

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İLAC MATERYALLERİNDE SPEKTROFOTOMETRİK
YÖNTEMLERLE RENKLENDİRİCİLERİN BİRARADA
TAYİNLERİ**

MERVE TARHAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ANORGANİK KİMYA PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. MAHMURE ÜSTÜN ÖZGÜR**

İSTANBUL, 2012

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İLAC MATERYALLERİNDE SPEKTROFOTOMETRİK
YÖNTEMLERLE RENKLENDİRİCİLERİN BİRARADA
TAYİNLERİ**

MERVE TARHAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ANORGANİK KİMYA PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. MAHMURE ÜSTÜN ÖZGÜR**

İSTANBUL, 2012

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İLAC MATERYALLERİNDE SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE
RENKLENDİRİCİLERİN BİRARADA TAYİNLERİ**

Merve TARHAN tarafından hazırlanan tez çalışması 15.10.2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Anorganik Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

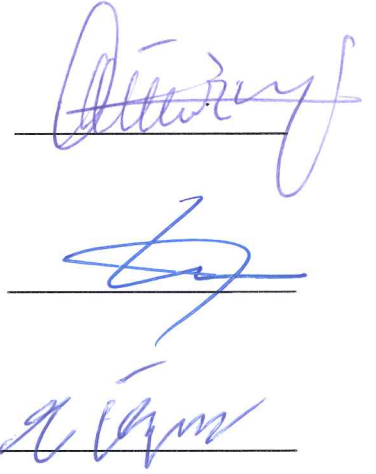
Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Nebahat DEMİRHAN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Metin ÖZER
Yıldız Teknik Üniversitesi



ÖNSÖZ

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince, bana yol gösteren, derin kimya bilgisi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren ve her türlü imkanı sağlayan, bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR'e, Çalışmalarım süresince yardımlarıyla beni sürekli destekleyen, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan arkadaşım Öznur DÜLGER'e,

Ayrıca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, sabırları ve destekleriyle tüm öğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda olan çok sevdiğim aileme,

Sonsuz teşekkürler...

Ağustos, 2012

Merve TARHAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	ix
KISALTMA LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xv
ÖZET	xix
ABSTRACT	xxi
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	1
1.3 Bulgular	2
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİ	4
2.1 Giriş	4
2.2 Gıdalarda ve Farmasötiklerde Rengin Önemi	4
2.3 Renklendiricilerin Sınıflandırılması	5
2.3.1 Doğal Renklendiriciler	6
2.3.1.1 Organik Doğal Renklendiriciler.....	6
2.3.1.2 İnorganik Doğal Renklendiriciler	7
2.3.2 Yapay Renklendiriciler	9
2.3.2.1 Suda Çözünen Yapay Renklendiriciler	9
2.3.2.2 Yağda Çözünen Yapay Renklendiriciler	10
2.3.2.2 Lake Renklendiriciler	10
2.4 Sertifikalı ve Sertifikasız Gıda Boyaları.....	11
2.4.1 Sertifikalı Renk Maddeleri	11

2.4.2	Sertifikasız Boya Maddeleri	13
2.5	Avrupa Birliğinde Gıda Renklerinin Düzenlenmesi	13
2.5.1	"E" Numaralarının Anlamları	13
2.5.2	Renklendiricilerin verdikleri renkler	14
2.6	Teknolojik Değerlendirmeler	15
2.7	Doğal Renklendiricilerin Üretim Metotları	15
2.7.1	Öğütme Yöntemi	15
2.7.2	Ekstraksiyon Yöntemi	15
2.8	Renklendiricilerin Kullanım Alanları	16
2.8.1	Alkolsüz İçecekler	16
2.8.2	Fırın Ürünleri.....	16
2.8.3	Süt Ürünleri	17
2.8.4	Şekerleme Ürünleri.....	17
2.8.5	Kuru Karışım Ürünleri	17
2.8.6	Et ve Balık Ürünleri	18
2.8.7	Konserve Meyve ve Sebzeler	18
2.8.8	Tabletler, Şuruplar ve Kapsüllerde	18
2.9	Besinlere ve Farmasötiklere Katılacak Katkı Maddelerinin Miktarının Belirlenmesi	18
2.10	Renklendiriciler ve Özellikleri.....	21
2.11	Çalışmada Kullanılan Renklendiriciler Hakkında Genel Bilgi.....	27
2.11.1	Ponceau 4R (E124)	27
2.11.2	Kinolin Sarısı (E104)	28
2.11.3	Sunset Yellow (E110)	29
2.11.4	Eritrosin (E127)	29
2.11.5	Indigotin (E132)	30
2.12	Renklendiricilerin Etkileri	31
2.13	Sentetik Renklendiricilerin Analiz Yöntemleri.....	31
2.13.1	Kalitatif Analiz Yöntemleri	32
2.13.1.1	Yün Boyama Tekniği	32
2.13.1.2	İnce Tabaka Kromatografi Tekniği ve Uygulanması	33
2.13.2	Kantitatif Tayin Yöntemleri	33
2.13.2.1	Spektrofotometrik Yöntemler	33
2.13.2.2	Kromatografik Yöntemler.....	37
2.13.2.3	Diğer Yöntemler.....	38
2.14	Kullanılan Yöntemler.....	39
2.14.1	Spektrofotometri	39
2.14.1.1	Spektrofotometre.....	40
2.14.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem (Yöntem 1)	41
2.14.2.1	Türev Spektrumunun Alınması	42
2.14.2.2	Türev Spektrumuna Etki Eden Faktörler	44
2.14.2.3	Türev Spektrumunun Değerlendirilmesi.....	44
2.14.2.4	UV-VIS Türev Spektroskopisinin Uygulama Alanları	45
2.14.2.5	Türev Spektroskopisinin Avantajları ve Dezavantajlar.....	47
2.14.3	Fark Türev Spektrofotometrik Yöntem (Yöntem 2)	47
2.14.4	Oran Türev Spektrofotometrik Yöntem (Yöntem 3)	48
2.15	Yöntem Doğrulaması (Validasyon)	49
2.15.1	Özgünlük	50
2.15.2	Doğrusallık	50

2.15.3	Konsantrasyon Aralığı	50
2.15.4	Doğruluk	50
2.15.5	Kesinlik	51
2.15.6	Deteksiyon limiti	51
2.15.7	Kantitatif tayin limiti	51

BÖLÜM 3

DENEYSEL BÖLÜM..... 52

3.1	Maddeler ve Çözücüler.....	52
3.2	Gereçler.....	52
3.3	Çözeltiler.....	52
3.4	Çalışma yöntemi	53
3.4.1	Spektrumların çizilmesi.....	53
3.4.2	Ölçü Eğrilerinin Çizimi	53
3.4.2.1	Ponso-Sunset Yellow-Kinolin Sarısı üçlü karışımını içeren Tabletler (Kuifleks ve Bemiks) için Standart Eğrilerin Çizimi	53
3.4.2.1.1	Türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 1) için ölçü eğrilerinin çizilmesi	53
3.4.2.1.2	Fark türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 2) için ölçü eğrilerinin çizilmesi	55
3.4.2.1.3	Oran türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 3) için ölçü eğrilerinin çizilmesi	57
3.4.2.1.3.1	İki bileşene bölme (Yöntem 3a)	57
3.4.2.1.3.2	Tek bileşene bölme(Yöntem 3b)	58
3.4.2.2	Eritrosin-İndigotin-Kinolin Sarısı üçlü karışımını içeren Tabletler (Kuifil ve Ecopirin) için Standart Eğrilerin Çizimi	59
3.4.2.2.1	Türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 1) için ölçü eğrilerinin çizilmesi	59
3.4.2.2.2	Fark türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 2) için ölçü eğrilerinin çizilmesi	60
3.4.2.2.3	Oran türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 3) için ölçü eğrilerinin çizilmesi	62
3.4.2.2.3.1	İki bileşene bölme (Yöntem 3a)	62
3.4.2.2.3.2	Tek bileşene bölme(Yöntem 3b)	63
3.4.3	Yöntemlerin Örneklere Uygulanması.....	65
3.4.4	Validasyon Çalışmaları	66
3.4.4.1	Gün İçi ve Gün Aşırı Ölçümler.....	66
3.4.4.2	Laboratuarlar Arası Çalışma	66
3.4.4.3	Tayin limiti(LOD) / Ölçüm limiti(LOQ)	67
3.4.4.4	Yüzde Verim Çalışmaları.....	67

BÖLÜM 4

BULGULAR..... 68

4.1	Uygun Koşulların Saptanması	68
4.2	Ölçü Eğrileri	69
4.3	Yüzde Verim Çalışmaları	70

4.4	Kuifleks, Bemiks, Kuilil, Ecopirin Tabletlerin Analizi	70
4.5	Validasyon Çalışmaları	70
BÖLÜM 5		
ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER		71
BÖLÜM 6		
SONUÇ VE ÖNERİLER		141
KAYNAKLAR		156
ÖZGEÇMİŞ		160

SİMGE LİSTESİ

ϵ	Epsilon
A	Absorbans
1D	Birinci derece türev absorbans değeri
2D	İkinci derece türev absorbans değeri

KISALTMA LİSTESİ

CV	Varyasyon Katsayısı (Coefficient of variation)
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein (High-density lipoprotein)
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low-density lipoprotein)
LOD	Gözlenebilme sınırı (Limit of Detection)
LOQ	Kantitatif derişim sınırı (Limit of Quantation)
GC	Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography)
RSD	Bağıl Standart Sapma (Relative Standard Deviation)
TLC	İnce Tabaka Kromatografi (Thin Layer Chromatography)
UV-VIS	Ultraviyole-Görünür
CC	Kolon Kromatografisi (Column Chromatography)

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1	Çeşitli şekillerdeki Gauss Diyagramlarının türev spektrumları..... 43
Şekil 2. 2	Türev Spektrumlarının Değerlendirilmesi 44
Şekil 5. 1	Kinolin Sarısı (sarı, 3-15 µg/ml), Ponso (kırmızı, 2-10 µg/ml), Sunset Yellow'a (turuncu, 2-10 µg/ml) ait Yöntem 1'e göre alınan absorpsiyon spektrumları 71
Şekil 5. 2	Kinolin Sarısı (sarı, 3-15 µg/ml), Ponso (kırmızı, 2-10 µg/ml), Sunset Yellow'a (turuncu, 2-10 µg/ml) ait Yöntem 1'e göre alınan 1.türev spektrumları 72
Şekil 5. 3	Kinolin Sarısı (sarı, 2-10 µg/ml), Eritrosin (kırmızı, 2-10 µg/ml), İndigotin'e (mavi, 1-5 µg/ml) ait Yöntem 1'e göre alınan absorpsiyon spektrumları 72
Şekil 5. 4	Kinolin Sarısı (sarı, 2-10 µg/ml), Eritrosin (kırmızı, 2-10 µg/ml), İndigotin'e (mavi, 1-5 µg/ml) ait Yöntem 1'e göre alınan 1.türev spektrumları 73
Şekil 5. 5	Kinolin Sarısı (sarı) renklendiricisine, Bemiks(yeşil) ve Kuifleks(siyah) numunelerine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (406 ve 420 nm)..... 73
Şekil 5. 6	Ponso(kırmızı) renklendiricisine ve Bemiks(yeşil) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (570nm)..... 74
Şekil 5. 7	Ponso(kırmızı) renklendiricisine ve Kuifleks(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (525nm)..... 74
Şekil 5. 8	Sunset Yellow(turuncu) renklendiricisine ve Kuifleks (siyah) numunesine ait 1. türev spektrumları.(Yöntem 1) (506nm)..... 74
Şekil 5. 9	Sunset Yellow(turuncu) renklendiricisine ve Bemiks(siyah) numunesine ait 2.türev spektrumları. (Yöntem 1) (538nm)..... 74
Şekil 5. 10	Kinolin Sarısı(sarı) renklendiricisine ve Kuilil(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (420nm)..... 75
Şekil 5. 11	Kinolin Sarısı(sarı) renklendiricisine ve Ecopirin(siyah) numunesine ait 2.türev spektrumları.(Yöntem 1) (423)..... 75
Şekil 5. 12	Eritrosin(kırmızı) renklendiricisine, Ecopirin(yeşil) ve Kuilil(siyah) numunelerine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (537 ve 544nm)..... 75
Şekil 5. 13	İndigotin(mavi) renklendiricisine, Ecopirin(yeşil) ve Kuilil(siyah) numunelerine ait 1.türev spektrumları.(Yöntem 1) (638 ve 670nm)..... 76
Şekil 5. 14	Kinolin Sarısı (sarı, 3-15 µg/ml), Ponso (kırmızı, 2-10 µg/ml), Sunset Yellow'a (turuncu, 2-10 µg/ml) ait Yöntem 2'ye göre alınan absorpsiyon spektrumları. 76

Şekil 5. 15	Kinolin Sarısı (sarı, 3-15 µg/ml), Ponso (kırmızı, 2-10 µg/ml), Sunset Yellow'a (turuncu, 2-10 µg/ml) ait Yöntem 2'ye göre alınan 1.türev spektrumları.	77
Şekil 5. 16	Kinolin Sarısı (sarı, 2-10 µg/ml), Eritrosin (kırmızı, 2-10 µg/ml), İndigotin'e (mavi,1-5 µg/ml) ait Yöntem 2'ye göre alınan absorpsiyon spektrumları	77
Şekil 5. 17	Kinolin Sarısı (sarı, 2-10 µg/ml), Eritrosin (kırmızı, 2-10 µg/ml), İndigotin'e (mavi) 1-5 µg/ml ait Yöntem 2'ye göre alınan 1.türev spektrumları	78
Şekil 5. 18	Kinolin Sarısı (sarı) renklendiricisine, Kuifleks(siyah) ve Bemiks(yeşil) numunelerine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (390nm).....	78
Şekil 5. 19	Ponso(kırmızı) renklendiricisine ve Bemiks(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (546nm).....	79
Şekil 5. 20	Sunset(turuncu) renklendiricisine ve Bemiks(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (589nm).	79
Şekil 5. 21	Kinolin(sarı) renklendiricisine ve Ecopirin(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (446nm).....	79
Şekil 5. 22	Eritrosin(kırmızı) renklendiricisine ve Ecopirin(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (525nm).....	80
Şekil 5. 23	Eritrosin(kırmızı) renklendiricisine ve Kuilil(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (544nm).....	80
Şekil 5. 24	İndigotin(mavi) renklendiricisine ve Ecopirin(siyah) numunesine ait 1. türev spektrumları.(Yöntem 2) (638nm).....	80
Şekil 5. 25	İndigotin(mavi) renklendiricisine ve Kuilil(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (693nm).....	80
Şekil 5. 26	9k6p6s /6p6s (siyah) ve 9k/6p6s(kırmızı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları (Yöntem 3a) (445nm).....	81
Şekil 5. 27	6s6p9k/6p9k(sarı) ve 6s/6p9k(kırmızı) oran spektrumlarının 1. Türev spektrumları (Yöntem 3a) (460 ve 522nm).....	81
Şekil 5. 28	6p6s9k/6s9k(kırmızı) ve 6p/6s9k(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları.(Yöntem3a) (554 ve 581 nm).....	82
Şekil 5. 29	6e6k3i/6k3i(kırmızı) ve 6e/6k3i(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları (Yöntem 3a) (488 ve 534nm).....	82
Şekil 5. 30	6k6e3i/6e3i(kırmızı) ve 6k/6e3i(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları. (Yöntem 3a) (375,407 ve 448nm).....	83
Şekil 5. 31	3i6e6k/6e6k(kırmızı) ve 3i/6e6k(sarı) oran spektrumlarının 1. Türev spektrumları. (Yöntem 3a) (589 ve 637 nm).....	83
Şekil 5. 32	10pon/2sun(kırmızı) ve 15kin/2sun(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları. (Yöntem 3b) (439nm).....	84
Şekil 5. 33	10pon/3kin(kırmızı) ve 10sun/3kin(turuncu) oran spektrumlarının 1.türev spektrumları.(Yöntem 3b) (517 ve 580 nm).....	84
Şekil 5. 34	15kin/2pon(sarı) ve 10sun/2pon(turuncu) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları. (Yöntem 3b) (439nm).....	85
Şekil 5. 35	10ert/1ind(kırmızı) ve 10kin/1ind(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları. (Yöntem 3b) (495 ve 540 nm).....	85

Şekil 5. 36	5ind/2ert(mavi) ve 10kin/2ert(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları (Yöntem 3b) (377 ve 443 nm)	86
Şekil 5. 37	5ind/2kin(mavi) ve 10ert/2kin(kırmızı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları.(Yöntem 3b) (591 ve 635nm)	86
Şekil 5. 38	Ponso'ya (2-10 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları(Yöntem 3b)..	87
Şekil 5. 39	Sunset Yellow'a (2-10 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları (Yöntem 3b).....	87
Şekil 5. 40	Kinolin Sarısı'na (3-15 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyont spektrumları (Yöntem 3b).....	88
Şekil 5. 41	İndigotin'e (1-5 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları(Yöntem 3b)..	88
Şekil 5. 42	Eritrosin'e (2-10 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları (Yöntem 3b).....	89
Şekil 5. 43	Kinolin Sarısı'na (2-10 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları (Yöntem 3b).....	89
Şekil 5. 44	4µg/ml konsantrasyondaki Sunset Yellow çözeltisinin 1', 15', 30', 45', 60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları	90
Şekil 5. 45	15µg/ml konsantrasyondaki Kinolin Sarısı çözeltisinin 1', 15', 30', 45', 60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları	90
Şekil 5. 46	4µg/ml konsantrasyondaki Ponso çözeltisinin 1', 15', 30', 45', 60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları	91
Şekil 5. 47	4µg/ml konsantrasyondaki Indigotin çözeltisinin 1', 15', 30', 45', 60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları	91
Şekil 5. 48	4µg/ml konsantrasyondaki Eritrosin çözeltisinin 1', 15', 30', 45',60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları	92
Şekil 5. 49	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(420 nm)	93
Şekil 5. 50	Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(525 nm).....	94
Şekil 5. 51	Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(506 nm)	95
Şekil 5. 52	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(406 nm)	96
Şekil 5. 53	Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(570 nm).....	97
Şekil 5. 54	Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(538 nm)	98
Şekil 5. 55	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(420 nm)	99
Şekil 5. 56	Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(544 nm)	100
Şekil 5. 57	İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(670 nm).....	101
Şekil 5. 58	Kinolin Sarısına ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(423 nm)	102
Şekil 5. 59	Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(537 nm)	103
Şekil 5. 60	İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(638 nm).....	104
Şekil 5. 61	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(390 nm)	105
Şekil 5. 62	Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(546 nm).....	106
Şekil 5. 63	Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(589 nm)	107
Şekil 5. 64	Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(544 nm)	108
Şekil 5. 65	İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(693 nm).....	109
Şekil 5. 66	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(446 nm)	110
Şekil 5. 67	Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(525 nm)	111
Şekil 5. 68	İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(638 nm).....	112
Şekil 5. 69	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(445nm)	113
Şekil 5. 70	Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(554 nm).....	114

Şekil 5. 71	Sunset Yellow ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(522 nm)	115
Şekil 5. 72	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(407nm)	116
Şekil 5. 73	Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(488 nm).....	117
Şekil 5. 74	İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(589 nm).....	118
Şekil 5. 75	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(439 nm).....	119
Şekil 5. 76	Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(517 nm).....	120
Şekil 5. 77	Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(510 nm).....	121
Şekil 5. 78	Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(580 nm).....	122
Şekil 5. 79	Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(528 nm).....	123
Şekil 5. 80	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(377 nm).....	124
Şekil 5. 81	Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(495 nm)	125
Şekil 5. 82	İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(591 nm).....	126
Şekil 5. 83	Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(443 nm).....	127
Şekil 5. 84	Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(540 nm)	128
Şekil 5. 85	İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(635 nm).....	129

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1	FD ve C boylarının çeşitli çözücülerde gösterdikleri çözünürlük durumları..... 12
Çizelge 2. 2	E numarası kodlaması 13
Çizelge 2. 3	Renklendiricilerin verdikleri renkler 14
Çizelge 2. 4	Sentetik renklendiricilerin günlük alınabilirlik miktarı..... 20
Çizelge 2. 5	Renklendiriciler ve Özellikleri..... 21
Çizelge 5. 1	420 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen türev spektrofotometrik yöntemine ait birinci türev absorbans ($^1D_{420}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri 93
Çizelge 5. 2	525 nm dalga boyunda Ponso için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{525}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 94
Çizelge 5. 3	506 nm dalga boyunda Sunset Yellow için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{506}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 95
Çizelge 5. 4	406 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{406}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri.... 96
Çizelge 5. 5	570 nm dalga boyunda Ponso için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{570}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 97
Çizelge 5. 6	538 nm dalga boyunda Sunset Yellow için elde edilen ikinci türev absorbans ($^2D_{538}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 98
Çizelge 5. 7	420 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{420}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri.... 99
Çizelge 5. 8	544 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{544}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 100
Çizelge 5. 9	670 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{670}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 101
Çizelge 5. 10	423 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen ikinci türev absorbans ($^2D_{423}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri.. 102
Çizelge 5. 11	537 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{537}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 103
Çizelge 5. 12	638 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{638}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 104
Çizelge 5. 13	390 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{390}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri.. 105
Çizelge 5. 14	546 nm dalga boyunda Ponso için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{546}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 106

Çizelge 5. 15	589 nm dalga boyunda Sunset Yellow için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₈₉), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri... 107
Çizelge 5. 16	544 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₄₄), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 108
Çizelge 5. 17	693 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₆₉₃), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 109
Çizelge 5. 18	446 nm dalga boyunda Kinolin için elde edilen ikinci türev absorbans (² D ₄₄₆), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 110
Çizelge 5. 19	525 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₂₅), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 111
Çizelge 5. 20	638 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₆₃₈), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 112
Çizelge 5. 21	445 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₄₄₅), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri... 113
Çizelge 5. 22	554 nm dalga boyunda Ponso için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₅₄), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 114
Çizelge 5. 23	522 nm dalga boyunda Sunset Yellow için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₂₂), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri... 115
Çizelge 5. 24	407 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen absorbans (D ₄₀₇), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 116
Çizelge 5. 25	488 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₄₈₈), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri..... 117
Çizelge 5. 26	589 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₈₉), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri 118
Çizelge 5. 27	439 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı (Kuifleks ve Bemiks Tabletler) için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₄₃₉), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri 119
Çizelge 5. 28	517 nm dalga boyunda Ponso (Kuifleks Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₁₇), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri 120
Çizelge 5. 29	510 nm dalga boyunda Sunset Yellow (Kuifleks Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₁₀), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri 121
Çizelge 5. 30	580 nm dalga boyunda Ponso (Bemiks Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₈₀), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri 122
Çizelge 5. 31	528 nm dalga boyunda Sunset Yellow(Bemiks Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₅₂₈), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri 123
Çizelge 5. 32	377 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı (Kuifil Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₃₇₇), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri 124
Çizelge 5. 33	495 nm dalga boyunda Eritrosin (Kuifil Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans (¹ D ₄₉₅), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri(Yöntem 3b)..... 125

Çizelge 5. 34	591 nm dalga boyunda İndigotin (Kuילil Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{591}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri	126
Çizelge 5. 35	443 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı (Ecopirin Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{443}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri	127
Çizelge 5. 36	540 nm dalga boyunda Eritrosin (Ecopirin Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{540}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri	128
Çizelge 5. 37	635 nm dalga boyunda İndigotin (Ecopirin Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{635}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri	129
Çizelge 5. 38	10 µg/ml Ponso(570nm), 10 µg/ml Sunset Yellow(506nm), 10 µg/ml Kinolin Sarısı(420nm), 10 µg/ml Eritrosin(544nm) ve 10 µg/ml İndigotin(670nm) ile Yöntem 1'e göre yapılan 8 paralel çalışma için türev absorbans, standart sapma, bağıl standart sapma, LOD ve LOQ değerleri	130
Çizelge 5. 39	10 µg/ml Ponso(546nm), 10 µg/ml Sunset Yellow(589nm), 10 µg/ml Kinolin Sarısı(390nm), 10 µg/ml Eritrosin(525nm) ve 10 µg/ml İndigotin(638nm) ile Yöntem 2'ye göre yapılan 8 paralel çalışma için türev absorbans, standart sapma, bağıl standart sapma, LOD ve LOQ değerleri	130
Çizelge 5. 40	Sunset Yellow(482nm), Ponso(506nm) ve Kinolin Sarısı(416nm)'de Türev Spektrofotometrik Yöntem(Yöntem 1) için gün içi alınan birinci türev, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri	131
Çizelge 5. 41	Eritrosin(525nm) ve İndigotin(610nm)'de Türev Spektrofotometrik Yöntem(Yöntem 1) için gün içi alınan birinci türev, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri	132
Çizelge 5. 42	Sunset Yellow(482nm), Ponso(506nm) ve Kinolin Sarısı(416nm)'de Türev Spektrofotometrik Yöntem(Yöntem 1) için gün aşırı alınan birinci türev, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri	133
Çizelge 5. 43	Eritrosin(525nm) ve İndigotin(610nm)'de Türev Spektrofotometrik Yöntem(Yöntem 1) için gün aşırı alınan birinci türev, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri	134
Çizelge 5. 44	Laboratuvarlar arası 10 ppm'lik Sunset Yellow(482nm), Ponso(506nm), Kinolin Sarısı(416nm), Eritrosin(525nm) ve İndigotin(610nm) boyar maddeler için Yöntem 1, Yöntem 2 ve Yöntem 3 ile bulunan 1.türev değerleri	134
Çizelge 5. 45	544 nm'de Eritrosin, 420nm'de Kinolin Sarısı ve 670nm'deki İndigotin (Kuילil ve Ecopirin Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 1'e göre yapılan verim çalışmaları	135
Çizelge 5. 46	544 nm'de Eritrosin, 446nm'de Kinolin Sarısı ve 693nm'deki İndigotin (Kuילil ve Ecopirin Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 2'ye göre yapılan verim çalışmaları	136
Çizelge 5. 47	525 nm'de Ponso, 420nm'de Kinolin Sarısı ve 506nm'deki Sunset Yellow (Kuifleks ve Bemiks Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 1'e göre yapılan verim çalışmaları	137

Çizelge 5. 48	546 nm’de Ponso, 390nm’de Kinolin Sarısı ve 589nm’deki Sunset Yellow (Kuifleks ve Bemiks Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 2’ye göre yapılan verim çalışmaları 138
Çizelge 5. 49	(488,495 nm’de) Eritrosin, (407,377nm’de) Kinolin Sarısı ve (589,591nm’deki) İndigotin (Kuिलil ve Ecopirin Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 3’e göre yapılan verim çalışmaları 139
Çizelge 5. 50	(554, 517nm’de) Ponso, (445, 439nm’de) Kinolin Sarısı ve (522, 510nm’deki) Sunset Yellow (Kuifleks ve Bemiks Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 3’e göre yapılan verim çalışmaları 140
Çizelge 6. 1	Bemiks numunesinde saptanan Kinolin Sarısı miktarları 144
Çizelge 6. 2	Bemiks numunesinde saptanan Ponso miktarları 145
Çizelge 6. 3	Bemiks numunesinde saptanan Sunset Yellow miktarları 146
Çizelge 6. 4	Kuifleks numunesinde saptanan Kinolin Sarısı miktarları 147
Çizelge 6. 5	Kuifleks numunesinde saptanan Ponso miktarları 148
Çizelge 6. 6	Kuifleks numunesinde saptanan Sunset Yellow miktarları 149
Çizelge 6. 7	Ecopirin numunesinde saptanan Kinolin Sarısı miktarları..... 150
Çizelge 6. 8	Ecopirin numunesinde saptanan Eritrosin miktarları 151
Çizelge 6. 9	Ecopirin numunesinde saptanan İndigotin miktarları 152
Çizelge 6. 10	Kuिलil numunesinde saptanan Kinolin Sarısı miktarları 153
Çizelge 6. 11	Kuिलil numunesinde saptanan Eritrosin miktarları 154
Çizelge 6. 12	Kuिलil numunesinde saptanan İndigotin miktarları..... 155

İLAC MATERYALLERİNDE SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE RENKLENDİRİCİLERİN BİRARADA TAYİNLERİ

Merve TARHAN

Kimya Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR

Renk, gıda ve farmasötiklerin kolayca tanınması ve nihai kararın verilmesi için günümüz modern toplumunda vazgeçilmez bir özelliktir. Gıda boyalarının toksikolojisi, özellikle boyar maddelerin kansere sebep olabileceği konusu gündeme geldiğinden beri birçok araştırma yapılmış ve gıda boyalarının önemli bir kısmı ulusal ve uluslararası onaylanmış listelerden mutajenik ve kanserojenik aktivitelerinden dolayı çıkarılmıştır.

Hazır gıda maddelerinin uzun süre tazeliğini koruması ve bozulmaması için kullanılan ve renklendirici olarak içlerine konulan katkı maddelerinin sağlık üzerindeki kötü etkilerine her geçen gün yenileri eklenmektedir. Tüketici sağlığının korunması ve gıda güvenliğinin sağlanması amacıyla, gıdalara ve farmasötiklere katılan suda çözünen sentetik boyaların belirlenmesi için hassas ve güvenilir metotlar kullanılmalıdır. Renklendiricilerin varlığı ve miktarının kontrolleri sıklıkla yapılmalıdır. Bu amaçla geliştirilecek olan türev, oran türev ve fark türev yöntemleri, sentetik örneklerle uygulandıktan sonra piyasadaki ilaç preparatlarına uygulandı. Geliştirilen yöntemlerin validasyonu yapılarak birbirleriyle seçicilik, kesinlik, doğruluk ve hassasiyet yönünden kıyaslamaları yapıldı. Geliştirilen yöntemler ile piyasadaki bazı ticari ürünlerin analizi yapılarak WHO ve Türk Gıda Kodeksi tarafından müsaade edilen miktarların yasal sınırlar içerisinde olup olmadıkları saptandı.

Bu çalışmada yer alan ve piyasada kullanımı fazla olan gıda boyalarından Ponso 4R, Eritrosin, Kinolin Sarısı, İndigotin ve Sunset Yellow gibi boyalar içeren ilaç

numuneleri üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Yaptığımız araştırmalar sonucunda gıda ve ilaç katkı maddelerinin analizleri konusunda lkemizde son yıllarda yapılan kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmadı. Bu alışma, diğer araştırmacıları da sağlığımız için oldukça tehlikeli olan diğer gıda katkılarının da, geliştirilecek olan yöntemler kullanılarak analizleri konusunda çalışmalar yapmaya yönlendirecektir.

Bu çalışmada piyasada gıda ve farmasötik ürünlerde oldukça bol miktarda kullanılan Ponso, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow, Eritrosin ve İndigotin boyar maddelerini içeren ilaç numunelerinde herhangi bir ayırma işlemi yapmadan bir arada kantitatif tayini için spektrofotometrik yöntemler geliştirmeyi amaçladık.

Türev spektrofotometrik, fark türev spektrofotometrik, oran türev spektrofotometrik yöntemleri çok bileşenli karışımların analizi için çok büyük bir role sahiptir ve bu yöntemler ile herhangi bir ayırma işlemine gerek kalmadan cl boya karışımların analizi yapılabilir. Bu yöntemlerden elde edilen bulgular doğruluk ve presizyon yönünden t ve F testleri yardımıyla %95 güvenirlik düzeyinde istatistiksel olarak karışılaştırıldı ve uygulanan yöntemler değerlendirildi. t ve F değerleri ilgili güven düzeyi ve üç deneme için verilen tablo değerlerinden kktr. Yöntemler için validasyon çalışmaları gerçekleştirildi. Yüzde verim çalışmalarının her bir yöntemde %100±10 aralığında sonuçlar verdiği görüldü. Her bir karışım, standart zelteler ve numunelerde standart sapma ve bağlı standart sapma hesaplamaları yapılarak LOD değerleri için standart sapmanın üç katı, LOQ değerleri için standart sapmanın on katı alındı. Her bir değerlerin alt sınır konsantrasyona eşit veya alt sınır konsantrasyondan kk olduğuna dair değerler elde edildi. Her bir renklendirici LOD'de 0,3µg/ml ve 0,6µg/ml, LOQ'da 1µg/ml ve 2µg/ml sonuçlarını vermiştir.

Anahtar kelimeler: Renklendirici, Ponso 4R, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow, Eritrosin, İndigotin, Trev yöntemi, Oran Trev yöntemi, Fark yöntemi, Farmasötik preparat

ABSTRACT

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF ARTIFICIAL COLORANTS IN PHARMACEUTICALS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHODS

Merve TARHAN

Department of Chemistry

MSc. Thesis

Advisor: Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR

Color, an inevitable feature used to easily recognize and also to final decision about the food in our modern world. Since issue about toxicology of food color agents especially their carcinogen properties has received interest, several research studies have been done and according to their results important parts of food colors were taken out from the food additives lists approved by national and international agents.

In our country these are thousands of sweeteners products to uncontrolled. These sweeteners binary, ternary and quaternary combinations of new spectrophotometric methods for the determination of a combination of sweeteners used this to develop and market pharmaceutical products by applying the market development and the amounts contained in the World Health Organization (WHO), Food Agriculture Organization (FAO), of the commission, created in the international food codex (CAC) investigated the suitability of the values. For this purpose, the ratio derivative, difference derivative and multivariate methods will be developed after the application of synthetic samples and pharmaceutical preparations on the market shall apply to commercial food. Validation of the methods developed by other techniques, selectivity precision with one another comparisons will be made in terms of accuracy and precision.

In some commercial products on the market by analyzing the methods to be developed with the WHO and the amount allowed by the Turkish Food Codex determined

whether they were within legal limits. In this study we worked some dyes like ponceau, sunset yellow, quinoline, erythrosin, indigotin in medicines which are using so much. As a result of our research on the analysis of food additives in our country in recent years was seen at a comprehensive study. This study which dangerous for our health in other food additives, using the methods developed will lead to studies on the analysis. The presence and amount of colorants in foods must be controlled frequently.

Three separate methods for the determination of the spectrophotometric method was developed and the findings of these methods in terms of accuracy and precision with the help of t and F tests were compared with 95% confidence level, statistically evaluated and the methods applied. t value of the confidence level and three trial values of the table is small. Also F value of the confidence level and three trial values of the table is small. Validation studies carried out for all methods. The result of efficiency studies percent; 100 ± 10 . Each standard and sample standard deviation and relative standard deviation values were calculated. LOD is three times and LOQ is ten times the Standard deviation were calculated and the results for LOD; $0,3 \mu\text{g/ml}$ and $0,6 \mu\text{g/ml}$, LOQ; $1 \mu\text{g/ml}$ and $2 \mu\text{g/ml}$.

Keywords: Colorants, Dyes, Ponceau 4R, Quinoline Yellow, Sunset Yellow, Erythrosin, Indigotin, Derivative method, Ratio derivative method, Difference method, Pharmaceutical preparation

1.1 Literatür Özeti

Ülkemizde kullanımı uygun görülen gıda katkı maddeleri CAC ve EC tarafından oluşturulan listelerden titizlikle seçilmektedir. Gıda katkı maddeleri gıdalarda mikrobiyolojik bozulmayı önleme ve dayanıklılığını artırma, besleyici değeri koruma, teknolojik işlemlere yardımcı olma, renk, görünüş, lezzet, koku gibi duyuşsal özellikleri düzeltme gibi pek çok amaçla katılan maddelerdir.

Türk Gıda Kodeksi yönetmeliğinde gıda katkı maddeleri; "Tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıda ham veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan seçilen teknoloji gereği kullanılan işlev veya imalat sırasında kalıntı veya türevleri mamul madde bulunabilen, gıdanın üretilmesi, tasnifi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak ve düzeltmek amacıyla kullanılan maddeler" olarak tanımlanmaktadır.

Türk Gıda Kodeksi yönetmeliğinde 300 civarında gıda katkı maddesinin çeşitli gıdalarda ve ilaçlarda değişen miktarlarda kullanılmasına izin verilmiştir. FDA(Food and Drug Administration-Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi)in bugüne kadar kullanımına onay verdiği gıda katkı maddesi yaklaşık 2800'dir. Ancak bugün bunların önemli bir bölümü daha uygun alternatifleri bulunduğu için teknik sebeplerle kullanılmamaktadır.[1-8]

1.2 Tezin Amacı

Gelişen gıda, ilaç ve kozmetik teknolojisine paralel olarak katkı maddeleri (GKM)'nin kullanımında meydana gelen artış, kuşkuşları da beraberinde getiriyor. GKM'nin insan sağlığını tehdit etmesine neden olabilecek en önemli etken bu maddelerin yönetmeliklerde izin

verilen dozların üzerinde kullanılmalarından kaynaklanmaktadır. Her iki durumun önlenmesinde hem endüstriyel hem de yasal kontrol organlarına önemli görevler düşmektedir. Yasal kontrol organları gerek üretimin değişik aşamalarında gerekse son üründen örnekler alarak katkı maddelerinden gelebilecek sağlık risklerine karşı tüketicileri koruması gerekmektedir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki; renklendirici amaçlı kullanılan sentetik boyaların tüketim miktarı, insanlar tarafından günlük tüketilebilir miktarı (ADI değerini) aşmadığı takdirde sağlık üzerinde olumsuz etkileri minimum düzeyde kalmakta, ancak tüketim miktarı ADI değerini aştığında olumsuz etkiler söz konusu olabilmektedir.

Piyasada yaptığımız araştırmalar göstermiştir ki gıdalara ve ilaçlara renklendirici olarak kullanılmasına izin verilen sentetik boyalardan Ponso 4R, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow, Eritrosin ve İndigotin oldukça fazla üründe ayrıca renk oluşturmak amacıyla 2'den fazla üçlü-dörtlü karışımları halinde bilhassa çocukların kullandığı gazlı-gazsız içeceklerle, meyve nektarlarına, meyve suyu konsantrelerine, dondurmalara, marmelâtlara, jölelere, reçeller, çikletlere, diş macunları, farmostiklere, şekerlemelere, çikolata ve diğer ürünlere boya maddesi olarak katılmışlardır.

Amacımız, bu kadar fazla üründe çoğu bilinmeyen markalarla küçük işletmelerin ürünü olarak piyasada satılan iki ya da daha fazla renklendirici içeren (üçlü ve dörtlü karışımlar halinde) gıda ve ilaç preparatlarında bu katkı maddelerinin bir arada ekonomik, kolay uygulanabilen, seçici ve hemen her laboratuarda bulunabilen spektrofotometre ile tayini için yeni spektrofotometrik yöntemler geliştirmek ve geliştirilen bu yöntemlerin piyasada bulunan ticari preparatlardaki Ponso 4R, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow, Eritrosin ve İndigotin'in yasalarca verilen sınırlar içinde olup olmadığını kontrol etmektir. Geliştirilen spektrofotometrik yöntemler özellikle ayrılması güç, birden fazla katkı maddesi içeren, birbiriyle girişim yapan, ürün içinde oldukça farklı miktarlarda katkı maddesi bulunduran ve gıda maddelerinin analizinde ekstraksiyon, çöktürme gibi ön ayırma işlemleri ile zaman alıcı ve pahalı cihazlar gerektiren yöntemlere ucuz, seçici ve kolay uygulanmaları nedeniyle bir alternatif oluşturacaktır.

1.3 Bulgular

Bu çalışmada, piyasada bulunan ve incelenecek olan ilaç preparatları saptanmıştır. Geliştirilen yöntemlerin farklı örneklerle uygulanabilirliğinin araştırılması amacı ile çalışılacak ikili-üçlü-dörtlü kombinasyonları içeren farklı ürünlerin araştırılması yapıldı. Çalışılacak renklendiricilerin Ponso 4R, Sunset Yellow, Kinolin Sarısı, Eritrosin ve İndigotin temini ile bu katkı maddelerinin çözüldüğü ve stabil kaldığı uygun çözücü ortamı saptandı. Renklendiricilerin farklı çözücü ortamlarında alınan spektrumları incelenerek en uygun

çözücü saptandıktan sonra farmasötiklerde bulunan oranları da göz önüne alınarak spektrumlar çizildi ve çalışılacak standart eğri konsantrasyon aralıkları bulundu. Saptanan konsantrasyon aralıklarında alınan spektrumlar bilgisayar ortamına aktarıldı. Türev spektrofotometri yöntemi, fark türev spektrofotometrik yöntemi ve oran türev spektrofotometrik yöntemine göre oluşturulan standart eğriler üzerinde gerekli hesaplamalar yapıldı. Aynı konsantrasyon aralıklarında çalışılan renklendiricilere ait standart çözeltiler asidik ve bazik pH'ye sahip çözücülerde ayrı ayrı hazırlanarak fark yönteminin uygulanması amacıyla standart eğrilerin çizimi yapıldı. Geliştirilen yöntemlerin doğruluk ve tekrarlanabilirliklerini saptamak amacıyla çeşitli validasyon parametreleri (seçicilik, kesinlik ve hassasiyet açısından) kıyaslamaları yapılarak üzerinde çalışılan ilaç numunelerinde renklendiriciler farklı yöntemlerle nitel ve nicel olarak saptanmıştır. Yöntemlerden elde edilen bulgular doğruluk ve presizyon yönünden t ve F testleri yardımıyla %95 güvenirlilik düzeyinde istatistiksel olarak karşılaştırıldı ve uygulanan yöntemler değerlendirildi. t ve F değerleri ilgili güven düzeyi ve üç deneme için verilen tablo değerlerinden küçük bulunarak ilgili güven düzeyi için verilen tablolardaki sınır değerleri içerisinde olduğu görülmüştür. Her bir yöntem için standart sapma ve bağıl standart sapma hesaplamaları yapılarak LOD değeri için standart sapmanın üç katı, LOQ değeri için standart sapmanın on katı alındı. Her bir değer için alt sınır konsantrasyona eşit veya alt sınır konsantrasyondan küçük olduğuna dair değerler elde edildi.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİ

2.1 Giriş

Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu renklendiricileri “gıdanın rengini düzenleyen veya renk vermek amacıyla katılan madde” olarak tanımlamaktadır. Renk verme özelliğine sahip pek çok madde kimyasal yapılarındaki farklılıklar nedeniyle farklı fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklere sahiptirler ve bu özellikler onların hangi tip ürünlerde ve hangi amaçla ne şekilde kullanılacaklarını belirlemektedir[1].

Günümüzde uygulanan işleme tekniklerinin, gıdaların ve ilaçların görünüş özellikleri üzerinde meydana getirdikleri olumsuz etkiler, bunların teknolojik nedenlerle renklendirilmesi gereksinimini ortaya çıkarmıştır[1].

Yapay renklendiricilerin, doğal renklendiricilere göre renk tonlarının ve renk şiddetlerinin kuvvetli olması, farklı pH seviyelerinde stabilitelerinin yüksek olması, uygulama kolaylığı ve ucuzluğu gibi özelliklerinden dolayı gıdalarda kullanımları hızla artmış ve doğal renklendiricilere ilgi azalmıştır[2].

2.2 Gıda ve Farmasötiklerde Rengin Önemi

Renk, ışığın spektral dağılımından meydana gelen görsel bir özelliktir. Doğal gıdaların renkleri içerdikleri çok çeşitli kimyasal formlara sahip olan ve pigment olarak tanımlanan maddelerden kaynaklanmaktadır. Meyveler ve sebzeler gibi doğal kaynaklı birçok ürün çeşitli renklere sahip olup, çekicilikleri renkleri ile ilgilidir. Renk gıdaların duyuşal özellikleri yönünden ele alındığında, tüketici tercihi açısından, gıdanın çekiciliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Bir gıda ile ilgili ilk izlenim görseldir ve gıdanın tercih edilmesi onun renginin kabul veya red edilmesine bağlıdır. Konu ile ilgili olarak yapılan pek çok çalışma renk ile lezzet arasında pozitif yönde bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Duyuşal açıdan renk lezzet

üzerinde bir beklenti yaratmaktadır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, eğitilmiş panelistlere sunulan beyaz renkli çikolata aromalı ve kahverengi vanilya aromalı dondurmaların lezzetleri hemen hemen tüm panelistler tarafından ters olarak algılanmış, beyaz renkli dondurmalar vanilyalı, kahverengi dondurmalar çikolatalı olarak değerlendirilmiştir[3].Günümüzde gelişen gıda ve ilaç üretim teknolojileri dikkate alındığında gıdalar; işleme, depolama ve satışa sunma gibi çeşitli aşamalarda ısı, ışık, pH, oksijen gibi fiziksel ve kimyasal koşullara bağlı olarak renk solması veya kaybına uğramaktadırlar. Ancak üreticiler işleme sırasında ortaya çıkan renk farklılıklarını ve kayıplarını karşılayarak orijinal rengi koruma, ürünün renk tekdüzeliğini sağlama, çekiciliğini arttırma, geliştirilmiş bir formulasyona bağlı olarak üretilen renksiz veya az renkli gıdalara ve ilaçlara renk kazandırma gibi amaçlarla renklendirici katkı maddelerini ürünlerinde kullanma yoluna gitmektedirler[3].

2.3 Renklendiricilerin Sınıflandırılması[4]

Çeşitli sektörler dikkate alındığında (gıda, ilaç, kozmetik, kimya, tekstil vb.) herbir sektörün gereksiniminin karşılanması açısından birçok renk maddesinin kullanıldığı görülmektedir. Ancak bu renk maddeleri kimyasal yapıları, elde ediliş kaynakları, kullanılış özellikleri gibi birçok kimyasal ve fiziksel faktörler ile birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Gıda ve ilaç sanayi açısından da herbir gıda ve farmasötik ürünün yapısına bağlı olarak gıdaların renklendirilmesi amacıyla kullanılacak renk maddelerinin özellikleri de değişmektedir. Teknolojik uygulamalarda bir renklendiricinin gıda ve ilaçlarda kullanımına izin verilmiş olmasının yanı sıra, hangi ürün için daha uygun kullanım özelliği göstereceğinin de belirlenmesi gerekmektedir. Aynı ürün için farklı yapısal özelliklere sahip renklendirici maddeler kullanılabilir. Renklendirici maddeler için verilen genel bir sınıflandırmada bu maddeler elde ediliş şekillerine göre doğal ve yapay renklendiriciler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Bununla birlikte bazı doğal kaynaklı renklendiriciler yapay olarak da elde edilebilmektedir. Bu durumda bu maddeler “doğala özdeş renklendirici” olarak ifade edilmektedirler. Renklendiriciler elde ediliş şekillerine göre:

- Doğal renklendiriciler
- Yapay renklendiriciler

Olmak üzere iki temel grup altında toplanabilmektedirler.

2.3.1 Doğal Renklendiriciler[4]

Doğal renklendirici maddeler mikrobiyal, bitkisel, hayvansal ve mineral kaynaklardan elde edilen pigmentlerdir. Renk aralıkları sınırlı olan bu renk maddeleri genel olarak zayıf bir stabilite ile zayıf bir renklendirme gücüne sahiptirler, ısı ve pH'tan etkilenirler. Doğal renk maddelerinin birçok fiziksel ve kimyasal etkilere karşı (ısı, ışık, pH) stabilitelerinin düşük olması ve gıdalarda ve ilaçlarda kullanımlarında çeşitli problemler yaşanmasına karşın, son yıllarda yapılan araştırmalarda sağlık üzerinde olumlu etkileri nedeniyle bu maddelerin kullanımlarının arttığı gözlenmektedir. Gıdalarda doğal olarak oluşan ve bu kaynaklardan elde edilen renk maddeleri farklı kimyasal yapılara sahip olmaları nedeniyle bir kısmı suda çözünür nitelikte olup pek çoğu ise suda çözünmemektedir. Bu durum doğal renk maddelerinin gıda uygulamalarında renk çeşitliliğinin sınırlandırılmasına neden olmaktadır. Organik esaslı doğal renklendiricilerin yanı sıra mineral kaynaklı bazı renklendiricilerin de bulunması nedeniyle, doğal renklendirici maddeler kimyasal yapılarına göre organik ve inorganik olarak sınıflandırılmaktadır.

2.3.1.1 Organik Doğal Renklendiriciler[4]

Annatto

Genellikle Güney Amerika ve Afrika'da yetişmekte olan *Bixa orellana* L. adlı bitkinin tohumlarından elde edilir. Bitkinin tohumları uzun yıllardır aroma ve renklendirme amacıyla kullanılmaktadır. Annatto yüksek ısı ve ışık stabilitesine sahiptir.

Antosiyanin

Doğada 300'ün üzerinde antosiyanin çeşidi vardır. Üzüm, mor havuç, tatlı patates, kırmızı turp, kırmızı lahana gibi birçok meyve ve sebzeye kırmızıdan maviye kadar farklı renkler veren bileşendir.

Bitkisel Karbon

Bitkilerin karbonize edilmesiyle elde edilmektedir. Kullanılan konsantrasyona bağlı olarak griden siyaha değişen renkler vermektedir. Mükemmel ışık, ısı ve pH stabilitesi sunmaktadır.

Karamel

Karbonhidratların kontrollü ısı işleme tabi tutulmasıyla elde edilir ve doğal renklendirici olarak kullanımı yaygındır.

Karmin

Dactylopius coccus costa adlı bir parazitten elde edilen ve etken maddesi karminik asit olan doğal bir renklendiricidir. Parlak kırmızı bir renge sahiptir.

Klorofiller

Çimen, ısırganotu gibi çeşitli bitkilerden ekstraksiyonla elde edilen yağda çözünen pigmentlerdir. Mg içeriğine bağlı olarak zeytin yeşilinden koyu yeşile kadar değişen renk tonlarında bulunurlar.

Lutein

Meksika'da bolca bulunan kadife çiçeğinden (*Tagetes erecta*) elde edilmektedir. Sarı renk verir, meyva suları ve keklerde kullanılır. İyi derecede ısı, ışık ve pH dayanıklılığı gösterir. Bu pigment aynı zamanda antioksidan özelliğine sahiptir.

Turmerik

Zencefil familyasından *Curcuma longa L.* adlı bitkiden elde edilen ve çoğunlukla Turmerik olarak bilinen bir renklendiricidir. Genellikle Hindistan'da yetiştirilmektedir. Etken renk maddesi Kurkumin'dir.

Pancar Kökü Kırmızısı

Pancar kırmızısı, pancar kökü suyunun konsantre ve pastörize edilmesiyle elde edilir. Pancar kökü dünyanın bir çok yerinde taze veya pişmiş olarak tüketilmektedir. Pancar kırmızısı, işleme ve uygulamaya bağlı olarak parlak kırmızıdan mavimsi kırmızıya giden bir renk verir.

Karoten

Palmiye ağacının (Yağ palmyesi-*Elaeis guineensis*) meyvalarından ekstrakte edilerek elde edilen doğal karoten, karotenoid karışımlarının en zengin doğal kaynağıdır. Meyva ekstraktı alpha, beta ve gamma karotenlerinin bir karışımından oluşmaktadır. Pasifik bölgesinin yerel mutfağında uzun süredir kullanılmaktadır.

2.3.1.2 İnorganik Doğal Renklendiriciler[4]

Altın

Gıdaya metalik bir renk vermek amacıyla kullanılan pahalı bir renklendiricidir. Kendine

has rengi olan genellikle toz halinde bulunan bir maddedir.

Alüminyum

Gıdaya metalik bir renk vermek maksadıyla kullanılır. Gümüşümsü gri renkte çok ince öğütülmüş alüminyum taneciklerinden oluşur. Alüminyumun vücutta depolanması toksik etki yarattığından dolayı bazı ülkelerde kullanılması yasaklanmıştır.

Gümüş

Altın ve alüminyum gibi gıda yüzeyine metalik bir görünüm kazandırmak amacıyla kullanılır. Genellikle toz halinde olan gümüş aşırı dozlarda önemli rahatsızlıklara sebep olduğundan dolayı bazı ülkelerde kullanılması yasaklanan bir renklendiricidir.

Titanyum Dioksit

Beyaz toz görünümündedir. Isı ve ışığa karşı dayanıklılığı yüksek olup, erime noktası 185°C'dir.

Demir Oksitler

Sarı, kırmızı, kahverengi veya siyah renkte toz halinde bulunan bu maddelerdir. Yüksek dozlarda zehirlidir. Bu sebeple bazı ülkelerde kullanımı yasaklanmıştır. Isı ve ışığa karşı stabiliteleri yüksektir.

Kalsiyum Karbonat

Doğada yaygın olarak kireç taşı ve mermer yaygın şekilde bulunur. Yüksek dozlarda zehirlidir; safra, böbrek taşı, hemoroite sebep olabilir. Opak beyaz bir görünüş verir, tatsız ve kokusuzdur. Suda ve alkolde pratik olarak çözünür olmayıp, seyreltik asetik asit, seyreltik hidroflorik asit ve seyreltik nitrik asitte köpürerek çözünmektedir.

2.3.2 Yapay Renklendiriciler[4]

Yapay renklendiriciler, kimyasal yapıları itibarıyla doğada bulunmayan ancak kimyasal sentez yoluyla üretilen renk maddeleridir. Hemen hemen hepsinin sentezinde başlangıç materyali olarak kömür kullanılır. Doğal renklendiricilerle karşılaştırıldığında yapay renklendiricilerin; renk verme güçleri, renk aralıkları, stabiliteleri, kullanım kolaylıkları ve fiyat uygunlukları gibi faktörler açısından üstünlük sağladıkları gözlenmektedir. Yapay renklendiricilerinin gıda ve ilaç işleme koşullarına karşı stabilitelerinin yüksek olmasına karşın, bu renklendiricilerin

stabilitele, renklendiricinin kullanıldığı ortama, renklendiricinin konsantrasyonuna, kullanılan çeşitli gıda katkı maddelerinin konsantrasyonuna, sıcaklık, süre gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler herbir renklendirici için farklılık göstermektedir ve bu nedenle kullanılacak renklendiricinin seçimi önem kazanmaktadır.

Yapay renklendiriciler çok yüksek oranlarda suda çözünme özelliğine sahiptirler. Pek çoğu ısıya, ışığa, asitlere, alkalilere ve koruyucu maddelere karşı stabildirler ve bu nedenle raf ömürleri de oldukça uzundur. Birçok farklı formda yapay renklendirici üretilebilmesi nedeniyle bu maddelerin renk tonu aralıkları geniştir ve renklendirme güçleri yüksektir.

Yapay renklendiricilerin sınıflandırılmasında kimyasal özellikleri açısından çözünürlük özellikleri önem kazanmaktadır. Yapay renklendiriciler çözünürlüklerine göre:

- Suda çözünenler
- Yağda çözünenler
- Lake renklendiriciler

olmak üzere üç grupta toplanmaktadır.

2.3.2.1 Suda Çözünen Yapay Renklendiriciler[5]

Alura Red AC: Koyu kırmızı renkte toz veya granül halde bulunmaktadır. Suda çözünür nitelikte olan bu madde, etanolde çözünmemektedir.

Amarant: Kırmızımsı kahverengi/koyu kırmızımsı kahverengi toz veya granül halde bulunmaktadır. Suda çözünür nitelikte olan bu madde, etanolde çok az çözünmektedir.

Azorubin: Kırmızı renkte toz veya granül halde bulunmaktadır. Suda çözünür nitelikte olan bu madde, etanolde çok az çözünmektedir.

Brilliant Black BN: Siyah renkte toz veya granül halde bulunmaktadır. Suda çözünür nitelikte olan bu madde, etanolde çok az çözünmektedir.

Brilliant Blue FCF: Mavi renkte toz veya granüller halinde bulunmaktadır. Suda çözünür nitelikte olan bu madde, etanolde az çözünmektedir.

Brown HT: Kahverengi toz veya granüller halinde bulunmaktadır. Suda çözünür nitelikte olan bu madde, etanolde çözünmemektedir.

Eritrosin: Kırmızı renkte toz veya granüller halinde bulunmaktadır. Suda ve etanolde çözünmektedir.

Green S: Koyu yeşil renkte toz veya granüller halinde bulunmaktadır. Suda çözünür nitelikte

Lake renklendiriciler;

- Suyun bulunmasının istenmediği, yağ esaslı karışımların renklendirilmesinde (kek, bisküvi, dolgu maddeleri, salata sosları, esnek gıdalar)
- Şekerlemelerde; şeker kristallerinin, donmuş şekerlerin ve film kaplı tatlıların renklendirilmesinde,
- Şekerleme sanayiinde ve farmakolojik endüstride sıkıştırılmış tabletlerin renklendirilmesinde
- Işığa bağlı olarak renk solmasının meydana geldiği veya ısı stabilitesinin artırılmasının istendiği durumlarda
- Kuru görünümün önemli olduğu toz içecekler, tatlılar, çorbalar ve baharat karışımları gibi ürünlerin renklendirilmesinde
- Plastik paketlenme materyallerinin, mürekkep ve metal kaplar için iç lakelerin renklendirilmesinde kullanılmaktadır.

2.4 Sertifikalı ve Sertifikasız Renklendiriciler[6]

2.4.1 Sertifikalı Renk Maddeleri[6]

Sertifikalı renk katkılarının hepsi yapay kaynaklı boyalardır. 1959 yılından önce bu gruba yalnızca boyalar yer alırken, daha sonra boyaların lake türünde olanları da bu gruba dahil edilmiştir. Örneğin FD ve C lake boyası, yalnızca alüminyum hidroksitten oluşan ve boyayı adsorblamış biçimde tutan bir bileşiktir. FD ve C boyaları suda çözünen ancak organik çözücülerde erimeyen bir karaktere sahiptirler. Renk maddelerinin bir alt sınıfını oluşturan boyaların suda çözünürlükleri çok yüksek olduğundan gıda endüstrisinde kullanımları çok kolaydır ve sorun çıkarmamaktadır. Bu grup içinde yalnızca FD ve C Blue No. 2 (indigotine) ayrıcalıklı bir boyadır. Gıda endüstrisinde kullanılan FD ve C boyalarının çözünürlüğü ile ilgili değerler aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Gıda endüstrisinde kullanılan renk maddeleri, öncelikle uygun çözücüsünde çözündürülüp daha sonra üretime alınmaktadır. Bu bileşikler genellikle değişik formlarda bulunurlar. Örneğin toz, granül, sıvı, sulandırılmış, macunsu gibi. Bu nedenle kullanılacak renk katkısının bulunduğu durum kullanılma hacim ve miktarını etkileyeceğinden, kullanılmalarında boyanın formu, dikkat edilmesi gereken önemli bir noktadır.

Çizelge 2.1 FD ve C boyaalarının çeşitli çözücülerde gösterdikleri çözünlük durumları[6]

FD ve C	Çözücüde eriyen miktar (g)			
Boyaalar	Su (21.5 °C)	Gliserin	Propilen Glikol	Alkol (% 95)
Red 2	134.82	161.04	11.24	Hafif
Red 3	119.84	230.32	217.21	18.73
Red 4	71.15	39.32	11.24	Hafif
Yellow 5	131.08	209.72	89.88	Hafif
Yellow 6	172.27	108.61	18.73	1,1
Blue 1	187.25	280.88	396.97	14.18
Blue 2	11.24	3.75	Hafif	Hafif
Green 3	172.27	108.61	108.61	3.75
Red 40	209.72	29.96	14.98	Hafif
Violet 1	187.25	205.98	138.57	0.94

Suda çözünen boyaların içerdikleri saf madde miktarına göre boyama güçleri de belirli olmaktadır. Ancak lake boyalar için bu durum geçerli değildir. Örneğin, saf boya miktarı % 45 olan sertifikalı bir renk maddesinin iki ünite dozu ile % 90 saf boya içeren bir ünite dozunun boyama güçleri eşdeğerdir. Buna karşın % 24 saf boya içeren bir lake boya, 2 ünitelik % 12 saf boya içeren sertifikalı renk maddesinin boyama gücüne sahip değildir.

Sertifikalı renk katkıları kullanıldıkları gıda ve ilaçlarda stabil özellik göstermekte, ürüne konuldukları miktarlarda zamana bağlı bir azalma görülmemektedir. Bu konuda yapılan araştırmalara göre 15 yıl süre ile depolanan gıda ve ilaçlara konulan sertifikalı renk katkılarında miktar azalması ve bir değişme saptanmamıştır. FD ve C Blue No. 2 ve FD ve C Red No. 3 gibi sertifikalı renk katkılarının dışında, hiçbiri ışığa duyarlı değildir. Örneğin, gazlı içecekler ile diğerlerinde kullanılan sertifikalı boyaların solması, C vitamini kaynağı ve antioksidan olarak kullanılan askorbik asitten kaynaklanmaktadır. Bu olumsuz etkiyi ortadan kaldırmak için günümüzde EDTA (etilen diamin tetraasetik asil) adı verilen bileşik kullanılır.

FD ve C boyaaları suda çözünen, buna karşın organik çözücüler ve yağlarda çözünmeyen bir yapıya sahip oldukları için, yağ orijinli gıda ve ilaçların boyanmasında genellikle FD ve C lake yani pigment boyaaları kullanılmaktadır. Lake boyalar pH 3,5-9,5 arasında stabil bir yapıya sahiptirler. Boyama sırasında lake boyalar dispersiyon fazında etkilerini göstermektedirler.

2.4.2 Sertifikasız Boya Maddeleri

Bu grupta yer alan boya katkılarının hepsi doğal boya maddeleridir. Bu maddeler, 1960 yılında A.B.D. Gıda - İlaç ve Kozmetik Yasası'nda yapılan değişiklik ile sertifikalı boya maddeleri listesinden çıkarılarak, öncelikli ve sürekli kullanılma olasılığı olan maddeler listesine aktarılmıştır[6].

2.5 Avrupa Birliğinde Gıda Renklerinin Düzenlenmesi

Avrupa Parlamento ve Konsey Direktifi 94/36/EC gıda maddelerinde renklerin kullanımı ve Komisyon Direktifi 95/45/EC, Avrupa Birliğindeki (AB) gıda maddelerinde kullanılan renklerin spesifik saflık kriterinin esas düzenlemeleridir. Bu düzenlemeler çeşitli üye ülkelerde uygulanmaktadır ve esas provizyonlar izinli renkleri liste halinde belirleyerek spesifik saflık kriterini tahmin eder. Doğal veya sentetik olsa da bütün renk katkılarının güvenliği, kesinlikle test edilir ve periyodik olarak tekrar tayin edilir. AB düzeyinde, bütün renk katkıları Bilimsel Gıda Komitesi (SCF) tarafından değerlendirilir ve onaylanır. Bu komite AB tarafından bütün Üye Ülkelerden atanan bir grup bilimsel uzmandır. Gıda renk katkısının değerlendirilmesinde SCF, Kabul Edilebilir Günlük Alım Miktarı (ADI) tahsis eder. Bu değer, spesifik rengin hayat boyu her gün emniyetle tüketilmesi için komite tarafından hesaplanır[7].

2.5.1 "E" Numaralarının Anlamları

8000 in üzerinde gıda katkı maddesi bulunmaktadır. Bunlardan sadece 350-400 tanesi "E" numarasına sahiptir. Bir gıda katkı maddesinin Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımına müsaade edildi ise ona bir "E" numarası verilmiştir. Numaranın başındaki "E", EU (Avrupa Birliği) i simgelemektedir. Gıda katkı maddeleri gıda etiketlerinde farklı şekiller de ifade edilebilirler[7].

Çizelge 2.2 E numarası kodlaması[7].

E numarası	Adlandırma
E100-E180 Arası	Boyalar
E200-E297 Arası	Koruyucular
E300-E385 Arası	Antioksidanlar
E400-E466 Arası	Jelleştirici ve Koyulaştırıcılar

Gıda renkleri sadece verilen E numarası ile değerlendirilir ve bu Avrupa güvenlik onayını gösterir. İzinli gıda renkleri için AB deki çeşitli dillere karşı kolay ve kullanışlı bir etiketleme yöntemidir. Gıda renklerinin spesifik isimleri veya E numaralarıyla gıda bileşenleri etiketinde bulunması, tüketicilerin bilinçli seçim yapmalarını sağlar.

2.5.2 Renklendiricilerin verdikleri renkler [7].

Çizelge 2.3 Renklendiricilerin verdikleri renkler

Boya ismi	C. I. Hue Name	EEC No.	Verdiği renk
<u>Tartrazine</u>	Food Yellow 4	19140	
<u>Sunset Yellow FCF</u>	Food Yellow 3	15985	
<u>Carmoisine</u>	Food Red 3	14720	
<u>Ponceau 4R</u>	Food Red 7	16255	
<u>Amaranth</u>	Food Red 9	16185	
<u>Erythrosine</u>	Food Red 14	45430	
<u>Allura Red 40</u>	Food Red 17	16035	
<u>Chocolate Brown HT</u>	Food Brown 3	20285	
<u>Indigo Carmine</u>	Food Blue 1	73015	
<u>Brilliant Blue FCF</u>	Food Blue 2	42090	
<u>Quinoline Yellow (WS)</u>	Food Yellow 13	47005	
<u>Food Black PN</u>	Food Black 1	28440	
<u>Fast Green S</u>	Food Green 4	44090	
<u>Patent Blue V</u>	Food Blue 5	42051	
<u>Fast Red E</u>	FastRed E	16045	
Food Red 2G	Food Red 2G	18050	
Fast Green FCF	Food Green 3	42053	

2.6 Teknolojik Değerlendirmeler

Boyaların piyasaya arzı da değişik biçimlerde olmaktadır. Bilindiği gibi gıda ürünlerinin bileşimleri geniş farklılıklar göstermektedir. Bu denli değişik her tür gıda matriksinde başarı sağlanabilmesi için, boyaların suda veya yağda çözünme özellikleri kazandırılmış emülsifiye şekillerinin yanı sıra, maltodekstrin gibi taşıyıcılar üzerinde püskürterek kurutmayla elde olunan pudra halinde veya granüler preparatlar, sıvı veya macun kıvamlarında hazırlanmış şekilleri de geliştirilmiştir. Bir diğer özel ürün de, boyaların alüminyum oksit bir substrat üzerine yedirilmesi ile hazırlanan laklardır. Lak üretiminde, boyaların sudaki çözeltileri, suda çözülmez özellikte olan alüminyum oksit üzerine verilerek, boya alümina üzerinde çöktürülmekte, boyanın suda çözünürlük özelliği böylece ortadan kaldırılmaktadır. Laklar, çok küçük partikül ebatlı mikropulverize pudra şeklinde piyasaya verilmektedir[9].

Laklarla elde olunan boyama etkinliği, ilave şekli ve karıştırma gibi koşullardan daha çok etkilenmektedir. Fakat bu dezavantajına rağmen bazı durumlarda tercih edilmelerinin nedeni, inert özellikleri sebebiyle ekstrem pH derecelerinde, düşük rutubetli ürünlerde, ortamda metal iyonları varlığında ve son ürünün ışığa maruz kalmasının kaçınılmaz olduğu durumlarda daha güvenilir sonuçlar vermeleridir. Ayrıca iki değişik rengin bir arada arzu edildiği durumlarda (örneğin iki renkli çizgili şekerler), ürün rutubetlendiğinde boyaların migrasyonla birbirine karışması riski, lak kullanıldığında ortadan kalkmaktadır[9].

2.7 Doğal Renklendiricilerin Üretim Metotları[10].

Doğal renklendiriciler genellikle doğal maddelerden ekstraksiyon yoluyla elde edilmektedir. Son yıllarda verimi arttırmaya yönelik farklı metotlar da kullanılmaktadır. Üretim metotlarını 2 grupta toplamak mümkündür. Basit bir şekilde üretim metotları;

2.7.1 Öğütme Yöntemi

Bu yöntemle elde edilecek olan doğal renk maddeleri için öncelikle istenilen renk maddesine göre hammaddeler belirlenir, hammadde karıştırma, yıkama, kurutma ve öğütme işlemlerine maruz bırakılarak elde edilmektedir.

2.7.2 Ekstraksiyon Yöntemi

Bu yöntemle öğütme yönteminde olduğu gibi elde edilecek olan doğal renk maddeleri için öncelikle istenilen renk maddesine göre hammaddeler belirlenir, hammadde karıştırma, yıkama, kurutma, ekstraksiyon ve konsantrasyonun belirlenmesi işlemlerine maruz bırakılarak elde edilmektedir.

2.8 Renklendiricilerin Kullanım Alanları[11]

2.8.1 Alkolsüz İçecekler

Alkolsüz içeceklerde kullanılan renklendiricilerin ışık stabilitelerinin iyi olması ve asidik ortama, koruyucu maddelere ve lezzet verici maddelere karşı da iyi bir stabilite göstermeleri gerekmektedir. Askorbik asit, içeceklere vitamin aktivitesi ve antioksidan özelliğinden dolayı katılmakla birlikte, kimyasal tepkimeler sonucu özellikle yapay renklendiricilerde, renkte açılmaya neden olabilmektedir. Bu nedenle askorbik asidin kullanıldığı durumlarda doğal renklendiricilerin katılması önerilmektedir. İçeceklerde, askorbik asidin renklendiriciler üzerindeki etkisini engellemek için etilen diammin tetra asetik asit (EDTA) kullanımını belirli bir düzeye kadar etkili olmakla birlikte bu etkinin tamamen giderilmesi açısından yeterli olmamaktadır. Karmoisin, amarant, allura Red AC, Sunset Yellow FCF ve Tartrazin alkolsüz içeceklerde sıkça kullanılan yapay renklendiricilerdir. Ponceau 4R, Brown HT, Brilliant Blue FCF, Green S, kinolin sarısı ve indigo karmin gibi diğer renklendiricilerde kullanılmaktadır, meyve aromalı pek çok içekte de yapay renklendiriciler kullanılırken, kola ve biralar karamel ile renklendirilmektedir.

2.8.2 Fırın Ürünleri

Renklendiriciler; hamur ürünlerinde, bisküvilerde, kek kremlerinde ve kaplamalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hamurların yüksek nem içeriği nedeniyle renklendirici katılmasında çok fazla problem ortaya çıkmamaktadır. Ancak istenilen renk tonunun elde edilmesi çoğu kez problem olabilmektedir. Bu durum özellikle koyu renkli çikolata eldesi için geçerli olup yapay renklendiricilerin tek başına katılımları fazla miktarda renklendirici kullanımına yol açmakta, bu nedenle de bu gibi ürünlerde yapay renklendiricilerin doğal renklendiricilerle kombinasyonu önerilmektedir. Karamel, çavdar ekmeğinin renklendirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kekler, bisküviler, gofretler ve hububat ürünlerinde olduğu gibi, renklendiricilerin pişirme sırasındaki yüksek sıcaklıklara (250°C), karbondioksit ve bazı durumlarda alkali kabartma tozlarına karşı renk stabilitelerinin yüksek olması gerekmektedir. Bu özelliklere uygun olarak Ponceau 4R, Allura Red AC, Sunset Yellow FCF, Tartrazin ve Brown HT fırınlanmış ürünlerde en sık kullanılan yapay renklendiricilerdir.

2.8.3 Süt Ürünleri

Süt bazlı ürünlerde kullanılan renklendiricilerin pastörizasyon sıcaklıklarına ve ışığa karşı stabilitelerinin yüksek olması gerekmektedir. Karmoisin, Ponceau 4R, Amarant, Allura Red AC, Sunset Yellow FCF, Tartrazin, Eritrosin ve İndigo Karmin süt ürünlerinde sık olarak kullanılan yapay renklendiricilerdir. Dondurmalarda renklendiriciler sıvı formunda pastörizasyondan hemen sonra katılmaktadırlar. Hemen hemen tüm dondurma çeşitlerinde yapay renklendiriciler kullanılmaktadır. Dondurmalarda doğal renklendiricilerden Anatonun kullanıldığına bildirilmektedir. Dondurma külahları da çoğunlukla yapay renklendiricilerle renklendirilmekte ve genellikle Tartrazin ve Sunset Yellow FCF yi içeren renk karışımları kullanılmaktadır. Peynirlerde ise yapay renklendiriciler yeterince stabil olmadıklarından Anatto ve β -Karoten gibi doğal renklendiriciler tercih edilmektedir. Bazı peynir kaplamalarında, buz kremlerde, süt içeren bazı soslarda ve meyveli yoğurtlarda lake renklendiricilerin kullanımı önerilmektedir.

2.8.4 Şekerleme Ürünleri

Oldukça geniş bir renk aralığına sahip olan şekerleme ürünlerinin renklendirilmesinde kullanılan renklendiricilerin şekerin kaynama sıcaklıklarına (150°C), lezzet verici maddelere, şeker ve glikoz gruplarındaki SO₂ konsantrasyonuna karşı stabil olmaları gerekmektedir. Karmoisin, Ponso 4R, Amarant, Allura Red AC, Sunset Yellow FCF ve Tartrazin en çok kullanılan yapay renklendiricilerdir. Üretim sırasında ulaşılan yüksek sıcaklıklar renkte solma ve donuklaşmaya neden olduğundan, renklendiricilerin mümkün olduğunca işlemin son aşamalarında katılmaları gerekmektedir. Bu nedenle renklendiricinin şeker şuruplarındaki çözünürlüğünde yüksek olmalıdır. Katılan renklendirici maddenin oranı istenilen renk tonuna bağlı olup aşırı renklendirici kullanımı çekici olmayan donuk renklere neden olmaktadır. Çikletlerde, bonbon tipi şekerli tablet ve drajelerde yapay renklendiricilerin ağızda renk bırakmaları nedeni ile bu tip ürünlerde lake renklendiricilerin kullanımı önerilmektedir.

2.8.5 Kuru Karışım Ürünleri

Kuru toz içecekler, tatlılar, krema tozu, çorbalar ve soslarda yüksek çözünürlüğe sahip, ışığa dayanıklı renklendiricilerin kullanılmaları gerekmektedir. Bu tip gıdalarda kullanılan renklendirici madde orta dereceli ısısal işlemlere karşıda stabil olmalıdır. Karmoisin, Ponso 4R, Amarant, Allura Red AC, Sunset Yellow FCF ve Tartrazin en sık kullanılan yapay renklendiricilerdir. Bu tip ürünlerde maksimum rengi elde etmek için renklendirici maddenin iyi bir şekilde çözündürülmesi gerekmektedir.

2.8.6 Et ve Balık Ürünleri

Bu tip ürünlerde kullanılacak renklendiriciler elde edilecek ürünün işlem koşullarına uygun olarak kullanılmalıdır. Örneğin sosis eldesinde sosis hamuruna katılacak renklendiriciler koruyucu olarak katılan Bisülfid veya meta-Bisülfid formundaki kükürt dioksite karşı stabil olmalıdır. Karmoisin, Ponso 4R, Red 2G, Allura Red AC, Tartrazin ve Eritrosin bu amaçla kullanılabilen en uygun renklendiricilerdir. Et ve balık hamurları ise sterilizasyon sıcaklıklarına uygun stabiliteye sahip renklendiricilere ve parlak renklere gereksinim duyarlar. Red 2G, Sunset Yellow FCF, Brown HT, Green S ve Eritrosin bu amaç için en uygun renklendiriciler olarak gösterilmektedir.

2.8.7 Konserve Meyve ve Sebzeler

Konserve edilerek üretilen gıdalarda kullanılacak renk maddelerinin yüksek sterilizasyon veya pişirme sıcaklıklarını ve asidik ortam koşullarına karşı dayanıklı olması gerekmektedir. Konserve gıdalardaki herhangi bir asidik bileşen metal kap üzerinde korozyon oluşturarak renk stabilizesini bozan koşulların oluşmasına neden olabilmektedir. Karmoisin, Ponso 4R, Amarant, Allura Red AC, Sunset Yellow FCF, Red 2G ve indigo karmin konserve meyvelerde en çok kullanılan yapay renklendiricilerdir. Antosiyaninler, β -Karoten, Koşineal, Klorofil gibi doğal renklendiricilerde konserve meyve sebze ürünlerinde kullanılmaktadır.

2.8.8 Tabletler, Şuruplar ve Kapsüllerde

Farmasötiklerde gıdalarda olduğu gibi çeşitli teknoloji uygulamalarına bağlı ortaya çıkan olumsuz renk özelliği, tüketiciler göz önüne alındığında, olumsuz görünümü ortadan kaldırmak üzere renklendirilmektedirler.

2.9 Besinlere ve Farmasötiklere Katılacak Katkı Maddelerinin Miktarının Belirlenmesi

Besinlere ve farmasötiklere katılacak katkı maddesinin maksimum miktarının belirlenmesi için katkı maddesinin ADI (Acceptable Daily İntake); günlük alınabilecek miktarının bilinmesi gereklidir. Katkı maddesinin ADI değeri toksikolojik testlerle saptanır. Deney hayvanlarında öldürücü dozda (lethal = LD50: deney hayvanlarının %50 sinin ölümüne neden olan doz) katkı maddesi verilir. Daha sonra doz azaltılarak doz-cevab ilişkisi araştırılır. Her dozda; katkı maddesinin emilimi, metabolizması ve atımı incelenir. Deney hayvanlarının hücre, doku ve organları incelenerek, karsinogenik, mutajenik, teratojenik ve alerjik etkileri araştırılır. Bu çalışmalarda çeşitli disiplinler görev alır [12].

Bunlar ;

Kimya : Katkı maddesinin analizi

Biyokimya : Katkı maddesinin metabolizması

Hematoloji : Kan bulguları

Bakteriyoloji : Mutojenik testler

Veteriner patoloji : Klinik ve histolojik incelemeler, otopsi

İstatistik : Verilerin analizi ile ilgili çalışmaları yapar

Çalışmalar sonunda katkı maddesinin hiçbir etkisinin bulunmadığı bir doz elde edilmezse katkı maddesinin besinlere ve farmasötiklere katılmasına izin verilmez. Şayet deney hayvanına hiçbir zıt etki göstermeyen bir doz elde edilirse, bu doz ‘’etkisiz doz’’ veya NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) olarak tanımlanır. NOAEL dozu ile deney hayvanlarının yaşam süresinin %85 ini kapsayacak sürede deneye devam edilir. Ancak bu doz deney hayvanının vücut ağırlığının kilogramı başına mg olarak saptanmış dozdur ve insandaki etkileri bilinmemektedir. Deney insanlar üzerinde de etik nedenlerle yapılamayacağından, güvenlik faktörü kullanılır. Güvenlik faktörü genellikle 100 dür. Yani deney hayvanında hiçbir etki göstermeyen dozun 1/100 ü insan için kabul edilir. (ADI = NOAEL/100). Böylece günlük alınabilecek miktar (ADI) insanın vücut ağırlığının kiloogramı başına mg olarak belirlenir[13].

Günlük maksimum alım = ADI x Vücut ağırlığı şeklinde saptanır.

Besinlere ve farmasötiklere katılacak katkı maddesinin maksimum miktarının saptanmasında 2. aşama besinin üretim teknolojisinin gerektirdiği miktarın (Good Manufacturer Practice = GMP = Uygun Üretim Teknolojisi) ADI çerçevesinde belirlenmesidir. Eğer GMP miktarı ile ADI değeri aşıyorsa katkı maddesinin kullanılmasına izin verilmez. ADI değeri GMP ile aşılmıyor ise, bilinmesi gereken 2 veri daha vardır. Bunlardan biri katkı maddesinin kaç çeşit besine katılacağı, ikincisi ise bu besinlerin tüketim düzeyidir. Özetlersek besine katılacak katkı maddesinin maksimum miktarının belirlenmesi için:

- a. ADI (mg/kg) değeri
- b. Besinin üretim teknolojisinin gerektirdiği miktar (GMP)
- c. Katkı maddesinin kaç besine katılacağı
- d. Besinlerin ortalama günlük tüketim miktarının belirlenmesi gerekir.(13)

Çizelge 2.4 Sentetik renklendiricilerin günlük alınabilirlik miktarı [14]

E Kodu	Sentetik Renklendirici	Günlük Miktarı (mg/kg)
E100	Kurkumin	1
E101	Riboflavin	0.5
E102	Tartrazin	0.5
E104	Kinolin Sarısı	10
E110	Sunset Yellow	2.5
E122	Karmosin	4
E124	Ponceau 4R	4
E129	Allura Red	7
E127	Eritrosin	5
E132	Indigotin	4

2.10 Renklendiriciler ve Özellikleri

Çizelge 2.5 Renklendiriciler ve Özellikleri[14]

RENKLENDİRİCİLER		
Kod No	İsim	Açıklamalar
E100*	Kurkumin	Kurkuma (turmerik) bitkisinin köklerinden elde edilir, suni olarak da üretilir; peynir, margarin ve fırın tatlılarında kullanılır.
E101*	Riboflavin, Riboflavin-5'- phosphate	'B2 vitamini' ve renklendirici; doğal olarak sebzelerde bulunur; yumurta, süt, karaciğer ve böbrekten de elde edilir; margarin ve peynirde kullanılır.
E102*	Tartrazin	Tiroid tümörü, kromozom hasarı, kurdeşen, hiperaktivite ve aspirin duyarlılığı gibi rahatsızlıklara sebep olabilir; renkli içecek, tatlı, reçel, unlu gıdalar, çerez, konserve balık ve hazır çorbalarda kullanılır; Norveç ve Avusturya'da yasaklandı.
E104*	Kinolin Sarısı	Ruj, saç bakım ürünleri, kolonya üretimi ve eczacılıkta kullanılır; deri rahatsızlığına neden olur;Avustralya, Amerika ve Norveç'te yasaklandı.
E107*	Yellow 7G	Astımlılarda alerjik reaksiyon görülebilir; tipik ürünler hafif içeceklerdir; HACSG ² sakınılmasını öneriyor; Avustralya ve Amerika'da yasaklandı.
E110*	Sunset Yellow FCF, Orange, Yellow S	Sentetiktir; Farmasötiklerde, unlu gıdalar, pasta, tatlı, çerez, dondurma, içecek ve konserve balık, hazır çorba ve bazı şurup cinsi ilaçların üretiminde kullanılır; yan

		etkileri kurdeşen, rinit (burun akması), burun tıkanıklığı, alerji, hiperaktivite, böbrek tümörü, kromozom hasarı, karın ağrısı, bulantı ve kusma, hazımsızlık ve iştahsızlıktır; Norveç'te yasaklandı.
E120**	Karmin, Karminikasit Kosinal	Böceklerden elde edilir; kozmetiklerde, şampuanlarda, kırmızı elma sularında, şekerlemelerde ve diğer gıdalarda kullanılır; hassas ve astmatik bünyelerde alerjik reaksiyonlara sebep olabilir.
E122*	Azorubin, Karmoisin	Kömür katranı türevi; astımlılar ve aspirin alerjisi olanlarda kötü reaksiyonlar yapabilir; tipik ürünler şekerleme, marzipan ve jölelerdir; ısvaç, Amerika, Avusturya ve Norveç'te yasaklandı.
E123*	Amarant	Aynı ismi taşıyan bir ottan üretilir; kek, meyve tatlı dolgular ve jölelerde kullanılır; astım, egzama ve hiperaktiviteye neden olur; bazı hayvanlara yapılan testlerde doğum kusurları ve cenin ölümleri görölmüştür, kanserojen olabilir; Avusturya, Amerika, Rusya, Norveç ve diğer bazı ölkelerde yasaklandı.
E124*	Ponso 4R,Kosinal red A	İlaçlarda, sentetik kömür katranı; hayvanlarda kanserojen, astımlılar ve aspirin alerjisi olanlarda kötü reaksiyonlar yapabilir; Amerika ve Norveç'te yasaklandı.
E127*	Eritrosin	İlaçlarda, kiraz ve vişne, konserve sebze, muhallebi, tatlı, pasta,bisküvi ve çerezlerde kullanılır; ışığa karşı duyarlılığa ve troid hormonu seviyesini artırıp hipertroidizm'e

		neden olabilir; farelerde yapılan çalışmada troid kanserine neden olduğu saptanmıştır;Avustralya, Amerika ve Norveç'te yasaklandı.
E128*	Red 2G	Sentetik kömür katranı; kan hemoglobini ile karışma ihtimali vardır; çocuklar tarafından kullanılması tavsiye edilmiyor; dondurma, puding, meyvalı veya aromalı yoğurt, pişmiş ya da pişmemiş et ürünleri, sucuk, salam, sosis Marmelat ve içeceklerde kullanılır. Pek çok ülkede yasaktır.
E129*	Allura red AC	Sentetiktir; tatlılar, içecek ve garnitürlerde, eczacılık ve kozmetik ürünlerinde kullanılır; astım ve aspirin hassasiyeti olan insanlar için risklidir; farelerde kanser oluşturduğu saptanmıştır; çocuklar tarafından tüketilmesi tavsiye edilmiyor;Danimarka, Belçika, Fransa, Almanya, İsviçre, İsveç, Avusturya ve Norveç'te yasaklandı.
E131*	Patent blue V	Alerjik hassasiyete sahip insanlar kaçınmalıdır; kurdeşen, kaşıntı, tansiyon düşüklüğü, titreme ve solunum problemleri oluşturabilir; çocuklarda kullanılması tavsiye edilmez. Avustralya, Amerika ve Norveç'te yasaklandı.
E132*	Indigotin, Indigokarmin	Sentetik kömür katranı türevidir; yaygın olarak tablet ve kapsüllere eklenir; ayrıca dondurma, tatlı, fırınlı mamuller, şekerleme ve bisküvilerde kullanılır; bulantı, kusma, yüksek tansiyon, deri döküntüsü, solunum sorunları ve diğer alerjik reaksiyonlara neden olur. Norveç'te yasaklandı.

E133*	Brilliant blue FCF	Sentetik kömür katranı; mandıra ürünleri, tatlılar ve içeceklerde kullanılır; çocukların tüketmesi tavsiye edilmiyor, Belçika, Fransa, Almanya, İsviçre, İsveç, Avusturya ve Norveç'te yasaklandı.
E140*	Klorofil	Doğal olarak tüm bitkilerde bulunur; mum ve yağların boyanmasında, eczacılık ve kozmetik ürünlerde kullanılır.
E141*	Klorofil bakırkompleksi	Bazı peynir çeşitlerinde, çiklette, dondurmada, sos ve çorbalarda kullanılır; bilinen bir yan etkisi yoktur.
E142*	Green S	Sentetik kömür katranı türevidir; konserve bezelye, nane jöle ve soslarda, paketlenmiş ekmek kırıntısı ve kek karışımlarında kullanılır; hiperaktiviteye, astıma, uykusuzluğa sebep olduğu bilinmektedir; çocuklar için tavsiye edilmemektedir. İsveç, Amerika ve Norveç'te yasaklandı.
E150	Karamel	Şekerden yapılır; istiridye, soya, meyveler, konserve soslar, çikolata, şekerleme, bisküvi ve turşularda kullanılır. Çocuklar için tavsiye edilmiyor.
E151	Brilliant Black BN, Black PN	Kömür katranı; tatlılar, balık ezmesi, aromalı sütlü içecekler, dondurma, hardal, marmelatlar, soslar, kekler ve içeceklerde kullanılır; Danimarka, Belçika, Fransa, Almanya, İsviçre, İsveç, Avusturya, Avustralya, Amerika ve Norveç'te yasaklandı.
E153*	Bitkisel Karbon	Mangal kömürü, kemik, et, kan, katı ve sıvı yağlardan elde edilir; reçel, jöle ve meyhan

		kökünde kullanılır; kanserojen olma riskinin yanında hayvan kökenli olanları haram riski taşır. Çocuklar için tavsiye edilmez. Amerika'da yasaklandı.
E154*	Brown FK	Sentetik 6 boya maddesinin karışımından oluşur; kurutulmuş balık, tütsülenmiş balık, pişirilmiş jambon ve cipslerde kullanılır; çocuklar için önerilmez; Amerika'da ve pek çok ülkede yasaklandı.
E155*	Brown HT (Chocolate)	Kömür katranı; çikolatalı keklerde kullanılır; astımlılar ve aspirin alerjisi olanlarda kötü reaksiyonlar yapabilir; deri duyarlılığına neden olduğu bilinir; Danimarka, Belçika, Fransa, Almanya, İsviçre, İsveç, Avusturya, Amerika ve Norveç'te yasaklandı.
E160(a)*	Karoten, alfa-, beta-, gamma-	İnsan vücudu onu karaciğerde 'A Vitamin'ine dönüştürür; havuçta, turunçgillerde ve sebzelerde bulunur; tereyağ, margarin, kek, sütlu içecekler ve meyve sularında kullanılır; bazı üreticilerin stabilizatör olarak jelatin kullandıkları bilinmektedir.
E160(b)*	Annatto (Arnatto, Annato), bixin, norbixin	'Bixaorellana' ağacından elde edilir; peynir, tereyağı, margarin, unlu gıdalar, çerez, çorba ve içeceklerde kullanılmaktadır; ayrıca eczacılıkta (balgam sökücü olarak) ve tekstil sektöründe kullanılır;jelatinle karışık bulunabilir; kurdeşene neden olduğu bilinir,HACSG ² sakınılmasını öneriyor.
E160(c)*	Paprika ekstrakt, Kapsanthin,	Kırmızı biber çekirdek ve tohumlarından elde edilir; kümes hayvanı gıdaları, dilinmiş

	Kapsorubin	peynirlerde kullanılır; jelatinle karışık bulunabilir; bazı ülkelerde yasaklandı.
E160(d)*	Likopen	Domates ve pembe greyfurttan üretilir; kanser riskini azaltabilir; jelatinle karışık bulunabilir.
E160(e)*	Beta-apo-8'Karotenol (C 30)	Sentetik; dilimlenmiş peynirde kullanılır; bilinen yan etkisi yok; jelatinle karışık bulunabilir.
E160(f)*	Etil ester of beta-apo-8'-karotenik asid (C 30)	Bilinen yan etkisi yok; alkolle muamele edilmiş olabilir.
E161*	Lutein, Kantaksantin	Doğal olarak yeşil yaprakta, kadife çiçeği ve yumurta sarısında bulunur,
E162*	Betanin	Pancardan elde edilir; bilinen yan etkisi yok.
E163*	Antosiyaninler	Çiçek ve bitki kaynaklıdır.
E170*	Kalsiyum karbonat	Hem renklendirici hem mineral tuz; kaya minerali veya kemikten elde edilir; diş macunu, beyaz boya, temizleme tozları, bisküvi, ekmek, kek, dondurma, dondurulmuş konserve sebze ve meyvede ve ilaçlarda kullanılır; yüksek dozlarda zehirlidir; safra, böbrek taşı, hemoroid, kabızlık ve fistül kanamalarına sebep olabilir.
E171	Titanyum dioksit	Diş macunu ve beyaz boyada pek çok ilaçta bazı peynir çeşitlerinde, krema ve soslarda kullanılır; kan, beyin ve bezlerde, lenf düğümleri ve akciğerde yüksek konsantrasyon oluşturabilir. Almanyada yasaktır.

E172	Demir oksit ve hidroksit	Som balığı ve karides ezmesinde kek, pasta ve tatlılarda kullanılır; yüksek dozlarda zehirlidir. Almanyada yasaklanmıştır.
E173	Aluminyum	Draje, şekerleme, keklerde, tabletlerde dekorasyon maksadı ile kullanılır; bazı ülkelerde yasaklandı.
E174	Gümüş	Çikolatalı şekerlemeler ve drajelerde kullanılır; aşırı dozlarda önemli rahatsızlıklara sebep olur; bazı ülkelerde yasaklandı.
E175	Altın	Çikolatalı şekerlemelerde drajelerde kullanılır; bazı ülkelerde yasaklandı.
E180*	Litolrubin BK	Astım, rinit ve cilt hastalıklarına sebep olabilir. Bazı ülkelerde yasaklandı.
E181	Tannik asit	Alkolde berraklaştırma ajanı; fındık ve oak ağacı dallarından elde edilir; doğal olarak çayda bulunur.
<input type="checkbox"/> İşaretsiz "siyah" E numaraları helal kabul edilen katkıları gösterir. <input type="checkbox"/> "***" işaretleri kesin hayvan (çoğunlukla domuz) kökenli katkıları gösterir. <input type="checkbox"/> "*" Bitkisel veya hayvansal kökenli olabilir. Alkolle muamele edilmiş veya edilmemiş olabilir. Bu sebeple (şüpheli) kabul edilen katkıları gösterir.		

2.11 Çalışmada Kullanılan Renklendiriciler Hakkında Genel Bilgi[15,16,17]

2.11.1 Ponceau 4R (E124)

Türk Standartları Enstitüsü standardı TS 9688 24.12.1991

Gıda kırmızısı 7, CI 16255, Kosinal kırmızı A

Kaynağı: Sentetik azo boyası.

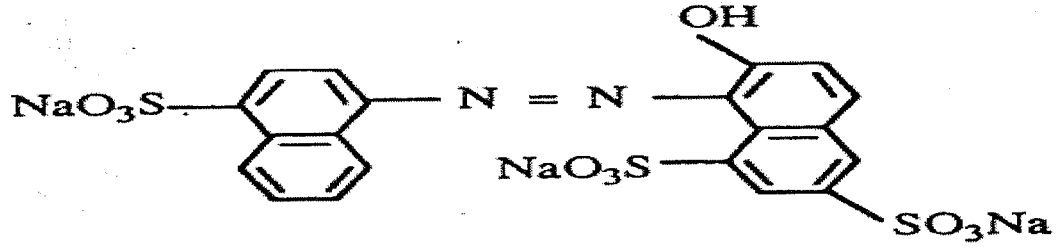
Fonksiyon ve Özellikleri: Kırmızı gıda renklendiricisi. Suda çok çözünür.

Kabul edilebilir günlük alım miktarı: Vücut ağırlığı üzerinden 4 mg/kg.

Yan etkileri: Azo boyası olduğundan beri, insanlarda salisilatlar intolerans oluşturmaktadır.

Buna ek olarak, histamini serbest bırakır ve astım belirtilerini yoğunlaştırır. Benzoatlarla kombinasyonlar halinde, çocuklarda hiperaktiviteye dahi yol açabilir.

Molekül Formülü :



2.11.2 Kinolin Sarısı (E104)

CI 47005, Gıda sarısı 13

Kaynağı: Sentetik olmayan azo boyası.

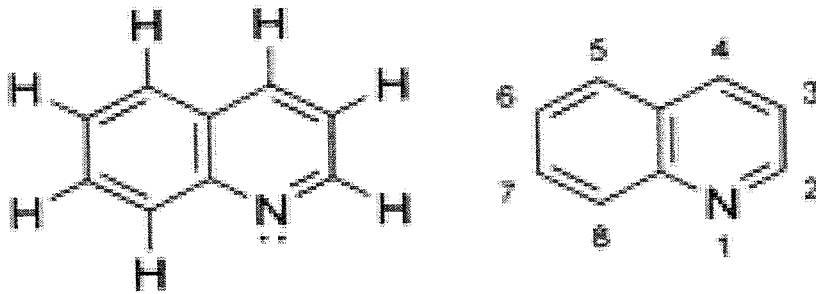
Fonksiyon ve Özellikleri: Sarı gıda renklendiricisi. Suda çok çözünür.

Kabul edilebilir günlük alım miktarı: Vücut ağırlığı üzerinden 10 mg/kg.

Yan etkileri :

Histamin serbest bırakıcısı olarak rol oynamasına rağmen, kullanılan konsantrasyonlarda yan etkisi bilinmemektedir.

Molekül Formülü:



2.11.3 Sunset Yellow (E110)

Türk Standartları Enstitüsü standartı TS 6225 13.12.1988

Gıda sarısı 3, CI 15985

Kaynağı: Sentetik azo boyası.

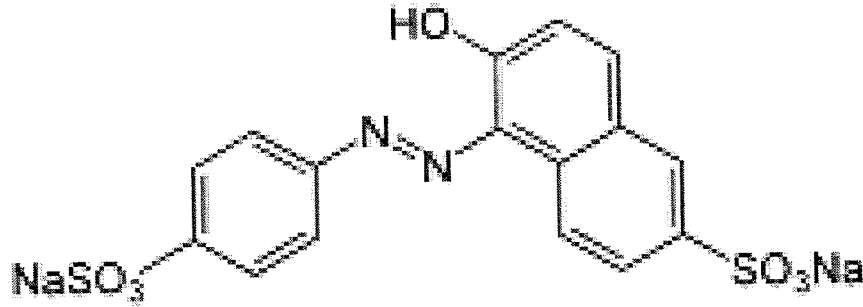
Fonksiyon ve Özellikleri: Sarı gıda renklendiricisi. Suda çok çözünür.

Kabul edilebilir günlük alım miktarı: Vücut ağırlığı üzerinden 2.5 mg/kg.

Yan etkileri :

Azo boyası olduğundan beri, insanlarda salisilatlar intolerans oluşturmaktadır. Buna ek olarak, histamini serbest bırakır ve astım belirtilerini yoğunlaştırır. Benzoatlarla kombinasyonlar halinde, çocuklarda hiperaktiviteye dahi yol açabilir.

Molekül Formülü :



2.11.4 Eritrosin (E127)

Türk Standartları Enstitüsü standartı TS 6226 13.12.1988

CI 45430

Kaynağı: Sentetik iyodin içeren kırmızı boya.

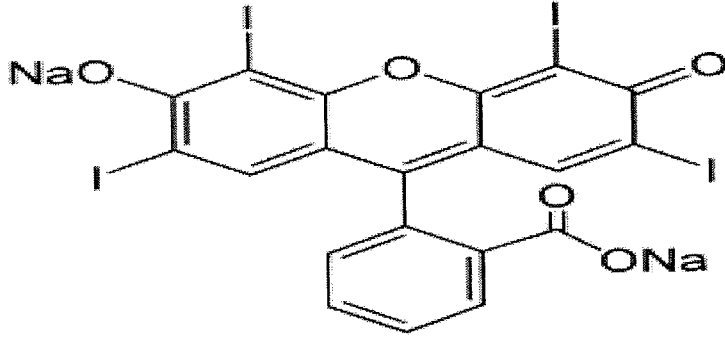
Fonksiyon ve Özellikleri: Kırmızı gıda renklendiricisi. Suda çok çözünür.

Kabul edilebilir günlük alım miktarı: Vücut ağırlığı üzerinden 0.1 mg/kg.

Yan etkileri :

Gıdalarda kullanılan konsantrasyonlarında bazı yan etkileri vardır. Birkaç olayda hiperaktiviteyi yükselttiği rapor edilmiştir, mutajenlerle bağlantılı olma olasılığı vardır. Eritrosin güneş ışığına duyarlılığı ile insanlarda ışığa duyarlılığın yükselmesine neden olur. Eritrosinin yüksek konsantrasyonları iyot metabolizmasıyla zarar verir. Bununla beraber, bu konsantrasyonlara gıdanın direkt kompozisyonlarında ulaşamaz.

Molekül Formülü :



2.11.5 Indigotin (E132)

Türk Standartları Enstitüsü standardı TS 9687 24.12.1991

CI 73015

Kaynağı : Mavi renklendirici, doğal olarak *Indigofera tinctoria* çalısının yapısında bulunur, ticari olarak sentetik üretilir.

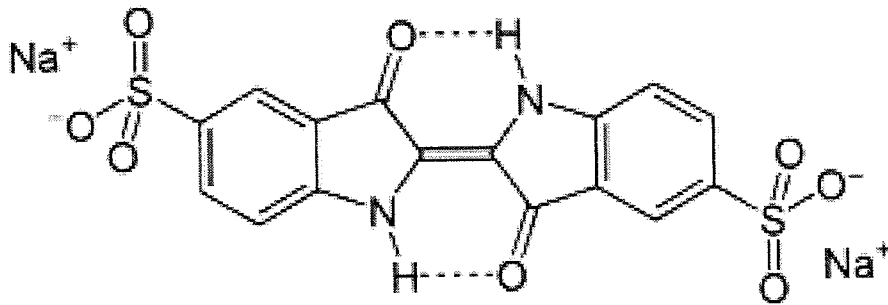
Fonksiyon ve Özellikleri: Mavi gıda renklendiricisi. Suda çok çözünür.

Kabul edilebilir günlük alım miktarı: Vücut ağırlığı üzerinden 5 mg/kg.

Yan etkileri :

Gıdalarda kullanılan konsantrasyonlarında nadiren yan etkileri görülür. Seyrek olarak alerjik reaksiyonlar tanımlanmıştır, bunlar renklendiricinin (vücut) proteinlere bağlanması yüzündendir. Histaminin serbest bırakılmasından sorumludur.

Molekül Formülü :



2.12 Renklendiricilerin Etkileri[18,19,20]

Yapılan araştırmalar bazı renklendiricilerin çocuklarda hiperaktiviteye yol açtığını göstermiştir. Ayrıca uzmanlar; gıdalara kırmızı rengini veren “Karmen kırmızısı”nın alerjiye neden olduğunu, hatta devamlı tüketilmesi halinde lme götüren çok yaratabildiğine dikkat çekiyor. Uzmanlar renk verici maddelerin insanlardaki kanser riskini %30 arttırdığı konusunda uyarıyor. Aynı zamanda çoğu renklendiricilerin alerjiye yol açtığı grlmştr. İngiltere’deki Southampton niversitesi tarafından yapılan bir araştırma ise, renklendirici denilen boya katkı maddelerinin hiperaktif çocukları olumsuz etkileyebileceğini göstermiştir. Çalışma sonunda; 8-9 yaş arası çocukların boya katkılarından olumsuz etkilendiği tespit edildi. 3 yaş grubu çocuklarının ise bunların kana sadece bir kez karışmasıyla bile olumsuzluk yaşadıkları belirlendi. Bazı katkı maddeleri (renklendiriciler gibi) aşağıdaki bulgulardan birinin veya daha fazlasının oluşmasını tetikleyebilir:

- * Dikkat Sürdürüm Bozukluğu / Hiperaktivite Sendromu
- * Alerji
- * Astım
- * Otizm, yaygın gelişimsel bozukluk, enüresis (altına idrar kaçırma)
- * Davranış bozuklukları
- * Depresyon, duygu durum değişiklikleri
- * Kulak ağrıları, kronik orta kulak iltihabı
- * Gz problemleri
- * G6PD Enzim eksikliği, mide-barsak problemleri, mide ağrısı
- * Baş ağrısı, migren
- * Nazal polip
- * Cilt problemleri, egzema, rtiker
- * Uyku problemleri
- * Tikler, Tourette sendromu

2.13 Sentetik Renklendiricilerin Analiz Yöntemleri

Gıda ve farmasötiklerde sentetik renklendiricilerin tanımlanması için özellikle řu sebeplerden dolayı iyi ve tanımlanmış kesin ve doğru metotlara ihtiyaç vardır:

- * Gıda ve farmasötiklerde sentetik renklendiricilerin var olup olmadığını belirlemek için,
- * Var olan renklendiricilerin miktarını belirlemek için,
- * Gıda ve ilaçlarda beyan edilmeyen boyaların yokluğunun doğrulanması için,

* Proses ve depolama sırasında boyaların stabilitesinin kontrolü için.

Ayrıca sentetik renklendiricilerin kullanımlarının mevzuatlarla yasallaştırılması, bu maddelerin tayinleriyle ilgili yöntemlerin geliştirilmesi gereğini ortaya çıkarmıştır. Suda çözünen sentetik organik boyaların analizlerinde yün boyama yöntemi, kağıt kromatografisi (PC), ince tabaka kromatografisi (TLC), kolon kromatografisi (CC), gaz kromatografisi (GC), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) , spektrofotometrik tekniklerden yararlanılmaktadır[18,19,20].

2.13.1 Kalitatif Analiz Yöntemleri

Karışımlardaki boyaların tek tanımlanması kalitatif TLC, HPLC veya HPLC parmak izi ile yapılır.

Sırasıyla analiz protokolü 3 aşamadan oluşur:

- Su veya başka uygun çözücünden boyanın ekstraksiyonu,
- Arıtma veya renklendirici konsantrasyonu,
- Hedef molekülün tespiti ile çiftlerin ayrılması.

Örneğin, 5 farklı sentetik boya (tartrazin, sunset yellow, ponceau 4R, amaranth ve brillant blue FCF) içecek ve şekerlerden pH 4'te poliamid adsorpsiyonu ile ayrılmıştır[21].

2.13.1.1 Yün Boyama Tekniği[21]

Bu yöntem, asidik boyaların sulu asetik asit çözeltisinde, bazik boyaların amonyak çözeltisinde yağı alınmış beyaz renkli yünü boyaması ilkesine dayanmaktadır.

Yün İpliklerinin Hazırlanması : Ham yün ipliklerinin yağı sokselet cihazında petrol eter ile birkaç kez ekstre edilerek alınır. Kuruduktan sonra %5'lik NH₃ solüsyonu ilave edilerek 80 °C'deki su banyosunda 1 saat tutulur. En son aşamada saf su ile bolca yıkanarak kurumaya bırakılır. Temiz ve kuru yünler cam kap içerisinde muhafaza edilir.

Yün Boyamanın Yapılması : Renklendirici içeren gıda veya farmasötik numunesi bir beherde distile su ile çözülür. Birkaç damla asetik asit çözeltisi ile ortam asitlendirilerek yukarıdaki şekilde yağı alınmış yün ipliklerden bir miktar konur. Beher 60 °C'deki su banyosuna konarak ortamdaki renklendiricilerin yün iplikleri tarafından absorblanması için yarım saat kadar tutulur. Daha sonra yün iplikleri beherden alınarak distile su ile yıkanır. Renklendiriciler yün tarafından tutulmuş, su ile yıkama sonucu akıyor ise sentetik boya, akarak yünü terk ediyor ise doğal renklendirici olduğu anlaşılır. Boyalı yün iplikleri bir beherde konur. Üzerine 10 ml. % 5'lik NH₃ çözeltisi ilave edilerek su banyosunda 30 dakika ısıtılır.

Sentetik renklendiriciler amonyaklı ortamda yün ipliklerden ayrılırlar. Renklendiriciler kuruluğa kadar su banyosunda tutulur.

2.13.1.2 İnce Tabaka Kromatografi Tekniği ve Uygulanması

İnce tabaka kromatografisi karışımdaki bileşenlerin sayısının belirlenmesi, belirli maddelerin karışımda olup olmadığının belirlenmesi, reaksiyonun yürüyüşünün kontrol edilmesi gibi pek çok amaçla yapılmaktadır. İTK'da en yaygın kullanılan adsorbanlar silikajel, alümina ve selülozdur. İTK'nın uygulanmasında az miktardaki madde karışımı adsorban tabakanın bir ucuna damlatılır, plaka kapalı bir geliştirme tankına daldırılır, kapiler etkiyle yürütücü çözücünün tabakanın yukarisına kadar ilerlemesi beklenir, uygun bir şekilde görünür hale getirilen spotlar değerlendirilir[22].

Renkli çözelti ayırma hunisine alınarak üzerine Amberlit reçine çözeltisi eklenir. Ayırma hunisine halka konularak ayrılması beklenir. Fazlar ayrılıncaya kadar doymuş amonyum sülfat eklenerek alt tabaka atılır. Ayırma hunisinde kalan çözeltiye su ilavesiyle fazların ayrılması beklenir. Suyun pH'sı asidikse yıkama işlemi yapılır. Ayrılmış olan sulu faz alınır. Reçine tabakasından boya, amonyak çözeltisi ile çalkalanarak alınır. Kromatografi plağına numune ve standart boya çözeltileri uygulanır. Sonra plak alınarak kurutulur ve spotların ilerlediği mesafe ölçülür. Rf değerleri kıyaslanarak ekstrakte edilen boyaların neler olduğu saptanır[22].

2.13.2 Kantitatif Tayin Yöntemleri

2.13.2.1 Spektrofotometrik Yöntemler

Buket Er ve arkadaşları birinci derece türev spektrofotometresi yöntemi kullanarak Ankara piyasasından sağlanan reçel, meyveli yoğurt, elmalı şeker gibi örneklerden oluşan gıda maddelerinden ponso ve karmosin boyaalarının kantitatif tayinleri üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir[23].

Erdal Dinç ve arkadaşları sunset yellow, tartrazine ve allura red boyaalarının oran spektrofotometrik yöntem ile tayini üzerinde çalıştılar. Alkolsüz toz içeceklerde bulunan 2-8 ppm sunset yellow, 4-18ppm tartrazine ve 2-8 ppm allura red boyaalarının kantitatif tayini 0,1 M HCl'li ortamda yapılmışlardır[24].

Abbas Afkhami ve arkadaşları üçlü karışımların analizi için oran spektrofotometrik yöntem kullanmışlardır. Methodu geliştirerek sonuçları PLS method ile kıyaslamışlardır[25].

Mashru ve arkadaşları üçlü karışımlardaki tatlandırıcılar için türev spektrofotometrik yöntemde çalışmışlardır. Validasyon çalışmaları ile LOD, LOQ, F ve T testi uygulanarak

değerlendirmeler yapılmıştır[26].

Rasha ve arkadaşları yeni spektrofotometrik yöntem olan ikili oran yöntemini üçlü karışımlara uygulamışlardır. Doğruluk, kesinlik, güvenilirlik, LOD ve LOQ değerlendirmeleriyle de bütün validasyon çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir[27].

Sriphong ve arkadaşları türev spektrofotometrik yöntemi tabletlere uygulayarak kantitatif tayin gerçekleştirmişlerdir. Validasyon çalışmaları ile de doğruluk ve güvenilirlikler saptanmıştır[28].

Pourrezza ve arkadaşları karmosin ve brilliant blue boyar maddeleri için spektrofotometrik yöntemler üzerinde çalışmışlardır[29].

Oveisi ve arkadaşları karmosin ve ponso boyar maddeleri için spektrofotometrik yöntemler üzerinde çalışmışlardır[30].

Eliane C. Vidotti ve arkadaşları spektrofotometrik yöntemleri kullanarak Amarant, Brilliant Blue, Sunset Yellow ve Tartrazin boyalarını içeren numune üzerinde çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Birinci türev yöntemiyle elde ettikleri sonuçları HPLC sonuçlarıyla karşılaştırarak yakın değerler elde ettiklerini bildirmişlerdir[31].

Tateo ve arkadaşları farklı bir spektrofotometrik yöntem olan Tandem Mass Spektrofotometri'yi likit kromatografi ve electro sprey methodu ile birlikte kullanmıştır. Dimetil sarı boyanın nitel ve nicel olarak çalışmasını gerçekleştirerek %100-%105 arasında bir verim elde etmişlerdir. Nicel değerlerin tatmin edici sonuçlar ortaya koyduğunu görmüşlerdir[32].

Güzin Alpdoğan ve Mahmure Üstün Özgür yaptıkları çalışmada üçlü boya karışımının tayini için türev spektrofotometrik yöntemi kullanmışlardır. Bu 3'lü boya karışımı toz içeceklerde Karmosin, Tartrazin, ve Pancar Kırmızısı (E110, E102 ve E162)'dir. Önerilen yöntem bu boyaların tayini için uygulanmıştır ve RP-HPLC 'de referans yöntem olarak uygulanmıştır. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi her 2 yöntem arasında iyi uyum olduğunu doğrulamıştır. Fakat uygulanması kolay, hızlı ve ucuz olduğu için türev spektrofotometrik yöntem daha avantajlıdır[33].

Yüksel Özdemir ve Ayşe Arzu Akkan yaptıkları çalışmada karmosin ve patent blue V boyalarını 1.türev spektrofotometrisiyle ikili karışımlarda tespit etmişlerdir. Bu yöntem farklı jelatin şekerlemelerine uygulanmıştır. 1. türev yöntemi örnekteki bulanık zemini elimine etmemiştir. Bir C18 kartuş içeren basit bir ayırma sisteminde back ground düzeltme prosedürü içeren örnek hazırlama basamağı uygulandıktan sonra jelatin şekerlemelerinde boyaların 1. türev spektrofotometrisiyle tayini gerçekleştirilmiştir. Farklı örneklerdeki karmosin ve patent

blue V için geri kazanım genellikle % 90'dan daha yüksektir. Bu yöntem ayrıca boyaların analizinin hızlı, doğru ve ekonomik olmasını sağlar[34].

J. Joseph Charles ve arkadaşları birinci türev spektrofotometrik metodu kullanarak farmasötik şuruplardaki iki bileşenin (Eritrosin, E127) ve (Sunset Yellow, E110) bir arada tayinini gerçekleştirmişlerdir[35].

Yongnian ve arkadaşları kemometrik amaçla karışımlardaki Amaranth, Ponceau 4R, Sunset Yellow, Tartrazin ve Brilliant Blue boyalarının birlikte tayini için basit ve hassas kinetik spektrofotometrik yöntemini kullanmışlardır. Her bir boya için deteksiyon limiti 0,04-0,50 µg/ml aralığındadır. Gıda maddelerindeki 5 boyanın birlikte tayini için bu yöntem kullanılmış ve sonuçlar referans HPLC yöntemiyle karşılaştırılmıştır[36].

Gülderen Yentür ve arkadaşları yaptıkları araştırmada Ankara piyasasından sağlanan reçel, meyveli yoğurt, meyve suyu, alkolsüz içecek, elma şeker örneklerinden oluşan toplam 160 gıda maddesinde bazı sentetik boyaların saptanmasını amaçlamıştır. Bütün örneklerde Tartrazin, Quinoline Yellow, Sunset Yellow FCF, Carmoisine, Ponceau 4R, Indigotin sentetik boya maddeleri yün boyama ve kağıt kromatografisi yöntemiyle kalitatif olarak saptanmıştır. Kantitatif tayin için birinci derece türev spektrofotometresi yöntemi kullanılarak yapılmıştır. 11 adet alkolsüz içecek örneğinde Ponceau 4R ve Carmoisine boyalarının ortalama değeri $49,2405 \pm 0,0002$ mg/l olarak bulunmuştur. A ve B pastanelerine ait elmalı şekerlerde Ponceau 4R'nin ortalama düzeyleri sırasıyla $2265,3140 \pm 36,0215$ mg/kg ve $584,4700 \pm 3,5281$ mg/kg olarak saptanmıştır[37].

Altınığne ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, bazı şekerlemeler ve toz içeceklere katılmış olan Sunset Yellow FCF ve Tartrazin boyar maddelerin analizleri voltametrik ve spektrofotometrik metodlarla yaparak karşılaştırılmıştır. Şekerlemelerde ve sentetik toz içeceklere, boyar maddenin yalnız bir tanesi bulunduğu doğru, hassas ve güvenilir sonuçlar elde edilebilmiştir. Uygulanan her iki metodun kolerasyon sayısı $r=0,995$ ve tayin sınırları 0,9 mg/ml olarak saptanmıştır. Bu çalışma, nitel ve nicel tayinlerin spektrofotometrik metod yanında voltametri metoduyla yapılabildiğininide göstermiştir[38].

A. Zalcaın ve arkadaşları safrandaki yapay boyaların (naftol sarısı, tartrazin, Kinolin sarısı, sunset yellow, allura red, amaranth, azorubin, ponceau 4R ve red 2G) belirlenmesi için tarama methodu tanımlamışlardır. Bu yöntem poliamid SPE kolonunda matriks bileşenlerin ayrılmasını ve sonra belirlenmesini içerir. Metanol ile yıkanan kolondan sırasıyla aseton ve metanol ile elüsyon edilen boyalar metanol: amonyak (95:5) çözücü karışımı ile analiz edilmiştir ve türev spektroskopisi ile boyalar tespit edilmiştir. Eritrosinin absorbansı pH' a bağlı olduğundan bu koşullar altında tespit edilememiştir. Her bir boya için en düşük tespit

miktarının kimyasal yapıyla değişiklik gösterdiğini belirtmişlerdir[39].

Erdal Dinç ve arkadaşları, Sunset Yellow, Tartrazin ve Allura Red içeren sentetik karışımların ve toz içeceklerin analizini farklı kemometrik yöntemler (PLS, PCR) ve türev spektrofotometrik yöntemler ile herhangi bir kimyasal ayırma işlemi uygulamadan yapmışlardır. 325- 584 nm arasındaki spektral bölgede bulunan 7 noktadaki absorpsiyon değerlerinden faydalanarak kemometrik yöntemlerden yararlanmışlardır. Sonuçlar birbiriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir[40].

Khesorn Nantachit ve arkadaşları ambalajlı 10 üzüm suyu paketi örneğini analiz etmişlerdir. 4 örnekte izin verilmemiş organik sentetik boya bulunmuş ve 2 örnekte izin verilen boya bulunmuştur fakat onların oranlarında izin verilen değerlerin üstünde olduğunu belirtmişlerdir. Diğer 4 örnekte ise organik sentetik boya bulunmamıştır. Bu boyalar kağıt kromatografisi ile tanımlanmıştır. 4 çözücü kullanılarak ve boyaların görünür bölge absorpsiyon pikleriyle izin verilen standart boyaların piklerinin karıştırılmasıyla yapılmıştır. Görünür bölge spektrofotometrik yöntemiyle boyaların miktarları belirlenmiştir ve bir örnekte indigo karmin 88 ppm ve karmosin 320,9 ppm bulunmuştur. Bu yöntem ortalama geri kazanımın % 111,7 bağlı standart sapmanın 9,2 ve dedeksiyon limitinin 2ppm olduğunu göstermiştir[41].

Mohammed Reza Oveysı ve arkadaşları Ponceau 4R, Ponceau 6R, scarlet GN içeren gıda boya karışımlarını spektrofotometri yöntemiyle kimyasal ayırma yapmadan bir arada tayin etmişlerdir. 3 bileşenli boya karışımlarının 60 tanesi değerlendirilmiş ve spektrumlar yedi deneysel noktanın kullanımıyla düzeltilmiştir. Çözeltilerin 300-650 nm 'de 1. ve 2. türev absorpsiyon spektrumu kaydedilmiştir. Tüm deneylerden elde edilen veriler PLS methodu ile analiz edilmiş ve önerilen yöntem 2 ticari gıda ürünündeki boyaların analizi için uygulanmıştır[42].

T.M. Coelho ve arkadaşları fotoakustik spektroskopisini (PAS) boyalı gıda örneklerine uygulamışlar ve 1. Türev spektrofotometrisiyle karşılaştırmışlardır. Brilliant Blue (B), Sunset Yellow (S) ve Tartrazin (T) boyaları genel gıda boyalarıdır. Spektrofotometrik tayin için adsorbe edilen boyalar dimetilformamid kullanılarak geri kazanılmıştır. PAS yöntemi oldukça hassasiyet gösterir. Deteksiyon limitleri Sunset Yellow ve Tartrazin karışımında sırasıyla Sunset Yellow ve Tartrazin için 0.028 µg/ml ve 0.086 µg/ml, B+T karışımında B ve T için sırasıyla 0,012 µg/ml ve 0,068 µg/ml'dir. Tüm boyalar için kabul edilebilir rölatif hata değerleri spektrofotometrik yöntem için yaklaşık % 0.3-3.6; PAS yöntemi için ise yaklaşık %0,1-2,9'dur. Ticari gıdalardaki seçilmiş boyaların tayini bazı avantajlarıyla birlikte PAS tekniği uygulanabileceğini belirtmişlerdir. Bu avantajlar: analiz basamakları sayısının azalması, minimal örnek miktarı gerekmesi ve kimyasal Buket Er ve arkadaşları birinci derece

türev spektrofotometresi yöntemi kullanarak Ankara piyasasından sağlanan reçel, meyveli yoğurt, elmalı şeker gibi örneklerden oluşan gıda maddelerinden ponso ve karmosin boyalarının kantitatif tayinleri üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir[43].

2.13.2.2. Kromatografik Yöntemler

Martha Kurchaska ve Jan Grabka sentetik boyar maddelerin analizi için kromatografik yöntemler üzerinde yapılan çalışmaları derlemişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda bilgi verilen yöntemler şunlardır; ince tabaka kromatografisi, yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi, kolon kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi. Buna iyon ve yüksek performanslı iyon kromatografisi de dahil edilerek çalışmalarını tamamladılar[44].

Nidal A. Zatar suda çözünen gıda boyalarının (tartrazin E102, kinolin E104, sunset yellow E110, karmosin E122, ponceau 4R E124, eritrosin E127, karmin E132, ve birilant blue FCF E133) bir arada kantitatif analizi için seçici gradient iyon çifti ters faz HPLC yöntemini geliştirmiştir. Analiz Lichrosor 100RP C18 kolonunda gerçekleştirilmiştir. Mobil faz akış hızı 1 ml/dk ve enjeksiyon hacmi 50 µl'dir. Mobil faz su: asetonitril (50:50) çözücü karışımından oluşur ve 0.35 (1-heksadesil) trimetilamonyum bromür (CTAB) içerir ve mobil faz A pH 7 tamponu ve mobil faz B su: asetonitrildir. Bu yöntem çeşitli içecek ve gıda örneklerindeki boyaların tespiti için uygulanmıştır[45].

Narumal Vachirapatama ve arkadaşları alkolsüz içecek ve gıda maddelerinde kullanılan 7 sentetik boyayı (amaranth, poncau 4R, sudan red 1, tartrazin, sunset yellow FCF, fast gren FCF ve birillant blue FCF) HPLC yöntemi ile araştırmışlardır. Mobil faz olarak farklı pH' larda asetat tamponu içinde metanol: su çözücü karışımını kullanmışlardır ve her bir boya için maksimum dalga boyunda ölçülm alınmıştır. Alıkonma zamanı, pik alanı ve pik yüksekliğine ilişkin standart sapmalar sırasıyla % 0,18-0,83; % 0,44-3,49; % 0,49-3,56 bulunmuştur. Dedeksiyon limiti bu boyalar için sırasıyla 3.38, 2.89, 2.6, 1.92, 3.83, 1.23, 1.56µg/ml'dir. Bu sonuçlar Tayland' daki bazı yiyecek ve içecek örneklerindeki boya konsantrasyonun maksimum sınır limitinin üzerinde olduğunu göstermiştir[46].

Ksileva gıdalardaki 10 sentetik boyanın ayrılması ve tayininde C18 kolon ve iyon çift reaktifi olarak tetrabütilamonyum dihidrojen fosfat kullanılan HPLC yöntemi önermiştir. Bu çalışmanın amacı 7 sentetik suda çözünebilir boyanın bir arada tayini için ters faz yüksek performans sıvı kromatografi metodu geliştirmektir. Gıda boyalarının tamamen ayrılmasını sağlamak için C18 kolonu ve mobil faz olarak katyonik yüzey aktif madde iyon çifti oluşturan N-Ctyel-N, N-trimetilamonyum bromür kullanılır. Bu yöntem alkolsüz meyve aromalı konsantre içecekler, reçeller, tatlılar ve şekerlemeler gibi çeşitli gıda ürünlerindeki boyaların

kantitatif analizi için uygulanmıştır[47].

2.13.2.3. Diğer Yöntemler

Chen B. ve arkadaşları suda ve yağda çözünebilir olan gıdalardaki sentetik renklendiricilerin tayini için yüksek performans likit kromatografisi ve dedeksiyon-elektro sprej mass spektrometriyi kullanmışlardır[48].

S.Chanlon ve arkadaşları diferansiyel plus polarografisini kullanarak, şurup, soda ve tatlılara kırmızı renk veren carmoisine (E122), ponceau 4R (E124) ve allura red (E129) boyaalarını tayin etmişlerdir. Absorbans değerleri üzerine pH etkisi ve pH 3 ve 11 arası incelenmiş ve asidik veya bazik ortamın uygun olmadığı gözlemlenmiştir. pH 9 fosfat tamponunda piklerin iyice ayrıldığı görülmüştür. Standart katma yöntemi kullanılarak yöntem valide edilmiştir. Geri kazanım %96-105 aralığındadır ve bağıl standart sapma 3 boya için %1'e yakındır. Polarografik ölçüm limiti Carmoisine, Ponceau 4R ve Allura red için sırasıyla 42, 43, 24 µg/L'dir. Ticari alkolsüz içecek ve tatlılara uygulanan bu yöntemin sonuçları sıvı kromatografisi kullanılarak elde edilen değerlerle karşılaştırılmış ve uyum içinde olduğu ortaya çıkmıştır[49].

Richard A. Frazier ve arkadaşları, gazlı alkolsüz içeceklerdeki boyaaların, koruyucuların ve yapay tatlandırıcıların eş zamanlı testi için hızlı kapiler elektroforez yöntemini geliştirmişlerdir. Kapiler elektroforezin kapasitesi onu alkolsüz içeceklerin çok bileşenli karışımları için ideal analiz tekniği yapmıştır[50].

Nantachit ve arkadaşları kapalı paketlerdeki meyve sularındaki sentetik renklendiricilerin kimliğinin belirlenmesi üzerine çalışmalar yapmışlardır[51].

Otto DOKA ve arkadaşları UV-VIS fotoakustik (PA) spektroskopisinin efervesan multivitamin tabletlerdeki Sunset Yellow (E110)'un tayininin direk saptanması için uygun olduğunu göstermişlerdir. E 110 içeren toz haldeki tabletlerdeki ölçümler 480 nm' de gerçekleştirilmiştir. Bu dalga boyu sentetik boyaaların absorbans yaptığı dalga boyudur. Elde edilen PA bilgileri difüzyon yansıtma spektroskopisi ve geleneksel spektroskopi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. PA tekniğinin en önemli kolaylığı hızlı yanıt ve örnekleme kolaylığıdır. Hassasiyetle ilgili olarak 3 yöntemin performansları karşılaştırılabilir[52].

Mahçup N. Ve Doğan M. Lisans Tezlerinde gıdalarda kullanılan renklendiriciler ve tatlandırıcılar üzerine çalışmalarını gerçekleştirerek, kullandıkları yöntemlerin uygunluğunu saptamışlardır[53].

2.14 Kullanılan Yöntemler

2.14.1 Spektrofotometri [54]

Spektroskopi; atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorblanan veya yayılan elektromanyetik ısımının ölçülmesini inceleyen bilim dalı için kullanılan genel bir terimdir. Elektromanyetik ısımaya boşlukta büyük bir hızla ilerleyen ve değişik formlar alabilen bir enerji türüdür. Her atom, molekül veya iyonların elektromanyetik ısımaya ile kendine özgü bir ilişkisi vardır. Bu ilişki maddenin yapısına bağlı olarak değişir. Monokromatik (tek dalga boyundaki ısın) ve I_0 şiddetindeki bir ısın demeti, kalınlığı b cm olan bir tüpte bulunan çözeltideki herhangi bir atom, molekül veya iyonlar tarafından absorblandığında ısının şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terk eder.

Işın veya elektromanyetik dalga uzayda çok büyük hızla hareket eden bir enerji şeklidir. Diğer enerji şekillerinde olduğu gibi bu enerjinin de çeşitli şekilleri mevcuttur. Bunlardan en çok bilinen enerji şekilleri ışık, ısı, radyo dalgaları ve X- ışınlarıdır. Bu enerji şekillerinden göz ile görülebilen sadece ışıktır.

Bir ışığın sahip olduğu başlıca özellikleri

- 1) Dalga karakteri
- 2) Tanecik karakteri
- 3) Absorblanması'dır.

Spektrofotometri'nin temelini, maddeler ile ışıkların etkileşme sonucunda, maddeler tarafından absorblanan ışığın dalga boyu ve şiddeti, maddelerin nitel ve nicel analizine imkan tanınması oluşturmaktadır. Monokromatik ve I_0 şiddetindeki bir ışık demeti, kalınlığı b cm olan bir tüpte bulunan bir çözeltideki herhangi bir molekül tarafından absorblandığında şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terk eder. Işık şiddetindeki değişme numune kabının çeperinde yansımalar, absorpsiyon ve saçılmalar neden olur. Ayrıca moleküllerin o dalga boyundaki ışımayı absorblaması sonucu ortaya çıkan azalma Lambert-Beer kanunu ile verilir. Bu kanuna göre, örnek kabına giren ve örnek kabını terk eden ışık şiddetinin logaritmalarının farklı, ışıkla etkileşen moleküllerin konsantrasyonları ve ışığın numune içinde aldığı yol ile orantılıdır.

$$\text{Log}(I_0/I) = k.b.c = A \text{ (Lambert-Beer eşitliği)} \quad (2.1)$$

I_0 = Numune üzerine gönderilen ışığın şiddeti

I = Numuneyi terk eden ışığın şiddeti

c = çözelti konsantrasyonu (mol/L veya g/L)

b = ışığın numune içinde aldığı yol (cm)

A = absorbans

k = absorpsiyon katsayısı, verilen dalga boyunda belirli bir atom, iyon veya molekül için sabit bir değerdir ve genellikle maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boyları için hesaplanır.

Bilinen değişik konsantrasyonlardaki çözeltilerin absorpsiyonları Lambert-Beer eşitliğinden faydalanılarak (ki bu genellikle maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boylarındaki absorpsiyonlarıdır) ölçülüp, konsantrasyonlara karşılık grafiğe geçirilmesi sonucu çalışma grafikleri çizilebilir. Bilinmeyen konsantrasyondaki maddenin, aynı şartlar altında absorpsiyonu okunarak kalibrasyon denklemlerinden bilinmeyen madde konsantrasyonları hesaplanabilir.

Lambert-Beer kanununun geçerli olabilmesi için;

- Kullanılacak ışığın sadece monokromatik yani tek dalga boyunda olması, absorpsiyon olayının ve örneğin homojen olması, ayrıca birden fazla bileşenin ışığı absorplaması halinde her bir bileşenin, diğerlerinin absorpsiyonunu etkilememesi gerekir.
- Analiz sırasında incelenen örnekte disosiyasyon, asosiyasyon, polimerleşme kompleks oluşumu gibi maddenin özelliklerini değiştiren olaylar olmamalıdır.
- Kırılma, yansıma ve difüzyon gibi parazit olaylar meydana gelmemelidir.

Ayrıca Lambert-Beer eşitliği konsantrasyonu 0,01M den küçük olanlar için geçerlidir. Çalışılan bileşiğin konsantrasyonu < 0,01 M olduğu halde ortamdaki yabancı bileşik ve özellikle iyonların konsantrasyonu yüksek olduğunda da bağıntıdan sapma görülür. Numune üzerine gönderilen ışığın tek dalga boyulu ışık olmaması ve numune üzerine ayrıca kaçak ışık gelmesi durumunda da çeşitli sapmalar meydana gelir. Numuneye iki ayrı dalga boyunda I_0 ve I_0' şiddetlerindeki ışık gönderildiğinde ve numunenin bu ışınları absorpladığı durumda matematiksel olarak;

$$A = \log\left\{ \frac{I_0 + I_0'}{I + I'} \right\} = \log\left\{ \frac{I_0 + I_0'}{I_0 10^{bc} + I_0' 10^{bc'}} \right\} \text{ eşitliği ile ifade edilebilir. (2.2)}$$

Spektrofotometride kantitatif çalışma için; etken maddenin bilinen değişik konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlanır ve spektrumları alınır. Çözeltilerin absorpsiyonları (ki bu genellikle maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boylarındaki absorpsiyonlardır) ölçülüp, konsantrasyonlarına karşılık grafiğe geçirilmesi sonucu çalışma grafikleri elde edilir. Bilinmeyen konsantrasyondaki etken maddenin, aynı şartlar altında absorpsiyonu okunarak kalibrasyon denklemlerinden bilinmeyen madde konsantrasyonları hesaplanır[54].

2.14.1.1 Spektrofotometre [55]

Molekül ve iyonların ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe spektrofotometre adı verilir. Başlıca su kısımlardan meydana gelmiştir:

a) Isık Kavnagı: UV ve görünür bölgedeki alısmalarda genellikle sürekli ısıık kaynakları kullanılır. Ultraviyole bölge için en sık kullanılan kaynak türü, hidrojen veya döteryum lambasıdır. Xe, ark ve civa buhar lambaları ise hem UV, hem de görünür bölgede kullanılabilen sürekli ısın kaynaklarıdır.

b) Monokromatör (Dalga boyu seçiciler): Polikromatik ısıından tek dalgaboyunda, yani monokromatik ısın elde edilmesini sağlayan düzeneklerdir. Genel olarak monokromatör olarak prizmalar veya optik ag adını alan parçalar kullanılır.

c) Numune veya çözücü kısmı: Numune kabı veya hücreleri, çalışılan spektrum bölgesinde ısını geçiren maddelerden yapılmaktadır. Böylece eğer ultraviyole bölgesinde yani 200.0-400.0 nm arasında çalışılıyorsa, kuartz veya erimis silis küvetler; görünür bölge yani 400.00-800.00 nm arasında çalışılıyorsa, cam ve kuartz küvetler numune tutucu olarak kullanılmaktadır.

d) Dedektörler: Işıık kaynağıından gelen ışığın şiddetinin ölçülmesi amacıyla kullanılmaktadır. Yaygın olarak kullanılan dedektörler: Fototüpler, Fotoçoğaltıcı tüpler, Silisyumlu fotodiodlar, Fotovoltaik hücreler, Fotoiletken hücreler, Yük aktarım düzenekleri. Bütün bu dedektörlerin ışına karşı duyarlı, ışın şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi, üzerine düşen ışığa cevap verme süresinin kısa olması ve kararlı olma özelliklerine sahip olması gereklidir.

e) Kaydedici: Toplanan elektrik sinyallerini, kağıt üzerine kaydeden düzenek.

2.14.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem (Yöntem 1)

Bir fonksiyonu gösteren eğrinin herhangi bir noktasındaki teğetin eğimi matematiksel olarak türev olarak tanımlanır. Yöntemin ilkesi saf referans boyaların, nötral ortamda hazırlanmış konsantrasyonu bilinen değışik çözeltilerinin, maksimum absorbsiyon yaptığı dalga boyunda, tampon çözeltiye karşı, nötral ortamdaki gıda örneğıyle karşılaştırılması esasına dayanır. Türev Spektroskopisi prensibi klasik absorbsiyon spektrumlarının yerine türev spektrumlarının kullanılmasıdır. Temel amaç ayırım gücünü arttırarak iyi ayırt edilemeyen pikleri ayırt etmek ve değışik özelliğı olan zemin spektrumunun etkisini düşürmektir.

Bandın genişliğini düşürüp daha keskin bir hale dönüştürdüğüünden bantların daha iyi ayrılmasına sebep olur ki bu da bantların kalitatif ve kantitatif tayinini kolaylaştırır.

Türev Spektroskopisi ile analiz edilecek olan maddelerin, belirli dalga boyları arasında dalga boylarına karşı gelen absorbans değerlerinin birinci ve daha yüksek türevleri kaydedilerek grafiğe geçirilir. Normal spektrumda çok küçük olan pikler bile türev spektrumunda büyük pikler haline gelir. Bilindiğı gibi bir fonksiyonun herhangi bir noktasındaki türevi dA/dx 'tir. Absorbsiyon spektrumları söz konusu olduğunda ise türev

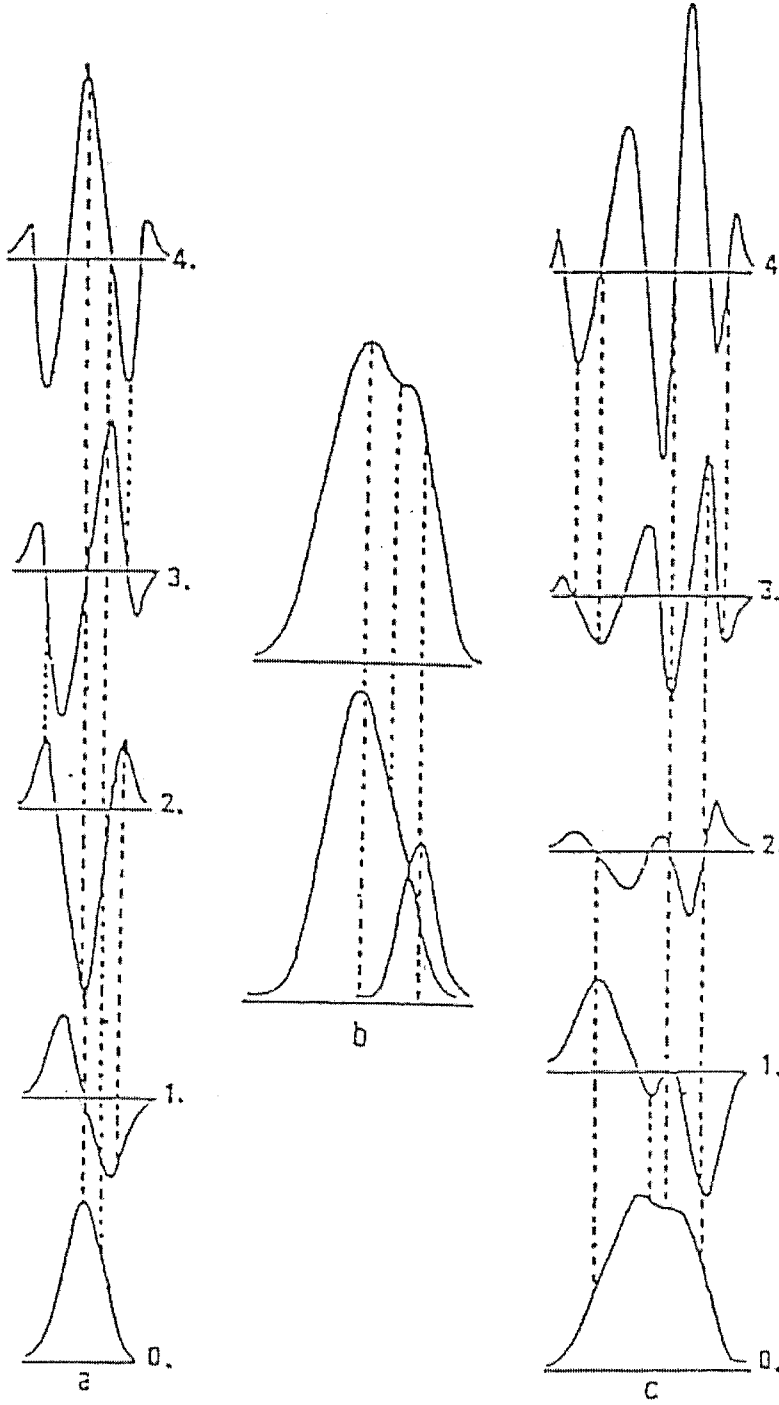
$dA/d\lambda$ olacaktır. Spektrumun her bir noktasındaki türev değerleri hesaplanıp dalga boyunun fonksiyonu olarak grafik edildiğinde birinci türev absorpsiyon spektrumu elde edilir. Buna benzer şekilde 2., 3., ..., n. Türev spektrumları sırasıyla $d^2A/d^2\lambda$, $d^3A/d^3\lambda$, ..., $d^nA/d^n\lambda$ değerleri ile dalga boyu arasında oluşturula orijinal spektrumda absorpsiyonun maksimum bulunduğu dalga boyunda 2. türev spektrumunda bir minimum, 4. türev spektrumunda bir maksimum ortaya çıkmakta, 1. ve 3. derece türev spektrumları ise bu dalga boyunda sıfırdan geçmektedir.

Türev derecesi arttıkça piklerin keskinleşmesi ve daralmasıyla rezolüsyon artmaktadır. Bundan spektrumların ince yapısının aydınlatılmasında yararlanır ki bu durum saflık testleri ve tanımlamada önemlidir. Basit bir absorpsiyon bandının 1 4. türevleri pikin birinci derece türevi alındığında yükselen bölgeler pozitif, inen bölgeler negatif pikler oluşturmakta, dönüm noktalarının bulunduğu dalga boylarında ekstremumlar oluşmakta, orijinal pikteki ekstremumların karşılığı olan dalga boylarında ise türev eğrisi sıfırdan geçmektedir. 1. türev her dalga boyunda konsantrasyon ile orantılıdır. $dA/d\lambda$ 'nın uç değerlere sahip olduğu yerdeki ölçümlerde hassasiyet en fazladır. 2. türev, türevin sıfır olduğu noktalarda konsantrasyon ile orantılıdır. 2. türevin de uç değerlerinde hassasiyet daha fazladır.(55)

2.14.2.1 Türev Spektrumunun Alınması :

Türev spektrumu değişik yöntemlerle elde edilebilir. Çıkış sinyalinin elektronik veya nümerik olarak diferansiyelinin alınması veya elektronik takometrelerle işleme tabi tutulması, yayımda çift dalga boyu sinyal taraması veya dalga boyu modülasyonu yapabilen özel optik sistemi olan spektrofotometreler ile optik türev spektrumu elde edilir. Bu tekniklerin her birinde avantaj ve dezavantaj vardır. Pratikte elektronik farklılaştırma ile çift dalga boyu taraması ve 1. türev alınarak diğer türevlerin elektronik hesabı en çok kullanılan tekniklerdir. Elektronik farklılaştırma ile türev alan cihazların daha ucuz oluşu ve istenen dereceden türevi anında verebilmesi gibi üstünlükleri vardır.

Her iki teknikte uygulamaya iki değişken katar; türev derecesi (n) ve spektrumun uygulanacağı dalga boyu aralığı. Dalga boyu modülasyonu, gazların tek ışınli spektrumuna uygundur ve ışık kaynağının düşük frekans gürültüsünün yarattığı sinyal/gürültü oranı açısından üstünlük sağlar. Elektronik yöntem ise özellikle çift ışınli UV-VİS spektrofotometresinde, klinik, çevre ve ilaç analizlerinde sıvı örnekler için uygundur.



Şekil 2.1 Çeşitli şekillerdeki Gauss Diyagramlarının türev spektrumları[55]

- a. Gauss diyagramının temel, 1, 2, 3, 4. türevleri
- b. Eşit olmayan iki gauss diyagramının temel spektrumu
- c. Üst üste çakışmış ve eşit olmayan iki Gauss diyagramının temel, 1, 2, 3, 4. türevleri

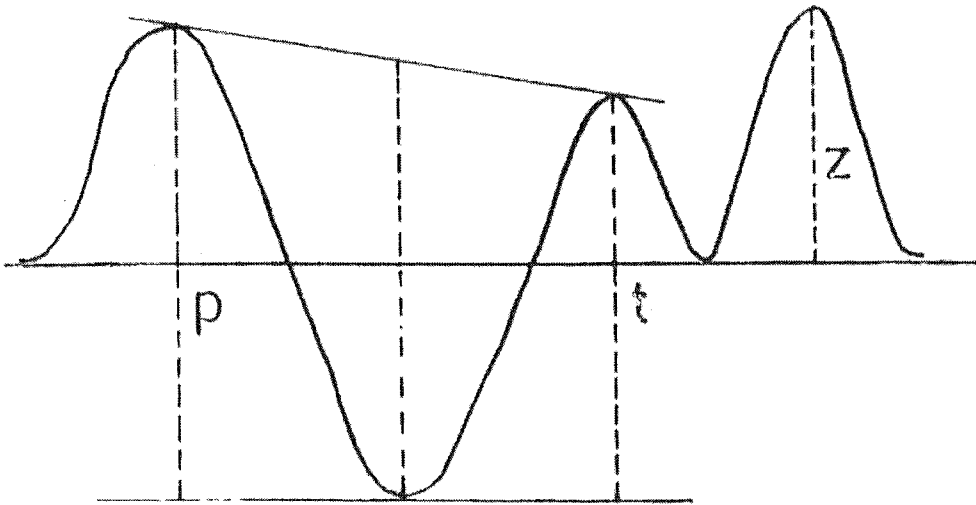
2.14.2.2 Türev Spektrumuna Etki Eden Faktörler:

Türev uygulamasının teorik fonksiyon eğrisi üzerinde değil, gerçek bir optik elektronik spektrum üzerinde yapılması nedeniyle gelecek olan pik kayması ve şekil bozulmaları göz önüne alınmalıdır. Optik ve elektronik gürültülerin verdiği piklerin gerçek spektrum pikleri ile benzer özelliklere sahip oluşu spektrumun genelde detaylandırılmasına bağlı olarak, büyümelerine ve yanlış değerlendirmelere yol açabilir. Gerçek piklerin türev eğrilerinin dalga boyu eksenini doğrultusunda çarpılmalarının, şekil değiştirmelerinin türev derecesi ile artacağı göz önüne alınmalıdır. Gürültü pikleri, spektrum ortalamalarının alınıp değerlendirilmesi ile yok edilir. Sadece 1. türev eğrisi doğrudan optik olarak elde edilebilir. Diğer türevler ise bu veya orijinal spektrumdan elektronik olarak elde edilebilir. Uygulamada bilinmesi gereken temel ilişki aynı cihaz programında 2. türevin 1.sine göre daha detaylı bilgi ve daha iyi duyarlılık ile ayırım gücü sağladığı buna karşılık sinyal- türev derecesi artışı ile gürültü oranı azalışa ve band kayması oluşudur[56].

2.14.2.3 Türev Spektrumunun Değerlendirilmesi:

Birinci ve ikinci türev spektrumunda ordinat değişimleri normal spektrumdaki ordinat değerinin büyüklüğü ile değil, eğim değişimi ile ilişkili oluşu nedeniyle türev eğrisinin absisteki konumu ile dönüm noktalarının birbirine karşı durumları karakteristik olur. Nicel analizlerde yalnızca bitişik, peşpeşe ekstrumum noktaları değerlendirilerek bu iki noktanın mutlak değer olarak farkı ölçülür. Birkaç ekstrumum nokta varsa ordinat farkının en yüksek olduğu bir bitişik çift seçilir[56].

Türev spektrumlarının değerlendirilmesinde üç yöntem vardır[56]



Şekil 2.2 Türev Spektrumlarının Değerlendirilmesi

t: Eğim yöntemi

p : Pikten-pike ölçüm

z : Sıfır-pik maksimumu yöntemi

a. Pikten Pike Ölçüm Yöntemi: Yan yana olan maksimum ve minimum farkı ölçülerek, özellikle bulanık örneklerde saydam standartlara karşı nicel analiz kolay yapılır.

b. Teğet Yöntemi: Peşpeşe gelen iki maksimum üzerinden geçirilen teğetin iz düşümü noktasında, arada kalan minimuma uzaklığı veya iki minimumdan geçen teğetin aradaki maksimuma iz düşüm noktasındaki uzaklığı ölçülür. Özellikle geri zemin absorpsiyonunun belirlenemediği bulanık örneklere uygulanır. Uzaklık yine standartların eşdeğer piklerine çizilen teğete karşı değerlendirilerek sonuca gidilir.

c. Pikten Sıfıra Ölçüm Yöntemi: Ölçümü yapılacak olan pikin maksimumu ile sıfır arası veya minimumu ile sıfır arası uzaklığı ölçülür. Özellikle apse göre simetrik sinyaller içeren yüksek derece türevler için üst üste çakışan eğrilerden biri sıfırdan geçtiğinde kullanılır. Bulanık örneklerde bulanıklık genellikle spektrumun kısa dalga boyu tarafına doğru artar. 1. ve 2. türevde nicel analiz için kullanılan yukarıdaki yöntemler bu artışın etkisini ortadan kaldırır.

Türev spektrofotometresi ile tek boya içeren numunelerdeki boyanın kantitatif tayininde bir karışımda türev alma yoluyla bileşenlerden birine ait bir pik elde edilmesi durumunda, aynı bileşene ait bir dizi standard çözeltiden hareketle, elde edilen aynı türev dereceli spekturumlarında, aynı pik değerlendirilerek çizilmiş kalibrasyon doğruları yardımıyla karışımdaki söz konusu bileşenin nicel analizi yapılmaktadır.

Türev spektrofotometresi ile çift boya içeren numunelerdeki boyanın kantitatif tayininde analizi yapılan numune iki boya maddesi içeriyor ve bu maddelerden birinin absorpsiyon yaptığı bölgede öteki yapmıyorsa, maddeleri ayırmaksızın yan yana tayin etmek mümkündür.

2.14.2.4 UV-VIS Türev Spektroskopisinin Uygulama Alanları[56]

λ_{max} 'ın belirlenmesi:

Orijinal spektrumda, maksimum absorpsiyon dalga boyunda 1. türev eğrisini sıfırdan geçiyorsa, bu dalga boyu daha doğru bir şekilde saptanabilir.

Rezolüsyondaki artış:

Türev spektrumlarında, orijinal spektrumda zor görülebilen ince yapı ortaya çıkar, yani rezolüsyonda artış meydana gelir. Bunun için çift sayılı türev spektrumları daha avantajlıdır. çünkü orijinal spektrumda bulunan maksimum ve minimumlar, bu spektrumlarda yine aynı dalga boylarında birer ekstermum halinde ortaya çıkar.

İdentifikasyon:

Özellikle absorpsiyonu görünür bölgede olan renkli maddelerin absorpsiyon spektrumları geniş bantlar halinde olduğu için, bu spektrumlar maddenin tanınmasında önemli değildir. Buna karşın orijinal spektrumdaki yan çıkıntının türev spektrumlarında, özellikle yüksek dereceli olanlarda ekstermum haline dönüşmesi, piklerin sayısının artması ve keskinleşmesi ile spektrumun ince yapısı ortaya çıkan infrared spektrumlarına benzeyen spesifik durumlar elde edilir.

Bulanık Çözeltiler Kantitatif Analiz:

Bulanık çözeltiler ve içinde süspanse ya da emülsifiye katı veya sıvı maddeler olan çözeltilerle spektrofotometrik ölçümlerin yapılması zordur. Özellikle UV alanda ışın saçılması sebebi ile analitin spektrumu kuvvetli ya da zayıf absorpsiyonu ile çakışır. Türev spektrumundaki uygun pik-pik uzaklıkları değerlendirilerek, bulanıklığın spektrum üzerindeki bu olumsuz etkisi giderilebilir.

Matriks etkisinin giderilmesi:

Türev spektrumları alınması ile orijinal spektrumdaki keskin spektral özellikler kuvvetlenmekte ve keskinleşmekte, buna karşın geniş ve yaygın bantlar daha da basıklaşmaktadır. Böylece analit piki ile çakışan değişken zemin absorpsiyonu etkisi giderilebilir.

Safılık kontrolü:

Türev spektrumlarındaki spektral ayrıntılar, maddelerin safılık testlerinde de avantajlıdır. Eser miktardaki safsızlıkların küçük absorpsiyon pikleri, türev spektrumlarında daha kolay saptanabilen pikler haline dönüşür. Bu spektrumların, saf maddenin aynı koşullarda kaydedilen türev spektrumları karşılaştırılması ile safılık kontrolü yapılabilir.

Eser madde analizi:

İlaç maddesi, besinler v.b. maddelerdeki eser miktardaki safsızlıkların saptanması ve miktarının tayin edilmesi de türev spektrofotometrisinin bir başka uygulama alanıdır. Buna örnek olarak, etanolde eser miktarda bulunan benzenin tayini gösterilebilir.

Karışımların simultane analizi:

Türev spektrofotometrisinin oldukça yaygın bir uygulama alanı da absorpsiyon bantları ile çakışan ve bir sebeple absorpsiyon spektrofotometrisi ile bir ön ayırma yapılmaksızın tayin edilemeyen karışımların simultane analizidir. Bu konuda yapılmış çalışmalar, kombine ilaç preparatlarında ve besinlerdeki katkı maddelerinin analizinde yoğunlaşmıştır. Bu analizlerde pik-sıfır, pik-pik ve pik/pik oranı ölçümleri uygulanmıştır.

2.14.2.5 Türev Spektroskopisinin Avantajları ve Dezavantajlar[57]

Avantajları

- a. Türev çalışması orijinal spektrumun eğimleri hakkında bilgi verir ve bunun omuz noktaları ile dönüm noktalarının daha belirgin hale gelmesine neden olur. Böylece bir bileşik daha kolay ve kesin olarak tanınabilir
- b. Çoğunlukla orijinal spektrumda elde edilen eğriler bir çok pikin üst üste gelmesi ile meydana gelmiştir. Türev alma ile bu absorpsiyon eğrileri daha şekle girer ve böylece bir arada bulunan piklerin tek tek görülmesi sağlanır.
- c. Spektrofotometrede bulanık çözeltiler ile çalışılırken çökme hızı, tanecik büyüklüğü gibi etkenlere bağlı olarak büyük oranda hata yapılırken, türev eğrilerinin hazırlanması ile bulanıklığın oluşturduğu bu olumsuz etki ortadan kaldırılabilir ve bulanık ortamlarda da çalışılabilir.
- d. Birden fazla maddenin karışım halinde bulunduğu ortamlarda ekstraksiyon ve kromatografi gibi herhangi bir ayırma işlemine başvurulmaksızın tek tek miktarları tayin edilebilir.
- e. Reaksiyon ortamından kaynaklanan gürültü piklerinin yok edilmesini sağlar.

Dezavantajları

- a. Kullanımı çok kolay olmasına karşılık pahalı spektrofotometrelere ve oldukça karmaşık bir elektronik yapıya ihtiyaç vardır.
- b. Türev spektrumlarında çok sayıda uydu pikleri görülür. Bu pikler, bir karışım ile çalışılır iken başka bileşenlerin de varlığını gösterir. Türev derecesi arttıkça bu cins piklerin sayısı da artacağı için karışıklık daha da fazla olacaktır.

2.14.3 Fark Türev Spektrofotometrik Yöntem (Yöntem 2)[57]

Karışımlarda yer alan çeşitli maddeleri kantitatif olarak analiz etmeyi ya da çevre koşulları nedeniyle küçük değişimlere rağmen hassas bir ölçüm sağlar. Fark yöntemi ile spektrofotometrik analizlerin

doğruluğu ve seçiciliği belirgin bir biçimde geliştirilmiştir. Fark yönteminin önemli özelliği eşit kütlelere sahip çözeltilerin farklı formlarını elde etmektir. Diğer absorban maddelerin varlığında fark spektrumlarının uygulama kriterleri şunlardır.

*Bir ya da daha fazla belirteç eklenmesi örneğin spektrumda tekrarlanabilirliğini azaltır.

*Girişim yapan bileşenlerin absorbansları belirteç eklenmesi ile değişmez.

Örneğin spektral özelliklerinin değişimi asit, baz ve tampon çözeltileri ile yapılır. Birçok örneğin UV-VIS absorpsiyon spektrumları iyonize olabilen fonksiyonel gruplar içermektedir. Örneğin fenol, aromatik karboksilli asit ve aminler gibi. Fonksiyonel grupların iyonize olmaları çözeltinin pH'sına bağlıdır. Eğer örneklerin asit ve baz değerleri konsantrasyonları ile orantılı ise $\Delta A: \Delta abc$ dir. Girişim yapan bileşenlerin etkisini azaltmak ve absorbansın değişmesini engellemek yani ΔA prosedürünün seçiciliği pH değerlerinin doğru seçimine bağlıdır. Analitin ΔA değerlerinin uygun olabilmesi için 0,1M HCl ve 0,1M NaOH kullanılması gerekir. Böylece girişim yapabilecek bileşenlerin absorbans etkileri en aza indirilmiş olur.

2.14.4 Oran Türev Spektrofotometrik Yöntem (Yöntem 3)[59]

İlk kez 1987 yılında Blanco ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntem Berzas Nevado ve arkadaşları tarafından modifiye edilerek kullanılmıştır. Yöntemi açıklayabilmek için M ve N gibi iki etkin maddeden oluşan bir ikili karışım numunesini ele alalım. Her iki etkin maddenin de kullanılan dalga boyu aralığında karışımlarının absorbansı, spektrumlarındaki her bir etkin maddenin absorbans değerlerinin toplamına eşittir (Toplanabilirlik kuralı). Bu ifade matematiksel olarak;

$A_{m\lambda i} = \epsilon M \lambda_i . C_M + \epsilon N \lambda_i . C_N$ şeklinde ifade edilmiştir.

$A_{m\lambda i}$ = Karışımın i dalga boyundaki absorpsiyonu

$\epsilon_{M\lambda i}$ ve $\epsilon_{N\lambda i}$ = M ve N' nin molar absorpsiyon katsayıları

C_M ve C_N = M ve N'nin molar konsantrasyonlarıdır.

Yöntemin analitik amaçlı uygulanması için; N+M 'den oluşmuş bir karışımda N tayin edilmek isteniyorsa, analiz edilecek saf numunenin (N) değişik bilinen konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlanarak spektrofotometre yardımıyla spektrumları alınır ve bilgisayar hafızasına kayıt edilir. Daha sonra C_M^0 konsantrasyonunda saf olarak M'nin standart çözeltisi hazırlanır ve hazırlanan C_M^0 konsantrasyonundaki çözeltinin absorpsiyon spektrumu çizdirilerek bilgisayarın hafızasına kayıt edilir.

Önceden kayıt edilen N'nin spektrumları tek tek C_M^0 nin spektrumuna bölünür(oran spektrum). Ve böylece oran spektrumu elde edilmiş olur. Elde edilen oran spektrumlarının

türev spektrumları çizdirilerek belirlenen dalga boyunda oran türev absorbands değerleri okunur. Okunan oran türev absorbands değerleri CN'e karşı grafiğe geçirilerek çalışma grafiği hazırlanır. Sonra işlem M + N karışımına uygulanıp daha önce N için hazırlanan çalışma grafiği yardımıyla karışımda N'nin miktarı tayin edilir. Karışımdaki M'nin miktarının tayini içinde bu defa CNo 'da hazırlanan konsantrasyondaki N çözeltisi bölücü olarak kullanılmaktadır. Diğer işlemler yukarıda anlatıldığı gibidir. Eğer bölücü standardın konsantrasyonu artırılıp azaltılırsa, elde edilecek türev absorbands değeri de buna bağlı olarak artar ya da azalır. Fakat maksimum ve minimum dalga boyları değişmez.

2.15 Yöntem Doğrulaması (Validasyon) [59,60,61]

Analitik yöntem doğrulaması, yöntemin amaçlanan analitik uygulamanın tüm gereklerini karşıladığının, laboratuvar çalışmaları ile kanıtlanması işlemidir.

Doğrulamanın yapılması gereken durumlar:

- * Tanınma testleri
- * Safsızlıkların miktar tayini
- * Safsızlıkların limit testleri
- * Bitmiş üründe etken maddenin (ya da seçilen başka bir maddenin) kantitatif analizi

Analitik yöntem parametreleri:

- a)Özgünlük
- b)Doğrusallık
- c)Konsantrasyon aralığı
- d)Doğruluk
- e)Kesinlik
 - * Gün içinde tekrarlanabilirlik
 - * Günler arası tekrarlanabilirlik
 - * Laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik
- f)Deteksiyon limiti(LOD)
- g)Kantitatif tayin limiti(LOQ)
- h)Sağlamlık(Robustness)
- i)Sistem uygunluk testi

2.15.1 Özgünlük

Validasyonun en önemli parametresidir, metod geliştirilirken ilk yapılması gereken testtir. İki şekilde gerçekleştirilir:

a)Safsızlıklar ve bozunma ürünleri gibi girişim yapabilecek maddelerin standartları mevcutsa geliştirilen yöntemde bu maddelerin etken maddeden uygun bir ayrılma gücü değerleriyle ayrıldığı ispat edilmelidir.

b)Girişim yapan maddelerin standartları sağlanmıyorsa, örnek; ısı, ışık, nem, asit, baz, oksidasyon gibi stres şartlarına maruz bırakılıp sonuçlar referans maddeyle karşılaştırılır.

2.15.2 Doğrusallık

Bu test, standart stok çözeltisinin seyreltilmesiyle ve/veya ayrı tartımlar alınarak gerçekleştirilir. Dedektör cevabına karşılık konsantrasyon grafiği çizilir (kalibrasyon eğrisi). Eğrinin doğrusallığı en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilir. Doğrunun eğimi, kayım değeri, korelasyon katsayısı doğrusallığı belirler.

2.15.3 Konsantrasyon Aralığı

Yöntemin doğruluk, kesinlik, doğrusallık testlerini geçtiği konsantrasyon aralığıdır ve doğrusallık çalışmalarından metodun sınırları belirlenir. İncelenen konsantrasyon aralığı yöntemin kullanımına göre değişir.

2.15.4 Doğruluk

Bir yöntemin doğruluğu, ölçülen miktarın gerçek değere yakınlığı olarak tanımlanır. Genellikle geri kazanım çalışması yapılmakla beraber, bu test üç yöntemle gerçekleştirilir:

a)Standart ile karşılaştırma: Analiz edilecek madde karışık bir matriks içinde değilse bu yöntemden yararlanılır. Saf standart madde sağlayan kuruluşlardan analiz maddesinin standardı satın alınır. Farklı tartımla hazırlanmış en az 3 farklı konsantrasyondaki çözeltilerden 3 defa ölçüm yapılır, çıkan sonuçlar başka bir yöntemle elde edilen sonuçlarla kıyaslanır ve rapor edilir.

b)Geri kazanım: Analiz edilecek madde karışık bir matriks içinde ise bu yöntemden yararlanılır. Placebo hazırlanır ve etken maddesinin %50, 75, 100, 125, 150'sini içeren konsantrasyonlarda çözelti hazırlanır ve geri kazanım hesaplanır.

c)Standart katma yöntemi: Analiz edilecek madde karışık bir matriks içinde ise ve matriks hazırlamak imkansız ya da çok zorsa bu yöntem tercih edilir.

2.15.5 Kesinlik

Üçe ayrılır:

a)Gün içi tekrarlanabilirlik: Metodun kısa bir zaman içerisinde aynı uygulama koşullarındaki kesinliğidir.%100 konsantrasyonda hazırlanan tek bir örneğin en az 10 defa enjeksiyonu yapılır veya yöntemin sınırları içerisinde alınan 3 konsantrasyondan 3'er enjeksiyon yapılır.Pik alanı veya pik yüksekliği değerlerinin bağıl standart sapması hesaplanır.

b)Günler arası tekrarlanabilirlik: Yöntemin farklı analizciyle, farklı cihazda, farklı günlerde uygulanmasıdır.

c)Laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik: Farklı laboratuvarlarda yöntemin uygulanmasıdır.

Pik alanı veya pik yüksekliği değerlerinin standart sapması ve bağıl standart sapması hesaplanır.

2.15.6 Deteksiyon limiti

Deteksiyon limitinin hesaplanmasında yöntemin enstrümantal olup olmadığına göre birkaç yaklaşım vardır.

a)Görsel değerlendirmeye dayanan yöntem: Genellikle enstrümantal olmayan miktar tayini yönteminde kullanılır. Örneğin bilinen konsantrasyonları hazırlanır ve güvenilir bir şekilde ölçülebileceği minimum konsantrasyon bulunur.

b)Sinyal/Gürültü oranına dayanan yöntem: Düşük konsantrasyonda hazırlanan örnek çözeltisi le elde edilen sinyalin baseline gürültüsüne oranı 3:1 olmalıdır.

c)Kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak istatistiksel hesaplamalara dayanan yöntem.

2.15.7 Kantitatif tayin limiti

Kantitatif tayin limitinin hesaplanmasında yöntemin enstrümantal olup olmadığına göre birkaç yaklaşım vardır:

a)Görsel değerlendirmeye dayanan yöntem: Genellikle enstrümantal olmayan miktar tayini yönteminde kullanılır. Örneğin bilinen konsantrasyonları hazırlanır ve doğru ve kesin olarak tayin edilebildiği minimum konsantrasyon hesaplanır

b)Sinyal/Gürültü oranına dayanan yöntem: Düşük konsantrasyonda hazırlanan örnek çözeltisi le elde edilen sinyalin baseline gürültüsüne oranı 10:1 olmalıdır.

c)Kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak istatistiksel hesaplamalara dayanan yöntem.

DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Maddeler ve Çözücüler

Distillenmiş su, 0,1N HCl, 0,1N NaOH, Metanol-Amonyak karışımı(%95:5,v/v), Ponceau 4R, Sunset Yellow, Kinolin Sarısı, İndigotin, Eritrosin. Kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Kullanılan renklendiriciler Intergum firmasından temin edilmiştir. Kuifleks, Bemiks, Ecopirin ve Kuilil tablet ilaçları eczanelerden temin edilerek aşağıda adı geçen renklendiricileri içermektedir.

Kuifleks Tablet ; Ponso 4R, Sunset Yellow ve Kinolin Sarısı

Bemiks Tablet; Ponso 4R, Sunset Yellow ve Kinolin Sarısı

Ecopirin Tablet; Eritrosin, Kinolin Sarısı ve İndigotin

Kuilil Tablet; Eritrosin, Kinolin Sarısı ve İndigotin

3.2 Gereçler

Spektrofotometre (Shimadzu UV-2450 UV – VİS Spectrophotometer) ve (Shimadzu UV-1800 UV – VİS Spectrophotometer), analitik terazi (Gec Avery, 0,1 mg' a kadar duyarlı), santrifüj cihazı(Hettich EBA 20), Ultrasonik Banyo, 10.10.45 mm küvetler, süzgeç kağıdı, manyetik karıştırıcı, santrifüj tüpleri, cam malzemeler.

3.3 Çözeltiler

Ponceau 4R Stok Çözeltisi: Ponceau 4R'nin distile suda 100 µg/ml konsantrasyondaki çözeltisi hazırlandı.

Sunset Yellow Stok Çözeltisi: Sunset Yellow'un distile suda 100µg/ml konsantrasyondaki çözeltisi hazırlandı.

Kinolin Sarısı Stok Çözeltisi: Kinolin Sarısı'nın distile suda 100µg/ml konsantrasyondaki

çözeltisi hazırlandı.

Eritrosin Stok Çözeltisi: Eritrosin'in distile suda 100µg/ml konsantrasyondaki çözeltisi hazırlandı.

İndigotin Stok Çözeltisi: İndigotin'in distile suda 100µg/ml konsantrasyondaki çözeltisi hazırlandı.

Standart çözeltiler: Türev, fark ve oran türev spektrofotometrik yöntemlerine ait deney koşullarının saptanması ve standart eğrilerinin çizimi için Eritrosin, İndigotin, Kinolin Sarısı, Ponso 4R, Sunset Yellow stok çözeltilerinin su, ve 0,1N HCl ve 0,1N NaOH ile seyreltilmesiyle 2-10 µg/ml, 1-5 µg/ml, 3-15 µg/ml konsantrasyon aralıklarında çözeltiler hazırlandı.

3.4 Çalışma yöntemi

3.4.1 Spektrumların çizilmesi

Türev spektrofotometrik ve oran türev yöntemleri için 3'lü karışımların (ponso-sunset yellow-kinolin sarısı) (eritrosin-kinolin sarısı-indigotin) analizinde absorpsiyon (A), birinci türev (1D) ve ikinci türev (2D) absorpsiyon spektrumları, distile suya karşı 300 – 700 nm dalga boyu aralığında alındı.

Fark türev spektrofotometrik yöntem için 3'lü karışımların (ponso-sunset yellow-kinolin sarısı)(eritrosin-kinolin sarısı-indigotin) analizinde asit (0,1N HCl) ve baz (1N NaOH) ile hazırlanan standart çözeltilerin absorpsiyon (A), birinci türev (1D) ve ikinci türev (2D) absorpsiyon spektrumları, baza (0,1 N NaoH) karşı 300 – 700 nm dalga boyu aralığında alındı.

3.4.2 Ölçü Eğrilerinin Çizimi

3.4.2.1 Ponso-Sunset Yellow-Kinolin Sarısı üçlü karışımını içeren Tabletler (Kuifleks ve Bemiks) için Standart Eğrilerin Çizimi

3.4.2.1.1 Türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 1) için ölçü eğrilerinin çizilmesi

Ponso'ya ait ölçü eğrilerinin çizimi için 100 µg/ml konsantrasyondaki stok Ponso çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin

sıfır olduğu Ponso'nun maksimum verdiği dalga boyları saptandı. 525 ve 570nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{525}, ^1D_{570}$) kaydedildi. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Ponso konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturulmuştur. Bunun için 0,2-1 ml hacminde alınan Ponso stok çözeltilerinin içine orta konsantrasyonlarda Sunset Yellow ve Kinolin Sarısı renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin distile suya karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Ponso için saptanan dalga boylarındaki türev absorbans değerleri okunarak standart eğrilerin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğriler 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

Sunset Yellow çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu Sunset Yellow'un maksimum verdiği dalga boyları saptandı. 506 ve 538 nm deki birinci türev absorbans değerleri ($^1D_{506}, ^1D_{538}$) okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Sunset Yellow konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturulmuştur. Bunun için 0,2-1 ml hacminde alınan Sunset Yellow standart çözeltilerin içine orta konsantrasyonlarda Ponso ve Kinolin Sarısı renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin distile suya karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Sunset Yellow için saptanan dalga boylarından türev absorbans değerleri okunarak standart eğrilerin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğriler 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrilerinin çizilmesi için 100 µg/ml konsantrasyondaki stok Kinolin Sarısı çözeltisinden 0,3-1,5 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu Kinolin Sarısı'nın maksimum verdiği dalga boyları saptandı. 406 ve 420 nm deki birinci türev absorbans değerleri ($^1D_{406}, ^1D_{420}$) okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Kinolin sarısı konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrileri çizildi. Ölçü eğrilerinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile çizildi. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerinin

yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturulmuştur. Bunun için 0,2-1 ml hacminde alınan Kinolin Sarısı standart çözeltilerin içine orta konsantrasyonlarda Sunset Yellow – Ponso renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin distile suya karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Kinolin sarısı için saptanan dalga boylarında türev absorbans değerleri okunarak standart eğrilerin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğrilerin 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

3.4.2.1.2 Fark türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 2) için ölçü eğrilerinin çizilmesi

Ölçü eğrilerinin çiziminden önce renklendiricilerin 0,1N HCl ve 0,1N NaOH içeren ortamda süreye bağlı bozunmaları aşağıda belirtildiği şekilde çalışıldı.İki ayrı 10ml'lik balon jøjeye 4µg/ml Sunset çözeltisi aktarıldı ve çözeltilerden biri hacmine 0,1N HCl ve diğeri 0,1N NaOH tamamlanarak 15 , 30 , 45 , 60 dakika ara ile fark türev spektrofotometrik yöntem ile 300-700 nm dalga boyu aralığında ölçümleri tekrarlanarak , spektrumlar kaydedilmiştir. Bu işlemler aynı şekilde 4 µg/ml Ponso, 5 µg/ml Indigotin, 4 µg/ml Kinolin sarısı ve 4 µg/ml Eritrosin boyar maddelerinin çözeltileri ile de gerçekleştirilerek spektrumlar kaydedilmiştir.

Ponso'ya ait ölçü eğrisinin çizimi için 100 µg/ml konsantrasyondaki stok Ponso çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jöjelere aktarıldı. Aynı konsantrasyonlarda iki ayrı seri olarak hazırlanan çözeltilerden birinci seri 0,1N HCl ikinci seri 0,1N NaOH ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra birinci seri standart çözeltilerin 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları ikinci seri standart çözeltilere karşı alındı. Bu spektrumlarda diğeri iki bileşenin sıfır olduğu Ponso'nun maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Alınan spektrumlarda 546 nm deki birinci derece türev absorbans değerleri (D_{546}) kaydedildi. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Ponso konsantrasyonları arasında ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrisi oluşturuldu. Bunun için 0,2-1 ml hacminde alınan Ponso'nun çözeltilerine orta konsantrasyonlarda alınan Sunset Yellow ve Kinolin Sarısı renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin hacimleri 0,1N HCl ile tamamlandı ve aynı koşullarda hazırlanan 0,1N NaOH ile hacmine tamamlanan standart çözeltilere karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Ponso için saptanan dalga boyu kullanılarak türev absorbans değerleri okundu ve standart eğrinin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğri 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisinin çizilmesi için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Sunset Yellow çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı. Aynı konsantrasyonlarda iki ayrı seri olarak hazırlanan çözeltilerden birinci seri 0,1N HCl ve ikinci seri 0,1N NaOH ile hacmine tamamlandı. İyi karıştırıldıktan sonra birinci seri standart çözeltilerin 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları ikinci seri standart çözeltilere karşı alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu Sunset Yellow'un maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Alınan spektrumlarda 589 nm deki birinci derece türev absorpsiyon değerleri ($^1D_{589}$) kaydedildi. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Sunset Yellow konsantrasyonları arasında ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrisi oluşturuldu. Bunun için 0,2-1 ml hacminde alınan Sunset Yellow'un çözeltilerine orta konsantrasyonlarda alınan Ponso ve Kinolin Sarısı renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin hacimleri 0,1N HCl ile tamamlandı ve aynı koşullarda hazırlanan 0,1N NaOH ile hacmine tamamlanan standart çözeltilere karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Sunset Yellow için saptanan dalga boyu kullanılarak türev absorpsiyon değerleri okundu ve standart eğrinin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğri 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrilerinin çizilmesi için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Kinolin Sarısı çözeltisinden 0,3-1,5 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı. Aynı konsantrasyonlarda iki ayrı seri olarak hazırlanan çözeltilerden birinci seri 0,1N HCl ve ikinci seri 0,1N NaOH ile hacmine tamamlandı. İyi karıştırıldıktan sonra birinci seri standart çözeltilerin 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon, birinci derece türev ve ikinci derece türev spektrumları ikinci seri standart çözeltilere karşı alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu Kinolin Sarısı'nın maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Alınan spektrumlarda 390 ve 446 nm deki birinci ve ikinci türev absorpsiyon değerleri ($^1D_{390}$, $^2D_{446}$) ölçüldü. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Kinolin Sarısı konsantrasyonları arasında ölçü eğrileri hesaplandı. Ölçü eğrilerinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile çizildi. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturuldu. Bunun için 0,3-1,5 ml hacminde alınan Kinolin Sarısı çözeltilerine orta konsantrasyonlarda alınan Sunset Yellow – Ponso renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin hacimleri 0,1N HCl ile tamamlandı ve aynı koşullarda hazırlanan ve 0,1N NaOH ile hacmine tamamlanan standart çözeltilere karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı.

Bu spektrumlarda saf Kinolin sarısı için saptanan dalga boyları kullanılarak türev absorbans değerleri okundu ve standart eğrilerin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğriler 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

3.4.2.1.3 Oran türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 3) için ölçü eğrilerinin çizilmesi

3.4.2.1.3.1 İki bileşene bölme (Yöntem 3a)

Ponso'ya ait ölçü eğrisinin çizimi için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Ponso çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Orta değer konsantrasyonlarda diğer renklendiricileri içeren ikili standart karışım çözeltisi hazırlandı. Bunun için 10ml'lik balon jodeye 0,6 ml Ponso ve 0,6 ml Sunset Yellow çözeltisinden aktarıldı ve çözeltinin hacmi distile su ile 10ml'ye tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 2-10 µg/ml konsantrasyonlarında Ponso'ya ait absorpsiyon spektrumları Sunset Yellow-Kinolin Sarısı ikili karışımına ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. Ponso'nun tayini için 554 ve 581 nm'nin uygun olduğu saptandı.554 ve 581nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{554}$, $^1D_{581}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Ponso konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrileri oluşturuldu.

Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Sunset Yellow çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Orta değer konsantrasyonlarda diğer renklendiricileri içeren ikili standart karışım çözeltisi hazırlandı. Bunun için 10ml'lik balon jodeye 0,6 ml Ponso ve 0,9 ml Kinolin Sarısı çözeltisinden aktarıldı ve çözeltinin hacmi distile su ile 10ml'ye tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 2-10 µg/ml konsantrasyonlarında Sunset Yellow'a ait absorpsiyon spektrumları Ponso-Kinolin Sarısı ikili bileşenine ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. Sunset Yellow'un tayini için 460 ve 522 nm'nin uygun olduğu saptandı. 460 ve 522nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{460}$, $^1D_{522}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Sunset Yellow konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrileri oluşturuldu.

Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Kinolin Sarısı çözeltisinden 0,3-1,5 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Orta değer konsantrasyonlarda diğer renklendiricileri içeren ikili standart karışım çözeltisi hazırlandı. Bunun için 10ml'lik balon jodeye 0,6 ml Ponso - 0,6 ml Sunset Yellow çözeltisinden aktarıldı ve çözeltinin hacmi distile su ile 10ml'ye tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında birinci derece türev spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 3-15 µg/ml konsantrasyonlarında Kinolin Sarısına ait absorpsiyon spektrumları Sunset Yellow-Ponso ikili karışımına ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. Kinolin sarısının tayini için 407 ve 445 nm'nin uygun olduğu saptandı. 407 ve 445 nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{407}$, $^1D_{445}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Kinolin sarısı konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrileri oluşturuldu.

3.4.2.1.3.2 Tek bileşene bölme(Yöntem 3b)

Ponso'ya ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Ponso çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. 0,2 ml Sunset Yellow çözeltisi 10ml'lik balon jodeye aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 2-10 µg/ml konsantrasyonlarında Ponso çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları Sunset Yellow bileşenine ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumlarının 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. Bir bileşenin sıfır olduğu Ponso'nun maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Ponso'nun tayini için 517 ve 580 nm'nin uygun olduğu saptandı. 517 ve 580nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{517}$ - $^1D_{580}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Ponso konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrileri çizildi.

Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Sunset Yellow çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. 0,2 ml Ponso çözeltisi 10ml'lik balon jodeye aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 2-10 µg/ml

konsantrasyonlarında Sunset Yellow'a ait absorpsiyon spektrumları Ponso ikili bileşenine ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. Bir bileşenin sıfır olduğu Sunset Yellow'un maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Sunset Yellow tayini için 510 ve 528 nm'nin uygun olduğu saptandı. 510 ve 528nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{510}, ^1D_{528}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Sunset Yellow konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrileri çizildi.

Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Kinolin Sarısı çözeltisinden 0,3-1,5 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. 0,2 ml Ponso çözeltisi 10ml'lik balon jojeye aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 3-15 µg/ml konsantrasyonlarında Kinolin Sarısı'na ait absorpsiyon spektrumları Ponso bileşenlerine ayrı ayrı oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. Bir bileşenin sıfır olduğu Kinolin Sarısı'nın maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Kinolin sarısının tayini için 439,377 ve 443 nm'nin uygun olduğu saptandı. 439, 377 ve 443nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{439}, ^1D_{377}, ^1D_{443}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Kinolin konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrileri çizildi.

3.4.2.2 Eritrosin-İndigotin-Kinolin Sarısı üçlü karışımını içeren Tabletler (Kuilib ve Ecopirin) için Standart Eğrilerin Çizimi

3.4.2.2.1 Türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 1) için ölçü eğrilerinin çizilmesi;

Eritrosin'e ait ölçü eğrisinin çizilmesi için 100 µg/ml konsantrasyondaki stok Eritrosin çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu Eritrosin'in maksimum verdiği dalga boyları saptandı. 537 ve 544 nm deki birinci türev absorbans değerleri ($^1D_{537}, ^1D_{544}$) okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Eritrosin konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturulmuştur. Bunun için 0,2-1 ml hacminde alınan Eritrosin stok

çözeltilerine orta konsantrasyonlarda İndigotin ve Kinolin Sarısı renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin distile suya karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Eritrosin için saptanan dalga boylarındaki türev absorbans değerler okunarak standart eğrilerin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğriler 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

İndigotin'e ait ölçü eğrisinin çizilmesi için 100 µg/ml konsantrasyondaki stok İndigotin çözeltisinden 0,1-0,5 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu İndigotin'in maksimum verdiği dalga boyları saptandı. 637 nm deki birinci türev absorbans değerleri ($^1D_{637}$) ölçüldü. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen İndigotin konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile çizildi. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturulmuştur. Bunun için 0,1-0,5 ml hacminde alınan İndigotin'in stok çözeltilerine orta konsantrasyonlarda Eritrosin ve Kinolin Sarısı renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin distile suya karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf İndigotin için saptanan dalga boylarındaki türev absorbans değerleri okunarak standart eğrinin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğri 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Kinolin Sarısı çözeltisinden 0,2-1,0 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu Kinolin Sarısı'nın maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Karışım standart eğrinin çizimi için 0,3-1,5 ml Kinolin Sarısı standart çözeltilerine orta konsantrasyonlarda Eritrosin-İndigotin renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin distile suya karşı absorpsiyon ve 1.türev absorpsiyon spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Kinolin sarısı için saptanan dalga boylarında türev absorbans değerleri okunarak standart eğrilerin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğriler 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

3.4.2.2.2 Fark türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 2) için ölçü eğrilerinin çizilmesi;

Eritrosin'e ait ölçü eğrilerinin çizilmesi için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Eritrosin çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı. Aynı konsantrasyonlarda

iki ayrı seri olarak hazırlanan çözeltilerden birinci seri 0,1N HCl ve ikinci seri 0,1N NaOH ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra birinci seri standart çözeltilerin 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları ikinci seri standart çözeltilere karşı alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu Eritrosin'in maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Alınan spektrumlarda 525 ve 544 nm deki birinci türev absorbans değerleri ($^1D_{525}$, $^1D_{544}$) ölçüldü. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Eritrosin konsantrasyonları arasında ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturuldu. Bunun için 0,2-1 ml hacminde alınan Eritrosin'in çözeltilerine orta konsantrasyonlarda alınan İndigotin ve Kinolin sarısı renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin hacimleri 0,1N HCl ile tamamlandı ve aynı koşullarda hazırlanan 0,1N NaOH ile hacmine tamamlanan standart çözeltilere karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Eritrosin için saptanan dalga boyları kullanılarak türev absorbans değerleri okundu ve grafiklerin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğriler 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

İndigotin'e ait ölçü eğrilerinin çizilmesi için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok İndigotin çözeltilisinden 0,1-0,5 ml alınarak 10 ml'lik balon jöjelere aktarıldı. Aynı konsantrasyonlarda iki ayrı seri olarak hazırlanan çözeltilerden birinci seri 0,1N HCl ve ikinci seri 0,1N NaOH ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra birinci seri standart çözeltilerin 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon ve birinci derece türev spektrumları ikinci seri standart çözeltilere karşı alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu İndigotin'in maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Alınan spektrumlarda 589 ve 637 nm deki birinci türev absorbans değerleri ($^1D_{589}$, $^1D_{637}$) ölçüldü. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen İndigotin konsantrasyonları arasında ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturuldu. Bunun için 0,1-0,5 ml hacminde alınan İndigotin'in çözeltilerine orta konsantrasyonlarda alınan Eritrosin ve Kinolin sarısı renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin hacimleri 0,1N HCl ile tamamlandı ve aynı koşullarda hazırlanan 0,1N NaOH ile hacmine tamamlanan standart çözeltilere karşı absorpsiyon ve 1.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf İndigotin için saptanan dalga boyları kullanılarak türev absorbans değerleri okundu ve standart eğrilerin çizimi

gerçekleştirildi. Standart eğriler 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrilerinin çizilmesi için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Kinolin Sarısı çözeltisinden 0,2-1,0 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı. Aynı konsantrasyonlarda iki ayrı seri olarak hazırlanan çözeltilerden birinci seri 0,1N HCl ve ikinci seri 0,1N NaOH ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra birinci seri standart çözeltilerin 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon, birinci derece türev ve ikinci derece türev spektrumları ikinci seri standart çözeltilere karşı alındı. Bu spektrumlarda diğer iki bileşenin sıfır olduğu Kinolin Sarısı'nın maksimum verdiği dalga boyları saptandı. Alınan spektrumlarda 390 ve 446 nm deki birinci ve ikinci türev absorpsiyon değerleri ($^1D_{390}$, $^2D_{446}$) ölçüldü. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı. Bu değerler ile karşılık gelen Kinolin Sarısı konsantrasyonları arasında ölçü eğrileri çizildi. Ölçü eğrilerinin doğru denklemi, en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca oluşturulan saf standart eğrilerinin yanı sıra karışım standart ölçüm eğrileri de oluşturuldu. Bunun için 0,3-1,5 ml hacminde alınan Kinolin Sarısı çözeltilerine orta konsantrasyonlarda alınan Eritrosin – İndigotin renklendiricileri eklenerek oluşturulan karışım standart çözeltilerin hacimleri 0,1N HCl ile tamamlandı ve aynı koşullarda hazırlanan 0,1N NaOH ile hacmine tamamlanan standart çözeltilere karşı absorpsiyon, 1.türev ve 2.türev spektrumları alındı. Bu spektrumlarda saf Kinolin sarısı için saptanan dalga boyları kullanılarak türev absorpsiyon değerleri okundu ve standart eğrilerin çizimi gerçekleştirildi. Standart eğriler 3 kez tekrarlanan çalışmaların ortalaması alınarak elde edilen ortalama değerler ile çizildi.

3.4.2.2.3 Oran türev spektrofotometrik yöntem(Yöntem 3) için ölçü eğrilerinin çizilmesi;

3.4.2.2.3.1 İki bileşene bölme (Yöntem 3a)

Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisinin çizimi için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Kinolin Sarısı çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Orta değer konsantrasyonlarda diğer renklendiricileri içeren ikili standart karışım çözeltisi hazırlandı. Bunun için 10ml'lik balon jodeye 0,6ml Eritrosin- 0,3ml İndigotin çözeltisinden aktarıldı ve çözeltinin hacmi distile su ile 10ml'ye tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 2-10 µg/ml Kinolin sarısına ait absorpsiyon spektrumları Eritrosin-İndigotin karışımına ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya

λ min değerleri araştırıldı. Kinolin sarısının tayini için 407 ve 445 nm'nin uygun olduğu saptandı. 407 ve 445 nm deki birinci derece tev absorbans değerleri ($^1D_{407}$, $^1D_{445}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Kinolin sarısı konsantrasyonları arasında ölçü eğrileri çizildi.

Eritrosin'e ait ölçü eğrisinin çizilmesi için 100 μ g/ml konsantrasyonundaki stok Eritrosin çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Orta değer konsantrasyonlarda diğer renklendiricileri içeren ikili standart karışım çözeltisi hazırlandı. Bunun için 10ml'lik balon jodeye 0,6 ml Kinolin Sarısı ve 0,3 ml İndigotin çözeltisinden aktarıldı ve çözeltinin hacmi distile su ile 10ml'ye tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 2-10 μ g/ml konsantrasyonlarında Eritrosin'e ait absorpsiyon spektrumları İndigotin-Kinolin Sarısı ikili karışımına ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece tev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabilieceği λ_{max} veya λ min değerleri araştırıldı. Eritrosin'in tayini için 488 ve 534 nm'nin uygun olduğu saptandı. 488 ve 534nm deki birinci derece tev absorbans değerleri ($^1D_{488}$, $^1D_{534}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Eritrosin konsantrasyonları arasında ölçü eğrileri hazırlandı.

İndigotin'e ait ölçü eğrisinin çizilmesi için 100 μ g/ml konsantrasyonundaki stok İndigotin çözeltisinden 0,1-0,5 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Orta değer konsantrasyonlarda diğer renklendiricileri içeren ikili standart karışımzeltisi hazırlandı. Bunun için 10ml'lik balon jodeye 0,6 ml Kinolin Sarısı ve 0,6 ml Eritrosin çözeltisinden aktarıldı ve çözeltinin hacmi distile su ile 10ml'ye tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında birinci derece tev spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 1-5 μ g/ml konsantrasyonlarında İndigotin'e ait absorpsiyon spektrumları Eritrosin-Kinolin ikili bileşenine ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece tev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabilieceği λ_{max} veya λ min araştırıldı. İndigotin'in tayini için 589 ve 637 nm'nin uygun olduğu saptandı. 589 ve 637 nm deki birinci derece tev absorbans değerleri ($^1D_{589}$ - $^1D_{637}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen İndigotin konsantrasyonları arasında ölçü eğrileri çizildi.

3.4.2.2.3.2 Tek bileşene bölme(Yöntem 3b)

Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisinin çizilmesi için 100 μ g/ml konsantrasyonundaki stok Kinolin Sarısı çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jodelere aktarıldı ve distile su

ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. 0,2 ml Eritrosin çözeltisi 10ml'lik balon jojeye aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 2-10 µg/ml Kinolin Sarısı'na ait absorpsiyon spektrumları Eritrosin bileşenine oranlandı. Oran spektrumlarının 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. Kinolin Sarısı'nın tayini için 439,377 ve 443 nm'nin uygun olduğu saptandı. 439, 377 ve 443nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{439}$, $^1D_{377}$, $^1D_{443}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Kinolin konsantrasyonları arasında ölçü eğrileri çizildi.

Eritrosin'e ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok Eritrosin çözeltisinden 0,2-1 ml alınarak 10 ml'lik balon jojelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. 0,2 ml Kinolin Sarısı çözeltisi 10 ml'lik balon jojeye aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 2-10 µg/ml konsantrasyonlarında Eritrosin çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları Kinolin sarısı bileşenine ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. Eritrosin'in tayini için 495 ve 540 nm'nin uygun olduğu saptandı. 495 ve 540nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{495}$, $^1D_{540}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen Eritrosin konsantrasyonları arasında ölçü eğrileri çizildi.

İndigotin'e ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 100 µg/ml konsantrasyonundaki stok İndigotin çözeltisinden 0,1-0,5 ml alınarak 10 ml'lik balon jojelere aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. 0,2 ml Eritrosin çözeltisi 10 ml'lik balon jojeye aktarıldı ve distile su ile hacmine tamamlandıktan sonra 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı. Cihazda kayıtlı olan 1-5 µg/ml konsantrasyonlarında İndigotin çözeltilerine ait absorpsiyon spektrumları Eritrosin bileşenine ait absorpsiyon spektrumuna oranlandı. Oran spektrumunun 1.derece türev spektrumu alındı. Kantitatif tayinin yapılabileceği λ_{max} veya λ_{min} değerleri araştırıldı. İndigotin'in tayini için 591 ve 635 nm'nin uygun olduğu saptandı. 591 ve 635nm deki birinci derece türev absorbans değerleri ($^1D_{591}$, $^1D_{635}$) kaydedildi. Bu değerler ile karşılık gelen İndigotin konsantrasyonları arasında bir grafik çizilerek çizildi.

3.4.3 Yöntemlerin Örneklere Uygulanması

Ön çalışmalarda farklı sayılarda tabletlerle çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Gerek tabletler üzerinden renklendiricilerin alınması gerek süzme işlemleri için yapılan farklı çalışmalar ile renklendiricilerin en etkili şekilde nasıl alınabileceği ve kaç adet tablet ilaç ile çalışmaların yürütüleceği belirlendi. Ultrasonik banyo ile karıştırma ve enjektörden süzme işlemleri ile çalışmalar yapıldı. Yapılan her bir tablet çalışması için 50 adet tablet ayrı ayrı tartılarak ortalama tablet ağırlıkları saptandı.

Kuifleks Tablet: İçinde Ponso, Sunset Yellow, Kinolin Sarısı renklendiricilerini içeren Kuifleks tabletlerinden 30 adet (18,258 g) alındı ve 25-30 ml distile suda ile çözüldü. 30 dakika santrifüj edildikten sonra 50 ml'lik balon jøjeye aktarılarak distile su ile hacmine tamamlandı. Türev spektrofotometrik yöntem ve oran spektrofotometrik için 5 ml alınan örneklerin hacmi distile su ile 10ml'ye, fark türev spektrofotometrik yöntem için ise 5 ml alınan örneklerin hacmi sırasıyla 0,1N HCl ve 0,1N NaOH ile ayrı ayrı 10 ml'ye tamamlanarak standart ölçü eğrileri çiziminde kullanılan dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alınarak kaydedildi. Bütün bu işlemler 3 kez gerçekleştirilerek her bir örnek için de 2 farklı ölçüm alınarak 6 ölçümün ortalamaları alınmıştır.

Bemiks Tablet: İçinde Ponso, Sunset Yellow, Kinolin Sarısı renklendiricilerini içeren Bemiks tabletlerinden 25 adet (4,615 g) alındı ve 15-20 ml distile su ile çözüldü.30 dakika santrifüj edildikten sonra 25 ml'lik balon jøjeye aktarılarak distile su ile hacmine tamamlandı. Türev spektrofotometrik ve oran spektrofotometrik yöntem için 3 ml alınan örnekler distile su ile 10ml'ye, fark türev spektrofotometrik yöntem için ise 3 ml alınan örnekler sırasıyla 0,1N HCl ve 0,1N NaOH ile ayrı ayrı 10 ml'ye tamamlanan çözeltilerin standart ölçü eğrileri çiziminde kullanılan dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alınarak kaydedildi. Bütün bu işlemler 3 kez gerçekleştirilerek her bir örnek için de 2 farklı ölçüm alınarak 6 ölçümün ortalamaları alınmıştır.

Kuilil Tablet: İçinde Eritrosin, İndigotin, Kinolin Sarısı renklendiricilerini içeren Kuilil tabletlerinden 40 adet (20,964 g) alındı ve 30-35 ml distile su ile çözüldü. 30 dakika santrifüj edildikten sonra 50 ml'lik balon jøjeye aktarılarak distile su ile hacmi tamamlandı. Türev spektrofotometrik ve oran spektrofotometrik yöntem için 5 ml alınan örnekler distile su ile 10ml'ye, fark türev spektrofotometrik yöntem için ise 5 ml alınan örnekler sırasıyla 0,1N HCl ve 0,1N NaOH ile ayrı ayrı 10 ml'ye tamamlanan çözeltilerin standart ölçü eğrileri çiziminde kullanılan dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alınarak kaydedildi. Bütün bu işlemler 3 kez gerçekleştirilerek her bir örnek için de 2 farklı ölçüm alınarak 6 ölçümün ortalamaları alınmıştır.

Ecopirin Tablet: İçinde Eritrosin, İndigotin, Kinolin Sarısı renklendiricilerini içeren Ecopirin tabletlerinden 40 adet (5,132 g) alındı ve 10 ml amonyak-metanol karışımı (%95:5, v/v) ile çözüldü. Ultrasonik banyoda karıştırma işlemi yapıldıktan sonra, 30 dakika santrifüj işlemi yapılarak 25 ml'lik balon jöjeye aktarıldı, distile su ile hacmine tamamlandı. Türev spektrofotometrik ve oran spektrofotometrik yöntem için 6 ml alınan örnekler distile su ile 10ml'ye, fark türev spektrofotometrik yöntem için ise 5 ml alınan örnekler sırasıyla 0,1N HCl ve 0,1N NaOH ile ayrı ayrı 10 ml'ye tamamlanan çözeltilerin standart ölçü eğrileri çiziminde kullanılan dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alınarak kaydedildi. Bütün bu işlemler 3 kez gerçekleştirilerek her bir örnek için de 2 farklı ölçüm alınarak 6 ölçümün ortalamaları alınmıştır.

3.4.4 Validasyon Çalışmaları

3.4.4.1 Gün İçi ve Gün Aşırı Ölçümler

100 µg/ml konsantrasyondaki stok çözeltilerden Ponso (2-10 µg/ml), Sunset Yellow (2-10 µg/ml), Kinolin Sarısı (2-10 µg/ml)-(3-15 µg/ml), Eritrosin (2-10 µg/ml), İndigotin (1-5 µg/ml) çözeltileri hazırlanarak gün içinde birer saat ara ile 3 kez ölçüm alınmıştır. Gün aşırı deneyler içinse hazırlanan çözeltilerin üç gün boyunca ölçümü alınarak kaydedilmiştir. Aynı şekilde 3lü boya karışımlarının ikisi sabit, biri ise doğru orantılı olarak artışı gerçekleşecek şekilde çözelti karışımları hazırlanarak gün içi 3 kez ve gün aşırı üç gün boyunca ölçümü alınarak kaydedilmiştir.

3.4.4.2 Laboratuvarlar Arası Çalışma

100 µg/ml hazırlanmış olan stok çözeltilerden Ponso (2-10 µg/ml), Sunset Yellow (2-10 µg/ml), Kinolin Sarısı (2-10 µg/ml)-(3-15 µg/ml), Eritrosin (2-10 µg/ml), İndigotin (1-5 µg/ml) çözeltileri alınarak 10ml'lik balon jöjelerde hacmine su ile tamamlanarak farklı bir laboratuvar ortamında farklı bir UV spektrofotometre cihazında türev spektrofotometrik yöntem ile 300-700 nm dalga boyları arasında spektrumları alınarak kaydedilmiştir. Aynı miktarda boyar madde çözeltileri 10ml'lik balon jöjelerde 0,1N HCl-0,1N NaOH ile hacmine ayrı ayrı tamamlanarak farklı bir laboratuvar ortamında farklı bir UV spektrofotometre cihazında fark türev spektrofotometrik yöntemi ile 300-700 nm dalga boyları arasında spektrumları alınarak kaydedilmiştir.

3.4.4.3 Tayin limiti(LOD) / Ölçüm limiti(LOQ)

LOD ve LOQ tayini için 2-10 ppm Ponso, 2-10 ppm Sunset Yellow, 2-10ppm Kinolin Sarısı, 3-15 ppm Kinolin, 2-10 ppm Eritrosin ve 1-5 ppm İndigotin çözeltileri hazırlanarak aynı gün içinde her biri için 6 paralel çalışma yapılarak Türev yöntem ve Fark yöntem değerleri, ilgili dalga boylarında ölçülerek kaydedildi.

3.4.4.4 Yüzde Verim Çalışmaları

Türev spektrofotometrik yöntem, fark türev spektrofotometrik yöntem ve oran türev spektrofotometrik yöntem ile oluşturulan ölçü eğrileri ve buradan çıkan regresyon denklemleri yardımıyla 2-10 ppm Ponso, 2-10 ppm Sunset, 3-15 ppm Kinolin, 2-10 ppm Eritrosin, 1-5 ppm İndigotin, 2-10 ppm Kinolin çözeltileri farklı oranlarda 3lü karışımlar halinde karıştırılarak %verim çalışmaları yapıldı.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 Uygun Koşulların Saptanması

Ponso, Sunset Yellow ve Kinolin Sarısı karışımının sulu çözeltilerinin alınan absorpsiyon spektrumlarında (Şekil 5.1.) piklerin üst üste çakışması nedeniyle bu üç maddenin bir arada tayini absorpsiyon spektrofotometrisi ile mümkün değildir. (Şekil 5.2.), (Şekil 5.5.), (Şekil 5.6.), (Şekil 5.7.), (Şekil 5.8), (Şekil 5.9) da görüldüğü üzere üst üste çizilmiş olan 1. derece türev spektrumlarında absorpsiyon eğrilerinde iki bileşenin sıfır üçüncü bileşenin yüksek absorpsiyon değerleri verdiği dalga boylarında (Ponso'nun 525nm ve 570nm'de, Sunset'in 506nm ve 538(2D) nm'de, Kinolin'in 406nm ve 420nm'de) ölçülen türev absorbans değerlerinden yararlanarak renklendiricilerin birbirine etkisi olmadan kantitatif tayinleri mümkündür.

Fark türev spektroskopisi yönteminde de absorpsiyon ölçümleri yerine (Şekil 5.14.) 1.türev (Şekil 5.15.) absorpsiyon eğrilerinde iki bileşenin sıfır üçüncü bileşenin yüksek absorpsiyon değerleri verdiği dalga boylarında (Ponso'nun 546nm'de, Sunset Yellow'un 589nm'de, Kinolin Sarısı'nın 390nm'de) (Şekil5.18.), (Şekil5.19.), (Şekil5.20.) ölçülen türev absorpsiyon değerlerinden yararlanarak renklendiricilerin birbirine etkisi olmadan kantitatif tayinleri mümkün olmaktadır.

Oran türev spektrofotometrik yönteminde ise ikili oran yöntemi ile uygun sonuçlar (Şekil5.26.), (Şekil5.27.), (Şekil5.28.) elde edildiği halde tekli oran yöntemi ile kantitatif tayinin daha kesin sonuçlar verdiği saptanmıştır. Tekli oran yöntemi ile (Şekil5.32.), (Şekil5.33.) (Şekil5.34.), (Şekil5.38.), (Şekil5.39.), (Şekil5.40.) Ponso'nun 517nm ve 580nm'de, Sunset Yellow'un 510nm ve 528nm'de, Kinolin Sarısı'nın ise 439nm'de kantitatif tayini mümkündür.

Eritrosin, İndigotin ve Kinolin Sarısı karışımının sulu çözeltilerinin alınan absorpsiyon spektrumlarında (Şekil 5.3) yine piklerin üst üste çakıştığı görülmektedir. Bu nedenle üç maddenin bir arada tayini absorpsiyon spektrofotometrisi ile mümkün değildir. (Şekil 5.4), (Şekil 5.10), (Şekil 5.11), (Şekil 5.12), (Şekil 5.13) de üst üste çizilmiş olan 1. derece türev spektrumlarında Eritrosin'in 537nm ve 544nm'de, İndigotin'in 638nm ve 670nm'de, Kinolin Sarısı'nın 420nm ve 423nm(²D)'de ölçülen türev absorpsiyon değerlerinden yararlanarak renklendiricilerin birbirine etkisi olmadan kantitatif tayinleri mümkün olur.

Fark türev spektroskopisi yönteminde absorpsiyon ölçümleri yerine (Şekil 5.16.) 1.türev (Şekil 5.17.) ile Eritrosin'in 544nm ve 525nm'de, İndigotin'in 693nm ve 638nm'de, Kinolin Sarısı'nın 446nm(²D)'de (Şekil5.21), (Şekil 5.22), (Şekil 5.23), (Şekil 5.24), (Şekil 5.25) ölçülen türev absorpsiyon değerlerinden yararlanarak renklendiricilerin birbirine etkisi olmadan kantitatif tayinleri mümkün olmaktadır.

Oran türev spektrofotometrik yönteminde ise ikili oran yöntemi uygun sonuçlar (Şekil 5.29), (Şekil 5.30) , (Şekil 5.31) elde edildiği halde tekli oran yöntemi ile kantitatif tayinin daha kesin sonuçlar verdiği saptanmıştır. Tekli oran yöntemi ile Eritrosin'in 495nm ve 540nm'de, İndigotin'in 591nm ve 635nm'de, Kinolin Sarısı'nın 377nm ve 443nm'de(Şekil 5.35), (Şekil 5.36) , (Şekil 5.37), (Şekil 5.41), (Şekil 5.42) , (Şekil 5.43) kantitatif tayini mümkündür.

4.2 Ölçü Eğrileri

Kuifleks ve Bemiks tabletlerde Ponso, Sunset Yellow ve Kinolin Sarısı'nın kantitatif tayininde kullanılmak üzere 2-10 ppm ve 3-15 ppm konsantrasyon aralığında hazırlanan çözeltilerin Bölüm 3.4.2' de anlatıldığı gibi çalışılarak absorpsiyon, 1.derece türev ve 2.derece türev spektrumları alındı. (Tablo 5.27 - Tablo 5.31 arası) Bu değerler yardımıyla oluşturulan ölçü eğrilerine ait grafikler ve tablolar Bölüm 5'te verilmiştir.

Türev spektrofotometrik yöntem, fark türev spektrofotometrik ve oran türev spektrofotometrik yöntem ile oluşturulan ölçü eğrileri Şekil (5.49 – 5.54) , Şekil (61-63 ve 69-71) ve Şekil (75-79) arasında verilmiştir. Ortalama ¹D değerleri ile oluşturulan ölçü eğrileri ve bu eğrilere ait regrasyon denklemleri bulundu.

Kuilil ve Ecopirin tabletlerde Eritrosin, İndigotin ve Kinolin Sarısı'nın kantitatif tayininde kullanılmak üzere 2-10 ppm ve 1-5 ppm konsantrasyon aralığında hazırlanan çözeltilerin Bölüm 3.4.2' de anlatıldığı gibi çalışılarak absorpsiyon, 1.derece türev ve 2.derece türev spektrumları alındı.(Tablo 5.32 - Tablo 5.37 arası) Bu değerler yardımıyla oluşturulan ölçü eğrilerine ait grafikler ve tablolar Bölüm 5'te verilmiştir.

Türev spektrofotometrik yöntem, fark türev spektrofotometrik yöntem ve oran türev spektrofotometrik yöntem ile oluşturulan ölçü eğrileri Şekil (5.45 – 5.60) , Şekil (64-68) ve Şekil (72-74 ve 80-85) arasında verilmiştir. Ortalama ¹D değerleri ile oluşturulan ölçü eğrileri ve bu eğrilere ait regrasyon denklemleri bulundu.

4.3 Yüzde Verim Çalışmaları

Türev spektrofotometrik yöntem, fark türev spektrofotometrik yöntem ve oran türev spektrofotometrik yöntem ile saf ve karışım halindeki tüm renklendiriciler için % verim çalışmaları Bölüm 3.4.4.4 de anlatıldığı gibi yapıldı. (Tablo 5.45. – Tablo 5.50 arası)

4.4 Kuifleks, Bemiks, Kuilil, Ecopirin Tabletlerin Analizi

Kuifleks, Bemiks, Kuilil ve Ecopirin tabletlerde bulunan Ponso, Sunset Yellow, Kinolin Sarısı, Eritrosin ve İndigotin'in miktarı Bölüm 3.4.2' te anlatıldığı gibi çalışılarak türev spektrofotometrik yöntem, fark türev spektrofotometrik yöntem ve oran türev spektrofotometrik yöntem ile tayin edildi. Bu yöntemlere ait absorpsiyon ve 1. Derece türev spektrumları 5.bölüm de gösterilmiştir. Bu yöntemle bulunan sonuçlar Tablo 6.1 – 6.12 arasında verildi.

4.5 Validasyon Çalışmaları

Bölüm 3.4.4.' deki gibi çalışılarak elde edilen çalışma sonuçları ortalama, standart sapma ve bağıl standart sapma olarak hesaplandı. Sonuçlar Tablo 5.1 – 5.37 arasında verildi

Bölüm 3.4.4.1.'deki çalışma ile gün içi ve gün aşırı çalışmalar ile oluşan sonuçlar Tablo 5.40, Tablo 5.41, Tablo 5.42 ve Tablo 5.43 de verildi.

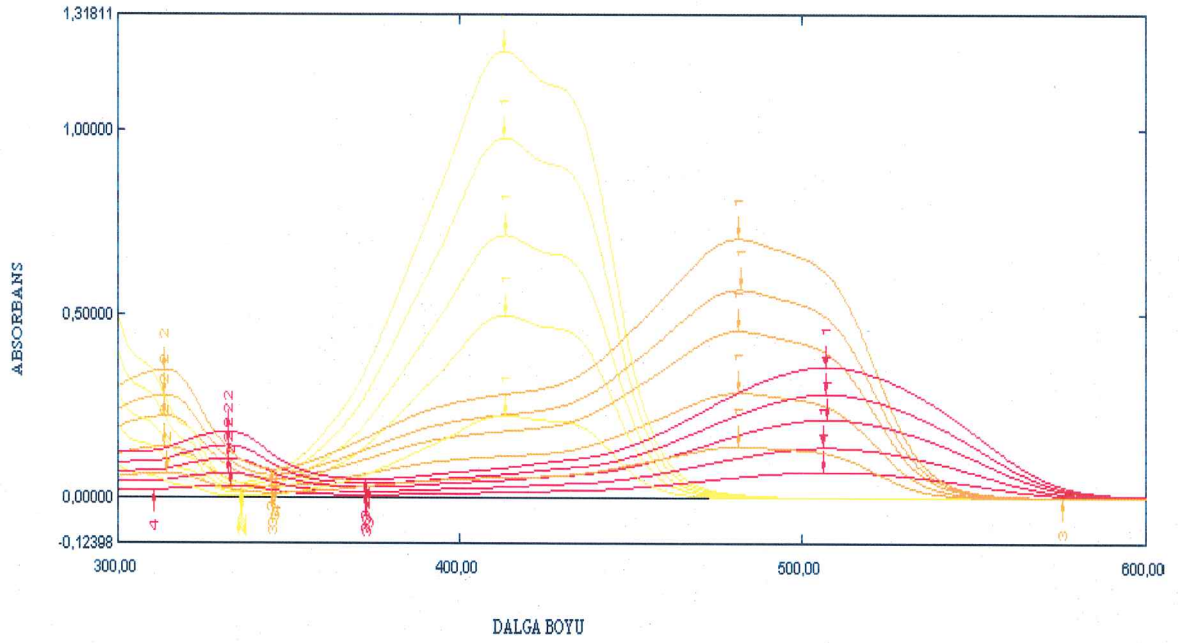
Bölüm 3.4.4.2.'daki çalışma ile laboratuvarlar arası çalışma ile oluşan sonuçlar Tablo 5.44 de verildi.

Zamana bağlı bozunma kontrolüne bağlı spektrumlar Şekil5.44, Şekil 5.45, Şekil 5.46, Şekil 5.47 ve Şekil 5.48 de gösterilmiştir.

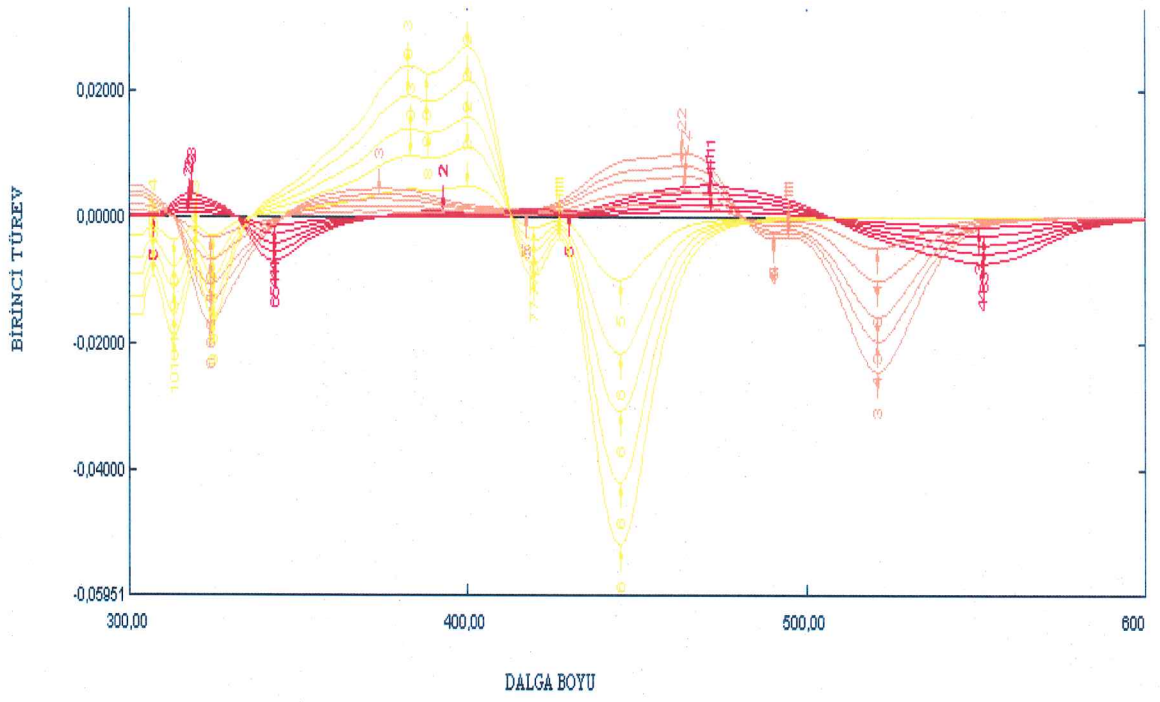
Bölüm 3.4.4.3' deki gibi çalışılarak elde edilen çalışma sonuçları ortalama, standart sapma ve bağıl standart sapma olarak hesaplandı. LOD değeri için standart sapmanın üç katı, LOQ değeri için standart sapmanın on katı alındı. (Tablo 5.38) (Tablo 5.39)

ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER

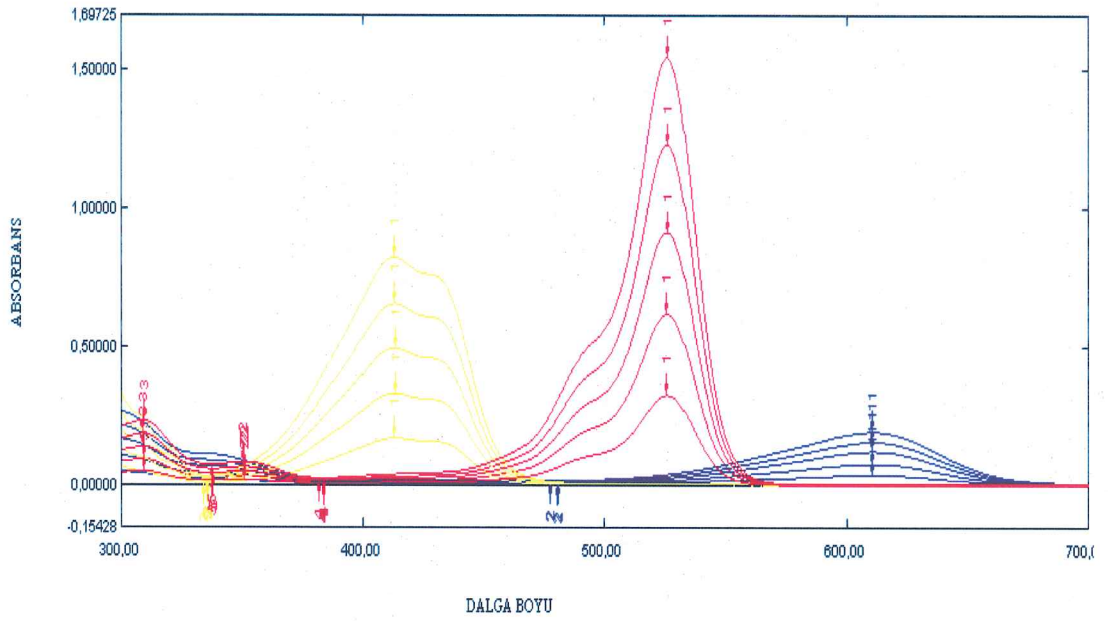
* Türev Spektrofotometrik Yöntem (Yöntem 1)



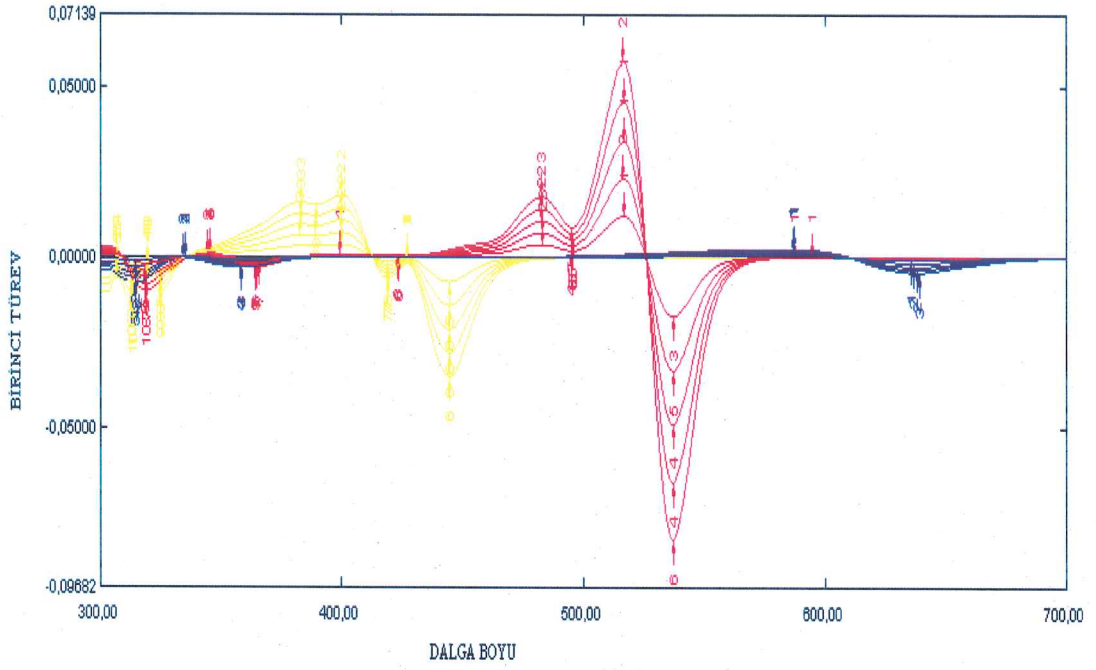
Şekil 5.1 Kinolin Sarısı (sarı, 3-15 µg/ml), Ponso (kırmızı, 2-10 µg/ml), Sunset Yellow'a (turuncu, 2-10 µg/ml) ait Yöntem 1'e göre alınan absorpsiyon spektrumları.



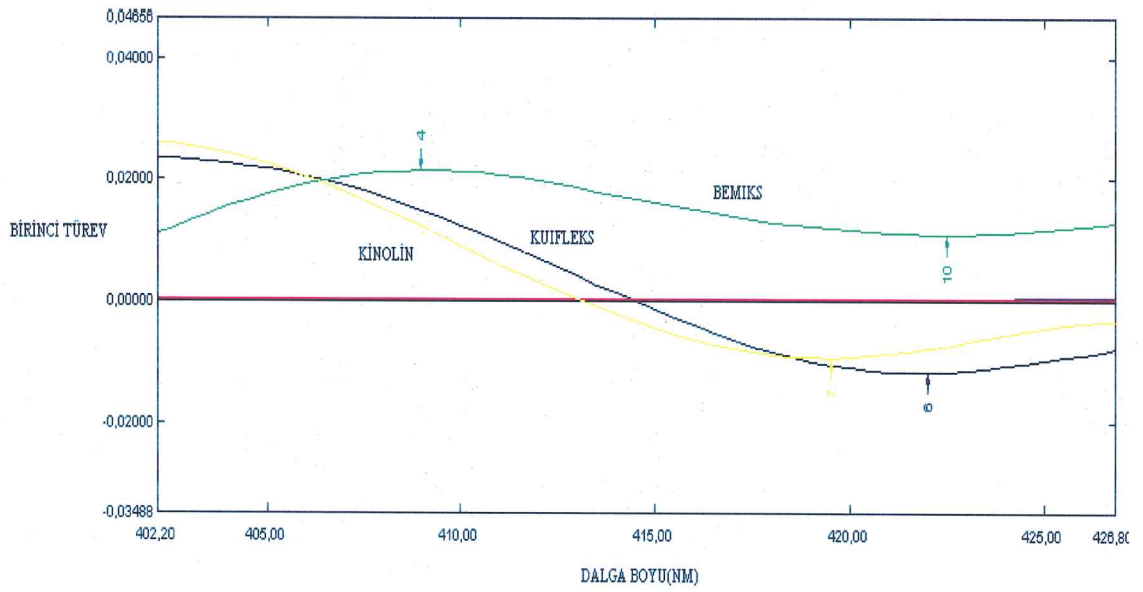
Şekil 5.2 Kinolin Sarısı (sarı, 3-15 $\mu\text{g/ml}$), Ponso (kırmızı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), Sunset Yellow'a (turuncu, 2-10 $\mu\text{g/ml}$) ait Yöntem 1'e göre alınan 1.türev spektrumları.



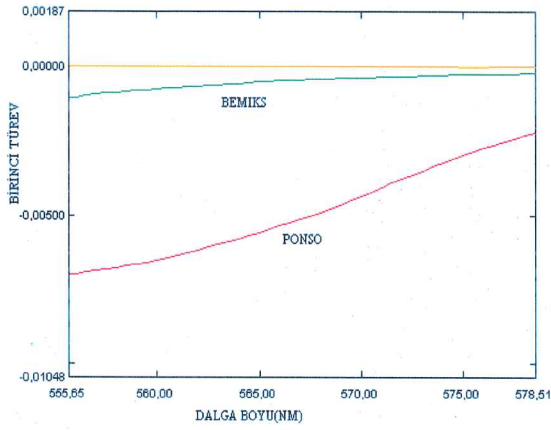
Şekil 5.3 Kinolin Sarısı (sarı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), Eritrosin (kırmızı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), İndigotin'e (mavi, 1-5 $\mu\text{g/ml}$) ait Yöntem 1'e göre alınan absorpsiyon spektrumları.



Şekil 5.4 Kinolin Sarısı (sarı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), Eritrosin (kırmızı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), İndigotin'e (mavi, 1-5 $\mu\text{g/ml}$) ait Yöntem 1'e göre alınan 1.türev spektrumları.

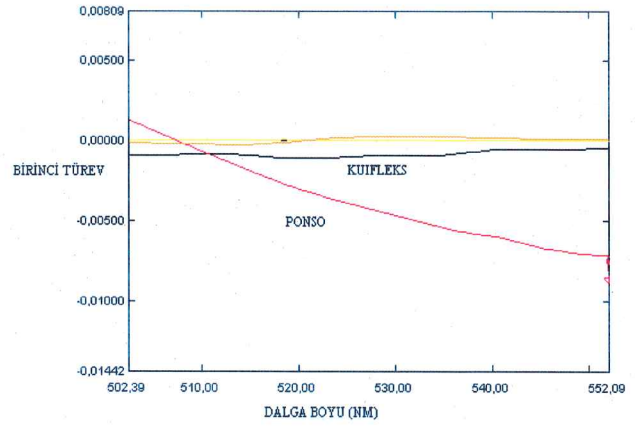


Şekil 5.5 Kinolin Sarısı (sarı) renklendiricisine, Bemiks(yeşil) ve Kuifleks(siyah) numunelerine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (406 ve 420 nm)



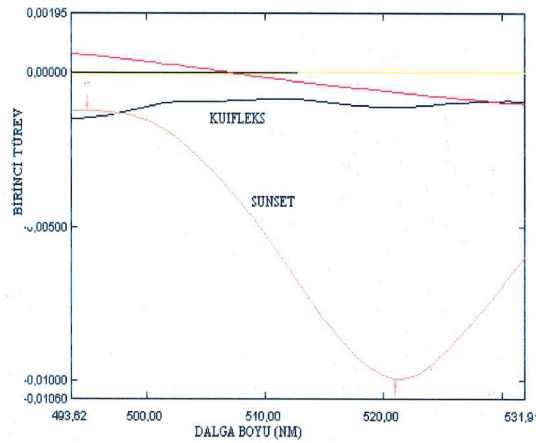
Şekil 5.6

Şekil 5.6 Ponso(kırmızı) renkendiricisine ve Bemiks(yeşil) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (570nm)



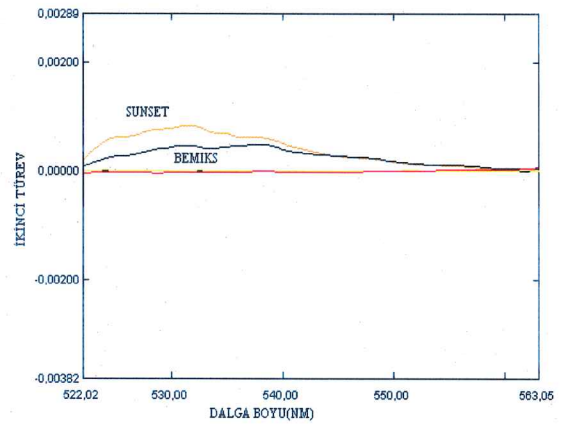
Şekil 5.7

Şekil 5.7 Ponso(kırmızı) renkendiricisine ve Kuifleks(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (525nm)



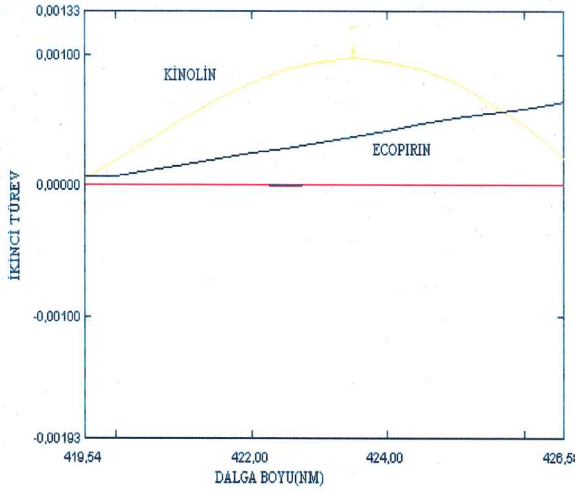
Şekil 5.8

Şekil 5.8 Sunset(turuncu) renkendiricisine ve Kuifleks (siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları.(Yöntem 1) (506nm)

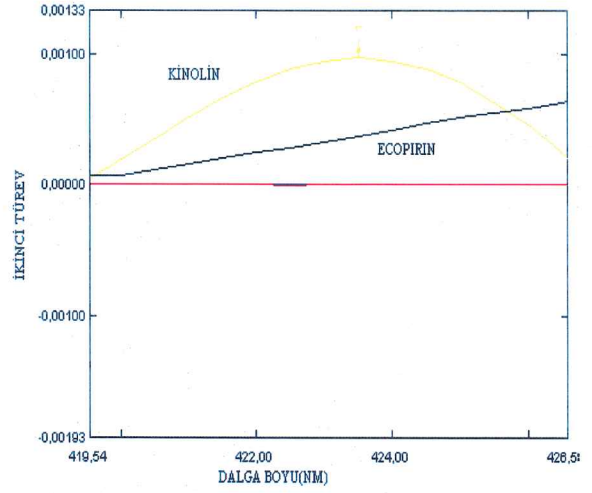


Şekil 5.9

Şekil 5.9 Sunset(turuncu) renkendiricisine ve Bemiks(siyah) numunesine ait 2.türev spektrumları. (Yöntem 1) (538nm)



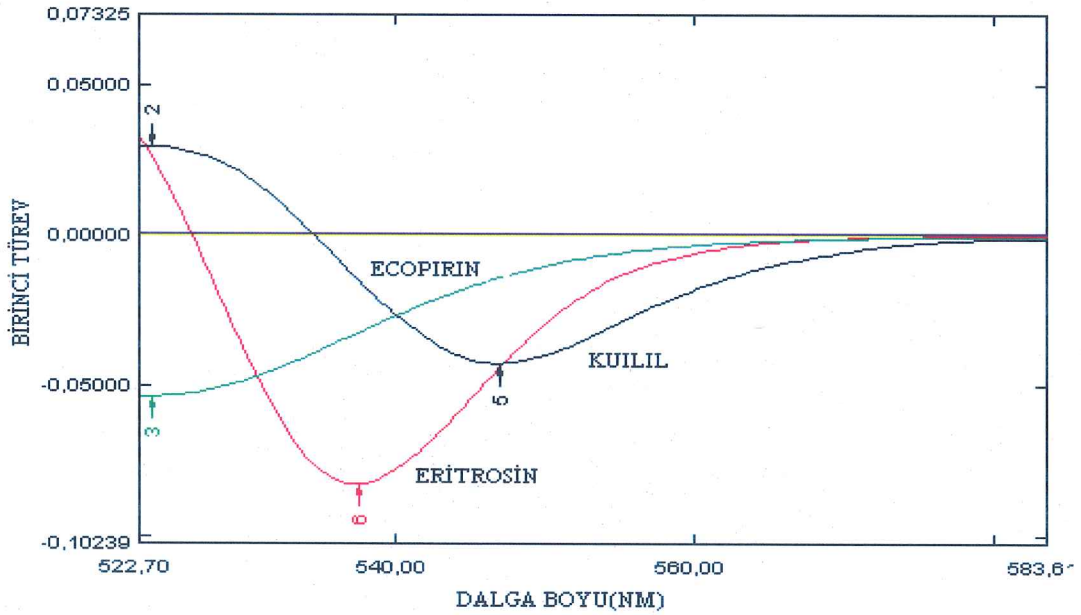
Şekil 5.10



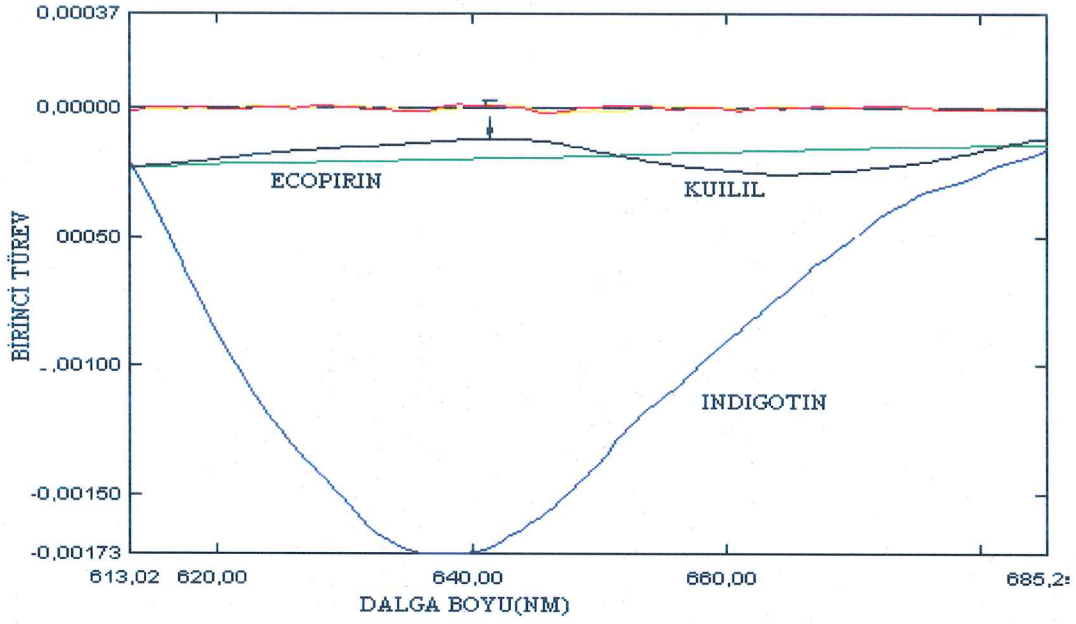
Şekil 5.11

Şekil 5.10 Kinolin(sarı) renklendiricisine ve Kuilil(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (420nm)

Şekil 5.11 Kinolin(sarı) renklendiricisine ve Ecopirin(siyah) numunesine ait 2.türev spektrumları.(Yöntem 1) (423)

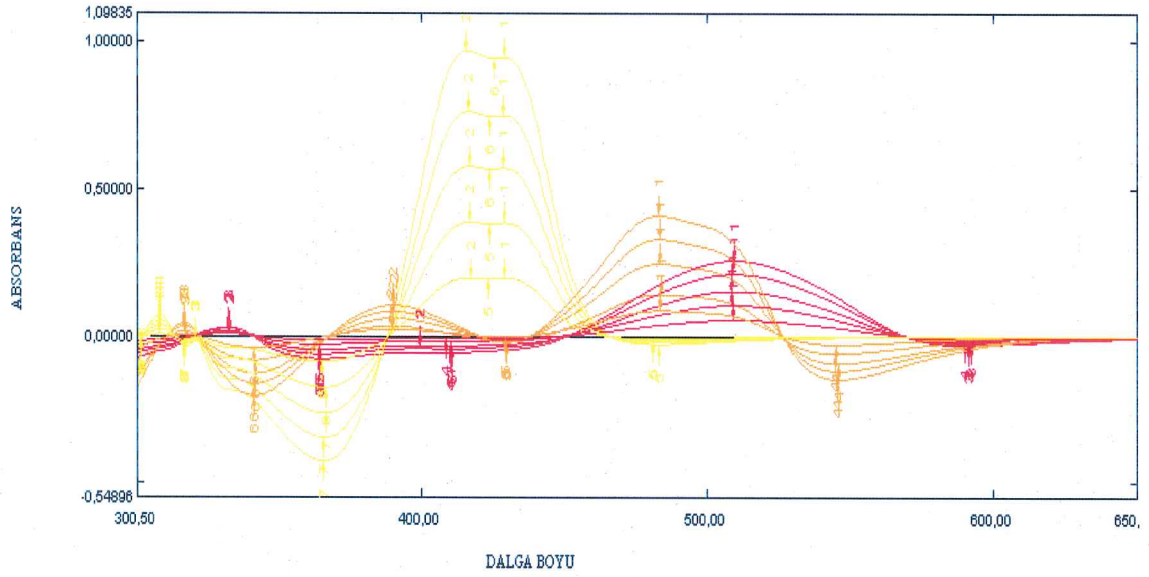


Şekil 5.12 Eritrosin(kırmızı) renklendiricisine, Ecopirin(yeşil) ve Kuilil(siyah) numunelerine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 1) (537 ve 544nm)

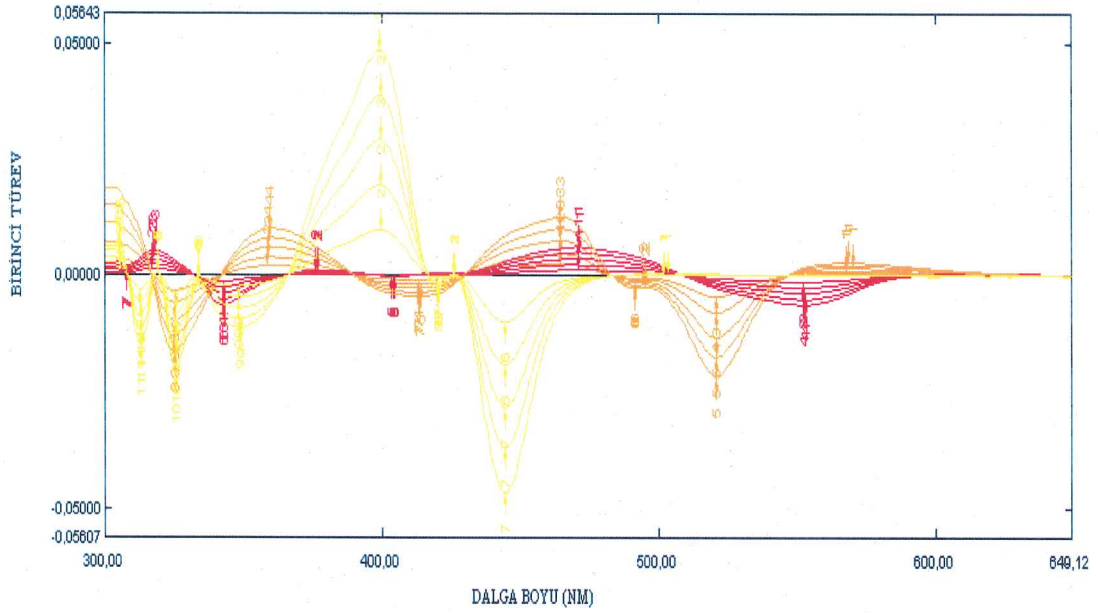


Şekil 5.13 Indigotin(mavi) renklendiricisine, Ecopirin(yeşil) ve Kuilil(siyah) numunelerine ait 1.türev spektrumları.(Yöntem 1) (638 ve 670nm)

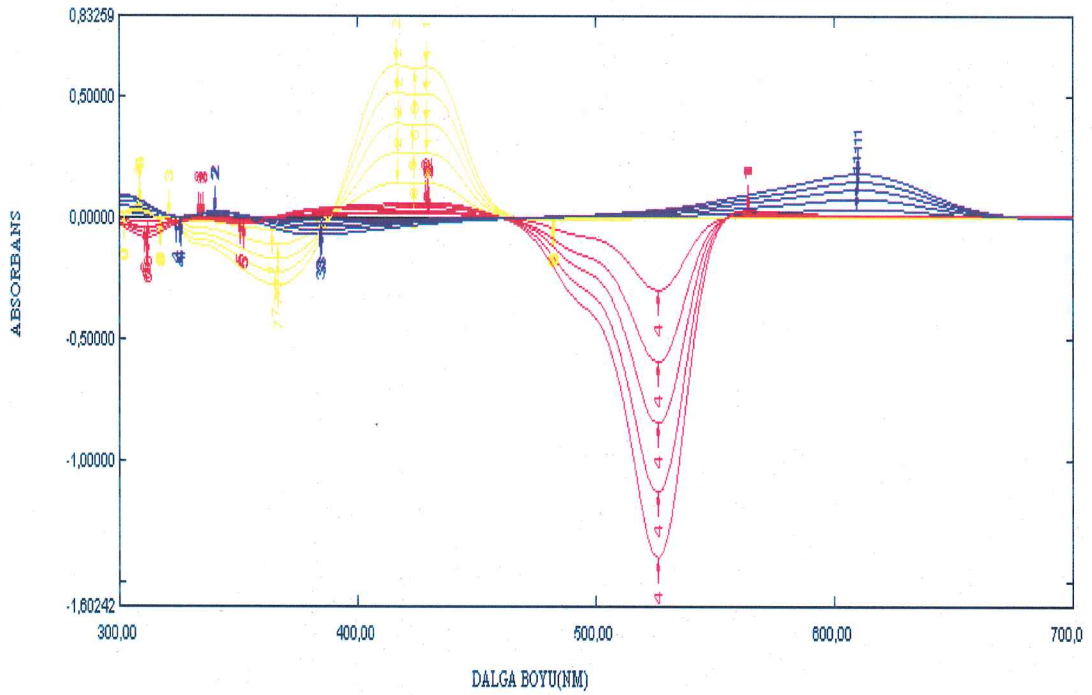
*** Fark Türev Yöntemi (Yöntem 2)**



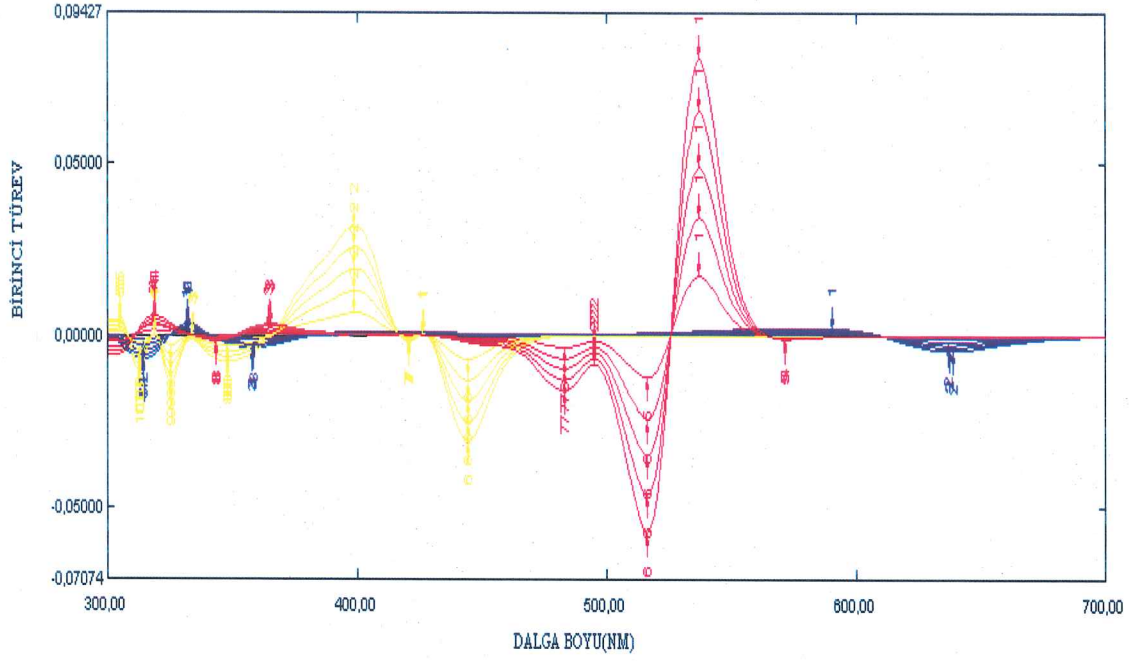
Şekil 5.14 Kinolin Sarısı (sarı, 3-15 $\mu\text{g/ml}$), Ponso (kırmızı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), Sunset Yellow'a (turuncu, 2-10 $\mu\text{g/ml}$) ait Yöntem 2'ye göre alınan absorpsiyon spektrumları.



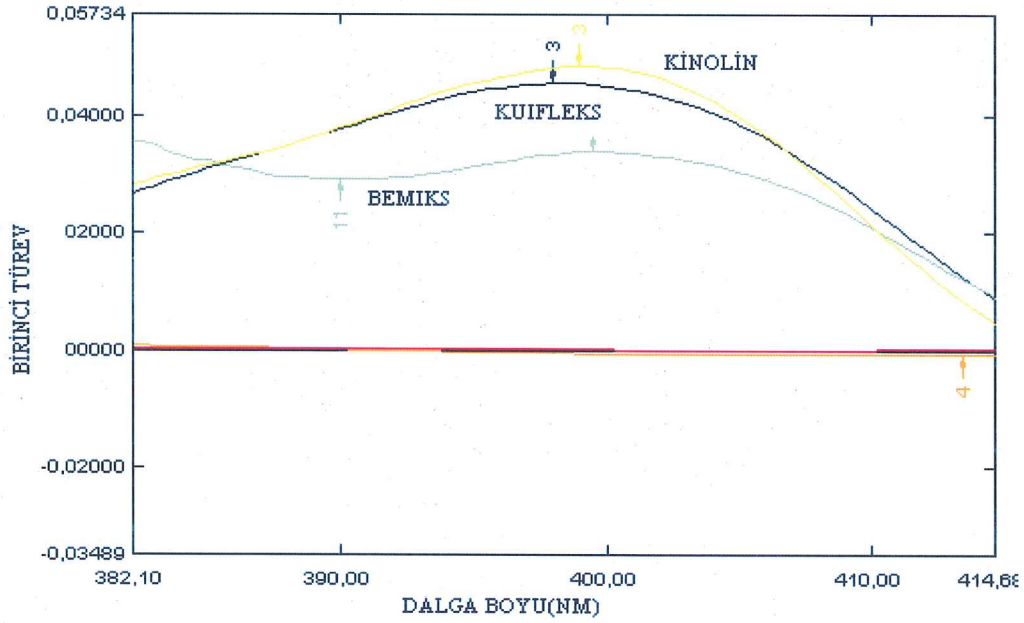
Şekil 5.15 Kinolin Sarısı (sarı, 3-15 $\mu\text{g/ml}$), Ponso (kırmızı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), Sunset Yellow'a (turuncu, 2-10 $\mu\text{g/ml}$) ait Yöntem 2'ye göre alınan 1.türev spektrumları.



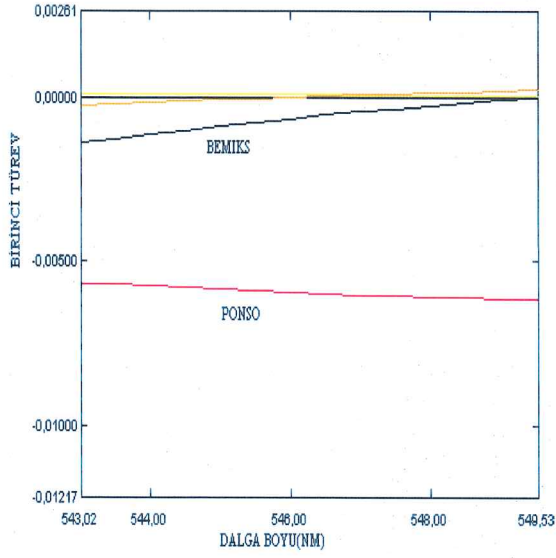
Şekil 5.16 Kinolin Sarısı (sarı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), Eritrosin (kırmızı, 2-10 $\mu\text{g/ml}$), İndigotin'e (mavi, 1-5 $\mu\text{g/ml}$) ait Yöntem 2'ye göre alınan absorpsiyon spektrumları.



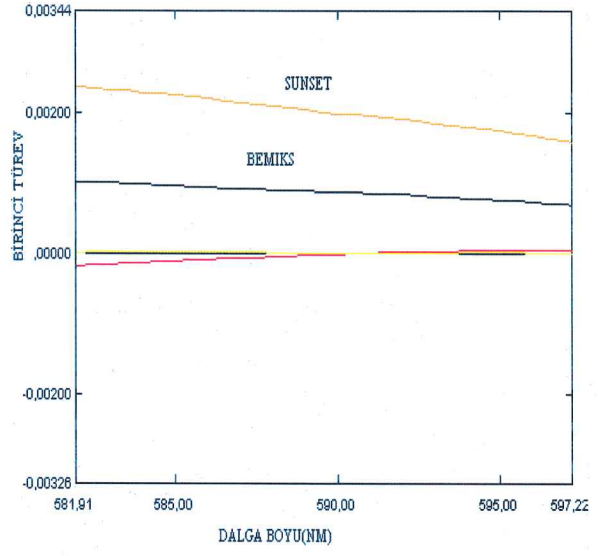
Şekil 5.17 Kinolin Sarısı (sarı, 2-10 µg/ml), Eritrosin (kırmızı, 2-10 µg/ml), İndigotin'e (mavi) 1-5 µg/ml ait Yöntem 2'ye göre alınan 1.türev spektrumları.



Şekil 5.18 Kinolin Sarısı (sarı) renklendiricisine, Kuifleks(siyah) ve Bemiks(yeşil) numunelerine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (390nm)



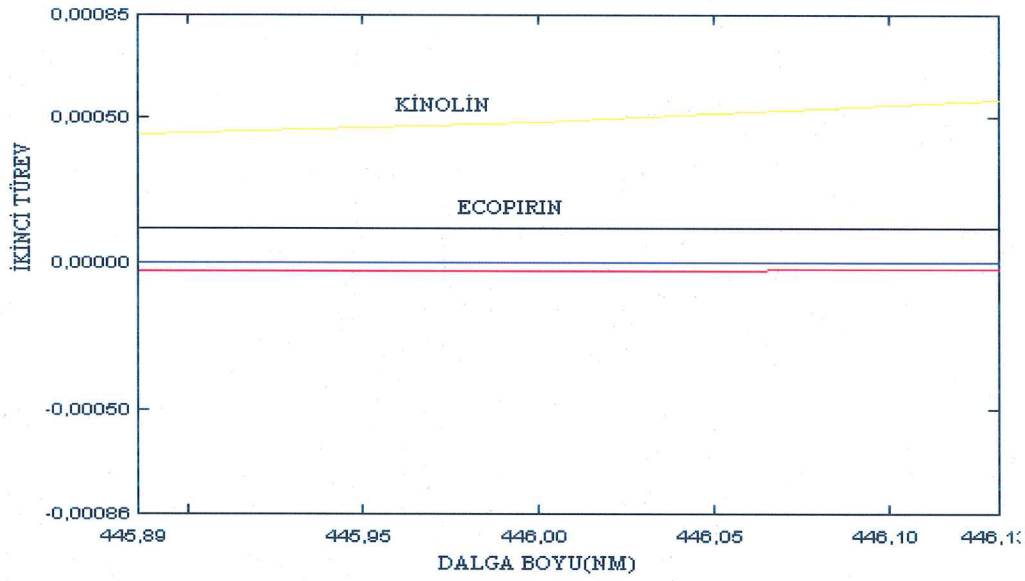
Şekil 5.19



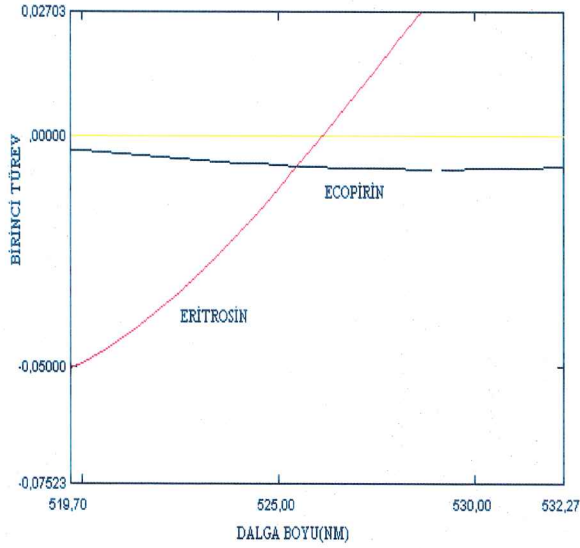
Şekil 5.20

Şekil 5.19 Ponso(kırmızı) renklendiricisine ve Bemiks(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (546nm)

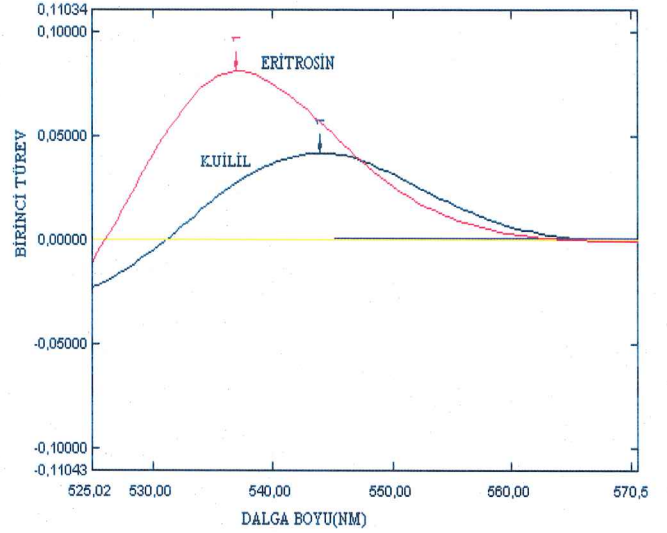
Şekil 5.20 Sunset(turuncu) renklendiricisine ve Bemiks(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (589nm)



Şekil 5.21 Kinolin(sarı) renklendiricisine ve Ecopirin(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (446nm)



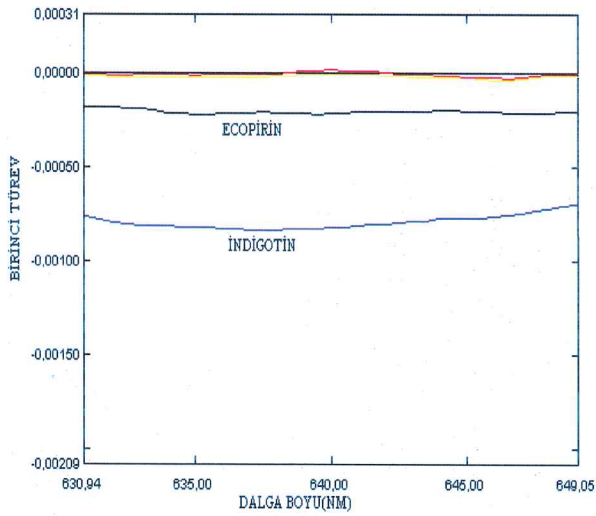
Şekil 5.22



Şekil 5.23

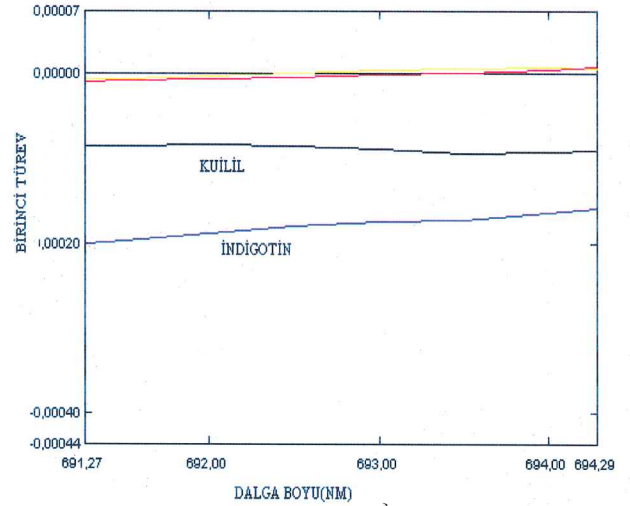
Şekil 5.22 Eritrosin(kırmızı) renklendiricisine ve Ecopirin(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (525nm)

Şekil 5.23 Eritrosin(kırmızı) renklendiricisine ve Kuilil(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (544nm)



Şekil 5.24

Şekil 5.24 İndigotin(mavi) renklendiricisine ve Ecopirin(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları.(Yöntem 2) (638nm)

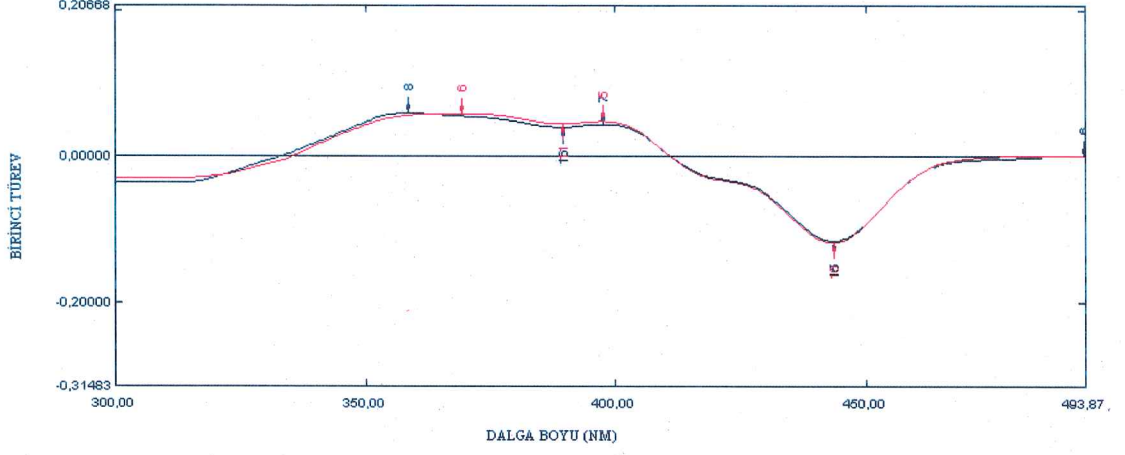


Şekil 5.25

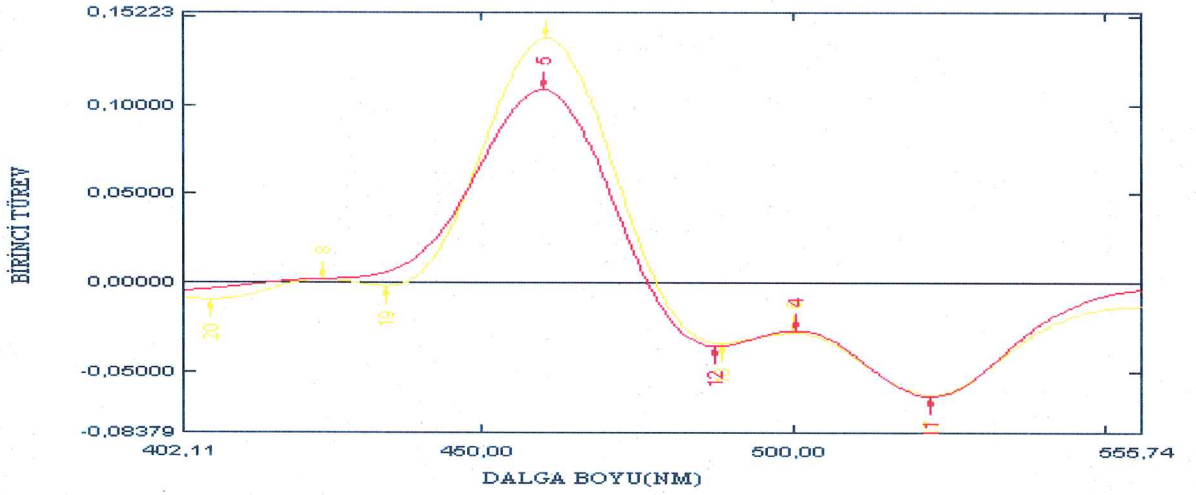
Şekil 5.25 İndigotin(mavi) renklendiricisine ve Kuilil(siyah) numunesine ait 1.türev spektrumları. (Yöntem 2) (693nm)

ORAN YÖNTEMİ(Yöntem 3)

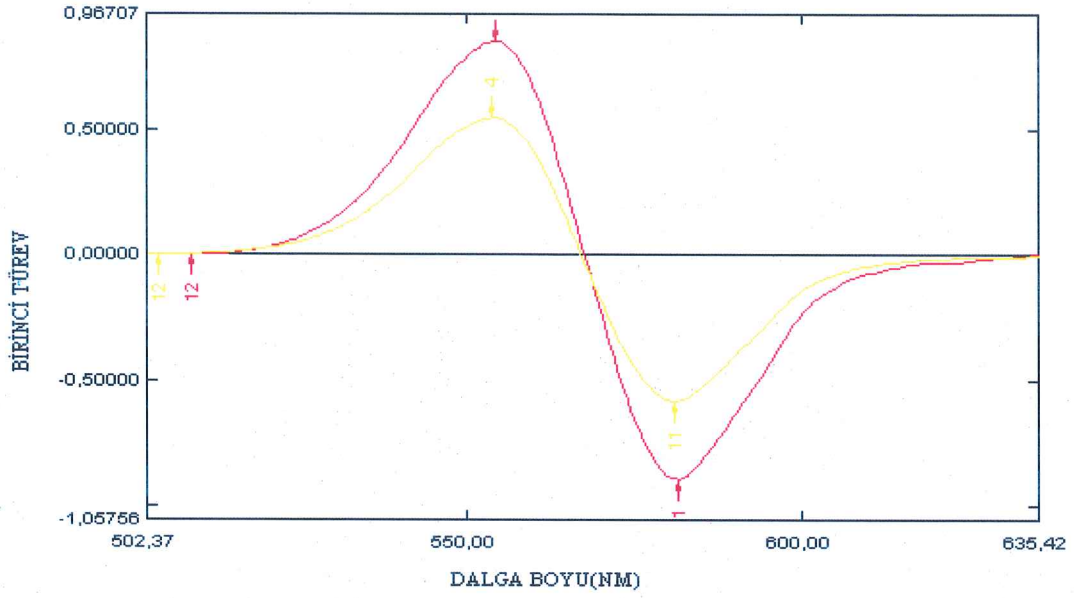
* İki Bileşene Bölme (Yöntem 3a)



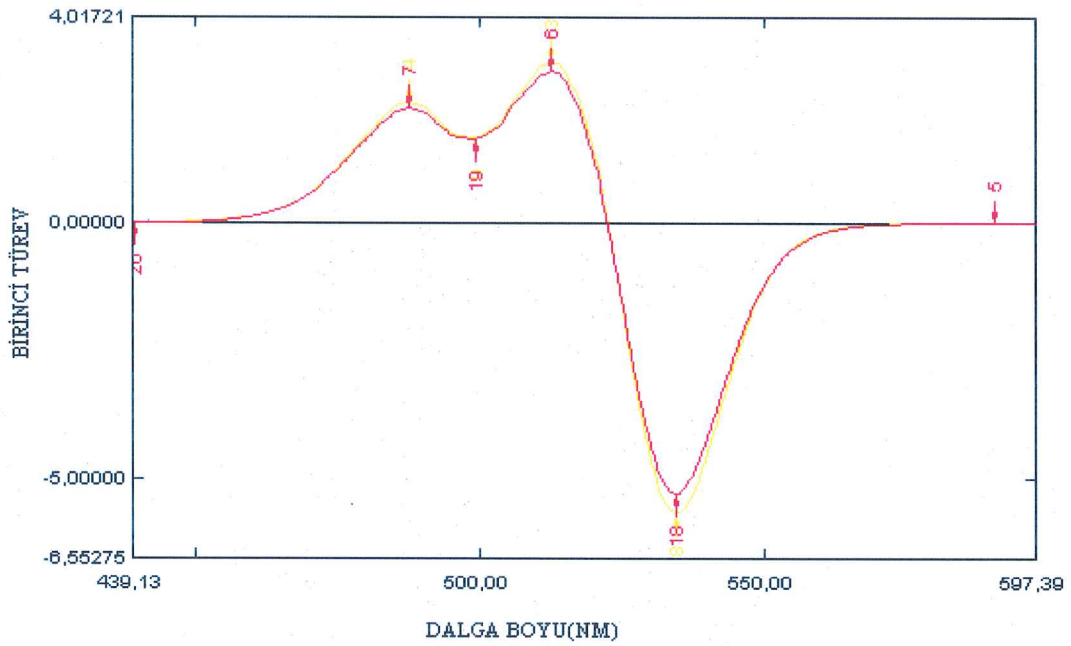
Şekil 5.26 9k6p6s /6p6s (siyah) ve 9k/6p6s(kırmızı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları (Yöntem 3a) (445nm)



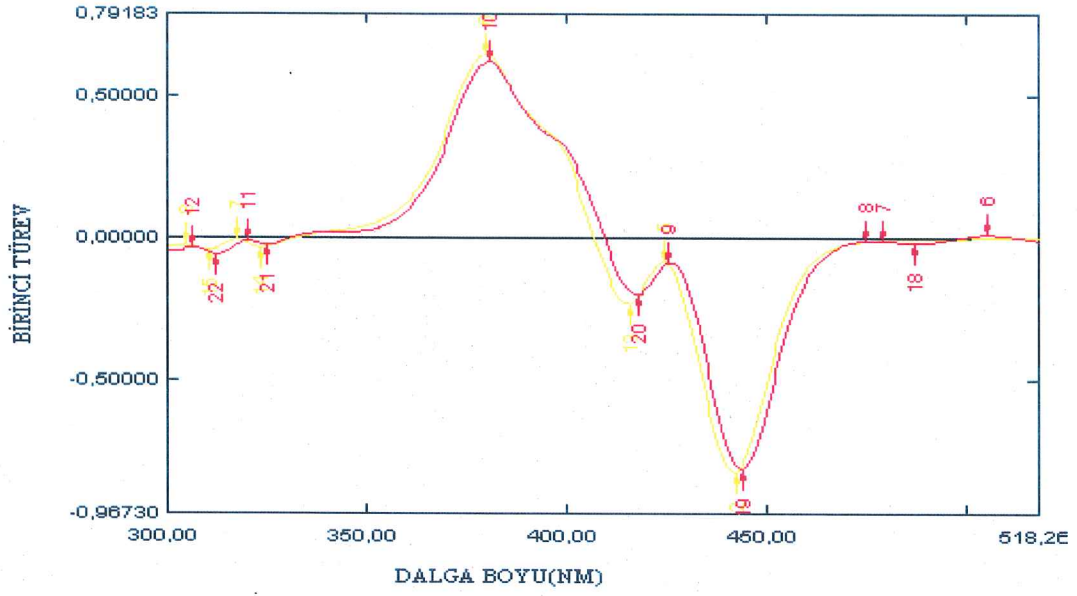
Şekil 5.27 6s6p9k/6p9k(sarı) ve 6s/6p9k(kırmızı) oran spektrumlarının 1. Türev spektrumları (Yöntem 3a) (460 ve 522nm)



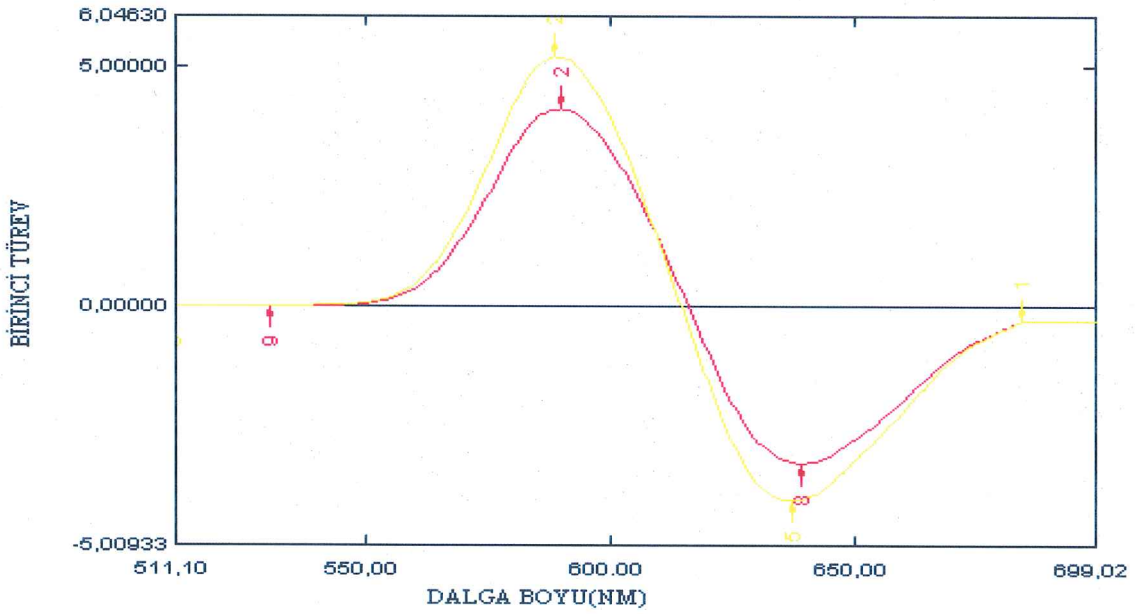
Şekil 5.28 6p6s9k/6s9k(kırmızı) ve 6p/6s9k(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları.(Yöntem3a) (554 ve 581 nm)



Şekil 5.29 6e6k3i/6k3i(kırmızı) ve 6e/6k3i(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları (Yöntem 3a) (488 ve 534nm)

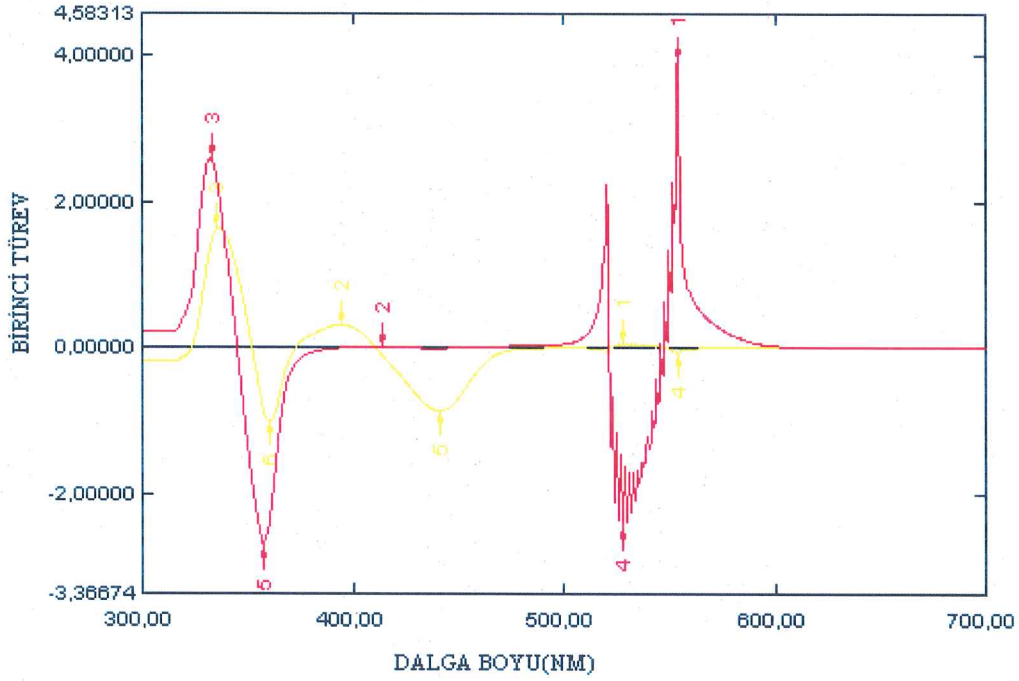


Şekil 5.30 6k6e3i/6e3i(kırmızı) ve 6k/6e3i(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları. (Yöntem 3a) (375,407 ve 448nm)

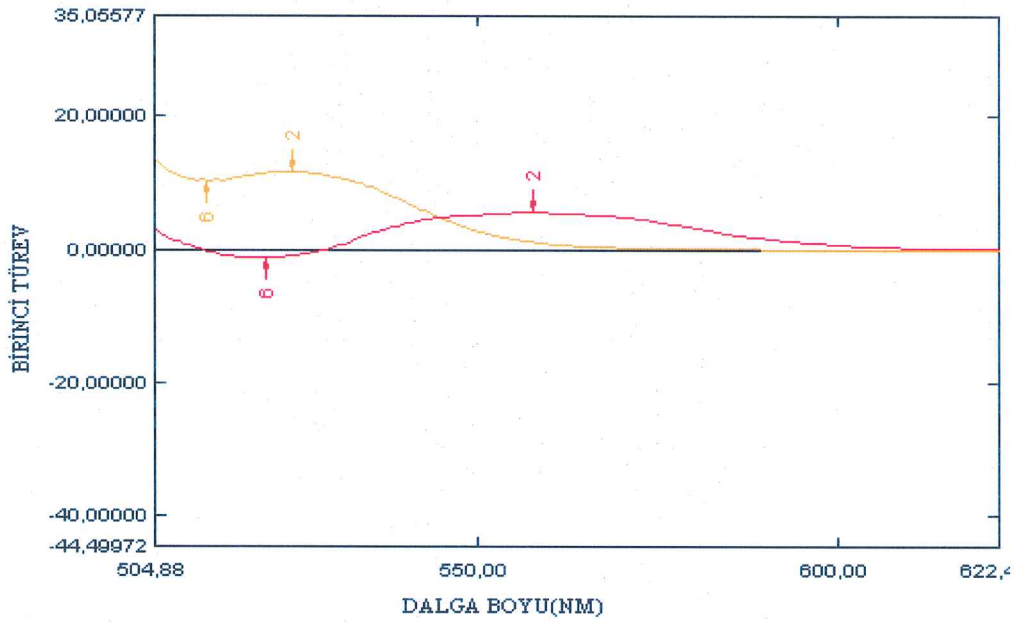


Şekil 5.31 3i6e6k/6e6k(kırmızı) ve 3i/6e6k(sarı) oran spektrumlarının 1. Türev spektrumları. (Yöntem 3a) (589 ve 637 nm)

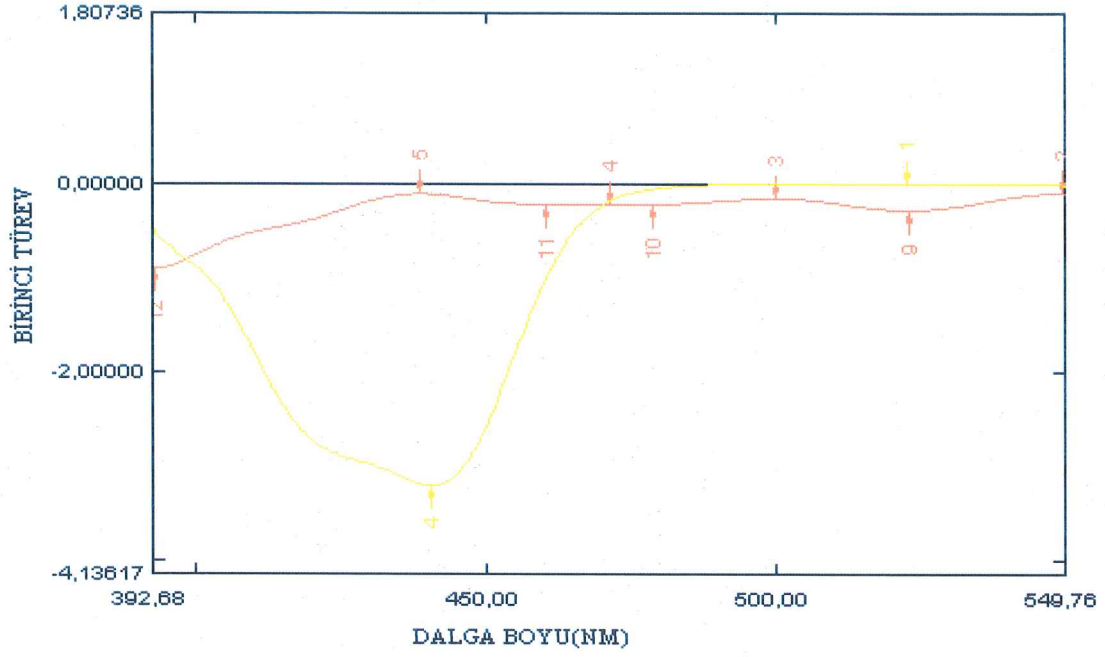
* Tek Bileşene Bölme (Yöntem 3b)



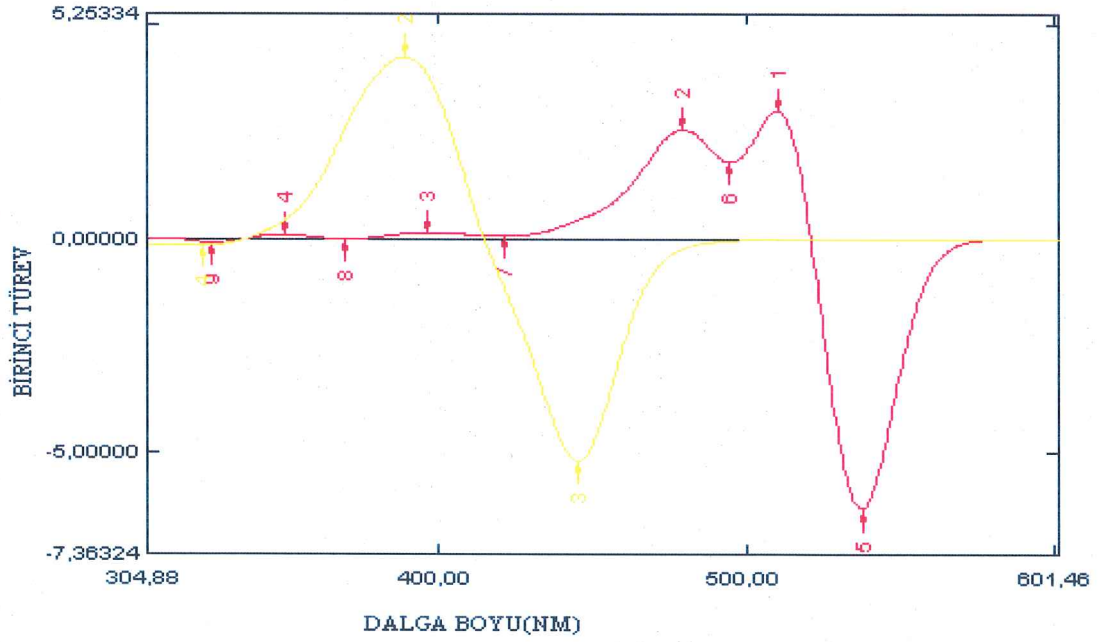
Şekil 5.32 10pon/2sun (kırmızı) ve 15kin/2sun (sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları. (Yöntem 3b) (439nm)



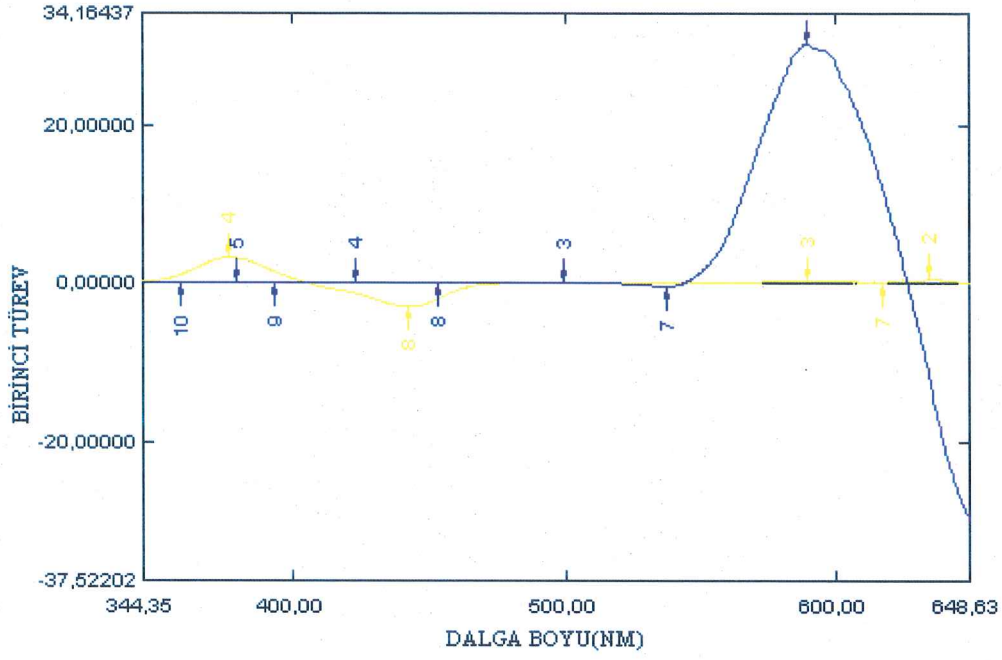
Şekil 5.33 10pon/3kin(kırmızı) ve 10sun/3kin(turuncu) oran spektrumlarının 1.türev spektrumları.(Yöntem 3b) (517 ve 580 nm)



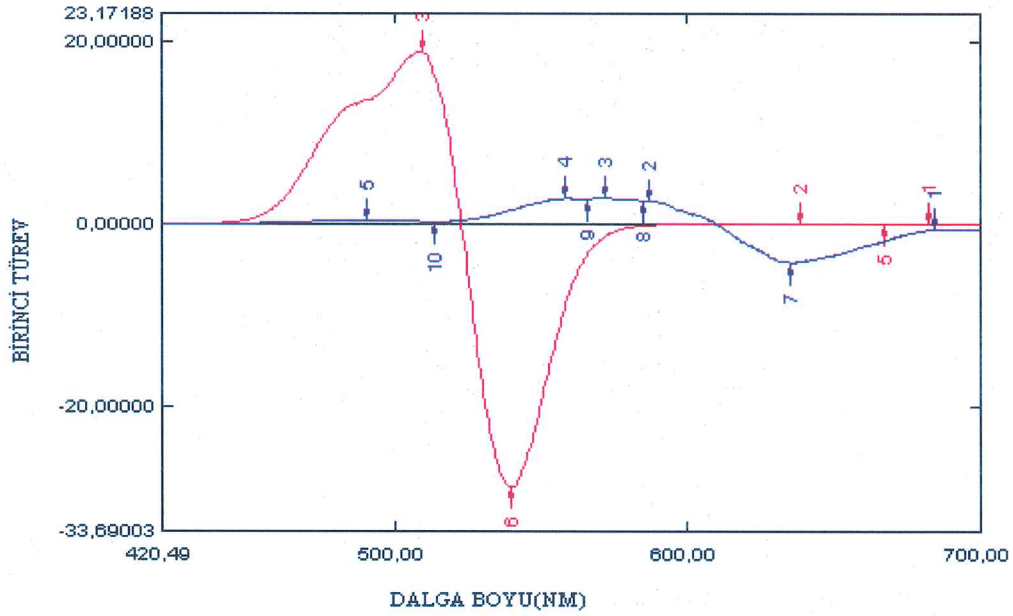
Şekil 5.34 15kin/2pon(sarı) ve 10sun/2pon (turuncu) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları. (Yöntem 3b) (439nm)



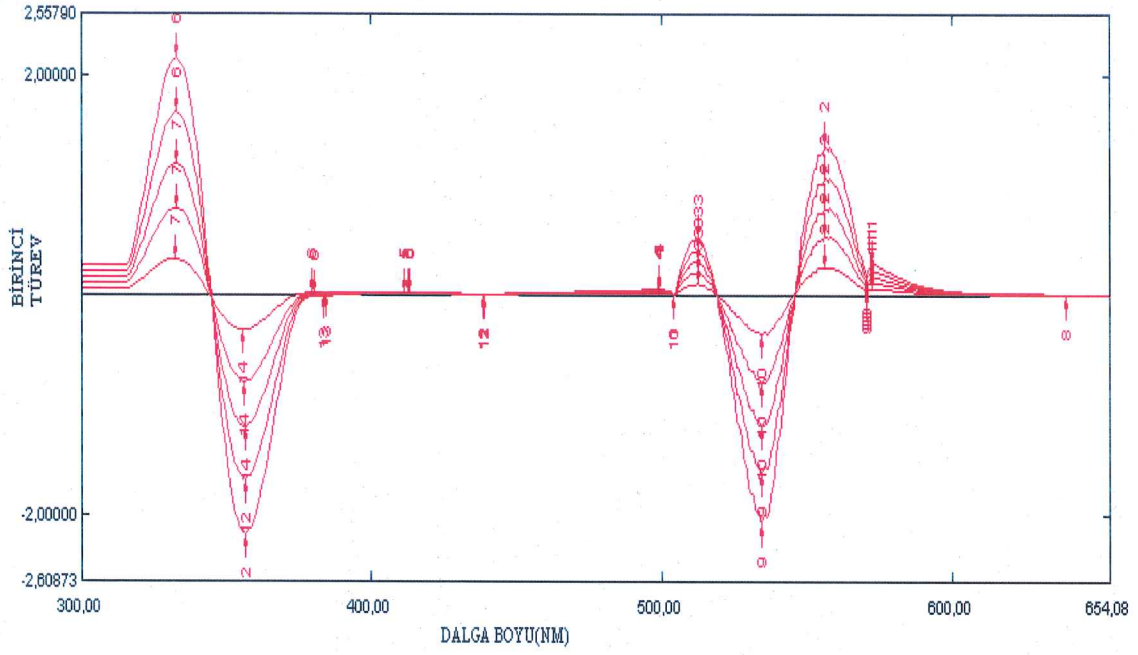
Şekil 5.35 10ert/1ind(kırmızı) ve 10kin/1ind(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları. (Yöntem 3b) (495 ve 540 nm)



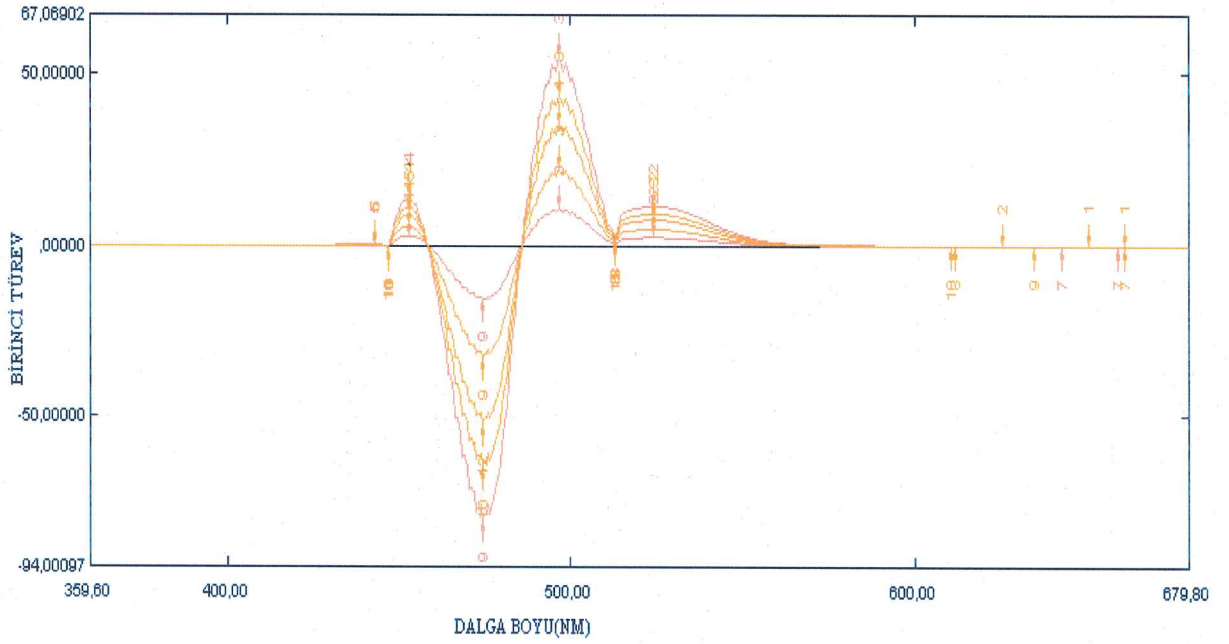
Şekil 5.36 5ind/2ert(mavi) ve 10kin/2ert(sarı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları (Yöntem 3b) (377 ve 443 nm)



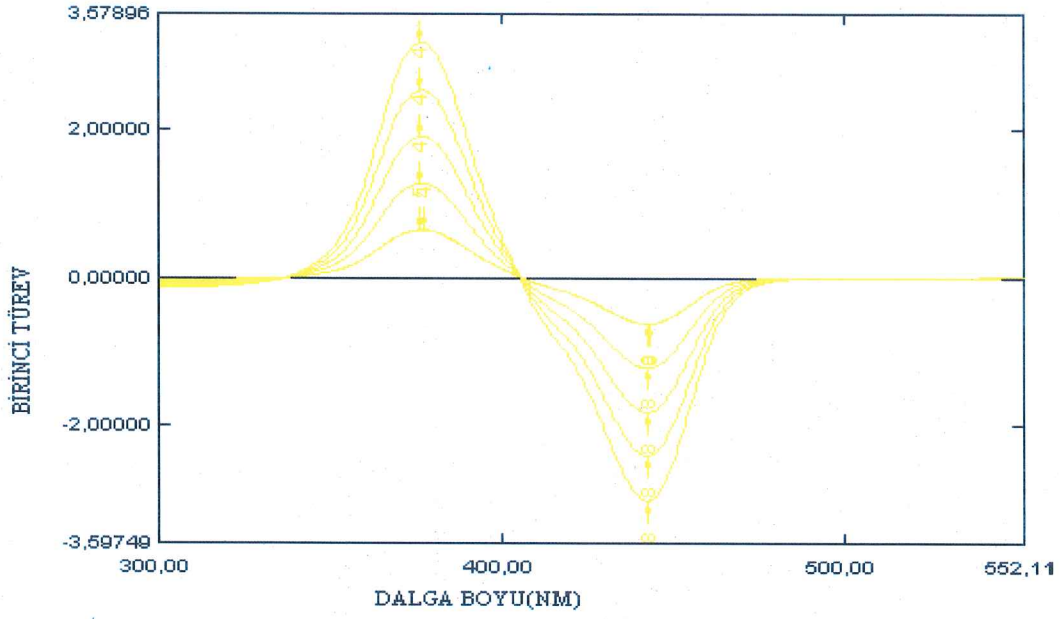
Şekil 5.37 5ind/2kin(mavi) ve 10ert/2kin(kırmızı) oran spektrumlarının 1. türev spektrumları.(Yöntem 3b) (591 ve 635nm)



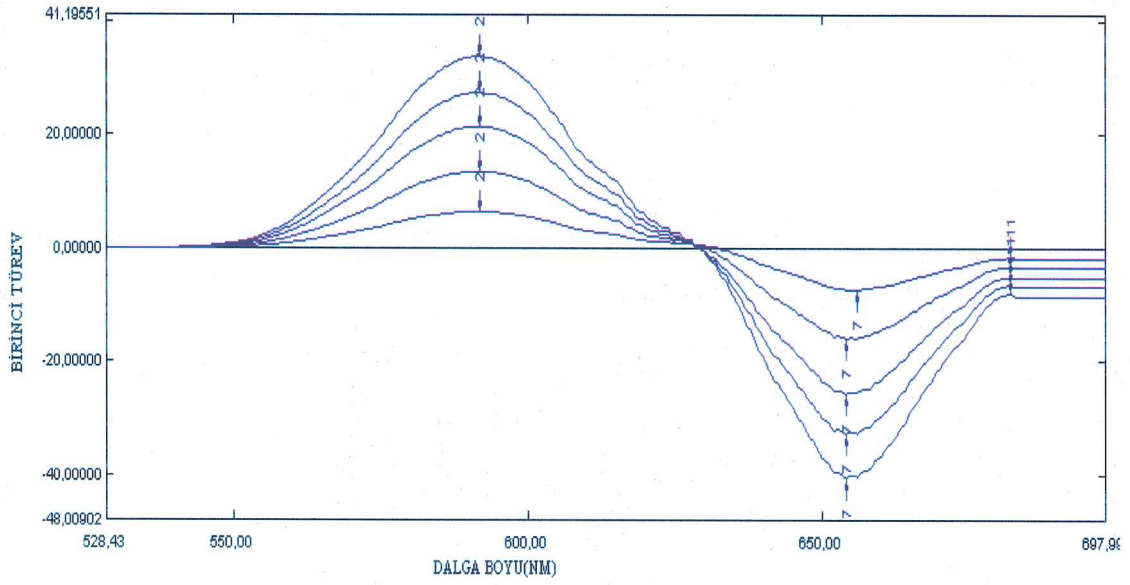
Şekil 5.38 Ponso'ya (2-10 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları(Yöntem 3b)



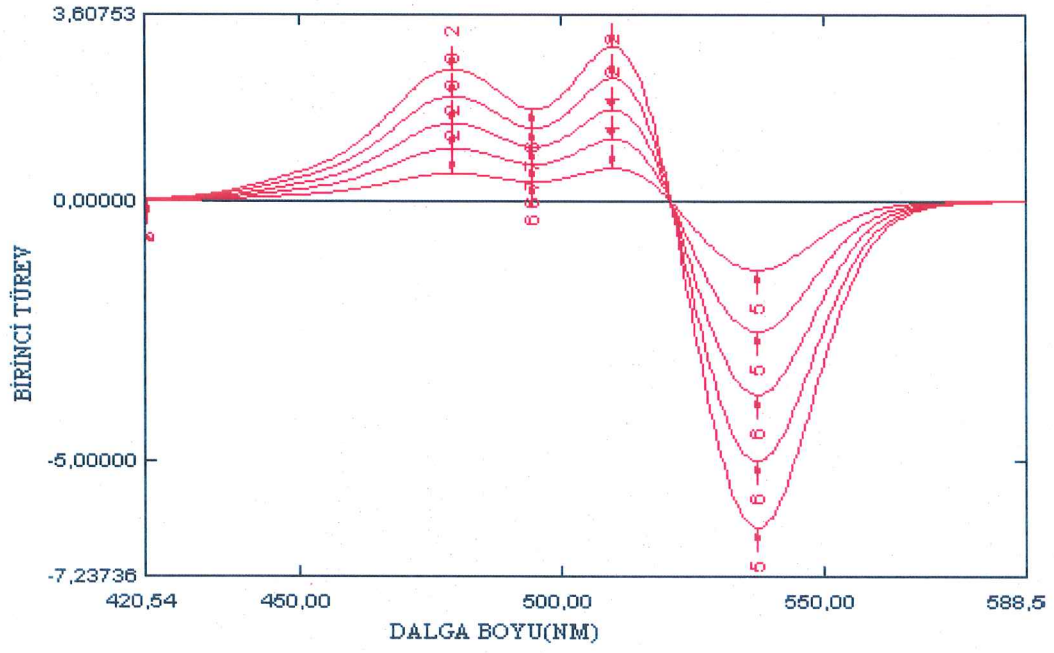
Şekil 5.39 Sunset Yellow'a (2-10 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları (Yöntem 3b)



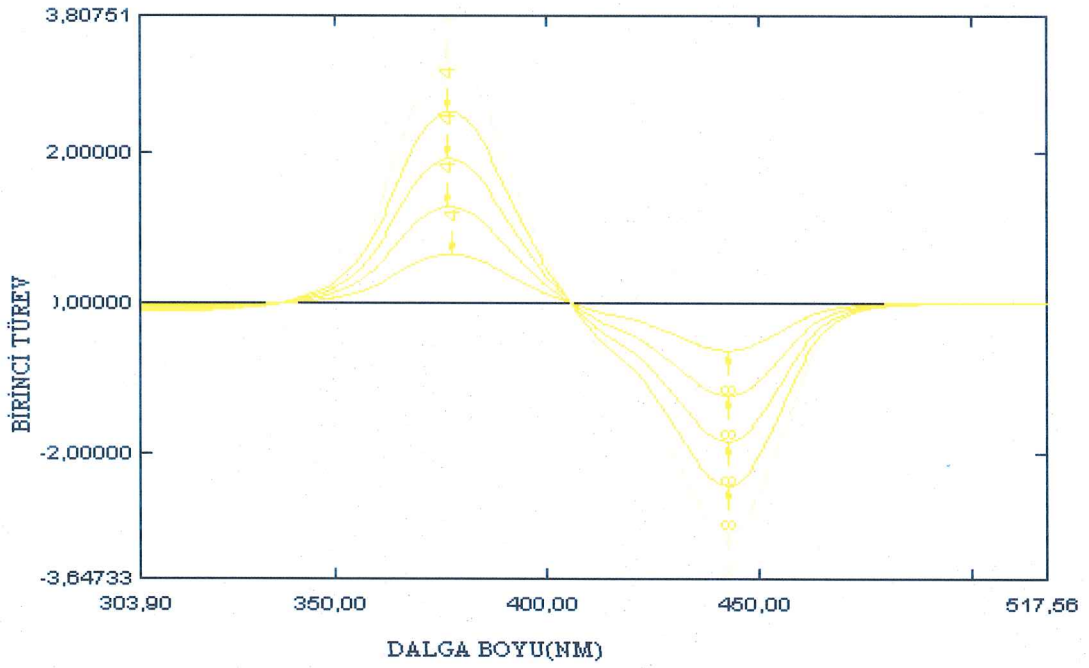
Şekil 5.40 Kinolin Sarısı'na (3-15 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyont spektrumları(Yöntem 3b)



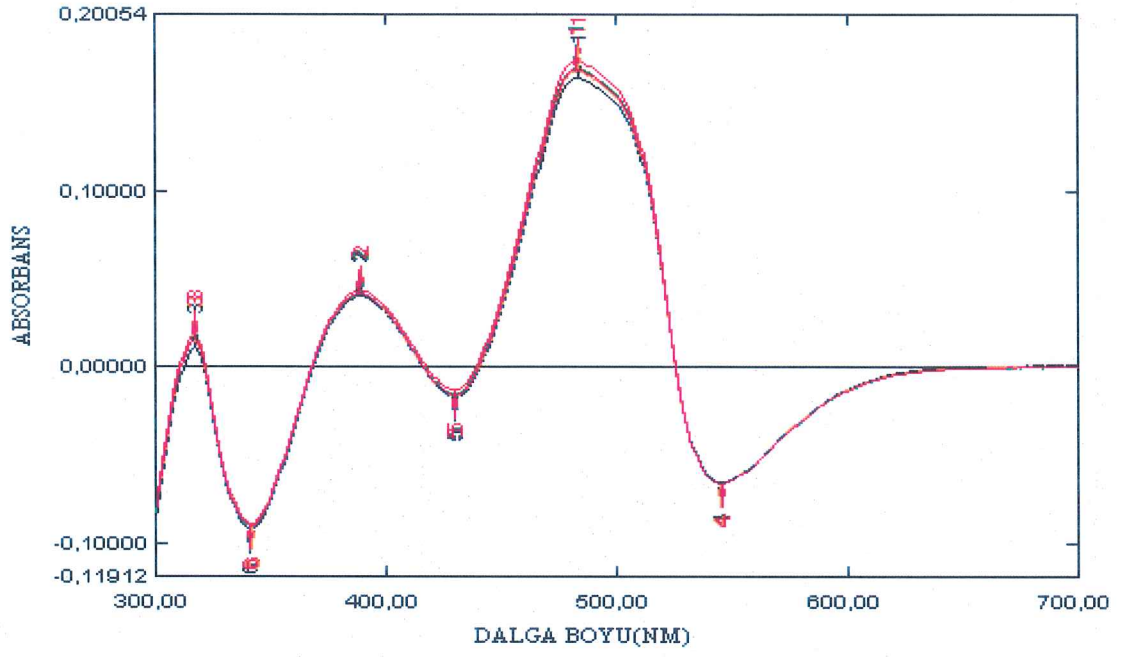
Şekil 5.41 İndigotin'e (1-5 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları(Yöntem 3b)



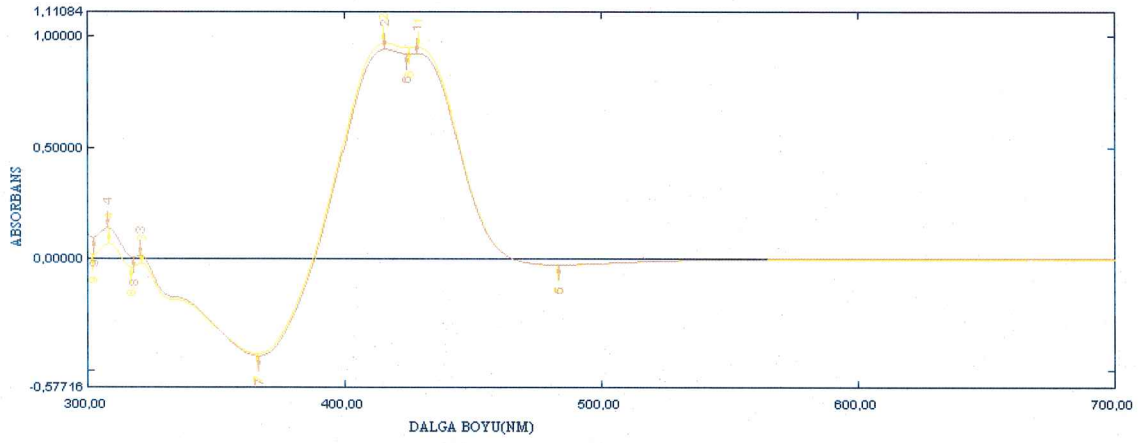
Şekil 5.42 Eritrosin'e (2-10 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları(Yöntem 3b)



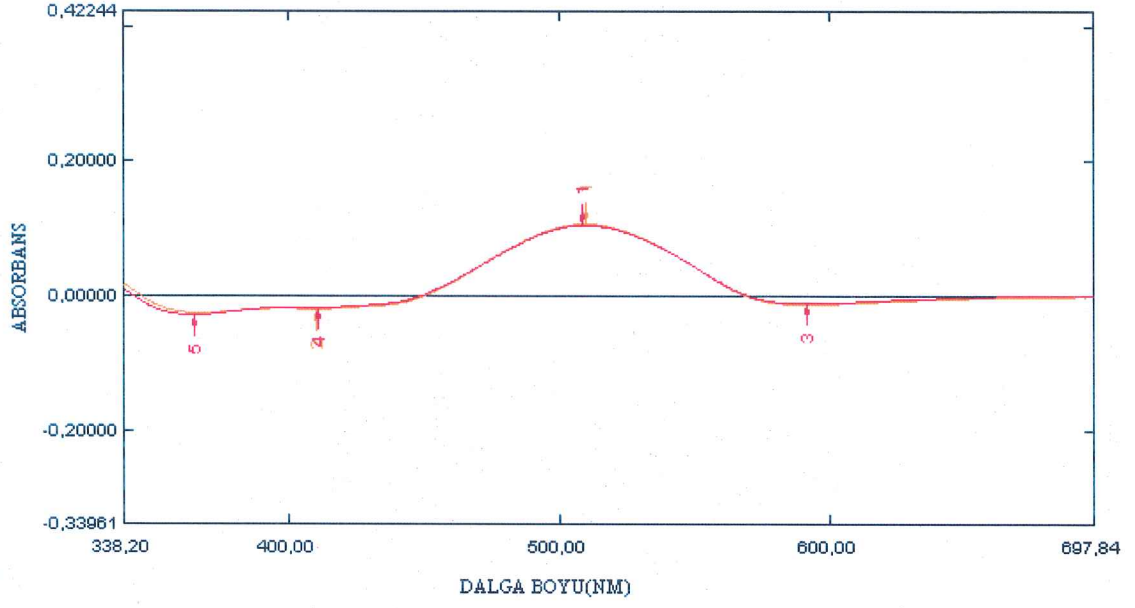
Şekil 5.43 Kinolin Sarısı'na (2-10 µg/ml) ait 1.türev absorpsiyon spektrumları(Yöntem 3b)



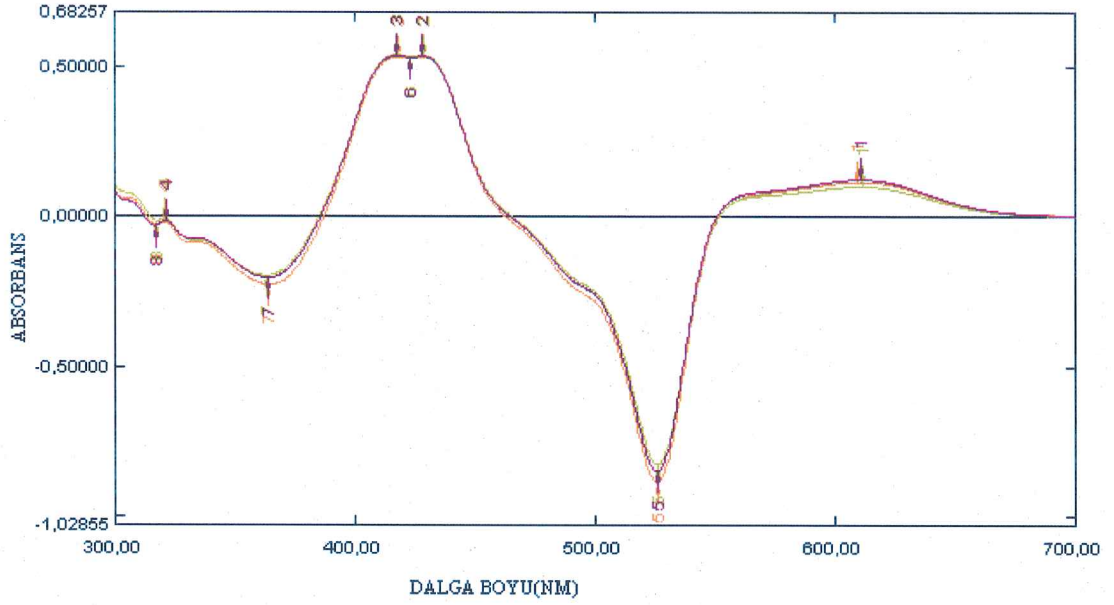
Şekil 5.44 4µg/ml konsantrasyondaki Sunset Yellow çözeltisinin 1', 15', 30', 45', 60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları



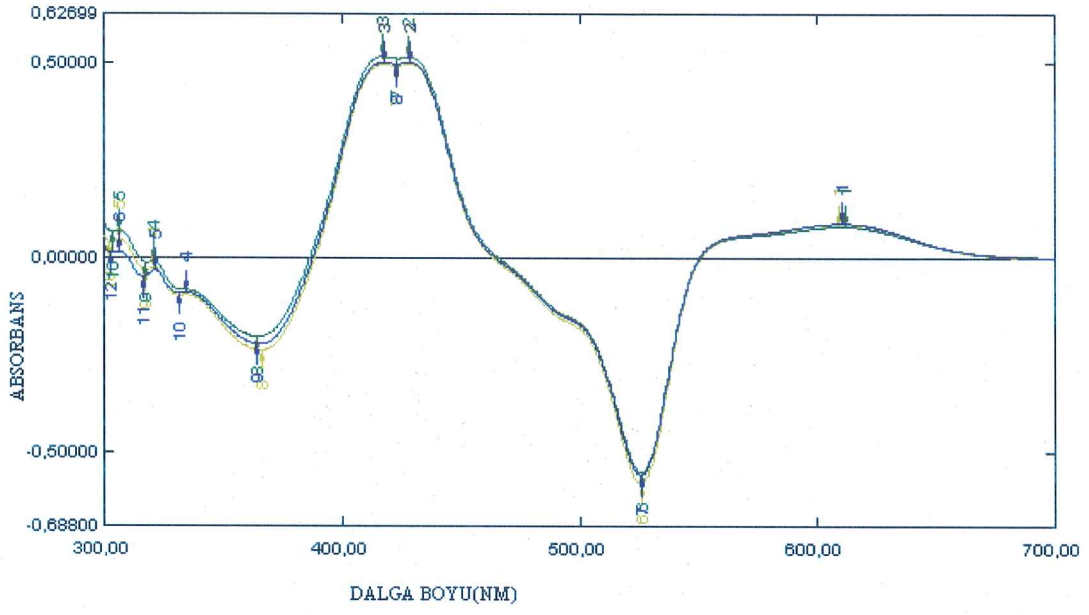
Şekil 5.45 15µg/ml konsantrasyondaki Kinolin Sarısı çözeltisinin 1', 15', 30', 45', 60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları



Şekil 5.46 4µg/ml konsantrasyondaki Ponso çözeltisinin 1', 15', 30', 45', 60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları



Şekil 5.47 4µg/ml konsantrasyondaki Indigotin çözeltisinin 1', 15', 30', 45', 60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları



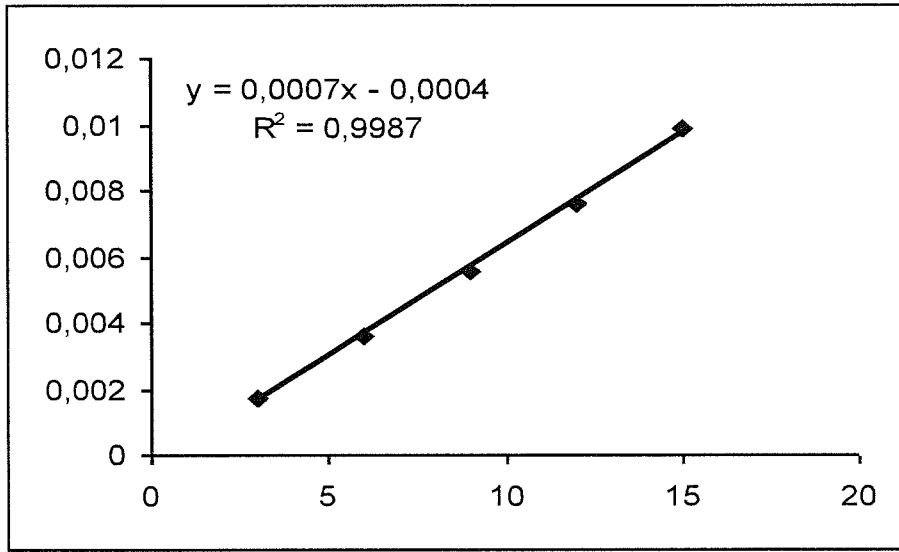
Şekil 5.48 4µg/ml konsantrasyondaki Eritrosin çözeltisinin 1', 15', 30', 45',60' ve 5.gün alınan absorpsiyon spektrumları

Türev Spektrofotometrik Yönteme (Yöntem 1) ait Çizelgeler

Kuifleks Tablet (Ponso,Sunset Yellow,Kinolin Sarısı)

Çizelge 5.1 420 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen türev spektrofotometrik yöntemine ait birinci türev absorpsans ($^1D_{420}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

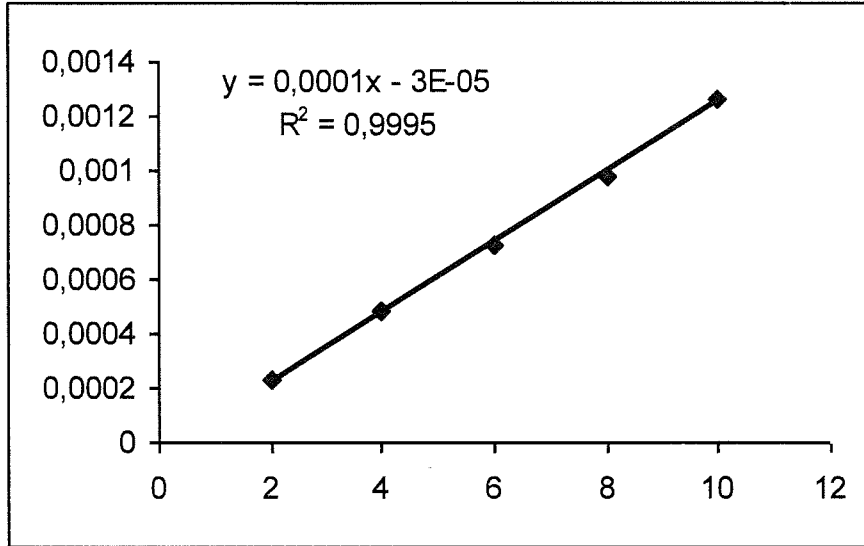
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
3	0.00152	0,00172	0.00185	0,00169	$1,6 \times 10^{-4}$	9,4
6	0.00350	0,00343	0.00392	0,00361	$2,65 \times 10^{-4}$	7,3
9	0.00516	0,00539	0.00610	0,00555	$4,9 \times 10^{-4}$	8,8
12	0.00728	0,00733	0.00822	0,00761	$5,28 \times 10^{-4}$	6,9
15	0.00925	0,00962	0.01072	0,00986	$7,64 \times 10^{-4}$	7,7



Şekil 5.49 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(420 nm)

Çizelge 5.2 525 nm dalga boyunda Ponso için elde edilen birinci türev absorptans (D_{525}), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

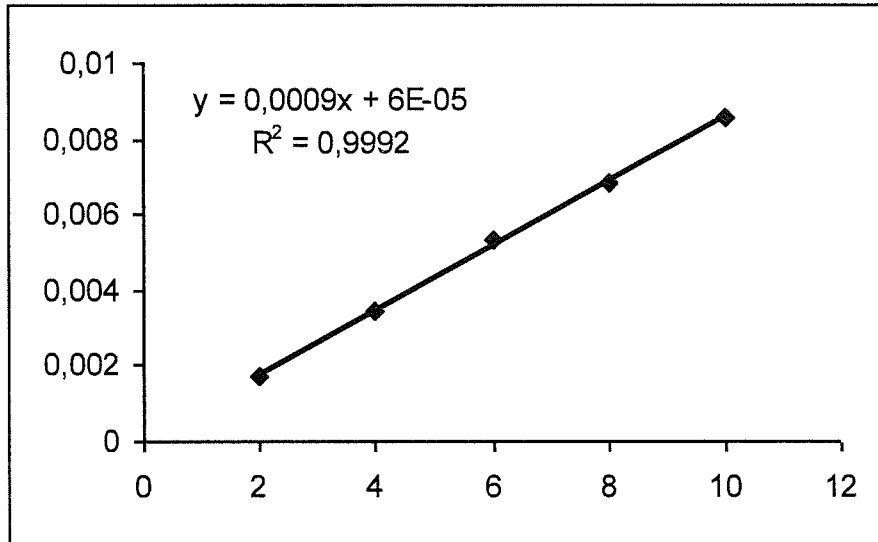
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00024	0,00024	0,00022	0,00023	$1,15 \times 10^{-5}$	5
4	0,00048	0,00050	0,00048	0,00048	$1,15 \times 10^{-5}$	2,3
6	0,00074	0,00074	0,00072	0,00073	$1,15 \times 10^{-5}$	1,5
8	0,00100	0,00099	0,00096	0,00098	$2,08 \times 10^{-5}$	2,1
10	0,00125	0,00126	0,00127	0,00126	$1,0 \times 10^{-5}$	0,7



Şekil 5.50 Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(525 nm)

Çizelge 5.3 506 nm dalga boyunda Sunset Yellow için elde edilen birinci türev absorbanans ($^1D_{506}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00165	0,00165	0,00190	0,00173	$1,44 \times 10^{-4}$	8,3
4	0,00338	0,00332	0,00363	0,00344	$1,64 \times 10^{-4}$	4,7
6	0,00533	0,00503	0,00558	0,00531	$2,75 \times 10^{-4}$	5,1
8	0,00664	0,00661	0,00722	0,00682	$3,43 \times 10^{-4}$	5,0
10	0,00825	0,00831	0,00912	0,00856	$4,85 \times 10^{-4}$	5,6

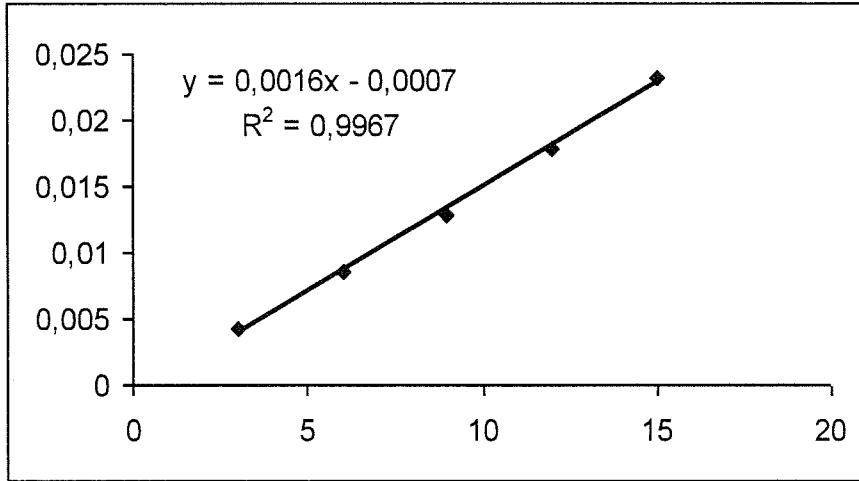


Şekil 5.51 Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(506 nm)

Bemiks Tablet (Ponso,Sunset Yellow,Kinolin Sarısı)

Çizelge 5.4 406 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen birinci türev absorbands ($^1D_{406}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

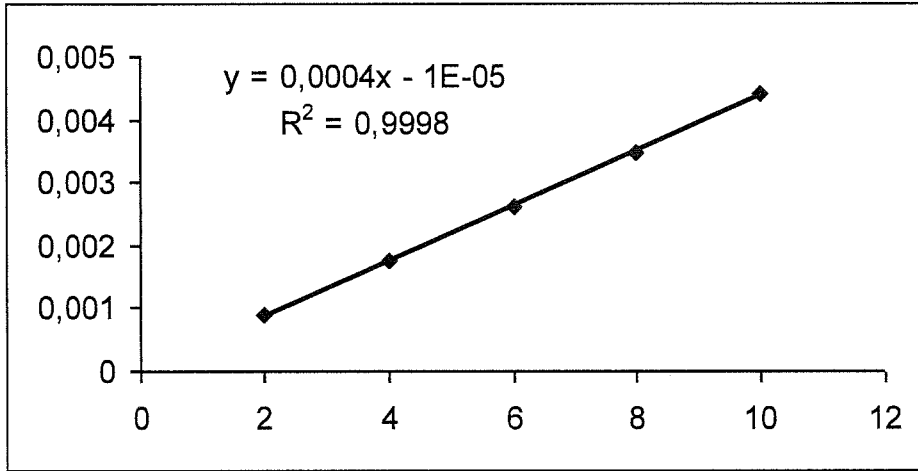
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
3	0,00386	0,00424	0,00465	0,00425	$3,9 \times 10^{-4}$	9
6	0,00842	0,00815	0,00936	0,00864	$6,3 \times 10^{-4}$	7
9	0,01206	0,01234	0,01404	0,01281	$1,07 \times 10^{-3}$	8
12	0,01647	0,01629	0,01835	0,01789	$1,1 \times 10^{-3}$	6
15	0,02041	0,02509	0,02333	0,02294	$2,3 \times 10^{-3}$	10



Şekil 5.52 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(406 nm)

Tablo 5.5 570 nm dalga boyunda Ponso için elde edilen birinci türev absorpsiyon (D_{570}), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

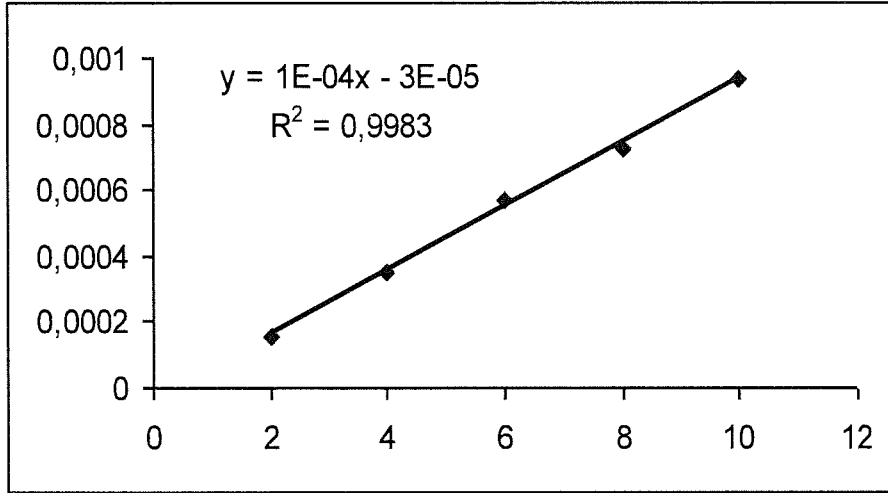
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00089	0,00088	0,00088	0,00088	$5,77 \times 10^{-6}$	0,6
4	0,00170	0,00175	0,00177	0,00174	$3,6 \times 10^{-5}$	2
6	0,00262	0,00262	0,00260	0,00261	$1,15 \times 10^{-5}$	0,4
8	0,00348	0,00349	0,00346	0,00347	$1,5 \times 10^{-5}$	0,4
10	0,00439	0,00444	0,00438	0,00440	$3,2 \times 10^{-5}$	0,7



Şekil 5.53 Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(570 nm)

Çizelge 5.6 538 nm dalga boyunda Sunset Yellow için elde edilen ikinci türev absorbands ($^2D_{538}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00018	0,00015	0,00020	0,00017	$2,5 \times 10^{-5}$	14
4	0,00037	0,00032	0,00041	0,00036	$4,5 \times 10^{-5}$	12
6	0,00061	0,00048	0,00064	0,00057	$8,5 \times 10^{-5}$	14
8	0,00076	0,00064	0,00080	0,00073	$8,3 \times 10^{-5}$	11
10	0,00097	0,00084	0,00101	0,00094	$8,8 \times 10^{-5}$	9

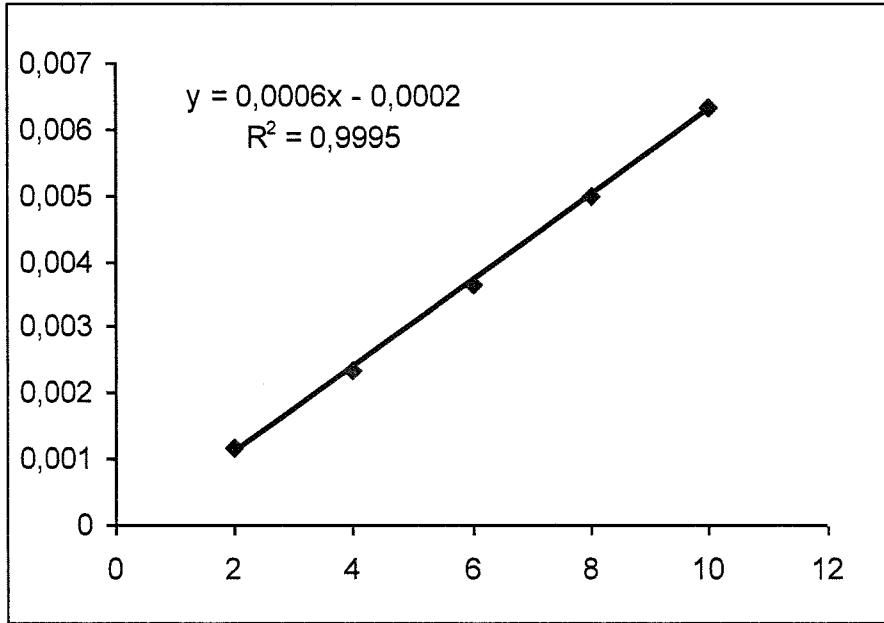


Şekil 5.54 Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(538 nm)

Kuilil Tablet (Eritrosin,Kinolin Sarısı,İndigotin)

Çizelge 5.7 420 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen birinci türev absorbands ($^1D_{420}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

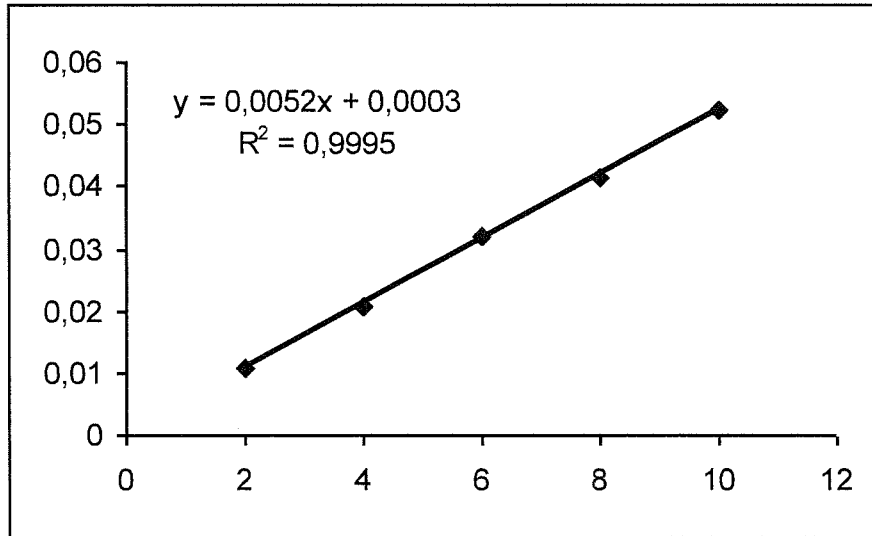
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00114	0,00111	0,00125	0,00116	$7,3 \times 10^{-5}$	6
4	0,00228	0,00221	0,00256	0,00235	$1,8 \times 10^{-4}$	7
6	0,00351	0,00354	0,00395	0,00366	$2,4 \times 10^{-4}$	6
8	0,00479	0,00490	0,00530	0,00499	$2,6 \times 10^{-4}$	5
10	0,00655	0,00770	0,00680	0,00701	$6,0 \times 10^{-4}$	8



Şekil 5.55 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(420 nm)

Çizelge 5.8 544 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{544}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

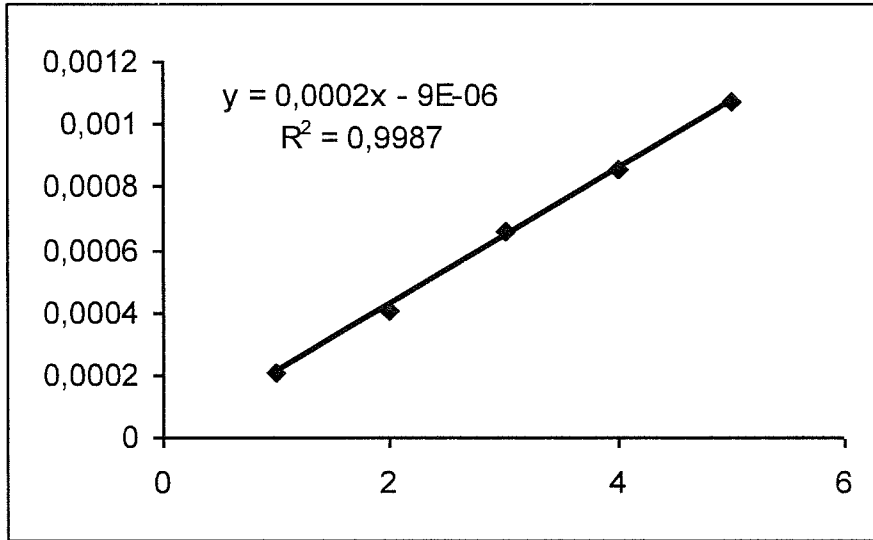
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,01266	0,01025	0,00979	0,0109	$1,5 \times 10^{-3}$	13
4	0,02409	0,01964	0,01873	0,02082	$2,8 \times 10^{-3}$	13
6	0,03568	0,02960	0,03022	0,03183	$3,3 \times 10^{-3}$	10
8	0,04783	0,03784	0,03857	0,04141	$5,5 \times 10^{-3}$	13
10	0,05987	0,04998	0,04776	0,05253	$6,4 \times 10^{-3}$	12



Şekil 5.56 Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(544 nm)

Çizelge 5.9 670 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{670}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
1	0,00023	0,00020	0,00020	0,00021	$1,7 \times 10^{-5}$	8
2	0,00043	0,00037	0,00037	0,00039	$3,4 \times 10^{-5}$	8
3	0,00068	0,00059	0,00058	0,00061	$5,5 \times 10^{-5}$	9
4	0,00085	0,00078	0,00076	0,00079	$4,7 \times 10^{-5}$	6
5	0,00105	0,00096	0,00097	0,00099	$4,9 \times 10^{-5}$	5

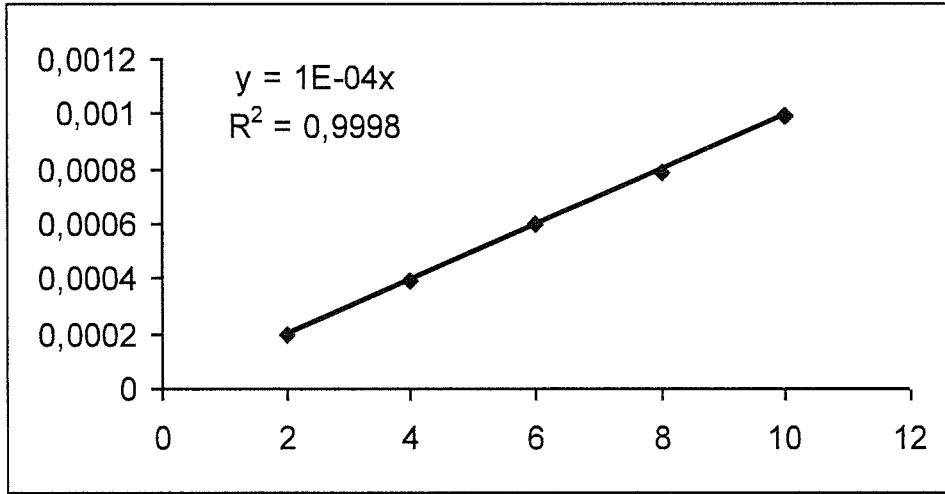


Şekil 5.57 İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(670 nm)

Ecopirin Tablet (Eritrosin,Kinolin Sarısı,İndigotin)

Çizelge 5.10 423 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen ikinci türev absorbands ($^2D_{423}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

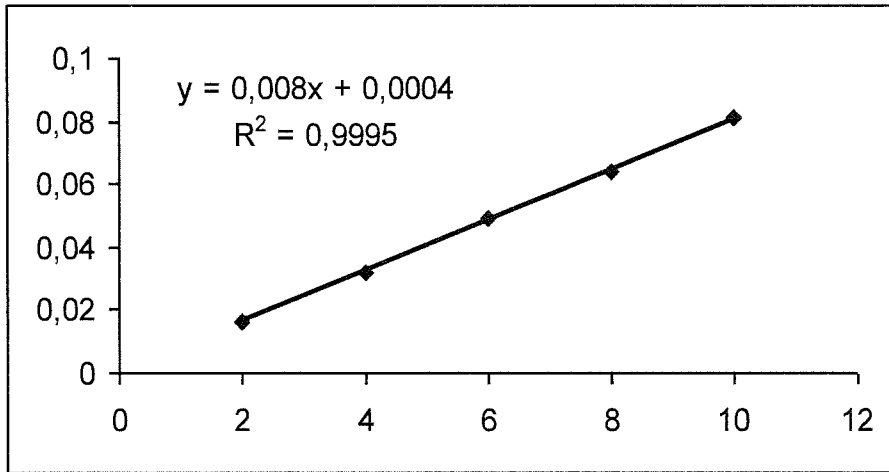
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00020	0,00020	0,00021	0,00020	$5,7 \times 10^{-6}$	2
4	0,00039	0,00038	0,00040	0,00039	$1,0 \times 10^{-5}$	2
6	0,00060	0,00061	0,00059	0,00060	$1,0 \times 10^{-5}$	1
8	0,00079	0,00080	0,00078	0,00079	$1,0 \times 10^{-5}$	1
10	0,00099	0,00098	0,00100	0,00099	$1,0 \times 10^{-5}$	1



Şekil 5.58 Kinolin Sarısına ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(423 nm)

Çizelge 5.11 537 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorpsiyon (D_{537}), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

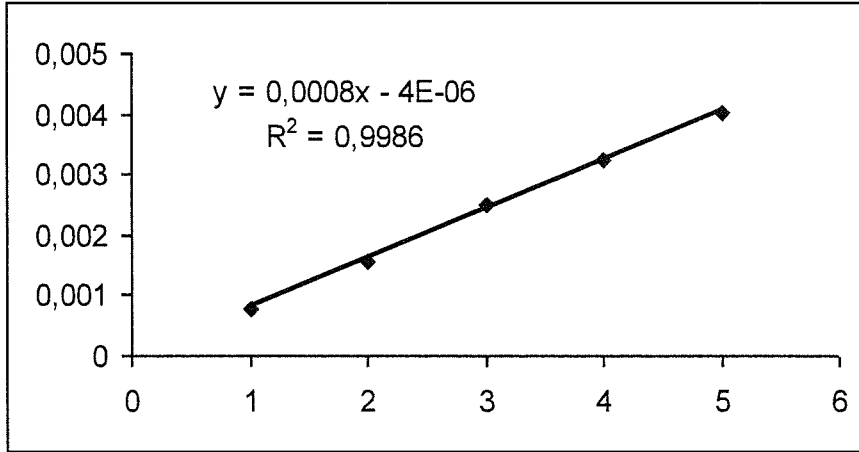
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,01755	0,01687	0,01596	0,01679	$7,9 \times 10^{-4}$	4
4	0,03331	0,03230	0,03069	0,0321	$1,3 \times 10^{-3}$	4
6	0,04916	0,04861	0,04941	0,04906	$4,0 \times 10^{-4}$	0,8
8	0,06609	0,06225	0,06354	0,06396	$1,9 \times 10^{-3}$	2
10	0,08276	0,08206	0,07877	0,08119	$2,1 \times 10^{-3}$	2



Şekil 5.59 Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(537 nm)

Çizelge 5.12 638 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbands ($^1D_{638}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
1	0,00077	0,00080	0,00083	0,00080	$3,0 \times 10^{-5}$	3
2	0,00173	0,00151	0,00148	0,00157	$1,3 \times 10^{-4}$	8
3	0,00281	0,00237	0,00233	0,00250	$2,6 \times 10^{-4}$	10
4	0,00358	0,00314	0,00303	0,00325	$2,9 \times 10^{-4}$	8
5	0,00442	0,00387	0,00376	0,00401	$3,5 \times 10^{-4}$	8



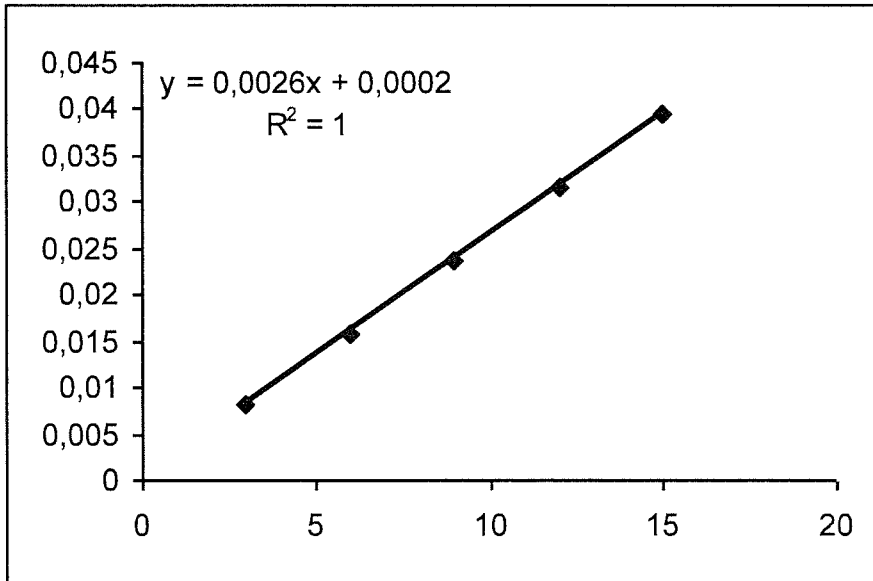
Şekil 5.60 İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 1)(638 nm)

YÖNTEM 2'ye ait Çizelgeler

Kuifleks ve Bemiks Tablet(Ponso,Sunset Yellow,Kinolin Sarısı)

Çizelge 5.13 390 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen birinci türev absorbands ($^1D_{390}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

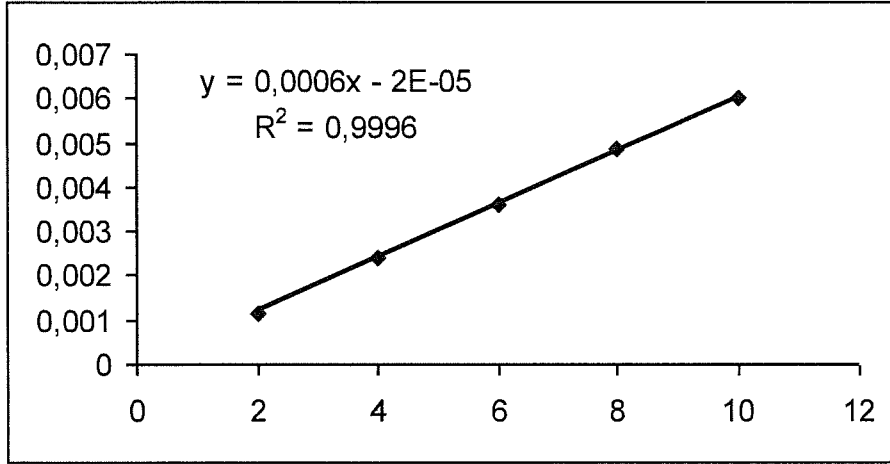
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
3	0.00775	0.00760	0.00885	0,00806	$6,82 \times 10^{-4}$	8
6	0.01528	0.01503	0.01750	0,01593	$1,35 \times 10^{-3}$	8
9	0.02296	0.02290	0.02570	0,02385	$1,5 \times 10^{-3}$	6
12	0.03035	0.03045	0.03398	0,03159	$2,06 \times 10^{-3}$	6
15	0.03804	0.03769	0.04272	0,03948	$2,8 \times 10^{-3}$	7



Şekil 5.61 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(390 nm)

Çizelge 5.14 546 nm dalga boyunda Ponso için elde edilen birinci türev absorptans ($^1D_{546}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

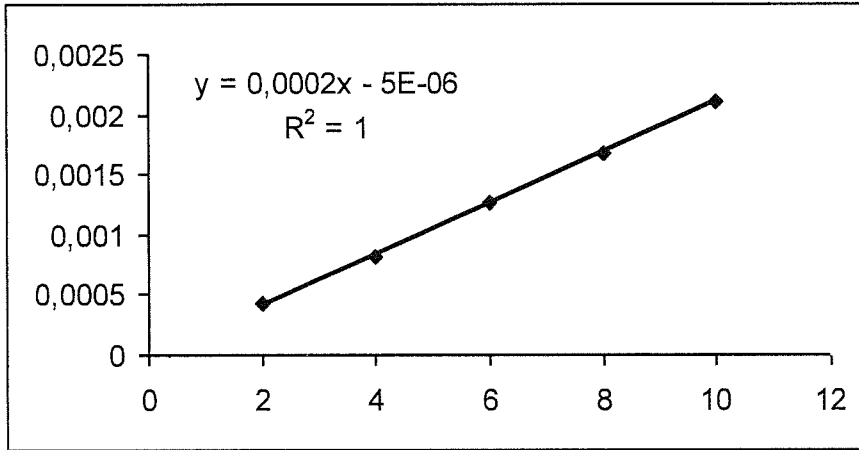
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00124	0,00118	0,00115	0,00119	$4,5 \times 10^{-5}$	2
4	0,00240	0,00248	0,00239	0,00242	$4,9 \times 10^{-5}$	2
6	0,00357	0,00367	0,00362	0,00362	$5,0 \times 10^{-5}$	1
8	0,00484	0,00496	0,00484	0,00488	$6,9 \times 10^{-5}$	1
10	0,00596	0,00603	0,00600	0,00599	$3,5 \times 10^{-5}$	0,5



Şekil 5.62 Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(546 nm)

Çizelge 5.15 589 nm dalga boyunda Sunset Yellow için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{589}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00040	0,00041	0,00047	0,00042	$3,7 \times 10^{-5}$	8
4	0,00081	0,00082	0,00088	0,00083	$3,7 \times 10^{-5}$	4
6	0,00125	0,00120	0,00135	0,00126	$7,6 \times 10^{-5}$	6
8	0,00163	0,00164	0,00177	0,00168	$7,8 \times 10^{-5}$	4
10	0,00203	0,00206	0,00186	0,00198	$1,0 \times 10^{-4}$	5

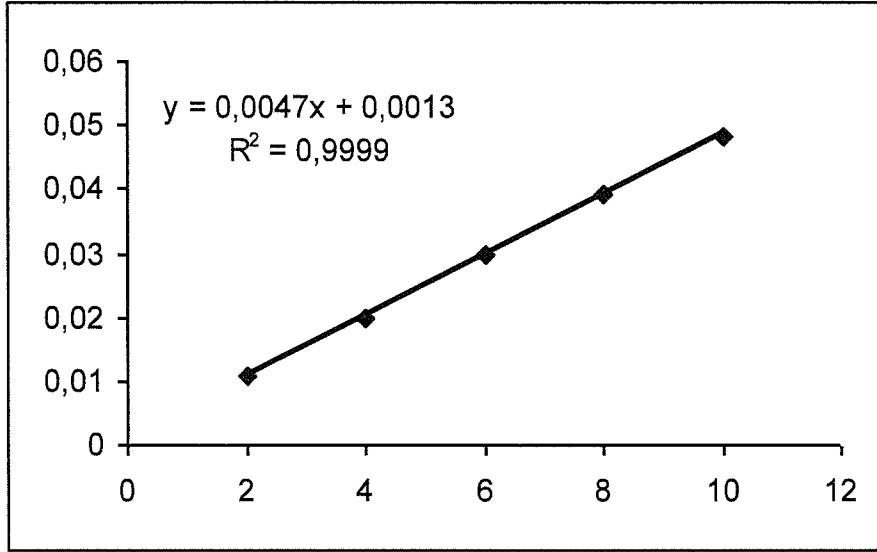


Şekil 5.63 Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(589 nm)

Kuilil Tablet (Eritrosin, Kinolin Sarısı, İndigotin)

Çizelge 5.16 544 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorptans ($^1D_{544}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

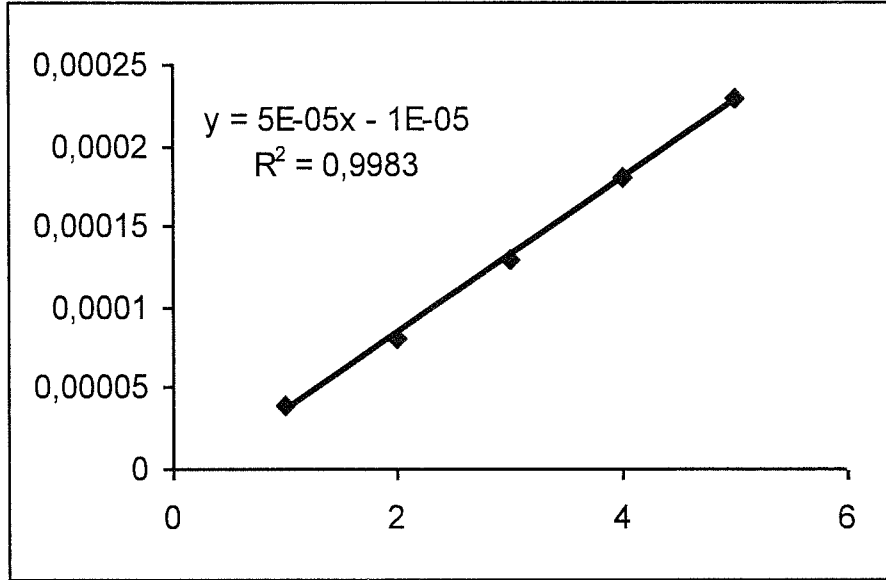
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,01185	0,01000	0,01039	0,01074	$9,7 \times 10^{-4}$	9
4	0,02000	0,01811	0,01809	0,01873	$1,0 \times 10^{-3}$	5
6	0,03000	0,02772	0,02701	0,02824	$1,5 \times 10^{-3}$	4
8	0,04062	0,03582	0,03632	0,03758	$2,6 \times 10^{-3}$	7
10	0,05064	0,04347	0,04516	0,04642	$3,7 \times 10^{-3}$	7



Şekil 5.64 Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(544 nm)

Çizelge 5.17 693 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorptans ($^1D_{693}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
1	0,00005	0,00004	0,00004	0,00004	$5,7 \times 10^{-6}$	14
2	0,00009	0,00007	0,00007	0,00007	$1,1 \times 10^{-5}$	15
3	0,00014	0,00010	0,00013	0,00012	$2,0 \times 10^{-5}$	16
4	0,00018	0,00014	0,00016	0,00016	$2,0 \times 10^{-5}$	12
5	0,00020	0,00018	0,00021	0,00019	$1,5 \times 10^{-5}$	8

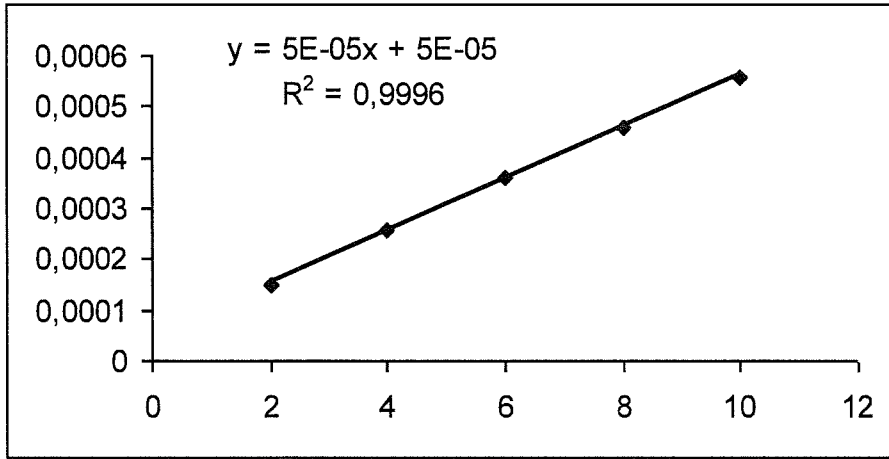


Şekil 5.65 İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(693 nm)

Ecopirin Tablet (Eritrosin, Kinolin Sarısı, İndigotin)

Çizelge 5.18 446 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen ikinci türev absorptans (${}^2D_{446}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

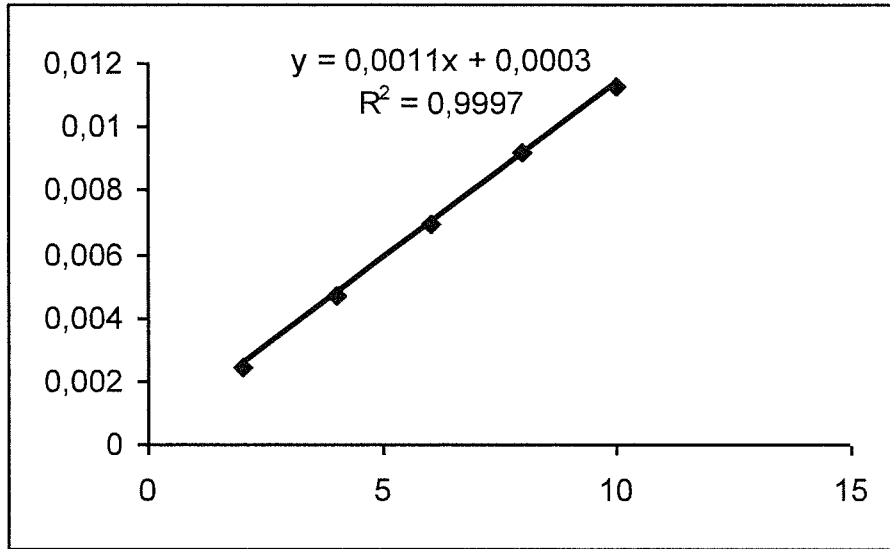
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00014	0,00015	0,00015	0,00015	$5,7 \times 10^{-6}$	3
4	0,00028	0,00029	0,00027	0,00026	$1,0 \times 10^{-5}$	3
6	0,00036	0,00036	0,00036	0,00036	$1,0 \times 10^{-5}$	2
8	0,00046	0,00047	0,00045	0,00046	$1,0 \times 10^{-5}$	2
10	0,00056	0,00055	0,00056	0,00056	$1,0 \times 10^{-5}$	1



Şekil 5.66 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(446 nm)

Çizelge 5.19 525 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{525}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

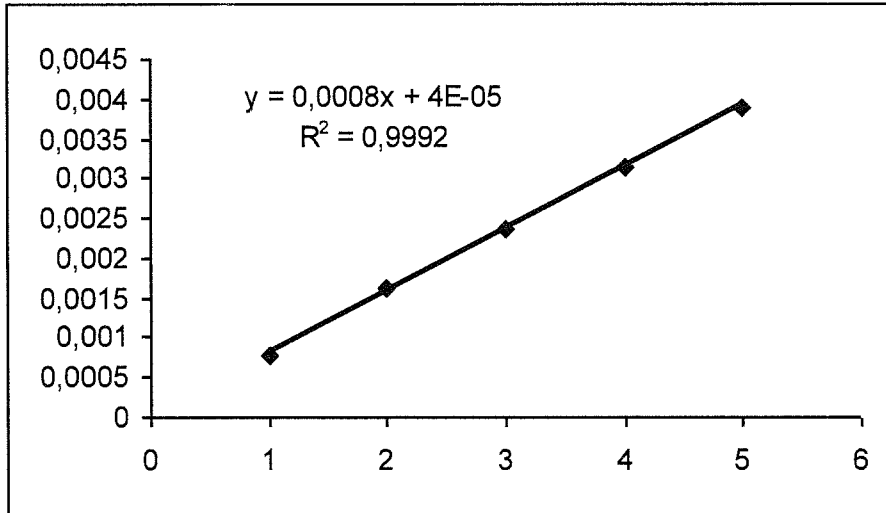
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,00241	0,00246	0,00251	0,00246	$5,0 \times 10^{-5}$	2
4	0,00479	0,00469	0,00454	0,00467	$1,2 \times 10^{-4}$	2
6	0,00693	0,00717	0,00678	0,00696	$1,9 \times 10^{-4}$	2
8	0,00918	0,00926	0,00913	0,00919	$6,5 \times 10^{-5}$	0,7
10	0,01148	0,01102	0,01130	0,01126	$2,3 \times 10^{-4}$	2



Şekil 5.67 Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(525 nm)

Çizelge 5.20 638 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{638}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
1	0,00084	0,00072	0,00077	0,00077	$6,0 \times 10^{-5}$	7
2	0,00179	0,00159	0,00153	0,00163	$1,3 \times 10^{-4}$	7
3	0,00255	0,00218	0,00230	0,00234	$1,8 \times 10^{-4}$	7
4	0,00346	0,00297	0,00303	0,00315	$2,6 \times 10^{-4}$	8
5	0,00425	0,00374	0,00370	0,00389	$3,0 \times 10^{-4}$	7



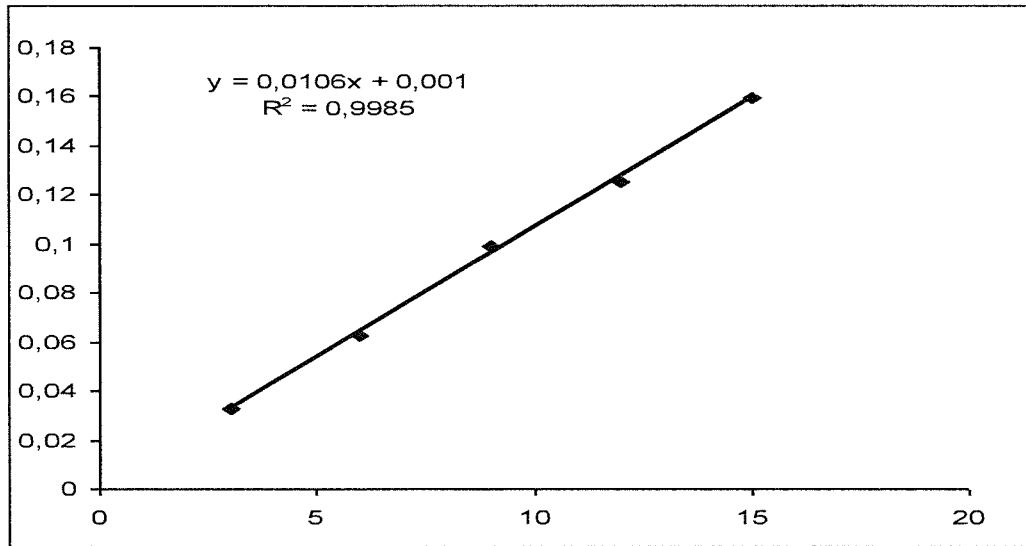
Şekil 5.68 İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 2)(638 nm)

Oran Spektrofotometrik Yönteme ait Çizelgeler (Yöntem 3)

İki Bileşene Bölme(Yöntem 3a)

Çizelge 5.21 445 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{445}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

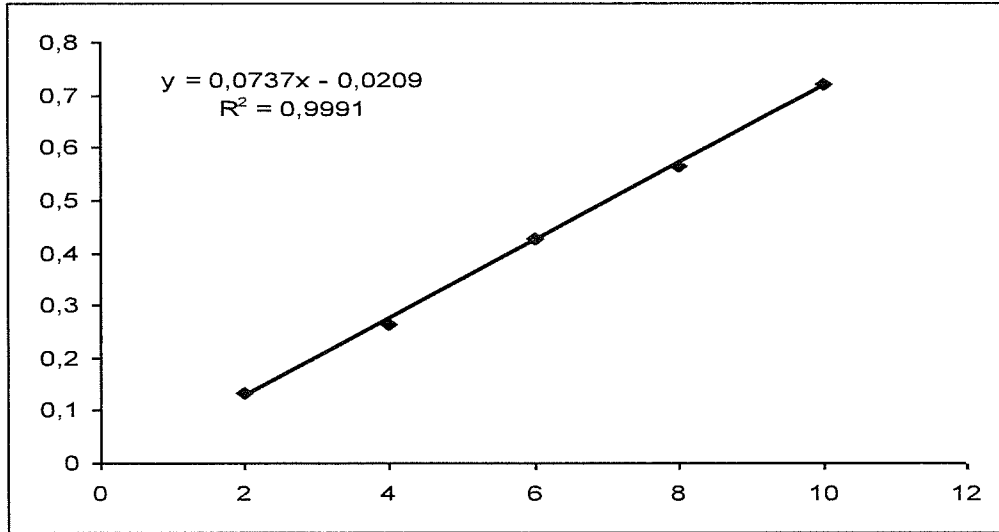
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
3	0,03286	0,03280	0,03274	0,03280	$6,0 \times 10^{-5}$	0,18
6	0,06287	0,06284	0,06290	0,06287	$3,0 \times 10^{-5}$	0,04
9	0,09880	0,09881	0,09880	0,09880	$5,7 \times 10^{-6}$	$5,7 \times 10^{-3}$
12	0,12540	0,12544	0,12548	0,12544	$4,0 \times 10^{-5}$	0,03
15	0,15985	0,15984	0,15984	0,15984	$5,7 \times 10^{-6}$	$3,56 \times 10^{-3}$



Şekil 5.69 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(445nm)

Çizelge 5.22 554 nm dalga boyunda Ponso için elde edilen birinci türev absorpsiyon ($^1D_{554}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

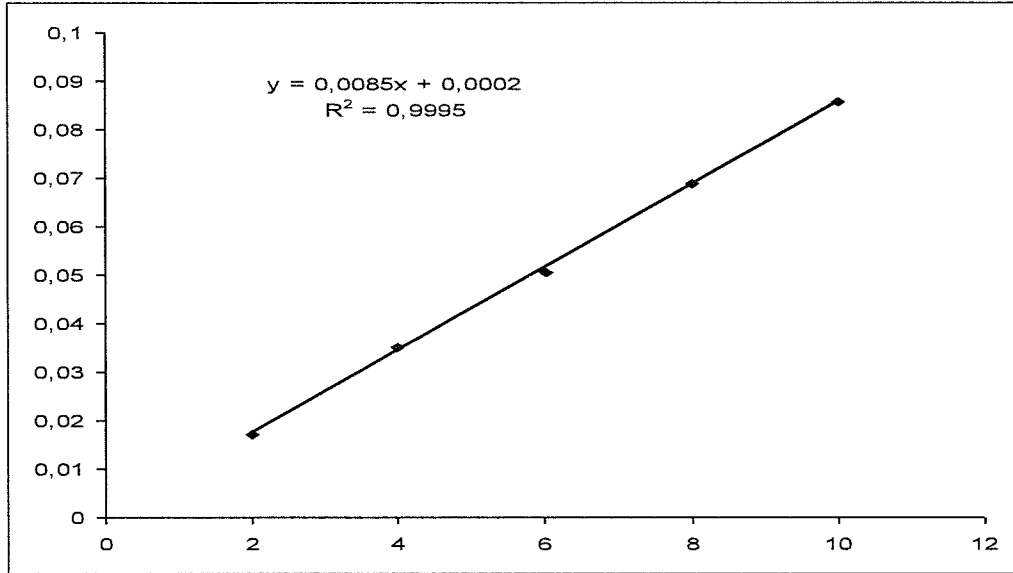
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,13329	0,13339	0,13319	0,13329	$1,0 \times 10^{-4}$	0,07
4	0,26326	0,26320	0,26314	0,26320	$6,0 \times 10^{-5}$	0,02
6	0,42587	0,42580	0,42573	0,42580	$7,0 \times 10^{-5}$	0,01
8	0,56600	0,56590	0,56595	0,56595	$5,0 \times 10^{-5}$	$8,8 \times 10^{-3}$
10	0,71914	0,71910	0,71918	0,71914	$4,0 \times 10^{-5}$	$5,56 \times 10^{-3}$



Şekil 5.70 Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(554 nm)

Çizelge 5.23 522 nm dalga boyunda Sunset Yellow için elde edilen birinci türev absorpsiyon (D_{522}), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

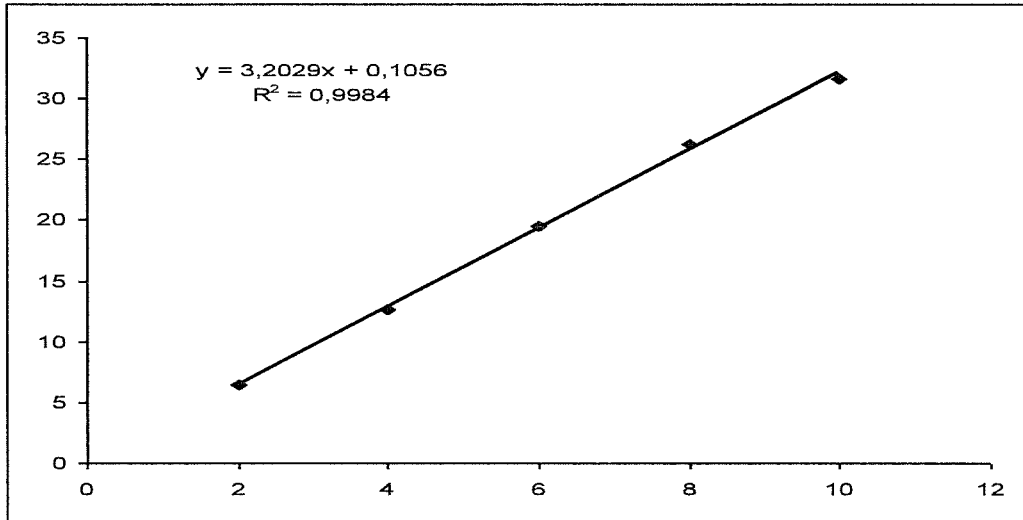
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,01720	0,01720	0,01721	0,01720	$5,7 \times 10^{-6}$	0,03
4	0,03507	0,03510	0,03504	0,03507	$3,0 \times 10^{-5}$	0,08
6	0,05047	0,05048	0,05048	0,05048	$5,7 \times 10^{-6}$	0,01
8	0,06874	0,06880	0,06886	0,06880	$6,0 \times 10^{-5}$	0,08
10	0,08575	0,08576	0,08577	0,08576	$7,0 \times 10^{-6}$	$8,1 \times 10^{-3}$



Şekil 5.71 Sunset Yellow ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(522 nm)

Çizelge 5.24 407 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı için elde edilen absorbans (D_{407}), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

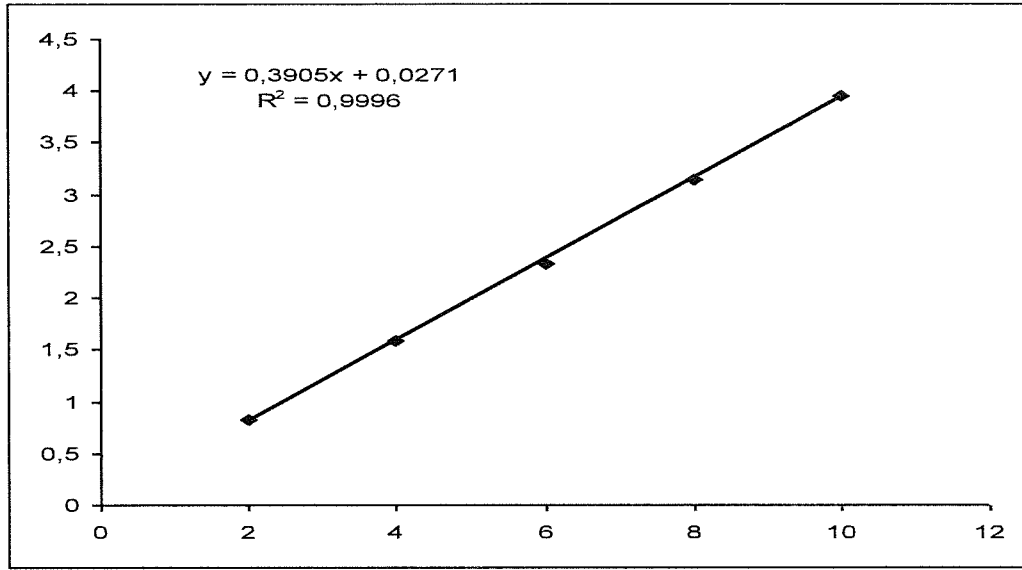
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	6,50792	6,50791	6,50790	6,50792	$1,0 \times 10^{-5}$	$1,53 \times 10^{-4}$
4	12,59212	12,59204	12,59208	12,59208	$4,0 \times 10^{-5}$	$3,17 \times 10^{-4}$
6	19,54653	19,54655	19,54651	19,54653	$2,0 \times 10^{-5}$	$1,02 \times 10^{-4}$
8	26,2708	26,2698	26,2703	26,27030	$5,0 \times 10^{-4}$	$1,90 \times 10^{-3}$
10	31,69750	31,69754	31,69752	31,69752	$2,0 \times 10^{-5}$	$6,3 \times 10^{-5}$



Şekil 5.72 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(407nm)

Çizelge 5.25 488 nm dalga boyunda Eritrosin için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{488}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

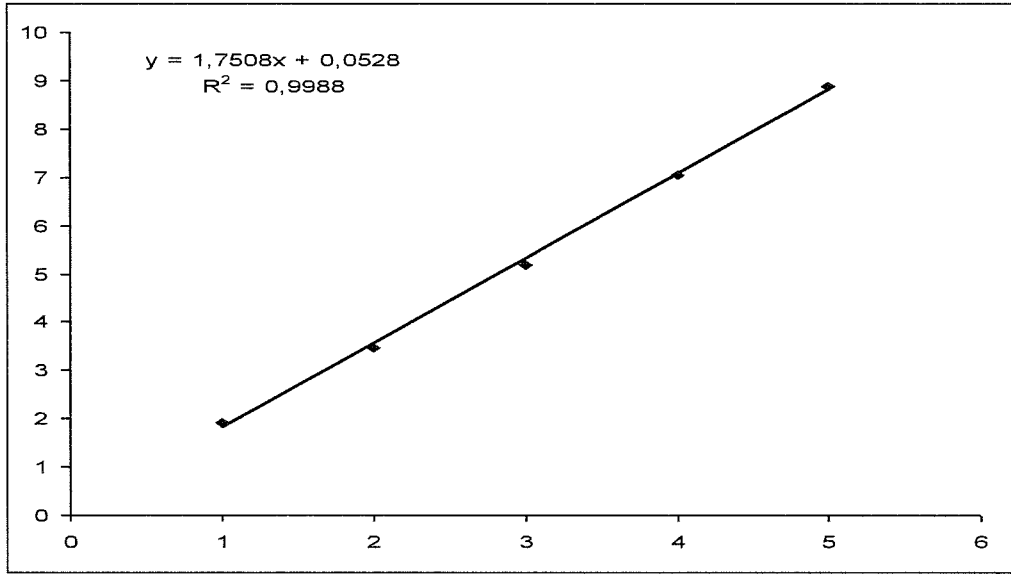
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,83104	0,83112	0,83108	0,83108	$4,0 \times 10^{-5}$	$4,8 \times 10^{-3}$
4	1,58182	1,58182	1,58181	1,58182	$5,7 \times 10^{-6}$	$3,6 \times 10^{-4}$
6	2,33922	2,33916	2,33919	2,33919	$3,0 \times 10^{-5}$	$1,28 \times 10^{-3}$
8	3,14143	3,14142	3,14143	3,14143	$5,7 \times 10^{-6}$	$1,8 \times 10^{-4}$
10	3,95586	3,95584	3,95588	3,95586	$2,0 \times 10^{-5}$	$5,0 \times 10^{-4}$



Şekil 5.73 Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(488 nm)

Çizelge 5.26 589 nm dalga boyunda İndigotin için elde edilen birinci türev absorbans (D_{589}) standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
1	1,91891	1,91871	1,91881	1,91881	$1,0 \times 10^{-4}$	$5,2 \times 10^{-3}$
2	3,47425	3,47445	3,47435	3,47435	$1,0 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-3}$
3	5,19267	5,19257	5,19267	5,19267	$5,7 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-3}$
4	7,05989	7,05969	7,05979	7,05979	$1,0 \times 10^{-4}$	$1,4 \times 10^{-3}$
5	8,87995	8,87990	8,87985	8,87990	$5,0 \times 10^{-5}$	$5,6 \times 10^{-4}$

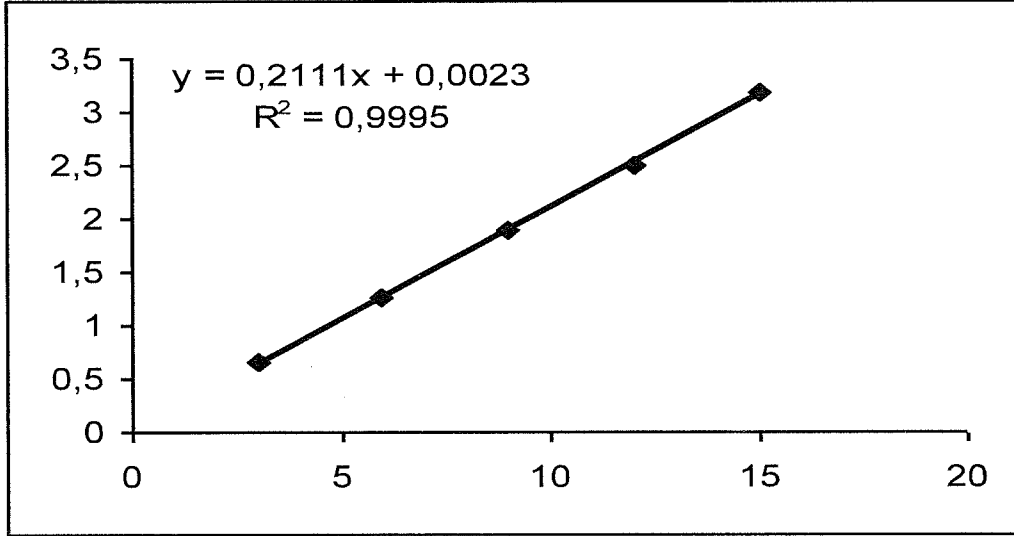


Şekil 5.74 İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3a)(589 nm)

Tek Bileşene Bölme (Yöntem 3b)

Çizelge 5.27 439 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı (Kuifleks ve Bemiks Tabletler) için elde edilen birinci türev absorptans ($^1D_{439}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

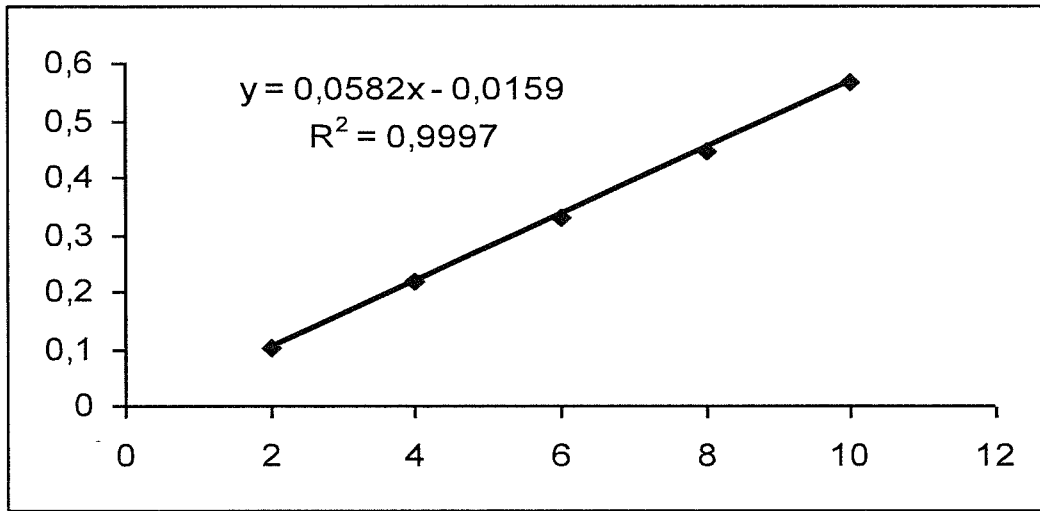
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
3	0,65420	0,65422	0,65418	0,65420	$2,0 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-3}$
6	1,25471	1,25491	1,25481	1,25481	$1,0 \times 10^{-4}$	$7,9 \times 10^{-3}$
9	1,90130	1,90142	1,90154	1,90142	$1,2 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-3}$
12	2,50677	2,50657	2,50667	2,50667	$1,0 \times 10^{-4}$	$6,3 \times 10^{-3}$
15	3,19526	3,19506	3,19516	3,19516	$1,0 \times 10^{-3}$	0,03



Şekil 5.75 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(439 nm)

Çizelge 5.28 517 nm dalga boyunda Ponso (Kuifleks Tablet) için elde edilen birinci türev absorptans (D_{517}), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

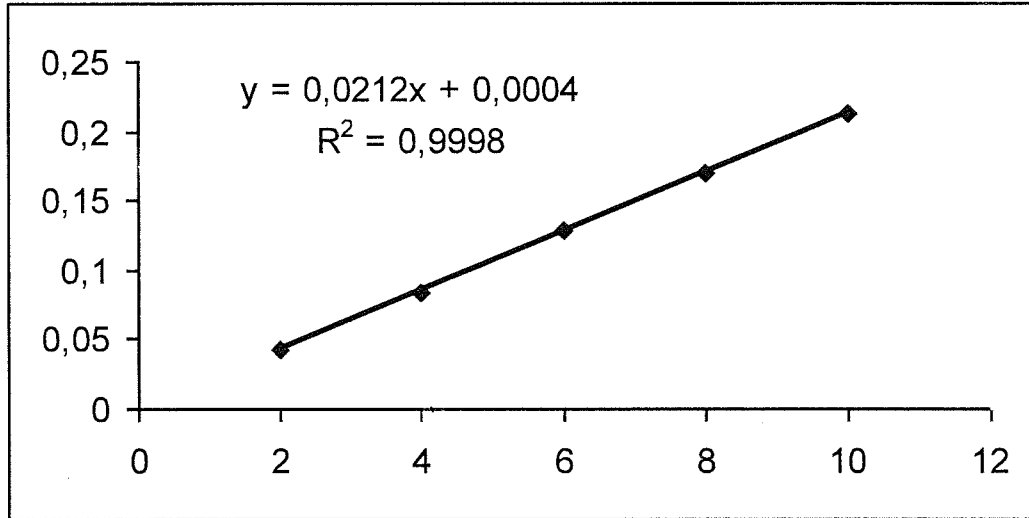
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,10124	0,10144	0,10164	0,10144	$2,0 \times 10^{-4}$	0,19
4	0,21969	0,21949	0,21929	0,21949	$2,0 \times 10^{-4}$	0,04
6	0,32938	0,32918	0,32958	0,32938	$2,0 \times 10^{-4}$	0,06
8	0,44766	0,44726	0,44746	0,44746	$2,0 \times 10^{-4}$	0,04
10	0,56955	0,56975	0,56995	0,56975	$2,0 \times 10^{-4}$	0,03



Şekil 5.76 Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(517 nm)

Çizelge 5.29 510 nm dalga boyunda Sunset Yellow (Kuifleks Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{510}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

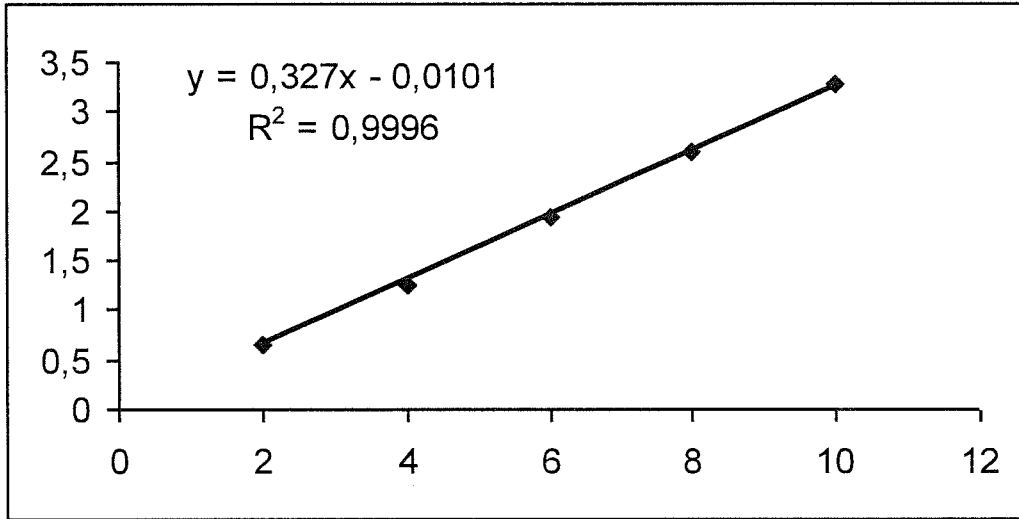
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,04250	0,04255	0,04245	0,04250	$5,0 \times 10^{-5}$	0,11
4	0,08490	0,08482	0,08474	0,08482	$8,0 \times 10^{-5}$	0,09
6	0,12906	0,12912	0,12900	0,12906	$6,0 \times 10^{-5}$	0,04
8	0,16900	0,16906	0,16903	0,16903	$3,0 \times 10^{-5}$	0,01
10	0,21223	0,21243	0,21233	0,21233	$1,0 \times 10^{-4}$	0,04



Şekil 5.77 Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(510 nm)

Çizelge 5.30 580 nm dalga boyunda Ponso (Bemiks Tablet) için elde edilen birinci türev absorptans ($^1D_{580}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

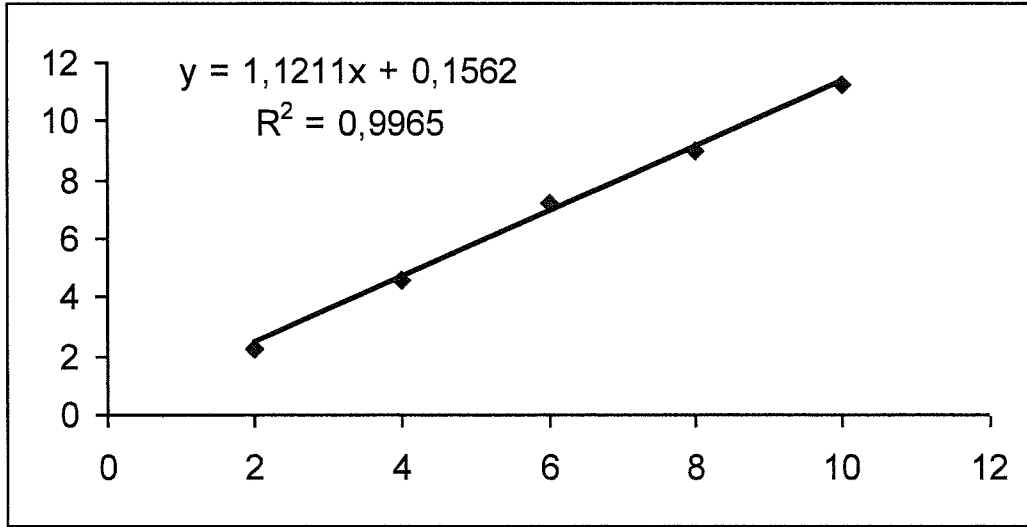
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,66836	0,66838	0,66840	0,66838	$2,0 \times 10^{-5}$	$2,9 \times 10^{-3}$
4	1,27102	1,27082	1,27092	1,27092	$1,0 \times 10^{-4}$	$7,8 \times 10^{-3}$
6	1,94801	1,94781	1,94791	1,94791	$1,0 \times 10^{-4}$	$5,1 \times 10^{-3}$
8	2,59836	2,59816	2,59796	2,59816	$2,0 \times 10^{-4}$	$7,6 \times 10^{-3}$
10	3,27534	3,27504	3,27474	3,27504	$3,0 \times 10^{-4}$	$9,1 \times 10^{-3}$



Şekil 5.78 Ponso'ya ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(580 nm)

Çizelge 5.31 528 nm dalga boyunda Sunset Yellow(Bemiks Tablet) için elde edilen birinci türev absorpsiyon (D_{528}), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

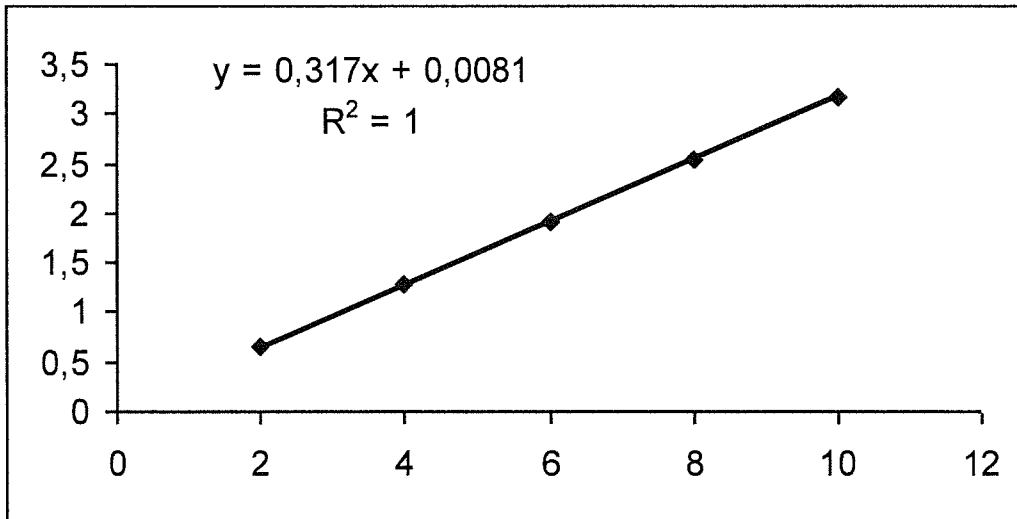
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	2,26359	2,26259	2,26159	2,26259	$1,0 \times 10^{-3}$	0,04
4	4,60769	4,60869	4,60969	4,60869	$1,0 \times 10^{-3}$	0,02
6	7,25208	7,25008	7,25008	7,24808	$1,0 \times 10^{-3}$	0,01
8	9,02907	9,02807	9,02707	9,02807	$1,0 \times 10^{-3}$	0,01
10	11,26445	11,26545	11,26345	11,26445	$1,0 \times 10^{-3}$	$8,9 \times 10^{-3}$



Şekil 5.79 Sunset Yellow'a ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(528 nm)

Çizelge 5.32 377 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı (Kuivilil Tablet) için elde edilen birinci türev absorpsans ($^1D_{377}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

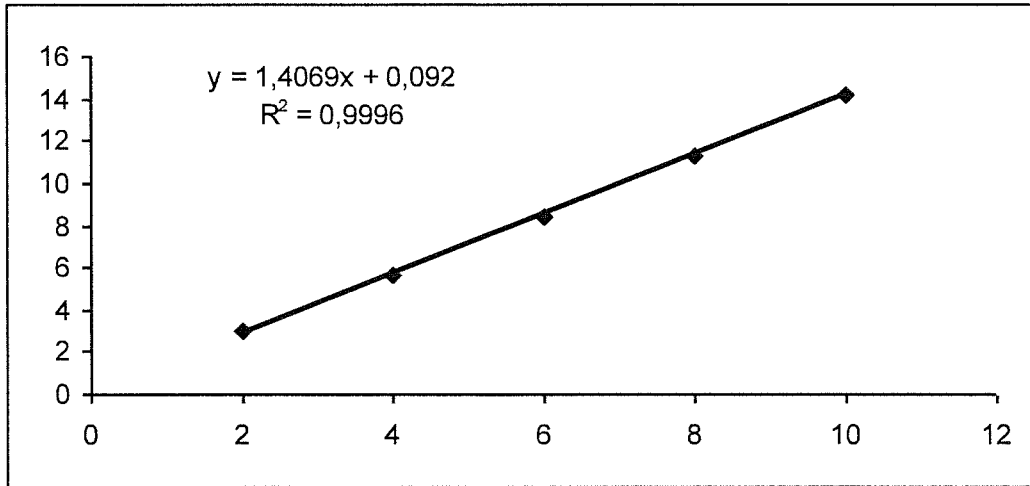
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,64663	0,64665	0,64667	0,64665	$2,0 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-3}$
4	1,27396	1,27391	1,27386	1,27391	$5,0 \times 10^{-5}$	$3,9 \times 10^{-3}$
6	1,90826	1,90816	1,90806	1,90816	$1,0 \times 10^{-4}$	$5,2 \times 10^{-3}$
8	2,53570	2,53580	2,53560	2,53570	$1,0 \times 10^{-4}$	$4,0 \times 10^{-3}$
10	3,18541	3,18561	3,18551	3,18551	$1,0 \times 10^{-4}$	$3,1 \times 10^{-3}$



Şekil 5.80 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(377 nm)

Çizelge 5.33 495 nm dalga boyunda Eritrosin (Kuivil Tablet) için elde edilen birinci türev absorbens ($^1D_{495}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri(Yöntem 3b)

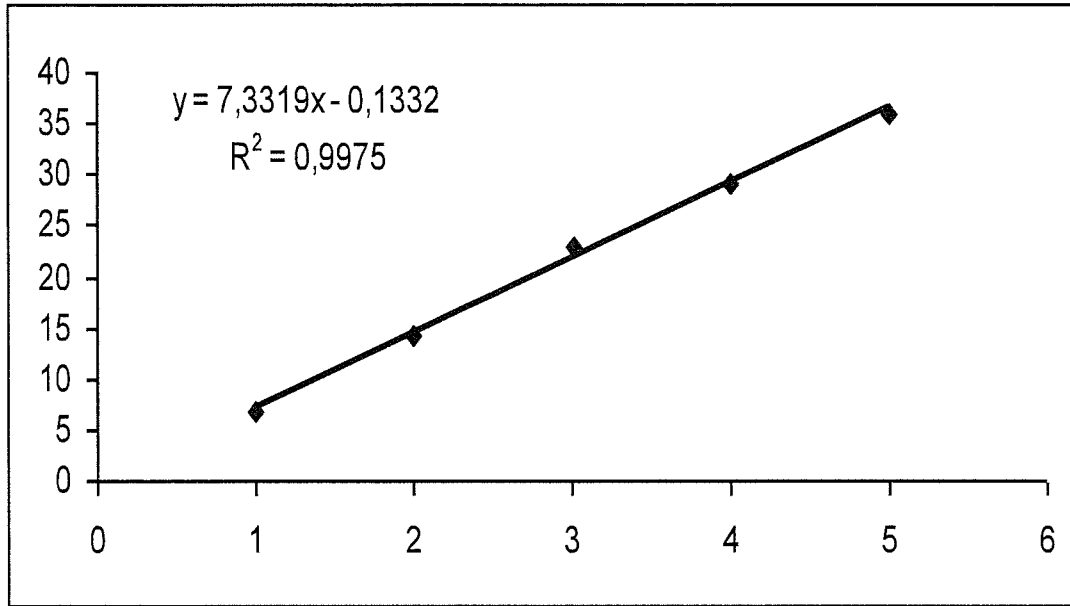
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	2,99029	2,99229	2,99129	2,99129	$1,0 \times 10^{-3}$	0,03
4	5,69200	5,69100	5,69000	5,69100	$1,0 \times 10^{-3}$	0,01
6	8,41628	8,41828	8,42028	8,41828	$2,0 \times 10^{-3}$	0,02
8	11,31721	11,31921	11,32121	11,31921	$2,0 \times 10^{-3}$	0,01
10	14,24779	14,24379	14,24579	14,24579	$2,0 \times 10^{-3}$	0,01



Şekil 5.81 Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(495 nm)

Çizelge 5.34 591 nm dalga boyunda İndigotin (Kuivil Tablet) için elde edilen birinci türev absorbands ($^1D_{591}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

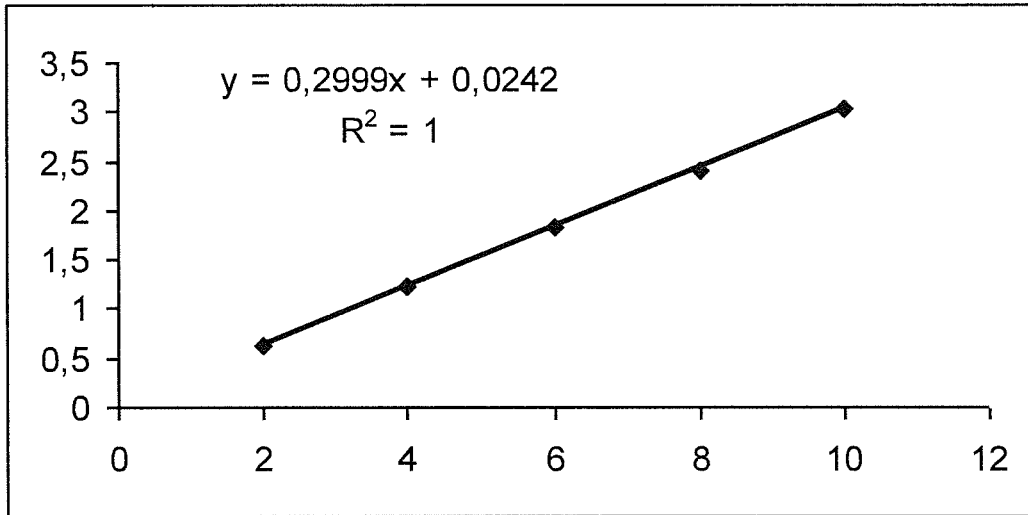
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
1	6,71062	6,81062	6,91062	6,81062	0,10	1,40
2	14,29053	14,39053	14,19053	14,39053	0,10	0,69
3	22,83635	22,63635	22,93635	22,83635	0,15	0,65
4	29,12050	29,32050	29,22050	29,2205	0,10	0,30
5	36,15537	36,05537	35,95537	36,05537	0,10	0,20



Şekil 5.82 İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(591 nm)

Çizelge 5.35 443 nm dalga boyunda Kinolin Sarısı (Ecopirin Tablet) için elde edilen birinci türev absorbanans ($^1D_{443}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

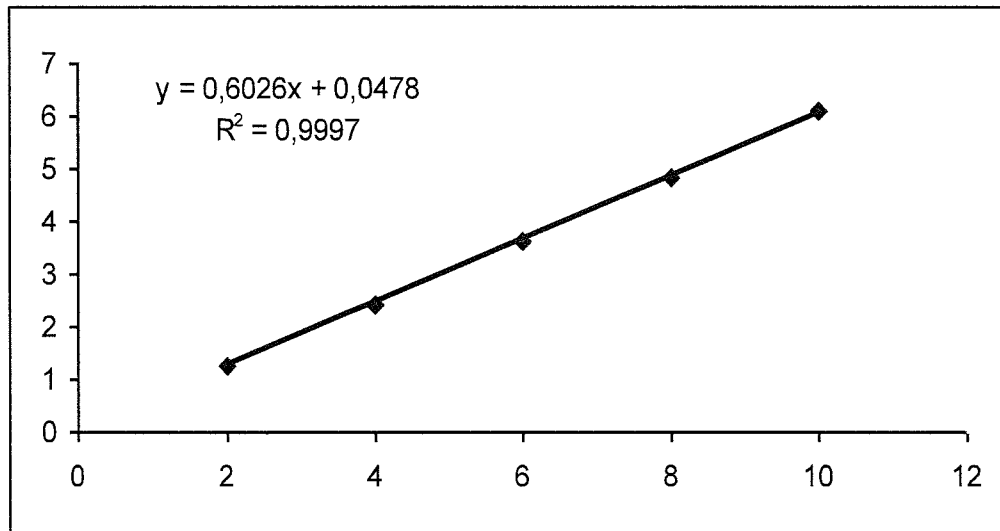
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	0,62467	0,62470	0,62464	0,62467	$3,0 \times 10^{-5}$	$4,8 \times 10^{-3}$
4	1,22276	1,22269	1,22262	1,22269	$7,0 \times 10^{-5}$	$5,8 \times 10^{-3}$
6	1,82615	1,82605	1,82595	1,82605	$1,0 \times 10^{-4}$	$5,5 \times 10^{-3}$
8	2,41829	2,41809	2,41789	2,41809	$2,0 \times 10^{-4}$	$8,3 \times 10^{-3}$
10	3,02593	3,02533	3,02563	3,02563	$3,0 \times 10^{-4}$	$9,9 \times 10^{-3}$



Şekil 5.83 Kinolin Sarısı'na ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(443 nm)

Çizelge 5.36 540 nm dalga boyunda Eritrosin (Ecopirin Tablet) için elde edilen birinci türev absorbans ($^1D_{540}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

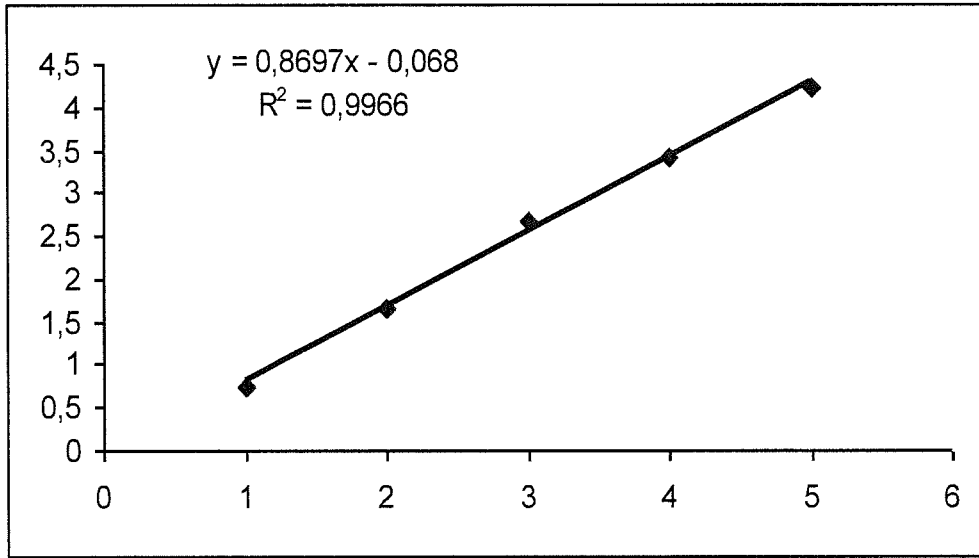
C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
2	1,27651	1,29651	1,28651	1,28651	0,01	0,8
4	2,43711	2,45711	2,44711	2,44711	0,01	0,4
6	3,60758	3,61758	3,62758	3,61758	0,01	0,2
8	4,90884	4,85884	4,80884	4,85884	0,05	1,0
10	6,20641	6,10641	6,00641	6,10641	0,10	1,6



Şekil 5.84 Eritrosin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(540 nm)

Çizelge 5.37 635 nm dalga boyunda İndigotin (Ecopirin Tablet) için elde edilen birinci türev absorptans ($^1D_{635}$), standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri

C($\mu\text{g/ml}$)	1.deneme	2.deneme	3.deneme	Ort	S	RSD
1	0,74494	0,74594	0,74694	0,74594	0,001	0,13
2	1,65267	1,65467	1,65667	1,65467	0,002	0,12
3	2,67684	2,67084	2,67384	2,67384	0,003	0,11
4	3,41346	3,41846	3,42346	3,41846	0,005	0,14
5	4,20254	4,22254	4,21254	4,21254	0,01	0,23



Şekil 5.85 İndigotin'e ait ölçü eğrisi(Yöntem 3b)(635 nm)

Çizelge 5.38 10 µg/ml Ponso(570nm), 10 µg/ml Sunset Yellow(506nm), 10 µg/ml Kinolin Sarısı(420nm), 10 µg/ml Eritrosin(544nm) ve 10 µg/ml İndigotin(670nm) ile Yöntem 1'e göre yapılan 8 paralel çalışma için türev absorbans, standart sapma, bağıl standart sapma, LOD ve LOQ değerleri.

Deneme	Ponso 10(µg/ml)	Sunset 10(µg/ml)	Kinolin 10(µg/ml)	Eritrosin 10(µg/ml)	İndigotin 10(µg/ml)
1.	10,0	10,0	10,8	10,1	10,1
2.	10,5	10,2	10,4	10,2	10,1
3.	10,2	10,0	10,7	9,8	10,2
4.	10,0	10,2	10,2	9,7	10,6
5.	10,6	10,1	10,3	9,8	10,3
6.	10,5	10,3	10,5	9,9	10,2
7.	10,4	10,4	10,4	10,3	10,3
8.	10,2	10,1	10,7	10,4	10,2
Ort.	10,3	10,1	10,5	10,0	10,2
S	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1
RSD	1,9	0,9	1	2	0,9
LOD	0,6	0,3	0,6	0,6	0,3
LOQ	2	1	2	2	1

Çizelge 5.39 10 µg/ml Ponso(546nm), 10 µg/ml Sunset Yellow(589nm), 10 µg/ml Kinolin Sarısı(390nm), 10 µg/ml Eritrosin(525nm) ve 10 µg/ml İndigotin(638nm) ile Yöntem 2'ye göre yapılan 8 paralel çalışma için türev absorbans, standart sapma, bağıl standart sapma, LOD ve LOQ değerleri.

Deneme	Ponso 10(µg/ml)	Sunset 10(µg/ml)	Kinolin 10(µg/ml)	Eritrosin 10(µg/ml)	İndigotin 10(µg/ml)
1.	10,0	10,6	10,2	10,1	10,1
2.	10,3	10,5	9,8	10,2	10,3
3.	10,3	10,4	9,9	10,6	10,4
4.	10,4	10,2	10,1	10,8	10,1
5.	10,1	10,8	10,7	10,3	10,1
6.	10,5	10,4	10,2	10,3	10,4
7.	10,2	10,7	10,3	10,0	10,2
8.	10,1	10,2	10,5	10,1	10,3
Ort.	10,2	10,4	10,2	10,3	10,2
S	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1
RSD	0,9	1,9	2	1,9	1
LOD	0,3	0,6	0,6	0,6	0,3
LOQ	1	2	2	2	1

Çizelge 5.40 Sunset Yellow(482nm), Ponso(506nm) ve Kinolin Sarısı(416nm)'de Türev Spektrofotometrik Yöntem(Yöntem 1) için gün içi alınan birinci türev, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri.

Sunset Yellow						
C($\mu\text{g/ml}$)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
2	0,00018	0,00018	0,00019	0,00018	$5,7 \times 10^{-6}$	3,0
4	0,00039	0,00039	0,00041	0,00039	$1,1 \times 10^{-5}$	2,0
6	0,00061	0,00063	0,00064	0,00062	$1,5 \times 10^{-5}$	2,0
8	0,00076	0,00077	0,00076	0,00076	$5,7 \times 10^{-6}$	0,7
10	0,00098	0,00098	0,00100	0,00098	$1,1 \times 10^{-5}$	1,0
Ponso						
C($\mu\text{g/ml}$)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
2	0,00089	0,00088	0,00088	0,00088	$5,7 \times 10^{-6}$	0,6
4	0,00170	0,00175	0,00177	0,00174	$3,6 \times 10^{-5}$	2,0
6	0,00262	0,00262	0,00260	0,00261	$1,1 \times 10^{-5}$	0,4
8	0,00348	0,00349	0,00346	0,00347	$1,5 \times 10^{-5}$	0,4
10	0,00439	0,00444	0,00438	0,00440	$3,2 \times 10^{-5}$	0,7
Kinolin						
C($\mu\text{g/ml}$)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
2	0,00020	0,00020	0,00021	0,00020	$5,7 \times 10^{-6}$	2,8
4	0,00039	0,00038	0,00040	0,00039	$1,0 \times 10^{-5}$	2,5
6	0,00060	0,00061	0,00059	0,00060	$1,0 \times 10^{-5}$	1,6
8	0,00079	0,00080	0,00078	0,00079	$1,0 \times 10^{-5}$	1,2
10	0,00099	0,00098	0,00100	0,00099	$1,0 \times 10^{-5}$	1,0

Çizelge 5.41 Eritrosin(525nm) ve İndigotin(610nm)'de Türev Spektrofotometrik Yöntem(Yöntem 1) için gün içi alınan birinci türev, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri.

Eritrosin						
C(µg/ml)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
2	0,00247	0,00246	0,00250	0,00247	$2,0 \times 10^{-5}$	0,8
4	0,00471	0,00470	0,00470	0,00470	$5,7 \times 10^{-6}$	0,1
6	0,00693	0,00694	0,00694	0,00694	$5,7 \times 10^{-6}$	0,08
8	0,00918	0,00916	0,00913	0,00915	$2,5 \times 10^{-5}$	0,2
10	0,01148	0,01146	0,01146	0,01146	$1,1 \times 10^{-5}$	0,09
İndigotin						
C(µg/ml)	1.ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
1	0,00005	0,00004	0,00004	0,00004	$5,7 \times 10^{-6}$	14
2	0,00008	0,00007	0,00007	0,00007	$5,7 \times 10^{-6}$	8,0
3	0,00013	0,00012	0,00013	0,00013	$5,7 \times 10^{-6}$	4,3
4	0,00017	0,00017	0,00016	0,00017	$5,7 \times 10^{-6}$	3,3
5	0,00022	0,00023	0,00021	0,00021	$1,0 \times 10^{-5}$	4,7

Çizelge 5.42 Sunset Yellow(482nm), Ponso(506nm) ve Kinolin Sarısı(416nm)'de Türev Spektrofotometrik Yöntem(Yöntem 1) için gün aşırı alınan birinci türev, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri.

Sunset						
C(µg/ml)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
2	0,00018	0,00018	0,00019	0,00018	$5,7 \times 10^{-6}$	3,1
4	0,00039	0,00039	0,00040	0,00039	$5,7 \times 10^{-6}$	1,4
6	0,00060	0,00062	0,00062	0,00062	$1,1 \times 10^{-5}$	1,7
8	0,00077	0,00077	0,00075	0,00076	$1,1 \times 10^{-5}$	1,4
10	0,00100	0,00098	0,00098	0,00098	$1,1 \times 10^{-5}$	1,1
Ponso						
C(µg/ml)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
2	0,00090	0,00090	0,00093	0,00091	$1,7 \times 10^{-5}$	1,8
4	0,00176	0,00174	0,00177	0,00175	$1,5 \times 10^{-5}$	0,8
6	0,00264	0,00265	0,00267	0,00265	$1,5 \times 10^{-5}$	0,3
8	0,00345	0,00349	0,00350	0,00348	$2,6 \times 10^{-5}$	0,7
10	0,00445	0,00440	0,00439	0,00441	$3,2 \times 10^{-5}$	0,7
Kinolin						
C(µg/ml)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
2	0,00017	0,00016	0,00019	0,00017	$1,5 \times 10^{-5}$	8,8
4	0,00042	0,00040	0,00040	0,00040	$1,1 \times 10^{-5}$	2,7
6	0,00059	0,00060	0,00062	0,00060	$1,5 \times 10^{-5}$	2,5
8	0,00082	0,00080	0,00084	0,00082	$2,0 \times 10^{-5}$	2,4
10	0,00102	0,00098	0,00100	0,00100	$2,0 \times 10^{-5}$	2,0

Çizelge 5.43 Eritrosin(525nm) ve İndigotin(610nm)'de Türev Spektrofotometrik Yöntem(Yöntem 1) için gün aşırı alınan birinci türev, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri.

Eritrosin						
C(µg/ml)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
2	0,00249	0,00252	0,00250	0,00250	$1,5 \times 10^{-5}$	0,6
4	0,00474	0,00470	0,00469	0,00471	$2,6 \times 10^{-5}$	0,5
6	0,00693	0,00698	0,00690	0,00693	$4,0 \times 10^{-5}$	0,5
8	0,00915	0,00916	0,00920	0,00917	$2,6 \times 10^{-5}$	0,2
10	0,01149	0,01145	0,01148	0,01147	$2,0 \times 10^{-5}$	0,1
İndigotin						
C(µg/ml)	1.ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm	Ort.	Std.sapma	RSD
1	0,00004	0,00003	0,00004	0,00004	$5,7 \times 10^{-6}$	14
2	0,00007	0,00006	0,00007	0,00007	$5,7 \times 10^{-6}$	8,1
3	0,00012	0,00012	0,00013	0,00012	$5,7 \times 10^{-6}$	3,7
4	0,00015	0,00014	0,00016	0,00015	$1,0 \times 10^{-5}$	6,6
5	0,00020	0,00023	0,00021	0,00021	$1,5 \times 10^{-5}$	7,1

Çizelge 5.44 Laboratuvarlar arası 10 ppm'lik Sunset Yellow(482nm), Ponso(506nm), Kinolin Sarısı(416nm), Eritrosin(525nm) ve İndigotin(610nm) boyar maddeler için Yöntem 1, Yöntem 2 ve Yöntem 3 ile bulunan 1.türev değerleri

C(µg/ml)	Boyarmadde	YÖNTEM 1		YÖNTEM 2		YÖNTEM 3	
		A Lab	B Lab	A Lab	B Lab	A Lab	B Lab
10	Ponso	0,00445	0,00444	0,00596	0,00595	0,71914	0,71916
10	Sunset Yellow	0,00100	0,0098	0,00203	0,00204	0,08575	0,08574
10	Kinolin Sarısı	0,00097	0,00096	0,00056	0,00056	3,18541	3,18540
10	Eritrosin	0,01145	0,01142	0,03632	0,3631	3,95586	3,95586
5	İndigotin	0,00023	0,00021	0,00018	0,00017	8,87995	8,87994

Çizelge 5.45 544 nm’de Eritrosin, 420nm’de Kinolin Sarısı ve 670nm’deki İndigotin (Kuilib ve Ecopirin Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 1’e göre yapılan verim çalışmaları

TÜREV YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		E	K	İ	E	K	İ	E	K	İ
SAF (2-10) kin (2-10) ert (1-5) ind	2e2k1i	2	2	1	2,1	2,0	0,95	105	102	95
	2e2k5i	2	2	5	2,0	2,1	4,89	100	105	97
	4e4k5i	4	4	5	4,3	4,3	4,95	107	107	99
	6e6k3i	6	6	3	6,3	6,3	2,87	106	106	96
	8e8k4i	8	8	4	8,5	8,5	3,8	106	107	95
	10e10k1i	10	10	1	10,2	10,7	0,97	102	107	97
	10e10k3i	10	10	3	10,6	10,7	2,88	106	107	96
	10e10k5i	10	10	5	10,7	10,7	4,78	107	107	95
TÜREV YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		E	K	İ	E	K	İ	E	K	İ
KARIŞIM (2-10)ert +6k3i (2-10)kin +6e3i (1-5)ind +6k6e	2e2k1i	2	2	1	2,1	2,03	0,9	105	101	92
	2e2k5i	2	2	5	1,9	2,1	4,7	98	105	94
	4e4k5i	4	4	5	3,9	4,1	4,7	99	101	94
	6e6k3i	6	6	3	6,1	6,1	2,8	101	101	94
	8e8k4i	8	8	4	8,7	8,2	3,8	108	102	95
	10e10k1i	10	10	1	10,7	10,5	0,9	107	105	93
	10e10k3i	10	10	3	10,8	10,7	2,8	108	107	96
	10e10k5i	10	10	5	10,6	10,7	4,7	106	107	94

Çizelge 5.46 544 nm’de Eritrosin, 446nm’de Kinolin Sarısı ve 693nm’deki İndigotin (Kuilib ve Ecopirin Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 2’ye göre yapılan verim çalışmaları

FARK YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		E	K	İ	E	K	İ	E	K	İ
SAF (2-10) kin (2-10) ert (1-5) ind	2e2k1i	2	2	1	2,0	2,1	0,96	102	105	96
	2e2k5i	2	2	5	2,0	2,0	4,8	100	102	96
	4e4k5i	4	4	5	3,9	4,2	4,8	99	105	96
	6e6k3i	6	6	3	6,2	6,3	2,85	103	106	95
	8e8k4i	8	8	4	8,6	8,5	3,8	107	107	95
	10e10k1i	10	10	1	10,2	10,5	0,98	102	105	98
	10e10k3i	10	10	3	10,6	10,7	2,9	106	107	96
	10e10k5i	10	10	5	10,7	10,7	4,8	107	107	96
FARK YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		E	K	İ	E	K	İ	E	K	İ
KARIŞIM (2-10)ert +6k3i (2-10)kin +6e3i (1-5)ind +6k6e	2e2k1i	2	2	1	2,6	2,01	0,95	106	101	95
	2e2k5i	2	2	5	2,4	2,05	4,7	104	102	94
	4e4k5i	4	4	5	4,5	4,2	4,8	105	102	96
	6e6k3i	6	6	3	6,5	6,5	2,85	105	105	95
	8e8k4i	8	8	4	8,2	8,8	3,8	102	108	95
	10e10k1i	10	10	1	10,8	10,7	0,96	108	107	96
	10e10k3i	10	10	3	10,6	10,3	2,88	106	93	96
	10e10k5i	10	10	5	10,5	10,5	4,7	105	105	94

Çizelge 5.47 525 nm’de Ponso, 420nm’de Kinolin Sarısı ve 506nm’deki Sunset Yellow (Kuifleks ve Bemiks Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 1’e göre yapılan verim çalışmaları

TÜREV YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		K	P	S	K	P	S	K	P	S
SAF (2-10) pon (2-10) sun (3-15) kin	12k10p10s	12	10	10	12,3	10,1	10,1	102	101	101
	12k4p4s	12	4	4	12,1	4,3	4,2	100	107	105
	15k10p10s	15	10	10	15,3	10,5	10,2	102	105	102
	15k4p4s	15	4	4	15,6	4,2	4,2	104	105	105
	3k10p10s	3	10	10	3,2	10,2	10,3	106	102	103
	3k8p8s	3	8	8	3,1	8,5	8,5	103	106	106
	6k8p8s	6	8	8	6,5	8,1	8,1	108	101	101
	9k6p6s	9	6	6	9,5	6,3	6,3	105	105	105
TÜREV YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		K	P	S	K	P	S	K	P	S
KARIŞIM (2-10) pon +6s9k (2-10)sun +6p9k (3-15) kin +6p6s	12k10p10s	12	10	10	12,7	9,6	10,0	105	107	100
	12k4p4s	12	4	4	12,5	3,7	4,21	104	105	105
	15k10p10s	15	10	10	15,3	9,8	10,2	103	108	102
	15k4p4s	15	4	4	15,6	4,2	4,2	104	105	105
	3k10p10s	3	10	10	3,2	10,3	10,3	106	103	103
	3k8p8s	3	8	8	3,1	8,3	8,2	103	103	102
	6k8p8s	6	8	8	6,5	8,3	8,1	108	103	101
	9k6p6s	9	6	6	9,5	6,5	6,5	105	108	108

Çizelge 5.48 546 nm’de Ponso, 390nm’de Kinolin Sarısı ve 589nm’deki Sunset Yellow (Kuifleks ve Bemiks Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 2’ye göre yapılan verim çalışmaları

FARK YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		K	P	S	K	P	S	K	P	S
SAF (2-10) pon (2-10) sun (3-15) kin	12k10p10s	12	10	10	12,4	9,9	10,7	103	99	107
	12k4p4s	12	4	4	12,6	4,0	4,0	105	101	101
	15k10p10s	15	10	10	16,2	10,2	9,8	108	102	98
	15k4p4s	15	4	4	15,6	4,4	4,2	104	104	102
	3k10p10s	3	10	10	3,2	10,2	10,7	106	102	107
	3k8p8s	3	8	8	3,2	7,5	8,2	109	102	97
	6k8p8s	6	8	8	6,5	8,1	8,1	108	101	101
	9k6p6s	9	6	6	9,5	6,0	6,4	105	101	106
FARK YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		K	P	S	K	P	S	K	P	S
KARIŞIM (2-10) pon +6s9k (2-10)sun +6p9k (3-15) kin +6p6s	12k10p10s	12	10	10	11,7	10,7	9,9	97	107	99
	12k4p4s	12	4	4	12,4	4,0	4,0	103	101	101
	15k10p10s	15	10	10	14,7	9,8	10,2	98	98	102
	15k4p4s	15	4	4	15,8	4,2	4,4	105	102	104
	3k10p10s	3	10	10	3,2	10,7	10,2	106	107	102
	3k8p8s	3	8	8	3,2	8,2	7,5	106	97	102
	6k8p8s	6	8	8	5,9	8,1	8,1	98	101	101
	9k6p6s	9	6	6	8,7	6,4	6,0	97	106	101

Çizelge 5.49 (488,495 nm’de) Eritrosin, (407,377nm’de) Kinolin Sarısı ve (589,591nm’deki) İndigotin (Kuilib ve Ecopirin Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 3’e göre yapılan verim çalışmaları

ORAN YÖNTEM		KONULAN (µg/ml)			BULUNAN (µg/ml)			% VERİM		
		E	K	İ	E	K	İ	E	K	İ
Yöntem 3a	2e2k1i	2	2	1	2,0	2,1	0,96	102	105	96
	2e2k5i	2	2	5	2,0	2,0	4,8	100	102	96
	4e4k5i	4	4	5	3,9	4,2	4,8	99	105	96
	6e6k3i	6	6	3	6,2	6,3	2,85	103	106	95
	8e8k4i	8	8	4	8,6	8,5	3,8	107	107	95
	10e10k1i	10	10	1	10,2	10,5	0,98	102	105	98
	10e10k3i	10	10	3	10,6	10,7	2,9	106	107	96
	10e10k5i	10	10	5	10,7	10,7	4,8	107	107	96
ORAN YÖNTEM		KONULAN (µg/ml)			BULUNAN (µg/ml)			% VERİM		
		E	K	İ	E	K	İ	E	K	İ
Yöntem 3b	2e2k1i	2	2	1	2,6	2,01	0,95	106	101	95
	2e2k5i	2	2	5	2,4	2,05	4,7	104	102	94
	4e4k5i	4	4	5	4,5	4,2	4,8	105	102	96
	6e6k3i	6	6	3	6,5	6,5	2,85	105	105	95
	8e8k4i	8	8	4	8,2	8,8	3,8	102	108	95
	10e10k1i	10	10	1	10,8	10,7	0,96	108	107	96
	10e10k3i	10	10	3	10,6	10,3	2,88	106	93	96
	10e10k5i	10	10	5	10,5	10,5	4,7	105	105	94

Çizelge 5.50 (554, 517nm'de) Ponso, (445, 439nm'de) Kinolin Sarısı ve (522, 510nm'deki) Sunset Yellow (Kuifleks ve Bemiks Tabletler) için yapılan saf ve karışım halindeki çözeltilerle Yöntem 3'e göre yapılan verim çalışmaları

ORAN YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		K	P	S	K	P	S	K	P	S
Yöntem 3a	12k10p10s	12	10	10	12,3	10,1	10,1	102	101	101
	12k4p4s	12	4	4	12,1	4,3	4,2	100	107	105
	15k10p10s	15	10	10	15,3	10,5	10,2	102	105	102
	15k4p4s	15	4	4	15,6	4,2	4,2	104	105	105
	3k10p10s	3	10	10	3,2	10,2	10,3	106	102	103
	3k8p8s	3	8	8	3,1	8,5	8,5	103	106	106
	6k8p8s	6	8	8	6,5	8,1	8,1	108	101	101
	9k6p6s	9	6	6	9,5	6,3	6,3	105	105	105
ORAN YÖNTEM		KONULAN			BULUNAN			% VERİM		
		(µg/ml)			(µg/ml)					
		K	P	S	K	P	S	K	P	S
Yöntem 3b	12k10p10s	12	10	10	12,7	9,6	10,0	105	107	100
	12k4p4s	12	4	4	12,5	3,7	4,21	104	105	105
	15k10p10s	15	10	10	15,3	9,8	10,2	103	108	102
	15k4p4s	15	4	4	15,6	4,2	4,2	104	105	105
	3k10p10s	3	10	10	3,2	10,3	10,3	106	103	103
	3k8p8s	3	8	8	3,1	8,3	8,2	103	103	102
	6k8p8s	6	8	8	6,5	8,3	8,1	108	103	101
	9k6p6s	9	6	6	9,5	6,5	6,5	105	108	108

SONUÇ VE ÖNERİLER

Gıda ve ilaç renklendiricileri işleme ve depolama sırasında kaybolan doğal rengi yeniden kazandırmak, gerçekte renksiz olan besine renk vermek, zayıf olan rengi kuvvetlendirmek, hoş ve alıcı bir etki yaratmak amacıyla gıdalarda, farmasötik ürünlerde kullanılmaktadır. Günümüzde gelişen gıda üretim teknolojileri dikkate alındığında gıdalar ve ilaçlar; işleme, depolama ve satışa sunma gibi çeşitli aşamalarda ısı, ışık, pH, oksijen gibi fiziksel ve kimyasal koşullara bağlı olarak renk solması veya kaybına uğramaktadırlar. Ancak üreticiler işleme sırasında ortaya çıkan renk farklılıklarını ve kayıplarını karşılayarak gıdanın orijinal rengini koruma, ürünün renk tekdüzeliğini sağlama, çekiciliğini artırma, geliştirilmiş bir formulasyona bağlı olarak üretilen renksiz veya az renkli gıdalara (şekerleme, alkolsüz içecekler, karışım toz ürünler) renk kazandırma gibi amaçlarla renklendirici katkı maddelerini ürünlerinde kullanma yoluna gitmektedirler.

Gıda ve ilaçlarla alınan çoğu katkı maddesinde olduğu gibi sentetik boyalara maruz kalımların değerlendirilmesi ve tüketici sağlığını koruyucu önlemlerin alınması için tüketici, sanayici, üniversite ve ilgili kuruluşlar birlikte hareket ederek kapsamlı gıda kontrolünün ve kalitesinin izlenmesini sağlamalıdır. Gün geçtikçe doğal gıdalara ve doğal katkı maddelerine olan talebin artışı sanayide de doğal katkı maddelerinin kullanılmasına neden olmuştur. Bunun sonucunda ise doğal renk maddelerinin üretimi ve kullanımında bir artış söz konusudur. Tüketici tarafından kullanılan çoğu üründe renklendiricilerin miktarı belirtilmemektedir. Gıda ve ilaçların sağlık açısından kontrollerinin yapılması resmi gıda laboratuvarlarına düşmektedir. Ancak üreticiler de renklendirilmiş ürün üretiminde doğru üretim uygulamalarına ve ilgili yasalara uyum sağlamaktan sorumludur.

Ayrıca yapılan araştırmalar özellikle çocuklar için üretilen cips, şekerler, reçeller, yoğurtlar, dondurmalar, meyveli içecekler ve daha birçok üründe kullanılan renklendiricilerin çocukların davranışlarını etkilediğini göstermiştir. Renklendirici içeren yiyecek ve içecekleri tüketen çocuklarda bu maddelerin hiperaktiviteye yol açabildiği ve saldırgan davranışları tetiklediği görölmüştür. Yukarıdaki etkilerin yanında kanserojen etkisi de olan bu boyalar bir çok ölkede yasaklanmıştır. Almanya, Avusturya, Fransa, ABD gibi ölkelerde doğal boyalara olan ilgi artmış ve bu konuda üretimler üzerine yoğunlaşarak doğal boya içeren meyve ve sebzelerin üretimini arttırmıştır. Oysa ölkemizde bu sentetik gıdaların hemen hemen hepsi denetimsiz bir şekilde tüm renkli gıda (yiyecek ve içecek) ürünlerinde kullanılmaktadır.

Bir katkı maddesinin toksisitesi; kanser, doğum kusurları, sinir sistemi ya da diğer organlar üzerinde olumsuz etkileri laboratuvar hayvanları üzerinde deneylerle araştırılır. Bu çalışmalar kısa (akut) ve uzun (kronik) süreli testleri içerir. Sonuç olarak yapılan testler çok çeşitli olup, fetus testlerini, nörotoksitate testlerini, en az iki jenerasyon yapılarak takip edilen testleri de içerir. Kanser hariç uzun süreli etkiler için laboratuvar hayvanları hiçbir olumsuz etkinin görölmeyişi (NOAEL) düzeyini tayin etmek için test hayvanları farklı dozlara maruz bırakılır. Böylece günlük alınacak miktar belirlenir. Sentetik renklendiricilerin çoğunun potansiyel olarak toksik olmaları kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle gıdaların güvenliği için sentetik gıda renklendiricilerinin belirlenmesinde doğru ve güvenilir metotlar yaygın olarak kullanılmalıdır. Sentetik renklendiricilere karşı artan endişeyle beraber sentetik boyaların belirlenmesi ve ölçölmesi için tekrarlanabilir, hassas ve spesifik analiz tekniklerin geliştirilmesi ve uygulamaların yaygınlaştırılması gerekmektedir.

Biz bu çalışmada piyasada gıda ve farmasötik ürünlerde oldukça bol miktarda kullanılan Ponso, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow, Eritrosin ve İndigotin boyar maddelerini içeren ilaç numunelerinde herhangi bir ayırma işlemi yapmadan bir arada kantitatif tayinleri için spektrofotometrik yöntemler geliştirmeyi amaçladık. Türev spektrofotometrik, fark türev spektrofotometrik, oran türev spektrofotometrik yöntemleri çok bileşenli karışımların analizi için çok büyük bir role sahiptir ve bu yöntemler ile herhangi bir ayırma işlemine gerek kalmadan üçlü boya karışımların analizi yapılabilir.

Geliştirilen yöntemlerde ilaç numunelerinde bulunan bu üçlü boya maddelerin bir arada analizini mümkün kılmıştır. Yüzde verim miktarları ve standart sapma değerlerinin düşük oluşu bu yöntemin uygulanabilirliğini arttırmaktadır. Geliştirilen yöntem basit, hızlı, hassas ve ekonomik bir yöntem olarak analiz laboratuvarlarında bu üçlü boyayı bir arada içeren ürünlerin analizinde kullanılabilir.

Her bir yöntem için (Türev, Fark ve Oran Yöntemleri) uygun dalga boyu aralıkları bulunduğundan sonra renklendiricilerin birbirine etkisi olmadan kantitatif tayinlerinin mümkün olduğunu göstermiştir. Standart sapma ve bağıl standart sapmalarda görülen değerler ile yapılan ölçümlerin birbirini desteklediği görülmüştür.

Validasyon çalışmalarına bağlı olarak yüzde verim çalışmaları göstermiştir ki her bir renklendirici için sonuçlar 100 ± 10 aralığında bulunmuştur. Zamana bağlı bozunmanın gerçekleşmediği, laboratuvarlar arası çalışmalarda farklı cihazlarda yapılan ölçümlerin tutarlılığı, gün içi ve gün aşırı alınan ölçüm sonuçlarının yakınlığı çalışılan yöntemlerdeki güvenilirliği sağlamıştır.

Her bir renklendiricinin $10 \mu\text{g/ml}$ 'deki çözeltilerinin LOD ve LOQ sonuçlarının uygunluğu güvenilirliği artırmıştır.

Yöntem 1'de;

Ponso: LOD: $0,6 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $2 \mu\text{g/ml}$

Sunset Yellow: LOD: $0,3 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $1 \mu\text{g/ml}$

Kinolin Sarısı: LOD: $0,6 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $2 \mu\text{g/ml}$

Eritrosin: LOD: $0,6 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $2 \mu\text{g/ml}$

İndigotin: LOD: $0,3 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $1 \mu\text{g/ml}$

Yöntem 2'de;

Ponso: LOD: $0,3 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $1 \mu\text{g/ml}$

Sunset Yellow: LOD: $0,6 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $2 \mu\text{g/ml}$

Kinolin Sarısı: LOD: $0,6 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $2 \mu\text{g/ml}$

Eritrosin: LOD: $0,6 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $2 \mu\text{g/ml}$

İndigotin: LOD: $0,3 \mu\text{g/ml}$ ve LOQ: $1 \mu\text{g/ml}$

Yöntemlerden elde edilen bulgular doğruluk ve presizyon yönünden t ve F testleri yardımıyla %95 güvenilirlik düzeyinde istatistiksel olarak karşılaştırıldı ve uygulanan yöntemler değerlendirildi.

Her yöntemde t değerleri ilgili güven düzeyi ve üç deneme için verilen tablo değerlerinden küçüktür. F değerleri de ilgili güven düzeyi ve üç deneme için verilen tablo değerlerinden küçüktür. Her bir tabletteki renklendiricilerin üç yöntem (türev, fark ve oran) göre standart sapma, bağıl standart sapma, güven aralığı, f test ve t test değerleri aşağıda verilmiştir.

Çizelge 6.1 Bemiks numunesinde saptanan Kinolin Sarısı miktarları

Kinolin sarısı (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik	Yöntemi	Yöntemi
	n	Yöntem		
BEMIKS NUMUNESİ (mg/100g) mg/100g	1	23,0	20,2	22,4
	2	22,1	21,0	23,2
	3	20,9	19,4	24,0
	X_{ort}	22,0	20,2	23,2
	S	1,05	0,8	0,8
	%S	4,7	3,9	3,4
	$X_{ort} \pm t \cdot S/n^{1/2}$	22,0±1,1	20,2±0,9	23,2±0,9
	t testi		2,36	1,57
	F testi		1,72	1,72
	$n_1=n_2=3$	$P=0,05$	$t_{tablo}=4,3$	$F_{tablo}=19$

Çizelge 6.2 Bemiks numunesinde saptanan Ponso miktarları

Ponso (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler n	Spektrofotometrik Yöntem	Yöntemi	Yöntemi
BEMIKS NUMUNESİ (mg/100g)	1	1,65	1,9	1,85
	2	1,44	2,1	1,70
	3	1,56	2,0	1,85
	X_{ort}	1,55	2	1,8
	S	0,1	0,1	0,08
	%S	6,4	5,0	4,4
	$X_{ort} \pm tS/n^{1/2}$	1,55 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	1,8 \pm 0,1
	t testi		5,5	3,3
	F testi		1,0	1,56
		$n_1=n_2=3$	$P=0,05$	$t_{tablo}=4,3$

Çizelge 6.3 Bemiks numunesinde saptanan Sunset Yellow miktarları

Sunset (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler n	Spektrofotometrik Yöntem	Yöntemi	Yöntemi
BEMIKS NUMUNESİ (mg/100g)	1	9,24	8,7	8,3
	2	8,85	8,8	7,7
	3	8,91	8,9	8,0
	X_{ort}	9,0	8,8	8,0
	S	0,21	0,1	0,3
	%S	2,3	1,1	3,7
	$X_{ort} \pm tS/n^{1/2}$	9,0 \pm 0,2	8,8 \pm 0,1	8,0 \pm 0,3
	t testi		1,48	4,7
	F testi		4,41	2,04
$n_1=n_2=3$	$P=0,05$	$t_{tablo}=4,3$	$F_{tablo}=19$	

Çizelge 6.4 Kuifleks numunesinde saptanan Kinolin Sarısı miktarları

Kinolin sarısı (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik	Yöntemi	Yöntemi
	n	Yöntem		
KUIFLEKS NUMUNESİ (mg/100g)	1	8,9	8,4	8,8
	2	8,0	7,8	8,3
	3	8,9	7,5	8,7
	X_{ort}	8,6	7,9	8,6
	S	0,5	0,4	0,26
	%S	5,8	5,0	3,0
	$X_{ort} \pm t S/n^{1/2}$	8,6±0,5	7,9±0,4	8,6±0,3
	t testi		1,89	0,0
	F testi		1,56	3,69
		$n_1=n_2=3$	$P=0,05$	$t_{tablo}=4,3$

Çizelge 6.5 Kuifleks numunesinde saptanan Ponso miktarları

Ponso (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler n	Spektrofotometrik Yöntem	Yöntemi	Yöntemi
KUIFLEKS NUMUNESİ (mg/100g)	1	1,3	-	1,4
	2	1,5	-	1,4
	3	1,4	-	1,3
	X_{ort}	1,4	-	1,4
	S	0,05	-	0,05
	%S	3,5	-	3,5
	$X_{ort} \pm t.S/n^{1/2}$	1,4±0,05	-	1,4±0,05
	t testi			0,0
	F testi			1,0
$n_1=n_2=3$		$P=0,05$	$t_{tablo}=4,3$	$F_{tablo}=19$

Çizelge 6.6 Kuifleks numunesinde saptanan Sunset Yellow miktarları

Sunset (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik	Yöntemi	Yöntemi
	n	Yöntem		
KUIFLEKS NUMUNESİ (mg/100g)	1	0,5	-	0,4
	2	0,4	-	0,4
	3	0,5	-	0,4
	X_{ort}	0,5	-	0,4
	S	0,05	-	0,05
	%S	10	-	12
	$X_{ort} \pm t \cdot S/n^{1/2}$	0,5±0,05	-	0,4±0,05
	t testi			2,4
	F testi			1,0
$n_1=n_2=3$		P= 0,05	$t_{tablo}= 4,3$	F_{tablo}= 19

Çizelge 6.7 Ecopirin numunesinde saptanan Kinolin Sarısı miktarları

Kinolin Sarısı (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik Yöntem	Yöntemi	Yöntemi
	n			
ECOPIRİN NUMUNESİ (mg/100g)	1	2,5	1,8	2,8
	2	2,4	2,2	2,6
	3	2,6	2,0	3,0
	X_{ort}	2,5	2,0	2,8
	S	0,1	0,2	0,2
	%S	4	10	7
	$X_{ort} \pm t S/n^{1/2}$	2,5±0,7	2,0±0,2	2,8±0,2
	t testi		3,87	2,32
	F testi		0,25	4,0
$n_1=n_2=3$	$P=0,05$	$t_{tablo}=4,3$	$F_{tablo}=19$	

Çizelge 6.8 Ecopirin numunesinde saptanan Eritrosin miktarları

Eritrosin (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik	Yöntemi	Yöntemi
	n	Yöntem		
ECOPIRİN NUMUNESİ (mg/100g)	1	4,0	4,2	4,2
	2	4,1	4,5	4,1
	3	4,2	4,8	4,2
	X_{ort}	4,1	4,5	4,2
	S	0,1	0,3	0,05
	%S	2,4	6,6	1,1
	$X_{ort} \pm t \cdot S/n^{1/2}$	4,1±0,7	4,5±0,3	4,2±0,05
	t testi		2,1	1,54
	F testi		9,0	4,0
	$n_1=n_2=3$	P= 0,05	$t_{tablo} = 4,3$	$F_{tablo} = 19$

Çizelge 6.9 Ecopirin numunesinde saptanan İndigotin miktarları

İndigotin (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik	Yöntemi	Yöntemi
	n	Yöntem		
ECOPIRİN NUMUNESİ (mg/100g)	1	0,22	0,21	0,25
	2	0,21	0,20	0,25
	3	0,20	0,20	0,24
	X _{ort}	0,21	0,20	0,25
	S	0,01	0,005	0,005
	%S	4,7	2,5	2,0
	X _{ort} ±t.S/n ^{1/2}	0,21±0,01	0,20±0,005	0,25±0,005
	t testi		1,5	6,1
	F testi		4,0	4,0
	n₁=n₂=3	P= 0,05	t_{tablo}= 4,3	F_{tablo}= 19

Çizelge 6.10 Kuilil numunesinde saptanan Kinolin Sarısı miktarları

Kinolin sarısı (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik	Yöntemi	Yöntemi
	n	Yöntem		
KUILİL NUMUNESİ (mg/100g)	1	0,75	-	0,82
	2	0,73	-	0,80
	3	0,77	-	0,80
	X_{ort}	0,75	-	0,80
	S	0,02	-	0,01
	%S	2,66	-	1,25
	$X_{ort} \pm tS/n^{1/2}$	0,75 \pm 0,7	-	0,80 \pm 0,01
	t testi			3,8
	F testi			4,0
$n_1=n_2=3$	P= 0,05	$t_{tablo}= 4,3$	$F_{tablo}= 19$	

Çizelge 6.11 Kuilil numunesinde saptanan Eritrosin miktarları

Eritrosin (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik	Yöntemi	Yöntemi
	n	Yöntem		
KUILİL NUMUNESİ (mg/100g) mg/100g	1	3,6	3,8	3,5
	2	3,0	3,9	3,0
	3	3,5	3,6	3,2
	X _{ort}	3,5	3,8	3,2
	S	0,3	0,15	0,25
	%S	8,5	3,9	7,8
	X _{ort} ±t S/n ^{1/2}	3,5±0,3	3,8±0,1	3,2±0,2
	t testi		1,5	1,3
	F testi		4,0	1,4
		n₁=n₂=3	P= 0,05	t_{tablo}= 4,3

Çizelge 6.12 Kuilil numunesinde saptanan İndigotin miktarları

İndigotin (mg/100g)	İstatistik	Türev	Fark	Oran
	Parametreler	Spektrofotometrik	Yöntemi	Yöntemi
	n	Yöntem		
KUILİL NUMUNESİ (mg/100g) mg/100g	1	0,72	0,83	0,78
	2	0,73	0,80	0,74
	3	0,68	0,77	0,76
	X _{ort}	0,71	0,80	0,76
	S	0,02	0,03	0,02
	%S	2,81	3,75	2,63
	X _{ort} ±t.S/n ^{1/2}	0,71±0,02	0,80±0,03	0,76±0,02
	t testi		4,3	3,0
	F testi		2,2	1,0
		n₁=n₂ =3	P= 0,05	t_{tablo} = 4,3

KAYNAKLAR

- [1] Yaman, M., (1996). Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boyaların Miktarlarının Araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniv. Sağlık Birimleri Enstitüsü, Ankara.
- [2] Saldamlı, İ., (1998). "Gıda Kimyası", Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Ankara, 489-495.
- [3] Özcan, M., ve Akgül, A., (1995). "Gıdalar için doğal renk maddeleri", 20 (4), Ankara, 365-369.
- [4] Keskin, H., (1999). "Gıda Kimyası", İstanbul Üniversitesi Yayınları, Kimya Fakültesi, İstanbul, 1525.
- [5] Renklendiriciler, www.hammaddeler.com, 1 Mart 2012.
- [6] Lin, A., Jian D., ve Liang Z., (2010). "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Trace Amount of Malachite Green and Crystal Violet in Water After Cloud Point Extraction Using Partial Least Squares Regression", Journal of Hazardous Materials, 175: 883-888.
- [7] Renklendiriciler, www.gıdateknolojisi.org, 19 Nisan 2012.
- [8] Renklendiriciler, www.peyma-hansen.com.tr, 19 Nisan 2012.
- [9] Brownsell V.L., Griffith CJ., ve Jones E., (1992). Applied Science for Studies, Longman Scientific & Technical, U.K.
- [10] Yentür, G., (1998). Bazı Gıda Boyalarının Toksikite Yönünden Değerlendirilmesi, Farmasötik Bilimler Dergisi, 13:332-338.
- [11] Karaali, A., ve Özçelik, B., (1993).Gıda Katkısı Olarak Doğal ve Sentetik Boyalar, Gıda, 18(6):389-396.
- [12] Vieira, E.R., (1996). Elementary Food Science, Fourth Ed., Chapman - Hall, New York, 204–205.
- [13] Huang, H.Y., Shih, Y.C., ve Chen, Y.C., (2002). "Determining Eight Colorants in Milk Beverages by Capillary Electrophoresis", Journal of Chromatography, 959 (1-2):317-325.
- [14] Renklendiriciler, www.afiyetle.com, 15 Mart 2012.
- [15] Gaman, P.M., ve Sherrington, K.B., (1990). The Science of Food – An Introduction to Food Science – Nutrition and Microbiology, Third Ed., Pergamon Press, U.K., 246.

- [16] Saldamlı, İ., (1995). Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler, Ankara, 1-28.
- [17] Özcan, M., ve Akgül, A., (1995). Gıdalar için Doğal Renk Maddeleri-I, 20(4): 209-213.
- [18] Ekşi, A., (1996). Ankara Piyasasından Sağlanan Pasta Süsleri ve Bazı Şekerlemelerde Sentetik Boya Miktarlarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [19] Türk Gıda Kodeksi, Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği, Resmi Gazete, 28 Ağustos 2002, Sayı: 24857.
- [20] Renklendiriciler, www.dogaltedavi.com, 25 Mart 2012.
- [21] Anon, (2002). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi, Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiricilerin Sağlık Kriterleri Tebliği, (No:2001/27) Resmi Gazete.
- [22] Socaciu, C., (2008). Analysis of Synthetic Food Colorants, Taylor & Francis Group, 20:533-551.
- [23] Er, B., ve Yentür, G., (2009). "Ankara Bölgesinde Tüketime Sunulan Bazı Gıda Maddelerinde Sentetik Boya Düzeylerinin Araştırılması", Türk Eczacılar Derneği.
- [24] Dinç, E., ve Onur, F., (2002). "Spectrophotometric multicomponent determination of sunset yellow, tartrazine and allura red in soft drink powder by double divisor-ratio spectra derivative, inverse least-squares and principal component regression methods" Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 34:579-594.
- [25] Afkhami, A., (2005). "Successive ratio-derivative spectra as a new spectrophotometric method for the analysis of ternary mixtures.", Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 61:869-877.
- [26] Mashru, R.C., (2007). "Simultaneous determination of salbutamol sulphate, bromhexine hydrochloride and etofylline in pharmaceutical formulations with the use of four rapid derivative spectrophotometric methods", Journal of Chilean Chemical Society, 55:113-120.
- [27] Youssef, R.M., (2008). "A new hybrid double divisor ratio spectra method for the analysis of ternary mixtures.", Spectrochim Acta A, 70(5):1152-1166.
- [28] SripHong, L., (2009). "Derivative Spectrophotometry Applied to the Determination of Triprolidine Hydrochloride and Pseudoephedrine Hydrochloride in Tablets and Dissolution Testing", World Academy of Science, 55:569-573.
- [29] Pourreza, N., (2011). "Simultaneous cloud point extraction and spectrophotometric determination of carmoisine and brilliant blue FCF in food samples", Talanta, 84(1): 240-243.
- [30] Oveisi, M., (2008). "Simultaneous Determination of Carmoisine and Ponceau 4R", Food Anal. Methods, 1:214-219.
- [31] Vidotti, C., Cancino, J., ve Oliveira, C., (2005). "Simultaneous determination of food dyes by first derivative spectrophotometry with sorption onto polyurethane foam", Analytical, 21:149-153.
- [32] Tateo, F., Bononi, M., ve Gallone, F., (2010). "Rapid detection of dimethyl yellow dye in curry by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry" Food Sci., 28:427-432.

- [33] Alpdoğan, G., ve Üstün Özgür, M., (2005). "Determination of Ternary Mixtures of Food Dyes by Zero-Crossing Derivative Spectrophotometry", Chem. Anal.(Warsaw), 50:593.
- [34] Özdemir, Y., ve Akkan, A., (1999). "Determination of Patent Blue V and Carmoisine in Gelatine Desserts By Derivative Spectrophotometry" Turk J Chem, 23:221-229.
- [35] Charles, J., Lahglois, M.H., Montant, M., Boyer, C., ve Dubost, J.P., (2000). "Simultaneous Determination of Two Synthetic Dyes Erytrosine and Sunset Yellow in A Pharmaceutual Syrup by First Derivative Visible Spectrophotometry" , Analytical Letters, 33(8):1567-1575.
- [36] Ni, Y., Wang, Y., ve Kokot, S., (2009). "Simultaneous Kinetic Spectrophotometric Analysis of Five Synthetic Food Colorants with The Aid of Chemometrics", Talanta, 78:432-441.
- [37] Yentür, G., Ekşi, A., ve Bayhan, A., (1996). "Ankara Piyasasında Sağlanan Pasta Süsleri ve Bazı Şekerlerde Sentetik Boya Miktarlarının Araştırılması", Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 4(3):479-484.
- [38] Altınığne, N., (1999).Bazı Şekerlemeler ve Yapay Toz İçeceklerdeki Diazo Boyar Madde Olan Sunset Yellow FCF ile Tartrazin Miktar Tayinlerinin Voltametrik ve Spektrofotometrik Metod Karşılaştırması, Gıda, 24(2):139-143.
- [39] Zalacain, A., Ordoudi, S., Blazoquez, I., Diaz-Plaza, E.M., Carmona, M., Tsimidou, M.Z., ve Alonso, G.L., (2005). "Screening Method for the Detection of Artificial Colours in Saffron Using Derivative UV-Vis Spectrometry After Precipitation of Crocetin" Food Additives and Contaminants, 22(7):607-615.
- [40] Aktaş, H.A., Dinç, E., Pekcan, G., Üstündağ, Ö., ve Taş, A., (2007). "Wavelet Transform for the Simultaneous Prediction of The Colorants in Food Product", Mathematical Methods in Engineering, 257-564.
- [41] Nantachit, K., Putiyanan, S., ve Phooviang, P., (2008). "Identification and Determination of Synthetic Dyes in Grape Juice in Closed Package" CMU. J. Nat. Sci., 7(2):231.
- [42] Oveysı, M. R., Hajimahmoodi, M., ve Davamı, F., (2003). "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Mixtures of Food Colorants", DARU Volume 11:1.
- [43] Coelho, T.M., Vidotti, E.C., Rollenberg, M.C., Medina, A.N., Baesco, M.L., Cella, N., ve Bento, A.C., (2010). "Photoacoustic Spectroscopy as a Tool for Determination of Food Dyes: Comparison with First Derivative Spectrophotometry", Talanta, 81:202-207.
- [44] Kucharska, M., ve Grabka, J., (2010). " A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes", Talanta, 80:1045-1051.
- [45] Zatar, N.A., (2007). "Simultaneous Determination of Seven Synthetic Water-Soluble Food Colorants by Ion-Pair Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography" Journal of Food Technology 5(3):220-224.
- [46] Vachirapatama, N., Mahajaroensiri, J., ve Visessanguan, W., (2008). "Identification and Determination of Seven Synthetic Dyes in Foodsuffs and Soft Drinks on Monolithic C18 Column by High Performance Liquid Chromatography" Journal of Food and Drug Analysis, 16(5):77-82.

- [47] Kiseleva, M.A., Pimenova, V.V., ve Eller, K.I., (2004). "Optimization of Conditions for The HPLC Determination of Synthetic Dye in Food" J. Anal. Chem., 58:685-690.
- [48] Ma, M., Luo, X., Chen, B., Su, S., ve Yao, S., (2006). "Simultaneous determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in foodstuff by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray mass spectrometry" Chromatogr. A, 1103(1):170-176.
- [49] Chanlon, S., Joly-Pottuz, L., Chatelut, M., Vittori, O., ve Cretier, J.L., (2005). "Determination of Carmoisine, Allura Red and Ponceau 4R in Sweets and Soft Drinks by Differential Pulse Polarography", Journal of Food Composition and Analysis, 18:503-515.
- [50] Frazier, R., Inns, E., Dossi, N., Ames, J., ve Nursten, H., (2000). "Development of a Capillary Electrophoresis Method For The Simultaneous Analysis of Artificial Sweeteners, Preservatives and Colours In Soft Drinks", Journal of Chromatography A, 876:213-220.
- [51] Nantachit, K., Putiyanan, S., ve Phooviang, P., (2008). "Identification and Determination of Synthetic Dyes in Grape Juice in Closed Package" CMU. J. Nat. Sci., 7(2):231.
- [52] Doka, O., Bicanic, D., Ajtony, Z., ve Koehorst, R., (2005). "Determination of Sunset Yellow in Multi-Vitamin Tablets by Photoacoustic Spectroscopy and a Comparison with Alternative Methods" Food Additives and Contaminants" 22(6):503-507.
- [53] Mahçup, N., ve Doğan, M., (2008). Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler, Tatlandırıcılar, Lisans Bitirme Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- [54] Avşar, T., (2006). "Moeksipril hidroklorür içeren farmasötik preparatlarda etkin madde miktar tayini için spektrofotometrik yöntemler" Analitik Kimya Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- [55] Akgün, M.K., (2001). Gıda Boyalarının Türev Spektrofotometrik Yöntem ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [56] Topsoy, H., (1998). Ankara Piyasasında Satılan Bazı Şeker ve Şekerli Gıda maddelerine Katılan Gıda Boyalarının Türev Spektroskopi Yöntemi ile Kantitatif Tayini, Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Ankara.
- [57] Hussein, G., ve Peter, A., (2005). "Simultaneous Determination of Sudan Dyes and Carotenoids in Red Pepper and Tomato Products by HPLC" Journal of Chromatographic Science, 43(9):461-465.
- [58] Pedro, L., ve Leticia, L., (2002). "Simultaneous Determination of Synthetic Dyes Tartrazine, Allura Red and Sunset Yellow by Differential Pulse Polarography and Partial Least Squares. A Multivariate Calibration Method" Electroanalysis, 14:197-205.
- [59] Akdağ İ. (2006). "ISO 17025 Laboratuvar Akreditasyonu Teknik Kriterleri".
- [60] Renklendiriciler, www.kimyaevi.org, 20 Nisan 2012.
- [61] Ertaş, Ö., ve Kayalı, A., (2005). "Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış" Ankara Ecz.Fak.Derg., 34(1):41-57.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Merve TARHAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 1986 / Sivas
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : mervesey13@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Kimya	Gazi Üniversitesi	2009
Lise	Fen Bilimleri	Bahçeşehir Atatürk Lisesi	2004

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2012	Solgar Vitamins-Supplements-Herbs	Ruhsatlandırma
2010	Kozmo Kimya	Ar-Ge