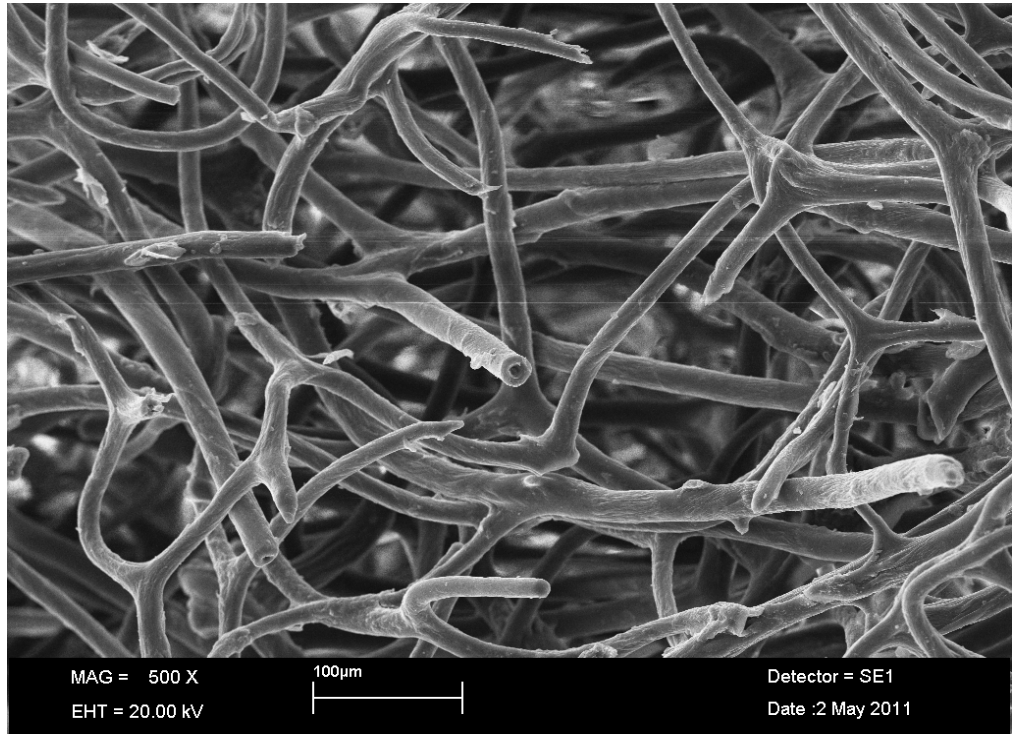
Katı Faz Ekstraksiyon Kolonu: Katı faz ekstraksiyonu çalışmalarında iç çapı 1 cm ve uzunluğu 15 cm olan bir cam kolon kullanılmıştır. Temizlenmiş kolona deniz süngeri yerleştirilmiştir. Kolondan her kullanımdan önce sırasıyla 10 mL pH 4,5 tamponu ve 15-20 mL saf su geçirildi. Ardından kolondan tampon çözelti kolondan geçirilerek kolonun şartlandırılması sağlanmıştır.

Cam ve Plastik Malzemeler: Erlen, beher, balon joje, kolon ve süzme düzenekleri, polietilen saklama kapları, santrifüj tüpleri, cam tüpler, baget gibi deneysel çalışmalarda kullanılan malzemelerden gelebilecek kimyasal kirlenmeleri ve analit kayıplarını önlemek amacıyla uygulamalardan önce temizlik işlemi yapılmıştır. Temizlik işleminde malzemeler deterjanlı su ile iyice yıkanıp bol su ile durulandıktan sonra %10'luk HNO₃ çözeltisinde bekletilmesinin ardından saf su ile iyice durulanıp kurutulularak kullanılmıştır.

Deniz Süngeri: Yapılan deneysel çalışmalarda demospogiae türü olan deniz süngeri kullanılmıştır. Kullanılan deniz süngerinin fotoğrafı ve SEM fotoğrafları Şekil 3.1 ve Şekil 3.2' de verilmiştir.



Şekil 3.1. Deneylerde Kullanılan Deniz Süngerinin Fotoğrafi



Şekil 3.2. Deneylerde Kullanılan Deniz Süngerinin SEM Fotoğrafi [82].

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışları

Çalışmalarda kullanılan çözeltilerin hazırlanmasında analitik saflıkta kimyasal maddeler ve saf su kullanıldı.

Ponceau 4R Boyar Maddesi: Çalışmalarda $1,65 \cdot 10^{-3}$ M Ponceau 4R Stok çözeltisi kullanılmıştır.

Sudan Orange G Boyar Maddesi: Çalışmalarda $4,67 \cdot 10^{-3}$ M Sudan Orange G Stok çözeltisi kullanılmıştır.

1 M HCl çözeltisi: Yoğunluğu 1,19 g/mL olan %37'lik derişik HCl'den 8,3 mL alınıp saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2 M HCl çözeltisi: Yoğunluğu 1,19 g/mL olan %37'lik derişik HCl'den 16,6 mL alınıp saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2 M HNO₃ çözeltisi: Yoğunluğu 1,40 g/mL olan %65'lik derişik HNO₃'ten 13,8 mL alınıp saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Asetonda 0,25 M HCl çözeltisi: Yoğunluğu 1,19 g/mL olan %37'lik derişik HCl'den 2,1 mL alınıp aseton ile 100 mL'ye tamamlandı.

1 M NH₃ çözeltisi: Yoğunluğu 0,91 g/mL olan % 25'lik derişik NH₃' dan 7,47 mL alınıp saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2 M NH₃ çözeltisi: Yoğunluğu 0,91 g/mL olan % 25'lik derişik NH₃'dan 14,94 mL alınıp saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

1 M NaCl çözeltisi: 1M NaCl çözeltisi hazırlamak NaCl katı örneğinden 4 g alıp saf su ile 100 mL'ye tamamladık.

1 M Asetik Asit çözeltisi: Yoğunluğu 1,05 g/mL olan %100'lük asetik asitten 5,72 mL alıp saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 2,0 tamponu: pH'sı 2 olan tampon çözelti hazırlamak için ($d= 1,71\text{g/mL}$) % 85'lik $\text{o-H}_3\text{PO}_4$ 'den 245 μL ; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'dan 3,118 g alınarak karıştırılmış ve 100 mL'ye seyreltilmiştir.

pH 3,0 tamponu: pH'sı 3 olan tampon çözelti hazırlamak için %85'lik $\text{o-H}_3\text{PO}_4$ 'den 135 μL ; 3,118 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'dan alınarak karıştırılmış saf su ile 100 mL'ye seyreltilmiştir.

pH 4,0 tamponu: pH'sı 4 olan tampon çözelti hazırlamak için 15,4 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ suda çözüldü, üzerine 57,6 mL 14,3 M CH_3COOH ilave edilerek saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 4,5 tamponu: pH'sı 4,5 olan tampon çözelti hazırlamak için 80 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ve 250 mL asetik asiti 500 mL'lik behere ilave edip baget ile çözünmesini sağladıktan sonra saf su ile 500 mL'ye tamamlandı.

pH 5,0 tamponu: pH'sı 5 olan tampon çözelti hazırlamak için 15,4 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ suda çözüldü, üzerine 8 mL 14,3 M CH_3COOH ilave edilerek saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 6,0 tamponu: pH'sı 6,0 olan tampon çözelti hazırlamak için 11,7 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ suda çözüldü, üzerine 500 μL 14,3 M CH_3COOH ilave edilerek saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 7,0 tamponu: pH'sı 7 olan tampon çözelti hazırlamak için 1,244 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 1,067 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ suda çözüldü, karıştırılarak saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 8,0 tamponu: pH'sı 8 olan tampon çözelti hazırlamak için 1,07 g NH_4Cl suda çözüldü, üzerine 78 μL 14,7 M NH_3 eklendi ve saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 9,0 tamponu: pH'sı 9 olan tampon çözelti hazırlamak için 1,07 g NH_4Cl suda çözüldü, üzerine 80 μL 14,7 M NH_3 eklendi ve saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

pH 10,0 tamponu: pH'sı 10 olan tampon çözelti hazırlamak için 1,07 g NH_4Cl suda çözüldü, üzerine 800 μL 14,7 M NH_3 eklendi ve saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

3.2. UV-Vis Spektrofotometresi

Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaalarının tayini Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Ana Bilim Dalında bulunan Hitachi-150-20 spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. UV-Vis Spektrofotometre ile Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaalarının spektrum taraması yapıldı. Ponceau 4R boyasının en yüksek absorban yaptığı dalga boyu 510,2 nm, Sudan Orange G boyasının en yüksek absorban yaptığı dalga boyu 383,2 nm olarak belirlendi.



Şekil 3.3. UV-Vis Spektrofotometresi

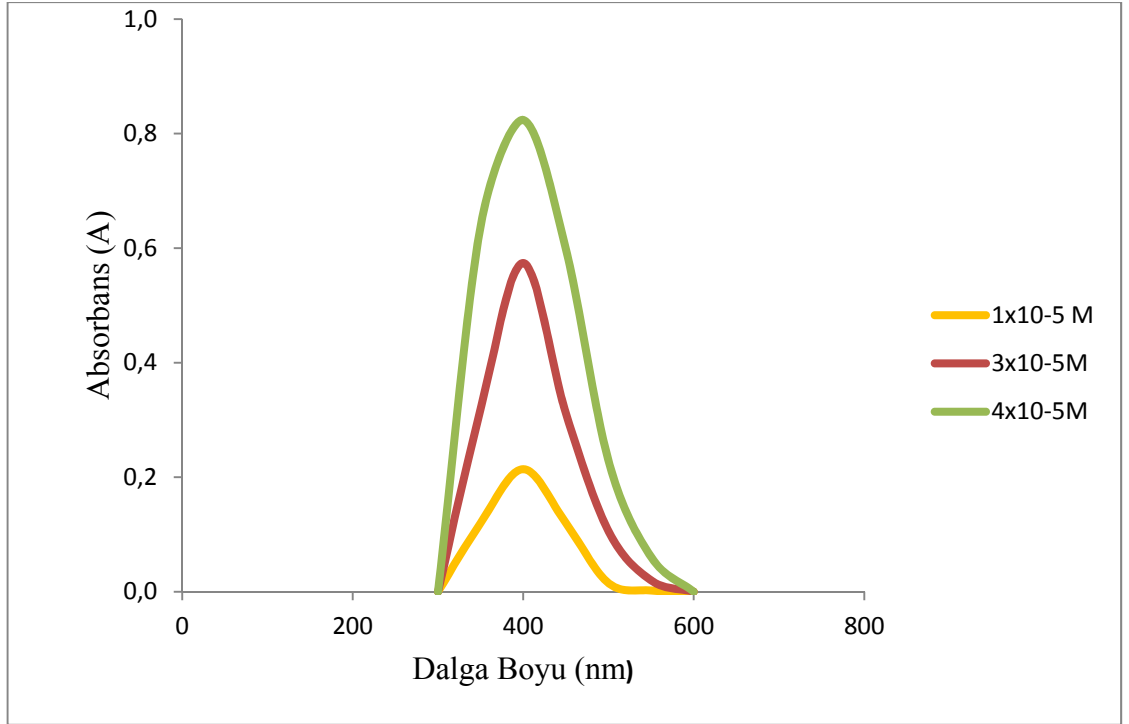
UV-Vis Spektrofotometresinde Kullanılan Standartlar:

Çalışmada Ponceau 4R derişimi $8,5 \times 10^{-7}$ - $8,5 \times 10^{-5}$ M aralığında, Sudan Orange G derişimi $2,34 \times 10^{-5}$ - $2,34 \times 10^{-3}$ M aralığında olan 9 adet standart kullanılmıştır.

3.3. Yöntem

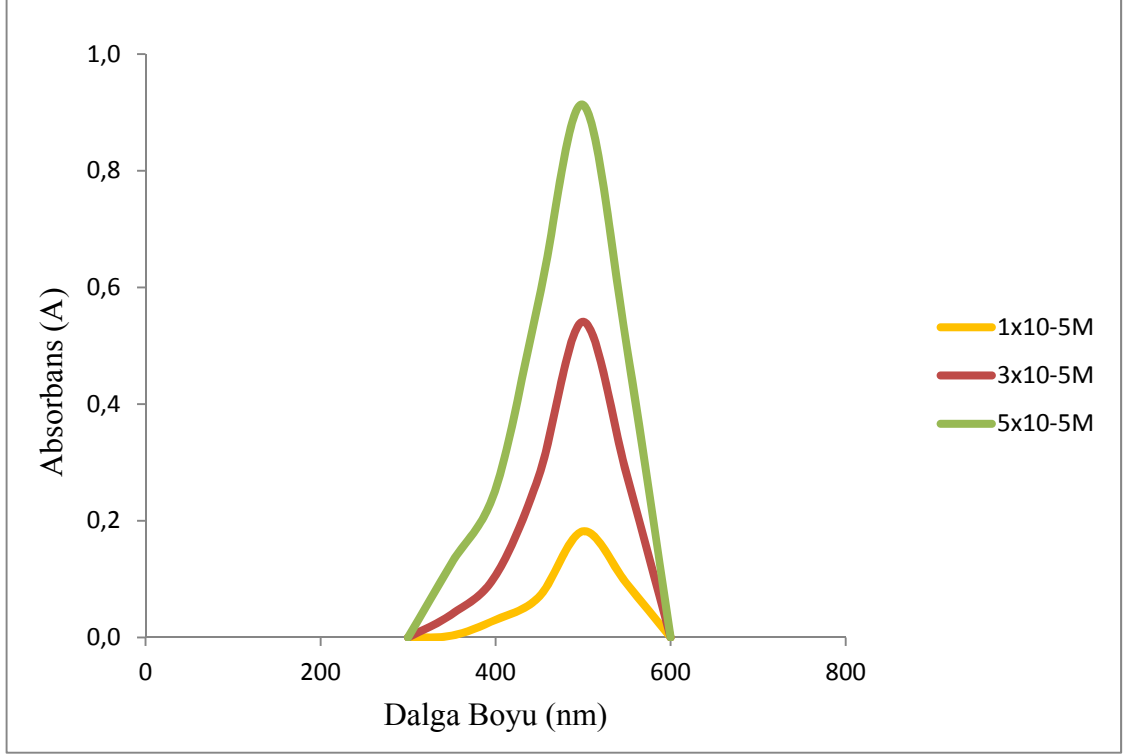
3.3.1. Sudan Orange G ve Ponceau 4R Boyalarının Dalgaboyu Taraması

Sudan Orange G boyasının spektrofotometrik tayinini gerçekleştirmek amacıyla çalışılması gereken dalga boyu tayin edilmiştir. Sudan Orange G boyası ile değişik derişimlerde ve 300-600 nm dalga boyu aralığında çalışılmıştır. Sudan Orange G için optimum dalga boyu 383,2 nm olarak bulunmuştur. Sonuçlar Şekil 3.4'te verilmiştir.



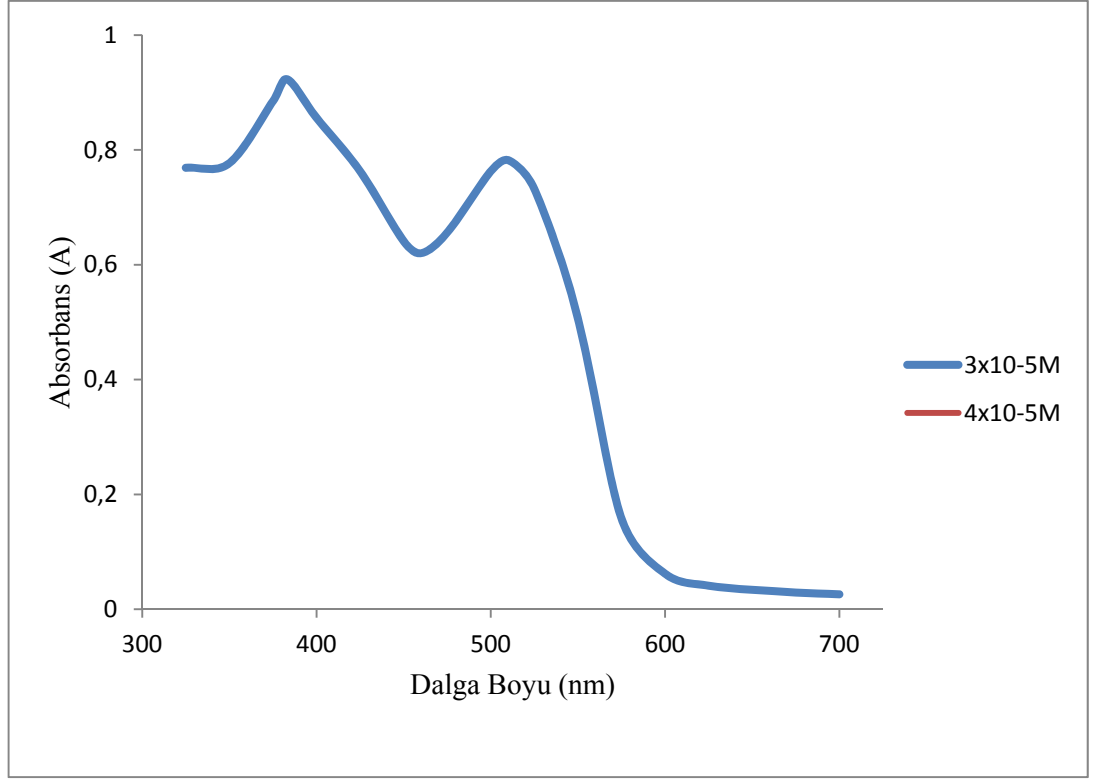
Şekil 3.4. Sudan Orange G Boyasının Dalga Boyu Taraması

Ponceau 4R boyasının spektrofotometrik tayinini gerçekleştirmek amacıyla çalışılması gereken dalga boyu tayin edilmiştir. Ponceau 4R boyası ile değişik derişimlerde ve 300-600 nm dalga boyu aralığında çalışılmıştır. Ponceau 4R için optimum dalga boyu 510,2 nm olarak bulunmuştur. Sonuçlar Şekil 3.5'te verilmiştir.



Şekil 3.5. Ponceau 4R Boyasının Dalga Boyu Taraması

Daha sonra iki boya karışımı ile 300-700 nm dalga boyu aralığında yapılan taramaya ait Sonuçlar Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.6. 4×10^{-5} M Ponceau 4R ve 3×10^{-5} M Sudan Orange G Boyası Karışımının Dalga Boyu Taraması

3.3.2. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Zenginleştirilmesi

Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaarı için deniz süngerı dolgulu kolonda geliştirilen zenginleştirme yönteminde 0,02 M HCl ve Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaarından oluşan model çözeltiler kullanıldı. Bu çalışmada ilk önce bir behere 200 µg Ponceau 4R ve 200 µg Sudan Orange G'den ilave edilerek saf su ile 25 mL'ye tamamlandı. Daha sonra örnekler kolondan geçirildi. Tutunan boya 10 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edildi. Her bir paraleli geçirirken kolon saf su ile temizlendi. Elüentteki Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaarı UV-Vis spektrofotometresi ile referanslara karşı okundu. Referanslar hazırlanırken 200 µg Ponceau 4R ve 200 µg Sudan Orange G alınarak pH 4,5 (asetat) tamponu ile 10 mL'ye tamamlandı.

3.3.3. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Zenginleştirme Yönteminin Optimizasyonu

Geliştirilen zenginleştirme yöntemiyle analit iyonlarının geri kazanma verimine, pH, HCl derişimi, örnek ve elüent akış hızları, elüent türü ve derişimi, örnek hacmi, matriks bileşenleri, deniz süngerı miktarı ve diğer boyaların etkisi incelendi. Geri kazanma verimi, yöntemin optimizasyonu için incelenen faktörlerin değerlendirilmesinde ölçüt olarak kullanıldı. Geri kazanma verimi;

$$\% \text{ Geri Kazanma (R)} = \frac{\text{Tayin ile bulunan derişim}}{\text{Teorik olarak hesaplanan derişim}} \times 100$$

şeklinde ifade edilir.

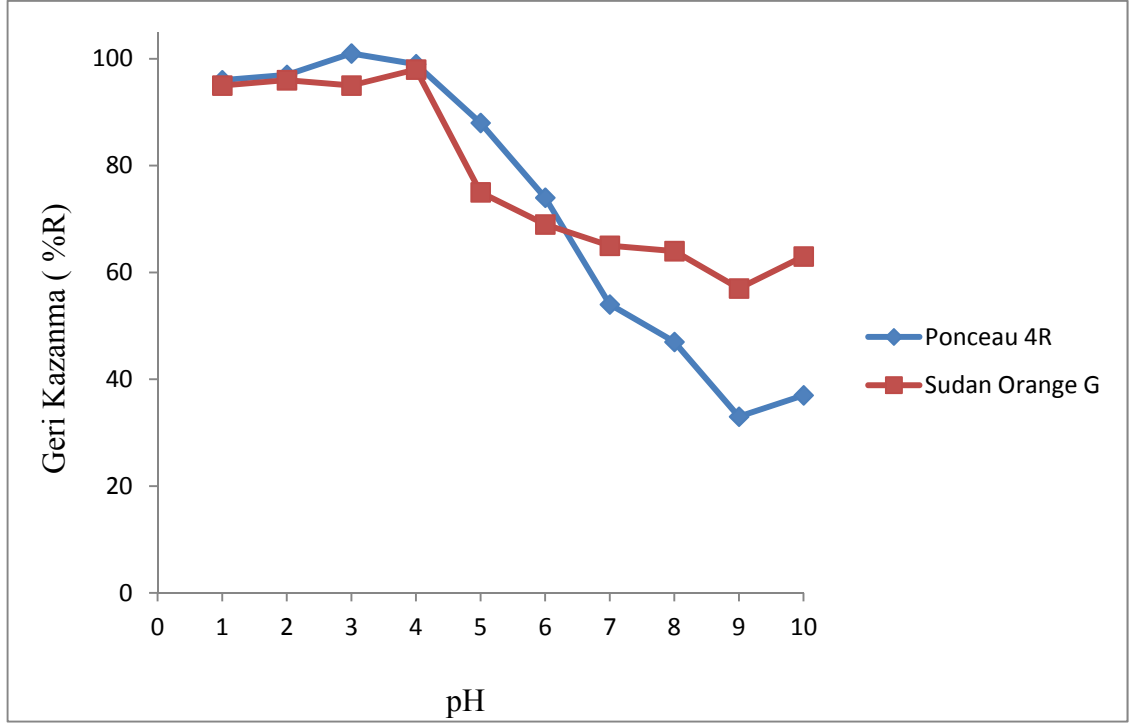
Deneysel olarak bulunan derişim değerinin teorik olarak hesaplanan derişim değerine bölünmesi ve 100 ile çarpılmasıyla % geri kazanma değerı hesaplanır. Aşğıda yöntemin optimizasyon işleminin anlatılmıştır.

4. BÖLÜM

BULGULAR

4.1. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına pH'nın Etkisi

Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyası karışımının kolonda tutunacağı optimum pH değerini belirlemek amacıyla pH değeri 2-10 olan çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çalışmada, behere 200 µg Ponceau 4R boyası, 400 µg Sudan Orange G boyası ve saf su ilave edilip asidik ve bazik bölgede tamponlar kullanılarak üçer paralel çalışma yapıldı. Daha sonra zenginleştirme işlemi uygulandı. Elüsyon için 10 mL pH 4,5 (asetat) tamponu kullanıldı. Ölçümler UV-Vis Spektrofotometresi ile alındı. Geri kazanma değerleri üç paralel çalışma sonucunun ortalaması alınarak hesaplandı. Geri kazanma verimlerinin pH ile değişimi Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

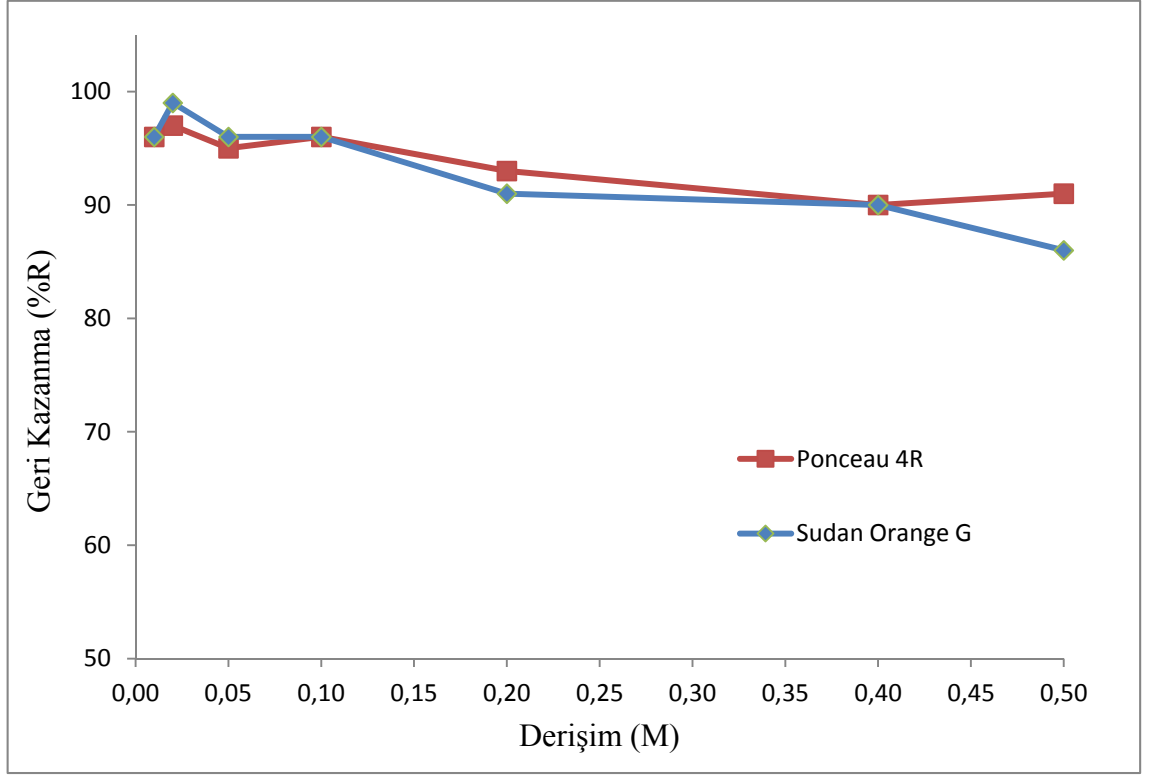


Şekil 4.1. Sudan Orange G ve Ponceau 4R Boyasının Geri Kazanılmasına pH'nın Etkisi (N= 3).

Tampon çözeltiler kullanılarak bulunan sonuçlara göre Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyası karışımı pH 1-4 arasında kantitatif (%R \geq 95) olarak geri kazanılmıştır.

4.2. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına HCl Derişiminin Etkisi

Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının geri kazanma değerlerine HCl derişiminin etkisi incelendi. Bu amaçla model çözeltilerde HCl derişimi 0,01-0,5 M aralığında olacak şekilde hazırlanarak yöntem uygulandı. Model çözeltiler 200 μ g Ponceau 4R boyasından, 400 μ g Sudan Orange G boyasından ilave edilerek hazırlandı. Model çözeltiler 10 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edilerek UV-Vis Spektrofotometresi ile absorbansları okundu. Sonuçlar Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Geri Kazanma Verimlerinin HCl İle Değişimi

Şekil 4,2'deki sonuçlara göre, Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyası karışımı 0,02 M HCl derişiminde kantitatif ($\%R \geq 95$) olarak geri kazanılmıştır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, HCl derişimi 0,02 M olarak belirlenmiştir.

4.3. Elüent Türü ve Hacminin Etkisi

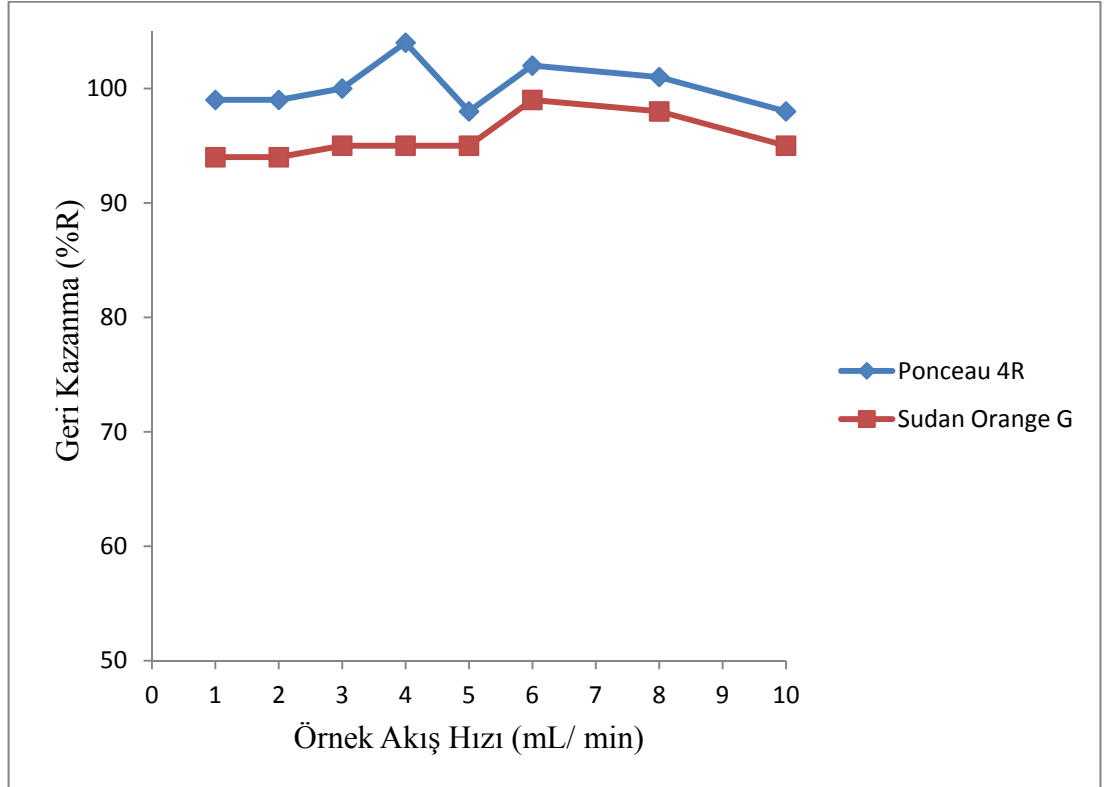
Deniz süngeri dolgulu kolonda tutunan boyaların kantitatif olarak geri kazanılması için uygun bir elüentin kullanılması gerekir. Model çözeltiler kolondan geçirildikten sonra elüent olarak 13 mL pH 4,5 (asetat) tamponu, 10 mL aseton, etil alkol, 1M asetik asit (CH_3COOH), pH 6 (fosfat tamponu), 1M NH_3 , 1M NaOH, pH 4,5 (asetat) tamponu ve 1M NaCl çözeltileri ve 5 mL 1M NH_3 , 2M NH_3 , 1M NaOH ve pH 4,5 (asetat) tamponu kullanılmıştır. Sonuçlar Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Elüent Türü ve Hacminin Etkisi (N=3)

Elüent Türü	Elüent Hacmi (mL)	Geri Kazanma (%R)	
		Ponceau 4R (510,2nm)	Sudan Orange G (383,2nm)
Aseton	10	9±1	52±7
1M NaCl	10	4±1	11±1
pH=6 tamponu (Fosfat tamponu)	10	24±4	6±1
1M Asetik Asit	10	4±1	14±3
Etil Alkol	10	22±1	53±3
pH =4,5 tamponu (Asetat tamponu)	10	100±0	99±1
pH =4,5 tamponu (Asetat tamponu)	5	50±1	81±4
pH =4,5 tamponu (Asetat tamponu)	13	99±1	98±1
1M NaOH	10	95±0	95±7
1M NaOH	5	76±2	98±0
2M NH ₃	5	108±1	91±1
1M NH ₃	10	89±1	87±2
1M NH ₃	5	2±0	4±1

4.4. Örnek Akış Hızının Etkisi

Örnek akış hızının geri kazanma değerlerine olan etkisini görebilmek amacıyla HCl derişimi 0,02M olan 25 mL hacmindeki model çözeltiler akış hızı 1,0-10,0 mL/min olacak şekilde kolondan geçirildi. Sonuçlar Şekil 4.3'te grafikte gösterilmiştir.

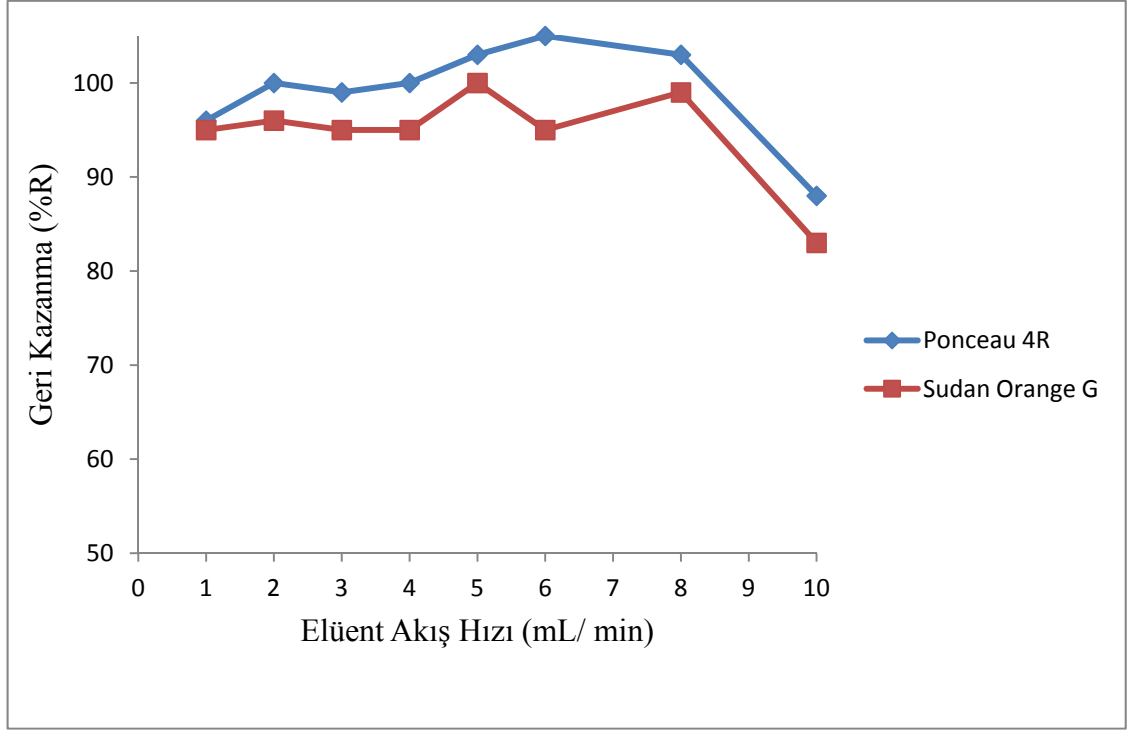


Şekil 4.3. Geri Kazanım Değerlerine Örnek Akış Hızının Etkisi (N=3)

Sonuçlar incelendiğinde, akış hızı 1,0-10,0 mL/min arasında Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının kantitatif olarak geri kazanıldığı görülmüştür.

4.5. Elüent Akış Hızının Etkisi

Kolonda tutunan Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının kantitatif olarak geri kazanılabilmesi için elüent akış hızının da iyi ayarlanması gerekir. Elüent akış hızının geri kazanma değerlerine olan etkisini görebilmek amacıyla elüent akış hızı 1,0-10,0 mL/min olacak şekilde kolondan geçirildi.

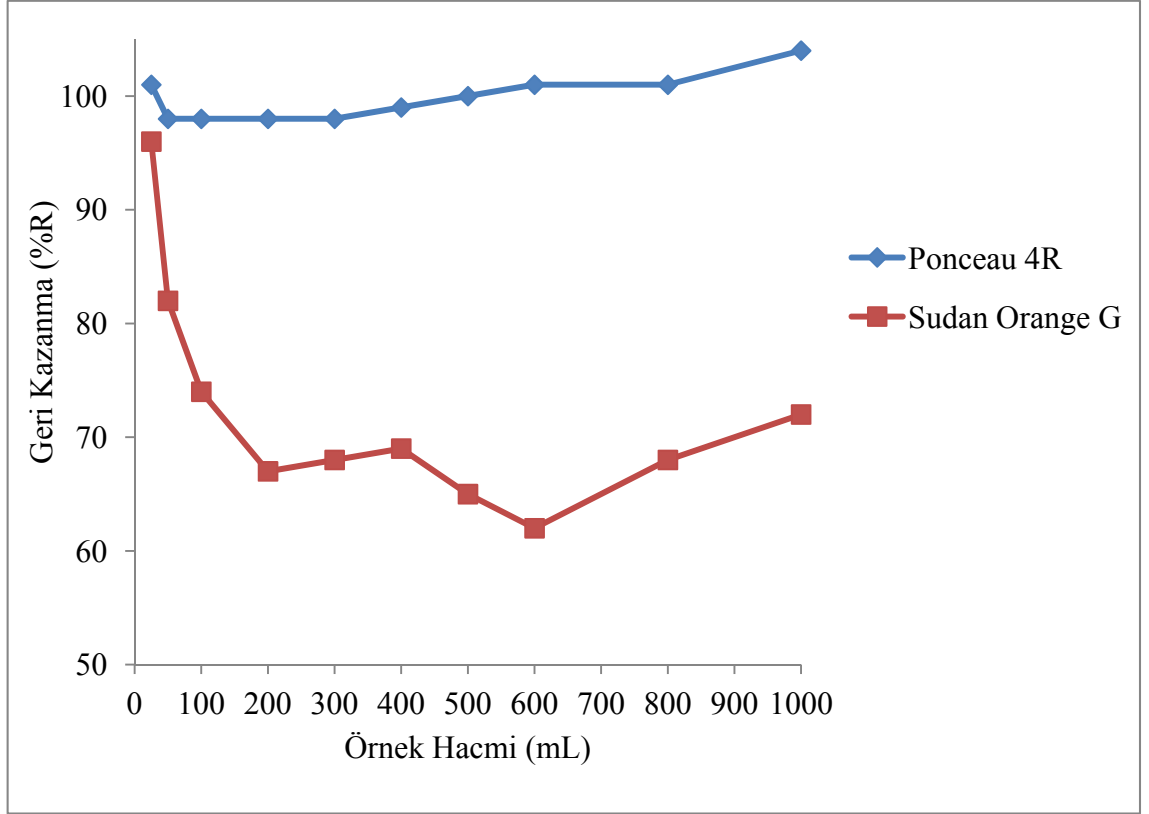


Şekil 4.4. Geri Kazanım Değerlerine Elüent Akış Hızının Etkisi (N=3)

Sonuçlar incelendiğinde, Ponceau 4R ve Sudan Orange G boya ları elüent akış hızı 1,0-8,0 mL/min arasında kantitatif olarak geri kazanılmıştır. 10,0 mL/min'de her iki boya için kantitatif bir sonuç alınamamıştır.

4.6. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Örnek Hacminin Etkisi

Örnek hacminin geri kazanıma olan etkisini incelemek amacıyla 200 µg Ponceau 4R boyası ve 400 µg Sudan Orange G içeren ve hacmi 25 ile 1000 mL arasında değişen model çözeltiler hazırlanarak zenginleştirme yöntemi uygulandı. Sonuçlar Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Geri Kazanım Değerlerine Örnek Hacminin Etkisi (N=3)

Sonuçlar incelendiğinde Ponceau 4R boyası hacimden etkilenmeyerek kantitatif ($\%R \geq 95$) olarak geri kazanılmıştır. Sudan Orange G boyası 25 mL'den sonra hacimden etkilenmiş ve kantitatif olarak geri kazanılamamıştır.

4.7. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Matriks İyonlarının Etkisi

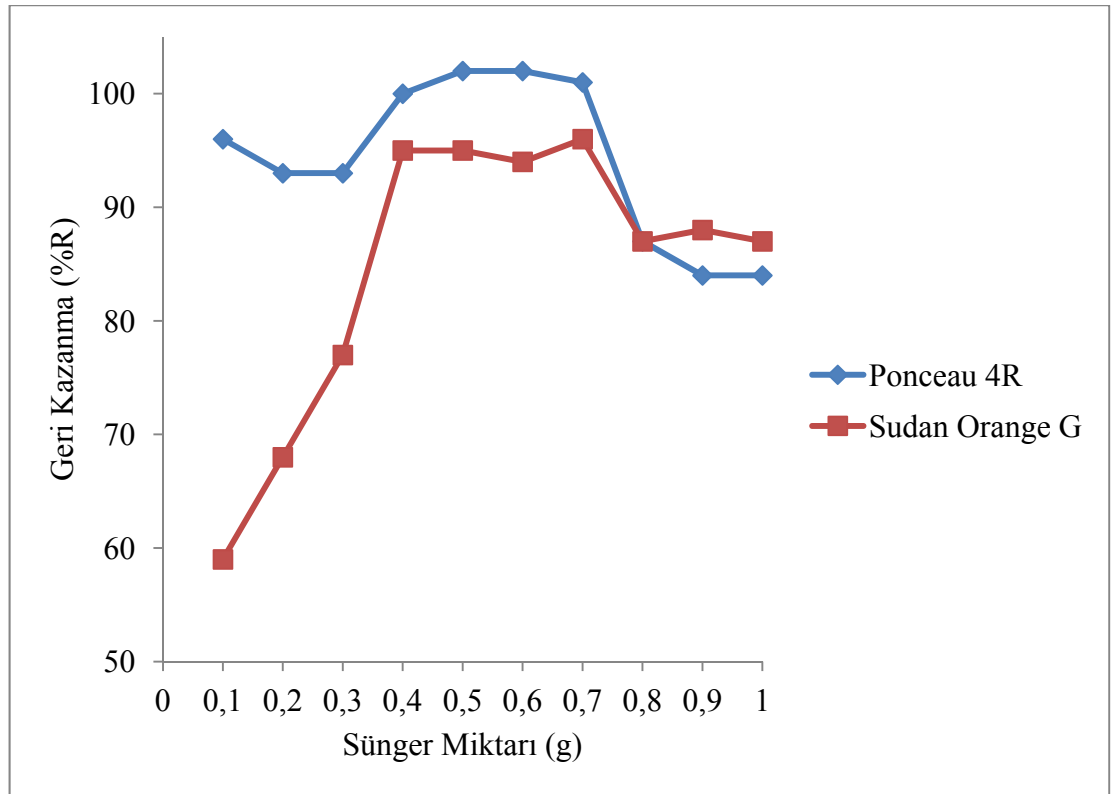
Yöntemde ortamda bulunabilecek alkali, toprak alkali, geçiş metali iyonlarının ve çeşitli anyonların geri kazanma değerlerine etkileri araştırılmış ve sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir. Çizelgeden de görüleceği üzere tolerans limitleri oldukça iyi düzeydedir. İncelenen bazı matriks iyonları için belirtilen konsantrasyonlarda kantitatif geri kazanma değerleri elde edilmiştir. Çeşitli matrix bileşenlerinin varlığında Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaları için geliştirilen yöntem ile iyi bir ayırma sağlanmaktadır.

Tablo 4.2. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Matrik İyonlarının Etkisi

İyon	Derişim (mg/L)	Eklendiği Madde	Geri Kazanma (%R)	
			Ponceau 4R (510,2nm)	Sudan Orange G (383,2nm)
Mg ²⁺	500	Mg(NO ₃) ₂	99±2	95±5
K ⁺	500	KCl	97±2	95±3
Ca ²⁺	1000	CaCl ₂	96±0	95±1
NO ₃ ⁻	2500	NaNO ₃	97±1	95±2
SO ₄ ²⁻	1000	Na ₂ SO ₄	97±4	95±2
PO ₄ ³⁻	2500	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	97±2	96±1
CO ₃ ²⁻	100	Na ₂ CO ₃	96±1	96±3
Co ²⁺	5	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	95±1	95±3
Cu ²⁺	5	Cu(NO ₃) ₂ .3H ₂ O	97±1	95±3
Fe ³⁺	5	Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	96±1	96±3
Cr ³⁺	5	Cr(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	99±2	97±3
Pb ²⁺	20	Pb(NO ₃) ₂	100±1	95±3

4.8. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Sünger Miktarının Etkisi

Katı faz ekstraksiyon işleminde deniz süngeri miktarının geri kazanıma etkisi incelendi. Sünger miktarı 0,1-1,0 g olacak şekilde kolon hazırlanarak zenginleştirme yöntemi uygulandı.



Şekil 4.6. Geri Kazanım Değerlerine Sünger Miktarının Etkisi (N=3)

Sonuçlar incelendiğinde 0,4-0,7 g aralığında deniz süngeri miktarı için her iki boya için kantitatif ($\%R \geq 95$) sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre 0,4-0,7 g arasındaki deniz süngeri miktarı iyi bir ayırma sağlamaktadır. Optimum deniz süngeri miktarı 0,5 g olarak belirlenmiştir.

4.9. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Diğer Boyaların Etkisi

Geliştirilen yöntemde Amarant, Chocolate Brown ve Brilliant Blue boyalarının geri kazanmaya etkisi incelendi. Daha sonra Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının absorbanları UV-Vis Spektrofotometresi ile okundu. Sonuçlar Tablo 4.3'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde Ponceau 4R boyası sadece Amarant'tan etkilenmiş ve kantitatif bir sonuç alınamamıştır. Sudan Orange G boyası diğer boyalardan etkilenmemiş ve kantitatif ($\%R \geq 95$) olarak geri kazanılmıştır.

Tablo 4.3. Ponceau 4R ve Sudan Orange G Boyalarının Geri Kazanılmasına Diğer Boyaların Etkisi (N=3)

Boyalar	Derişim (M)	Geri Kazanma (%R)	
		Ponceau 4R (510.2 m)	Sudan Orange G (383.2 nm)
Amarant	1.10^{-4}	157±1	99±1
Chocolate Brown	$9,6.10^{-5}$	107±3	97±1
Brillant Blue	$7,9.10^{-6}$	93±2	95±1

4.10. Gözlenebilme Sınırı

Gözlenebilme sınırının (GS) tayini için 15 paralel 25 mL kör çözelti hazırlandı. Bu kör çözeltilerle optimum şartlarda çalışmalar yapıldı. Son hacim 10 mL'ye tamamlandı ve standartlara karşı UV-Vis ile derişim değerleri tayin edildi. Kör değerlerin standart sapmasının üç katını esas alan gözlenebilme sınırı formülü aşağıda verilmiştir.

$$GS = X_{ort} + 3S_{k\ddot{o}r} / ZF$$

Burada X_{ort} 15 adet kör örneğin ortalamasını, $3S_{k\ddot{o}r}$ örneklerin standart sapmasının üç katını, ZF ise zenginleştirme faktörünü göstermektedir. Geliştirilen yöntemde, Ponceau 4R boyasının gözlenebilirlik sınırı 0,002 µg/L, Sudan Orange G boyasının gözlenebilirlik sınırı $1,9 \times 10^{-4}$ µg/L olarak hesaplanmıştır.

4.11. Gerçek Örneklerin Analizi

4.11.1. Ponceau 4R İçeren Örneğe Analit İlavesi

Analit ilavesi için bir adet katı örnek kullanıldı. Toz Kuşburnu içeceğinden 5 g alınarak saf su ile son hacim 50 mL olacak şekilde çözüldü. Bu çözültiden 3'er mL çekilip beherlere aktarıldı. Daha sonra örnekler sırasıyla her bir ilave için 3'er paralel olacak şekilde optimum şartlarda analit ilavesi yokken, 10 µg, 20 µg ve 40 µg Ponceau 4R boyasından analit ilavesi yapıldı. Optimum şartlar ayarlanarak örnekler kolondan geçirilip pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edilip 13 mL olacak şekilde tüpte toplandı. Daha sonra örnekler UV-Vis spektrofotometresi ile standartlara karşı okundu. Sonuçlar Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Ponceau 4R İçeren Örneğe Analit İlavesi (N=3)

Analit	Eklenen (µg)	Bulunan (µg)	Geri Kazanım (%R)
Ponceau 4R	0	11,6±1,4	–
	10	21,3±0	97±0
	20	30,9±0,3	97±2
	40	49,5±0,9	95±2

4.11.2. Ponceau 4R Boyası İçin Gerçek rneklerin Analizi

Bu yöntemde Ponceau 4R boyası içeren çeşitli toz içecek ve Şeker rneklerinin analizi gerçekleştirildi. Örnekler, Kayseri'deki çeşitli marketlerden alındı.

- Bu rneklerden Şeftali aromalı içecek tozu, meyve aromalı nane Şekeri ve aromalı akide Őekerinden her bir örnek için 5'er gram 5 tane (toplam 15 örnek) ayrı ayrı tartıldı. Daha sonra örnekler 50 mL'lik tüplerde saf su ile çözüldü. Daha sonra santrifüj yapılıp üstteki berrak kısımlardan 3'er mL çekildi ve örnekler beherlere aktarılıp optimum deneysel Şartlar ayarlanarak bu zeltiiler kolondan geçirildi ve 13 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edildi. Örnekler UV-Vis spektrofotometresi ile standartlara karşı okundu.
- Nar zl bir içecek örneğinden doğrudan 5 paralel olacak Şekilde 1'er mL çekildi. Daha sonra optimum deneysel Şartlar ayarlanarak zeltiiler kolondan geçirilip 13 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edildi. Örnekler UV-Vis spektrofotometresi ile standartlara karşı okundu.
- Kuşburnu aromalı içecek tozundan 5 tane ayrı ayrı 1'er gram tartıldı. Daha sonra örnekler 10 mL'lik tüplerde saf su ile çözüldü. Daha sonra santrifüj yapılıp üstteki berrak kısımdan 1'er mL alındı. Bunlar behere alınarak optimum deneysel Şartlarda olacak Şekilde zeltiiler kolondan geçirilip 13 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edildi. Örnekler UV- Vis spektrofotometresi ile standartlara karşı okundu.

Ponceau 4R içeren örneklerin derişimleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5. Ponceau 4R Boyası İçin Gerçek Örneklerin Analizi (N=5)

Ponceau 4R İçeren Katı Örnekler	Derişim ($\mu\text{g/g}$)
Şeftali Aromalı İçecek Tozu	127,5 \pm 4,2
Meyve Aromalı Nane Şekeri	6,4 \pm 0,7
Aromalı Akide Şekeri	33,2 \pm 4,3
Kuşburnu Aromalı İçecek Tozu	308,6 \pm 15,0
Ponceau 4R İçeren Sıvı Örnek	Derişim ($\mu\text{g/mL}$)
Sıvı Nar Aromalı İçecek	23,1 \pm 0,4

4.11.3. Sudan Orange G İçin Toz Biber Örneğine Analit İlavesi

Analit ilavesinde örnek olarak toz biber analizi kullanıldı. Toz biber örneğinden 20 g tartılıp, 250 mL'lik balon jodede saf su ile çözüldü. 50 mL'lik kısım alınarak selüloz nitrat membran filtreden süzüldü ve beherde toplandı. Bu kısımdan 1 mL alındı ve her biri için 3 paralel olacak şekilde örneklere ilavesiz ve 5 μg , 10 μg ve 20 μg Sudan Orange G boyasından analit ilavesi yapılarak optimum deneysel şartlarda yöntem uygulandı. 13 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edildi. Ölçümler UV-Vis spektrofotometresi ile gerçekleştirildi. Sonuçlar Tablo 4.6 'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Sudan Orange G İçin Toz Biber Örneğine Analit İlavesi (N=3)

Analit	Eklene (µg)	Bulunan (µg)	Geri Kazanım (%R)
Sudan Orange G	0	7,3±0,2	–
	5	12,1±0,2	94±4
	10	17,1±0,6	98±6
	20	27,1±0,9	99±5

4.11.4. Sudan Orange G İçin Gerçek Örneklerin Analizi

Geliştirilen yöntem kullanılarak bir adet biber salçası ve üç ayrı biber örneğinde Sudan Orange G analizi yapıldı.

- Biber salçası analizinde; 1'er g salça örneğinden 3 tane alınıp 50 mL'lik tüplerde saf su ile çözüldü. Elde edilen çözeltiliye optimum deneysel şartlar altında yöntem uygulandı ve 13 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüsyon yapıldı. Ölçümler UV-Vis spektrofotometresi ile yapıldı.
- Pul biber ve koyu renkli toz biber örneklerinden her bir örnek için 3 tane 1'er g alınıp 50 mL'lik tüplerde saf su ile örnekte bulunan boyanın çözülmesi sağlandı. Örnekler mavi bant süzgeç kağıdından süzüldü. Süzme işlemi bittikten sonra süzüntüden 5'er mL alınıp optimum deneysel şartlarda yöntem uygulandı. Daha sonra 13 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe edildi. Örnekler UV-Vis spektrofotometresi ile ölçüldü.
- Açık renkli toz biber örneğinden 1'er g 3 paralel alınıp 50 mL'lik tüplerde saf su eklenerek boyanın çözülmesi sağlandı. Örnekler mavi bant süzgeç kağıdından süzüldü. Süzme işlemi bittikten sonra üstteki kısımlardan 10'ar mL alınıp optimum deneysel şartlar altında yöntem uygulandı. 13 mL pH 4,5 (asetat) tamponu ile elüe

edildi. Örnekler UV-Vis spektrofotometresi ile ölçüldü. Sonuçlar Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7. Sudan Orange G İçin Gerçek Örneklerin Analizi (N=3)

Sudan Orange G İçeren Örnekler	Derişim ($\mu\text{g/g}$)
Salça Örneği	28,0 \pm 0,8
Pul biber örneği	155 \pm 13,9
Açık renkli toz biber örneği	93,6 \pm 4,2
Koyu renkli toz biber örneği	136,2 \pm 6,5

5. BÖLÜM

TARTIŞMA – SONUÇ VE ÖNERİLER

Zenginleştirme yöntemleri eser miktarda elementlerin ve maddelerin tayin edilmesinde kullanılan daha düşük analit derişimlerinin tayin edilebilmesi ve analitin matriks bileşenlerinden etkin bir biçimde ayrılması için kullanılan metotlardır. Diğer bir deyişle zenginleştirme yöntemlerinin esas amacı analiz maddesini girişim yapan maddelerden oldukça saf olarak ayırarak elde etmektir. Boyaların zenginleştirilmesi için sıkça kullanılan teknikler; katı faz ekstraksiyonu, iyon değiştirme, sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve bulutlanma noktası ekstraksiyonudur.

Bu çalışmada; çeşitli gıda örneklerinde bulunan Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının tayinini ve katı faz ekstraksiyonunu esas alan bir ayırma ve zenginleştirme yöntemi geliştirilmiş ve spektrofotometrik olarak tayini gerçekleştirilmiştir. Katı faz yani adsorban olarak deniz süngeri kullanıldı. Literatür bilgimize göre deniz süngeri boyaların ayrılması ve zenginleştirilmesi için ilk kez kullanılmıştır.

Yöntemin uygulanmasında Ponceau 4R'nin spektrofotometrik tayininde çeşitli toz içecek ve şeker örnekleri kullanılmıştır. Sudan Orange G boyasının spektrofotometrik tayininde biber salçası, pulbiber ve toz biber örnekleri kullanılmıştır. Ayrıca Ponceau 4R ve Sudan Orange G'nin spektrofotometrik tayini için uygun ortam şartları model çözeltiler kullanılarak optimize edilmeye çalışılmıştır. Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaları karışımının deniz süngeri üzerinde kolonda tutunması sağlanmış ve pH 4,5 tamponu ile elüsyon işlemi yapılmış, çözeltide bulunan Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaları UV/Vis spektrofotometresi ile kantitatif olarak tayin edilmiştir.

Geliştirilen bu zenginleştirme yönteminde incelenen analitik parametreler; pH, elüent türü, derişimi ve hacmi, örnek ve elüent akış hızı, HCl derişimi, örnek hacmi, sünger miktarı, diğer boyaların etkisi ve matriks etkileridir.

Analitin kantitatif tayinleri için analitik kriter olarak % 95 geri kazanma değeri alt sınır olarak belirlenmiş, geri kazanma (% R) değeri yöntemin optimizasyonu için incelenen faktörlerin değerlendirilmesinde ölçü olarak kullanılmıştır. Geri kazanma değeri; model çözeltilerin absorbands değerinin referans çözeltiler için okunan absorbands değerine oranı alınarak bulunmuştur.

Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının spektrofotometrik tayinini gerçekleştirmek amacıyla dalga boyu taraması yapılmıştır. Bunun için Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaları ile farklı derişimlerde ve 300-600 nm dalga boyu aralığında çalışılmıştır. Ponceau 4R için optimum dalga boyu 510,2 nm bulunurken, Sudan Orange G için 383,2 nm olarak bulunmuştur.

Katı faz ekstraksiyonu çalışmalarında analitin kolonda tutunması pH aralığına bağlı olduğundan dolayı, analitin kolonda tutunması için önce pH'nın etkisi pH 2-10 aralığında tampon çözeltiler kullanılarak incelenmiştir. Geri kazanma değerlerinin pH ile değişimi Şekil 4.1 'de verilmiştir. Bu çalışmada model çözeltilere eklenen Ponceau 4R miktarı 200 µg, Sudan Orange G miktarı ise 400 µg'dir. Elde edilen sonuçlara göre Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyası karışımı pH 1-4 arasında kantitatif (%R ≥ 95) olarak geri kazanılmıştır.

Deniz süngeri dolgulu kolonda Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının tutunmasına elüent türü ve derişiminin etkisini araştırmak için çeşitli çözeltiler kullanılmıştır. Ponceau 4R ve Sudan Orange G için hesaplanan geri kazanma değerleri Tablo 4.1 de verilmiştir. Tablodan görüldüğü gibi Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaları 10 mL ve 13 mL pH 4,5 tamponu, 10 mL 1 M NaOH çözeltisi ile kantitatif olarak geri kazanılmıştır. Ancak 10 mL aseton, asetik asit, sodyum klorür, amonyak, etil alkol, asetat tamponu ve fosfat tamponu kullanıldığında ise kantitatif bir sonuç alınamamıştır. Ayrıca, 5 mL 1M NaOH kullanıldığında ise Sudan Orange G boyası kantitatif olarak geri kazanılırken; 5 mL 1M NH₃, 2M NH₃, 1M NaOH ve pH = 4,5 (asetat) tamponu kullanıldığında her iki boya da kantitatif olarak geri kazanılamamıştır.

Tampon çözeltiler kullanılarak yapılan pH taramasında her iki boyanın da asidik bölgede geri kazanıldığı görülmüştür. Bu nedenle HCl' in etkisi incelenmiştir. 0,01-0,5 M aralığında HCl derişimi taraması yapıldı. Şekil 4.2'deki sonuçlara göre, Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyası karışımı 0,02 M HCl derişiminde kantitatif (%R \geq 95) olarak geri kazanılmıştır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, HCl derişimi 0,02 M olarak belirlenmiştir.

Yöntemin uygulama basamaklarında en zaman alıcı kısmı örneğin kolondan geçme ve elüe edilme zamanıdır. Bu sürelerin uzunluğu yöntemin performansı ile doğrudan ilgilidir. Bu amaçla optimum şartlarda hazırlanan model çözeltiler 1,0-10,0 mL/min arasında değişen hızlarda kolondan geçirilmiştir. Şekil 4.3'te verilen sonuçlara göre örnek akış hızı 1,0-10,0 mL/min aralığında Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyları kantitatif olarak geri kazanılmıştır.

Elüent akış hızının Ponceau 4R ve Sudan Orange G'nin geri kazanılmasına etkisi 1,0-10,0 mL/min aralığında incelenmiştir. Şekil 4.4' te verilen sonuçlara göre 1,0-8,0 mL/min arasında Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyları kantitatif olarak geri kazanılırken, 10 ml/min akış hızında her iki boya için kantitatif bir sonuç alınamamıştır.

Örnek hacmi, yüksek zenginleştirme faktörü elde edebilmek için önemli bir parametredir. Örnek hacminin geri kazanmaya etkisi 25-1000 mL aralığında incelenmiş, Şekil 4.5'de verilen sonuçlar elde edilmiştir. Ponceau 4R boyası hacimden etkilenmeyerek kantitatif olarak geri kazanılmıştır. Ancak Sudan Orange G boyası için 25 mL'de sonuçlar kantitatif iken, 25 mL'den sonra hacimden etkilenmiştir.

Ponceau 4R ve Sudan Orange G boylarının bulunduğu model çözelti ortamında farklı olarak girişim yapan türler içermektedir. Girişim yaptığı düşünölen bu türler model çözeltilere eklenmiş ve ortamda bulunabilecek alkali, toprak alkali ve geçiş metal iyonlarının, geliştirilen katı faz ekstraksiyonu yöntemiyle zenginleştirilen analitlerin geri kazanma değerlerine etkileri araştırılmış sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir. Tablodan da göröleceği üzere tolerans limitleri oldukça iyi düzeydedir. İncelenen tüm iyonlar için kantitatif geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Ayrıca boyaların kantitatif olarak geri kazanılması için kullanılan sünger miktarda önemli bir faktördür. Sünger miktarı 0,1-1,0 g olacak şekilde kolon hazırlanarak model çözeltiler kolondan geçirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.6'da verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde deniz süngeri miktarı 0,4-0,7 g aralığında her iki boya kantitatif ($\%R \geq 95$) olarak geri kazanılmıştır. Optimum deniz süngeri miktarı 0,5 g olarak belirlenmiştir. Çalışmalarda 0,5 g deniz süngeri kullanılmıştır.

Diğer bir çalışmada Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının geri kazanılmasına Amarant, Chocolate Brown ve Brilliant Blue boyalarının etkisi incelendi. Sonuçlar Tablo 4.3'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde Ponceau 4R boyası sadece Amarant'tan etkilenmiş ve kantitatif bir sonuç alınamamıştır. Sudan Orange G boyası diğer boyalardan etkilenmemiş ve kantitatif ($\%R \geq 95$) olarak geri kazanılmıştır.

Analit iyonlarının gözlenebilme sınırının tayini için 15 paralel 300 mL kör örneğe geliştirilen yöntem uygulanmış, son hacim 10 mL ye tamamlanarak standartlara karşı UV/Vis spektrofotometresi ile absorbans değerleri tayin edilmiştir. Kör değerlerin standart sapmasının üç katını esas alan gözlenebilme sınırı değeri hesaplanmıştır. Gözlenebilme sınırı değeri; Ponceau 4R için 0,002 $\mu\text{g/L}$, Sudan Orange G boyasının gözlenebilme sınırı 1,9 $\times 10^{-4}$ $\mu\text{g/L}$ olarak hesaplanmıştır.

Gerçek örnek çalışmalarında, farklı toz içecekler ve şekerler ile Ponceau 4R miktarları saptanırken; biber salçası, pul biber ve toz biber analizlerinde Sudan Orange G miktarları belirlenmiştir. Elde edilen değerler Tablo 4.5 ve Tablo 4.7' de verilmiştir. Ayrıca, yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyaları için analit ilavesi yapılmıştır. Elde edilen değerler Tablo 4.4 ve Tablo 4.6' da verilmiştir.

Bu çalışma ile elde edilen sonuçlara göre, bu yöntemin yalnızca ayırma yöntemi olarak değil, değişik örneklerden Ponceau 4R ve Sudan Orange G boyalarının geri kazanılarak elde edilmesi amacıyla kullanılabilmesi düşünülebilir. Deneysel işlemler sonucunda; geliştirdiğimiz yöntemin bir ayırma- zenginleştirme yöntemi olduğu belirlenmiştir.

6. KAYNAKLAR

1. Çakmakçı, S., Çelik, İ., Gıda Katkı Maddeleri Ders Kitabı, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, s.11-12, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 2004.
2. Altuğ, T., Gıdalarda Katkı Maddeleri Ders Kitabı, s.179-181, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, 2006.
3. Saldamlı, İ., Gıda Katkı Maddeler ve İngrediyenler, s.14-26, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 1985.
4. Çakmakçı, S., Çelik, İ., Gıdalarda Katkı Maddeleri Ders Notu, s.42-68, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum, 1995.
5. Saldamlı, İ., Gıda Kimyası Dersi, s. 489-495, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği, Ankara, 1998.
6. Gül, İ., Gıda Katkı Maddeleri, Ön Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Meslek Yüksek Okulu, Bursa, 2004
7. Soylak, M., Elci, L., Dogan, M. Solid phase extraction of trace metal ions with amberlite XAD resins prior to atomic absorption spectrometric analysis. Journal of Trace and Microprobe Techniques, 19 (3), 329-344, 2001.
8. Narin, İ., Soylak, M., Kayakirilmaz, et al., Speciation of Cr (III) and Cr (VI) in tannery wastewater and sediment samples on amborsorb 563 resin. Analytical Letters, 35, 1437-1452, 2002.
9. Yetim, H., Keshen, Z., Gıda Analizleri Ders Kitabı, s.221-222, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2009.
10. Yetim, H., Gıda Analizleri Ders Notu, s. 139, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 2002.
11. Başer, İ., İnanıcı, Y., Boyar Madde Kimyası, 026113, Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi Matbaa Birimi, Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi, İstanbul, 7, 1990.
12. Akgün, M.K., Gıda Boyalarının Türev Spektrofotometrik Yöntem ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2, 2001.
13. Tunçgenç, M., Boya Teknolojisine Giriş, Akzo Nobel Kemipol A.Ş Yayınları, 1, 2004.
14. Kocaokutgen, H., Boyar Madde Kimyası Ders Notları, s.1-2, Ondokuzmayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Samsun, 2008.

15. Uргуiza, MP., Beltran, JL., Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 898, 271–275, 2000.
16. Walford, J., Historical development of food colouration, *Developments in food colours*, Applied Science Publishers Ltd., 1, 1-25, London, 1980.
17. Erdoğan, Ş., Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Bazı Gıdalarda Sentetik Boya Miktarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4, 2007.
18. Macrae, R., Robinson, RK., Sadler, MJ., *Encyclopaedia of Food Science (Vol. II), FoodTechnology and Nutrition*, Academic Press, San Diego, 1993.
19. Christine, R.M., Mather, R.R., Wardman, R.H., *The Chemistry of the Clour Application*, Blackwell Science, 270-271, 2000.
20. Bulduk, S., *Gıda Teknolojisi*, Detay Yayıncılık, s. 257-259, Ankara, 2, 2004.
21. Yırtıcı, Ü., Tartrazinin *Cyprinus Carpio*'daki Genotoksik Etkisinin Mikronükleus Yöntemi ile Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2007.
22. Giovine, L.D., Bocca A.P. Determination of synthetic dyes in ice-cream by capillary electrophoresis. *Food Control*, 14, 131-135, 2003.
23. Sasaki, Y.F., Satomi, K., Asako, K., et al., The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 519, 103–119, 2002.
24. Fuh, M.R., Chia, K.J., Determination of sulphonated azo dyes in food by ionpair liquid chromatography with photodiode array and electrospray mass spectrometry detection, 56, 663–671, *Talanta*, 2002.
25. Boeninnger, M., *The Carcinogenicity and Metabolism of Azo Dyes Especially Those Derived from Benzidine*, U.S. Department of Health and Human Services, National Institute for Occupational Safety and Health, 80-119, 1980.
26. Berzas, N.J.J., Guiberteau, C.C., Salcedo, C., Simultaneous spectrophotometric determination of three food dyes by using the first derivative of ratio spectra, 42, 2043–2051, *Talanta*, 1995.
27. FDA. Compliance program guidance manual. <http://fda.gov/downloads/Food/GuidanceComplianceRegulatoryinformation/ComplianceEnforcement/ucm073305.pdf>[accessed December 2010], 10.

28. Valdemir, V., et al., "Dyes and Pigments 92" 563-572, 2011.
29. Ishimitsu, S., et al., Comparison of estimated production of coal-tar dyes in Japan and USA. Food Sanit Res. 48(5), 33-40 (In Japanese), 1998.
30. S, Sayar., Y, Özdemir., Food Chemistry 61(3), (367). 1998
31. Francis, F. J., Pigments and other colourants, In Food Chemistry, ed. O.R. Fennema. Marcel Dekker, New York, pp. 545±546, 1985.
32. EFSA. Scientific opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E124) as a food additive. [http:// www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/1328.htm](http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/1328.htm). [accessed December 2010]
33. Ponceau 4R. [http:// en.wikipedia.org/ wiki/ E124](http://en.wikipedia.org/wiki/E124) [accessed December 2010]
34. Noonan, J.E., and Meggos, H., Synthetic food colours in Handbook of Food Additives. 2nd edn. Vol.2, ed.T.E.Furia. CRC Press, Boca Raton, FL, pp.339-383, 1980.
35. <https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/63bd0b02-41e0-4560-86c5-055140cac509.pdf?returnURL=/Search>
36. Vilarinho, E.C., J. Econ, Entomolpp., et al., pp. 2110-2115, PMID: 17195680, 99, 2006.
37. Sun, H.W., et al., Journal of Chromatogr A, pp. 120-128, PMID: 17692322, 1164, 2007.
38. Okada, J., et al., Contact Dermat, 313, 25 (1991).
39. Cornet, V., Govaert, Y., Moens, G., Loco, J.V., Degroodt, J.M., J. Agric Food Chemistry, 639, 54 (2006).
40. About fiscal marking of fuels in European Union, <http://www.euromarker.com/>.
41. Lembecke, B., Braden, B., Stein, J., Zeitschrift für Gastroenterologie 256, 32 (1994).
42. Commission decision of 23 May 2005 on emergency measures regarding chilli products, curcuma and palm oil. (2005/402/EC) L135/34 Official Journal of the European Union.
43. Gagliardi, L., et al., J. Chmatogr, 345, 394 (1987).
44. Sun, H., Wang, F., Ai, L., Journal of Chmatogr A, 120-128, 1164 (2007).

45. Sosted, H., et al., Contact Dermatitis, 241, 51(2004).
46. Cesur, H., Enstrumental Analiz Ders Notları, s. 61-62, Ondokuzmayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Samsun, 2008.
47. Kars, A., Doğal Örneklerdeki Bazı Eser Metal İyonlarının Birlikte Çöktürme Yöntemiyle Zenginleştirilmesi Ve AAS ile Tayinleri, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2007.
48. Divrikli, Ü., İdrarlarda İyodun Spektrofotometrik Tayinleri , Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 1997.
49. Mincezwesk, J., Chwastowska, J., Dybesynski, R., Separation and Preconcentration Method Inorganic Trace Analysis, Ellis Horwood Ltd. New York, Chichester, 1982.
50. Saraçoğlu, S., Katı Faz Özütleme (Ekstraksiyon) Yöntemiyle Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2002.
51. Sarıkaya, Y., Fizikokimya Ders Kitabı, s.299-300, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Ankara, 2004.
52. Beler, E.M., Eser Elementin Ayrılmasında Bulutlanma Noktası Ekstraksiyon Yönteminin Uygulanması, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2007.
53. Carabias - Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Moreno-Cordero, B., et al., Surfactant cloud point extraction and preconcentration of organic compounds prior to chromatography and capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, 902(1), 251-265, 2000.
54. Karatepe, A., Chromosorb - 105 Reçinesi ve Membran Filtre Kullanılarak Bazı Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi ve Türlemesi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2006.
55. Aydın, A., Bazı Metallerin Tayinleri Öncesi Birlikte Çöktürme İle Zenginleştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi , Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2010.
56. DeVries, R.C., Synthesis of Diamond Under Metastable Conditions, Annual Review of Materials Science, 17, 161-187, 1987.

57. Duran, A., AAS İle Tayin Öncesi Bazı Ağır Metallerin Zenginleştirilmesi Ve Türlelendirmesi, Doktora Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, 2010.
58. Fritz, JS., Analytical Solid Phase Extraction , Wiley-VCH , 2-14, New York, 1999.
59. Aydın, F., Birlikte Çöktürme ve Katı Faz Özütlemesi İle Bazı Ağır Metal İyonlarının Zenginleştirilmeleri, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2008.
60. Yavuz, O., Aksoy, A., Örnek Hazırlamada Katı Faz Ekstraksiyonu Metodu. F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi, 20(3), 259-269, 2006.
61. Soylak, M., Unsal, Y.E., Yılmaz E., et al. Determination of rhodamine B in soft drink, waste water and lipstick samples after solid phase extraction. Food and Chemical Toxicology, 49 (8), 1796-1799, 2011.
62. Soylak, M., Unsal, Y.E., Tuzen, M., Spectrophotometric determination of trace levels of allura red in water samples after separation and preconcentration. Food and Chemical Toxicology, 49 (5), 1183-1187, 2011.
63. Gaunt, IF., Farner, M., Grasso, P., Gangolli SD Acute (Mouse and rat) and short term (rat) toxicity studies on Ponceau 4R. Food Cosmet. Toxicol, 5, 187-194, 1967.
64. Brantom, PG., Stevenson, BI., Wright MG Long-term toxicity study of Ponceau 4R in rats using animals exposed in utero. Food Chem. Toxicol, 25, 955-962, 1987a.
65. Brantom, PG., Stevenson, BI., Ingram, AJ A., three-generation reproduction study of ponceau 4R in the rat. Food Chem. Toxicol, 25, 963-968, 1987b.
66. Bueno, M.J.M., et al., Determination of malachite green residues in fish using molecularly imprinted solid phase extraction followed by liquid chromatography-linear ion trap mass spectrometry, Analitica Chimica Acta, 665, 47-54, 2010.
67. Meyer, O., Hansen, EV., A study of the embryotoxicity of the food colour Ponceau 4R in rats. Toxicology, 5, 201-207, 1975.
68. Anibal, C., Odena, M., Ruisánchez, I., et al., Determining the adulteration of spices with Sudan I-II-III-IV dyes by UV-Visible spectroscopy and multivariate classification techniques. Talanta; 79, 887-892.

69. Zhang, Y., Zhang, X., Lu, X., et al., Multi-wall carbon nanotube film based electrochemical sensor for rapid detection of Ponceau 4R and allura red. Food chemistry, 122, 909-913, 2010.
70. Dinç, M., Gıdalara Katılan Bazı Suda Çözünen Sentetik Boyaların Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ, 2007.
71. Turabik, M., Adsorption of basic dyes from single and binary component systems onto bentonite: simultaneous analysis of basic red 46 and basic yellow 28 by first order derivate spectrophotometric analysis method. Journal of hazardous materials, 158, 52-64, 2008.
72. Tekeli, T.H., Bazı Gıdalarda Azorubine, Ponceau 4R ve Brilliant Blue'nun Spektrofotometrik Yöntemle Yanyana Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul, 2008.
73. Yaman, M., Enstrumental Analiz Ders Notları, s.4, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 2012.
74. Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Enstrümental Analiz Laboratuvar Föyü, s,1-2, Kayseri, 2007.
75. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., Enstrümental Analiz (1.Basım), Bilim Yayıncılık, Kılıç E., Köseoğlu F., Yılmaz H., Ankara, 300, 329, 1998.
76. Solomons, G., Fryle, Craig., Okay, G., Yıldırım, Y., Organik Kimya, Literatür Yayınları, 7, 591-593, 2010.
77. WEB_3. [http://w3.gazi.edu.tr/~mkaracan/enstrumental/Ultraviyole%20\(morotesi\).ppt](http://w3.gazi.edu.tr/~mkaracan/enstrumental/Ultraviyole%20(morotesi).ppt), Gazi Üniversitesi, Ankara, 2007
78. Özen, G., Farmasötik Kremlerde UV Türev Spektrofotometresi ve Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Yöntemleri ile izokonazol Nitrat ve Diflukortolon Valerat Miktar Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2009.
79. Kızıl, N., Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Bazı Metal Tayinleri Öncesi Birlikte Çöktürme ile Zenginleştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 21,43. (06.13.2011), Kayseri, 2010.

80. I. Eser Analiz alıştayı (Es An-2010) Bildiri zetleri, Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Denizli, 30, 2010.
81. Ercan, ., Bakır (II) İyonunun KatıFaz Ekstraksiyonu-AAS Kombinasyonu ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2008.
82. Karatepe, A., Soylak, M., Sea Sponge as a Low Cost Biosorbent for Solid Phase Extraction of Some Heavy Metal Ions and Determination by Flame AAS, Journal of AOAC International, (Baskıda)

ÖZGEÇMİŞ

Çağrı AKALIN 1985 yılında Elazığ'da doğdu. İlkokulu Sakarya Necdet İslar İlköğretim Okulunda, Ortaokulu Sakarya Mithat Paşada tamamladı. 1999-2003 yılları arasında Tarsus Cumhuriyet Lisesinde (YADAL) okudu. 2005 yılında kazandığı Ondokuzmayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl içinde başladığı Tezsiz Yüksek Lisansı 2010 yılında tamamladı. 2010 yılında Nevşehir Ünivesitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. Henüz bir yerde göreve başlamadı.

Adres : Tarsus / MERSİN

Telefon : 0537 703 90 08

0546 954 18 53

e- posta : cakalin33@ hotmail.com

