



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜYE DAYALI MİKROEKSTRAKSİYON
TEKNİĞİ İLE GIDA NUMUNELERİNDE SUDAN BOYALARININ
TAYİNİ**

YUNUS YILMAZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ SEZEN SİVRİKAYA ÖZAK**

DÜZCE, 2020

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜYE DAYALI MİKROEKSTRAKSİYON
TEKNİĞİ İLE GIDA NUMUNELERİNDE SUDAN BOYALARININ
TAYİNİ

Yunus YILMAZ tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Sezen SİVRİKAYA ÖZAK

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Dr. Öğr. Üyesi Sezen SİVRİKAYA ÖZAK

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Hasan ÇABUK

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Pınar SEVİM ELİBOL

Düzce Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 21/09/2020

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

21 Eylül 2020

Yunus YILMAZ



TEŐEKKÖR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Sezen SİVRİKAYA ÖZAK'a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Düzce Üniversitesi 2019.07.06.1048 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

21 Eylül 2020

Yunus YILMAZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	viii
KISALTMALAR.....	ix
SİMGELER	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GIDA SEKTÖRÜNDE KULLANILAN SENTETİK BOYALAR	6
2.1. SUDAN BOYALARI HAKKINDA TEMEL BİLGİLER	8
2.1.1. Sudan I Boyası.....	9
2.1.2. Sudan II Boyası	10
2.1.3. Sudan III Boyası.....	10
2.1.4. Sudan IV Boyası	10
2.2. SUDAN BOYALARINDA GIDA SORUNLARI	11
2.3. SUDAN BOYALARININ SAĞLIK ETKİLERİ.....	11
3. BOYAR MADDELER İÇİN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ... ..	13
3.1. MEMBRAN FİLTRASYONU	13
3.2. KATI FAZ EKSTRAKSİYONU	13
3.3. SIVI-SIVI EKSTRAKSİYONU	14
3.4. DİĞER EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ	15
4. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER.....	16
4.1. DÖÇ TİPLERİ.....	18
4.2. DÖÇ BİLEŞENLERİ.....	20
4.2.1. Hidrojen Bağ Alıcıları.....	20
4.2.2. Hidrojen Bağ vericileri.....	20
4.3. DÖÇ'LERİN ÖZELLİKLERİ	21
4.3.1. Donma Noktası	21
4.3.2. Yoğunluk	21
4.3.3. Viskozite.....	22
4.3.4. Polarite.....	23
4.3.5. İyonik İletkenlik	23
4.3.6. Asitlik veya Alkalinite	24
4.4. DÖÇ'LERİN POTANSİYEL AVANTAJLARI	25
5. MATERYAL VE YÖNTEM	26
5.1. KULLANILAN CİHAZLAR	26
5.2. KULLANILAN KİMYASALLAR.....	26

5.3. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN HAZIRLANMASI	27
5.4. ULTRASONİK DESTEKLİ KATI-SIVI MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMİ.....	27
5.5. HPLC CİHAZININ ANALİZ ŞARTLARI	28
5.6. OPTİMİZASYON PARAMETRELERİ	28
6. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
6.1. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN KARAKTERİZASYONU	29
6.2. SENTEZLENEN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN BİLEŞİMİ	31
6.3. DÖÇ HACMİNİN ETKİSİ.....	31
6.4. ULTRASONİK BANYO SÜRESİ VE ULTRASONİK BANYO SICAKLIĞININ ETKİSİ.....	33
6.5. SANTRİFÜJ SÜRESİNİN ETKİSİ.....	34
6.6. NUMUNE MİKTARININ ETKİSİ	34
6.7. GELİŞTİRİLEN YÖNTEMİN ANALİTİK PERFORMANSI.....	36
6.8. GERÇEK ÖRNEKLERİN ANALİZİ.....	38
6.9. GELİŞTİRİLEN YÖNTEMİN DİĞER YÖNTEMLERLE KARŞILAŞTIRILMASI.....	40
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
8. KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 4.1. DÖÇ sentezlerinde kullanılan halojenür tuzları ve hidrojen bağ vericisinin tipik yapıları.	17
Şekil 4.2. Ötektik bir noktayı gösteren iki bileşenli faz diyagramının şematik diyagramı.	19
Şekil 4.3. Kuaterner amonyum katyonlarının yapısal formülü.	20
Şekil 4.4. Kuaterner amonyum tuzlarının yapısal formülü.	21
Şekil 5.1. Önerilen yöntemin temsili şekli.	28
Şekil 6.1. Kumarinin FTIR spektrumu.	30
Şekil 6.2. Timolün FTIR spektrumu.	30
Şekil 6.3. DÖÇ'ün FTIR spektrumu.	30
Şekil 6.4. DÖÇ bileşiminin Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.	30
Şekil 6.5. DÖÇ hacminin Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.	30
Şekil 6.6. Ultrasonik banyo süresinin Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.	30
Şekil 6.7. Ultrasonik banyo sıcaklığının Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.	30
Şekil 6.8. Santrifüj süresinin Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.	36
Şekil 6.9. Numune miktarının Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.	36
Şekil 6.10. Sudan I boyasının kalibrasyon grafiği.	38
Şekil 6.11. Sudan II boyasının kalibrasyon grafiği.	38
Şekil 6.12. Sudan III boyasının kalibrasyon grafiği.	39
Şekil 6.13. Sudan IV boyasının kalibrasyon grafiği.	39

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 4.1. Derin ötektik çözücü tipleri.	19
Çizelge 4.2. Çeşitli ChCl-gliserol karışımlarının polar çözücü parametreleri.	23
Çizelge 4.3. Farklı sıcaklıklarda parça DÖÇ'lerin iyonik iletkenlikleri.	24
Çizelge 6.1. Sudan boyaları için DÖÇ esaslı geliştirilen mikroekstraksiyon yönteminin analitik performansı.	37
Çizelge 6.2. Geliştirilmiş mikroekstraksiyon yönteminin gerçek örneklerle uygulanması (N=3).	39
Çizelge 6.3. Sudan I-IV boyaları için önerilen yöntemin literatürdeki diğer yöntemlerle karşılaştırılması	40

KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
ChCl	Kolinklorür
dk.	Dakika
DÖÇ	Derin Ötektik Çözücü
g	Gram
GPC	Jel Permeasyon Kromatografisi
HBA	Hidrojen Bağlı Alıcısı
HBD	Hidrojen Bağlı Vericisi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
L	Litre
mL	Mililitre
nm	Nanometre
R ²	Regresyon katsayısı
RSD	Bağıl Standart Sapma
UV	Ultraviyole
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

SİMGELER

%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
cm ⁻¹	Dalga sayısı
h	Hacim



ÖZET

DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜYE DAYALI MİKROEKSTRAKSİYON TEKNİĞİ İLE GIDA NUMUNELERİNDE SUDAN BOYALARININ TAYİNİ

Yunus YILMAZ

Düzce Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sezen SİVRİKAYA ÖZAK

Eylül 2020, 49 sayfa

Baharat örneklerinde Sudan boyalarının (I–IV) ekstraksiyonu ve tayini için yeni bir derin ötektik çözücü (DÖÇ) kullanılarak ultrasonik destekli mikro ekstraksiyon tekniği yardımıyla çevre dostu, basit bir yöntem gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde DÖÇ bileşimi, DÖÇ hacmi, ultrasonik süresi, sıcaklığı ve santrifüj süresi gibi optimizasyonu etkileyen parametreler araştırılmış ve optimize edilmiştir. Geliştirilen yöntemin analitik performansı kabul edilebilir düzeydedir. R^2 değerleri 0,9989'dan yüksek ve tayin limitleri $1,17 \mu\text{g g}^{-1}$ 'den küçüktür. Geliştirilen mikroekstraksiyon yönteminin uygulanabilirliği ve doğruluğu için iki farklı konsantrasyon ($10\text{--}50 \mu\text{g g}^{-1}$) acı biber, kırmızı toz biber, kimyon ve sumak baharatlarına eklenmiştir. Bu baharatlardan birkaçının Sudan I ve IV boyaı içerdiği bulunmuştur. $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Sudan boyası konsantrasyonu kullanıldığında, ilave edilmiş numuneler için geri kazanım değerleri %85,55 ile %99,29 arasında ve bağıl standart sapmalar $<3,17$ olarak bulunmuştur. Sonuçlar, geliştirilen yöntemin baharat örneklerinde Sudan boyalarının ekstraksiyonu ve tayini için başarıyla uygulanabileceğini göstermiştir.

Anahtar sözcükler: Baharat örnekleri, Derin ötektik çözücüler, Ultrasonik destekli mikro ekstraksiyon.

ABSTRACT

DETERMINATION OF SUDAN DYES IN FOOD SAMPLES WITH MICROEXTRACTION TECHNIQUE BASED ON DEEP EUTECTIC SOLVENT

Yunus YILMAZ

Düzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry

Master's Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Sezen SİVRİKAYA ÖZAK

September 2020, 49 pages

An environmentally friendly, simple method was carried out with the help of an ultrasonic assisted microextraction technique using a new deep eutectic solvent (DES) for the extraction and determination of Sudan dyes (I–IV) in spice samples. In this method, parameters affecting the optimization were researched and optimized such as DES composition, DES volume, ultrasonic time, temperature and, centrifuge time. The analytical performance of the developed method was quite satisfactory, the R^2 values were higher than 0,9989, and the limits of quantification were $<1,17 \mu\text{g g}^{-1}$. Two different concentrations ($10\text{--}50 \mu\text{g g}^{-1}$) were spiked to Chili peppers, paprika, cumin and sumac spices for the applicability and accuracy of the developed microextraction method. Some of these spices were found to contain Sudan I and IV dyes. The recovery values for spiked samples were found to be between 85,55% and 99,29% and relative standard deviations were found to be $<3,17\%$ when using a $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Sudan dyes concentration. The results showed that the developed method can be successfully applied for extraction and determination of Sudan dyes in spice samples.

Keywords: Deep eutectic solvents, Spice samples, Ultrasonic-assisted microextraction.

1. GİRİŞ

Dünyamızdaki hızla gelişen nüfus artışı beraberinde birtakım sorunlar ortaya çıkarmıştır. Bu sorunların içerisinde insanoğlunu şüphesiz en çok etkileyen gıda üretim ve tüketim ihtiyaçlarına olan talebin de nüfus artış hızıyla doğru orantılı olarak artmış olmasıdır (Gülderen vd., 2007; Bayhan vd., 1998; Güler ve Enecür, 2005; Yixiao vd., 2014; Saldamlı, 1985).

Gıda tüketiminin artmasıyla birlikte gıda maddelerinin taşıma, depolama gibi işlemler sırasında korunması ve bozulmalarının önüne geçilmesi için gıda katkı maddelerinin kullanılması zorunluluğu ortaya çıkmıştır (Gülderen vd., 2007; Bayhan vd., 1998; Güler ve Enecür, 2005; Yixiao vd., 2014; Saldamlı, 1985). Bu gıda katkı maddeleri gıda sektörüyle uğraşan üreticiler tarafından amacına uygun ve bilinçli olarak belirli yasalar çerçevesinde ve üretimin çok belirgin bir kısmında kullanılmakta ve bu kullanılan gıda katkı maddelerinin önemli bir kısmını boyar maddeler oluşturmaktadır (Saldamlı, 1985).

Boyar maddeler tüketiciyi kandırmak amacı ile uygulanmamalı, yapılan uygulamaları insanların sağlığına zarar vermeyecek şekilde olmalıdır. Bu sebeple boyar maddelerinin kötü amaçla kullanımı belirli düzenlemeler ile kontrol altına alınmıştır (Ozkaya, 2004).

Uluslararası Gıda Kodeks komisyonu (CAC) boyar maddeleri “gıdaların renklerini düzelten veya renk vermek amacıyla katılan madde” olarak tanımlanmaktadır. Renk verme özelliğine sahip pek çok madde kimyasal yapılarındaki farklılıklar nedeniyle farklı fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklere sahiptirler. Bu özellikleri onların hangi tip ürünlerde, hangi amaçla ve ne şekilde kullanacaklarını belirlemektedirler (Saldamlı, 1985).

Gıdalarda renk ışığın spektral dağılımından meydana gelen görsel bir özelliktir. Rengin oluşumu madde ışık etkileşimi sonucu ortaya çıkmakta olup, dalga boyu 360-700 nm arasında değişen ışık, insan gözü tarafından algılanmaktadır. 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 bu renkleri ile ilgilidir (Saldamlı, 1985).

Günümüzde dünyada gelişen gıda 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 gıda üreticileri gıda işleme sırasında ortaya çıkan renk farklılıklarını ve kayıplarını karşılayarak gıdanın orijinal rengini koruma, ürünün renk tekdüzeliğini sağlama, çekiciliğini arttırma, geliştirilmiş bir formülasyona bağlı olarak üretilen renksiz veya az renkli gıdalara (şekerleme, alkolsüz içecekler, karışım toz ürünler) renk kazandırma gibi amaçlarla renklendirici katkı maddelerini ürünlerde kullanma yoluna gitmektedirler (Saldamlı, 1985).

1956 yılında Dünya Sağlık Örgütü, 50 doğal yapılı ve 114 sentetik yapılı boyar maddeyi kapsayan raporları sunarak 40 ülkede kullanımına izin vermiş ve gıda endüstrisinde uygulamasının önünü açmıştır (Saldamlı, 1985). 1964-1984 yılları arasında yer alan 20 yıllık süreçte doğal ürünlerden elde edilmiş boyar maddelere alınan patent sayısı yaklaşık 700 iken, sentetik olarak üretilen boyar maddelerin patent sayısına oranı 5'te 1'i kadardı. Bu yıllar arasında ilk üç sırada ise Japonya, ABD ve Almanya doğal boyar maddelerin patentlerini alan ülkeler arasında yerlerini almışlardır (Topsoy, 1991; Tebliğ No: 2002/55; Kaykioğlu ve Debik, 2006; Tan vd., 2000; Tan ve Sudan, 1992; Al-Degs vd., 2000; Nicolet ve Rott, 1999; Hu, 2001; Van der vd., 2001).

Sentetik boyar maddelerin dezavantajları sıralama yapıldığında; ısı, ışık ve pH' ya daha hassastırlar. Bunun yanında oksidasyona daha duyarlıdırlar, daha zor çözünürler ve daha az renk verme gücüne sahiptirler. Üretim masrafları fazla, dolayısıyla maliyetleri de oldukça yüksektir. Bu sorunlara rağmen sentetik boyar maddelerden istenilen verim alınamadığı durumlarda doğal boyar maddeler kullanılmaktadır. Doğal boyar maddelerin tercih edilmelerinin en büyük nedenlerinden biri, yararlı sentetik boyar maddelerine göre sağlık açısından daha zararsız olması ve insanlar tarafından güvenli görülmesidir (Saldamlı, 1985). Doğal kaynak boyar maddeleri olarak bitkisel örneklerdeki oluşan ve bu kaynaklardan üretilen boyar maddelerin kimyasal yapılarının farklı olması sebebiyle bazılarının suda çözünür özellikte olup pek çoğu da çözünmemektedir. Doğal boyar maddelerinin bu özelliğinden dolayı gıda sektöründe kullanım alanlarını oldukça kısıtlamıştır. Gıda sektöründe pek çok uygulamaları vardır; örneğin, tatlı, şekerlemeler, süt ürünleri, meyve sularında, toz içeceklerinde, margarinler ve alkolsüz içeceklerde belirtilen düzeylerde kullanıldığında istenilen sonuçlar elde edilebilmektedir (Temiz vd., 1987; Saldamlı, 1991).

Gıda sektöründe ürünün rengi tadı kokusu ve besleyicilik özellikleri mikrobiyolojik kalite dışında kalan bütün kalite kavramlarını içine almaktadır. Bu nedenle tüketiciler tarafından ilk fark edilen ürünün görselliğidir. Gıdaların tüketim öncesi tüm görselliği ham maddelerin işlenmesi ve yetiştirilmesi aşamasındaki etkenlere ve imalat sürecindeki üretim koşullarının değişimine bağlıdır. Ürünlerin renginde görülen tüm bu olumsuz değişimler pazarlama kapasitesini etkilemektedir. Bu nedenle boyar maddeler gıda ürünlerinde oldukça sık kullanılmaktadır. Boyar maddeler kendi aralarında farklı gruplara sınıflandırılmaktadır. Bunlar; sertifikalı ve sertifikasız yahut doğal, doğala yakın ve sentetik boyar maddeleridir (Saldamlı, 1991).

Sentetik boyar maddeler doğada bulunmayan fakat kimyasal sentez yöntemiyle elde edilen renklendirici maddelerdir. Birçoğunun sentez başlangıç maddesi kömürdür. İnsanoğlu ekolojik sistemdeki bütün renklerin en güzellerini elde etmek ve kullanmak istemiştir. Toplum arasında insanlığın bu doyumsuz yapısı sahip oldukları her şeyin en gösterişlisini en pahalısını ve en renklisini kullanmaya itmiştir. Ve bu durum geçmişte çoğunlukla soylulara aitti (Anonim, 2018).

Renk bilimindeki keşifler; tüm endüstriyel sektörlerde özellikle, modada ve yiyecek endüstrisinde yeni değişiklikler yarattı. Mauveine'in 1856'daki keşfi, geniş renk yelpazesinin kaynağı olan azo ve diazo bileşikleri gibi yüzlerce sentetik boyanın ve pigmentlerin geliştirilmesinde öncü oldu. Mauveine, 18 yaşındaki bir kimyager William Henry Perkin tarafından keşfedildi. Kimya endüstrisindeki bu keşif zenginleşmeye yol açtı. Genç bilim adamını takip eden organik kimyacılar birkaç yıl içinde, Alizarin Crimson'un üretiminde yeni bir sentez yapmışlardı. 19. yüzyılın sonuna dek, kırmızı, kırmızımsı, mavi ve mor renklerdeki tekstiller, boyalar ve diğer emtialar ekonomik hale geldi (Renkleri kim buldu, 2018).

1860' tan sonra başka sentetik boyar maddeler de bulundu. Bu sentetik boyar maddeler, doğal boya maddeleri ile kıyaslandığında; renklendirici kapasitesi, renk aralığı, stabiliteleri, kullanım kolaylıkları ve uygun fiyat cazibesi gibi faktörler açısından üstünlük sağladıkları görülmektedir (Saldamlı, 1997).

Gıda sentetik boyar maddenin nerede kullanılacağı nasıl kullanılacağı seçimi önemlidir. Çünkü gıda üretimi aşamasındaki yüksek performansı yakalayabilmek için bu boyar maddelerin kullanıldığı ortam şartları, derişimi, kullanılan diğer katkı maddelere oranı, ortam sıcaklığı, süre gibi parametre farklılıkları önemlidir. Her bir boyar madde için

farklılık gösteren bu değerler önemlidir, çünkü amacına uygun olarak kullanılabilmesi için doğru seçilmesi gerekir (Saldamlı, 1997).

Boyar maddelerin birçoğu çok yüksek konsantrasyonlarda bile suda çözünme özelliğine sahip olup, çoğu ısıya, alkalilere, asitlere ve koruyucu maddelere karşı da kararlılırlar. Birçok yapıda farklı sentetik boyar maddeler üretilebilmesinden dolayı renklendirme güçleri oldukça yüksek ve renk tonu aralıkları da bir o kadar geniştir. Bu sentetik sertifikalı boyar maddeler gıda maddelerinde kullanıldığında zamana bağlı olarak bakıldığında miktarlarında azalma meydana gelmemiştir. Hatta bu konu ile ilgili 15 yıl süre ile depolanan ürünlerin kontrol edildiğinde miktarlarda azalma gözlemlenmemiştir (Bağcı, 1997).

Gıda sektöründe bulunan ve kullanılan boyar maddeler genellikle değişik yapıdadırlar. Bunlara örnek olarak toz granül, sulandırılmış, sıvı ve macunumsu gibi yapılarda olabilirler. Gıda sektöründe kullanılırken bu boyar maddeler öncelikli olarak uygun çözücüde çözdürülüp sonrasında üretime alınmaktadır. Bu boyar maddelerin yapılarının farklı olmalarından dolayı kullanım hacmi ve miktarı, bulunduğu ortam ve yapısı etkileneceğinden dolayı kullanılan gıda sentetik boyasının yapısı oldukça önemlidir (Bağcı, 1997).

Organik çözücülerde ve yağlarda çözünen sentetik boyar maddeler suda çözünmezler. Yapılarında suda çözünen boyar maddelerdeki gibi tuz formları oluşturan gruplar içermezler. Bu sebepten toksin özellik gösteren bu grup boyar maddelerin gıdalarda kullanılmasına izin verilmemektedir (Bağcı, 1997).

Gıdalarda suda çözünen sentetik boyar maddelerin en çok kullanılanları; kırmızı, amaranth, kahverengi HT, eritrosin, yeşil S, indigotin, kinolin sarısı, litolrubin BK, patent mavi V, ponceau 4R, kırmızı 2G, azorubin, parlak siyah, parlak mavi, günbatımı sarısı ve tartrazin'dir (Elhkim, 2007).

Karmoisin, amaranth, allura kırmızısı, günbatımı sarısı ve tartrazin alkolsüz içeceklerde oldukça sık kullanılan sentetik boyar maddelerdir. Ponceau 4R, kahverengi HT, parlak mavi, yeşil S, kinolin sarısı ve indigo karmin gibi diğer sentetik boyar maddeler de kullanılmaktadır. Meyve aromalı pek çok içekte de boyar maddeler kullanılırken kola ve bira gibi alkollü içeceklerde karamel boyar maddesi kullanılmaktadır (Lancaster ve Lawrence, 1992; Larsen, 1991; Al-Ghouti vd., 2003).

Kek kremaları, kaplama ve süslemeler, bisküviler gibi unlu mamul ürünlerinin üretiminde boyar maddeler kullanılmaktadır. Unlu mamuller yüksek nem içeriğine sahiptirler ve bu nedenle büyük problemler olmaktadır. Bunun yanında istenilen renk tonlarını da elde etmekte zor olmaktadır.

Gıda üretiminde koyu renkli çikolataların üretiminde sentetik boyar maddeler kullanımı tüketimi fazla olduğundan doğal boyar maddeleriyle birlikte kullanımı tavsiye edilir ve bu şekilde kullanımı daha uygundur. Yine gofretler, bisküviler, kekler ve hububat gibi unlu mamullerin renklendiriciler (250 °C) yüksek sıcaklıklara, alkali kabarma tozlarına ve karbondioksit'e karşı renk kararlılıklarının yüksek olması beklenmektedir. Fırınlanan ürünlerde en çok kullanılan sentetik boyaların başında ponceau 4R, allura kırmızısı, günbatımı sarısı, tartrazin ve kahverengi HT gelmektedir (Al-Ghouti vd., 2003 Lockey, 1977; Mekawaty vd, 1998).

Sütten elde edilen gıdaların üretiminde kullanılan boyar maddelerin pastörizasyon işlem sıcaklığına ve ışığa karşı yüksek kararlılık göstermelidir. Süt ürünlerinde karmoisin, ponceau 4R, amaranth, allura kırmızısı, günbatımı sarısı, tartrazin, eritrosin ve indigo karmin en çok tercih edilen boyar maddelerdir. Sütten elde edilen dondurmalarda sentetik gıda boyar maddeler pastörizasyondan hemen sonra sıvı formda kullanılmaktadır. Dondurma çeşitlerinde çoğunlukla sentetik renklendiriciler kullanılmaktadır. (Kornbrust ve Barfknecht, 1985).

Şekerleme üretimine dayalı endüstride oldukça geniş bir renk aralığına sahip olan şekerleme ürünlerinin renklendirilmesinde kullanılan boyar maddelerin, üretim süresince ulaşılan yüksek sıcaklıklar renkte solma ve donuklaşmaya neden olduğundan, boyar maddeleri işlemin son basamaklarında ilave edilmeleri gerekir. Bu sebepten şekerlemelerde kullanılan şuruplarda kullanılan boyar maddelerin çözünürlüğü yüksek olmalıdır. Şekerleme sektöründe en yaygın karmoisin, ponceau 4R, amaranth, allura kırmızısı, günbatımı sarısı ve tartrazine boyar maddeleri kullanılır (Kornbrust ve Barfknecht, 1985).

2. GIDA SEKTÖRÜNDE KULLANILAN SENTETİK BOYALAR

Gıda ürünlerinde boyarmaddeler gıdanın istenilen rengini elde etmek amacıyla oldukça geniş alanda uygulanmaktadır. Bu şekilde yaygın kullanılmasının nedeni gıda ürünün taze, kalite, albenisi ve lezzet gibi kıssaların hepsi gıdanın rengiyle alakalıdır (Ferit ve Meliha, 1978). Boyar maddeler insan toplumunda belli bir kesim tüketicinin bilhassa çocukların dikkatini çekmek ve tüketimi artırmak için uygulanır (FDA, 2012). Gıda boyarmaddelerinin kullanılmasındaki sebeplerden biri de tüketicilerin ürünleri daha kolay alması ve tüketmesidir. Bunların yanı sıra başka nedenleri de vardır. Bunlar, teknolojik proseslerden sonra gıda ürünlerinin renklerinin azalması ya da farklı renkli ham maddelerin işlenmesidir (Jeannine, 2003; Food Ingredients & Colors. 2010). Gıda ürünlerinin görsellik ve psikolojik yönlerinden çekici hale getirmek için boyar maddelerin kullanımı yüzyıllar öncesine dayanmaktadır (Barrows vd., 2000).

Geriye yönelik yirmi yılda gıda sektörü teknolojik, ekonomik ve sosyolojik sebeplerden etkilenmiştir. İnsanların gıda ihtiyaçlarını karşılamak için gıdaların büyük kısmındaki işleme prosesleri ve pazarlama çok hızlı biçimde gelişmiştir. Bu hızlı gelişmeden ötürü tüketicinin kalite ve fiyat ilişkisini karşılayan ve lezzeti mükemmel ve estetiği olan gıdaların sunulması için gıda sektörü çalışmakta ve araştırmaktadır (Hancock, 1997).

Renk ilavesi deyimi gıda, tekstil, ilaç veya kozmetikte renk verme özelliğinde olan bitkisel, hayvansal, mineral veya diğer doğal cevherlerden üretilen boya, pigment veya sentetik renklendiriciler için kullanılmaktadır (FDA, 2003). Gıda boyarmaddeleri birçok kez başlı başına kozmetik ürünlerin içeriğinde göz önüne alınmıştır, fakat gıda sektöründeki kullanım amaçları oldukça önemlidir. Tüketiciler tarafından gıdaların alınmasında ilk duyuşsal inceleme de kalite renktir, gıdanın kalite ve aroması renkle bağlantılı olduğu bilinir. Tüketiciler gıda seçimlerinde daha önceden belirledikleri renkteki ürünlere odaklanmışlardır ve bu ürünler dışına sapmazlar. Gıda boyar maddelerine ihtiyaç psikolojik olarak tüketicilerde yer edinmiştir. Son zamanlarda gıda boyar maddeleri ve katkılarının kullanımına yönelik tedbirler alınmıştır. Gıda ürünlerinin kalite standartları için mikrobiyolojik görünüşten farklı olarak tat, aroma, renk ve besleyici değerleri göz önüne alınmaktadır. Şekerleme ürünlerinde, öğün

arasında tüketilen gıdalarda, meyve suyu gibi alkolsüz meşrubatlarda, pasta, tatlı gibi unlu mamullerde ilave edilen katkı maddeleri boyar maddelerdir (Cannon, 1988).

Organik ve sentetik gıda boyar maddeleri, gıda endüstrisinde solüsyon ve dispersiyon olarak ilave edilir. Gıda renklendiricileri içerisinde sentetik olan renklendiriciler, doğal ürünlerden üretilen boyar maddelere göre birçok faydaları ve avantajları vardır. Sentetik gıda boyar maddeler renk verme yeteneği daha iyidir, renk tonu oldukça geniştir ve parlaklığı da oldukça iyidir, stabilizesi ve kullanım kolaylığı doğal boyalara göre daha üstündür (Cannon, 1988; FDA, 2003).

Genel olarak, çözünürlük yönünden bakıldığında sentetik boyarmaddeler suda çözünen ve yağda çözünen boyar maddeler olarak ayrılır. Sentetik boyar maddeler olarak en önemlileri, azo boyaları, uzun yıllardır oldukça geniş alanda gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Boyar maddelerin duysal olarak gözlenmesi kalite açısından oldukça önemli özelliğidir (Cannon, 1988).

Bunun yanı sıra boyarmaddelere maruz kalındığında oldukça geniş açıdan toksikoloji gözlemlere rağmen sentetik gıda boyalarının sayısı devamlı olarak indirgenmektedir ve gıda üreticileri ürünlerine arzu edilen rengi işlemek için doğal boyar maddelerin uygulanmasına güvenmektedir. Buna rağmen, doğal boyar maddelerin pek çoğu (antosiyantinler, karotenoidler ve betalainler) sentetik boyar maddeler gibi üretim ve işlenme şartlarına aynı kararlılığa sahip değildirler. Gıda boyar maddeleri bilindiği üzere genellikle doğal (veya doğala özdeş) veya sentetik olarak gruplandırılır. Doğal boyalar, sentetik boyar maddelere göre daha düşük renk verme kabiliyetine sahiptirler ve genellikle ışık, sıcaklık, pH ve redoks ajanlarına daha fazla duyarlıdırlar (Cannon, 1988).

Son zamanlarda tüketici sağlığı sorunları için izin verilen sentetik boyar maddelerin kullanım miktarları azaltılmasına giden çalışmalara karşın pek çok farklı sentetik boyar maddeler maliyetlerinin düşük olmasından, yüksek renk verme özelliği ve stabilizeye sahip olmasından dünyanın pek çok bölgesinde oldukça geniş alanda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Sülfonlanmış azo boyar maddeleri gıda ürünlerinde, gazete, tekstil ve birçok maddelerde renklendirici katkı olarak kullanılmaktadır (FDA, 2003).

Sertifikalı boyarmadde listesi on yılı geçkin süredir yaygınlaştırılmış ve kimyasal olarak dokuz sertifikalı boyarmadde dört kimyasal grup içinde sınıflandırılmıştır: Azo, xanthene / fluorescein, triphenylmethane ve sülfonlanmış indigoid (Cannon, 1988).

İnsanların sağlığını toksik safsızlıklardan korumak için her bir grup dikkatli bir şekilde araştırılmalı ve etiketlenmelidir. Sertifikasyon bitirilene kadar boyar maddeler gıdalarda ilave edilmez ve sertifikalı gruplardan ayrı olarak saklanır (Griffiths, 2005).

Doğal boyarmaddeler beslenmenin olmazsa olmaz bir kısmıdır. Bunlar ayırt edilirler ve sertifikalı boyar maddeler gibi benzer sebeplerden gıdaya geri ilave edilir. Klorofiller, karotenoidler ve antosiyaninler her gün tükettiğimiz gıdalarla alınırlar. Doğal boyar maddeler anotta, safran, kırmızıbiber, üzüm kabuğu, çinko oksit, karamel, kırmızı pancar, kosineal ve turmerik fazla kullanılır. FDA (Food and Drug Administration) “doğal boyar maddeler” ifadesi kullanmaktadır, bunlar sertifikasyon işlemine tabii tutulmaz (Griffiths, 2005).

Doğal boyar maddeler sentetiklere göre daha yüksek düzeyde tüketilmeye ihtiyaç duyulur. Sonuç olarak, gıdaların yapısını, kokusunu veya aromasını değiştirirler. Daha az kararlı ve daha az tutarlıdırlar, tüketicilerin gıdayı kabul etmemesine neden olurlar. Doğal boyar maddelerin genellikle canlı ve parlak olmayan, soluk renklidirler. Ayrıca gıda matrikslerinden, pH’dan, tuzlardan, vitaminlerden ve diğer etmenlerden hemen etkilenirler. Bunun yanı sıra yüksek ihtimalle istenmeyen iz metaller, insektisitler, herbisitler ve bakterilerle reaksiyona girerler. Buna rağmen doğal boyar maddeler tüketiciler tarafından sağlık tehlikelerinin petrol türevi sentetiklerden (Tartrazin, Allura red, kurkumin gibi) daha az olduğu bilinmektedir (Griffiths, 2003).

Gelecekte daha çok bitkisel boyar maddeler ayırt edilecek ve hem antioksidan hem de renk veren maddelerin işlevlerini yerine getirmesi için ilave edilecektir. Buna karşın, sertifikalı sentetik boyar maddeler bütün gıdalarda uygulanmasında ve katılmasında herhangi bir sorun teşkil etmemektedir (Griffiths, 2003).

2.1. SUDAN BOYALARI HAKKINDA TEMEL BİLGİLER

Sudan boyaları, kaliteyi arttırmak ve böylece satışları arttırmak amacıyla gıdalarda renklendirme de sıklıkla kullanılan kırmızı-turuncu renkli boyalarıdır (Downham vd., 2000). Gıdalar genellikle renklerine ve dokularına göre değerlendirilir. Azo-boyaların etkisi sadece insan sağlığına zararlı etkiler getirmekle kalmaz, aynı zamanda olumsuz çevresel etkiler de bırakır (Pandey vd., 2007).

Bütün renklendirici maddeler ve boyaların, bitkiler ve hayvanlar da dâhil olmak üzere doğal kaynaklardan elde edildiğinde 19. yüzyılın ortalarındaydı. Daha sonra, 20.

yüzyılın başlarında yerini endüstrilerde üretilen sentetik renkler aldı. Bugün doğada sentetik olan ve ticari olarak üretilen birçok pigment ve boya buluyoruz. Her yıl yeni renkli bileşik ajanlar piyasaya çıkıyor ve çeşitli gıda ve ev eşyalarının görünümünü geliştirmek için kullanılıyor. Sudan boyaları da bunlardan sadece biridir (Majcen-Le vd., 1997).

Sudan boyaları, Sudan I, Sudan II, Sudan III, Sudan IV, Sudan Black B, Sudan Orange G, Sudan Red B, Sudan Red G ve Sudan Red 7B olmak üzere birçok çeşidi vardır. Sudan I ve IV boyalarının soslar, köri, biber tozları, baharat karışımları ve baharatlarda bulunduğu bildirilmektedir. Sudan I boyası, gün batımı sarı rengi hazırlanırken genellikle bir safsızlık olarak oluşur. Aynı zamanda, karsinom insidansını arttıran 1-amino-2-naphthol ve anilin dahil olmak üzere metabolik maddelerin salınmasına da geniş ölçüde atfedilir (National Toxicology Program., 1982).

Sudan I içeren gıdalardan beslenen fare örneği üzerinde yapılan bir deney, dalak tümörünün ortaya çıktığı sonucuna varmıştır. Avrupa Birliği Sudan Boyalarının kullanımını kesinlikle yasaklansa da, Sudan boyaları içeren ithal gıda ürünlerinin tüketimi nedeniyle yaklaşık yılda 20 vaka bildirilmektedir (Anderton vd., 1997).

Çalışmalar, Sudan boya II'nin farelerde SIV lokal ve mesane karsinomuna neden olduğunu göstermiştir. Sudan II, III ve IV boyaları, Sudan I boyasına göre yapısal olarak benzemektedir ve bu nedenle hepsi genotoksisiteye katkıda bulunur (Loprieno, N. 1975).

2.1.1. Sudan I Boyası

Sudan I (yaygın olarak CI Solvent Yellow 14 ve Solvent Orange R olarak da bilinir), tipik olarak bir azo boyası olarak sınıflandırılan organik bir bileşiktir (Hunger vd., 2000). Mumlar, yağlar, benzin, çözücüler ve cilalara renk katmak için yoğun turuncu-kırmızı bir katıdır. Sudan I, gıdalarda Sudan I kullanımı artık birçok ülkede yasaklanmış olmasına rağmen, özellikle köri tozu ve biber tozunu renklendirmek için kabul edilmiştir, çünkü Sudan I, Sudan III ve Sudan IV kategori 3 karsinojenler olarak sınıflandırılmıştır (insanlara karşı kanserojenliği açısından sınıflandırılmaz). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı tarafından Sudan I hala bazı turuncu renkli duman formülasyonlarında ve kimya deneylerinde kullanılan pamuklu çöplerin renklendirilmesinde kullanılmaktadır. Premier Foods tarafından üretilen bir Worcestershire sosunun Sudan I ile kontamine olduğu bulundu. Kökeni karıştırılmış

biber tozuna kadar takip edildi. Kontaminasyon Gıda Standartları Ajansı tarafından keşfedildi (Ahmed vd., 2008).

2.1.2. Sudan II Boyası

Endüstride yağlar, katı yağlar, vakslar, gresler, çeşitli hidrokarbon ürünler ve akrilik emülsiyonlar gibi polar olmayan maddeleri renklendirmek için kullanılır (Chung, 2016).

2.1.3. Sudan III Boyası

Yağlar, katı yağlar, vakslar, gresler, çeşitli hidrokarbon ürünler ve akrilik emülsiyonlar gibi polar olmayan maddeleri renklendirmek için kullanılır. Ana kullanımı, düşük gelirli ısıtma yağını otomotiv dizel yakıtından ayırmak için İç Gelir Servisi (IRS) tarafından yetkilendirilen Amerika Birleşik Devletleri'nde ve yakıtları işaretlemek için ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından bir yakıt boyasıdır. Daha yüksek kükürt içeriği; hidrokarbonlarda daha iyi çözünürlüğe sahip Solvent Red 26'nın yerine geçer. IRS tarafından ihtiyaç duyulan konsantrasyon, 1000 varil veya 11 için 3,9 poundluk bir spektral eşdeğerdir. 13 mg/L, katı formda Solvent Red 26; EPA için gereken konsantrasyonlar yaklaşık 5 kat daha düşüktür (Sudan III, 2019).

2.1.4. Sudan IV Boyası

Sudan IV (C₂₄H₂₀N₄O), dondurulmuş parafin bölümlerinde lipitlerin, trigliseritlerin ve lipoproteinlerin boyanmasında kullanılan bir lizokrom (yağda çözünen boya) diazo boyasıdır. Erime noktası 199 °C ve 520 (357) nm'de maksimum emilim ile kırmızımsı kahverengi kristaller görünümündedir (Ahmed vd., 2008).

Sudan IV, Sudan boyamasında kullanılan boyalardan biridir. Benzer boyalar arasında Yağ Kırmızı O, Sudan III ve Sudan Siyah B bulunmaktadır. Boyama önemli bir biyokimyasal tekniktir ve ilgilenilen yağ bileşiğinin varlığını izole etmeden görsel olarak nitelendirme yeteneği sunar. Boyama amaçları için Sudan IV, propilen glikolde yapılabilir [1]. Alternatif olarak, yazarlar izopropil alkol, %95 etanol veya ağırlıkça %0.05 aseton: etanol: su (50:35:15) içinde doymuş boyayı kullandıklarını bildirmişlerdir (Ahmed vd., 2008). Fikir, boyanacak yağın çözünürlüğü çözücü olmadan yüksek oranda apolar yağa ayrılmasına izin veren boyayı çözünürlüştirmek için orta derecede bir apolar çözücü kullanmaktır. Sudan I, Sudan III ve Sudan IV, Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı tarafından kategori 3 kanserojen olarak sınıflandırılmıştır. Saflaştırılmış haliyle, suda çözünür Biebrich kırmızı ile karıştırılmaması gereken Biebrich

kızıl R olarak adlandırılır.

Endüstride yağlar, katı yağlar, vakslar, gresler, çeşitli hidrokarbon ürünler ve akrilik emülsiyonlar gibi polar olmayan maddeleri renklendirmek için kullanılır. Sudan IV ayrıca İngiltere'de daha düşük vergili ısıtma yağını boyamak için bir yakıt boyası olarak kullanılır; Bu nedenle Petrol Vergisi Kırmızısı olarak da bilinir. Bir gıda boyası olarak Sudan IV, esas olarak kanserojen olduğu için uzun bir süre boyunca zararlı etkisi nedeniyle yasadışı bir boya olarak kabul edilir. 1995 gıda güvenliği düzenlemeleri raporunda güvensiz olduğuna karar verildi (Ahmed vd., 2008).

2.2. SUDAN BOYALARINDA GIDA SORUNLARI

Sentetik boyalarla kontamine olduğu tespit edilen biber örnekleri de dahil olmak üzere birçok gıda ürünü AB tarafından tespit edilmiştir. Diğer kontamine gıda maddeleri arasında Hint turşusu, lezzet sayısı ve baharatlar vardı (Mejia vd., 2007).

Sentetik boyalar insan sağlığı için risk olarak kabul edildiğinden, birçok ülkede yasaklanmıştır (Mejia vd., 2007). Bu boyalar, zararlı toksinler olarak hareket ettikleri için vücuda yoğun zarar veren biyolojik olarak aktif bileşikler üretir (Miniotti vd., 2007). Birleşik Krallık'ta Gıda Standartları Ajansı (FSA) tarafından Sudan I boyası dondurulmuş et ürünlerinde, baharatlarda ve cipslerde bulunmasına ilişkin uyarılar verilmiştir (FSA., 2006). Sudan boyaları taze biberler gibi taze gıda ürünlerinde çoğunlukla yoktur; bununla birlikte, Sudan boyalarının eklenmesi Sudan boyalarının potansiyel sağlık etkileri, memelilerin mesane ve karaciğerinin genotoksik etkilerini ve kanserojenliğini sağlar (Xu vd., 2010).

2.3. SUDAN BOYALARININ SAĞLIK ETKİLERİ

Sadece Sudan boyaları değil, aynı zamanda bozunma ürünleri de oldukça kanserojen, teratojenik ve insan sağlığına zararlıdır. Çalışmalar, sentetik boyaların sodyum benzoat koruyucuları ile birlikte maruz kalmanın 3 yaşında ve 8-9 yaşında çocuklarda hiperaktiviteye neden olduğunu kanıtlamıştır. Gıda ürünlerinde bulunan sudan boyaları çocukların dikkatini, davranışını ve aktivitesini olumsuz etkiler (McCann vd., 2007).

Sudan boyaları, ağızdan alındıklarında karşılık gelen aminlerini oluşturmak için azalır. Bu azalmaya esas olarak ekstra hepatik dokular, gastrointestinal mikropolar ve karaciğer

sistolik redüktaz neden olur. Hayvanlar üzerinde yapılan birçok laboratuvar deneyi, aminlerin salınmasına bağlı olarak mutajenik ve kanserojen etkiler göstermiştir. Bu kanserojen aminler, Sudan boyalarını potansiyel sağlık tehlikeleri haline getirir (DFG, D. F. 2003).

Sudan boyaları içeren saç boyaları uygulandığında sudan boyaları cilde vücuda girebilir. Kanserogen aminlerle sonuçlandığından bu oldukça zararlı olabilir (Platzek vd., 1999). Sudan boyaları, hayvanlarda bulunan P1-450 ile ilişkili enzimleri aktive ederek immünotoksik etkileri şiddetlendirir. Sudan boyaları dolaylı karsinojenlerdir (IARC tarafından kategori 3 karsinojenler olarak sınıflandırılır) ve bu nedenle gıdalardaki kullanımdan yasaklanır (Dar vd., 2013).

Deneyisel çalışmalar Sudan boya I içeren yemle beslenen ve lenfoma ve lösemiye neden olan yüksek düzeyde neoplastik karaciğer nodülleri oluşumuna yol açan sıçanlar üzerinde yapıldı. Ayrıca, Sudan I boyasının hayvan numunesinin idrar kesesi içine implantasyonu mesane karsinomuna neden oldu. Bundan böyle, Sudan boyaları hem Invivo hem de invitro mutajenik ve kanserojendir. Sudan boyalarının ayrıca farelerin kolon ve midesinde genotoksik etkiye neden olduğu bulunmuştur (Tsuda vd., 2000).

Invitro deneyisel analiz, insan mikrozomlarında bulunan Sudan boyalarının DNA eklentisi oluşturduğunu göstermiştir. Peroksizomlar ayrıca Sudan boyaları tarafından Protein, DNA ve RNA eklentileri üretmek için aktive edilir (Stiborová vd., 2002).

AB'de gıda ürünlerinde Sudan boyası I' in yasadışı varlığı ilk olarak Mayıs 2003'te bildirildi. Sudan boyalarının kullanımına karşı AB tarafından ilk kez Fransa'da Hindistan'dan ithal edilen kırmızıbiberlerde Sudan boyalarının oluşmasına tepki olarak bir karar verildi. 38. Biber tozunun ve toz biber içeren tüm gıda ürünlerinin Sudan boyaları içerdiği gözlenmiştir. O zamandan beri, Hızlı AB Gıda ve Yem Alarm Sistemi (RASFF) aracılığıyla birçok AB Üye Devleti sumak, curcuma ve hurma yağında Sudan boya I ve IV' ün varlığı konusunda bilgilendirdi. Benzer gıda ürünleri yelpazesi için Sudan II ve III boyalarının birçok bildirimini de alındı (Nisa vd., 2016).

Sudan boyaları içeren gıda ürünlerinin, AB dışındaki ülkelerden elde edilen, Hindistan, Gana, Mısır çığ baharatlar, Nijerya, Pakistan ve Batı Afrika dahil olmak üzere kirlenmiş ham ürünlerden palmye yağı için üretildiği keşfedildi (Nisa vd., 2016). Sudan boyalarının birincil kökeni, AB tarafından işlenmiş gıda ürünlerinin üretimi için önemli bileşenler olarak kullanılan hammaddeleri içerir (Nisa vd., 2016).

3. BOYAR MADDELER İÇİN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

Birçok gıda ürünleri renklendirici olarak azo boyaları içerir. Laboratuvarlarda boyar maddelerin ekstraksiyonu için genel kabul görmüş veya standart bir yöntem yoktur. Bununla birlikte, çoğu ekstraksiyon prosedürü, istenen analitlerin matrislerinden ayrılmasını içeren ortak bir yol izler, ardından yabancı maddenin uzaklaştırılması ve uygun bir ekstraksiyon yöntemi takip eder. Bunlara örnek olarak katı-sıvı veya sıvı-sıvı ekstraksiyonu gösterilebilir. (Thompson ve Trenerry, 1995; Wu vd., 2013).

3.1. MEMBRAN FİLTREASYONU

Membran, zar boyunca harici bir itici güç uygulandığında maddeleri ayıran ince bir yarı geçirgen madde tabakasıdır. İçeceklerdeki azo boyar madde tayinlerinde analitlerin toplanması için en yaygın olarak kullanılan prosedür, seyreltici olarak su kullanılarak membran filtreyle tek aşamalı ekstraksiyonu içerir. (Gosetti vd., 2008; Miniotti vd., 2007).

3.2. KATI FAZ EKSTRAKSİYONU

Katı faz ekstraksiyonu, basitlik ve hız gibi avantajları nedeniyle azo boyar maddelerin belirlenmesinde en sık kullanılan tekniktir. Ayrıca, yüksek geri kazanımlara sahip kirleticiler içermeyen büyük miktarda numuneyi işleme yeteneğine de sahiptir. Katı faz ekstraksiyonu için tipik sorbent olarak C18 kullanılırken, bunun yanı sıra amino fonksiyonelleştirilmiş düşük dereceli çapraz bağlama manyetik polimer (NH₂-LDC-MP) (Chen vd., 2014), poliamit, jel permeasyon kromatografisi (GPC) (Bonan vd., 2013; Tang vd., 2014) ve stiren-divinilbenzen polimeri birkaç azo boyar maddelere karşı iyi bir tutma özelliğine sahiptir (Soylak vd., 2011). Azo boyar maddelerin analizinde farklı organik çözücüler kullanılmıştır ve uygun çözücünün seçimi her zaman kolay değildir. Analitik matrisin ve bileşenlerinin yapısı, ekstraksiyon için çözücü seçerken önemli bir rol oynar. Metanol, asetik asit, etanol, aseton, etil asetat, tetra-n-butil amonyum fosfat vb. gibi çözücüler azo boyar maddelerin ekstraksiyonu için daha uygundur.

González vd., (2003) liyofilize gıdalardaki doğal ve sentetik renklendiricileri, eluent olarak amonyak, metanol karışımı ve sabit faz olarak RP-C18 pamuğu kullanan otomatik bir katı faz ekstraksiyon sistemi kullanarak belirlemişlerdir. Harp vd., 2012, basit bir katı faz ekstraksiyon süreci kullanan kırk yedi gıda ürünüde on yedi gıda renklendiricisinin ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Son zamanlarda Tang vd., 2014, yüksek yağ içeriğine sahip kompleks on altı sentetik renklendiricinin ekstraksiyonunu incelemişlerdir. Metanol içinde %5 amonyak içeren metanol, aseton (1: 1, h/h) ve 2 mol/L karbamid çözeltisinin kombinasyonunu içeren bir GPC kolonu ile saflaştırılırken mükemmel ekstraksiyon verimliliği gösterdiklerini bildirmişlerdir. Son zamanlarda, (Chen vd., 2014), NH₂-LDC-MP'nin, saf su (pH 9,0) kullanarak bir ekstraksiyon çözücüsü olarak yedi sentetik gıda boyasının ekstraksiyon geri kazanımlarını arttırmak için manyetik alan altında katı faz ekstraksiyonunda bir sorbent olarak kullanımını araştırmışlardır.

3.3. SIVI-SIVI EKSTRAKSİYONU

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu (çözücü ekstraksiyonu olarak da bilinir), bileşiklerin genellikle organik faz ve su olmak üzere iki farklı karışmayan sıvısında nispi çözünürlüklerine göre ayrılmasını içerir. Gıda ürünlerinden azo boyar maddelerin ekstraksiyonu için en yaygın çözücüler (tek başına veya kombinasyon halinde) su, etanol, metanol, izopropil alkol, etil asetat, amonyak, sikloheksan ve tetra-n-butil amonyum fosfattır.

Literatürde azo boyar maddelerin ekstraksiyonu için çeşitli sıvı- sıvı ekstraksiyon yöntemleri bildirilmiştir. Yoshioka ve Ichihashi, 2008, içeceklerde ve şekerlemelerde kırk gıda boyasının eşzamanlı ekstraksiyonu için farklı çözücüler kullanmış ve amonyak çözeltisi ve etanol (1: 1, h/h) karışımının ultra sonikasyondan sonra iyi ekstraksiyon verimliliği gösterdiğini bulmuşlardır. Zou vd., (2013), etanol, amonyak ve sudan oluşan üç karışımın (80: 1: 19, h/h/h) hayvan yemi ve et numunelerinde yedi boya için iyi ekstraksiyon geri kazanımları elde ettiğini gözlemlemişlerdir.

Kirschbaum vd., 2006, balık yumurtasındaki on dört sentetik gıda boyasını amonyak çözeltisi (% 25) ve metanol (1: 9, h/h) kombinasyonu kullanarak analiz etmişlerdir. Benzer şekilde Harp vd., 2013, ekstraksiyon çözücüleri olarak amonyum hidroksit ve metanol kullanılarak sıvı kromatografi yöntemiyle kırk dört gıda ürünüde yedi sertifikalı gıda rengini tayin etmişlerdir.

Son zamanlarda, çevre dostu ekstraksiyon çözücülerinin kullanımı düşük toksisite profilleri nedeniyle arttırılmıştır. Khanavi vd., 2012, gıda ürünleri ve ilaçlardan boya ekstraksiyonu için amonyak (%0,25, h/h) ve su gibi organik olmayan çözücüler kullanarak yeşil bir ekstraksiyon prosedürü geliştirmişlerdir. Benzer şekilde Vidotti vd., 2006'da, bir çözücü olarak su kullanılarak yapay meyve suyu ve jelatin numunelerinden gıda boyalarının ekstraksiyonu için basit bir yeşil yöntem geliştirmişlerdir.

3.4. DİĞER EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

Katı-sıvı ve sıvı-sıvı ekstraksiyonu gıda örneklerinde en sık uygulanan teknikler olmasına rağmen, azo boyar maddelerin analizi için mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) ve ultrason destekli ekstraksiyon (BAE) de çevre dostu ekstraksiyon yöntemleri alternatif olarak kullanılmıştır.

Bu seçenekler laboratuvarı faydalıdır, çünkü organik çözücülerle geleneksel ekstraksiyonlar yüksek hacimli çözücüler ve zaman alıcı kullanılarak karakterize edilir ve genellikle düşük azo boyar madde ekstraksiyonu geri kazanımı, düşük seçicilik ve hassasiyet gösterirler. Sun vd., 2013, çözücü olarak metanol asetik asit (95:5, h/h) kullanılarak MAE ile ette yirmi bir sentetik renklendiricinin ekstraksiyonunu araştırmışlardır. Benzer şekilde Shen vd., 2014, iki fazlı çözücü (metanol ve aseton) ve BAE kullanılarak ekstraksiyon yöntemi geliştirmiş ve bu da hem hidrofilik hem de hidrofobik pigmentlerin daha iyi ekstraksiyon geri kazanımı ile sonuçlanmıştır. Buna karşılık, analizden önce ekstraksiyon prosedürünün yer almadığı birkaç yöntem de mevcuttur (Sorouraddin vd., 2011).

4. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER

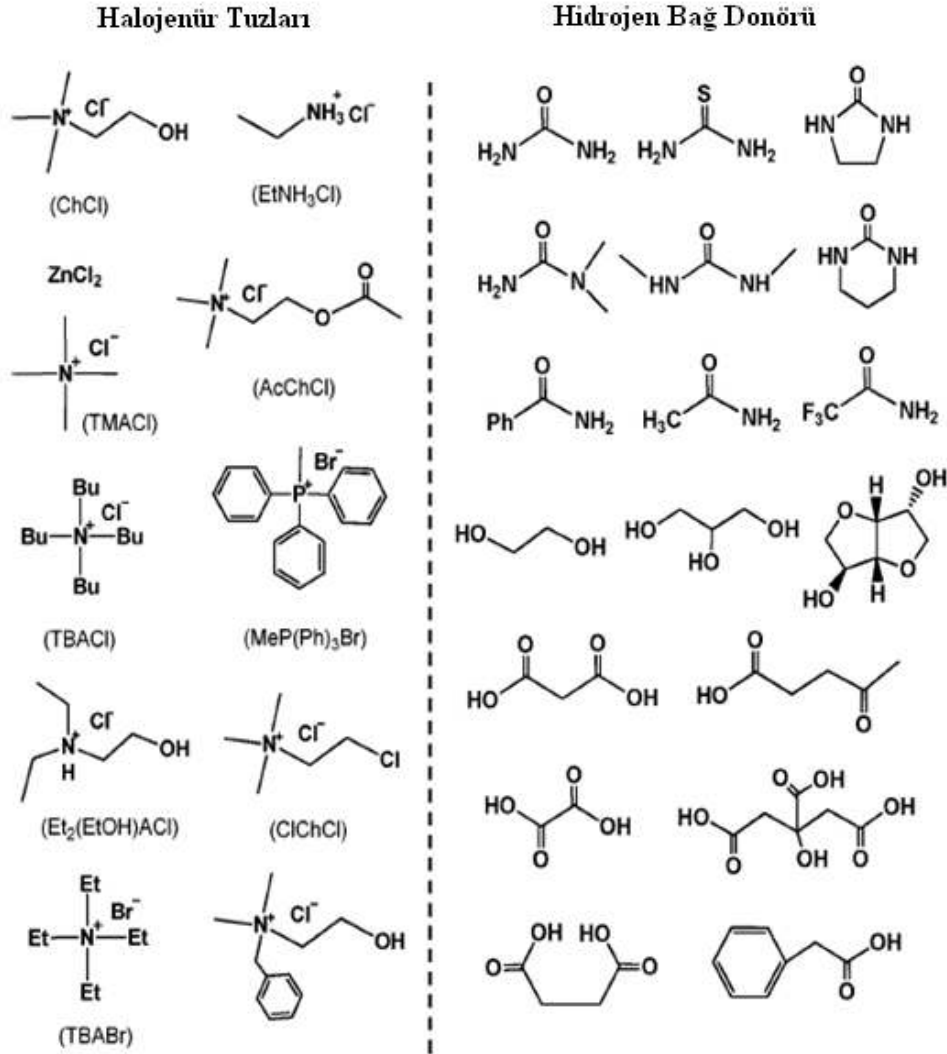
Derin ötektik çözücüler (DÖÇ'ler) genellikle ötektik bir karışım oluşturmak için hidrojen bağı etkileşimleri yoluyla birbirleriyle birleşebilen iki veya üç bileşenden oluşur. Ortaya çıkan DÖÇ, her bir bileşeninkinden daha düşük bir erime noktasına sahiptir. Bir hidrojen bağı alıcısının (HBA) ve bir hidrojen bağı vericisinin (HBD) etkileşimi, erime noktası 100 °C'nin altında olan tek bir sıvı faz oluşturan ideal olmayan karışımın donma noktasını azaltır. Genel olarak DÖÇ'ler, donma noktasının büyük bir düşüşü ile karakterize edilir ve 150 °C'nin altındaki sıcaklıklarda sıvılardır. Bunların çoğu oda sıcaklığı ile 70 °C arasında sıvıdır (Zhang vd., 2012; Al-Murshedi 2018).

Çoğu durumda, bir kuaterner (dörtlü) amonyum tuzunun metal tuzları veya kuaterner amonyum tuzunun halid anyonu ile kompleks oluşturma kabiliyetine sahip bir hidrojen bağı vericisi (HBD) ile karıştırılmasıyla bir DÖÇ elde edilir. Şekil 4.1 DÖÇ'lerin oluşumunda çeşitli HBD'lerle kombinasyon halinde yaygın olarak kullanılan farklı kuaterner amonyum tuzlarını özetlemektedir (Zhang vd., 2012).

Kullanılan en yaygın tuzlar, aminler, amidler, alkoller ve karboksilik asitler gibi hidrojen bağı vericilerine (HBD) sahip kuaterner amonyum halejenürlerdir (Maugeri ve María, 2012). Genel olarak, Şekil 4.1'de gösterildiği gibi DÖÇ'lerin oluşturulmasında kullanılan birçok hidrojen bağı donörü ve hidrojen bağı alıcı türü vardır (Zhang vd., 2012). Burada, hazırlama işleminde atık olmaması ve saflaştırmaya gerek olmaması nedeniyle DÖÇ'lerin diğer iyonik sıvı türlerinden daha yeşil olduğuna dikkat etmek önemlidir (Wagle vd., 2014). Ek olarak DÖÇ'ler, düşük doğal toksisiteye sahip üre, gliserol, etilen glikol ve fruktoz gibi çeşitli amidleri ve poliollerleri kapsar. Ayrıca, hem kolin klorür hem de etilen glikol gibi hidrojen bağı donörü çevreye zararsızdır ve her ikisi de kolayca biyolojik olarak bozunur, sonuçta ortaya çıkan DÖÇ de kolayca biyolojik olarak bozunur (Smith vd., 2014).

Geleneksel organik çözücülerle karşılaştırıldığında, DÖÇ'ler uçucu organik çözücüler olarak kabul edilmez ve yanıcı değildir, bu nedenle depolanmaları uygundur. Yeşil kimyanın bakış açısından, bu DÖÇ'ler daha da caziptir, çünkü bazılarının biyobozunur olduğu ve ilgilerini daha da arttıran enzimlerle uyumlu oldukları kanıtlanmıştır. Ek

olarak, DÖÇ'lerin sentezi ekonomiktir, kullanımı kolaydır ve saflaştırmaya gerek yoktur, bu nedenle büyük ölçekli kullanımlarını mümkün kılar (Zhang vd., 2012).

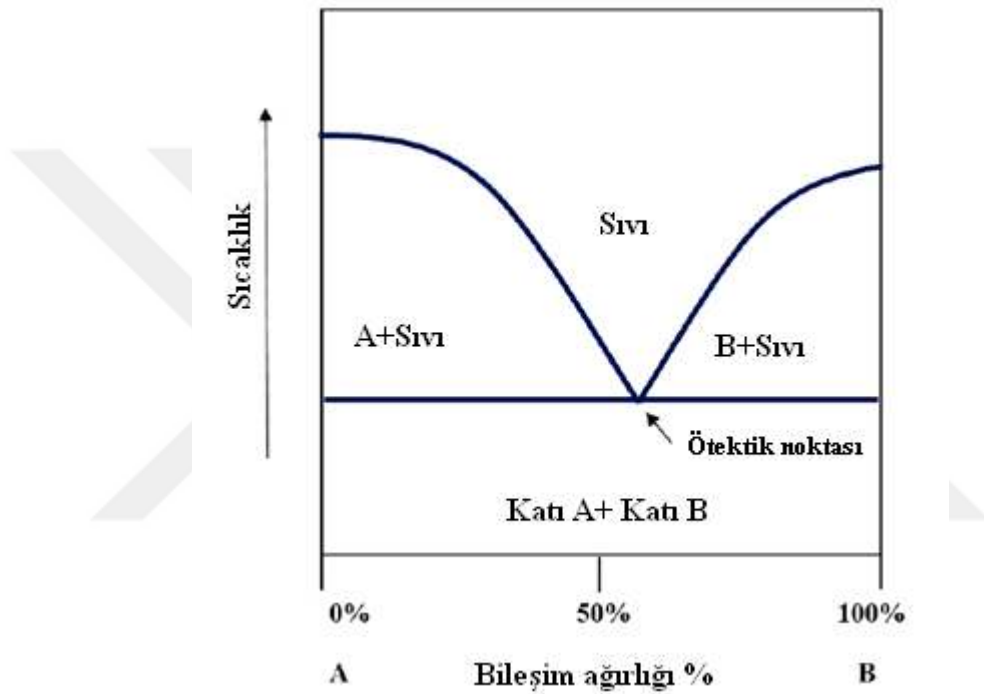


Şekil 4.1. DÖÇ sentezlerinde kullanılan halojenür tuzları ve hidrojen bağ vericisinin tipik yapıları.

Bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğu üre, etilen glikol, gliserol ve oksalik asit içeren DÖÇ'lere odaklanmıştır. Nispeten iyi huylu ve düşük maliyetli bileşenlerdir ve bir dizi viskozite, pH ve çözücü özellikleri sergilerler. Nispeten az sayıda grup, sıvının çözücü ve taşıma özelliklerinin bir uygulamaya ayarlanmasını sağlayan üçlü veya dördüncül karışımları incelemiştir. Elektrokaplama, elektro-parlatma veya metal oksit çözünmesi için DÖÇ'leri kullanan büyük ölçekli çalışmaların çoğunda bu amaçla üçlü karışımlar kullanılmıştır (Abbott vd., 2013).

Karışım, bileşenler arasındaki güçlü etkileşimler nedeniyle daha düşük bir örgü

enerjisine ve dolayısıyla tek tek bileşenlerinden daha düşük bir erime noktasına sahip olduğu için "ötektik" tir (Abbott vd., 2013; Smith vd. 2014). İyonik bir sıvının ilk tanımı “sadece iyonlardan oluşan bir sıvı” idi ve bu nedenle DÖÇ’ler genellikle iyonik sıvı olarak kabul edilmedi. Tüm iyonik sistemlerin bazı moleküler bileşenlere sahip olduğu anlaşılmıştır, bu nedenle orijinal etilamonyum nitrat, etilamin ve nitrik asitten oluşur ve bu nedenle iyonik sıvıların tanımının, iyonik karakterin baskın olduğu sıvılar olduğu için DÖÇ’leri içerecek şekilde genişletildi (Wagle vd., 2014). Şekil 4.2, iki bileşenli bir karışımın tipik bir faz davranışını göstermektedir (Al-Murshedi, 2018).



Şekil 4.2. Ötektik bir noktayı gösteren iki bileşenli faz diyagramının şematik diyagramı.

4.1. DÖÇ TİPLERİ

Abbott ve arkadaşları 2007 yılında DÖÇ’leri kullanılan kompleks yapıcı maddenin doğasına bağlı olarak dört tipte sınıflandırmıştır. Çizelge 4.1 kullanılan genel formülü göstermektedir.

Tip 1 ötektikler, metal halürler MCl_x ’ten oluşur, burada M, Zn, Sn, Fe, Al ve Ga gibi bir metaldir ve kloroalüminat ve imidazolyum tuzları içerir. Bununla birlikte, bu tip, DÖÇ’lerin hazırlanmasında kullanılabilen sınırlı sayıda hidratlanmamış metal tuzu nedeniyle sınırlıdır. Genel olarak ötektik sıcaklık, metal halidin erime noktasına bağlıdır. Yukarıda listelenenler, yaygın olarak bulunan metallerin en düşük erime

noktalarına sahiptir.

Çizelge 4.1. Derin ötektik çözücü tipleri.

Tip 1	• Kuaterner amonyum tuzu + metal klorür
Tip 2	• Kuaterner amonyum tuzu + metal klorür hidrat
Tip 3	• Kuaterner amonyum tuzu + hidrojen bağı verici
Tip 4	• Metal klorür (hidrat) + hidrojen bağı verici

Tip 2 ötektikler, çeşitli hidratlanmış metal tuzlarından herhangi biri ile kolin klorürden hazırlanabilir ve bu, Tip 1 ötektikler için kullanılan fikrin sadece bir uzantısıdır. Metal hidrat tuzları, karşılık gelen susuz tuzdan önemli ölçüde daha düşük erime noktalarına sahiptir. Susuz CrCl_3 'ün erime noktası $1152\text{ }^\circ\text{C}$ olurken, $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'nun $83\text{ }^\circ\text{C}$ 'de erir (Al-Murshedi, 2018).

Tip 3 ötektikler muhtemelen çok yönlü oldukları için en yaygın olarak incelenmiştir. Çok sayıda alkol, amid ve karboksilik asit, tip 3 ötektikleri ayarlanabilir hale getirir. Basit şekerler ve sitrik asit veya askorbik asit gibi iyi huylu zayıf asitleri içerebilirler. Metal oksitler, amino asitler, polar organik moleküller ve yüzey aktif cisimleri dahil olmak üzere çok çeşitli bileşikler çözebilirler. Tip 3 DÖÇ'ler çok çeşitli hidrojen bağı vericileri ve kuaterner amonyum tuzlarından oluşturulabilir, bu da hazırlanmasını kolaylaştırır, çoğu düşük maliyetlidir ve çoğu biyolojik olarak parçalanabilir (Smith vd., 2014).

En son geliştirilen DÖÇ'ler tip 4 ötektiktir. Bunlar bir metal halid ve bir hidrojen bağı donörü kullanır. Bu formülasyonların alışılmadık yönü, metal tuzunun hem katyon hem de anyon içeren bir öğün vermek için orantısız olmasıdır. Örneğin;



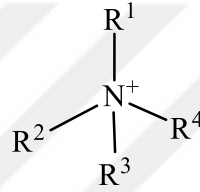
Bunlar metallerin elektrodpozisyonu için incelenmiştir (Ghosh ve Roy, 2014; Al-Murshedi, 2018)

4.2. DÖÇ BİLEŞENLERİ

Kuaterner amonyum tuzları, düşük maliyetli, çevre dostu doğası, düşük toksisitesi nedeniyle DÖÇ sentezinde yaygın olarak HBA'lar olarak kullanılır. Gliserol, üre ve karboksilik asitler gibi HBD'ler de benzer nedenlerden dolayı DÖÇ sentezinde çok popülerdir.

4.2.1. Hidrojen Bağ Alıcıları

Kuaterner amonyum tuzları DÖÇ sentezinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tuzlar, kuaterner amonyum katyonlarının tuzlarıdır. Kuaterner amonyum katyonunun genel yapısal formülü, Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



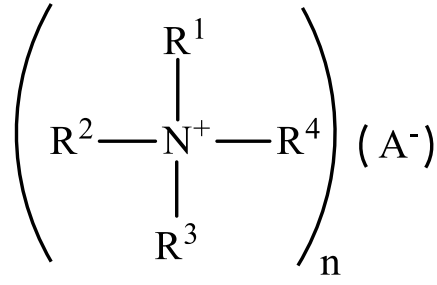
Şekil 4.3. Kuaterner amonyum katyonlarının yapısal formülü.

Organik dönüşüm reaksiyonlarında, kuaterner amonyum tuzları faz transfer katalizörleri olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tuzlar ucuz, toksik olmayan ve kimyasal olarak kararlıdır (Jones, 2001). Kuaterner amonyum tuzlarının genel yapısal formülü, Şekil 4.3'de gösterilmektedir; burada R₁, R₂, R₃ ve R₄, hidrojen atomları, aril grupları, alkil grupları veya bunların herhangi bir kombinasyonudur. Bu yapıda, farklı veya aynı gruplar olabilirler. Birbirlerine bağlanabilirler. (A⁻) bu yapıdaki herhangi bir anyon olabilir.

Aşağıda gösterilen Şekil 4.4 bazı kuaterner amonyum tuzlarının moleküler yapılarını göstermektedir. Tuz olarak adlandırılrsa da, bu bir yanlış dağılımdır, çünkü kuaterner amonyum tuzları asit bazlı reaksiyonlarla hazırlanamaz. Kuaterner amonyum tuzlarının çoğu suda çözünür.

4.2.2. Hidrojen Bağ vericileri

DÖÇ'leri sentezlemek için gerekli olan DÖÇ içinde hidrojen bağı etkileşimleri oluşturmak için, HBA uygun bir hidrojen bağı vericisi ile birleştirilmelidir. Bu durumda üre, gliserol, karboksilik asitler, aminler ve alkoller gibi ucuz bileşikler HBD olarak kullanılabilir (Arslanoğlu, 2019).



Şekil 4.4. Kuaterner amonyum tuzlarının yapısal formülü.

4.3. DÖÇ'LERİN ÖZELLİKLERİ

İyonik sıvılara benzer şekilde, DÖÇ'ler kimyasal olarak tolere edilebilir çözücülerdir, çünkü çeşitli kuaterner amonyum tuzlarının (örn. ChCl) farklı hidrojen bağ vericileri (HBD) ile uygun şekilde birleştirilmesiyle tasarlanabilirler. Dolayısıyla, donma noktası, viskozite, iletkenlik ve pH gibi farklı fizikokimyasal özelliklere sahip DÖÇ'ler hazırlanabilir. Gelecek vaat eden uygulamaları sayesinde, DÖÇ'lerin fizikokimyasal karakterizasyonu için birçok çalışma yapılmıştır.

4.3.1. Donma Noktası

Yukarıda belirtildiği gibi DÖÇ'ler, hidrojen bağları yoluyla kendiliğinden birleşerek yeni bir sıvı faz üretebilen iki katının karıştırılarak oluşturulur. Bu yeni faz genellikle tek tek bileşenlerinkinden daha düşük bir donma noktası ile karakterize edilir. Örneğin, kolinklorür ve üre 1: 2 mol oranında birlikte karıştırıldığında, ötektiğin donma noktası 12 °C'dir, bu da kolinklorür ve üreninkinden önemli ölçüde daha düşüktür (Kolinklorür ve ürenin erime noktaları sırasıyla 302 ve 133 °C).

Donma noktasının önemli ölçüde alçalması, halid anyonu ile hidrojen bağ verici bileşeni, burada üre arasındaki etkileşimden kaynaklanmaktadır. Bildirilen tüm DÖÇ'ler için donma noktaları 150 °C'nin altındadır. Genel olarak, donma noktası 50 °C'den düşük olan DÖÇ'ler, birçok alanda ucuz ve güvenli çözücüler olarak kullanılabilirler için daha caziptir.

4.3.2. Yoğunluk

Yoğunluk, bir çözücü için en önemli fiziksel özelliklerden biridir. Genel olarak DÖÇ'lerin yoğunlukları, özgül ağırlık ölçer ile belirlenir. DÖÇ'lerin çoğu sudan daha yüksek yoğunluklara sahiptir. Örneğin, tip IV ZnCl₂-HBD ötektik karışımların

yoğunlukları $1,3 \text{ g cm}^{-3}$ 'ten daha yüksektir. Bunlar arasında ZnCl_2 -üre (1:3,5) ve ZnCl_2 -asetamid (1:4) yoğunluğu farklıdır (sırasıyla $1,63$ ve $1,36 \text{ g cm}^{-3}$). Bu dikkate değer yoğunluk farkı, DÖÇ'ün farklı bir moleküler oluşumuna veya paketlenmesine bağlanabilir.

Her iki DÖÇ'ün yoğunluklarının saf HDB'lerden daha yüksektir (asetamid: $1,16$ ve üre: $1,32 \text{ g cm}^{-3}$). Bu olgu delik teorisi ile açıklanabilir. İmidazolyum esaslı iyonik sıvılara benzer şekilde DÖÇ'ler boş deliklerden oluşur. Örneğin ZnCl_2 , üre ile karıştırıldığında, ortalama delik yarıçapı azalır, bu da temiz üreninkine kıyasla DÖÇ yoğunluğunda hafif bir artışla sonuçlanır (Abbott vd., 2007). Sıcaklığın bir fonksiyonu olarak DÖÇ yoğunluklarının deneysel ölçümlerine ulaşmak bazen zordur. Bu nedenle, bu verileri maksimum doğrulukla sağlayabilen yeni yöntemlerin geliştirilmesine özel önem verilmiştir. Spencer ve Danner tarafından değiştirilen Rackett denklemi, DÖÇ'ün yoğunluğunu $\% \pm 1,9$ 'luk bir hata ile tahmin etmek için kullanıldı (Shahbaz vd., 2011).

4.3.3. Viskozite

İyonik sıvıların çoğu gibi DÖÇ'lerin viskozitesi de ele alınması gereken önemli bir konudur. ChCl -etilen glikol (EG) ötektik karışımı hariç, DÖÇ'lerin çoğu oda sıcaklığında nispeten yüksek viskoziteler ($> 100 \text{ cP}$) sergiler. DÖÇ'lerin yüksek viskozitesi genellikle her bileşen arasında geniş bir hidrojen bağı ağının varlığına atfedilir, bu da DÖÇ içinde serbest türlerin daha az hareketliliğiyle sonuçlanır.

Çoğu DÖÇ'ün geniş iyon büyüklüğü ve çok küçük boşluk hacmi, aynı zamanda elektrostatik veya van der Waals etkileşimleri gibi diğer kuvvetler de DÖÇ'ün yüksek viskozitesine katkıda bulunabilir. Yeşil ortam olarak potansiyel uygulamaları nedeniyle, düşük viskoziteli DÖÇ'lerin geliştirilmesi oldukça arzu edilir. Genel olarak, ötektik karışımların viskoziteleri esas olarak DÖÇ bileşenlerinin kimyasal yapısı (amonyum tuzlarının ve HBD'lerin tipi, organik tuz / HBD mol oranı, vb.), sıcaklık ve su içeriğinden etkilenir. Yukarıda tartışıldığı gibi, DÖÇ'ün viskozitesi de serbest hacme bağlıdır. Dolayısıyla, delik teorisi düşük viskoziteli DÖÇ'leri tasarlamak için de kullanılabilir. Örneğin, küçük katyonların veya florlu hidrojen bağı donörlerinin kullanılması düşük viskoziteli DÖÇ oluşumuna yol açabilir (Abbott vd., 2006).

İkili ötektik karışımların viskozitesi esasen hidrojen bağları, Van der Waals ve elektrostatik etkileşimler tarafından yönetilir. ChCl bazlı DÖÇ'lerin viskozitesinin HBD'nin doğasına yakından bağlı olduğu görülebilir. Örneğin, ChCl / EG (1: 4) DÖÇ

en düşük viskoziteyi gösterir (20 °C’de 19 cP). Bunun aksine, HBD’ler olarak türetilmiş şekerlerin (örn., ksilitol, sorbitol) veya karboksilik asitlerin (örn., malonik asit) HBD olarak kullanılması, daha sağlam bir 3D moleküller arası hidrojen bağı ağının varlığı nedeniyle DÖÇ’lerin yüksek viskoziteler sergilemesine yol açmıştır (ör. ChCl / sorbitol için 20 ° C’de 12730 cP).

4.3.4. Polarite

Genel olarak, bir çözücünün polaritesi, bir çözücü içindeki bir araştırma boyasının (örn. Reichardt’ın Boya 30) elektronik geçiş enerjisi olan polarite ölçeği E_T (30) ile değerlendirilebilir. UV-vis teknolojisi ve Reichardt’ın Boyası 30 kullanılarak E_T (30) Eşitlik 1’e göre hesaplanabilir.

$$E_T(30)(\text{kcal mol}^{-1}) = h_{\text{CU max}} N_A = (2,8591 \times 10^{-3}) U_{\text{max}}(\text{cm}^{-1}) = 28591 / \lambda_{\text{max}} \quad (4.2)$$

Çizelge 4.2’de, Reichardt’ın Boya yöntemini kullanan çeşitli ChCl–gliserol ötektik karışımlarının polarite verileri özetlenmiştir (Abbott vd., 2011). Bu sonuçlar, ChCl / gliserol DÖÇ’lerin, ayrı anyonlar taşıyan RNH_3^+X^- ve $\text{R}_2\text{NH}_2^+\text{X}^-$ iyonik sıvılarının benzer polarite sergilediğini göstermektedir (Popolo vd., 2006). Açıkça, ChCl / gliserol molar oranında bir artış E_T (30)’un artmasına neden olmaktadır. Ayrıca, ChCl konsantrasyonu ile kabaca doğrusal bir E_T (30) artışı gözlenmiştir (Abbott vd., 2004).

Çizelge 4.2. Çeşitli ChCl-gliserol karışımlarının polar çözücü parametreleri.

Çözücüler	Molar oran	E_T (30) kcal mol ⁻¹
Gliserol	-	57,17
ChCl:Gliserol	1:3	57,96
ChCl:Gliserol	1:2	58.28
ChCl:Gliserol	1:1,5	58.21
ChCl:Gliserol	1:1	58.49

4.3.5. İyonik İletkenlik

Nispeten yüksek viskoziteleri nedeniyle, DÖÇ’lerin çoğu zayıf iyonik iletkenlik gösterir (oda sıcaklığında 2 mS cm⁻¹’den düşük). Çizelge 4.3, farklı DÖÇ’lerin farklı sıcaklıklarda iyonik iletkenliklerini listelemektedir. DÖÇ viskozitesinin azalması nedeniyle sıcaklık arttıkça DÖÇ’lerin iletkenlikleri genellikle önemli ölçüde artar.

Dolayısıyla, Arrhenius benzeri bir denklem bir DÖÇ'ün iletkenlik davranışını tahmin etmek için de kullanılabilir.

Çizelge 4.3. Farklı sıcaklıklarda parça DÖÇ'lerin iyonik iletkenlikleri.

Tuz	HBD	Tuz: HBD (mol: mol)	İletkenlik (K, mS cm ⁻¹)
ChCl	Üre	1:2	0,199 (40 °C)
ChCl	Etilenglikol	1:2	7,61 (20 °C)
ChCl	Gliserol	1:2	1,05 (20 °C)
ChCl	1,4-Butandiol	1:3	1,64 (20 °C)
ChCl	ZnCl ₂	1:2	0,06 (42 °C)
ZnCl ₂	Üre	1 : 3,5	0,18 (42 °C)
ChCl	CF ₃ CONH ₂	1 : 2	0,286 (40 °C)
ChCl	İmidazol	3 : 7	12 (60 °C)
EtNH ₃ Cl	CF ₃ CONH ₂	1 : 1,5	0,39 (40 °C)
EtNH ₃ Cl	Asetamit	1 : 1,5	0,688 (40 °C)
EtNH ₃ Cl	Üre	1 : 1,5	0,348 (40 °C)

Organik tuz / HBD molar oranındaki değişikliklerin DÖÇ viskozitelerini önemli ölçüde etkilediği göz önüne alındığında, bu parametrenin DÖÇ'lerin iletkenliklerini de önemli ölçüde etkilediği açıktır. DÖÇ'ün iletkenliği, ChCl içeriğinin artırılmasıyla artar (Abbott vd., 2007).

4.3.6. Asitlik veya Alkalinite

Hammett fonksiyonu, bir sistemdeki göstergelerin iyonlaşma oranını belirleyerek susuz çözücülerin asitliğini ve bazikliğini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Temel bir çözüm için Hammett fonksiyonu, çözeltinin protonları yakalama eğilimini ölçer. Zayıf asitler gösterge olarak seçildiğinde, Hammett fonksiyonu aşağıdaki denklemle tanımlanır.

$$H_- = pK (HI) + \log ([I^-] / [HI]) \quad (4.3)$$

Burada pK (HI), sudaki göstergenin termodinamik iyonizasyon sabiti, [I⁻] ve [HI], sırasıyla göstergenin anyonik ve nötr formlarının molar konsantrasyonlarını temsil eder. Yüksek H₋ değerine sahip bir ortam güçlü bir bazikliğe sahiptir (Zhang vd., 2012).

4.4. DÖÇ'LERİN POTANSİYEL AVANTAJLARI

Yeşil kimyaya artan ilgi ve farkındalık ve toplumda aşırı çevre duyarlılığı, son yıllarda yeşil proses kimyasallarını vurgulayan nedenlerden biridir. Bu nedenle, yeşil kimyada iyonik sıvıların üretimi ve uygulamaları gibi temiz süreçler üzerine gelişmiş bir algı oluşmaya başlamıştır.

İyonik sıvı oluşturunca tuzlar genellikle $\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de (oda sıcaklığı) düşük erime noktaları gösterir. İyonik sıvılar oluşturan kötü koordine edilmiş iyonlar, matriste delokalize edilmiş yükler içerir. Bu yapıda, bir bileşen organik bulunur. Yapı, organik kısmın, daha düşük erime noktalarına sahip olabilen stabil bir kristal kafes oluşturmalarını önler (Organic Chemistry Portal n.d. 2020).

Birkaç önemli avantajdan biri DÖÇ'lerin doğal ikili veya üçlü doğasıdır. Bu yapı çok kolay bir şekilde uyarlanabilir. HBA ve HBD seçimi kesinlikle DÖÇ'ün fiziksel özelliklerini etkiler. Bu nedenle, amaca yönelik HBA'ları ve HBD'leri seçerek DÖÇ özelliklerini manipüle etmek nispeten daha kolaydır. Ayrıca HBA: HBD oranının DÖÇ'ün fiziksel özellikleri üzerinde güçlü bir etkisi vardır. HBA: HBD oranlarını dikkatlice ayarlayarak, sonuçta ortaya çıkan DÖÇ'lerin fiziksel özelliklerini uygulama alanına göre ayarlamak mümkündür. Fiziksel özelliklerin değiştirilmesinin bir başka yolu, üçlü DÖÇ'leri üretmek için ikili DÖÇ'e ilave bir HBD sunmaktır (Arslanoğlu, 2019).

5. MATERYAL VE YÖNTEM

5.1. KULLANILAN CİHAZLAR

Sudan boyalarının analizi için G1329A model otomatik örnekleyici, G1316A model kolon fırını, G1314B model UV detektörü, G1311A model kuaterner pompa ve G1322A model degazer ile donatılmış bir Agilent Technologies marka (Agilent Technologies, ABD) 1200 Serisi model Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) kullanıldı. Cihaz kontrolü ve veri analizi için Agilent ChemStation yazılımı v.B.04.02 kullanıldı. Kromatografik ayırma çalışmalarında 4,6 mm iç çap, 250 mm uzunluk ve 5 µm partikül boyutuna (MacMod, Chadds Ford, PA, ABD) sahip bir ACE-C18 model C18 kolonu kullanıldı.

Numune hazırlama aşamasında termostatlı karıştırıcısı (IKA C-MAG HS-7, Staufen, Almanya) Sudan boylarının ekstraksiyonunda faz ayrımı için sıcaklık kontrolü ile 35 kHz ve 320 W Bandelin Sonorex marka ultrasonik su banyosu (Rangendingen, Almanya) ve Nüve marka NF 200 model santrifüj (Nüve, Ankara, Türkiye) kullanıldı.

Sentezlenen DÖÇ'lerin, kumarin ve timolun fonksiyonel gruplarını tanımlamak için ATR tekniğine sahip PerkinElmer marka Frontier Optica model Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (Shelton, CT, ABD) FTIR spektrumları alırken kullanıldı.

5.2. KULLANILAN KİMYASALLAR

Tüm reaktifler, analitik dereceden dolayı daha fazla saflaştırma yapılmadan kullanıldı. Kumarin kristalli ve timol (~%98,5) Sigma Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) satın alınmıştır. Metanol (%99,7) ve asetik asit, Isolab'dan (Wertheim, Almanya) elde edildi. Deiyonize su üretmek için Millipore Milli-Q (Millipore, Billerica, MA, ABD) saflaştırma sistemi kullanılmıştır.

Sudan boyaları (I, II, III ve IV) standartları Sigma Aldrich'ten temin edildi. Sudan boyalarının 200 µg mL⁻¹ konsantrasyonunda stok çözeltileri metanol içinde hazırlandı. Çalışma çözeltileri, stok çözeltisinden Sudan I-IV boyaları seyreltilerek hazırlandı ve metanol içinde hepsi bir arada bir çözelti oluşturuldu.

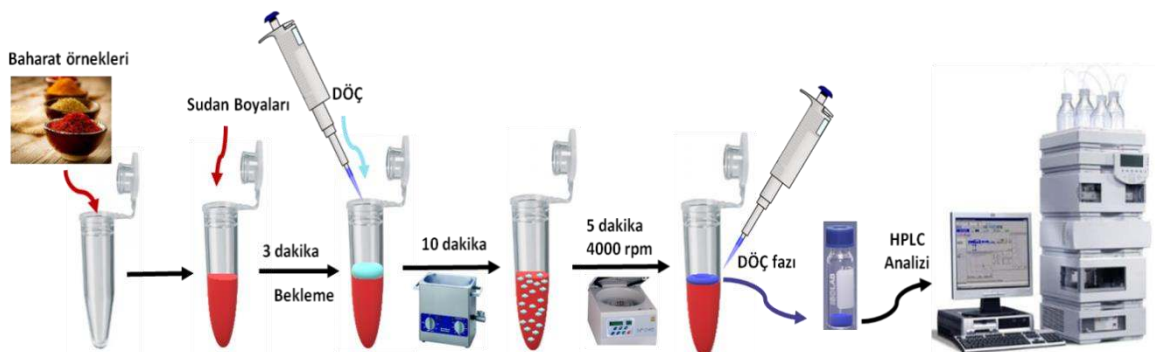
Çalışmada Düzce ve Diyarbakır'da ticari markalardan farklı marka baharat örnekleri satın alınmıştır. Baharat olarak biber, kırmızıbiber, kimyon ve sumak seçildi. Diyarbakır'dan getirilen sumak baharatı Sudan boyası içermediğinden, bu baharat optimizasyon ve validasyon çalışmaları için kullanıldı. Baharat örnekleri belirlenen optimizasyon koşulları altında analiz edilmiştir. Daha sonra bu analiz edilen örneklerle farklı konsantrasyonlarda (10 ve 50 $\mu\text{g g}^{-1}$) Sudan I-IV boya standartları ilave edildi ve mikro ekstraksiyon prosedürü ile tayin edildi.

5.3. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN HAZIRLANMASI

Derin ötektik çözücü hidrojen bağı verici olarak farklı mol oranlarında timolün ve hidrojen bağı alıcısı olarak farklı mol oranlarında kumarinin bir tüp içerisinde karıştırılmasıyla hazırlandı. Hazırlanan karışımlar, homojen, renksiz bir sıvı oluşana kadar 80 °C'de karıştırıldı ve DÖÇ soğutulduktan sonra oda sıcaklığında karanlık ortamda saklandı.

5.4. ULTRASONİK DESTEKLİ KATI-SIVI MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMİ

Eppendorf tüpüne 0,1 gram baharat örneği konuldu. Tüpe belli bir konsantrasyonda Sudan boyası ilave edildi ve 2-3 dakika beklendi. Daha sonra 200 μL DÖÇ ilave edildi. Elde edilen karışımın ultrasonik banyoda 10 dakika ekstraksiyonu tamamlaması sağlandı. Karışım 5 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüjlendi ve fazın ayrıldığı gözlemlendi. Üst faz olan DÖÇ fazı, cam bir şırınga ile tüpten alındı. Bu çözelti, baharatlardaki Sudan boyaalarının saptanması için HPLC'ye enjekte edildi. Önerilen yöntemin temsili şekli Şekil 5.1'de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. Önerilen yöntemin temsili şekli.

5.5. HPLC CİHAZININ ANALİZ ŞARTLARI

Sudan boylarının HPLC-UV analizleri bir ultraviyole detektörü (UV) ile 1,0 mL dk⁻¹ akış hızında %92 metanol (solvent A) ve %8 saf su (%8 asetik asit) (solvent B) içeren mobil faz ile gerçekleştirildi. Sudan boylarının pik alanları, 506 nm’de bir UV dalga boyu ile kaydedildi. Enjekte edilen numune hacmi 20 µL ve kolon sıcaklığı 30 °C olarak ayarlandı.

Mobil fazın gradyan akışı aşağıdaki şekildedir:

0 dakika, %92 A;

10 dakika, %92 A;

30 dakika, %100 A;

35 dakika, %92 A.

5.6. OPTİMİZASYON PARAMETRELERİ

DÖÇ hacmi, DÖÇ oranı, ultrasonik banyo süresi ve sıcaklığı, santrifüj süresi ve numune miktarı dahil olmak üzere, geliştirilen yöntem üzerine ekstraksiyon geri kazanımını etkileyen çeşitli parametreler araştırıldı. Daha sonra, belirlenen optimum parametrelere dayanarak, gerçek numunelerdeki Sudan boylarının konsantrasyonu belirlendi. Tüm deneyler üç kez yapıldı ve elde edilen sonuçların ortalaması alındı.

6. BULGULAR VE TARTIŞMA

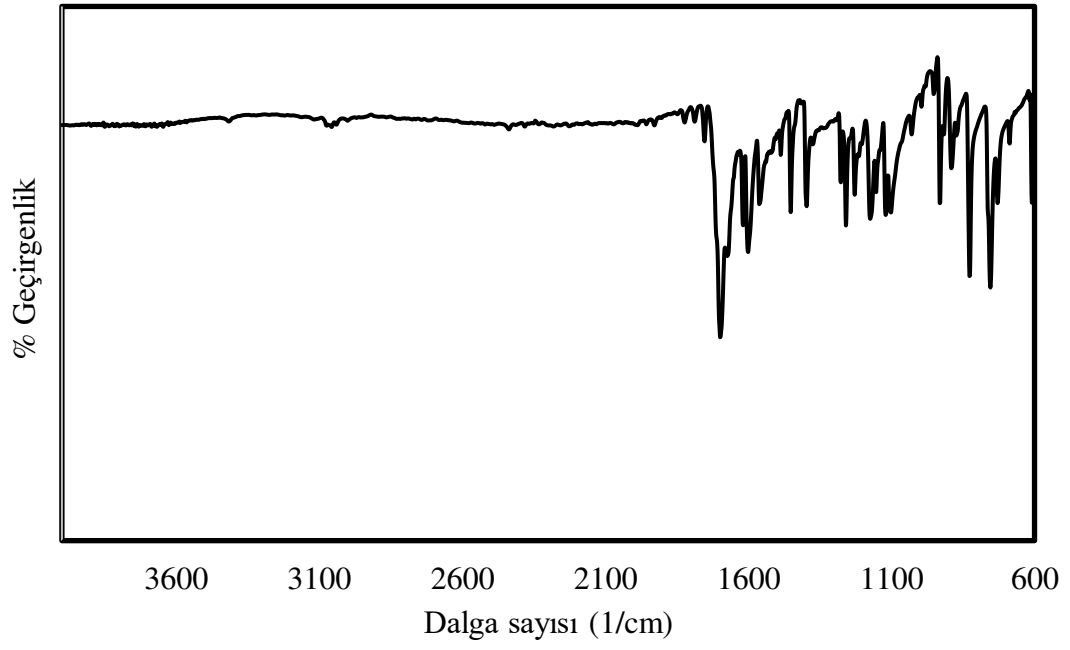
6.1. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN KARAKTERİZASYONU

DÖÇ oluşumunda iki bileşen arasındaki değişiklikleri ve etkileşimleri açıklamak için FT-IR spektrumları kaydedildi. Kumarin, timol ve sentezlenmiş DÖÇ'ün yapısındaki birçok kimyasal grubun varlığını gösteren FT-IR spektrumlarının karşılaştırılması verilmiştir.

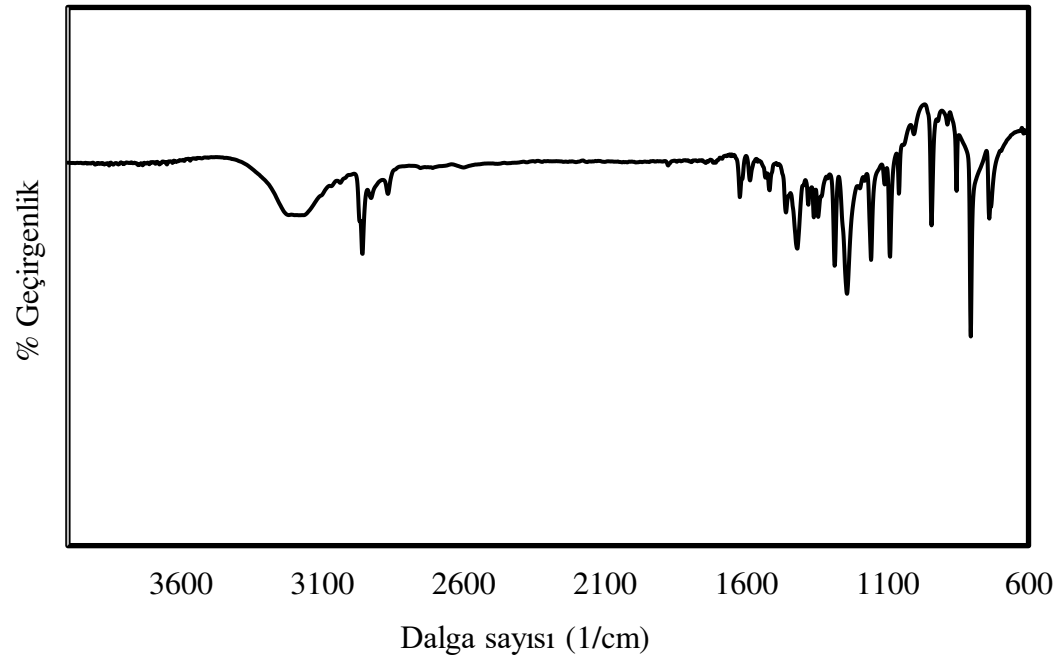
Kumarinin spektrumu Şekil 6.1 incelendiğinde yapısında 3412 cm^{-1} 'de C-H aromatik piki, $1697,4$ ve $1600,9\text{ cm}^{-1}$ 'de C=O bantları, 1174 cm^{-1} 'de C=C çoklu bantları, 1101 cm^{-1} 'de C-H düzlem içi eğilmeleri ve 854 ve 754 cm^{-1} 'de C-H düzlem dışı eğilme piklerinin varlığı görülmektedir.

Timolün spektrumuna Şekil 6. 'ye bakıldığında 3186 cm^{-1} 'de O-H gerilme piki, $2956,9$ ve $2866,2\text{ cm}^{-1}$ 'de C-H aromatik pikleri, $1622,1$ ve $1417,7\text{ cm}^{-1}$ 'de C-H alifatik pikleri, $1242,2\text{ cm}^{-1}$ 'de C=C bağları, $1089,8\text{ cm}^{-1}$ 'de C-O gerilme piki ve 943 cm^{-1} 'de C-H düzlem içi eğilme piki ve $804,2$ ve $734,5\text{ cm}^{-1}$ 'de C-H düzlem dışı gerilme titreşim pikleri görülmektedir.

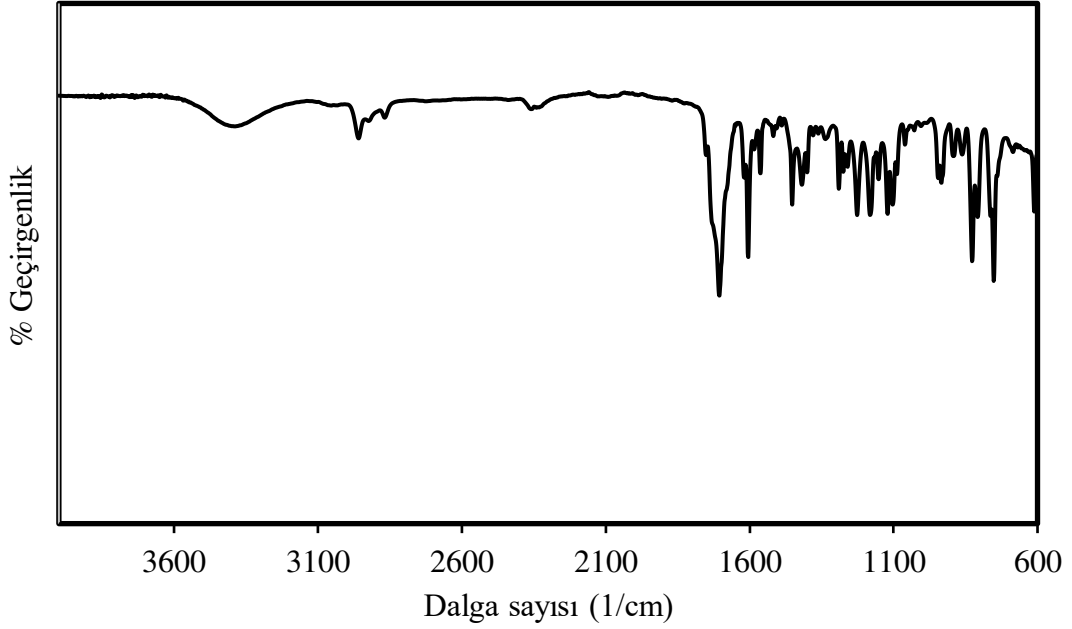
Sentezlenen DÖÇ'ün FT-IR spektrumu Şekil 6.3 incelendiğinde, timol içindeki OH bandının $3186,4\text{ cm}^{-1}$ 'den $3379,4\text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı görülmektedir. DÖÇ'ün FT-IR spektrumu incelendiğinde, aromatik bağların (C=C, C-H) varlığı, DÖÇ'ü oluşturan timol ve kumarinin yapısındaki aromatik halkalardan meydana gelmektedir. Bunlara ek olarak, DÖÇ spektrumunda, karbonil grubunun daha yüksek dalga boyu germe titreşimine karşılık gelen bant $1697,4\text{ cm}^{-1}$ 'den $1705,1\text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı ortaya çıkmaktadır. Bu, COOH grubunun yakınında yeni hidrojen bağlarının oluşumunu göstermektedir. Bu spektrum sonuçları DÖÇ'ün kumarin ve timolden hazırlandığını açıkça göstermektedir (Sricharoen vd., 2019; Iammarino vd. 2019; Makoş vd., 2018).



Şekil 6.1. Kumarinin FTIR spektrumu.



Şekil 6.2. Timolün FTIR spektrumu.



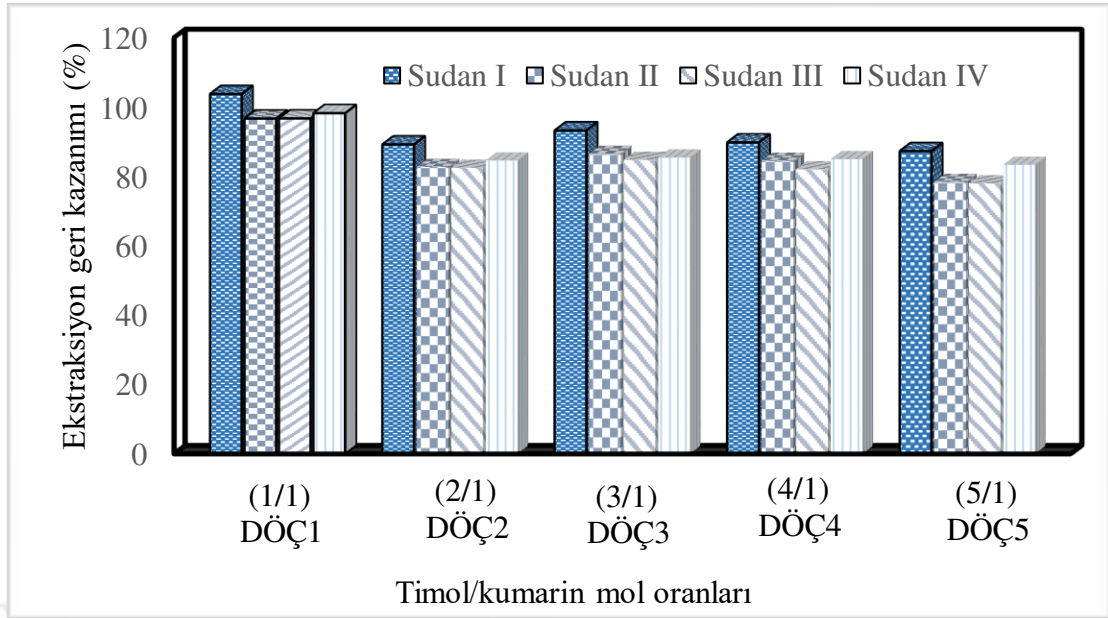
Şekil 6.3. DÖÇ'ün FTIR spektrumu.

6.2. SENTEZLENEN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN BİLEŞİMİ

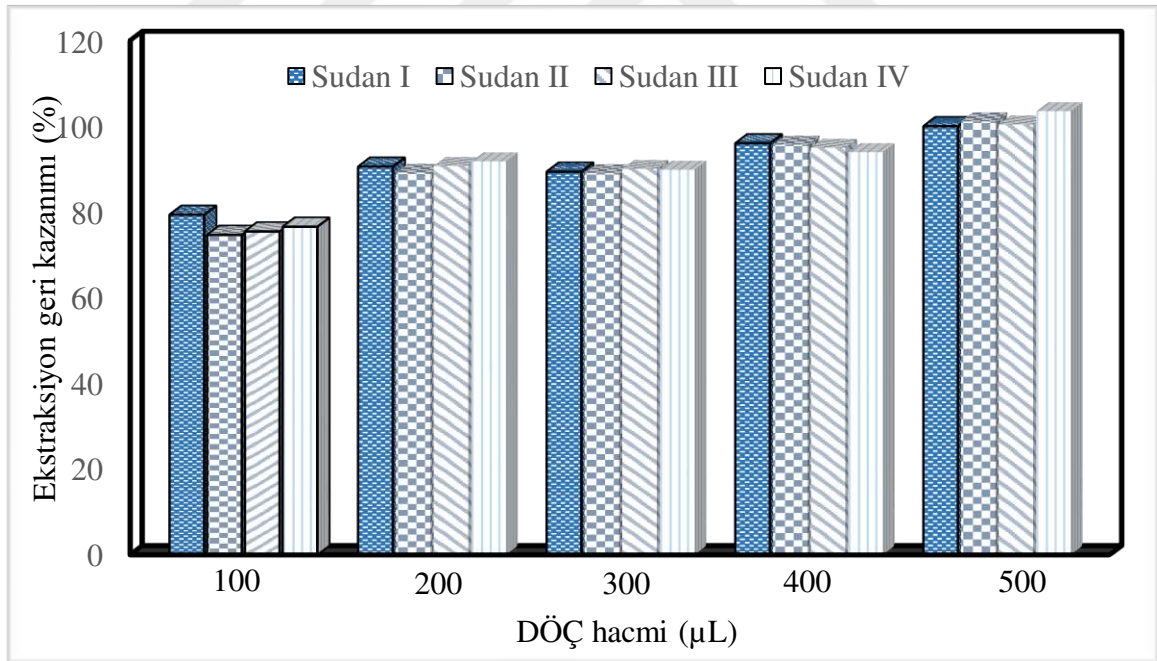
Farklı mol oranlarında timol ve kumarin kullanılarak en uygun ekstraksiyon çözücüsünü belirlemek için farklı DÖÇ tipleri test edildi. En uygun DÖÇ'ü bulabilmek için timol ve kumarinin mol oranları 1:1'den 5:1'e değiştirilerek araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 6.4'de verilmiştir. Sonuçlar, timol-kumarin mol oranının 1:1'den 5:1'e arttırılmasıyla ekstraksiyonun geri kazanımının azaldığını ve kantitatif geri kazanımların 1:1 mol oranında maksimum seviyede olduğunu göstermiştir. Bu nedenle DÖÇ1 kodlu DÖÇ (1:1), bu çalışmada kullanılacak en uygun DÖÇ olarak seçilmiştir.

6.3. DÖÇ HACMİNİN ETKİSİ

Timol ve kumarinin 1:1 olarak kullanılarak hazırlanan DÖÇ'ün en uygun DÖÇ olduğuna karar verdikten sonra ikinci en önemli parametre olan DÖÇ hacminin etkisi araştırıldı. Şekil 6.5'de DÖÇ1 hacmi 100 µL'den 500 µL'ye arttırıldığında Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımlarının %31'den %100'e yükseldiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, 200 µL DÖÇ1 kullanıldığında, kantitatif geri kazanım elde edilmiştir, bu nedenle çalışma için en uygun DÖÇ hacmi 200 µL olarak seçilmiştir.



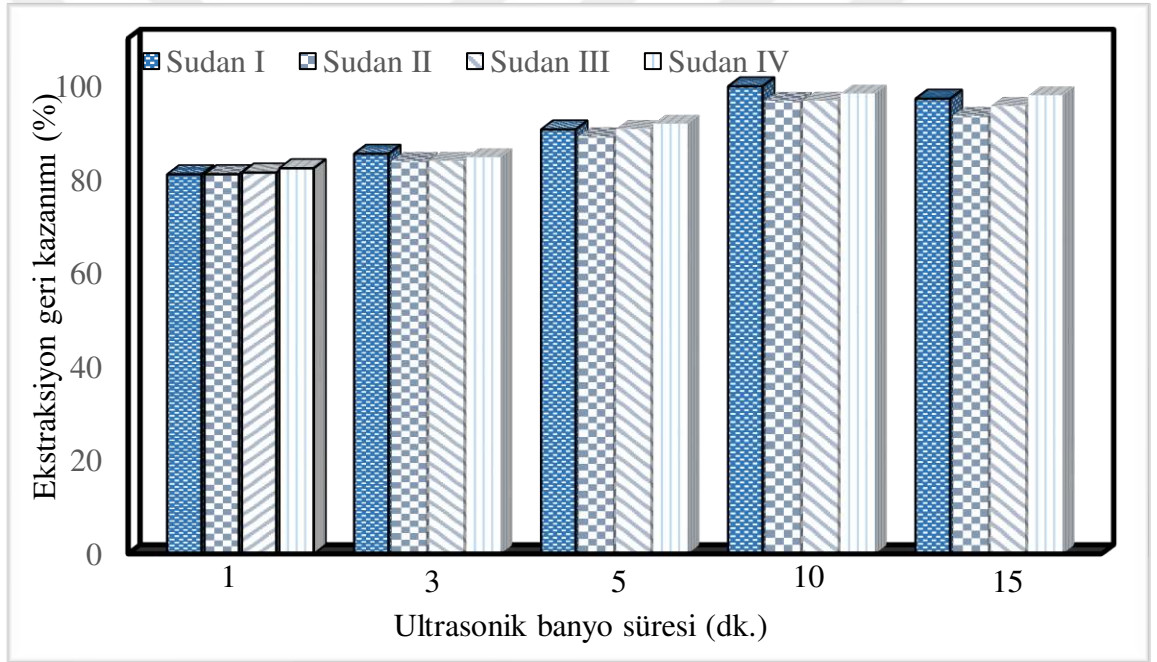
Şekil 6.4. DÖÇ bileşiminin Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.



Şekil 6.5. DÖÇ hacminin Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.

6.4. ULTRASONİK BANYO SÜRESİ VE ULTRASONİK BANYO SICAKLIĞININ ETKİSİ

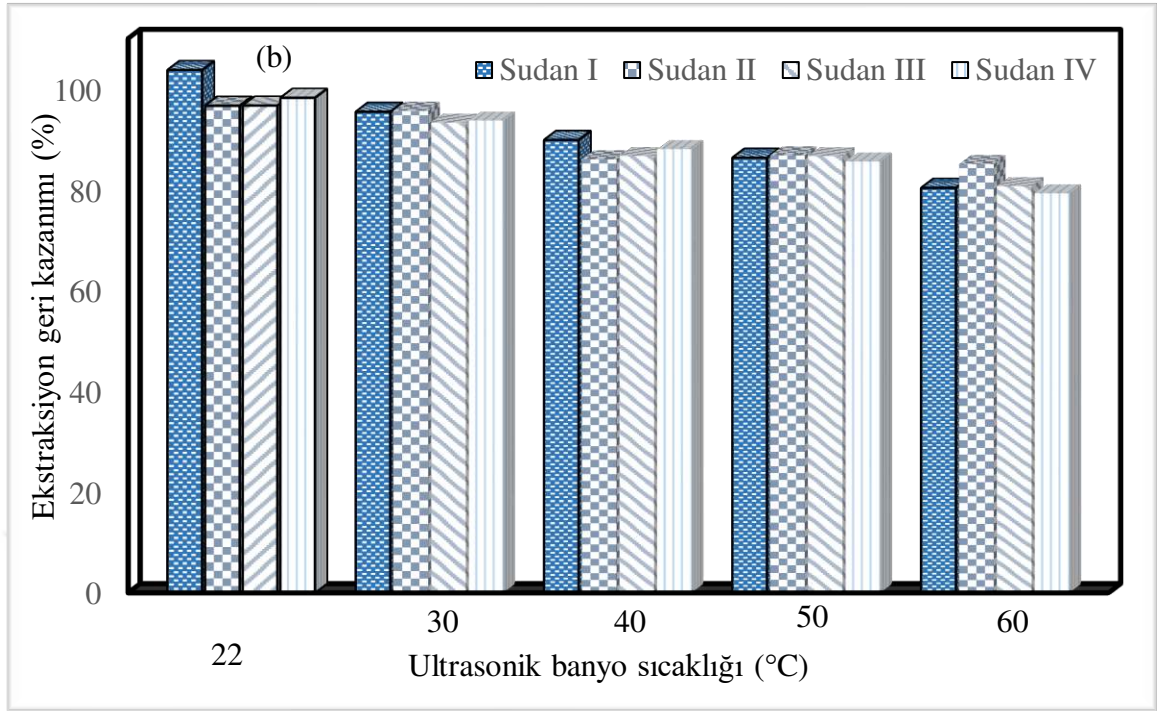
Bu ekstraksiyon çalışmalarında numunede analiz edilecek maddenin kütle transferini sağlamak ve emülsifikasyon elde etmek için ultrasonik işlem kullanılmıştır. Ultrasonik prosedürünün etkisini belirlemek için 1 ila 15 dakika arasındaki ultrasonikasyon süreleri test edilmiştir. Sonuçlar Şekil 6.6’da sunulmaktadır. Sonuçlar, ultrasonikasyon süresi 10 dakika olduğunda, kullanılan çözeltinin ve DÖÇ’ün birbiri içinde tamamen dağıldığını göstermiştir. Bu nedenle, optimum ultrasonik banyo süresi olarak 10 dakika seçildi ve çalışmanın geri kalan kısımlarında kullanılmıştır.



Şekil 6.6. Ultrasonik banyo süresinin Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.

22 °C ila 60 °C arasında değişen ultrasonik banyo sıcaklıkları, Sudan I-IV boyalarının, oda sıcaklığının mikro ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisini araştırmak için incelenmiştir. Şekil 6.’de sonuçlar, Sudan I-IV boyalarının ekstraksiyon geri kazanımında sıcaklık arttığında ekstraksiyon geri kazanımının azaldığını göstermiştir. Sıcaklık yükseldiğinde, çözünür organik maddenin daha büyük bir kısmı da çıkarılır ve bu da daha yüksek bir matris etkisine yol açar. Ek olarak, yüksek sıcaklık nedeniyle desolvasyonun artması muhtemeldir (Sricharoen vd., 2019). Bu nedenle, oda sıcaklığı

olan 22 °C'lik optimum sıcaklık ultrasonik banyo sıcaklığında belirlenmiştir.



Şekil 6.7. Ultrasonik banyo sıcaklığının Sudan boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.

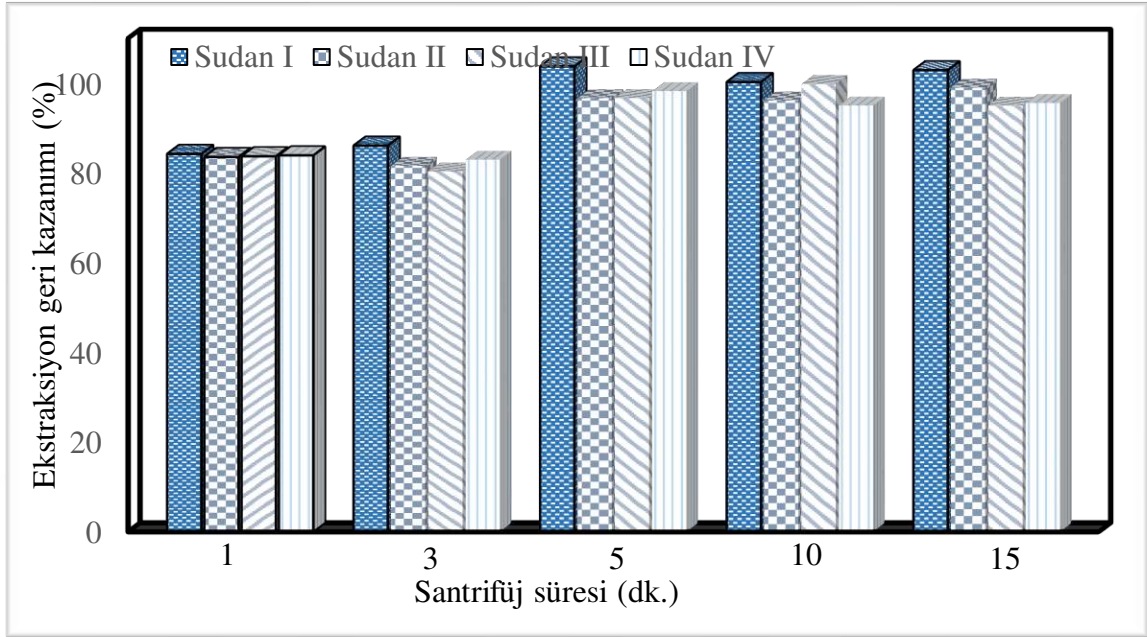
6.5. SANTRİFÜJ SÜRESİNİN ETKİSİ

Santrifüj süresi, Sudan I-IV boyalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi için 4000 rpm'de 1 ila 15 dakika aralığında araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 6.8'de gösterilmektedir. Sudan I-IV boyalarının kantitatif ekstraksiyon geri kazanımları 5 dakika içinde belirlendi ve çalışmanın geri kalanı için santrifüj süresi için en uygun zaman olarak 5 dakika seçildi.

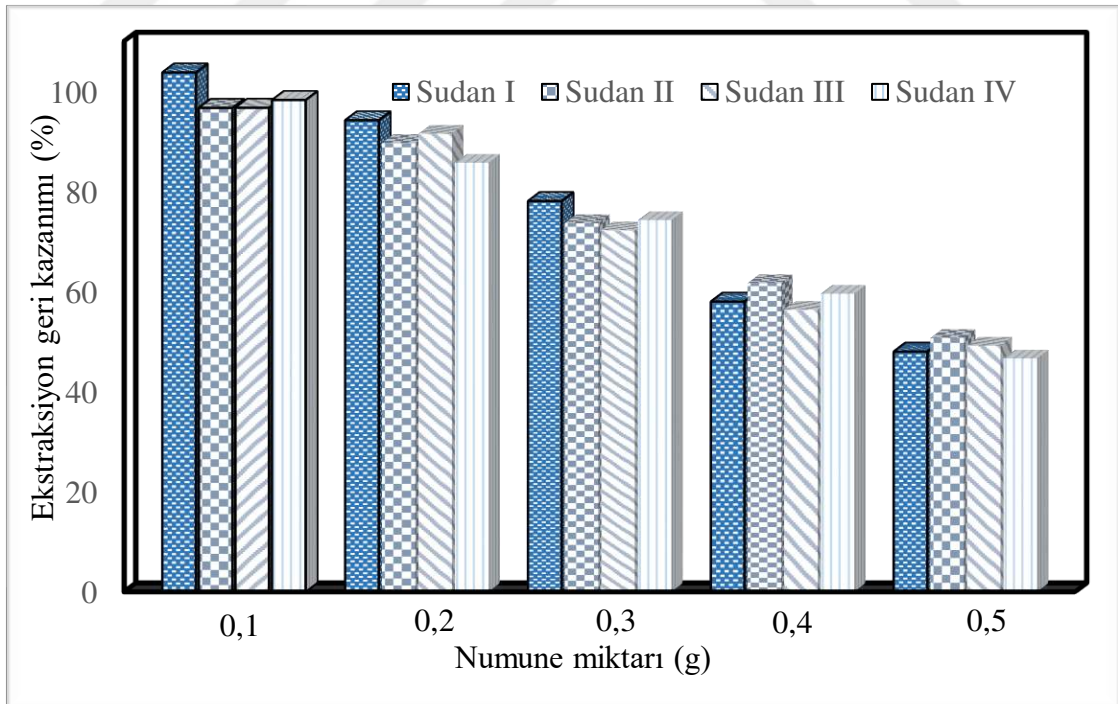
6.6. NUMUNE MİKTARININ ETKİSİ

Önerilen mikroekstraksiyon yönteminde numune miktarları 0,1 g ila 0,5 g arasında değişen miktarlarda test edilmiştir. Çalışmada kullanılan numune miktarı 0,1 g'dan 0,2 g'a çıkarıldığında, ekstraksiyon geri kazanımında hafif bir azalma olmuştur. Daha büyük miktarlarda numune (0,3-0,5 g) kullanıldığında, DÖÇ'ün artan numune hacmi ile yetersiz çözünürlüğü nedeniyle Sudan boyalarının ekstraksiyon etkinliği azalmıştır. Ekstraksiyon geri kazanımlarına karşı numune miktarı Şekil 6.9'da verilmiştir. Bu

nedenle, geliştirilen bu mikroekstraksiyon yönteminde 0,1 g baharat örneği kullanılmıştır.



Şekil 6.8. Santrifüj süresinin Sudan boyaalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.



Şekil 6.9. Numune miktarının Sudan boyaalarının ekstraksiyon geri kazanımı üzerindeki etkisi.

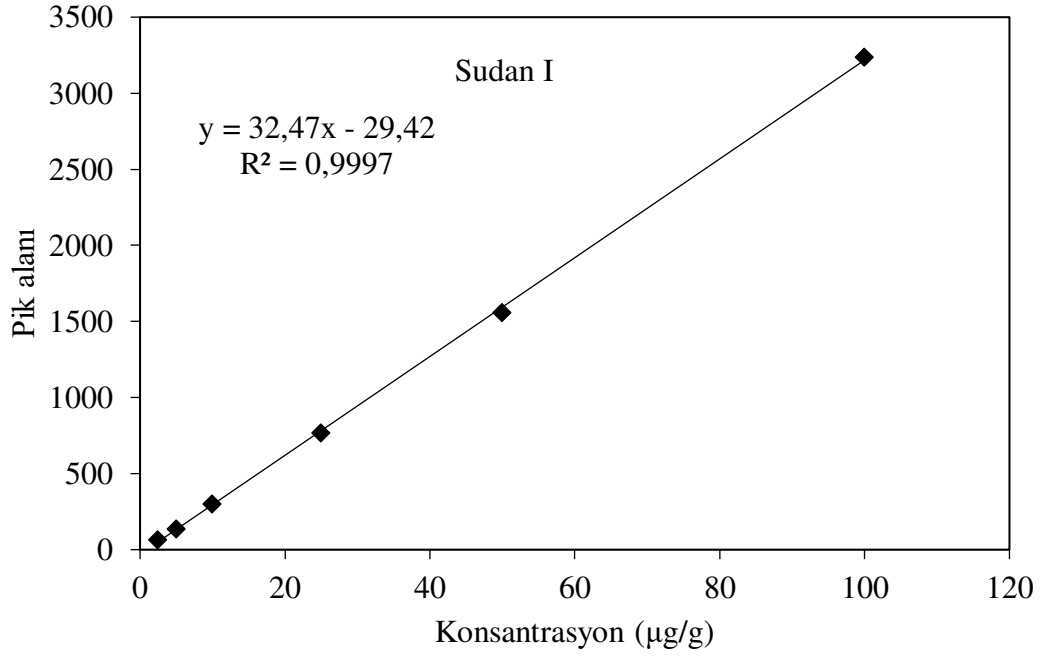
6.7. GELİŞTİRİLEN YÖNTEMİN ANALİTİK PERFORMANSI

Geliştirilen yöntem, Sudan I-IV boyalarının analizi için kumarin ve timolden oluşan DÖÇ kullanılarak doğrulandı. Analitik parametre değerleri Çizelge 6.1’de özetlenmiştir. Optimal koşullar altında Sudan I-IV boyaları için 2,5-100 $\mu\text{g g}^{-1}$ konsantrasyon aralıklarında kalibrasyon eğrileri oluşturuldu. Sudan I-IV boyalarının kalibrasyon eğrileri yardımıyla dedeksiyon limiti (LOD), tayin limiti (LOQ), regresyon denklemi, korelasyon katsayısı ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri hesaplandı. Geliştirilen analitik yöntem için, LOD ve LOQ sırasıyla 3s/m ve 10s/m kullanılarak hesaplandı; burada s, on bir blank çözeltinin standart sapmasını ve m ise kalibrasyon eğrisini temsil eder. Yöntemin doğruluğunu ve kesinliğini belirlemek için, beş paralel örnek içerisine 10 $\mu\text{g g}^{-1}$ konsantrasyonunda Sudan I-IV boyaları eklendi ve bu örnekler geliştirilen yöntemle incelendi. RSD değerleri %2,54-3,17 aralığında bulundu. Bu değerler önerilen yöntemin kesinliğini göstermektedir.

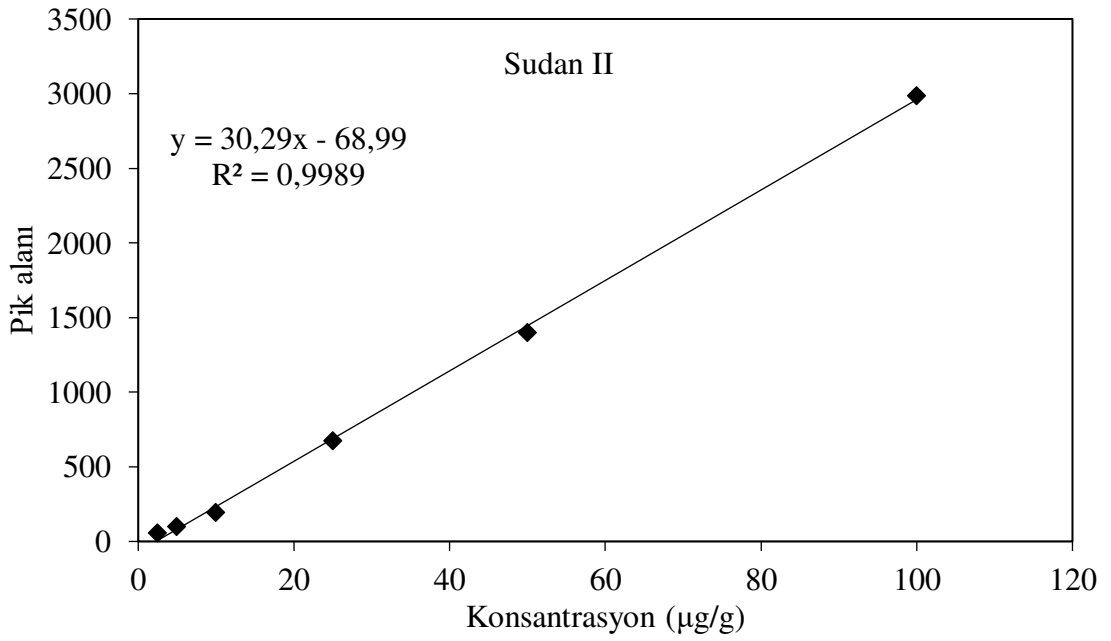
Çizelge 6.1. Sudan boyaları için DÖÇ esaslı geliştirilen mikroekstraksiyon yönteminin analitik performansı.

Analit	Doğrusal aralık ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Gözlenebilme limiti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Tayin limiti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Bağıl Standart sapma (%) 10 $\mu\text{g g}^{-1}$
Sudan I	2,5-100	0,35	1,17	2,54
Sudan II		0,25	0,84	2,65
Sudan III		0,34	1,13	2,79
Sudan IV		0,27	0,91	3,17

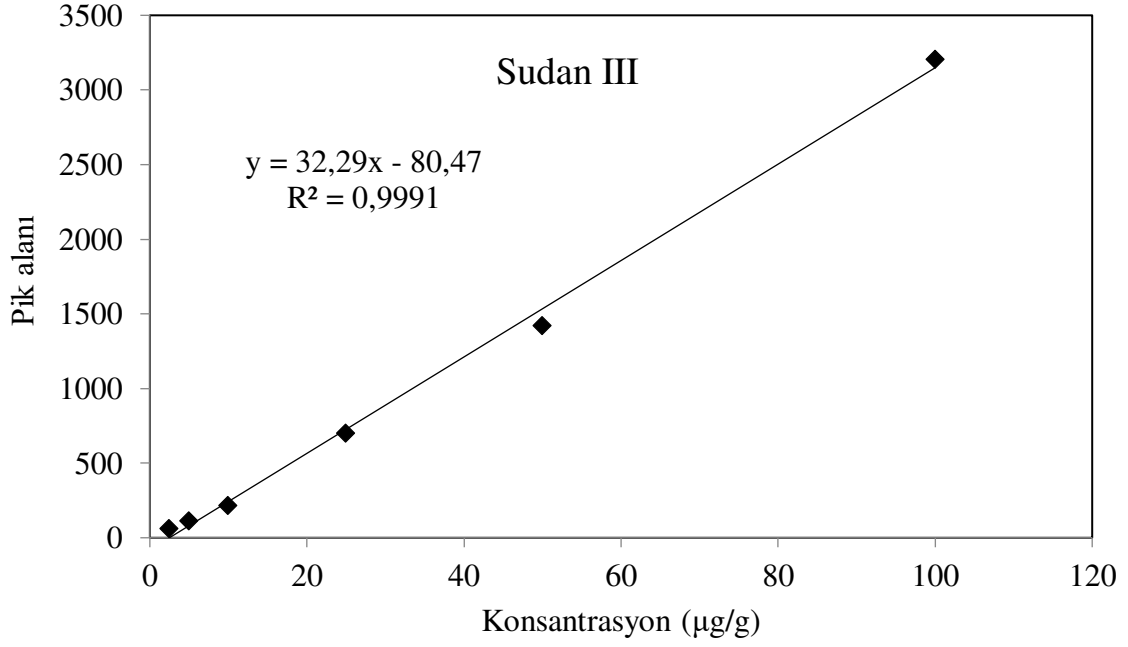
Sudan boyaları için DÖÇ esaslı geliştirilen mikroekstraksiyon yönteminde konsantrasyonlara karşı elde edilen pik alanı değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Sudan (I-IV) boyaları için elde edilen kalibrasyon grafikleri, kalibrasyon eşitlikleri ve korelasyon katsayıları (R^2) Şekil 6.13’de verilmiştir. Şekil 6.13 incelendiğinde Sudan boyaları için korelasyon katsayılarının 0,9989 ile 0,9999 arasında değiştiği ve iyi bir doğrusallık elde edildiği görülmüştür.



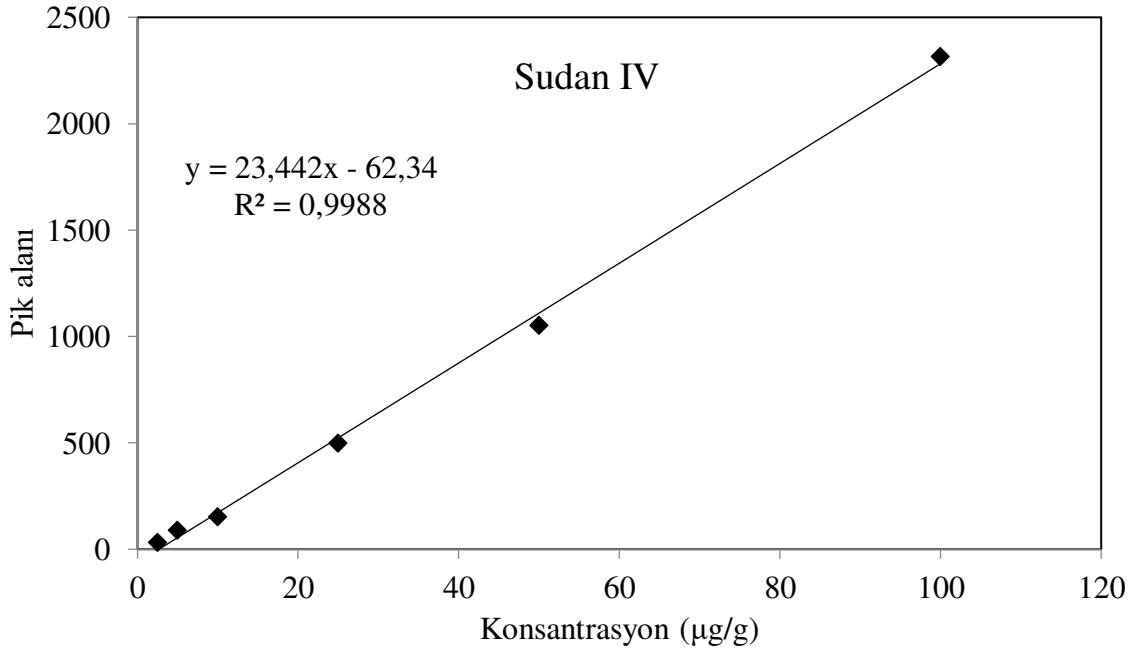
Şekil 6.10. Sudan I boyasının kalibrasyon grafiği.



Şekil 6.11. Sudan II boyasının kalibrasyon grafiği.



Şekil 6.12. Sudan III boyasının kalibrasyon grafiği.



Şekil 6.13. Sudan IV boyasının kalibrasyon grafiği.

6.8. GERÇEK ÖRNEKLERİN ANALİZİ

Çeşitli gerçek numuneler (Kırmızı acı biber, kırmızı biber, kimyon ve sumak) optimum koşullar altında analiz edildi. 8 farklı baharat örneği aktar ve market gibi farklı

firmalardan satın alındı. Numuneler, yöntemin doğruluğunu göstermek için herhangi bir ilave olmadan doğrudan geliştirilen yöntem kullanılarak işlenmiştir. Daha sonra baharat örnekleri, 10 ve 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ konsantrasyonlarında Sudan boyaları ile karıştırıldı ve optimize edilmiş bir ekstraksiyon prosedürüne tabi tutuldu. Çizelge 6.2’de ki sonuçlara göre, elde edilen geri kazanım değerleri kabul edilebilir olduğundan, geliştirilen yöntem baharat numunelerinde Sudan boyalarının ekstraksiyonu ve tayini için başarıyla uygulanabilir olduğu görülmüştür.

Çizelge 6.2. Geliştirilmiş mikroekstraksiyon yönteminin gerçek örneklere uygulanması (N=3).

Baharatlar	Eklenen ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Sudan I		Sudan II		Sudan III		Sudan IV	
		Bulunan ($\mu\text{g g}^{-1}$)	%R	Bulunan ($\mu\text{g g}^{-1}$)	%R	Bulunan ($\mu\text{g g}^{-1}$)	%R	Bulunan ($\mu\text{g g}^{-1}$)	%R
Acı Biber Marka 1	0	4,19	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
	10	13,34	91,44	9,44	94,36	9,06	90,59	9,19	91,86
	50	53,20	98,02	47,40	94,80	47,78	95,56	47,09	94,18
Acı Biber Marka 2	0	4,90	-	<LOD	-	<LOD	-	9,38	-
	10	14,12	92,21	8,84	88,38	9,07	90,70	18,06	86,06
	50	50,13	90,47	45,36	90,72	46,76	93,52	53,21	87,85
Kırmızı Biber Marka 1	0	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
	10	9,63	96,26	8,96	89,59	9,18	89,27	9,89	98,96
	50	48,68	97,36	46,00	92,01	45,87	91,75	49,64	99,29
Kırmızı Biber Marka 2	0	10,70	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
	10	19,65	89,46	9,07	90,69	9,18	91,84	9,08	90,84
	50	57,33	93,26	45,78	91,57	46,81	93,62	45,44	90,88
Kimyon Marka 1	0	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
	10	9,09	90,93	9,35	93,46	9,10	90,96	9,44	94,38
	50	47,27	94,54	45,58	91,17	47,77	95,54	46,48	92,96
Kimyon Marka 2	0	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
	10	8,69	86,96	9,24	92,38	9,39	93,95	8,55	85,55
	50	45,53	91,06	45,30	90,59	45,74	91,49	44,72	89,44
Sumak Marka 1	0	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
	10	9,61	96,12	9,17	91,67	9,18	91,84	9,41	94,12
	50	46,49	92,94	47,09	94,17	47,19	94,37	45,30	90,60
Sumak Marka 2	0	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
	10	9,02	90,19	9,64	96,37	9,64	96,38	9,40	93,99
	50	46,42	92,84	47,37	94,74	46,41	92,82	47,03	94,07

(<LOD: Belirleme limitinin altında)

6.9. GELİŞTİRİLEN YÖNTEMİN DİĞER YÖNTEMLERLE KARŞILAŞTIRILMASI

Önerilen ekstraksiyon yönteminin performansı, Sudan boyalarının ekstraksiyonu ve tayini için önceki literatür sonuçlarıyla karşılaştırıldı. Sonuçlar Çizelge 6.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 6.3. Sudan I-IV boyaları için önerilen yöntemin literatürdeki diğer yöntemlerle karşılaştırılması.

Metot	Numune	Analit	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Geri Kazanım (%)	RSD (%)	Eks. zamanı (dk.)	Kaynak
¹ UADLLM E-SFO	Domates sosu, biber ürünleri	Sudan I	0,015	79–92	4,8–7,1	15	He vd., 2015
² UAEMESI D-SFOD	Biber ürünleri	Sudan I-IV	0,16–0,24	90,5–107,3	1,8–3,5	1	Sricharoen vd., 2019
³ DÖÇ esaslı VA-LLME	Ördek kanı, Biber tozu	Sudan I	0,0003	83,4–114,1	1,5–4,5	3	Zhang vd., 2020
⁴ LLE	Toz biber ve Acı sos	Sudan I-IV	0,40–2,41	-	<5,76	10	Zhu vd., 2016
⁵ SME	Tuzlu somon, Baharatlar	Sudan I–III	0,028–0,19	82–85	<6	20	Pochivalov vd., 2018
⁶ DÖÇ esaslı-VALLME	Acı biber, Acı sos, ördek yumurta sarısı	Sudan I	0,02	93–118	<4,5	1	Liu vd., 2019
⁷ SFE	Güçlendirici beslenme boyası	Sudan I-IV	0,029–0,042	91–109	6,8–11,6	35	Ávila vd., 2011
⁸ DÖÇ esaslı UASLME	Acı biber, kırmızıbiber, kimyon ve sumak	Sudan I-IV	0,25–0,35	85,55–99,29	<3,17	10	Bu çalışma

¹Yüzen organik damlanın katılaşması ile ultrason destekli dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu; ²Ultrason destekli emülsifikasyon mikro ekstraksiyonu ve katılaştırılmış yüzen organik damla ile tuz kaynaklı demülsifikasyon; ³DÖÇ esaslı girdap destekli sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu; ⁴Sıvı-sıvı ekstraksiyonu; ⁵Yüzey aktif madde aracılı mikroekstraksiyon; ⁶DÖÇ esaslı girdap destekli sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu; ⁷Supercritical sıvı ekstraksiyonu; ⁸Ultrasonik destekli katı-sıvı mikroekstraksiyonu.

Çizelge 6.3'te görülebileceği gibi, geliştirilen yöntemin LOD'ları, geri kazanım değerleri, RSD ve ekstraksiyon süresi diğer yöntemlerle karşılaştırılabilir. Ekstraksiyon süresi literatürdeki diğer yöntemlerle karşılaştırılabilir ve bu süre birçok yönteme kıyasla oldukça kısa görünmektedir. LOD değerleri daha önce bildirilen diğer

yöntemlere benzerdi. Geliştirilen yöntemin geri kazanım değerleri tatmin edicidir ve bu yöntemin doğruluğunu gösterir. Sonuçlar, önerilen yöntemin baharat numunelerinde Sudan boyalarının ekstraksiyonu için hızlı, verimli, duyarlı ve ekonomik bir yöntem olduğunu göstermiştir.



7. SONUÇ VE ÖNERİLER

8 farklı baharat ürününde Sudan I-IV boyaalarının analizi için yeni bir mikro ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Bu yöntem için, daha önce hiç çalışmamış timol ve kumarin içeren DÖÇ ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemde organik çözücü kullanılmadığından kesinlikle çevre dostu bir yöntemdir. Sudan I-IV boyaaları, 200 µL DÖÇ kullanılarak kantitatif olarak geri kazanıldı. DÖÇ, 80 ° C’de 1: 1 mol oranına sahip timol-kumarin ile hazırlandı. Bağlı standart sapmalar (% RSD) %2,54-3,17 aralığındaydı. Elde edilen geri kazanım değerleri %85’in üzerindedir ve bunlar oldukça tatmin edici değerlerdir; bu sonuçlar sentezlenen yeni DÖÇ’ün ekstraksiyon çözücüsü olarak başarıyla kullanılacağını göstermektedir. Bu prosedür, herhangi bir özütleme çözücüsü veya dağıtıcı çözücü kullanılmaması, çok kısa özütleme işlemine sahip olması, ucuz olması, basit bir kullanım sağlaması ve çevre dostu olması açısından geleneksel yöntemlere göre çeşitli avantajlara sahiptir. Bu nedenle, geliştirilen bu yöntem, baharat numunelerinde Sudan boyaalarının belirlenmesi ve ekstraksiyonu için ultrasonik yöntem kullanılarak alternatif bir ekstraksiyon yöntemi olarak çok yüksek bir başarıya sahiptir. Ek olarak, bu yöntem farklı numunelerde benzer özelliklere sahip boyalara başarıyla uygulanabilir. Önerilen yöntem, literatürde Sudan boyaaları için ekstraksiyon ve tayin yöntemleri ile karşılaştırılabilir.

8. KAYNAKLAR

- Abbott, A. P., Barron, J. C., Ryder, K. S., & Wilson, D. (2007). Eutectic-based ionic liquids with metal-containing anions and cations. *Chemistry–A European Journal*, 13(22), 6495-6501.
- Abbott, A. P., Capper, G., & Gray, S. (2006). Design of improved deep eutectic solvents using hole theory. *ChemPhysChem*, 7(4), 803-806.
- Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., & Rasheed, R. (2004). Ionic liquids based upon metal halide/substituted quaternary ammonium salt mixtures. *Inorganic Chemistry*, 43(11), 3447-3452.
- Abbott, A. P., Frisch, G., & Ryder, K. S. (2013). Electroplating using ionic liquids. *Annual Review of Materials Research*, 43, 335-358.
- Abbott, A. P., Harris, R. C., Ryder, K. S., D'Agostino, C., Gladden, L. F., & Mantle, M. D. (2011). Glycerol eutectics as sustainable solvent systems. *Green Chemistry*, 13(1), 82-90.
- Ahmed Refat, N. A., Ibrahim, Z. S., Moustafa, G. G., Sakamoto, K. Q., Ishizuka, M., & Fujita, S. (2008). The induction of cytochrome P450 1A1 by Sudan dyes. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 22(2), 77-84.
- Al-Degs, Y., Kharaishah, M.A.M. ve Allen, S.J., 2000. Effect of Carbon Surface Chemistry on The Removal of Reactive Dyes From Textile Effluent. *Water Research*, 34, 927–935.
- Al-Ghouti, M.A., Khraishes, M.A.M., Allen, S.J., ve Ahmad, M.N., 2003. The Removal of Dyes From Textile Wastewater: A Study of the Physical Characteristics and Adsorption Mechanisms of Diatomaceous Earth. *Journal of Environmental Management*, 69, 229-238.
- Ali, M. O., Al-Ghor, A., Sharaf, A. K., Mekawy, H., & Montaser, M. M. (1998). Genotoxic effects of the food color (carmoisine) on the chromosome of bone marrow cells of rat. *Toxicology Letters*, 95(1001), 44-44.
- Al-Murshedi, AYM (2018), 'Deep eutectic solvent-water mixtures', PhD thesis, University of Leicester, UK.
- Anderton, S. M., Incarvito, C. D., & Sherma, J. (1997). Determination of natural and synthetic colors in alcoholic and non alcoholic beverages by quantitative HPTLC. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 20(1), 101-110.
- Anonim 2018, Viewed 21 May 2020, <<https://www.ilkkimbuldu.com/renkleri-kimbuldu/>>.
- Arslanoğlu, A (2019). 'Investigation Of Hydroxymethyl Furfural Production From Cellulose In The Presence Of Deep Eutectic Solvents Using Microwave Reactor', Master's "Thesis, Graduate School Of Applied And Natural Science, Ege

University, İzmir, Türkiye.

- Asil, E. T. D., & Tekiner, H. Y. *Kayseri eczacılık tarihi ve eczacılık işletmelerinin Kayseri sosyal yaşamı ve ekonomisine katkıları üzerinde bir çalışma* (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık İşletmeciliği Anabilim Dalı).
- Ávila, M., Zougagh, M., Escarpa, A., & Ríos, Á. (2011). Determination of Sudan dyes in food samples using supercritical fluid extraction–capillary liquid chromatography. *The Journal of Supercritical Fluids*, 55(3), 977-982.
- Bağcı, T., (1997). Gıda Katkı Maddeleri ve Sağlığımız Üzerine Etkileri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 28, 18-23.
- Barrows, N., Lipman, A.L., ve Bailey, C.J., (2009). Color Additives: FDA's Regulatory Process and Historical Perspectives. *FDA (Reprinted from Food Safety Magazine October/November)*.
- Bonan, S., Fedrizzi, G., Menotta, S., & Elisabetta, C. (2013). Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by highperformance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Dyes and Pigments*, 99, 36–40.
- Cannon, G. 1988. The Politics of Food. London: *Century*. 161. ISBN 0-7126-1717-5.
- Chen, X. H., Zhao, Y. G., Shen, H. Y., Zhou, L. X., Pan, S. D., & Jin, M. C. (2014). Fast determination of seven synthetic pigments from wine and soft drinks using magnetic dispersive solid-phase extraction followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1346, 123–128.
- Chung, K. T. (2016). Azo dyes and human health: a review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 34(4), 233-261.
- Dar, M. M., Idrees, W., & Masoodi, F. A. (2013). Detection of sudan dyes in red chilli powder by thin layer chromatography. *Open Access Scientific Reports*, 2(1), 1-3.
- Del Pópolo, M. G., Kohanoff, J., & Lynden-Bell, R. M. (2006). Solvation structure and transport of acidic protons in ionic liquids: A first-principles simulation study. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(17), 8798-8803.
- DFG, D. F. (2003). MAK-und BAT-Werte-Liste 2003. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Mitteilung 39.
- Downham, A., & Collins, P. (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. *International journal of food science & technology*, 35(1), 5-22.
- Elhkim, M. O., Héraud, F., Bemrah, N., Gauchard, F., Lorino, T., Lambré, C., ... & Poul, J. M. (2007). New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine: an update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47(3), 308-316.
- FDA. 2007. How Safe Are Color Additives. Consumer Update. Food and Drug Administration, Washington, D.C., 10.
- Food Ingredients & Colors. 2010. International Food Information Council. June 29. Retrieved Feb 15 2012.

- González, M., Gallego, M., & Valcárcel, M. (2003). Liquid chromatographic determination of natural and synthetic colorants in lyophilized foods using an automatic solid-phase extraction system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2121–2129.
- Gosetti, F., Frascarolo, P., Mazzucco, E., Gianotti, V., Bottaro, M., & Gennaro, M. C. (2008). Photodegradation of E110 and E122 dyes in a commercial aperitif: A high performance liquid chromatography–diode array–tandem mass spectrometry study. *Journal of Chromatography A*, 1202, 58–63.
- Griffiths, M.D., (2005). A ‘components’ Model of Addiction Within A Biopsychosocial Framework. *Journal of Substance Use*, 10, 191-197.
- Gülderen, Y., Melek, Y. ve Bayhan, A., 1998. Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boyaların Miktarlarının Araştırılması. *The Journal of Good*, 23, 195-198.
- Güler, Z. ve Enecür, H., 2005. Draje Yüzeyinde Kullanılan Renklendiricilerin UV/VIS Spektrofotometre ile Kalitatif ve Kantitatif Olarak Belirlenmesi. *Gıda Dergisi*, 287-292.
- Hancock, M., (1997). *The Use of Natural Dyes in The UK and The Rest of The Western Economies Has Been Replaced Commercially By Synthetic Dyes, Based Mainly on Aniline and Using Petroleum Or Coal Tar As The Raw Stock*. Potential for Colourants from Plant Sources in England & Wales. UK Central Science Laboratory.
- Harp, B. P., Miranda-Bermudez, E., & Barrows, J. N. (2013). Determination of seven certified color additives in food products using liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 3726–3736.
- Harp, B. P., Miranda-Bermudez, E., Baron, C. I., & Richard, G. I. (2012). Qualitative identification of permitted and non-permitted colour additives in food products *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29, 886–896.
- He, X., Chen, Y., Li, H., Zou, T., Huang, M., Li, H., & Xia, E. (2015). Analysis of Sudan I in food by QuEChERS combined with ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of floating organic drop (UADLLME-SFO) prior to HPLC-PAD. *Food Science and Technology Research*, 21(5), 659-664.
- Hunger, K., Mischke, P., Rieper, W., Raue, R., Kunde, K., & Engel, A. (2000). Azo dyes. *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*.
- Hu, T.L., 2001. Kinetic of Azo Reductase and Assessment of Toxicity of Metabolic Products From Azo Dyes by Pseudomonas Luteol. *Water Science Technology*, 43 (2), 261-269.
- Iammarino, M., Mentana, A., Centonze, D., Palermo, C., Mangiacotti, M., & Chiaravalle, A. E. (2019). Chromatographic determination of 12 dyes in meat products by HPLC-UV-DIODE array detection. *MethodsX*, 6, 856-861.
- Jeannine, D., (2003). The Impact of Perceptual Interactions on Perceived Flavor. *Food Quality And Preference*, 14, 137–146.
- Jones, R. A. (2000). *Quaternary ammonium salts: their use in phase-transfer catalysis*. Elsevier.

- Kaykioğlu, G. ve Debik, E., 2006. Color Removal from Textile Wastewater with Anaerobic Treatment Processes. *Journal of Engineering and Natural Sciences Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 4, 58-68.
- Khanavi, M., Hajimahmoodi, M., Ranjbar, A. M., Oveisi, M. R., Ardekani, M. R. S., & Mogaddam, G. (2012). Development of a green chromatographic method for simultaneous determination of food colorants. *Food Analytical Methods*, 5, 408–415.
- Kirschbaum, J., Krause, C., & Brückner, H. (2006). Liquid chromatographic quantification of synthetic colorants in fish roe and caviar. *European Food Research and Technology*, 222, 572–579.
- Kornbrust, D., ve Barfknecht, T., 1985. Testing of 24 Food, Drug, Cosmetic and Fabric Dyes in The in Vitro and The in Vivo/In Vitro Rat Hepatocyte Primary Culture/DNA Repair Assays. *Environmental Mutagenesis*, 7, 101–120.
- Lancaster, F.E., ve Lawrence, J.F., 1992. Determination of Total Nonsulphonated Aromaticamines in Soft Drinks and Hard Candies By Reduction and Derivatization Followed By High Performance Liquid Chromatography. *Food Additive Contaminant*, 9, 171-182.
- Larsen, J.C., 1991. Erythrosine: Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. *37th Meeting of JECFA WHO Food Additives Series*, 28, 171-180.
- Liu, W., Zong, B., Wang, X., Cai, J., & Yu, J. (2019). A highly efficient vortex-assisted liquid–liquid microextraction based on natural deep eutectic solvent for the determination of Sudan I in food samples. *RSC advances*, 9(30), 17432-17439.
- Lockey, S.D., 1977. Hypersensitivity to Tartrazine (FD&C Yellow 5) and Other Dyes And Additives Present in Food and Pharmaceutical Products. *Annals of Allergy*, 38, 206-210.
- Loprieno, N. (1975). International Agency for Research on Cancer (IARC) monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man: "Relevance of data on mutagenicity". *Mutation research*, 31(3), 210.
- Majcen-Le Marechal, A., Slokar, Y. M., & Taufer, T. (1997). Decoloration of chlorotriazine reactive azo dyes with H₂O₂/UV. *Dyes and Pigments*, 33(4), 281-298.
- Makoś, P., Przyjazny, A., & Bockaj, G. (2018). Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 1570, 28-37.
- Maugeri, Z., & de María, P. D. (2012). Novel choline-chloride-based deep-eutectic-solvents with renewable hydrogen bond donors: levulinic acid and sugar-based polyols. *RSC Advances*, 2(2), 421-425.
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., ... & Sonuga-Barke, E. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *The lancet*, 370(9598), 1560-1567.
- Mejia, E., Ding, Y., Mora, M. F., & Garcia, C. D. (2007). Determination of banned sudan dyes in chili powder by capillary electrophoresis. *Food Chemistry*, 102(4),

- Minioti, K. S., Sakellariou, C. F., & Thomaidis, N. S. (2007). Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase highperformance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytica Chimica Acta*, 583, 103–110.
- National Toxicology Program. (1982). Carcinogenesis Bioassay of CI Solvent Yellow 14 (CAS No. 842-07-9) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed Study). *National Toxicology Program technical report series*, 226, 1.
- Natural Food Dyes on Renal and Hepatic Functions in Rats. *Toxicology Letters*, 95, 155-160.
- Nicolet, L. Ve Rott, V., 1999. Recirculation of Powdered Activated Carbon for The Adsorption of Dyes İn Municipal Wastewater Treatment Plant. *Water Science Technology*, 40, 191–198.
- Nisa vd, A. Sudan dyes and their potential health effects. *Pak. J. Bio Chem. Mol. Biol*, 49(1), 29-35.
- Organic Chemistry Portal. n.d. 2020, Viewed 13 August 2020, <<http://www.organic-chemistry.org/topics/ionic-liquids.shtm>>.
- Ozkaya, I., Oflar, Z. ve Erkan, T., 2004. Gıda Katkı Maddeleri ve Toksinler. Sağlıkta ve Hastalıkta Beslenme. *İstanbul:Deomed Medikal Yayıncılık* 2004: 39-44.
- Pandey, A., Singh, P., & Iyengar, L. (2007). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International biodeterioration & biodegradation*, 59(2), 73-84.
- Platzek, T., Lang, C., Grohmann, G., Gi, U. S., & Baltes, W. (1999). Formation of a carcinogenic aromatic amine from an azo dye by human skin bacteria in vitro. *Human & experimental toxicology*, 18(9), 552-559.
- Pochivalov, A., Davletbaeva, P., Cherkashina, K., Lezov, A., Vakh, C., & Bulatov, A. (2018). Surfactant-mediated microextraction approach using switchable hydrophilicity solvent: HPLC-UV determination of Sudan dyes in solid food samples. *Journal of Molecular Liquids*, 271, 807-814.
- Saldamlı, İ., 1991. Food Additives and Our Health. *Katkı Pediatri Dergisi*, 12, March-April, 171-174, Ankara. 21.
- Saratale, R. G., Saratale, G. D., Chang, J. S., & Govindwar, S. P. (2011). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 42(1), 138-157.
- Shahbaz, K., Mjalli, F. S., Hashim, M. A., & AlNashef, I. M. (2011). Prediction of deep eutectic solvents densities at different temperatures. *Thermochimica acta*, 515(1-2), 67-72.
- Shen, Y., Zhang, X., Prinyawiwatkul, W., & Xu, Z. (2014). Simultaneous determination of red and yellow artificial food colourants and carotenoid pigments in food products. *Food Chemistry*, 157, 553–558.
- Smith, E. L., Abbott, A. P., & Ryder, K. S. (2014). Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical reviews*, 114(21), 11060-11082.

- Sorouraddin, M. H., Rostami, A., & Saadati, M. (2011). A simple and portable multicolour light emitting diode based photocolourimeter for the analysis of mixtures of five common food dyes. *Food Chemistry*, 127, 308–313.
- Soylak, M., Unsal, Y. E., & Tuzen, M. (2011). Spectrophotometric determination of trace levels of allura red in water samples after separation and preconcentration. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1183–1187.
- Sricharoen, P., Limchoowong, N., Techawongstien, S., & Chanthai, S. (2019). Ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled with salt-induced demulsification based on solidified floating organic drop prior to HPLC determination of Sudan dyes in chili products. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 5223–5233.
- Stiborová, M., Martínek, V., Rýdlová, H., Hodek, P., & Frei, E. (2002). Sudan I is a potential carcinogen for humans: evidence for its metabolic activation and detoxication by human recombinant cytochrome P450 1A1 and liver microsomes. *Cancer Research*, 62(20), 5678–5684.
- Sudan III 2019, Viewed 21 May 2020, < https://en.wikipedia.org/wiki/Sudan_III>.
- Sun, H., Sun, N., Li, H., Zhang, J., & Yang, Y. (2013). Development of multiresidue analysis for 21 synthetic colorants in meat by microwave-assisted extraction–solid-phase extraction–reversed-phase ultrahigh performance liquid chromatography. *Food Analytical Methods*, 6, 1291–1299.
- Tan, B.T., Teng, T.T. ve Omar, A.K., 2000. Removal of Dyes and Industrial Dye Wastes by Magnesium Chloride. *Water Research*, 34, 597–601.
- Tan, L. ve Sudan, R.G., 1992. Removing Color from A Groundwater Source. *Journal of Water Works Associate*, 84, 79–87.
- Tang, B., Xi, C., Zou, Y., Wang, G., Li, X., Zhang, L., et al. (2014). Simultaneous determination of 16 synthetic colorants in hotpot condiment by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 960, 87–91.
- Temiz, A., Özbaş, Ş.Y. ve Saldamlı, İ., 1987. The Parameters in Food Toxicology. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 44, Ankara.
- Thompson, C. O., & Trenerry, V. C. (1995). Determination of synthetic colours in confectionery and cordials by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography A*, 704, 195–201.
- Topsoy, H., Demirer, A. ve Bozkurt, M., 1991. Bazı Şekerli Gıdalara Katılan Sentetik Organik Gıda Boyalarının Miktar Tayini. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 48, 21.
- Tsuda, S., Matsusaka, N., Madarame, H., Ueno, S., Susa, N., Ishida, K., ... & Sasaki, Y. F. (2000). The comet assay in eight mouse organs: results with 24 azo compounds. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 465(1-2), 11–26.
- Van der, F.P., Lettinga, G. ve Field, J.A., 2001. Azo Dye Decolorization by Anaerobic Granular Sludge. *Chemosphere*, 44, 1169–1176.
- Vidotti, E. C., Costa, W. F., & Oliveira, C. C. (2006). Development of a green

- chromatographic method for determination of colorants in food samples. *Talanta*, 68, 516–521.
- Wagle, D. V., Zhao, H., & Baker, G. A. (2014). Deep eutectic solvents: sustainable media for nanoscale and functional materials. *Accounts of Chemical Research*, 47(8), 2299-2308.
- Wu, H., Guo, J. B., Du, L. M., Tian, H., Hao, C. X., Wang, Z. F., et al. (2013). A rapid shaking-based ionic liquid dispersive liquid phase micro extraction for the simultaneous determination of six synthetic food colourants in soft drinks, sugar and gelatin-based confectionery by high-performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 141, 182–186.
- Xu, H., Heinze, T. M., Paine, D. D., Cerniglia, C. E., & Chen, H. (2010). Sudan azo dyes and Para Red degradation by prevalent bacteria of the human gastrointestinal tract. *Anaerobe*, 16(2), 114-119.
- Yoshioka, N., & Ichihashi, K. (2008). Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. *Talanta*, 74, 1408–1413.
- Zhang, K., Liu, C., Li, S., Wang, Y., Zhu, G., & Fan, J. (2020). Vortex-Assisted Liquid-Liquid Microextraction Based on a Hydrophobic Deep Eutectic Solvent for the Highly Efficient Determination of Sudan I in Food Samples. *Analytical Letters*, 53(8), 1204-1217.
- Zhang, Q., Vigier, K. D. O., Royer, S., & Jerome, F. (2012). Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, 41(21), 7108-7146.
- Zhu, Y., Wu, Y., Zhou, C., Zhao, B., Yun, W., Huang, S., & Chen, S. (2016). A screening method of oil-soluble synthetic dyes in chilli products based on multi-wavelength chromatographic fingerprints comparison. *Food Chemistry*, 192, 441-451.
- Zou, T., He, P., Yasen, A., & Li, Z. (2013). Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with diode array and tandem mass detectors. *Food Chemistry*, 138, 1742–1748.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Yunus YILMAZ
Doğum Tarihi ve Yeri : 20.09.1991 GÖLYAKA-DÜZCE
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : yunus8117@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya	Düzce Üniversitesi	2020
Lisans	Kimya	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2016
Lise		Gölyaka Çok Programlı Lisesi	2009

YAYINLAR

Ozak, S. S., & Yılmaz, Y. (2020). Ultrasound-assisted hydrophobic deep eutectic solvent based solid-liquid microextraction of Sudan dyes in spice samples. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 118353.