

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI KOZMETİK ÜRÜNLERİNDE RENKLENDİRİCİ MADDELERİN  
KEMOMETRİK YÖNTEMLERLE TAYİNLERİ**

**Seda ALKAN**

**Danışman  
Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI  
ISPARTA - 2016**



© 2016 [Seda ALKAN]

## TEZ ONAYI

**Seda ALKAN** tarafından hazırlanan " **Bazı Kozmetik Ürünlerinde Renklendirici Maddelerin Kemometrik Yöntemlerle Tayini** " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

**Danışman** **Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ** .....

Süleyman Demirel Üniversitesi

**Jüri Üyesi** **Prof. Dr. Fethiye GÖDE** .....

Süleyman Demirel Üniversitesi

**Jüri Üyesi** **Yrd. Doç. Dr. Çiğdem KARABACAK ATAY** .....

Süleyman Demirel Üniversitesi

**Enstitü Müdür** **Doç. Dr. Yasin TUNCER** .....

## **TAAHHÜTNAME**

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

**Seda ALKAN**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Kinolin Sarısı (E-104)'nın Genel Özellikleri. ....	3
1.2. İndigotin (E-132)'in Genel Özellikleri. ....	4
1.3. Kullanılan Yöntem.....	6
1.3.1. Spektrofotometri .....	6
1.3.2. Uv ve görünür bölge spektroskopisi .....	8
1.3.3. Uv ve görünür bölge absorpsiyon spektrofotometreleri .....	9
1.3.4. Işın kaynakları .....	10
1.3.5. Dalga boyu seçiciler .....	11
1.3.6. Örnek kapları .....	11
1.3.7. Dedektörler.....	11
1.3.8. Uv ve görünür bölge moleküler absorpsiyon spektroskopisinin uygulamaları .....	12
1.3.8.1. Nitel analiz .....	12
1.3.8.2. Nicel analiz.....	12
1.4. Kemometrik Yöntemler.....	13
1.4.1. Çok değişkenli kalibrasyon algoritmaları .....	15
1.4.1.1. Temel bileşen analiz yöntemi (principal component analysis (PCA) method) .....	15
1.4.1.2. Temel bileşen regresyon yöntemi (principal component regression (PCR) method).....	16
1.4.1.3. Kısmi en küçük kareler yöntemi (partial least squares regression (PLS) method) .....	18
1.4.2. Kalibrasyon (derişim) setinin tasarımı.....	20
1.4.3. Çapraz validasyon işlemi (cross validation procedure) .....	21
1.4.4. Varyans analizi (anova) .....	21
1.4.5. Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinin uygulamaları.....	22
1.4.5.1. Kemometrik yöntemlerin uygulama alanları .....	22
1.4.5.2. Çoklu bileşen analizi (multi component analysis) .....	23
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	24
3. MATERYAL ve METOT .....	28
3.1. Materyal .....	28
3.2. Kullanılan Cihazlar .....	28
3.2.1. Uv-görünür spektrofotometre cihazı.....	28
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	28
3.3.1. Kullanılan çözeltiler.....	29
3.4. Yöntem .....	31
3.4. 1.Uv/Vis spektroskopisi yöntemi.....	31

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA (ARAŞTIRMA BULGULARI).....	32
4.1. Uv Spektroskopisi.....	32
4.1.1. Saf halde KIN ve IND' nın spektrumları.....	33
4.2. Kalibrasyon Setinin Hazırlanması.....	34
4.3. Spektral Koşulların Optimizasyonu.....	36
4.3.1. Temel bileşen analizi.....	37
4.3.2. Temel bileşen regresyon yöntemi .....	38
4.3.2.1. Kalibrasyon yönteminin validasyonu .....	41
4.3.2.2. PCR yöntemi için anova testi .....	42
4.3.2.3. PCR yönteminde istatistiksel analiz.....	42
4.3.2.3.1. Kalibrasyonun standart hatası.....	42
4.3.2.4. PCR yönteminin kozmetik preparatlara uygulanması .....	44
4.3.3. Kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS) .....	45
4.3.3.1. Kalibrasyon yönteminin validasyonu .....	45
4.3.3.2. PLS yöntemi için anova testi.....	46
4.3.3.3. PLS yönteminde istatistiksel analiz .....	47
4.3.3.3.1. Kalibrasyonun standart hatası.....	47
4.3.3.4. PLS yönteminin kozmetik preparatlara uygulanması .....	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER (TARTIŞMA VE SONUÇLAR) .....	49
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	53

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## BAZI KOZMETİK ÜRÜNLERİNDE RENKLENDİRİCİ MADDELERİN KEMOMETRİK YÖNTEMLERLE TAYİNLERİ

Seda ALKAN

Süleyman Demirel Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ

Yapılan tez çalışmasında, kemometrik kalibrasyon yöntemleri temel bileşen analizi (PCA) temel bileşen regresyonu yöntemi (PCR), kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS) ile kozmetik ürünlerinde kullanılan Kinolin sarısı (E-104)(KIN) ve İndigotin (E-132)'in (IND) aynı anda analizleri yapılarak hiç bir ayırma işlemi kullanmaksızın başarıyla uygulanmıştır ve bu yöntemler UV Görünür Alan Spektroskopisi yöntemlerinden elde edilen verilerle kemometrik olarak değerlendirilmiştir.

Bu kemometrik yöntemlerin validasyonu için, Kinolin sarısı (E-104) için, 2-10 µg/mL derişim aralığında ve İndigotin (E-132) için 0,1-0,5 µg/mL derişim aralığında bileşikleri içeren 25 adet karışımdan oluşan kalibrasyon (derişim) seti, saf su içerisinde hazırlanmıştır. Kalibrasyon setinin 300-700 nm aralığında absorpsiyon spektrumu kaydedilmiştir. Kalibrasyon seti ve bu sete karşılık 390-640 nm aralığında elde edilen absorpsiyon verileri arasındaki ilişkiden yararlanılarak üç kemometrik kalibrasyon oluşturulmuştur. PCR ve PLS yöntemlerinin validasyonu, Kinolin sarısı ve İndigotin içeren sentetik karışımların analiziyle gerçekleştirilmiştir. PCR ve PLS yöntemlerinin Kinolin sarısı ve İndigotine karışımlarının analizine uygulamasında, PCR ve PLS için % geri kazanım sonuçları ile karşılık gelen standart sapma değerleri sırasıyla KIN için %

100,02 / % 0,0138 ve %100,94 / % 6,22 ; İND için % 100,00 / % 0,0051 ve % 100,29 / % 4,97 olarak bulunmuştur.

Sonraki basamakta PCA, PCR ve PLS yöntemleri, ticari Kinolin sarısı ve İndigotine'in aynı anda miktar tayinlerine uygulanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kinolin sarısı (E-104), İndigotine(E-132), Kozmetik, PCA, PCR, PLS, UV, Kemometri

**2016, 53 sayfa**



## **ABSTRACT**

**M.Sc. Thesis**

### **DETERMINATIONS OF COLORING AGENTS IN SOME COSMETIC PRODUCTS BY CHEMOMETRIC METHODS**

**Seda ALKAN**

**Süleyman Demirel University  
Graduate School of Applied and Natural Sciences  
Department of Chemistry**

**Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ**

In this thesis, three different chemometric calibration methods principle component analysis (PCA), partial least squares (PLS) and principal component regression (PCR) were successfully applied to the simultaneous determination of Quinoline yellow (E-104)(KIN) and Indigotine (E-132) (IND) cosmetic preparations without using any separation step. The data of UV-Visible Spectroscopy applied to the chemometric calculations.

For the validation of this chemometric method, a calibration set of 25 binary mixtures containing compounds in the working range of 2-10 µg/mL for Quinoline yellow and 0,1-0,5 µg/mL for Indigotine was prepared in methanol. Calibration sets 300-700 nm range absorption spectra were recorded. Three chemometric calibrations were constructed by using the relationship between the calibration set and its corresponding absorption data obtained in the range 390-640 nm. The synthetic mixtures of two coloring agents were used for the validity of the calibrations. Means recoveries (percent) and relative standard deviation of PCR and PLS methods were found to be % 100,02 / % 0,0138 and % 100,94 / % 6,22 for KIN ; % 100,00 / % 0,0051 and % 100,29 / % 4,97 for IND respectively.

In the next step, the PCA, PCR and PLS methods were applied to the simultaneous determination of Quinoline yellow and Indigotine in commercial cosmetic preparations and successful results were obtained.

**Keywords:** Quinoline Yellow, Indigotine, cosmetic, PCA, PCR, PLS, UV, chemometry.

**2015, 53 pages**

## **TEŞEKKÜR**

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ'a teőekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Seda ALKAN  
ISPARTA, 2016



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Kinolin sarısı ve kullanım alanları.....	3
Şekil 1.2. İndigotin ve kullanım alanları.....	5
Şekil 1.3. Temel haldeki ve uyarılmış haldeki elektronlar .....	7
Şekil 1.4. Numune üzerine gönderilen ve çıkan ışığın şiddeti.....	7
Şekil 1.5. Spektrofotometrenin temel bileşenleri .....	9
Şekil 1.6. UV-Görünür alan spektrofotometresi .....	10
Şekil 1.7. Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler .....	14
Şekil 1.8. X1 ve X2 olan iki değişken için PC1 ve PC2 olan iki esas bileşeni gösteren diyagram .....	16
Şekil 1.9. PLS2 kalibrasyonu .....	19
Şekil 3.1. KIN ve IND boyar maddelerini içeren piyasadaki makyaj malzemesi.....	30
Şekil 4.1. KIN maddesinin absorpsiyon spektrumu .....	33
Şekil 4.2. IND maddesinin absorpsiyon spektrumu.....	34
Şekil 4.3. Simetrik kalibrasyon setinin iki boyutlu düzlemdeki grafiği.....	36
Şekil 4.4. KIN (2 µg/mL) ve IND (0,2 µg/mL) ile iki bileşiğe karşılık gelen karışımın absorpsiyon spektrumları .....	36
Şekil 4.5. Değişkenlerin doğrusal bileşenleri.....	37
Şekil 4.6. Kemometrik verilerden elde edilen özdeğerlerin grafiği .....	38
Şekil 4.7. PCR kalibrasyon basamağında KIN için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar .....	43
Şekil 4.8. PCR kalibrasyon basamağında IND için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar .....	44
Şekil 4.9. PLS kalibrasyon basamağında KIN için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar .....	47
Şekil 4.10. PLS kalibrasyon basamağında IND için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar .....	48

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 1.1. Kinolin sarısının özellikleri.....	4
Çizelge 1.2. İndigotinin özellikleri.....	6
Çizelge 1.3. Varyans analizi.....	22
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar.....	29
Çizelge 4.1. Renk maddelerinin spektroskopik özellikleri.....	32
Çizelge 4.2. KIN ve IND analizi için kalibrasyon seti.....	35
Çizelge 4.3. KIN ve IND sentetik karışımlarına PCR kalibrasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri.....	42
Çizelge 4.4. Makyaj malzemesine PCR yönteminin uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar.....	44
Çizelge 4.5. KIN ve IND sentetik karışımlarına PLS kalibrasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri.....	45
Çizelge 4.6. Makyaj malzemesine PLS yönteminin uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar.....	48

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANOVA	Varyans analizi (Analysis of variance)
AO	Ortalanmış absorbas
CLS	Classical least-squares
CO	Ortalanmış derişim
GK	% Geri Kazanım
IND	İndigotin
HPLC	High-performance liquid chromatography
KIN	Kinolin Sarısı
PC	Matematiksel anlamda temel bileşenler
PCA	Temel bileşen analizi yöntemi(Principal component analysis method)
PCR	Temel bileşen regresyon yöntemi (Principal component regression)
PLS	Kısmi en küçük kareler yöntemi( Partial least squares regression)
PRESS	Prediction error sum of squares
SS	Standart sapma
UV	Ultra viyole görünür bölge spektroskopisi
X	Ortalama değer

## 1.GİRİŞ

Kozmetikler, deri, tırnak, saç gibi organların görünüşünü düzelterek kişileri güzelleştirmek için kullanılan maddeler, preparatlar, tedavi biçimleri ve araçlarıdır. Çok geniş yelpazeye sahip, toplumun hemen her kesiminde günlük yaşamla iç içe olan tüketim ürünleridir. Derinin temizliğinde kullanılan sabunlar, pudralar ve şampuanlar başta olmak üzere çeşitli makyaj malzemeleri, parfümler, deodorantlar günde birkaç kez tatbik edilirken, saça renk ve şekil vermek için kullanılan ürünler yılda birkaç kez tatbik edilerek kullanılırlar.

Arkeolojiden gelen deliller, tarih öncesi insanların pigmentleri nasıl hazırlayacaklarını ve bulacaklarını, ayrıca bunları yağlı maddeler ile karıştırarak mağara duvarlarını boyamak ve vücudu süslemek için kullanılabilen Kimyasal karışımları üretmeyi bildiklerini göstermektedir. O dönemde vücudu boyama hem bir çeşit süslenme hem de sihirlerden korunma şekli idi. Tarih öncesi pigmentlerin analizi 17 farklı rengin kullanılmış olduğunu göstermektedir. En çok kullanılanlar beyaz kurşun, tebeşir veya jips denen bir maddeden elde edilen beyaz; taş kömürü veya mangandan elde edilen siyah, kırmızı, turuncu ve yeşil olmuştur.

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

maddeler “doğala özdeş renklendirici” olarak ifade edilmektedirler. Renklendiriciler elde edilmiş şekillerine göre:

- Doğal renklendiriciler
- Yapay renklendiriciler

olmak üzere iki temel grup altında toplanabilmektedirler.

Kozmetik endüstrisinde kullanılmakta olan pek çok sentetik ve bitkisel kaynaklı hammadde ve yardımcı maddeler bulunmaktadır. Bunlar arasında renk ve koku maddeleri, koruyucu maddeler, antioksidanlar, yüzey aktif maddeler sayılabilir. Bunlar kozmetik yönetmeliklerinde kullanılmasına izin verilmiş maddeler olmakla beraber bazı güvenilir olmayan maddeler de bulunabilir. Uygun olmayan maddeler kanserojen, mutajen ya da vücut metabolizmaları için toksik etki gösteren yan ürünler oluşturabilirler. Aynı şekilde uygun olmayan ambalaj şekilleri kullanmakta ürünün dayanıklılığını etkileyerek istenmeyen etkileşmelere neden olabilir. Ambalaj materyali toksik maddeler taşıyorsa, güvenilir olmayan renk maddeleri içeriyorsa, etiketlenmemişse, kaynağı ve tipi belirtilmemişse bu tip etkileşmelerle karşılaşılabilir. Kozmetik preparatlarda ve ambalaj materyallerinde kullanılan boya maddeleri saf, zararsız, tahriş etmeyen ve toksik olmayan maddeler olmalıdır. Bu maddeler tek tek kontrol edilmelidir. Kullanılan boyaların Kozmetik Kanunu’nda kayıtlı boyalar olması istenir. Örneğin göz makyaj ürünlerinde genellikle anorganik ve doğal boyalar kullanılır. Türkiye’de kullanılmasına izin verilen renk maddeleri şunlardır. Güneş sarısı (E-110), Ponceau 4R (E-124), Tartrazin (E-102), İndigotin (E-132), Amaranth (E-123), Eritrosin (E-127), Karmosin (E-122), Kinolin Sarısı (E-104) ve Riboflavin (E-101). Bu renk maddelerinden Kinolin Sarısı (E-104) ve İndigotin (E-132) rujlarda ve göz farlarında kullanılmaktadır.

Bu çalışmada kozmetik renklendirici olarak kullanılan maddelerden Kinolin Sarısı (E-104) ve İndigotin (E-132)’in miktar tayinlerini UV spektroskopisi yöntemiyle tayin edip elde edilen verilerin kemometrik yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 1.1 Kinolin Sarısı(E-104)'nın Genel Özellikleri

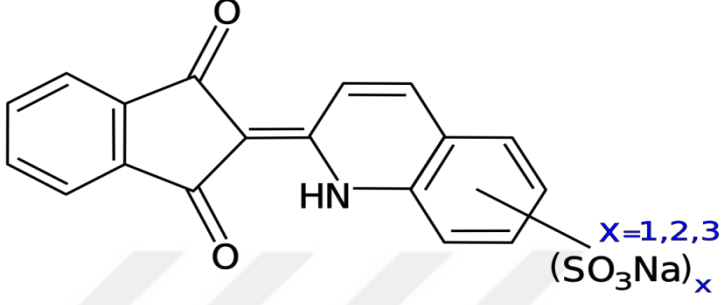
Kinolin sarısı(E-104), 416 nm'de maksimum absorpsiyon gösteren sarı bir renklendirici maddedir. Kimyasal olarak disulfonat karışımı, monosulfonat ve 2- (2-kinolil) -indan-1,3-dionun trisulfonat karışımları halinde bulunur. Bazı ülkelerde yiyeceklere yeşilimsi sarı renk vermek için kullanılır. Avrupa'da E numarası E-104 olarak belirlenmiştir. Bazı ülkelerde yiyeceklerde (gıda maddelerinde ve içeceklerde renklendirici olarak), kaplamalarda ve dekorasyonda kullanılırken bazı ülkelerde yiyeceklerde kullanımı yasaklanarak ilaç ve kozmetik sektörlerinde kullanımına izin verilmiştir (Wikipedia, 2015). Kinolin sarısı kozmetikte sektöründe ruj, saç bakım ürünleri, kolonya üretiminde kullanılmaktadır (Gıda raporu, 2003). Şekil 1.1' de kinolin sarısı ve kullanım alanları gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Kinolin sarısı ve kullanım alanları

Kinolin sarısı'nın uzun süreli toksik etkisi görülmemiştir. Üreme veya gelişme üzerinde olumsuz etkileri olduğuna dair bir kanıt yoktur. Kinolin sarısı'nın özellikleri Çizelge 1.1' de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Kinolin sarısı'nın özellikleri

<b>Molekül Formülü</b>	
<b>Kapalı Formülü</b>	$C_{18}H_{13}NO_{5/8/11}S_{1/2/3}Na_{1/2/3}$
<b>IUPAC adlandırılışı</b>	Sodyum 2-(1,3-diokzoindan-2-il)kinolindisülfonat
<b>Molekül ağırlığı</b>	477,38 g/mol
<b>Erime noktası</b>	150 °C
<b>Suda Çözünürlüğü</b>	4g/100 ml
<b>Görünüşü</b>	Yeşilimsi sarı toz

## 1.2 İndigotin(E-132)'in Genel Özellikleri

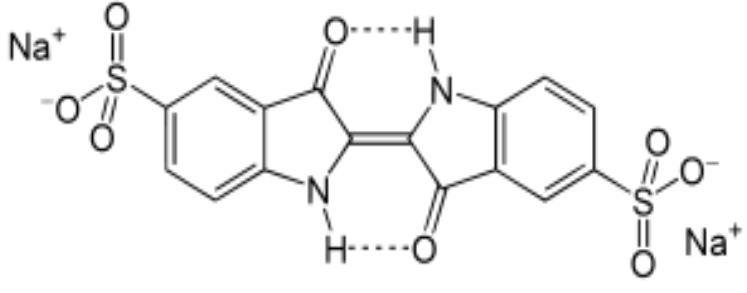
İndigotine, indigokarmin olarak da adlandırılan bir pH indikatörüdür. Amerika ve Avrupa'da gıda renklendirici olarak kullanılmaktadır. Avrupa'da E numarası E-132 olarak belirlenmiştir. Genellikle %0,2 sulu çözeltisi halinde pH indikatörü olarak kullanılır. pH 11,4'de mavi, pH 13,0'de sarı renklidir. İlaç kapsüllerinin imalinde renklendirici olarak kullanılır. Obstetrik cerrahide amniyotik sıvı kaçaqlarını tespit etmek için kullanılır. İndigotine, solunum yolları için zararlıdır. Aynı zamanda cilt ve gözler için tahriş edicidir. Şekil 1.2' de İndigotin ve kullanım alanları gösterilmiştir.



Şekil 1.2. İndigotin ve kullanım alanları

Renklendirici; sentetik kömür katranı türevidir; yaygın olarak tablet ve kapsüllere eklenir; ayrıca dondurma, tatlı, fırınlı mamuller, şekerleme ve bisküvilerde kullanılır. Ayrıca kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde kullanılır (Gıda raporu, 2003). Çizelge 1.2.'de verilmiştir.

Çizelge 1.2. İndigotinin özellikleri

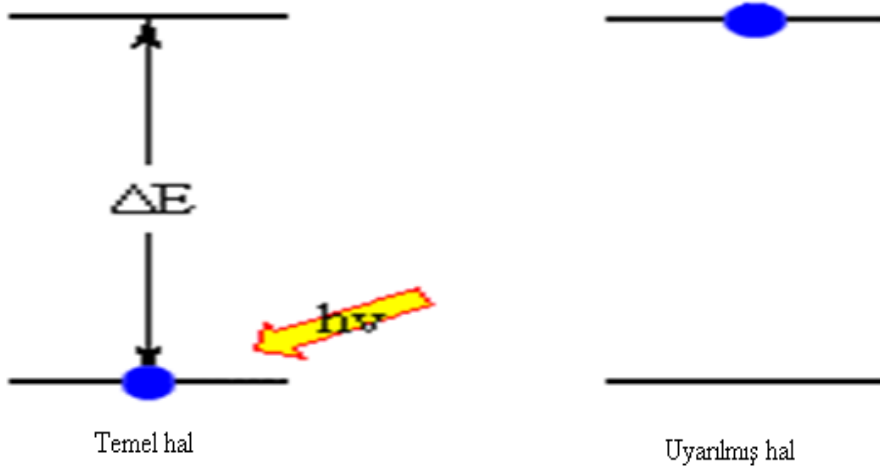
<b>Molekül Formülü</b>	
<b>Kapalı Formülü</b>	C <sub>16</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> S <sub>2</sub>
<b>IUPAC adlandırılışı</b>	3,3'-diokso-2,2'-bis-indoliden-5,5'-disülfonik asit disodyum tuzu
<b>Molekül ağırlığı</b>	466.36 g/mol
<b>Erime noktası</b>	>300 °C
<b>Suda Çözünürlüğü</b>	10 g/L
<b>Görünüşü</b>	Mor toz

### 1.3. Kullanılan Yöntem

#### 1.3.1. Spektrofotometri

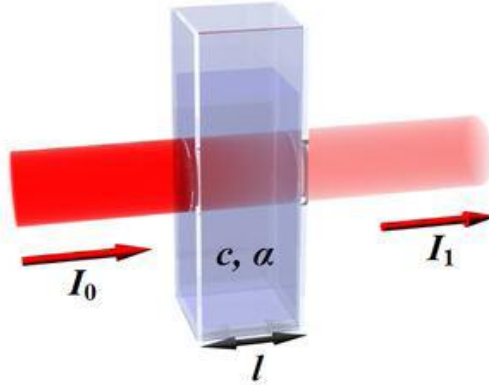
Bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının ölçülmesi ve değerlendirilmesinde kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde kullanılan cihazlara da spektrofotometre denir (Yaman, 2012).

Belirli bir potansiyel enerji düzeyinde bulunan atomlar, en düşük enerji düzeyinden (temel düzey) uyarılmış düzeylere geçerler (şekil 1.3); bu geçişlerle ilgili olarak söz konusu atomun absorpsiyon spektrumları da belirlenmiştir. Elektromanyetik ışımayı absorbe ederek en düşük enerji düzeyinden (temel düzey) uyarılmış düzeylere geçmiş olan atomlar, temel düzeye dönüş sırasında ultraviyole veya görünür bölge sınırları içinde ışımaya enerjiyi yayarlar. Her atom için emisyon spektrumu da belirlenir.



Şekil 1.3. Temel haldeki ve uyarılmış haldeki elektronlar

Işık absorpsiyonunun spektrofotometrelerle ölçülmesi atom, iyon veya molekül üzerine gönderilen ışığın şiddeti ( $I_0$ ) ile geçen ışığın şiddeti ( $I$ ) arasındaki farkın ölçümü temelleri üzerine kurulmuştur (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Numune üzerine gönderilen ve çıkan ışığın şiddeti ( $l$  = ışığın numune içinde aldığı yoldur)

Işığın absorpsiyonunun üzerine düştüğü atom, iyon veya molekülün derişimi ile orantılı olarak değiştüğü Lambert - Beer tarafından ileri sürülmüştür. Lambert- Beer yasası olarak adlandırılan aşığıdaki eşitlikte aynı derinlikte bir çözeltilen geçen bir ışın demetinin şiddeti çözeltilenin derişimiyle orantılı olarak azalır.

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon l C} \quad (1.1)$$

Burada;

I = Numuneyi terk eden ışığın şiddeti

$I_0$  = Numune üzerine gönderilen ışığın şiddeti

$\epsilon$  = Molar absorpsiyon katsayısı

C = Absorpsiyon yapan türlerin derişimi

l = Işığın numune kabı içinde aldığı yoldur.

Eğer eşitliğin eksi logaritması alınırsa,  $\log \frac{I_0}{I} = \epsilon l C$  elde edilir. Burada  $\log \frac{I_0}{I}$  absorbans'dır ve A ile gösterilir. Bu durumda yukarıdaki eşitlik kısaca;

$$A = \epsilon l C \quad (1.2)$$

şeklinde gösterilir ve bu eşitlikten derişim kolaylıkla hesaplanabilir.

### 1.3.2 UV ve Görünür Bölge Spektroskopisi

Her madde üzerine düşürülen ışıklardan bazılarını absorplayabilir. Maddenin hangi dalga boylarındaki ışıkları absorplayacağı kendine özgüdür. Bundan yararlanılarak nitel analiz yapılabilir. Bir maddenin absorplayacağı ışın şiddeti ise madde miktarı ile orantılıdır. Bundan yararlanılarak da nicel analiz yapılabilir. Bu amaçla madde üzerine çok çeşitli enerjilere sahip ışınlar gönderilebilir. Madde ile etkileşen ışının enerjisi değiştiğinde madde ile etkileşim mekanizması da değişir. Buna bağlı olarak ölçüm tekniğinin de değişmesi gerekir. Bu nedenle elektromanyetik spektrumun tümü için ölçüm yapılabilecek tek bir cihazın bulunması mümkün değildir. Elektromanyetik spektrumun farklı bölgeleri için farklı cihazlar kullanılır. Dalga boyu 110 nm – 1000 nm arasındaki UV ve görünür bölge ışınları ile çalışılabilen cihazlara UV ve görünür bölge spektrofotometreleri denir. Bu bölgedeki ışınların absorplanmalarının ölçümlerini temel alan analitik yöntem de UV ve görünür bölge spektroskopisi denir. UV ve görünür bölge ışınları molekülün en üst enerji seviyesindeki bir elektronun daha yüksek bir enerji düzeyine geçiş yapmasını sağlar. UV ve görünür bölge ışınları, moleküllerde benzer etki yaptığı için birleştirilmişlerdir. Hem organik, hem de anorganik moleküller UV ve

görünür bölge ışınlarını absorplarlar. Her iki grup molekülde de ışın absorpsiyonu elektron geçişi ile gerçekleşmesine rağmen etkileşim mekanizmaları farklıdır. Organik moleküllerdeki absorpsiyon molekül orbital teorisine göre, anorganik moleküllerdeki absorpsiyon ise kristal alan teorisine göre açıklanır.

### 1.3.3. UV ve görünür bölge absorpsiyon spektrofotometreleri

Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyon spektrofotometresi adı verilir. Bir spektrofotometre düzeneği Şekil 1.5'te görüldüğü gibi başlıca ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi ve dedektörden oluşur. Dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür.



Şekil 1.5. Bir spektrofotometrenin temel bileşenleri

Bu ana bileşenlere ek olarak spektrofotometrelerde ışığı toplamak, odaklamak, yansıtma, iki demete bölmek ve örnek üzerine belli bir şiddette göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüler ve giriş ve çıkış aralıkları vardır. Örnek ise, kullanılan dalga boyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış küvet adı verilen örnek kaplarına konularak ışık yoluna yerleştirilir (Şener, 2006).

Deneyler sırasında araştırma laboratuvarımızda kullandığımız UV-Görünür alan cihazımız şekil 1.6' da verilmiştir.



Şekil 1.6. UV-Görünür alan spektrofotometresi

#### 1.3.4. Işın Kaynakları

Spektroskopik çalışma için uygun bir kaynak, kolayca belirlenebilecek ve ölçülebilecek yeterli güçte ışın demetleri oluşturmalıdır. Buna ek olarak ışın şiddetinin, belirli bir süre içinde sabit kalması gereklidir. Tipik olarak, kaynağın ışın gücü, güç kaynağının potansiyeli ile üstel olarak değişim gösterir. Bu yüzden kaynaktan sabit bir ışın gücü sağlamak için, potansiyelinin istenilen kararlılıkta tutulması gereklidir. Kaynaktan gelen ışın şiddetini çok iyi kontrol etmek yerine, çift-ışınlı cihaz tasarımı alternatif bir yoldur. Bu cihazlarda, numuneden geçen ışının şiddeti, numuneden geçmeyen ışının şiddeti ile kıyaslanır (Skoog, 1998).

Soğurma cihazlarında kullanılacak ışın kaynakları, tayin ve ölçüm için yeterli güçte olmalı ve sürekli, yani kullanılan bölgedeki bütün dalga boylarında ışın vermelidir. Görünür bölgedeki ışınları sağlamak kolaydır genelde yaklaşık 3000K'e ısıtıldığında akkor hale gelerek kara cisim ışıması yapan W-lambalardan yararlanır. Bu lambalar 320-2500 nm aralığında sürekli bir spektrum verirler. W-lambasının içine az miktarda  $I_2$  konulduğunda W-Halojen lambalar elde edilir çalışma sıcaklığı yüksek olduğu için kuartz sistem gereklidir. Bu lambaların ömürleri daha uzun olup ömürleri yaklaşık iki kat fazladır.

UV ışın kaynağı olarak düşük basınçlı hidrojen ya da döteryum boşalım lambaları kullanılır. Bunlar 180-375 nm aralığında sürekli spektrum verirler. D2 lambalarının kullanım aralığı H<sub>2</sub>-lambalarınki ile aynıdır, fakat ışın şiddeti daha yüksek olup yaklaşık üç katı kadardır. Xe-ark lambaları daha yüksek şiddetli ışınlar için kullanılabilir. Bu lambalar 250-600 nm aralığında sürekli spektrum verirler yalnız çok ısındıkları için cihazın diğer bölümlerinden izole edilmeli hatta soğutulmalıdırlar.

### **1.3.5. Dalga Boyu Seçiciler**

Nicel analizde belli bir dalga boyunda çalışarak Beer yasasına uyum sağlanmış olur, bu aralık maksimum soğurmanın olduğu aralık ise, duyarlık artırılmış olur ve diğer dalga boylarında soğurma yapan maddelerin girişimi engellenerek, seçimlilik artırılmış olur. Bu nedenle istenilen dalga boylu ışınları elde etmek için filtreler ve monokromatörlerden yararlanılır. Filtreler; renkli çözeltiler, renkli camlar, cut off (dalga boyu sınırlayıcı filtreler), interferans (girişim) filtreleri olup, monokromatörler; optik ağlar ve prizmalar şeklinde sınıflandırılabilir.

### **1.3.6. Örnek Kapları**

Çözelti için kullanılan kaplara sel ya da küvet denir. Bunlar çalışılan bölgedeki ışınları soğurmeyen geçirgen maddelerden yapılmalıdır. Bu nedenle  $\lambda < 350$  nm olan mor ötesi bölgede camdan değil kuartzdan yapılmış küvetler kullanılmalıdır. Bunlar 20nm-3 $\mu$ m dalga boyu aralığında kullanılabilirler. Silikat camlar ise 350nm-2  $\mu$ m bölgesinde kullanılabilir. Görünür bölgede kimi zaman plastikten yapılmış malzemelerde seçilebilir. Küvetler dikdörtgenler prizması şeklinde olup en çok kullanılanların genişliği 1cm'dir. Küvetlerin ışın doğrultusundaki yüzeyleri temiz olmalıdır. Kirlilik ve parmak izinin varlığı yanılırları artırır ve tekrarlanabilir ölçümler alınamaz.

### **1.3.7. Dedektörler**

Dedektörler, genelde foton dedektörleri ve termal dedektörler şeklindedir. Mor ötesi ve görünür bölgede en çok kullanılan foton dedektörleridir. Foton dedektörleri, ışın enerjisini elektrik enerjisine çevirip ölçüm yaparlar. Tümü ışınları soğuran aktif bir

yüzeyle sahiptir. Işınlar soğurulduktan sonra ya foto elektronlar oluşur ve yayımlanır ya da elektronlar iletkenlik bantlarına geçirilerek foto iletim olur. Foton dedektörleri; foto voltaik piller, foto tüpler, fotoiletken piller ve silisyum diyotlar şeklinde gruplanıp incelenebilir. İdeal bir dedektör;

- Duyarlılığı yüksek olmalı.
- Sinyal/gürültü oranı yüksek olmalı.
- Geniş bir dalga boyu aralığında spektral yanıtı sabit olmalı.
- Aydınlatma yokken çıkış sinyali en az olmalı, yani dark akım küçük olmalı.
- Yanıtlama süresi kısa olmalı.
- Alınan sinyal, ışın gücü ile doğru orantılı olmalıdır ( Henden, 2006).

### **1.3.8. UV ve görünür bölge moleküler absorpsiyon spektroskopisinin uygulamaları**

Bu yöntemin başlıca uygulama alanları şunlardır.

**1. Nitel Analiz:** Analizi yapılacak olan bilinmeyen madde saflaştırıldıktan sonra uygun bir çözücüde çözülerek spektrumu alınır. Bu spektrum bilinen bileşiklerin aynı koşullarda çekilmiş spektrumları ile karşılaştırılır. Bilinmeyen madde spektrumu kendisinininkine tam olarak uygun maddedir. Bu yöntem nitel analiz için çok uygun bir yöntem değildir. Çünkü moleküllerin absorpsiyon bantları oldukça geniştir ve bazı kromoforların absorpsiyon bantları birbiri ile örtüşebilir. Ayrıca moleküllerin UV ve görünür bölge absorpsiyon spektrumlarında çok az sayıda bant bulunur. Bu az sayıda bandın birbiri ile karşılaştırılarak karar verilmesi bazen hatalı sonuçlara yol açabilir.

**2. Nicel Analiz:** Işının absorplamasına dayanan analiz yöntemleri nicel analiz için oldukça yararlı ve güçlü yöntemlerdir. Bu yöntemlerin klasik yöntemlere göre önemli avantajları vardır.

- a) Analiz süresi kısadır. Sonuç çabuk alınır.
- b) Doğruluk derecesi yüksektir. Çoğunlukla analizlerdeki hata binde bir veya iki civarındadır.

- c) Oldukça duyarlı bir yöntemdir.  $10^{-8}$  M a kadar seyreltik çözeltilerin bile analizleri yapılabilir.
- d) Her maddenin kendine özgü bir absorpsiyon spektrumu olduğu için seçiciliği yüksektir. Çoğunlukla bir karışımdaki maddeler bir ön ayırma işlemine gerek kalmaksızın analizleri yapılabilir.
- e) Hem organik hem de anorganik pek çok molekül UV ve görünür bölge ışınları absorpladığından uygulama alanı geniştir (Şener, 2006).

#### **1.4 Kemometrik Yöntemler**

Kimyada ya da analitik kimyada verilerin işlenmesi ve istatistiksel değerlendirilmesi ile bu verilerin sağlandığı deney faktörlerinin araştırılması, optimize edilmesi, zaman tasarrufunun sağlanması ve kantitatif ölçümler için kalibrasyonların gerçekleştirilmesi için gerekli olan deneysel tasarımların hazırlanması kimyanın belki de en çok hesaplama ve modelleme çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu alanlarıdır. Temel kimya ve fizik bilgileri ile birlikte mühendislik ve hesaplama tekniklerine, matematik ve istatistik konularına dayanan kimyada verilerin işlendiği ve değerlendirildiği alan kemometri olarak bilinmektedir (Kitiş, 2011).

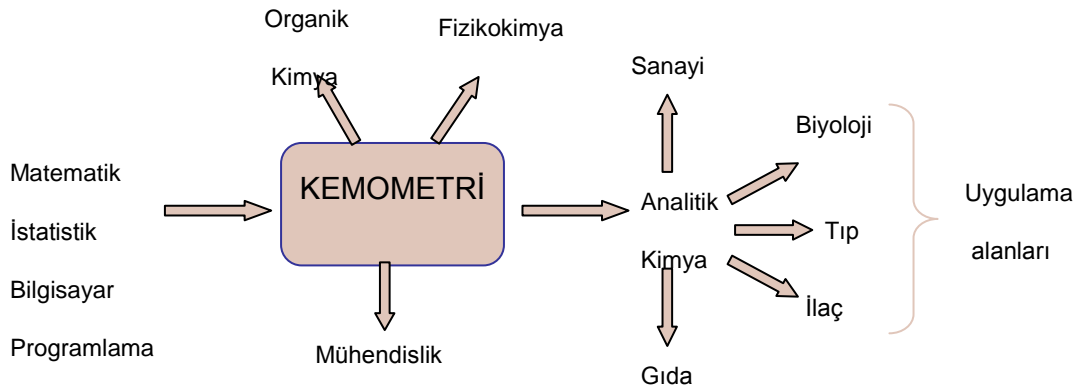
Günümüzde bilgisayar, yazılım, istatistik ve uygulamalı matematik alanlarındaki gelişmeler, kimya alanında, özellikle de analitik kimyada karmaşık sistemlerin çözümü için kemometri adı verilen yeni bir disiplinin doğuşuna neden olmuştur. Bu gelişmeler, analitik kimya ve komşu dallardaki araştırmacılara, analitik problemlerin çözümünde yeni olanaklar sağlayan çok boyutlu ve çok değişkenli parametrelerin kullanıldığı kemometrik yöntemlerle yeni çalışma alanları doğurmuştur. Kemometri, istatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanarak kimyasal verilerin işlenmesini kapsayan bir kimya disiplindir. Kemometri, kimyasal analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilginin ekstraksiyonunu veya saklı bilgilerin açığa çıkarılmasına olanak tanıyan güçlü bir araçtır. Kemometrinin temel uygulama alanlarından biri de analitik kimyadır.

Kemometri kavramı, 1972 yılında İsveçli Svante Wold ve Amerikalı Bruce R. Kowalski tarafından ileri sürülmüştür ve 1974 yılında uluslararası kemometri derneği tarafından bu disiplinin ilk resmi açıklaması yapılmıştır. Kemometri içerik olarak, tanımlayıcı ve

açıklayıcı istatistik (descriptive and inference statics), sinyal işleme (signal processing), deneysel tasarım (experimental design), modelleme (modeling), kalibrasyon (calibration), optimizasyon (optimization), yapı tanıma (pattern recognition), sınıflandırma (classification), yapay akıl yöntemleri (artificial intelligence methods), resim işleme (image processing), bilgi ve sistem kuramı (information and system theory) gibi kavram ve uygulamaları kemometrinin konularını oluşturmaktadır.

Günümüzde kemometrik yöntemlerin gelişmesiyle birden fazla etken madde içeren ürünlerin kantitatif analizi hiçbir kimyasal ön ayırma işlemi ve hiçbir grafik işlemi gerektirmeksizin hızlı, doğru ve hassas olarak gerçekleştirilmektedir. Bu durum kemometriye diğer yöntemlere göre büyük bir avantaj kazandırmıştır ve kemometrinin kullanım alanının geniş bir alana yayılmasını sağlamıştır.

Kemometri; analitik kimya, adli tıp, biyoloji, gıda kimyası, çevre kimyası, arkeoloji gibi alanlarda kullanılmaktadır. Fizikokimyacılar ve madde bilimciler, sinyal işleme ve çok değişkenli verilerin analizinde kemometrik yöntemleri uyguladıkları görülmektedir. Organik kimyacılar ve farmasotik kimyacılar, reaksiyon koşullarının optimizasyonunda deneysel tasarım ve ilaç tasarımında yapı etki ilişkisi çalışmalarında kemometrinin araçlarını kullanmaktadırlar (Vandeginste vd., 1998).



Şekil 1.7. Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler

Şekil 1.7' de görüldüğü gibi kemometrik çalışmalarda, analitik kimyacıların ve diğer ilgili disiplinlerin ihtiyaçları ölçüsünde uygulamalı matematik ve istatistik bilgisine sahip olmaları gerektiği açıktır. Burada programlama ve hesaplama çok önemlidir.

Kemometrik uygulamaların çoğu kompleks hesaplamalar içermektedir. Bu hesaplamaları elle veya basit hesap makineleriyle gerçekleştirmek mümkün olmadığı için bilgisayar programlarına ihtiyaç vardır. Kemometrik hesaplamalarda genellikle EXCEL, MATLAB, PANORAMA, MİNİTAB, XLSTAT, SOLO ve diğer paket programlar kullanılmaktadır (Dinç, 2009).

İki veya daha fazla aktif bileşiği içeren karışımlarda bu aktif bileşiklerin hiçbir ayırma işlemi kullanmaksızın analizi analitik kimyanın ve diğer komşu dalların temel problemlerinden birisidir. Karışım halindeki numunelerin analizi için çeşitli kromatografik ve spektrofotometrik yöntemlerin yaygın olarak kullanıldığı çalışmalarda da görülmektedir. Bazı durumlarda bahsedilen bu yöntemlerin de iyi sonuçlar vermediği de bir gerçektir. Sayılan bu nedenlerden dolayı daha düşük miktarlarda numunelerin analizi için gelişmiş analitik cihazlar geliştirilmesine rağmen klasik analitik cihazlardan elde edilen verilerin çeşitli matematiksel algoritmalara tabi tutularak yöntemlerin hassasiyeti ve sonuçların doğruluğu artırılmaya çalışılmaktadır.

#### **1.4.1. Çok Değişkenli Kalibrasyon Algoritmaları**

##### **1.4.1.1. Temel Bileşen Analizi Yöntemi (Principal Component Analysis (PCA) Method)**

çok bileşenli verilerle ilgili en önemli sorunlardan biri, orijinal verilerin tamamının desen ve ilişkilerinin görülmesini engellemesidir. Çok değişkenli analiz yöntemlerinin birçoğunun temel hedefi verilerin boyutunu küçültmektir. Temel bileşen analizi daha çok bileşenler arasında korelasyonun olmadığı durumlarda verilerin miktarını azaltmak için kullanılan bir tekniktir.

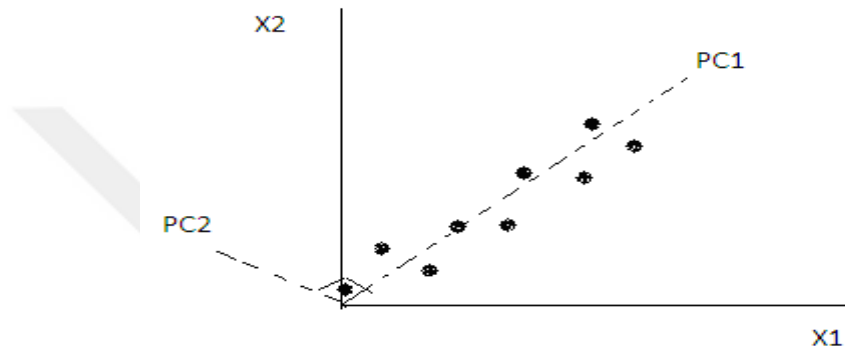
Temel bileşen analizinin dayandığı ana fikir, her bir numuneyi tanımlayan orijinal değişkenlerin,  $X_1, X_2, \dots, X_n$ , doğrusal kombinasyonu olan  $PC_1, PC_2, \dots, PC_n$  şeklindeki temel bileşenleri bulmaktır.

$$PC_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + \dots + a_{1n}X_n \quad (1.3a)$$

$$PC_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + \dots + a_{2n}X_n \quad (1.3b)$$

vb.

Esas bileşenler genellikle ortak varyans (kovaryans) matrisinden elde edilir. Ortak varyans, iki değişkenin birleşik varyansının bir ölçüsüdür. Matematiksel anlamda temel bileşenler (PC), ortak varyans matrisinin eigenvektör (özvektör) leridir ve bu vektörlerin bulunmasında kullanılan tekniğe eigen analizi adı verilir. Her bir esas bileşene( yani, eigen vektörüne) karşılık gelen eigen değeri, o esas bileşenle tanımlanan veri takımının varyansının miktarını gösterir. Esas bileşenler birbirine dik açı oluşturur(şekil 1.8). Bu özellik diksellik olarak adlandırılır (Uyanık, 2008).



Şekil 1.8. X1 ve X2 olan iki değişken için PC1 ve PC2 olan iki esas bileşeni gösteren diyagram (Uyanık, 2008).

#### 1.4.1.2. Temel Bileşen Regresyon Yöntemi (Principal Component Regression (PCR) Method)

Kemometrik kalibrasyon yöntemlerinden birisi olan temel bileşen regresyon yöntemi, derişim seti için ölçülen absorbans verilerinin dekompozisyonu ile birbirine dik (ortogonal) doğrular elde edilmesi esasına dayanır. Bu elde edilen doğrular kurulacak kalibrasyonun koordinat sistemidir.

Burada açıklanan PCR algoritması Martens ve Naes (1984) tarafından verilen şemaya göre açıklanmaktadır. PCR kalibrasyonu kurulmasındaki basamaklar aşağıdaki biçimdedir:

Analiz edilecek maddenin derişim ve absorbans verilerinin varyans-kovaryansı bulunur. Varyans-kovaryans saçılma matriksinin öz vektörleri ve öz değerleri hesaplanır. Seçilen

öz değere (eigenvalue) karşılık gelen öz vektör (eigen vector) kalibrasyonun lineer bileşenidir.

PCR algoritmasında genel lineer regresyon denklemi aşağıdaki biçimde yazılabilir:

$$C = a + b \cdot A \quad (1.4)$$

Burada C analiz edilecek maddenin derişimidir, a sabit sayı, b ise temel bileşenlerin ve C-loading matrisinin (q) çarpımından elde edilir:

$$b = P \cdot q \quad (1.5)$$

Burada P öz vektörlerin matrisidir. Öz vektörler kolon matrisi en uygun öz değere (faktöre) ya da öz değerlere (faktörlere) karşılık gelmektedir. Burada q vektörü C-loading olarak adlandırılır ve T (sayı matrisi) üzerinden C' nin regresyonu ile tayin edilir.

$$q = D \cdot T^T \cdot Y_0 \quad (1.6)$$

Burada D diagonal matris olup her bir öz değer tersine eşittir.  $t_1$  sayı matrisi aşağıdaki eşitlikten elde edilebilir:

$$t_1 = A_0 \cdot P_1 \quad (1.7)$$

Ortalanmış absorpsiyon ve derişim, AO ve CO ile gösterilebilir. Burada a sabiti genel lineer regresyon denklemi kullanılarak aşağıdaki eşitlikten hesaplanabilir:

$$a = C_0 - A^T_0 \cdot b \quad (1.8)$$

Her bir aşamada elde edilen değerler denklemde yerine konarak numunede bilinmeyen derişimi hesaplanabilir.

Yönteminin avantajları:

- i) Dalga boyu seçimi gerektirmez, genellikle bütün spektral alan ya da bu spektral alanın geniş bir bölgesi kullanılabilir.
- ii) Çok bileşen analiz için kullanılabilir.

- iii) PCR data işlemleri için ve kalibrasyondaki katsayılarının hesaplanmasında ILS regresyon işleminin kullanılmasına olanak tanır.
- iv) Analiz edilecek bileşenlerin bilinmesi şartıyla çok kompleks karışımlar için kullanılabilir.
- v) Bazen orijinal kalibrasyonkarışımlarında bulunan fakat numunede bulunmayan bileşenli numunelerin miktar tayininde kullanılabilir.
- vi) Kalibrasyon için ölçülen absorbanların dekompozisyon işleminde sonra uygun öz vektörlere karşılık seçilen öz değerlerin deneysel ortamdan ve ölçüm aletlerinden gelen gürültünün eliminasyonuna olanak tanır.

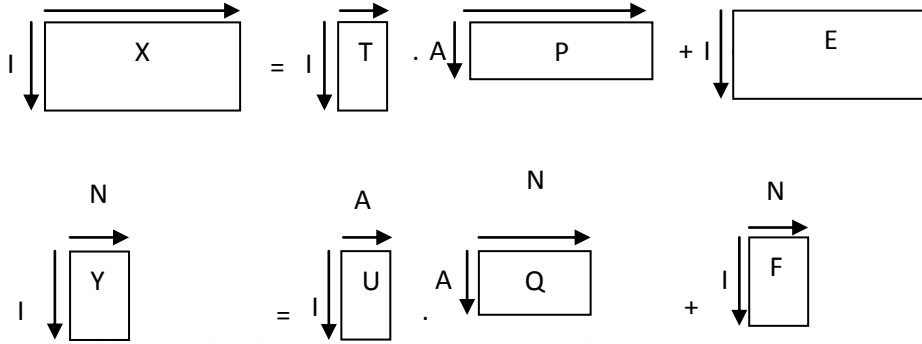
Yöntemin dezavantajları:

- i) Hesaplamalar klasik yöntemlere göre daha yavaştır.
- ii) Yöntemin optimizasyonu temel kalibrasyon komponentlerinin bazılarının bilinmesini gerektirir (anlaşılması ve yorumlanması çok kompleks modeller için).
- iii) Kalibrasyon için temel alınan vektörler analiz edilecek bileşenlere karşılık gelmeyebilir.
- iv) Genellikle çok sayıda kalibrasyon numunesinin kullanılması doğru bir kalibrasyon için gereklidir.
- v) Kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin derişimleri ile doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle zordur (Dinç, 2007).

#### **1.4.1.3. Kısmi En Küçük Kareler Yöntemi (Partial Least Squares Regression (PLS Method))**

Kemometrik kalibrasyonlardan en yaygın ve popüler olanı PLS yöntemidir. PLS yönteminde kalibrasyonun kurulması için kullanılan PLS algoritmalarına göre, ortogonalize edilmiş PLS algoritması (orthogonalized PLS algorithm) ve ortogonalize olmayan PLS algoritması (non-ortogonalized PLS algorithm) gibi ekilleri vardır. Ortogonalize PLS ve ortogonalize olmayan PLS kalibrasyonunun PLS1 ve PLS2 şeklinde iki tipi söz konusudur. PLS1 de bir bileşik model içerisinde iken; PLS2 de bütün bileşikler modele dahil edilmektedir.

Wold ve Martens tarafından verilen PLS algoritması en genel olanlarıdır. PLS kalibrasyonu, sayı vektörleri vasıtasıyla X- ve Y- blokları arasındaki ilişkiye dayanır. PLS algoritmasına göre sıfır etrafında merkezleştirilmiş X- değişkeninin matrisi ve sıfır etrafında merkezleştirilmiş Y- değişkeninin parçalanması aşağıdaki biçimde verilir.



Şekil 1.9. PLS2 kalibrasyonu.

$$X = T \cdot P^T + E \quad (1.9a)$$

$$Y = U \cdot Q^T + F \quad (1.9b)$$

$$Y = X \cdot B + F \quad (1.9c)$$

$$B = W (P^T \cdot W)^{-1} \cdot Q^T \quad (1.9d)$$

Burada X= bağımlı değişken (absorbans verileri), Y= bağımsız değişken (örneğin derişim), T= X için sayı matrisi, U= Y için sayı matrisi, P= X için yük matrisi, Q= Y için yük matrisi, E= X-kalıntı matrisi, F= Y-kalıntı matrisi, W=max (kovaryans (E,F) ).

PCR algoritmasında olduğu gibi bu katsayılar (B) lineer regresyon denkleminde yerine konursa analiz edilecek numunenin absorbans değerleri bu eşitlikte yerine yazılarak hesaplanabilir.

#### Yöntemin avantajları

- i) PLS kalibrasyon işlemi CLS ve ILS hesap tekniklerini kapsamaktadır.
- ii) Tek aşamalı bir dekompozisyon ve regresyon işlemi gerektirir, kalibrasyonda kullanılan öz vektörler analiz edilen bileşenler ile en geniş ortak spektral değişimin olduğu bölgede doğrudan ilişkilidir.

- iii)* Kalibrasyonlar genellikle kalibrasyon setinin bilinmeyen numunelerden beklenen değişik derişimler yansıması daha fazla güvenilirlik sağlayacaktır.
- iv)* Yalnızca analiz edilecek bileşenlerin bilinmesi şartıyla kompleks karışımlar için kullanılabilir.
- v)* Bazı durumlarda orijinal kalibrasyon karışımlarında bulunan fakat numunede olmayan bileşenli numunelerin miktar tayininde kullanılabilir.
- vi)* Bu tekniklerin hepsi spektral kantitatif analiz için uygulanırken literatürdeki sebepler genellikle PLS' nin tahmin gücünün yüksek olduğunu göstermektedir. Birçok durumda PLS metotları PCR' den daha iyi sonuçlar verir.

Yöntemin dezavantajları;

- i)* PLS hesaplamaları klasik metotlardan daha yavaştır.
- ii)* PLS modellerin anlaşılması ve yorumlanması zor olup son derece soyuttur.
- i)* genellikle çok sayıda numune için doğru bir kalibrasyon gereklidir.
- ii)* kalibrasyon numunelerinin hazırlanması bileşenlerin derişimleri ile doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle zordur (Dinç, 2007).

#### **1.4.2. Kalibrasyon (Derişim) setinin tasarımı**

Kemometrik (CLS, ILS, PCR, PLS) kalibrasyonlar için kalibrasyon seti ya rasgele (randomly) yada analizi yapılacak numunede yer alan maddelerin derişimlerini içerecek şekilde kalibrasyon (derişim) setinin tasarımı yapılır. Simetrik kalibrasyon setinin planlanmasında analiz edilecek maddelerin derişimleri, kalibrasyon setinin içinde ana kümenin permütasyonları şeklinde alt kümeler oluşturmalıdır. Kemometrik çalışmalarda rastgele kalibrasyon setinin hazırlanmasından ziyade, analiz edilecek maddelerin derişimlerine göre simetrik ve hataların minimize edilmesi açısından tercih edilecek bir durumdur. Çalışmalarda derişim seti hazırlanmasında, çeşitli tasarım şekilleri verilmekle birlikte rastgele hazırlanan derişim setleri de kullanılmaktadır.

### 1.4.3. Çapraz validasyon işlemi (Cross-validation procedure)

Kemometrik kalibrasyonların validasyonu için kalibrasyonu ve tayin basamaklarında kalibrasyonun standart hatası (Standard error of calibration→ SEC) ve tayinin (tahminin) standart hatası (Standard error of prediction→ SEP) gibi parametreler kullanılmaktadır. SEC ve SEP değerlerini minimum yapan kalibrasyon koşulları ve F-istatistiği kullanılır. Kalibrasyon performanslarını değerlendirmek için kemometrik kalibrasyonların SEC ve SEP değerleri yanında, bilinen ve tahmin edilen derişim değerlerinin lineer regresyon analizi yapılarak, korelasyon katsayısı, doğrunun eğim (m) ve kesim (n) değerleri kullanılır.

PCR ve PLS kalibrasyonlarının kurulmasında faktör seçimi için çapraz validasyon işlemi (Cross-validation procedure) kullanılır. Bunun için karelerin tahmin (tayin) hatalarının toplamı (prediction error sum of squares→PRESS) hesaplanır. Optimal faktör sayısını bulmak için önerilen kriterler minimum PRESS değeri ve F-istatistiğidir.

### 1.4.4. Varyans Analizi (ANOVA)

Varyans analizi tekniği kullanılarak grup ortalamaları arasındaki farklılığın veya farklı analitik yöntemler ile elde edilen analiz sonuçlarının ortalamaları arasındaki farklılığın önemli olup olmadığına bakılabilir. Bir araştırmada k tane işlemin ( veya k tane yöntemin) n tekrarının sonunda elde edilen veriler bir tabloda özet haline getirilir. Sonra kontrol ve karşıt hipotezi aşağıdaki şekilde kurulur.

H<sub>0</sub>: İşlemlerin temsil ettiği popülasyon ortalamaları arasındaki fark tesadüften ileri gelmektedir. İşlem ortalamaları arasındaki gözlenen fark sıfır kabul edilebilir:

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_k \text{ dir.}$$

H<sub>1</sub>: En az iki muamele grubunun ortalaması arasında gözlenen fark tesadüften ileri gelmektedir. En az iki işlem grubunun incelenen özellik üzerine olan etkileri birbirinden farklıdır, yani aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

Karşıt hipotez kurulurken en az iki işlem arasındaki fark önemlidir denilmektedir. Çünkü kontrol hipotezinin yapılan analiz sonucunda reddedilmesi için denemede dikkate alınan k tane işlemin birbirinden farklı olması gerekmez. En az iki işlem arasındaki farklılık kontrol hipotezinin reddedilmesine sebep olabilir.

Yapılan hipotez kontrolü sonucunda karşıt hipotez kabul edilmiş ise bu en az iki grup ortalaması arasındaki farklılığın önemli olduğu “çoklu karşılaştırma yöntemleri” kullanılarak araştırılır.

Gruplar arası, gruplar içi serbestlik dereceleri ve gruplar arası- gruplar içi kareler toplamı hesaplanır. Bu değerlerin oranlanmasıyla F değeri elde edilir. Elde edilen F değeri F değeri tablosundan ( $\alpha:0,05$ ) okunan değerle kıyaslanır (Dinç, 2009).

Çizelge1.3.Varyans analizi çizelgesi (ANOVA testi çizelgesi = Analysis Of Variation)

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F-değeri
Yöntemler arası (Gruplar arası)	k-1	$\sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2$	$\sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2 / (k-1)$	$F = \frac{\sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2 / (k-1)}{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{\bar{x}})^2 / (k(n-1))}$
Yöntemler içi (Gruplar içi)	k(n-1)	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{\bar{x}})^2$	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{\bar{x}})^2 / (k(n-1))$	
Genel varyasyon	nk-1	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{\bar{x}})^2$		

#### 1.4.5. Kemometrik Kalibrasyon Yöntemlerinin Uygulamaları

##### 1.4.5.1. Kemometrik yöntemlerin uygulama alanları

Analitik kimyadaki miktar tayini çalışmalarında, kemometrik kalibrasyon yöntemleri ya da çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri IR spektrofotometre, UV- görünür alan spektrofotometre, spektroflorimetre, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve kapiler elektroforez gibi analitik cihazlardan elde edilen analitik veriler uygulanmaktadır.

Analitik kimyanın prensip ve yöntemleri çok değişik komşu disiplin tarafından kullanılmaktadır. Bu da analitik kimyanın biyoloji, tıp, ziraat, gıda ve eczacılık gibi alanlarda geniş bir uygulama alanı olduğunu göstermektedir.

Analitik çalışmalarda kemometrik yöntemlerin uygulamaları anorganik analiz organik analiz, ilaç analizi, klinik ve biyolojik numunelerin analizi, gıda ve su analizleri, çevre analizleri ve stabilite tayinleri, çözünme hızı testleri şeklinde özetlenebilir.

#### **1.4.5.2. Çoklu bileşen analizi (Multicomponent analysis)**

Son yıllarda çoklu bileşen analizi, analitik kimyacılar için en önemli konulardan birisi oldu. Bu bağlamda, aynı anda miktar tayinlerinin klinik kimyası, ilaç analizi kirlilik kontrolü vb. gibi değişik disiplinler ile ilgili aktif bileşikleri içeren karışımların kantitatif analizi için oldukça kullanışlı olduğu kanıtlanmıştır. Çok değişkenli kalibrasyonların absorban sinyallerine uygulanmasıyla çok bileşen analizlerinden elde edilen sonuçların doğruluğu, yöntem ve kullanılan analitik sinyallere bağlıdır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Hallagan ve arkadaşları (1995), bu çalışmada belgelendirme dışında kalan gıda, ilaç ve kozmetikte kullanılan renklendiricilerin güvenlik ve yasal durumu üzerinde çalışmışlardır. Belgelendirme dışında kalan renk maddeleri (doğal renk maddeleri) ABD'de genellikle gıdalar, ilaçlar ve kozmetikte kullanılır. Bu renk katkı maddelerinin güvenli kullanımı yapılan toksikoloji test programlarıyla kanıtlanmıştır. Bu çalışmada belgelendirme dışında kalan ve ABD'de kullanımı onaylanmış olan renk maddelerinin güvenliğinde mevcut verilerle desteklendiği sonucuna varılmıştır.

Rastogi ve arkadaşları (1997), kozmetikte kullanılan organik renklendiricileri HPLC-diyot yakalayıcı dedektörle tayin etmişlerdir. Çalışmada organik kozmetik renklendiricileri için analiz metodu geliştirilmiştir. Renklendiriciler HPLC diyot yakalayıcı dedektörle 275-760 nm dalga boylarında analiz edilmiştir. Kromatografik ayırmalar polimer sıkıştırılmış kolon ve sitrat tamponundan oluşan mobil faz ile gerçekleştirilmiştir. Renklendiriciler alıkonma zamanları temel alınarak tespit edilmiştir. Katı faz ekstraksiyon metodu ile C-18 silika ve amino bağlı silika kullanılarak çeşitli türdeki kozmetik ürünlerine uygulanan metod geliştirilmiştir. Bu metod oje ve ruj içindeki renklendiricilerin belirlenmesi için rutin analizler için optimize edilmiştir.

Rafii ve arkadaşları (1997), yiyecekler, ilaçlar ve kozmetiklerde insan bağırsak sisteminde azo boyalar kullanılarak mutasyonlaşımına öncesinde ve sonrasında klastridyum türlerinin azalması üzerine çalışmışlardır. USFDA tarafından onaylanmış, yiyeceklerde, ilaçlarda ve kozmetiklerde kullanılan çeşitli azo boyaların anaerobik bakteriler tarafından bağırsak sisteminde indirgenmediğini görmüşlerdir. Azo boyaların yedi tanesi ve bunların indirgenme ürünlerini takip eden tasarlama bir klastridyum türüyle değerlendirilmiştir. Yedi tane azo boyanın indirgenme metabolizmalarını en yüksek 200 µg test etmişlerdir.

Wu ve arkadaşları 1999 yılında yaptıkları çalışmada, kozmetikler içindeki yasadışı katran azo boya bileşenlerini HPLC metoduyla tayin etmişlerdir. Yasadışı katran azo boyalar rapor edilen prosesle mukoz kozmetiklerin içine eklediklerinde güçlü toksiklik

görülmüştür. CNS'ye göre, mevcut metotlar organik renklendirici materyal analizleri içinde esas olarak filtre kağıdı kromatografisi ve ince katman kromatografisidir. Mukoz kozmetiklerin içinde bulunan renklendirici bileşenlerin ayrılma ve teşhisinde en uygun işlemin inceltilmiş HPLC olduğunu bu bulmuşlardır. Sonuçta analitik etkinlik ve duyarlık geniş ölçüde yenilenmiştir. HPLC metodu uygulamasıyla toplamda 22 yasaklanmış katran azo boya ları tatmin edici şekilde ayırmışlardır. Tayin sınırını genellikle 0,05 µg / mL bulmuşlardır.

Özgür ve Koyuncu 2002 yılında yaptıkları bu çalışmada, şurup ve tabletlerin içindeki kinolin sarısı ve güneş sarısını ikinci türev spektrofotometriyle eş zamanlı determinasyon yöntemiyle tayin etmişlerdir. Yiyecek azo boya ları, güneş sarısı ve kinolin sarısı çözülmüş iki bileşenli karışımlar için tanımlanmış, sıfırdan geçiş dalga boyunda çok basit spektrofotometrik metot kullanmışlardır. Güneş sarısının doğrusal kalibrasyon grafiğini 15,0 µg / mL ( $r = 0,9998$ ) ve kinolin sarısının doğrusal kalibrasyon grafiğini ( $r = 0,9999$ ) bulmuşlardır. İki ticari ürün içindeki azo boya ların belirlenmesinde, sentetik karışımlar ön ayrılma basamağı olmaksızın farklı oranlarda bu metotla başarıyla uygulamışlardır.

Yoshioka ve Ichihashi (2008), Yüksek performans sıvı kromatografi ile kısa kolon ve foto diyet dedektörü kullanarak içecekler ve şekerlerde kullanılan 40 gıda renklendiricisini tespit etmişlerdir. Bu yiyecek ve içeceklere 5 µg/g renklendirici eklenmiş, %76,6 ve %115 aralığında geri kazanım sağlanmıştır. Rölatif standart sapma değerleri %6'yı geçmemektedir. Tayin limiti ve tayin sınırı sırasıyla 0,03 ve 0,1 µg/g'dır. Sonuç olarak, yapılan analizlerin güvenilir ve tekrar üretilebilir sonuçlar verdiği, rutin analizler için kısa sürede analiz edilme imkanının olduğu görülmüştür.

Wang ve Huang (2009), kozmetik ürünlerinde voltametrik azo boya larının davranışlarını ve bu boya ların saptanması üzerinde araştırmalar yapmışlardır. Bu çalışmada camı karbon elektrotta azo boya larının voltametrik davranışları çeşitli destekleyici elektrolit ihtiva eden bir sulu ortamda araştırılmıştır. Olası reaksiyon mekanizmaları, tarama hızı, pik potansiyelleri ve akımların reaksiyonları tartışılmıştır. Kozmetik ürünlerdeki Lithol Rubine B azo boya lar kantitatif belirleme için elektro

indirgeme işlemine tabi tutulmuştur. Yüksek performanslı sıvı kromatografisiyle elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında uyum göstermiştir.

Amin ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada, kozmetikte ve gıdalarda kullanılan azo boyalarının genç erkek farelerde böbrek, karaciğer, oksidatif stres biyo işaretçileri, kan şekeri, vücut kilo alımı ile ilgili biyokimyasal parametreler üzerine toksik etkisini araştırmışlardır. Doku örnekleri toplandıktan sonra boyalar otuz gün boyunca farelere ağızdan verilmiştir. Veriler kontrol fareleri ile karşılaştırıldığında boyar maddelerin sadece yüksek dozlarda değil, düşük dozlarda da karaciğer gibi hayati organlara etkisi belirlenmiştir.

Llompart ve arkadaşları (2013), kozmetik, sentetik kokular ve kişisel bakım ürünlerindeki matris-katı faz çözelti gaz kromatografi - kütle spektrofotometri yöntemiyle plastikleştirici analizleri üzerine çalışmışlardır. 18 plastikleştirici, 7 polislik kokular ve 5 nitro kokular; toplamda 30 tane olmak üzere analizleri için, matris katı faz çözelti ve gaz kromatografi - kütle spektrofotometri kullanmışlardır. Dizobütil ftalat, dibütil ftalat, dimetoksietil ftalat, benzilobütil ftalat, dietilhekzil ftalat, dizopentil ftalat, dipentil ftalat, misk amberi ve tibeten miski gibi yasaklı maddeleri, kişisel bakım ürünlerinin 16 tanesinde bulunduğunu onaylamışlardır.

Xian ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları bu çalışmada, kozmetikler içindeki yasaklanmış 11 adet azo boyayı yüksek performans likit kromatografi / kütle spektrofotometriyle eş zamanlı determinasyonla tayin etmişlerdir. Göz farı, ruj, dudak parlatici ve diğer kozmetikler içindeki suda çözünen renklendiriciler (tartrazin, mor boya, güneş sarısı, parlak mavi) basit, hızlı ve duyarlı bir metot olan yüksek performans likit kromatografi / kütle spektrofotometri yöntemiyle eş zamanlı determinasyonla araştırmışlardır. Koşullar numune hazırlama ve ayrılma için en uygun şekilde kullanılmıştır. Ultra yüksek performanslı likit kromatografi ayrılmada, mobil faz olarak asetonitril - su kullanmışlardır. Araştırılan azo boyaların gösterdiği büyük pik 4 dakikada sonuçlanmıştır. Kozmetikler içindeki yasaklı azo boyaları hızlı ve güvenli teknik olan UPLC / MS - MS metoduyla eş zamanlı determinasyonla sürekli sonuçlar elde etmişlerdir.

Celerio ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları bu çalışmada, kişisel bakım ürünlerinde, koku allerjenleri ve koruyucular için mikromatris – katı faz dağılımı baz alarak birden fazla analit yöntem geliştirmişlerdir. 38 adet kozmetik ürünlerin içinde bulunan maddeler, 25 koku allerjenleri ve 13 katkı maddeleri için, hızlı ve eş zamanlı determinasyon yöntemi olan matris katı faz dağılımı ve bunu takip eden gaz kromatografi – kütle spektrofotometri; etkin, basit ve düşük maliyetli numune hazırlama metoduna dayanarak geliştirmişlerdir. Sonuçta triklosan, izin verilmiş örnekler içindeki, toplam paraben konsantrasyonunun, maksimum konsantrasyon limitinin Avrupa tarafından onaylanmış kurallarla örtüşüğünü bulmuşlardır.

Rivera ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları bu çalışmada, kişisel ürünler içindeki kozmetik koruma maddelerinde istenmeyen ürünlerin teşhisinde katı faz mikro ekstraksiyon ve mikro matris katı faz ayırma yöntemini kullanmışlardır. Kozmetik koruyucuların içerdiği benzoat, paraben ve triklosan fotokimyasal dönüşüm büyük ölçüde kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışmada yenilikçi bir çift yaklaşım strateji uygulamışlardır : Sulu ışıltı bozulma deneylerinde dönüşüm ürünlerinin teşhisi, UV - Işıltılanmış kozmetik örneklerde foto ürünler gibi hedeflenmiş ayırma analizleri. Bu çalışmada ilk seferde fotoformasyonla 2, 4 -hidroksibenzofenonlar ve 2,8 -diklordibenzo p-dioksin gibi fotoürünler rapor etmişlerdir.

Guerra ve arkadaşları (2015), kozmetik ürünlerdeki azo boyalarının mikro matris katı faz çözelti ve sıvı kromatografiyle birleştirilmiş kütle spektrofotometri yöntemiyle determinasyonu üzerine çalışmışlardır. Kişisel bakım ürünleri ve dekoratif ürünlerdeki 9 adet suda çözünen azo boyalar mikro matris katı faz çözelti tarafında takip eden likit kromatografi - kütle spektrofotometriyle basit, hızlı ve eş zamanlı determinasyonla tayin etmişlerdir. Sonuçta 24 örneğe (kozmetikler ve kişisel bakım ürünleri, rujlar, parlaticılar, şampuanlar, göz farları, diş macunları gibi) valide edilmiş metodu uygulamışlardır. Örneklerin %50'den fazlasının en az iki azo boya içerdiğini bulmuşlardır.

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyal**

Bu çalışmada, UV/VIS spektrofotometrisi ile iki bileşenli bir makyaj malzemesindeki renklendirici maddelerin nicel olarak tayini yapılmıştır. Elde edilen veriler, PCA, PCR ve PLS gibi kemometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir. Spektrofotometrik ölçümlerle çözücü olarak toluen kullanılarak Kinolin Sarısı (KIN) ve İndigotine (IND) çözeltileri hazırlanıp spektrumları okunmuştur. Bu işlem için önce tek tek sonra farklı oranlarda hazırlanan sentetik karışımların spektrumları alınmıştır. Son işlem olarak da piyasadan alınan ruj örneğinde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen veriler lisansı elimizde bulunan MİNİTAB 16 istatistik programıyla değerlendirilmiştir.

#### **3.2. Kullanılan Cihazlar**

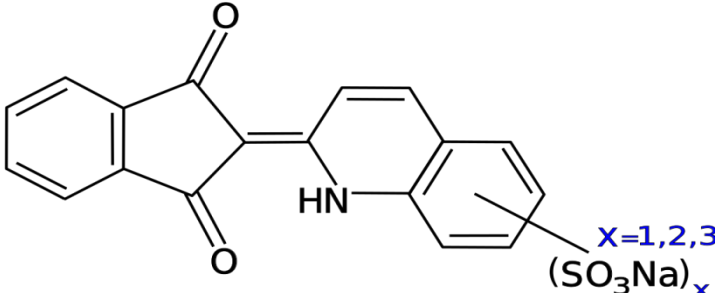
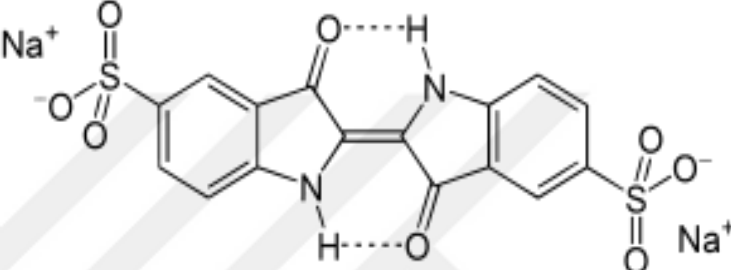
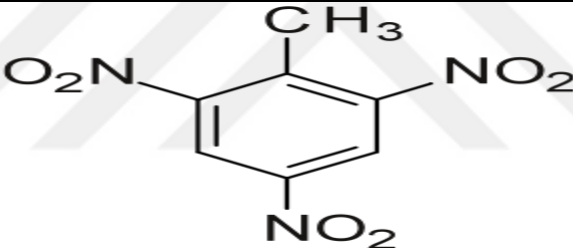
##### **3.2.1. UV-Görünür Spektrofotometre Cihazı**

UV-Vis spektrumları, bilgisayar tarafından kontrol edilen 1 cm uzunluğundaki hücre ile donatılan UV 1700 PHARMASPEC SHIMADZU spektrofotometresi kullanılarak not edilen spektrum değerleri makyaj örneğindeki KIN ve IND miktarını belirlemek için kemometrik metotlara uygulanmıştır.

#### **3.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Deneyleerde analitik saflıkta olan kimyasallar kullanılmıştır. Bu kimyasallar Çizelge 3.1' de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Bileşiğin Adı	Bileşiğin Formülü
Kinolin sarısı	
İndigotine	
Toluen	

### 3.3.1 Kullanılan Çözeltiler

Çalışmada spektrofotometrik ölçümler için KIN ve IND maddelerinin 100 ppm olacak şekilde stok çözeltileri hazırlanmıştır.

#### Stok Kinolin Sarısı Çözeltisi

Kinolin Sarısı maddesinden 10 mg tartılarak bir miktar toluen çözüldükten sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

## **Stok Indigotine Çözeltisi**

Indigotine maddesinden 10 mg tartılarak bir miktar toluen çözüldükten sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

## **Analiz edilen bileşiklerin ticari preparatı**



Şekil 3.1. KIN ve IND boyar maddelerini içeren piyasadaki makyaj malzemesi

## **Ticari numune**

Ticari olarak satın alınan makyaj malzemesi uygun şartlarda önce rendelendi ve rendelenen örnekten 0,01 gramlık kısım alınarak bir miktar toluen de çözüldü. Homojen bir çözelti elde etmek amacıyla yarım saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı. Çözelti daha sonra süzülüp süzgeç kâğıdında kalan kısım 3 kez 10 mL toluen ile yıkandı ve hacim 100 mL'ye tamamlanıp daha sonra çalışılacak olan aralığa seyreltildi.

### 3.4. Yöntem

#### 3.4.1. UV/VIS Spektroskopisi Yöntemi

Bu çalışmada, spektrofotometrik ölçümlerle makyaj ürünlerinde bulunan renk verici maddelerin stok çözeltilerinin spektrumları okunmuştur. Bu işlem için önce tek tek sonra farklı oranlarda hazırlanan sentetik karışımların spektrumları alınmıştır. Son işlem olarak da makyaj örneğinde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen veriler, farklı kemometrik yöntemlerle değerlendirilmiştir. İlk basamakta, UV spektrofotometre cihazının kalibrasyonu (sıfırlama işlemi) yapılmıştır. Kalibrasyon işlemi önce her iki hücre boş bırakılarak havaya karşı yapılmıştır. Sonra aynı işlem bu kez her iki ışık yoluna toluen ile hazırlanan kör numunesi konularak yapılmıştır. Bütün okumalarda hep kör bu şekilde hazırlanmıştır. Kör olarak sadece toluen kullanılmasının nedeni bu çalışmada genel olarak çözücümüz toluen olduğu içindir. Kör seçimi yapılırken girişim etkilerini yok etmek için, kör olarak çözücü tercih edilmiştir. İkinci basamakta, saf renk verici maddelerin tek tek spektrumları alınmıştır. Bu işlem esnasında stok renk verici maddelerin derişimleri 0,1- 10 ppm arasında olacak şekilde saf maddeler stoklardan alınarak toplam hacim 25 mL ye tamamlanarak çözeltileri hazırlanmış ve UV spektroskopisinde absorbans okumaları yapılmıştır. Üçüncü basamakta, her bir madde ayrı bir dalga boyunda maksimum verdiğiinden saf renk verici maddelerden oluşturulan sentetik karışımların UV spektroskopisinde absorbans okumaları yapılmış ve birbiri yanında herhangi bir ön ayırma işlemine gerek olmaksızın incelenmiştir. Son basamakta ise, piyasada satılan makyaj malzemesindeki renk verici maddelerin çözeltileri incelenmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Kemometrik kalibrasyonların KIN ve IND bileşiklerinin analizine uygulamasında üç farklı kemometrik yöntem geliştirildi. Bunlar PCA, PCR ve PLS kalibrasyon yöntemleridir. Kemometrik yöntemlerin uygulaması için spektral koşullar optimizasyonu ve optimal kalibrasyon setinin hazırlanması için ön çalışmalar yapıldı.

Saptanan spektral koşullarda kalibrasyon setinin ve numunelerin 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı ve kemometrik kalibrasyonlar KIN için 390-440 nm ve IND için ise 570-640 nm dalga boyu bölgesindeki bütün absorbans değerlerinin vektörel ölçümleri kullanılarak elde edildi. Kemometrik algoritmalarla hesaplanan PCA, PCR ve PLS kalibrasyonları yapay ve makyaj ürününün analizinde uygulandı.

##### 4.1. UV Spektroskopisi

Önce her bir renk hammaddesinin saf halde 100 ppm standart çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra 0,1-12 ppm arasında saf maddeler stoklardan alınarak toplam hacim 25 ml'ye tamamlanmıştır. Bu işlem sonrası absorbanslar ölçülerek kaydedilmiştir. Her bir renk maddesinin derişimleri ppm olarak hesaplanmış ve absorbanslardan yararlanılarak molar absorpsiyon katsayıları belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Renk maddelerinin spektroskopik özellikleri

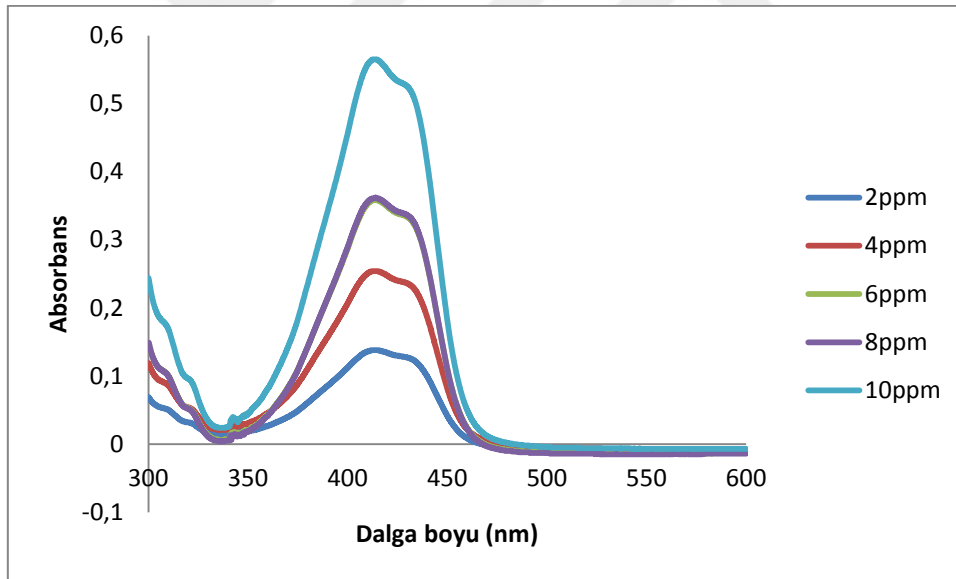
İlaç Maddesi	Aktif Maksimum Absorbans	Molar Katsayısı	Abs. Kalibrasyon denklemleri	Korelasyon katsayısı
Kinolin Sarısı (KIN)	408,4 nm	$2,23 \cdot 10^3$	$y=0,0514x+0,0361$	0,9993
Indigotine (IND)	612 nm	$5,26 \cdot 10^3$	$y=0,558x+0,0418$	0,9994

Her bir renk maddesinin önce tek tek spektrumları alınır. Bu spektrumlar alınırken derişim aralıkları KIN için 2 – 10 ppm ve IND için ise bu değerler 0,1 – 0,5 ppm arasındadır. Bu derişim aralıkları tayini yapılan her bir renk maddesi için lineer doğrusallığın olduğu bölgelerdir.

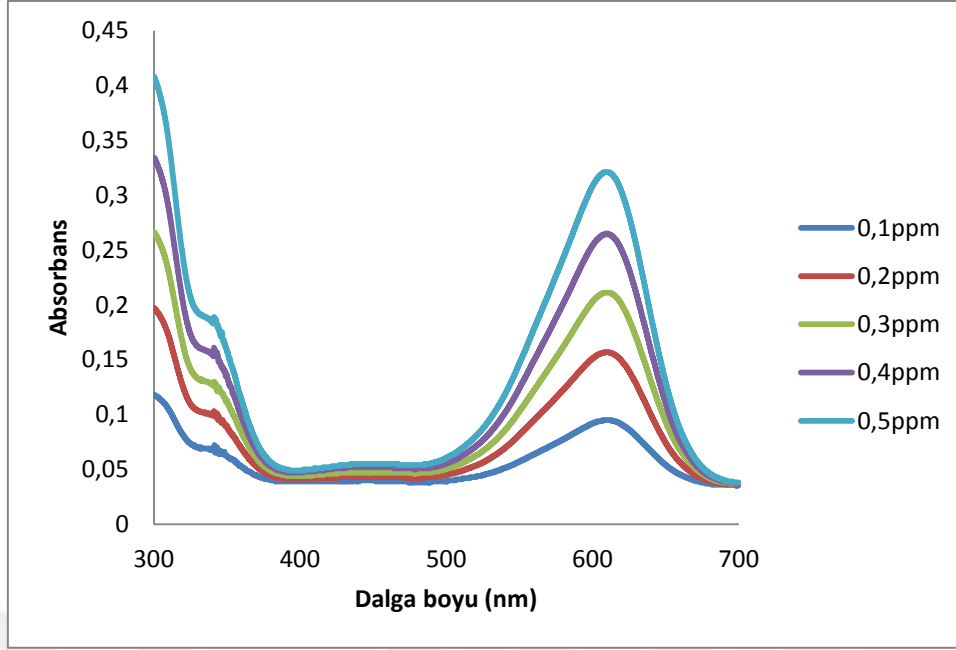
#### 4.1.1. Saf halde KIN ve IND nin spektrumları

KIN ve IND maddeleri Çizelge 4.1'de de görüldüğü üzere ayrı dalga boylarında maksimum absorbands vermektedirler.

Bu özellikten yararlanılarak bir sonraki aşamada bu iki renk maddesinin sentetik karışımları hazırlanmış ve bunlar birbiri yanında herhangi bir ön ayırma işlemi yapmaksızın tayin edilmişlerdir. KIN ve IND renk maddeleri sürekli spektrum göstermekte ve üst üste örtüşen spektrumlar gözlenmektedir.



Şekil 4.1. KIN maddesinin absorpsiyon spektrumu



Şekil 4.2. IND maddesinin absorpsiyon spektrumu

Kemometrik kalibrasyonların KIN ve IND bileşiklerinin analizine uygulamasında üç farklı kemometrik yöntem geliştirildi. Bunlar PCA, PCR ve PLS kalibrasyon yöntemleridir. Kemometrik yöntemlerin uygulaması için spektral koşullar optimizasyonu ve optimal kalibrasyon setinin hazırlanması için ön çalışmalar yapıldı.

Saptanan spektral koşullarda kalibrasyon setinin ve numunelerin 300-700 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alındı ve kemometrik kalibrasyonlar KIN için 390-440 ve IND için ise 570-640 nm dalga boyu bölgesindeki bütün absorbans değerlerinin vektörel ölçümleri kullanılarak elde edildi.

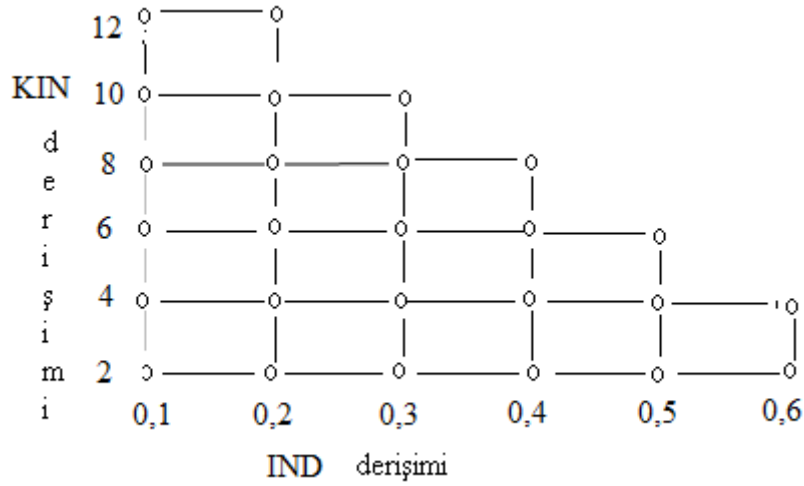
#### 4.2. Kalibrasyon setinin hazırlanması

Kemometrik kalibrasyonlar için Toluen içerisinde KIN için 2-10 µg/mL ve IND için 0,1-0,5 µg/mL derişim aralığında her iki bileşiği içeren 25 değişik kompozisyonda simetrik bir kalibrasyon seti hazırlandı. Çizelge 4.2. de hazırlanan kalibrasyon seti sunulmaktadır.

Çizelge 4.2. KIN ve IND analizi için kalibrasyon seti

Kalibrasyon Seti		
Derişim ( $\mu\text{g/mL}$ )		
No	KIN	IND
1	2	0,1
2	2	0,2
3	2	0,3
4	2	0,4
5	2	0,5
6	2	0,6
7	4	0,1
8	4	0,2
9	4	0,3
10	4	0,4
11	4	0,5
12	4	0,6
13	6	0,1
14	6	0,2
15	6	0,3
16	6	0,4
17	8	0,1
18	8	0,2
19	8	0,3
20	8	0,4
21	10	0,1
22	10	0,2
23	10	0,3
24	12	0,1
25	12	0,2

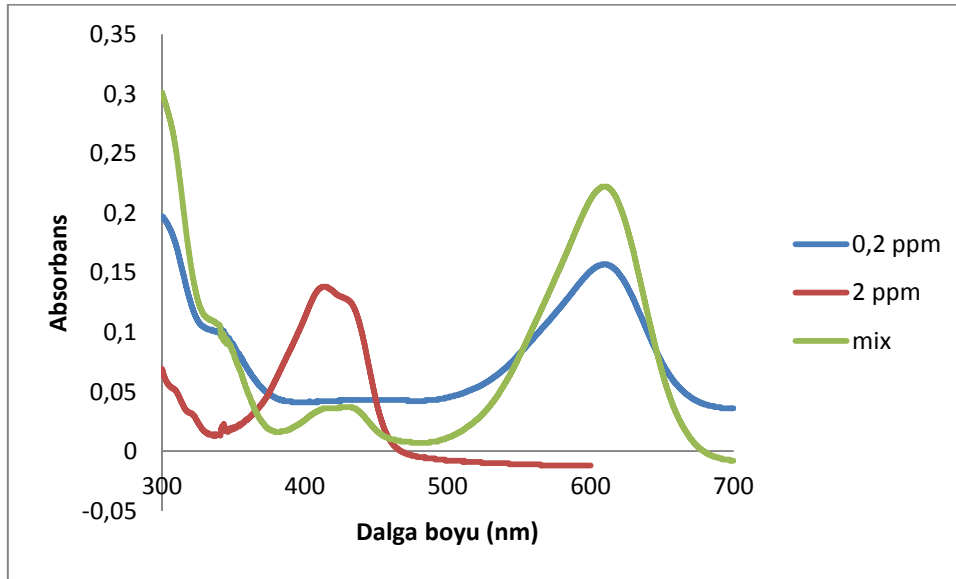
Kalibrasyonlar için rastgele kalibrasyon seti yerine simetrik kalibrasyon seti tercih edilmiştir. Bunun sebebi analiz esnasında meydana gelebilecek kalibrasyon hatalarını minimize etmektir. Çizelge 4.2. deki simetrik kalibrasyon setinin iki boyutlu düzlemdeki projeksiyon grafiği Şekil 4.3 de görölmektedir.



Şekil 4.3. Simetrik kalibrasyon setinin iki boyutlu düzlemdeki grafiği

### 4.3. Spektral Koşulların Optimizasyonu

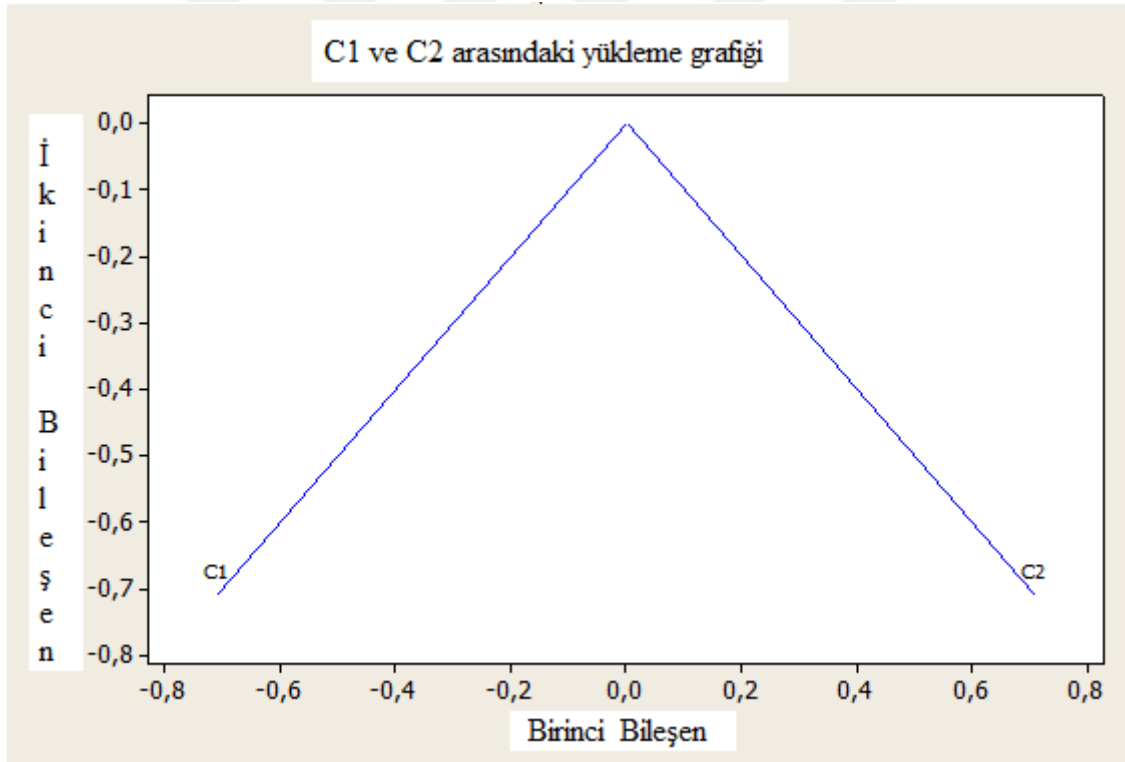
Spektrofotometrik çalışmalarda KIN ve IND için Toluen çözücüsünün uygun çözücü olduğu saptandı. Toluen içerisinde KIN ve IND bileşikleri ile karşılık gelen karışımının 300-700 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı (Şekil 4.4.). Şekil 4.4. den de görüldüğü gibi her iki bileşik aynı dalga boyu aralığında girişim yapmaktadır. Bu nedenle klasik spektroskopik yaklaşımlarla her iki bileşiğin aynı anda miktar tayinleri mümkün değildir.



Şekil 4.4. KIN (2 µg/mL) ve IND (0,2 µg/mL) ile iki bileşiğe karşılık gelen karışımın absorpsiyon spektrumları (Toluen içerisinde)

#### 4.3.1. Temel Bileşen Analizi (PCA)

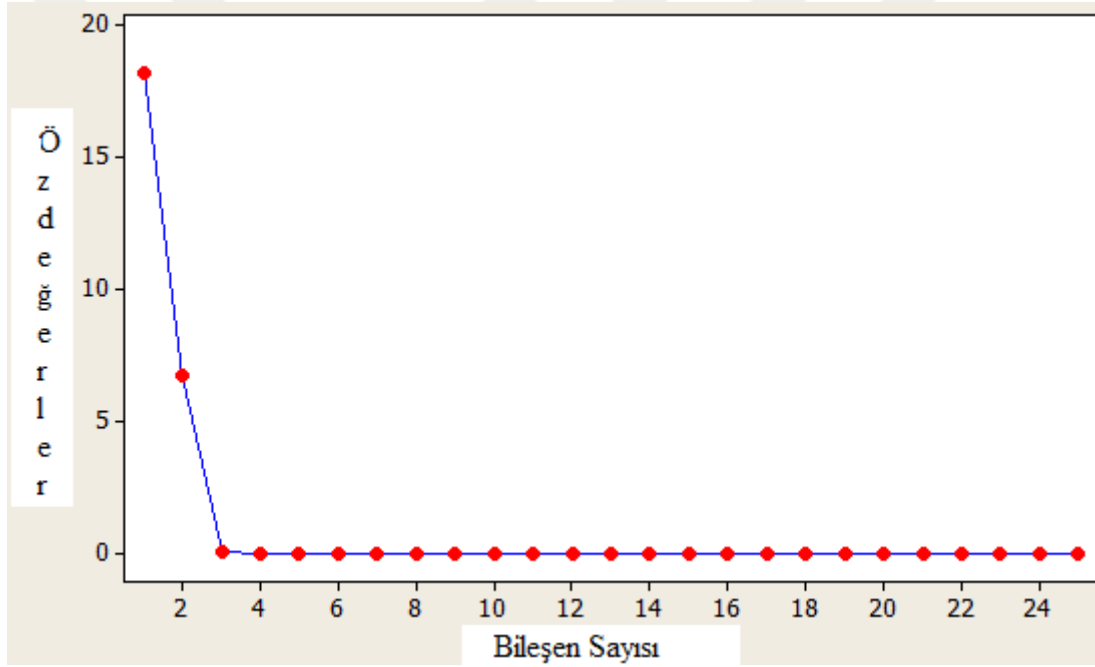
Sentetik çözeltilerde hesap yaparken programın kendi içinde ilk yaptığı işlem temel bileşen analizi yapmaktır. Temel bileşen analizi uygulanmasının amaçları, bir orijinal değişkeni temsil eden  $n$  sayıda orijinal aksı (doğruyu) yeni akslar haline dönüştürmektir. Bu dönüşüm işleminde yeni akslar, verilerin maksimum varyans yönelimleri boyunca uzanır ve yeni aksların özelliği, ortogonal olmalarıdır ve bu yeni değişkenler arasında korelasyon yoktur. Numune verilerinin varyansının çoğunu açıklamak için ihtiyaç olan yeni değişkenlerin sayısı ( $p$ ),  $n$  sayıdaki orijinal akslardan daha azdır. Temel bileşen analizi, çok değişkenli verilerin boyutunu indirgemek veya verileri azaltmak için bir yöntem olarak kabul edilir. Aynı zamanda değişkenlerin doğrusal bileşenlerini ortaya çıkarır.



Şekil 4.5. Değişkenlerin doğrusal bileşenleri

Şekil 4.5' e bakıldığında programa yüklediğimiz verilerden birinci temel aks ve ikinci temel aks üzerinden doğrusal bileşenler bulunmuştur. İşlemlerin doğruluğu ölçüsünde doğrusal bileşenler elde edilmiştir. Bu grafik varyans-kovaryans matrisinin elemanlarının orijinin merkezine olan büyük aks birinci temel bileşeni (C1) ve bu

bileşene 45 °C lik açı ile ikinci temel bileşen (C2) uzanmaktadır. Bir kare matris için, varyans-kovaryans matrisinin elemanları koordinat sisteminin orijini boyunca uzanır. Büyük aksın eğimi, birinci temel bileşen ile birleştirilmiş özvektör (eigenvector)dür. Bu “özvektöre” karşılık gelen “özdeğer” (eigenvalue) Şekil 4.5’ teki büyük aksın uzunluğudur. Şekil 4.6’ da özdeğerlerin grafiği görülmektedir. Özdeğerlerin simetrik bir veri matrisinden çıkarılması kısmi en küçük kareler yöntemi ve temel bileşen analizi için önemlidir. Özdeğerler ve özvektörler elde edildikten sonra yapılacak işlem diğer kemometrik hesaplamalara geçiştir. Temel bileşen analizi ile elde edilen temel bileşenler yardımıyla oluşturulan korelasyon matrisi diğer kemometrik regresyonlara (PLS, PCR ) ışık tutmaktadır.



Şekil 4.6. Kemometrik verilerden elde edilen özdeğerlerin grafiği

Şekil 4.6’ da belirgin bir şekilde görüldüğü gibi özdeğerler 1. değerden 2. değere doğru düşmüştür. İlk iki faktör, toplam varyansın % 99’undan daha fazla güvenilirdir.

#### 4.3.2. Temel Bileşen Regresyonu Yöntemi (PCR)

PCR yöntemi kalibrasyon seti için ölçülen absorbans matrisinin parçalanmasıyla elde edilen temel bileşen regresyonuna dayalı bir yöntemdir. Yöntemin algoritması Bölüm 1.4.1.2’ de ayrıntılı olarak verilmiştir.

PCR kalibrasyon için hazırlanan kalibrasyon setinin 390 – 640 nm dalga boyu aralığında  $\Delta\lambda= 1,0$  nm aralıklarla absorbans değerleri okundu. Bölüm 1.4.1.2. de açıklanan PCR algoritmasına göre kalibrasyon setinin absorbans ve derişim değerlerinin varyans-kovaryans matrisleri hesaplandı. Kalibrasyon seti için absorbansların varyans-kovaryans matrisinin dekompozisyon işlemine tabi tutulmasından sonra derişimleri arasındaki matematiksel ilişkiye dayalı PCR kalibrasyonu kuruldu. Renk maddelerini içeren karışımların yukarıda belirtilen dalga boylarındaki absorbans değerleri okunarak PCR kalibrasyonunda bu etken maddelerin miktar tayinleri gerçekleştirildi. PCR kalibrasyonu için Minitab 16 programında ilk olarak PCA değerleri hesaplanarak aşağıdaki çıktı elde edildi.

#### Korelasyon Matrisinin Özdeğerleri

Özdeğer	18,198	6,725	0,074	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
Oran	0,728	0,269	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Toplam	0,728	0,997	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Özdeğer	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Oran	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Toplam	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Özdeğer	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Oran	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Toplam	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Değişken	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
C3	0,218	-0,141	0,233	-0,322	0,401	0,335	-0,038	-0,244	0,016
C4	0,215	-0,149	0,297	-0,239	0,174	0,077	-0,106	0,070	-0,073
C5	0,215	-0,149	0,355	-0,121	-0,020	0,193	0,003	0,097	-0,093
C6	0,216	-0,146	0,350	0,117	-0,290	0,004	0,166	-0,065	0,284
C7	0,217	-0,144	0,313	0,176	-0,187	-0,229	0,093	0,237	-0,032
C8	0,218	-0,138	0,255	0,142	-0,096	-0,220	-0,016	-0,001	-0,068
C9	0,221	-0,127	0,041	0,225	0,095	-0,327	-0,230	-0,200	-0,016
C10	0,222	-0,123	-0,156	0,408	0,254	-0,005	0,197	-0,276	-0,378
C11	0,223	-0,119	-0,202	0,273	0,039	0,090	-0,107	0,099	-0,008
C12	0,223	-0,119	-0,234	0,277	0,081	0,280	-0,243	0,445	0,210
C13	0,223	-0,114	-0,244	0,110	-0,186	0,260	0,295	-0,010	-0,194
C14	0,226	-0,101	-0,229	-0,054	0,011	-0,078	-0,008	-0,324	0,516
C15	0,229	-0,080	-0,232	-0,127	-0,106	0,051	-0,108	0,008	-0,117
C16	0,232	-0,046	-0,215	-0,183	-0,349	0,116	-0,053	-0,243	0,054
C17	0,234	-0,000	-0,188	-0,320	-0,013	-0,428	-0,440	0,008	-0,120
C18	0,231	0,066	-0,146	-0,348	-0,135	-0,002	0,129	0,412	-0,113
C19	0,218	0,143	-0,117	-0,233	0,183	0,030	0,335	-0,069	-0,053
C20	0,194	0,216	-0,044	0,023	0,272	-0,106	0,342	0,127	0,433
C21	0,170	0,265	-0,005	-0,002	0,108	-0,343	0,188	0,280	-0,000
C22	0,147	0,300	0,038	0,036	0,189	-0,161	0,066	-0,160	-0,278
C23	0,127	0,324	0,074	0,105	0,138	0,168	-0,176	0,085	-0,068
C24	0,112	0,338	0,100	0,149	0,080	0,116	-0,389	-0,073	0,188
C25	0,106	0,344	0,104	0,109	-0,079	0,274	-0,141	0,061	-0,133
C26	0,111	0,339	0,092	0,051	-0,162	0,027	0,079	-0,178	0,154
C27	0,135	0,315	0,053	-0,007	-0,448	0,059	0,000	-0,186	-0,124

Değişken	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15	PC16	PC17
C3	0,063	0,161	-0,038	0,134	-0,177	0,138	-0,041	-0,191

C4	-0,252	0,064	-0,233	-0,015	-0,142	0,019	0,161	-0,003
C5	0,068	0,019	0,064	-0,302	0,454	0,133	-0,013	0,285
C6	0,061	-0,174	0,060	0,094	0,247	0,008	-0,179	0,092
C7	0,002	0,142	0,168	0,073	-0,198	-0,006	0,162	-0,481
C8	-0,035	-0,296	0,127	-0,001	-0,212	-0,350	-0,160	0,032
C9	0,069	0,188	-0,282	0,131	-0,112	0,004	0,114	0,446
C10	0,217	-0,163	-0,254	-0,155	-0,051	0,087	0,013	-0,111
C11	0,191	0,353	0,367	0,345	0,147	0,141	-0,009	0,013
C12	-0,108	0,228	-0,202	-0,227	0,059	-0,307	-0,120	-0,052
C13	-0,276	-0,187	0,070	-0,050	-0,176	0,197	-0,169	0,204
C14	-0,237	0,069	0,287	-0,386	-0,132	0,195	0,041	0,009
C15	-0,318	-0,364	-0,211	0,157	0,340	0,044	0,038	-0,361
C16	0,302	-0,055	0,083	0,161	-0,028	-0,100	0,481	-0,050
C17	0,106	-0,029	0,030	-0,058	0,052	0,045	-0,394	-0,136
C18	0,136	-0,067	-0,021	-0,083	-0,390	-0,070	0,131	0,326
C19	0,276	0,090	0,118	0,122	0,232	-0,377	-0,293	0,047
C20	-0,043	-0,099	-0,246	0,209	0,024	-0,135	0,157	-0,084
C21	0,070	0,017	-0,052	-0,089	0,197	0,544	0,121	0,009
C22	-0,383	0,147	0,351	-0,233	0,141	-0,341	0,248	0,007
C23	-0,257	-0,147	0,282	0,437	-0,183	0,189	-0,161	0,135
C24	0,135	-0,401	-0,028	-0,022	0,088	-0,076	0,171	0,147
C25	0,304	-0,013	0,081	-0,322	-0,099	0,077	0,089	-0,240
C26	0,085	0,103	-0,179	-0,137	-0,246	0,051	-0,419	-0,137
C27	-0,236	0,424	-0,337	0,135	0,114	-0,021	0,004	0,052

Değişken	PC18	PC19	PC20	PC21	PC22	PC23	PC24	PC25
C3	0,268	-0,031	-0,141	0,044	-0,130	-0,348	-0,265	-0,010
C4	-0,278	0,138	0,068	-0,146	-0,226	0,546	0,244	-0,170
C5	-0,256	-0,175	0,115	0,269	0,354	-0,146	0,023	-0,012
C6	0,191	-0,157	-0,172	-0,344	-0,294	0,184	-0,074	0,342
C7	-0,067	0,164	-0,027	-0,204	0,440	-0,076	-0,159	-0,049
C8	0,168	0,067	-0,001	0,524	-0,247	-0,130	0,184	-0,259
C9	0,035	0,187	0,321	-0,184	0,053	-0,278	0,076	0,231
C10	0,053	-0,210	-0,221	0,088	0,176	0,310	-0,024	0,077
C11	0,028	-0,289	0,231	-0,014	-0,189	0,136	0,050	-0,373
C12	-0,001	0,162	-0,164	0,125	-0,085	-0,003	-0,172	0,207
C13	-0,293	0,185	-0,105	-0,284	-0,125	-0,324	-0,031	-0,215
C14	0,202	0,055	-0,001	0,063	0,221	0,141	0,197	-0,035
C15	0,257	-0,009	0,452	0,001	0,058	-0,050	0,006	0,059
C16	-0,340	0,135	-0,086	0,265	-0,132	0,036	-0,122	0,217
C17	-0,241	-0,194	-0,306	-0,148	-0,019	-0,082	0,056	0,013
C18	0,338	-0,311	0,093	-0,078	0,120	0,115	-0,136	0,029
C19	0,075	0,467	0,061	-0,119	0,187	0,139	0,129	-0,038
C20	-0,272	-0,356	-0,071	0,003	0,031	-0,252	0,260	-0,057
C21	0,113	0,336	-0,087	0,222	-0,292	0,011	-0,155	-0,016
C22	-0,043	-0,174	0,050	-0,118	-0,207	-0,045	-0,246	0,139
C23	-0,069	0,044	-0,095	0,203	0,242	0,145	0,098	0,394
C24	0,054	0,109	-0,108	-0,223	0,146	0,053	-0,290	-0,447
C25	0,100	0,020	0,110	-0,186	-0,167	-0,195	0,543	0,151
C26	-0,258	-0,095	0,469	0,127	-0,059	0,126	-0,339	-0,003
C27	0,227	-0,056	-0,320	0,105	0,118	-0,004	0,133	-0,207

Bu çizelge ilk üç esas bileşenin absorbandsdaki değişiminin %99,99 kadarından sorumlu olduğunu göstermektedir. Bu nedenle regresyon işlemi bu üç bileşen esas alınarak yapılabilir. Ancak yaptığımız bu çalışmada diğer bileşenleri de işin içine katarak bir regresyon eşitliği türetilmiş ve türetilen regresyon eşitlikleri aşağıda verilmiştir.

$$C_{KIN} = -301,327 - 139,661 C3 + 135,955 C4 - 596,23 C5 + 391,531 C6 - 339,127 C7 + 1046,3 C8 + 1697,68 C9 + 336,173 C10 - 863,154 C11 - 139,498 C12 -$$

$$266,939 C13 - 144,737 C14 + 327,273 C15 + 1600,96 C16 - 1002,14 C17 + 1957,95 C18 + 239,033 C19 + 4323,5 C20 + 1867,7 C21 + 936,628 C22 + 1080,16 C23 + 4308,25 C24 + 6156,86 C25 + 12295,5 C26$$

$$C_{IND} = -21,3645 - 14,3833 C3 + 8,30749 C4 - 23,597 C5 + 14,9625 C6 + 0,830567 C7 - 8,95264 C8 + 0,2123 C9 - 36,7306 C10 + 48,3364 C11 + 22,7679 C12 + 0,671413 C13 + 21,4982 C14 + 48,7498 C15 + 11,1046 C16 - 2,61964 C17 + 4,10591 C18 - 74,7259 C19 - 12,6404 C20 + 59,92 C21 + 49,9126 C22 + 78,013 C23 - 48,6602 C24 + 282,024 C25 + 219,911 C26$$

#### 4.3.2.1. Kalibrasyon yönteminin validasyonu

PCR yöntemini valide etmek için KIN için 2-12 µg/mL ve IND için 0,1-0,6 µg/mL çalışma aralığı içinde olacak şekilde farklı derişimlerde 19 adet yapay karışım çözeltilisinden ibaret olan bir set hazırlandı. Hazırlanan bu validasyon seti (çizelge 4.2.) kullanılarak kurulan PCR kalibrasyonun kesinlik ve doğruluğu test edildi. Geri kazanım (GK) değerleri; KIN için % 100,02 ve IND için % 100,00 olarak bulundu. Standart sapma değerleri KIN için 0,0138 IND için ise 0,0051 olarak hesaplandı. PCR kalibrasyon yönteminin sentetik karışımlara uygulanması ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3' te gösterildi.

Çizelge 4.3. KIN ve IND sentetik karışımlarına PCR validasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri

Karışım (µg/mL)		Bulunan (µg/mL)		Geri kazanım (%)	
KIN	IND	KIN	IND	KIN	IND
2	0,1	2,0009	0,0999	100,04	99,99
2	0,2	2,0009	0,2000	100,04	99,99
2	0,3	2,0009	0,3000	100,04	100,00
2	0,4	2,0009	0,4000	100,04	100,00
2	0,5	2,0009	0,5000	100,04	100,00
2	0,6	2,0009	0,6000	100,04	100,00
4	0,1	4,0009	0,1000	100,02	100,00
4	0,2	4,0009	0,2000	100,02	100,00
4	0,3	4,0009	0,3000	100,02	100,00
4	0,4	4,0009	0,4000	100,02	100,00
4	0,5	4,0009	0,5000	100,02	100,00
4	0,6	4,0009	0,6000	100,02	100,00
6	0,1	6,0009	0,1000	100,02	100,00
6	0,2	6,0009	0,2000	100,02	100,00
6	0,3	6,0009	0,3000	100,01	100,00
6	0,4	6,0009	0,4000	100,01	100,02
8	0,1	8,0010	0,1000	100,01	100,00
8	0,2	8,0010	0,2000	100,01	100,00

Çizelge 4.3. KIN ve IND sentetik karışımlarına PCR validasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri(Devam)

8	0,3	8,0010	0,3000	100,01	100,00	
8	0,4	8,0010	0,4000	100,01	100,00	
10	0,1	10,0010	0,1000	100,01	100,01	
10	0,2	10,0011	0,2000	100,01	100,00	
10	0,3	10,0011	0,3000	100,01	100,00	
12	0,1	12,0012	0,1000	100,01	100,02	
12	0,2	12,0012	0,2000	100,01	100,01	
				$\bar{X}$	100,02	100,00
				SS	0,0138	0,0051

#### 4.3.2.2. PCR yöntemi için ANOVA testi

PCR kalibrasyon yönteminin doğruluk ve kesinliğini valide etmek amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, grup içi serbestlik derecesi=48, % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,04 olmasına karşılık KIN için hesaplanan F-test değeri  $1,19 \cdot 10^{-6}$  ve p-değeri 0,99 ve IND için hesaplanan F-test değeri  $3,09 \cdot 10^{-8}$  ve p-değeri 0,99 olarak bulunmuştur.

ANOVA testinde  $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$  ve p-değeri  $p=0,05$  olduğu için % 95 güven aralığında elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Varyans analizinde iki serbestlik derecesi kullanılır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1 Grup içi serbestlik derecesi=48.  $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$  ve p-değeri  $p=0,05$  olduğu için bu kalibrasyon modeli ticari numunenin incelenmesinde kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir.

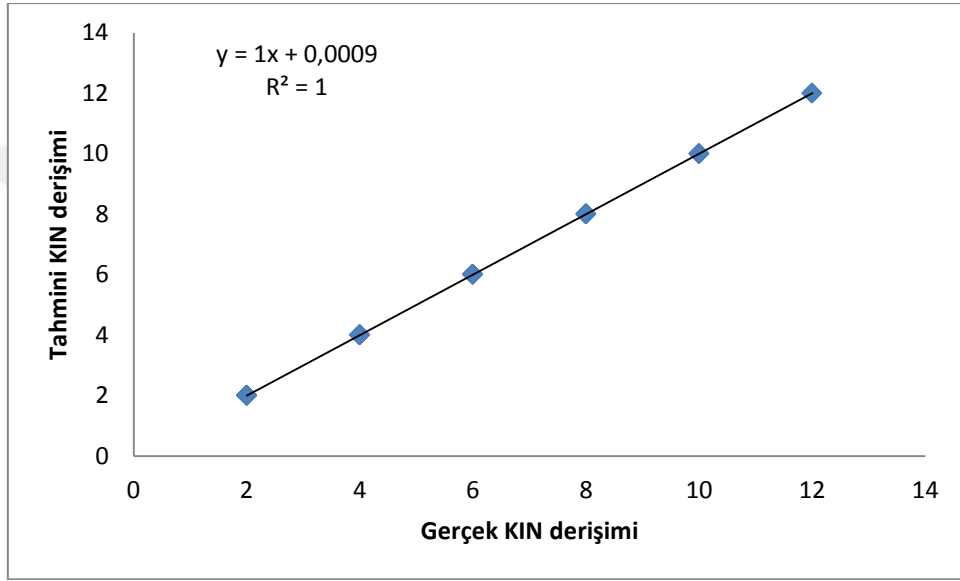
#### 4.3.2.3. PCR yönteminde istatistiksel analiz

##### 4.3.2.3.1. Kalibrasyonun standart hatası

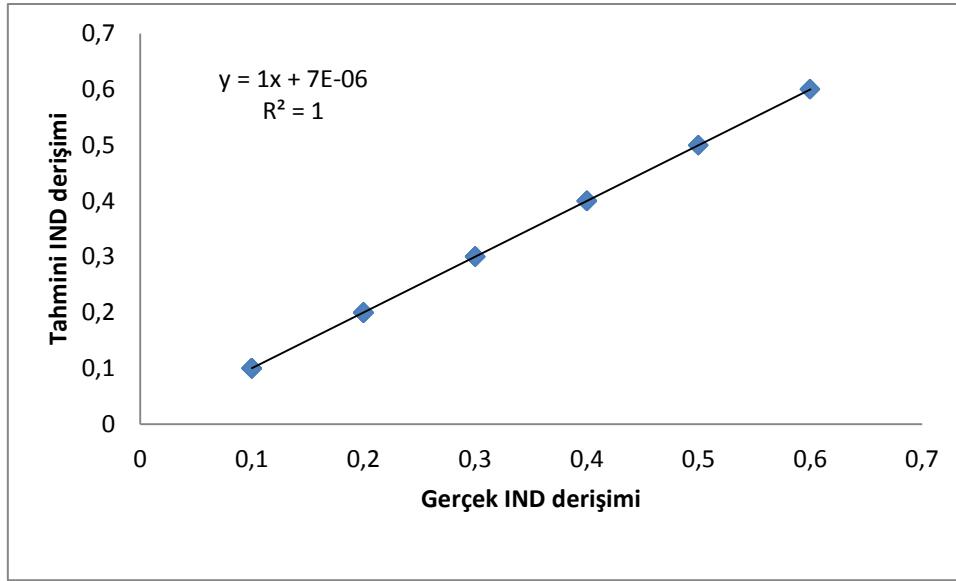
KIN ve IND içeren karışımlarda bu maddelerin miktar tayini için PCR kalibrasyonun kurulmasında çapraz validasyon işleminde tahmin edilen hataların karelerinin toplamının (Predicted Residual Error Some of Squares→ PRESS) minimal değerleri elde edilmiştir. Kurulan PCR kalibrasyonunda PRESS değeri KIN ve IND için sırasıyla 1,02.

$10^{-6}$  ve  $1,20 \cdot 10^{-10}$  olarak hesaplanmıştır. PRESS değerinin sıfıra yakın olması doğruluk derecesini arttırmaktadır. Elde edilen PRESS değerleri yeterince küçüktür.

Kalibrasyonun standart hatası (Standard error of calibration →SEC), gerçek ve tahmin edilen derişimler arasındaki ilişkiye dayalı olarak hesaplandı ve KIN ve IND için sırasıyla 0,0010 ve  $1,0586 \cdot 10^{-5}$  olarak bulundu. Gerçek ve tahmin edilen derişim için lineer regresyon analiz sonuçları KIN için Şekil 4.7'de ve IND için Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.7. PCR kalibrasyon basamağında KIN için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar.



Şekil 4.8. PCR kalibrasyon basamağında IND için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçlar

#### 4.3.2.4. PCR yönteminin kozmetik preparatlara uygulanması

PCR yönteminin Makyaj (ruj) malzemesine uygulanmasında 0,01 g malzeme doğru bir şekilde tartıldı. Havanda iyice ezildikten sonra 100 mL'lik balon jodede üzerine bir miktar toluen eklenerek yarım saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve son hacim 100 ml' ye tamamlandı. Çözelti daha sonra süzülüp süzgeç kâğıdında kalan kısım 3 kez 10 mL toluen ile yıkandı ve hacim 100 mL' ye tamamlanıp daha sonra çalışılacak olan aralığa seyreltildi. Bu analiz çözeltilerinin 300- 700 nm dalga boyu bölgesinde  $\Delta\lambda = 1,0$  nm aralıklarla ölçülen absorbans değerleri Bölüm 1.4.1.2. de açıklanan PCR algoritması uygulandı ve tablet içeriğindeki KIN ve IND hesaplandı. Bu işlem 5 kez tekrarlanmıştır.

Yukarıda açıklanan makyaj malzemesinin analiz işlemi hazırlanan numune ayrı ayrı tekrar edildi. Sonuçlar Çizelge 4.4' de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Makyaj malzemesine PCR yönteminin uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar

Deney No	KIN	IND
1	0,0762	0,0098
2	0,0884	0,0102
3	0,0712	0,0092
4	0,0810	0,0118
5	0,0790	0,0088
$\bar{X}$	0,0791	0,0099

### 4.3.3. Kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS)

Bölüm 1.4.1.3 'te ayrıntılı olarak algoritması verilen kısmi en küçük kareler yönteminde Çizelge 4.2'ye göre hazırlanan kalibrasyon seti kullanılmıştır. Ölçümler 300–700 nm arasında yapılmıştır. Daha sonra aralık kalibrasyon seti için ve kullanılacak olan istatistik programı doğrultusunda dalga boyu aralığı 390 - 640 nm olarak daraltılmıştır. PLS kalibrasyon için hazırlanan kalibrasyon setinin 200-268 nm dalga boyu aralığında  $\Delta\lambda= 1,0$  nm aralıklarla absorbanslar okunmuştur. Kullanılan istatistik program ile kalibrasyon setinin absorbans ve derişim değerlerinin varyans-kovaryans matrisleri hesaplanmıştır. Derişimler arasındaki matematiksel ilişkiye dayalı PLS kalibrasyonu kurulmuştur. Makyaj malzemesindeki aktif renk maddelerini içeren ticari numunede yukarıda belirtilen dalga boylarındaki absorbans değerleri okunarak PLS kalibrasyonunda bu maddelerinin miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir.

#### 4.3.3.1. Kalibrasyon yönteminin validasyonu

PLS yöntemini valide etmek için KIN için 2 - 12  $\mu\text{g/mL}$  ve IND için 0,1 - 0,6  $\mu\text{g/mL}$  çalışma aralığı içinde olacak şekilde farklı derişimlerde 19 adet yapay karışım çözeltilisinden ibaret olan bir set hazırlandı. Hazırlanan bu validasyon seti (çizelge 4.2.) kullanılarak kurulan PLS kalibrasyonun kesinlik ve doğruluğu test edildi. Geri kazanım (GK) değerleri; KIN için % 100,94 ve IND için % 100,29 olarak bulundu. Standart sapma değerleri KIN için 6,22 IND için ise 4,97 olarak hesaplandı. PLS kalibrasyon yönteminin sentetik karışımlara uygulanması ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5' te gösterildi.

Çizelge 4.5. KIN ve IND sentetik karışımlarına PLS kalibrasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri

Karışım ( $\mu\text{g/mL}$ )		Bulunan ( $\mu\text{g/mL}$ )		Geri kazanım (%)	
KIN	IND	KIN	IND	KIN	IND
2	0,1	2,2873	0,1104	114,36	110,41
2	0,2	2,1138	0,1910	105,69	95,51
2	0,3	1,9821	0,2980	99,10	99,35
2	0,4	2,2734	0,4142	113,67	103,55
2	0,5	1,9387	0,4929	96,93	98,59
2	0,6	2,2950	0,6206	114,75	103,44

Çizelge 4.5. KIN ve IND sentetik karışımlarına PLS kalibrasyon yönteminin uygulanması ve elde edilen geri kazanım değerleri (Devam)

4	0,1	3,9887	0,1120	99,71	112,08	
4	0,2	3,8540	0,1966	96,35	98,30	
4	0,3	3,8028	0,3008	95,07	100,28	
4	0,4	3,9036	0,3771	97,59	94,29	
4	0,5	3,5765	0,4954	89,41	99,08	
4	0,6	4,2112	0,5893	105,28	98,21	
6	0,1	6,2002	0,0940	103,33	94,00	
6	0,2	6,0054	0,1962	100,09	98,10	
6	0,3	5,7153	0,3014	95,26	100,47	
6	0,4	6,0212	0,4068	100,35	101,70	
8	0,1	7,9041	0,0969	98,80	96,94	
8	0,2	7,5630	0,2107	94,53	105,39	
8	0,3	8,3339	0,3049	104,17	101,64	
8	0,4	7,8367	0,3940	97,95	98,50	
10	0,1	9,7145	0,0908	97,14	90,84	
10	0,2	10,2665	0,1961	102,66	98,05	
10	0,3	9,7837	0,2902	97,83	96,75	
12	0,1	12,3416	0,1047	102,84	104,78	
12	0,2	12,0856	0,2139	100,71	106,98	
				$\bar{X}$	100,94	100,29
				SS	6,22	4,97

#### 4.3.3.2. PLS yöntemi için ANOVA testi

PLS kalibrasyon yönteminin doğruluk ve kesinliğini valide etmek amacıyla elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1, grup içi serbestlik derecesi=48 % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,04 olmasına karşılık KIN için hesaplanan F-test değeri  $-5,4 \cdot 10^{-10}$  ve p-değeri 0,99 ve IND için hesaplanan F-test değeri  $-1,8 \cdot 10^{-14}$  ve p-değeri 0,99 olarak bulunmuştur.

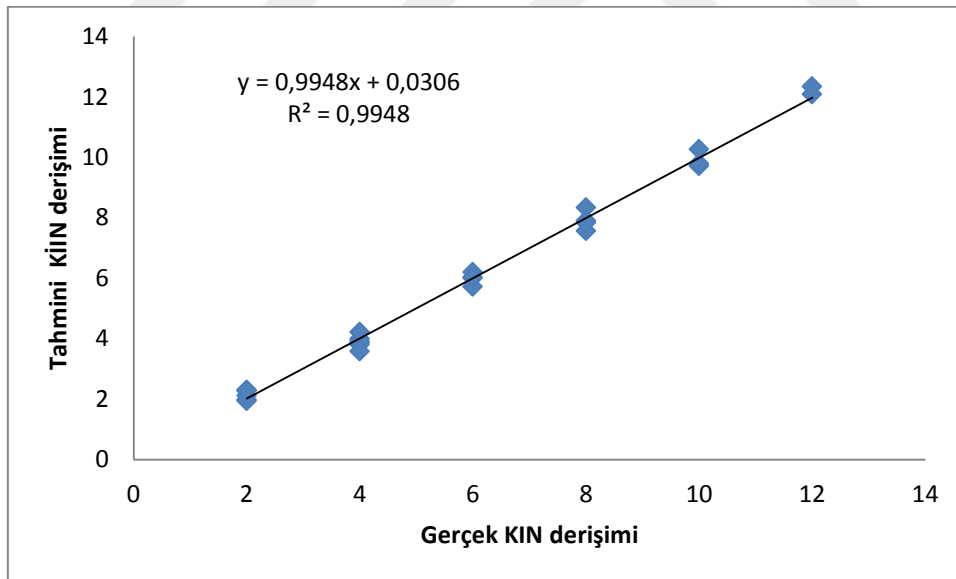
ANOVA testinde  $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$  ve p-değeri  $p=0,05$  olduğu için % 95 güven aralığında elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Varyans analizinde iki serbestlik derecesi kullanılır. Gruplar arası serbestlik derecesi=1 Grup içi serbestlik derecesi=48.  $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$  ve p-değeri  $p=0,05$  olduğu için bu kalibrasyon modeli ticari numunenin incelenmesinde kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir.

### 4.3.3.3. PLS yönteminde istatistiksel analiz

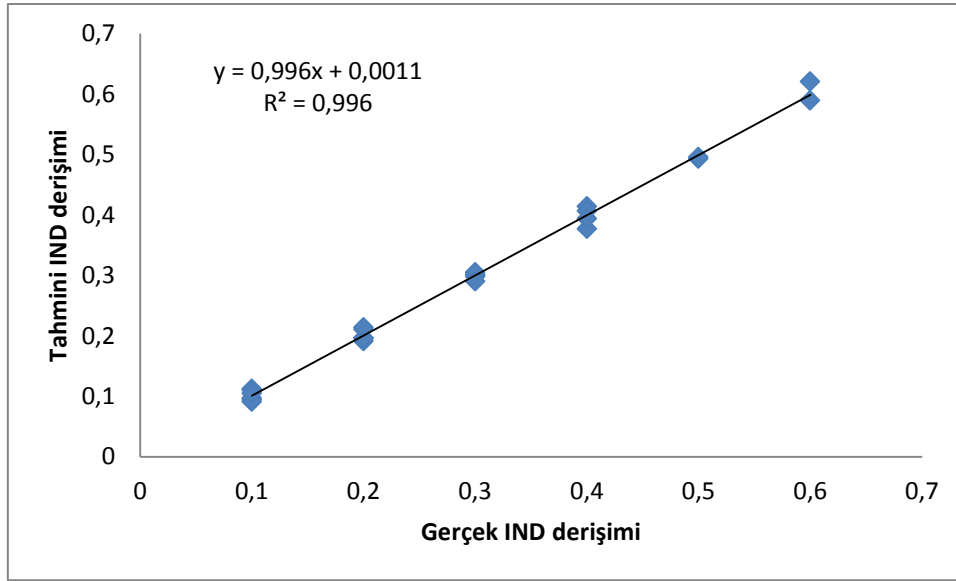
#### 4.3.3.3.1. Kalibrasyonun standart hatası

KIN ve IND içeren karışımlarda bu maddelerin miktar tayini için PLS kalibrasyonun kurulmasında çapraz validasyon işleminde tahmin edilen hataların karelerinin toplamının (Predicted Residual Error Some of Squares→ PRESS) minimal değerleri elde edilmiştir. Kurulan PLS kalibrasyonunda PRESS değeri KIN ve IND için sırasıyla 0,0535 ve  $9,52 \cdot 10^{-5}$  olarak hesaplanmıştır. PRESS değerinin sıfıra yakın olması doğruluk derecesini arttırmaktadır. Elde edilen PRESS değerleri yeterince küçüktür.

Kalibrasyonun standart hatası (Standard error of calibration →SEC), gerçek ve tahmin edilen derişimler arasındaki ilişkiye dayalı olarak hesaplandı ve KIN ve IND için sırasıyla 0,2313 ve 0,0097 olarak bulundu. Gerçek ve tahmin edilen derişim için lineer regresyon analiz sonuçları KIN için Şekil 4.9'de ve IND için Şekil 4.10' da verilmiştir.



Şekil 4.9. PLS kalibrasyon basamağında KIN için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiği ve istatistiksel sonuçlar.



Şekil 4.10. PLS kalibrasyon basamağında IND için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiğı ve istatistiksel sonuçlar.

#### 4.3.3.4. PLS yönteminin kozmetik preparatlara uygulanması

PLS yönteminin makyaj (ruj) malzemesine 0,01g doğru bir şekilde tartıldı. Havanda iyice ezildikten sonra 100 mL'lik balon jodede üzerine bir miktar toluen ile yarım saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve son hacim 100 ml' ye tamamlandı. Çözelti daha sonra süzülüp süzgeç kâğıdında kalan kısım 3 kez 10 mL toluen ile yıkandı ve hacim 100 mL' ye tamamlanıp daha sonra çalışılacak olan aralığa seyreltildi. Bu analiz çözeltilerinin 300- 700 nm dalga boyu bölgesinde  $\Delta\lambda= 0,1$  nm aralıklarla ölçülen absorbands değerleri Bölüm 1.4.1' de açıklanan PLS algoritması uygulandı ve makyaj malzemesi içeriğindeki KIN ve IND hesaplandı. Bu işlem 5 kez tekrarlanmıştır.

Yukarıda açıklanan malzeme analiz işlemi numune için ayrı ayrı tekrar edildi. Sonuçlar Çizelge 4.6' da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Makyaj malzemesine PLS yönteminin uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar

Deney No	KIN	IND
1	0,0754	0,0108
2	0,0905	0,0094
3	0,0721	0,0089
4	0,0784	0,0125
5	0,0822	0,0089
$\bar{X} =$	0,0797	0,0101

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde insanlar güzelleşmek amacıyla sıkça kozmetik ürünleri kullanırlar. Bu kozmetik ürünlerden biri de rujlardır. Rujlarda kullanılan renklendirici boyalarda etken maddeler vardır. Bu etken maddeler ise belirli miktarlarda alındıklarında canlı bünyesinde olumsuz etki göstermezken aşırı alınması durumunda tehlikeli boyutlarda zararlar veren kimyasal maddelerdir. Bu nedenle renklendirici analizlerinde etken madde analizi önemli yer tutmaktadır. Bu analizlerde genel olarak spektroskopik ve kromatografik yöntemler tercih edilmesine rağmen pahalı yöntemler olması ve çok uzun süren ön ayırma işlemleri bu yöntemlerin kullanımını sınırlamaktadır.

Bu tez çalışmasında kemometrik kalibrasyonların ruj etken maddelerinden KIN ve IND bileşiklerinin hiçbir ön ayırma işlemi yapmaksızın aynı anda analizine uygulanmasında üç farklı kemometrik yöntem geliştirilmiştir. Bunlar PCA, PCR ve PLS kalibrasyon yöntemleridir.

Öncelikle ruj etken maddelerinin saf haldeki spektrumları alınıp Çizelge 4.1' de görüldüğü üzere ayrı dalga boylarında absorbans vermelerinden yararlanarak bu etken maddelerin sentetik karışımları hazırlanmıştır. Şekil 4.6' da görüldüğü gibi her iki bileşik aynı dalga boyu aralığında girişim yapmaktadır bu durumda her iki bileşiğin klasik spektroskopik yaklaşımlarla aynı anda miktar tayinlerinin mümkün olmadığı görülmüştür.

Geliştirilen PCR ve PLS kemometrik yöntemlerinin kesinlik ve doğruluğu test edilmiştir. Kesinliğin sayısal ölçütü olan bağıl standart sapmanın düşük olması kesinliğin yüksek olduğunu göstermektedir. Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.5. de görüldüğü üzere bağıl standart sapmaların düşük olduğu görülmektedir. Doğruluğun sayısal ölçütü olan PRESS (Tahmin edilen hataların kareleri toplamı) değerinin sıfıra yakın olması doğruluk derecesinin yüksek olduğunun göstergesidir. PCR yöntemi ile elde edilen PRESS değeri KIN VE IND için  $1,02 \cdot 10^{-6}$  ve  $1,20 \cdot 10^{-10}$  olarak hesaplanıp PLS yöntemi ile elde edilen PRESS değeri KIN ve IND için sırasıyla  $0,0535$  ve  $9,52 \cdot 10^{-5}$  olarak hesaplanmıştır ve bu değerlerin yeterince küçük olduğu görülmüştür.

PCR ve PLS yöntemlerinin doğruluk ve kesinliğini valide etmek için elde edilen sonuçlara ANOVA testi uygulanıp grup içi ve gruplar arası serbestlik derecesi ile tablodan okunan F değerine karşın hesaplanan F değerleri kıyaslanmıştır. Tablodan okunan F-tablo değeri 4,04 olup PCR yönteminde KIN için hesaplanan F-test değeri  $1,19.10^{-6}$  ve IND için F-test değeri  $3,09.10^{-8}$  bulunmuş; PLS yönteminde KIN için hesaplanan F-test değeri  $-5,4.10^{-10}$  ve IND için hesaplanan F-test değeri  $-1,8.10^{-14}$  olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlar  $F_{\text{hesaplanan}} < F_{\text{tablo}}$  olduğu için bu kalibrasyon modellerinin ticari numunelerinin incelenmesinde kullanılabilir olduğu görülmüştür.

PCR kalibrasyon basamağında şekil 4.7' de KIN için ve şekil 4.8' de IND için gerçek ve tahmin edilen derişimlerin lineer regresyon grafiklerinde görüldüğü üzere çalışılan aralıklarda doğrusal sonuçların elde edildiği görülmektedir. Aynı şekilde PLS yöntemi için de şekil 4.9' da KIN için ve şekil 4.10' da IND için de aynı durum görülmektedir.

PCR ve PLS yöntemlerinin uygulanmasıyla KIN ve IND için elde edilen geri kazanım değerleri Çizelge 4.3. ve 4.5. de gösterilmiştir ve iki yöntem de elde edilen geri kazanımlar yüksek değerlerde bulunmuştur.

Son olarak PCR ve PLS yöntemleri analiz edilen maddelerin ticari preparatlarına uygulanmış ve rujlarda belirtilen KIN ve IND miktarları ile Çizelge 4.4. ve Çizelge 4.6. da bulunan bu aktif maddelerin miktarının birbiriyle uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, geliştirilen kemometrik yöntemlerin birbiri ile uyumlu olduğu görülmüştür ve bu yöntemlerin tekrarlanabilirliğinin yüksek olup duyarlı ve doğru sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar geliştirilen bu kemometrik yöntemlerin KIN ve IND içeren ruj analizinde kullanılabileceğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- Amin, K.A., Hameid, H.A., Elsttar, A.H., (2010). Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2994-2999.
- Anonim, 2003. Gıda-maddelerinde kullanılan renklendiriciler. Erişim Tarihi: 30.06.2015. <http://www.gidaraporu.com>.
- Celerio, M., Guerra, E., Lamas, J., Lores, M., Jares, C., Llompart, M., (2014). Development of a Multianalyte Method Based on Micro-Matrix-Solid-Phase Dispersion for the Analysis of Fragrance Allergens and Preservatives in Personal Care Products. *Journal of Chromatography*, 1344,1-14.
- Dinç,E., 2007. Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri, 27(1), 61-92.
- Dinç,E., 2009. Kemometrik İşlem ve Yöntemlerin Analitik Kimyadaki Tipik Uygulamaları, Uygulamalı Kemometri Yaz Okulu Notları, 1-5.
- Guerra, E., Celeiro, M., Lamas, J., Llompart, M., Jares, C., (2015). Determination of Dyes in Cosmetic Products by Micro-Matrix Solid Phase Dispersion and Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1415, 27-37.
- Hallagan, J.B., Allen, D.C., Borzellaka, J.B., (1995). The Safety and Regulatory Status of Food, Drug and Cosmetics Color Additives Exempt from Certification. *Food Chem. Toxic*, 33, 515-528.
- Kitiş F., 2011. İlaç numunelerinde kafein ve parasetamol'ün kemometrik yöntemlerle tayinleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 60s, Isparta.
- Llompart, M., Celeiro, M., Lamas, P., Prado S., Lores, M., Jares, C., (2013). Analysis of Plasticizers and Synthetic Musks in Cosmetic and Personal Care Products by Matrix Solid-Phase Dispersion Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1293, 10-19.
- Özgür, M., Koyuncu, İ., (2002). The Simultaneous Determination of Quinoline Yellow (E-104) and Sunset Yellow (E-110) in Syrups and Tablets by Second Derivative Spectrophotometry. *Turk J Chem*, 26, 501-508.
- Rafii, F., Hall, J., Cerniglia, C., (1997). Mutagenicity of Azo Dyes Used in Foods, Drugs and Cosmetics Before and After from the Human Intestinal Tract. *Food and Chemical Toxicology*, 35, 897-901.
- Rastogi, S.C.,Barwick V.J., Carter, S.V., (1997). Identification of Organic Colourants in Cosmetics by HPLC-Diode Array Detection. *Chromatographia*, 45, 215-228.

- Rivera, G., Llompart, M., Jares, C., Lores, M. (2015). Identification of Unwanted Photoproducts of Cosmetic Preservatives in Personal Care Products Under Ultraviolet-Light Using Solid-Phase Microextraction and Micro-Matrix Solid-Phase Dispersion. *Journal of Chromatography*, 1390, 1-12.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., 1998. *Enstrümantal Analiz İlkeleri*. Bilim Yayıncılık, Özkan Matbaacılık, 849, Ankara.
- Şener, M., 2006. *İçme Sularında Kalsiyum ve Magnezyumun Spektrofotometrik Metotla Simultane Tayini ve Yapay Sinir Ağları ile Kemometrik Analizi*. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 49s, Isparta.
- Vandeginste B. M. G., Massart D. L., Buydens L. M. C., De Jong S., Lew\_ P. J. And Smeyers-Verbeke. J. 1998. *Handbook Of Chemometrics And Qualimetrics Part B*, Elsevier, Amsterdam.
- Wang, L.H., Huang, S.J., (2009). Studies on the Voltammetric Behavior of Azo Dyes and Its Determination in Cosmetic Products. *Russian journal of electrochemistry*, 46, 1414-1418.
- Wikipedia, 2015. Quinoline Yellow WS. Erişim Tarihi: 30.06.2015. <https://en.wikipedia.org>
- Wu, S.K., Wu, A.B., Huang, M.C., Chen, C.Y., (1999). Identification of Illegal Coal Tar Dyes Constituents in Mucous Cosmetics by HPLC Method. *Journal of Food and Drug Analysis*, 7(2), 95-105.
- Xian, Y., Wu, Y., Guo, X., Luo, H., Luo, D., Chen, Y., (2013). Simultaneous Determination of 11 Restricted Dyes in Cosmetics by Ultra High-Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Methods*, 5, 1965-1974.
- 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.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Seda ALKAN  
Doğum Yeri ve Yılı : Isparta, 1987  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce  
E-posta : yl1230109511@stud.sdu.edu.tr

Taranmış  
Fotoğraf  
(3.5cm x 3cm)

## Eğitim Durumu

Lise : Isparta Anadolu Lisesi, 2005  
Lisans : SDÜ, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü  
Yüksek Lisans : SDÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya

**Mesleki Deneyim** :Denizli Doksan Tekstil 2012

## Yayımları