

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

**MİKROEKSTRAKSİYON İLE ESER DÜZEYDEKİ  
PATENT BLUE V'İN AYRILMASI VE  
ZENGİNLEŞTİRİLMESİ**

**Hazırlayan  
Amine DEMİR**

**Danışman  
Prof. Dr. Mustafa SOYLAK**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2023  
KAYSERİ**



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

**MİKROEKSTRAKSİYON İLE ESER DÜZEYDEKİ  
PATENT BLUE V'İN AYRILMASI VE  
ZENGİNLEŞTİRİLMESİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan  
Amine DEMİR**

**Danışman  
Prof. Dr. Mustafa SOYLAK**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından FYL-2023-12969 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Eylül 2023  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Amine DEMİR

İmza

**“Mikroekstraksiyon İle Eser Düzeydeki Patent Blue V’in Ayrılması Ve Zenginleştirilmesi”** adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Hazırlayan**

Amine DEMİR

İmza

**Danışman**

Prof. Dr. Mustafa SOYLAK

**Kimya Bölüm Başkanı**

Prof. Dr. İlhan Özer İLHAN

İmza

## TEŞEKKÜR

Bana çalışmalarım süresince her türlü yardımı ve fedakârlığı sağlayan, öğrencisi olmaktan onur duyduğum saygı değer danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa SOYLAK' a saygıyla ve en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tezin her aşamasındaki deneylerin yapılmasında, laboratuvar çalışmalarımın değerlendirilmesinde ve tezin tamamlanmasında yol gösterici olarak, desteğini hiçbir şekilde esirgemeyen Doç. Dr. Nail ALTUNAY 'a teşekkür ederim. Ayrıca yardım ve desteklerinden dolayı laboratuvar çalışma arkadaşım Hatice TAŞPINAR 'a teşekkür ederim. Deneysel çalışmalarımın önemli bir kısmını yaptığım Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü ilgililerine saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

FYL-2023-12969 numaralı tez projesi ile maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim. FYL-2023-12969 numaralı proje için gerekli analizlerin yapıldığı Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (ERU-TAUM) müdürlüğüne ve merkez çalışanlarına da teşekkürlerimi sunarım.

Manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli eşime ve beni büyük fedakârlıklarla bugünlere getiren sevgili annem ile babama ve bilginin üstünlüğüne inanan herkese tüm kalbimle teşekkür ederim.

Amine DEMİR

Eylül 2023, KAYSERİ

# MİKROEKSTRAKSİYON İLE ESER DÜZEYDEKİ PATENT BLUE V'İN AYRILMASI VE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ

**Amine DEMİR**

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2023**  
**Danışman: Prof. Dr. Mustafa SOYLAK**

## ÖZET

Bu tez çalışmasında gıda ve tıp gibi sektörlerde kullanılan Patent Blue V (E131) boyar maddesinin derin ötektik çözücü kullanımı ile ayırma ve zenginleştirme işlemi için yeni bir sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemde, Patent Blue V' in seçici ekstraksiyonu için dört DES (ekstraksiyon solventi olarak) hazırlandı ve test edildi. Derin ötektik çözücü olarak; sırasıyla 1:2 molar oranlı, Menthol-Levulinic asit kullanılmıştır. Yeşil ve hassas bir analitik metodoloji Box Behnken tasarım (BBD)'a dayalı optimum koşullar altında, Patent Blue V için çalışma aralığı  $1-500 \mu\text{g L}^{-1}$  bulundu. Seçme sınırı ve zenginleştirme faktörü sınırı sırasıyla  $0.33 \mu\text{g L}^{-1}$  ve 98 olarak hesaplandı. Seçilen ilaç ve gıda örneklerinde Patent Blue V'in ekstraksiyonu ve tayini için UV-VIS spektrofotometresi ile birleştirilmiş derin ötektik solvent bazlı sonikasyon destekli dağılımlı sıvı-sıvı mikro ekstraksiyonuna (DES-SA-DLLME) dayalı yöntemin uygulanması araştırıldı ve nicel analitik veriler elde edildi (bağıl standart sapma % 1.2-2.4).

**Anahtar Kelimeler:** Patent Blue V (E131), Boyar Madde, Mikroekstraksiyon, Derin Ötektik Çözücüler, UV-VIS Spektrofotometresi, Kemometri

## SEPARATION AND ENRICHMENT OF TRACE LEVELS OF PATENT BLUE V BY MICROEXTRACTION

**Amine DEMİR**

**Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Master Thesis, September 2023**

**Supervisor: Prof. Dr. Mustafa SOYLAK**

### **ABSTRACT**

In this thesis, a new liquid phase microextraction method has been developed for the separation and enrichment process of the Patent Blue V (E 131) dyestuff, which is used in sectors such as food and medicine, using a deep eutectic solvent. In this method, for patent blue V's selective extraction for DES (as extraction solvent) was prepared and tested. As deep eutectic solvent; respectively 1:2 molar ratio, menthol-levunic acid was used under optimum conditions based on a green and sensitive analytical methodology central composite design (BBD), operating range 1-500  $\mu\text{g L}^{-1}$  was found for Patent Blue V. The selection limit and the enrichment factor limit were calculated as 0.33  $\mu\text{g L}^{-1}$  and 98, respectively. The application of the method based on deep eutectic solvent-based sonication assisted dispersed liquid-liquid microextraction (DES-SA-DLLME) combined with UV-VIS spectrophotometry for the extraction and determination of Patent Blue V in selected drug and food samples was investigated and quantitative analytical data were obtained (relative standard deviation %1.2-2.4).

**Keywords:** Patent Blue V (E131), Dyestuff, Microextraction, Deep Eutectic Solvents, UV-VIS Spectrophot, Chemometry

## İÇİNDEKİLER

### MİKROEKSTRAKSİYON İLE ESER DÜZEYDEKİ PATENT BLUE V'İN AYRILMASI VE ZENGİNLEŞTİRİLMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iii
KABUL VE ONAY.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
GİRİŞ.....	1

## 1. BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1.1. Boyar Maddeler.....	3
1.1.1. Azo Boyar Maddeler.....	6
1.1.2. Patent Blue V (E-131) Boyar Maddesi.....	6
1.2. Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemleri.....	8
1.3. Mikroekstraksiyon.....	9
1.3.1. Sıvı Faz Mikroekstraksiyon.....	10
1.4. Derin Ötektik Çözücüler.....	10
1.5. Yeşil Kimya.....	13
1.6. Kemometri.....	14

## 2. BÖLÜM

### YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Kullanılan Aletler ve Cihazlar.....	15
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Reaktifler.....	16
2.3. Örnek Hazırlanması.....	17

<b>2.4. DES Hazırlama .....</b>	<b>17</b>
<b>2.5. Deneysel Modelleme .....</b>	<b>18</b>
<b>2.6. DES-SA-DLLME Yöntemi .....</b>	<b>18</b>
<b>2.7. Geri kazanım ve analitik parametrelerinin hesaplanması .....</b>	<b>20</b>

### **3. BÖLÜM**

#### **BULGULAR**

<b>3.1. DES Türünün Etkisi.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2. DES'in Molar Oranın Etkisi.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3. İyonik Şiddetin Etkisi.....</b>	<b>23</b>
<b>3.4. Kemometrik Analiz.....</b>	<b>23</b>
<b>3.5. Faktörlerin Etkisi .....</b>	<b>26</b>
<b>3.6. Optimum Koşullar.....</b>	<b>29</b>
<b>3.7. Yöntemin Analitik Özellikleri.....</b>	<b>30</b>
<b>3.8. Gün İçi/ Günler Arası Kesinlik Çalışması.....</b>	<b>32</b>
<b>3.9. Sağlamlık .....</b>	<b>33</b>
<b>3.10. Matriks Etkisi.....</b>	<b>33</b>
<b>3.11. İlaç ve Gıda Numunelerinin Analizi.....</b>	<b>34</b>

### **4. BÖLÜM**

#### **TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER**

<b>TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>36</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>38</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>45</b>

## KISALTMALAR VE SİMGELER

$\mu$ l: Mikrolitre

DES: Derin Ötektik Çözücü

DLLME: Dispersif Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon

EF: Zenginleştirme Faktörü

GS: Gözlenebilme Sınırı

HBA: Hidrojen bağı alıcısı

HBD: Hidrojen bağı donörü

LPME: Sıvı Faz Mikroekstraksiyon

mL: Mililitre

ppm: Milyonda Bir Derişim

TS: Tayin Sınırı

UV-VIS: Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi

## TABLOLAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.1.</b> DES hazırlamak için örnek tablo .....	11
<b>Tablo 1.2.</b> HBA ve HBD örnekler .....	12
<b>Tablo 2.1.</b> Hazırlanan DES'lerin molar oranları, bileşimi ve sembolü.....	17
<b>Tablo 2.2.</b> Optimizasyon için BBD' deki değişkenler ve seviyeleri.....	18
<b>Tablo 3.1.</b> BBD'ye ait deneysel tasarım ve elde edilen analitik sonuçlar .....	24
<b>Tablo 3.2.</b> Optimizasyon basamağının ANOVA sonuçları.....	25
<b>Tablo 3.3.</b> BBD' ye ait kalite parametreleri.....	26
<b>Tablo 3.4.</b> Optimize edilmiş koşullarda önerilen yöntemin analitik özelliklerinin sayısal değerleri.....	31
<b>Tablo 3.5.</b> Önerilen yöntemin gün içi ve günler arası kesinliği.....	31
<b>Tablo 3.6.</b> Önerilen yöntemin sağlamlılığı.....	32
<b>Tablo 3.7.</b> Önerilen yöntemin farklı kimyasal türler varlığında PBV için seçiciliği .....	33
<b>Tablo 3.8.</b> Önerilen yöntemin toplanan gerçek örneklere uygulama sonuçları.....	33
<b>Tablo 3.9.</b> Sıvı numuneler için önerilen yöntemin geri kazanım çalışması .....	34
<b>Tablo 4.1.</b> Önerilen yöntemin analitik özelliklerinin karşılaştırması.....	36

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Patent Blue V Yapısı.....	7
Şekil 1.2. Yeşil Çözücülerin Sınıflandırılması.....	14
Şekil 2.1. Laboratuvar DES-SA-DLLME Çalışması.....	16
Şekil 2.2. Geliştirilen DES-SA-DLLME Yöntemi.....	19
Şekil 2.3. Optimum koşullarda farklı PB-V derişimleri için elde edilen UV-spektrumları.....	19
Şekil 3.1. DES türünün PB-V'nin geri kazanımına etkisi. ....	22
Şekil 3.2. DES-2'nin molar oranının PB-V'nin geri kazanımına etkisi. ....	22
Şekil 3.3. İyonik şiddetin PB-V'nin geri kazanımına etkisi.....	23
Şekil 3.4. BBD tasarımının tahmini ile deneysel sonuçlar arasındaki uyum.....	26
Şekil 3.5. PB-V'in Box Behnken tasarımı için tepki yüzey grafikleri... ..	29
Şekil 3.6. BBD tarafında oluşturulan değişkenler için optimum değerler ve tahmin edilen geri kazanım.....	30

## GİRİŞ

Renk hazır gıdalar için önemli bir özelliktir. Hazır gıdalarda kullanılan gıda boyalarının kullanılma sebebi; nemden, havadan, ışıktan, saklama koşulları sırasında meydana gelen renk kayıplarından korumak içindir. Gıdaları işleme ve depolarda saklama etkilerini gidermek ve tüketicinin beklentisini karşılamak için gıda boyaları kullanılmaktadır. Renk şiddetini artırarak daha cazip hale getirmekte bir başka sebeptir. Gıda boyaları değişik karmaşık yapılarda olup organik bileşiklerdir.

Gıda boyaları üç grupta incelenmektedir bunlar; doğal, yapay ve yarı sentetik. Yarı sentetik olan gıda boyaları geniş kullanım alanına sahiptir. Yapay gıda boyalarının ise zararlı etkileri bulunmuştur. Son yıllarda gelişmiş ülkelerde birçok gıda boyasının zehirli etkisi ve kanserojen olması sebebiyle de kullanımını yasaklanmıştır. Sadece bazı gıda boyasının ilaç endüstrisinde ve gıda endüstrisinde kullanımına izin verilmiştir. Bu zararlı olan gıda boyalarına azo grubu bulunduran boyalar da örnek verilebilir. Gıda boyalarının insanların sağlığına önemli zararlı olmakla birlikte çevre içinde de önemli zararları bulunduğu için kirleticiler sınıfında bulunmaktadır. Çevreye zararlı olan bu gıda boyar maddeleri atık sularla göl, nehir, baraj ve içme sularına karışarak çok büyük sorunlar oluşturmaktadırlar. Oluşan bu kirlilik ile birlikte sularda yaşayan canlılar ölmekte, çevre dengesi bozulmaktadır. Doğal gıda boyalarının ise en büyük avantajı insan sağlığına zararının olmaması ve çevreyi kirletmemesidir.

Artan teknoloji ile birlikte, insanların paketli ürünlerin tüketimini artırmasından dolayı gıda boyalarının kullanımı artmıştır, bununla birlikte gıdaların kontrolü ve boyaların olması gereken sınırlar içerisinde olup olmadığının kontrolü ve tayini için güvenli ve yüksek hassasiyetli olan yöntemlere gerek duyulmaktadır [1]. 21.yüzyılda teknolojinin gelişmesi ile birlikte boyalar için birçok analiz yöntemi bulunmaktadır. Kullanılan analiz yöntemleri; ekstraksiyondan sonra yapılan ultraviyole ve görünür ışık (UV-VIS)

absorpsiyon spektroskopisi, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS), sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS), detektörlü sıvı kromatografisi (LC) gibi yöntemleri kapsamaktadır [2]. Bunlar içerisinde bulunan ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi çok geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Bu alet ile doğru ve duyarlı analizler yapmak için ön zenginleştirme-ayırma tekniklerinden biri kullanılmalıdır.

Analiz yapılırken kullanılan çözücüler çevre için zararlı, toksik etkide olan çözücüler olabilmektedir. Sürdürülebilir kimya için toksik çözümler yerini çevreci, doğa dostu çözümler kullanımını son yıllarda oldukça popülerdir. Bu çözümlere yeşil çözümler denilmektedir. Bilim insanları yeşil çözümler üzerinde uzun süren çalışmalar yapmışlardır ve ucuz, doğa dostu olan çözümleri bulmuşlardır. Uzun süren bu çalışmalar neticesinde derin ötektik çözümler (DES) bulunmuştur [3]. Derin ötektik çözümlerin yapısı organik olup, daha ucuz, bakteri ve mikroorganizmalar tarafından bozulan, yanıcı olmayan, uçucu olmayan, çevreye zararı olmayan, hazırlanması basit, kokusuz ve rengi olmayan çözümlerdir [4].

Eser düzeydeki Patent Blue V (E-131) boyar maddesinin sıvı faz mikroekstraksiyonu, mikro hacimlerde çözümler kullanılarak yapılmıştır. Ultraviyole ve görünür ışık (UV-VIS) absorpsiyon spektroskopisiyle tayininden önce Patent Blue V' in ilaç ve gıda numunelerinden ayrılması/zenginleştirilmesi için derin ötektik çözümler üzerine kurulu basit, ucuz ve hızlı bir mikro ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemde geri kazanma verimi üzerine etkili olan pH, DES türü ve hacmi, ekstraksiyon sıcaklığı ve sonikasyon süresi gibi parametreler optimize edilmiştir.

# 1. BÖLÜM

## GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

### 1.1.Boyar Maddeler

Maddelerin yüzeylerinin görsel açıdan güzel gözükmesi ve çevreden kaynaklanan etkilerden korunması için kullanılan maddeye boya denir [5]. Gıdalarda kullanılan boyalar genellikle suda çözünerek hazırlanmakta ve homojen karışım elde edilerek gıdalara eklenmektedir [6]. Gıdalarda kullanılan bu gıda boyası maddeler çoğunlukla değişik biçimlerde bulunurlar; katı, sıvı, küçük paletler halinde veya sulandırılmış macunsu şeklinde. Farklı şekillerde bulunmasından dolayı, kullanılacak boya maddesinin bulunduğu durum gıdada kullanılma, hacim ve miktarına etki edeceğinden boyanın bulunma şekli, dikkat edilmesi gereken çok önemli bir faktördür [7].

Eski çağlarda insanlar mağaralara çizimler ve resimler yapmış, bu çizim ve resimleri yaparken boyalar kullanmışlardır. O dönemde yapılan resimler ve çizimler analiz edildiğinde mağarada yaşayan bu insanların kömür kullandığı, bitkilerden elde ettikleri doğal boyaları kullandıkları, kan ve çamur kullandıkları görülmüştür. Çamuru renklendirmek için genellikle kırmızı, koyu sarı ve kahverengi rengi vermek için doğal demir oksitler kullanıldığı da görülmüştür [8]. İnsanoğlu eski çağlarda maddelere renk vermek için doğada bulunan bitkileri kullanmışlardır. Doğal olarak bulunan gıda boyaları bitkilerden, hayvansal organizmalardan veya mikroorganizmalardan elde edilerek bulunur, bir kısmı ise minerallerin içerisinde bulunmaktadır [9]. Gıda maddelerini tüketen tüketiciler doğal halde olan gıda maddelerini daha fazla tercih etmekte.

Doğal olarak elde edilen maddelere farklı yöntemler uygulanarak yarı sentetik boyalar elde edilmiştir. Örneğin yeşil renkteki biyolojik pigment olan klorofilin Cu kompleksi

veya sodyum; potasyum tuzları ile şekerin yaklaşık 150°C'de kuvvetli bir baz katalizör varlığında yakılmasından elde olunan karamel bu gruba girmektedir [9].

İlk doğal olmayan boyar madde ise 1856 yılında laboratuvar ortamında bulunmuştur. Bu doğal olmayan boyayı Sir William Henry Perkins siyah anilinden elde etmiştir [7]. Laboratuvar koşullarında kimyasal yöntemler kullanılarak elde edilen hiçbir doğal özelliği bulunmayan gıda boyalarına sentetik gıda boyası denilmektedir. Üretim biçiminden dolayı sentetik gıda boyalarına kömür katranı ismi de verilmiştir. Yapılarında - (N=N)- grubu bulunduğundan bu gruba sahip olan gıda boyaları azo boyalar olarak sınıflandırılmıştır. Azo boyar maddelerin sentezlenmesi basit yöntemlerle olduğundan, başlangıç maddesinin çok çeşidi bulunduğu için ve suda çözünmesinden dolayı azo boyar maddesinin çok sayıda üretilmesine neden olmaktadır [10]. Azo boyalara ponceau 4R, sunset yellow ve tartrazin örnek olarak verilebilir [11].

Laboratuvarında elde edilen boyaların parlaklığı daha iyi, renk yapma özelliği çok iyi ve renk tonu çeşidi ise daha fazladır. Yapay gıda boyalarının doğal gıda boyalarına göre kullanımı daha kolay ve dış etkenlere karşı dayanıklılığı daha fazladır [12]. Alizarin sarısı, Sunset Yellow F.C.F, Kongo kırmızısı, Ponceau 4R gibi azo boyaları ve Quinoline Yellow, indigo karmin gibi sentetik boyalar; şekerlemeler, kekler, dondurmalar, içecekler, jöleler, şuruplar, jelatinli şekerlemeler, meyveli yoğurtlar ve pastalar gibi birçok gıda maddesinde çok geniş bir alanda kullanılmaktadır [13]. Yapay olarak elde edilen gıda boyalarının insan sağlığına olumsuz etkilerinden dolayı dünya genelinde kullanımı sınırlandırılmış ya da yasaklar getirilmiştir. Gıda boyalarının kullanılma ölçüleri de ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir. 1963-1970 yılları arasında laboratuvar ortamında elde edilen boyaların kullanımı Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü uzmanlarının oluşturduğu komisyonca araştırılmıştır. Gıda boyalarının isimleri, kullanım miktarları ve zarar limitlerini belirlemişlerdir [14]. Gıda katkı maddelerinin kullanımında hukuksal olarak uygun olsa bile o madde belirli ölçütlere göre kullanılabilir. Yapılan analiz ve kontroller sonucunda izin verilen gıda katkı maddeleri kullanımına izin verilen gıdada, belirtilen dozda kullanılmalıdır. Gıda boyar maddeleri, bulunduğu gıdanın üzerindeki etiketinde adı, kodu ve kullanım miktarı belirtilmelidir [15]. Gıda boyalarına WHO, FAO gibi uluslararası kuruluşlar E101, E131, E108 gibi E harfi ile başlayan E100-E199 arası kodlar tanımlamışlardır. E harfi "European" kısaltmasıdır [16].

Ülkemizde ise 20 sene öncesine kadar 17 farklı sentetik boyanın kullanımına izin verilirken bugün sadece 6 boyanın kullanımı devam etmektedir. Sentetik gıda boyar maddeleri hücrelere zarar vererek kansere neden olduğu ve hücrelerde kalıcı değişimlere neden olduğu bilinmektedir. Sentetik gıda boyalarının analizleri, kontrolü, zehirli etkileri ve kansere neden olmaları sebebiyle gıda sanayisi için önemlidir. İşlenmiş et ürünleri olan sucuk, salam, sosis gibi et ürünlerinde nitrit ve nitratlar renk vermesi için kullanılmaktadır. Bu maddeler gıdalarda bulunan aminlerle reaksiyona girerek kanserojen olan maddeleri oluşturmaktadır. Bu sebeple oluşan N-nitrozo bileşikleri ve nitrozaminlerin zararlı etkilerinin araştırılması son yıllarda önem arz etmiştir. Bu zamana kadar 300 civarında N-nitrozo bileşikleri kontrolden geçirilmiştir. Gıdalarda bulunan N-nitrozo bileşiklerinin %90'ını deney hayvanları üzerinde araştırılmış ve kansere neden olduğuna yönelik önemli sonuçlar elde edilmiştir [17].

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre gıdalara eklenen katkı maddeleri, zararlı organizmaları engelleyen kimyasallar, aroma vericiler gibi maddelerin kullanımına yönelik bir takım özel hükümler getirmektedir. Gıda boyalarının, hangi gıdalara ve ne ölçüde ilave edileceği belirtilerek bir standart veri tabanı oluşturulmuştur. Bu yönetmelikle üretici ve tüketicilerin menfaati ile halk sağlığı korunup, gıda maddelerinin özellikleri belirlenmektedir [18]. Özellikle çocukların çok fazla tükettiği şekerlemeler, dondurmalar, pastalar ve içecek tozları gibi gıda maddelerinde yapılan bazı araştırmalarda, kullanılan yapay gıda boya miktarının da Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği (GKMY)'nin ortaya koyduğu değerlerin üzerinde olduğu bulunmuştur [19].

Gıda üreticilerinin 21.yüzyılda en çok yanlış ve kötü olarak kullandıkları katkı maddesi gıda boyasıdır. Yapılan analizler sonucunda gıda boyalarının %15'inin yasak olan boyalar olduğu, %64'ünün yasak olmayan ama miktar olarak fazla kullanıldığı geriye kalan %21'lik kısım ise izin verilen boya ve izin verilen miktarda olduğunu göstermiştir [20].

Gıda katkı maddelerinden biri olan gıda boyalarının kullanım miktarları insan sağlığı için önemli bir faktördür. Analiz yöntemlerinin gelişmediği zamanlarda gıda katkı maddeleri sadece nitel olarak analiz edilmiştir. Ancak gelişen teknoloji ile birlikte son yıllarda elektrokinetik kapiler kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi,

ince tabaka kromatografisi, ultraviyole ve görünür ışık spektrometresi yöntemleri kullanılarak gıdalardaki katkı maddeleri nicel olarak da analiz edilmektedir [21].

Laboratuvarda üretilen sentetik boyalar; trifenilmetan boyalar, azo boyalar, ksanten boyalar, indigotin boyalar ve kinolin boyalar olmak üzere 5 alt grupta incelenmektedir [22].

### 1.1.1.Azo Boyar Maddeler

Azo boyar maddeler laboratuvarda üretilen sentetik boyadır ve sentetik boyaların büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Boyar maddeler içerisinde önemli bir yere sahiptir. Azo boyar maddelerin yapısında en yüksek absorpsiyon değerine sahip kromofor grubu olan azo grubu (-N=N-) bulunmaktadır. Dağınık ya da konjüge olan sistemler ışığın görülebilir frekansını emer. Alifatik grup içerdikleri için renk şiddetleri düşüktür. Gökkuşluğu renklerinin tamamını içerir.

Azo boyar maddeler 1870 yıllarında üretilmeye ve gıdalarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu boyar maddeler doğal gıda boyalarından daha kararludur. Isıya karşı dayanıklıdır, ışığa ve hava ile temasında ise rengini kaybetmezler. Azo boyaları yağda çözünmemektedir. Çok kullanılmasının başlıca sebepleri arasında ucuz elde edilmeleri, kolay uygulanabilmeleri ve renklerinin parlak olmasıdır [23].

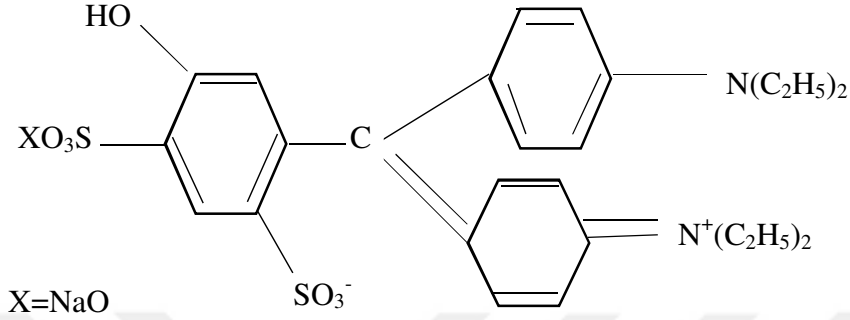
#### 1.1.1. Patent Blue V (E-131) Boyar Maddesi

**Diğer isimleri:** C.I. Acid Blue 5 Blue Patente V

**Sınıfı:** Triarylmethan

**Kimyasal ismi :** (4-(alfa-(4-diethyl-amhophenyl)-5 hydro = xy-2,4- disulfophenyl-methylidene) 2,5-cyclohexadien-1 -ylidene) diethylammonium hydroxiden Ca veya Na tuzu şekil 1.1 de gösterilmiştir.

**Açık formülü:**



*Şekil.1.1.Patent Blue V Yapısı*

**Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri:** Suda çok iyi çözünmektedir. Etanol içerisinde çözünürlüğü azdır. Kurutma sırasında oluşan kayıp max 135°C de % 15 şeklindedir [7].

Patent Blue V triaril metan yapısında olan sentetik gıda boyasıdır. Koyu mavi toz ve granül şeklindedir. Dondurmalar, tatlılar, pasta süslemeleri, şekerler, toz içecek gibi ürünlerde bulunmaktadır. Ayrıca ilaçlarda da kullanılmaktadır. Patent Blue V'in kullanımı sağlık problemleri oluşturmaktadır. Astım, nefes problemleri, deride döküntüler, alerjik hastalıklar, hiperaktivite bozukluklarına neden olmaktadır. Tıpta meme kanseri, malign melanom lenf düğümlerinin belirlenmesinde kullanılması sonucu da alerjik reaksiyonlar oluşturduğu görülmüştür [24]. Patent Blue V gıda boyası ışık etkisinde bozulmaktadır. Bozulan bu yapı insan vücuduna alındığında çok ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır [25]. Patent Blue V gıda boyasının bu zararlı etkilerinden dolayı birçok ülkede kullanımı da yasaklanmıştır.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nce kullanılmasına izin verilen kullanım miktarı belirlenmiş ve şu şekilde verilmiştir [26]. Alkolsüz içeceklerde 100 mg/L, meyveli şekerlemelerde 200 mg/kg, süsleme ve kaplamalarda 500 mg/kg, dondurmalarda 150 mg/kg, hardalda 300 mg/kg, soslarda 500 mg/kg, tatlılarda 150 mg/kg, çorbalar 50 mg/kg olarak belirlenmiştir

## 1.2.Ayırma ve Zenginleştirme Metotları

Saflik miktarı yüksek olan maddelere, teknolojinin gelişmesi ile birlikte ihtiyaç artmıştır. Eser maddeler doğrudan cihaza verildiğinde ölçülemeyecek miktardadır. Ölçümde aranan maddenin kimyasal türüne göre ismi değişmektedir örneğin eser element gibi [27]. Analitik kimya için eser madde analizi önemlidir. Gıda kontrol laboratuvarında, su, toprak ve hava kirliliği gibi çok farklı konularda eser madde analizi yapılmaktadır. Eser madde analizleri insanların sağlığı için de çok önemli hale gelmiştir.

Analitte bulunan eser maddenin miktarı kadar kimyasal yapısı da önemlidir. Örnek olarak sularda bulunan eser miktarda bulunan metallerin yapısının analizi, biyolojik zararları, çevreye olan zararı ve jeokimya için gerekli bilgiler bulundurmaktadır [28].

Eser maddeler için “Eser Derişimi” kullanılmaktadır. Derişim için uygun çalışma değerleri, eser madde analiz yöntemlerinin gelişmesiyle değişkenlik göstermiştir. Eser madde tayininde mikro-makro ayırma çok kullanılmaktadır. Atomik absorpsiyon spektrometresi ve emisyon spektroskopisiyle tayinleri için eser elementler sınıflandırılmıştır [29]:

- a) Eser madde, derişimleri  $10^2-10^4$  mg/L
- b) Mikro-eser maddeler, derişimleri  $10^{-7} -10^{-4}$  mg/L
- c) Nano eser maddeler, derişimleri  $10^{-10} -10^{-7}$  mg/L [30].

Bozucu etki yapan ortama matriks denilmektedir. Doğruluk, kesinlik ve hassaslık gibi faktörleri matriks ortamı değiştirmektedir. Hatta bazı durumlarda eser maddenin analizini bile zor hale getirmektedir [31]. Eser maddenin belli bir değerin altında bulunması durumunda elde edilen sinyal zemin sinyalinin altın da kalır. Bu durumun önlenmesi için standartla, örnek madde fiziksel olarak benzetilir [32].

Eser maddelerin analizi yapılırken bazı sorunlar oluşabilmektedir. Eser madde derişimi analizi olmayacak kadar küçük olabilir, analizi yapılacak örneğin çok fazla olması, ortamda bulunan etkileri önlemek için analiti ortamdan almak gibi problemlerle karşılaşılabilir [33].

Zenginleştirme yöntemleri ise eser madde analizinde oluşan problemleri gidermek için kullanılır. Eser maddelerin matris ortamından uzaklaştırılarak, küçük hacimde bulunmasını sağlayan yöntem zenginleştirme yöntemi denir [34]. Zenginleştirme işleminde genel olarak eser madde derişimi büyütölür, madde uygun ortama alınır, örneğın homojen olması sağlanır vb. birçok yöntem kullanılarak doğruluk, duyarlık gibi ölçütler artırılır.

Zenginleştirme işlemlerinde uygulanan yöntemlere örnek vermek gerekirse, ekstraksiyon, uçurma, birlikte çökme, kristallendirme, iyon değıştirme, elektrokimyasal yöntemler, yakma tayini gibi işlemler örnek verilebilir [35].

Mikroekstraksiyon yöntemi konusunda artan teknolojik gelişmelerle birlikte çok fazla çalışma yapılmaktadır. Mikroekstraksiyon yönteminde çok az miktarda kimyasal maddeler ve örnek kullanımı gerekmektedir. Bu yöntemin uygulaması gıda analizi, biyolojik madde analizi, su analizi gibi analiz çeşitlerinde kullanılmaktadır [36].

### **1.3.Mikroekstraksiyon**

Örnek maddenin ayrılması ve zenginleştirilmesi yöntemleri kullanılarak analiz için istenilen duruma getirilmesi işlemine mikroekstraksiyon denir. Klasik örnek hazırlama yönteminin bazı dezavantajları bulunmaktadır; yapılması zor, örneğın büyük miktarda kullanımı, uzun zamanlarda olması ve karmaşık yapıda olması gibi [37].

Toplum, teknolojinin gelişmesi ile birlikte çevreyi kirleten maddelerin, sağlık sorunları oluşturduğu konusunda daha bilinçli olmuştur. Hava, su ve toprak gibi numunelerin içerisinde bulunan zehirli maddelerin tayin edilmesi sonucunda çevrenin araştırılmasına olan ilgi ve ihtiyaç artmıştır [38]. Numunenin hazırlamasında kullanılan yöntem ve tekniğın ucuz, çevre dostu, zor olmayan ve birçok cihazda kullanılabilir olması gerekmektedir. Ekstraksiyon tekniğı ile karşılaştırıldığında mikroekstraksiyon yönteminin zenginleştirme faktörlerinin çok daha iyi olduğu bilinmektedir.

Mikroekstraksiyon yönteminde çok kısa sürede az ölçülerde örnek kullanarak, sıvı-sıvı ekstraksiyon metoduna göre az miktarda organik faz harcadığı görölmektedir. [39].

### 1.3.1. Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (LPME)

Sulu numunelerin analizinde en çok kullanılan yöntem sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi olmuştur. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi 2 yol kullanılarak yapılır; birincisi ana bileşen maddeler ortamdan ayrılır eser maddeler sulu aşamada kalır ikincisi ise sulu aşamadaki eser maddelerin şelatları veya farklı iyon kompleksleri biçiminde organik aşamaya alınması ile olmaktadır [40]. Eser elementin organik faza alınması yöntemi daha çok kullanılmaktadır. Ekstraksiyon uygulamasında seçicilik; pH, yan tepkimeler, ligand, çözücü çeşidi ve sıcaklık gibi değişkenlerden faydalanılarak yapılır [41].

Sıvı faz mikroekstraksiyonun (LPME) sıvı-sıvı ekstraksiyondan en önemli farkı ekstraksiyon sıvısının mikrolite düzeylere azaltılmasıdır. Mikrolitre düzeyde ekstraksiyon sıvısının kullanılması ile hem çözücü kaybı engellenmiş hem de buharlaştırma işlemine gerek kalmamaktadır [42].

Son yıllarda sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminde zehirli olan çözücüler kullanılmamakta bunların yerine daha sağlıklı, çevreye dost, yeşil çözücülerin kullanılmasıdır [43]. LPME tekniği basittir, genellikle kısa sürede yapılmaktadır, uygun cihaz ve malzemeler kullanıldığı görülmektedir. Ayrıca, çok işleve sahiptir ve endüstride kullanım potansiyeli de yüksektir [44].

### 1.4. Derin Ötektik Çözücüler

Ötektik kelimesi ‘kolayca eriyen’ anlamına gelmektedir. Her bir bileşenden daha düşük erime noktasına sahip, birbiri içerisinde belirli oranlarda çözünerek homojen karışım oluşturan sistemler derin ötektik çözücülerdir [45]. Derin ötektik çözücüler iyonik sıvıdır. Derin ötektik çözücüler 2003 yılında Abbott tarafından keşfedilmiştir. 2010 yılından itibaren de çalışmalarda kullanımı çok fazla artmıştır. Bu çözücü ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda enzimlerde substrat olarak kullanılmıştır. Enzimlerle ilgili yapılan bu çalışmalarda, enzimlerin DES’ler ile birlikte kullanılarak çözümleri sağlandığında fonksiyonunu kaybetmedikleri ve tepkime ortamlarının diğer organik çözücülere oranla daha iyi olduğu da görülmüştür [23].

Derin ötektik çözücüler kuaterner amonyum tuzlarının hidrojen bağı vericisi bulunan maddelerle karıştırılarak yapılmaktadır. Hidrojen bağı etkileşimi ile bir ötektik çözücü

oluşur [46]. Genel olarak bu çözücüler, donma noktasının büyük bir düşüşü ile kendine özgüdür ve bunların büyük bir çoğunluğu da 25 °C ile 70 °C arasında sıvıdır [47]. Derin ötektik çözücüyü meydana getiren hidrojen bağı alıcısı ve hidrojen bağı donörünün uygun molaritelerinde hidrojen bağlama kapasitelerine göre değişkenlik olmaktadır [48]. 2007 yılında DES hazırlamak için Tablo 1.1 de belirtilen dört farklı bileşim şeklini önermişlerdir [49].

*Tablo.1.1.*DES Hazırlamak için farklı kombinasyonlar [49]

SEÇENEK	ÖRNEK
1. Metal Tuzu + Organik Tuz	ZnCl <sub>2</sub> + Kolin Klorür
2. Organik Tuz + Hidrojen Beğ Donörü	Kolin Klorür + Üre
3. Metal Hidrat Tuzu + Organik Tuz	CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O + Kolin Klorür
4. Metal Hidrat Tuzu + Hidrojen Bağ Donörü	ZnCl <sub>2</sub> + Üre

Yapılan çalışmaların büyük bir kısmı; kuarterner amonyum ve imidazolium katyonları (örn. kolin klorür) ile yapılmıştır [50]. Genel hidrojen bağı alıcısı, zehirli olmayan kuaterner amonyum tuzları veya aminoasitlerdir (örn. alanin, lösin, glisin, valin). Hidrojen bağı donörü ise organik asitler (örn. oksalik asit, laktik asit, formik asit vb.) veya karbonhidratlardır (örn. glikoz, ksiloz, galaktoz) [51]. HBA ve HBD örnekler tablo 1.2 de gösterilmiştir. Aminler, alkoller, aldehit, keton ve karboksilik gruplar HBD ve HBA olarak ikili özellik göstermektedir. DES' leri meydana getiren maddelerin ve molekül düzenlemelerinin sayısı 106' ya kadar artabilmektedir. Bundan kaynaklı olarak çok yönlü olmaları ve neredeyse sınırsız sayıda birleşimleriyle ihtiyaca göre çözücü hazırlanabilmektedir [52].

Tablo.1.2. HBA ve HBD örnekler [60]

HBA	HBD	Mol Oranı
Kolin Klorür	Laktik Asit	1:2
	Okzalit Asit	1:1
	Malik Asit	1:1
	Gliserol	1:2
	Fruktoz	2:1
	Gluktoz	2:1
Kolin Asetat	Üre	1:2
	Gliserol	1:1,5
Kolin Bromür	Levülinik Asit	1:4
Kolin Florür	Üre	1:2
Kolin Nitrat	Üre	1:2
Asetilkolin Klorür	Üre	1:2
	Ksiloz	1:1
	Glikoz	1:1
	Maltoz	1:1
	Fruktoz	1:1

Derin ötektik çözücüler için en çok kullanılan ve yazılan fiziksel özellikler viskozite ve yoğunluktur. Sistemin boyutunu ve maliyetini tahmin edebilmek için yoğunluğunun bilinmesi lazım. Bu sebeple yoğunluk derin ötektik çözücüler için çok önemli bir özelliktir [53].

Son zamanlarda, supramoleküler çözücüler, ferrosıvılar, iyonik sıvılar vb. dâhil olmak üzere yeni nesil çözücülerle mikro özütleme teknikleri, organik ve inorganik numunelerin eser miktarda ayrılması ve zenginleştirilmesi işlemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle derin ötektik çözücülerin materyalleri kolay, ucuz, çevre dostu ve elde edilme kolaylığı açısından avantajlıdır [54].

Derin ötektik çözücülerin bu özelliklerinden dolayı çok fazla çalışma alanı meydana gelmiştir. Bunlar organik sentezleme, elektrokimya, kataliz, malzeme hazırlama (karbon malzemeler ve nanomalzemeler), çözünme ve ayırma - metal oksitlerin çözünmesi, ilaç çözünmesi, biyodizel arıtılması gibi birçok alan bulunmaktadır [55].

Analitik kimyada uygulaması ise; DES tabanlı mikroekstraksiyon prosedürleri, yeni bir tür homojen sıvı-sıvı ekstraksiyonu (HLE) olarak düşünülebilir. Genel olarak DES tabanlı HLE işlemlerinde su ile karışabilen DES ilave edilir ve homojen bir çözelti elde edilir. Bu nedenle, bulanık bir çözelti elde etmek için bir emülgatör çözücü eklenir. Ardından, DES damlacıklarını sulu numuneye dağıtabilmek için ultrasonik bir banyoda sonikasyon yapılır. Faz ayrımı genellikle santrifüjleme ile yapılır [56].

### 1.5.Yeşil Kimya

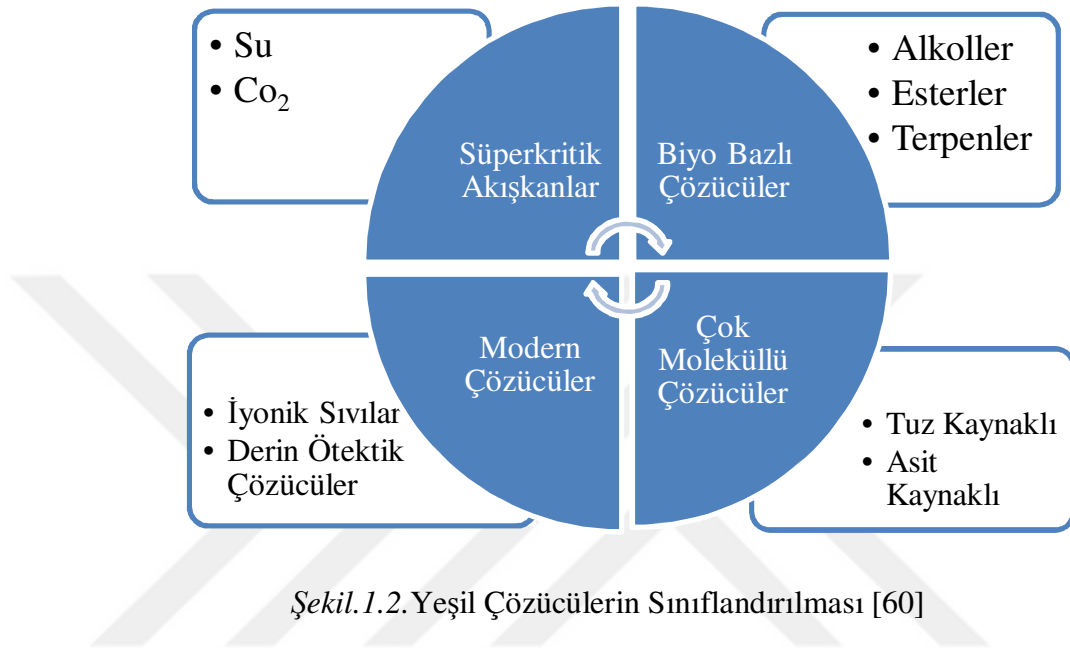
Artan teknoloji ve hızlı sanayileşme gibi sebepler, çevre kirliliğinin artmasına, kaynakların tükenmesine neden olmaktadır. Çevresel sorunlardaki bu artış “çevrenin korunması”, “çevrebilimi” ve “sürdürülebilir kalkınma” gibi kavramları da beraberinde getirmiştir. Yeşil Kimya, zararlı maddelerin kullanımını, bu maddelerin üretimini en aza indirmek veya ortadan kaldırmak için gerekli olan kimyasal ürünlerin kullanımı ve işlemlerin hepsine denilmektedir [57]. Yeşil kimya, klasik kimya yöntemleri ile meydana gelen hem çevreye hem de canlılara zarar veren yöntemlerin en baştan ortadan kaldırılması için yararlanılacak yöntemdir.

Gelişmekte olan dünya için yeşil kimyanın önemi çevre koruma konusunda çok büyüktür. Yeşil Kimya Enstitüsü dünya genelinde yeşil kimyanın kavramını ve uygulamasını şekillendiren birimdir [58]. Çevreye zararı olmayan tasarımlar ve süreçler, yeşil kimyanın 12 temel prensibi göz önünde bulundurularak oluşturulmaktadır. 12 ilke, yeşil kimyanın hedeflerine ulaşmak için süreçlerin ve ürünlerin oluşması aşamasında bilim insanlarının kullandığı kılavuz ve tasarım ölçütleri özelliğine sahiptir [59].

Analitik sürecin 4 ana basamağı vardır: numunenin toplanması, hazırlanması, analiz ve sonuçların değerlendirilmesidir. Bu her bir basamak çevreyi etkilemekte ve kirliliğe neden olmaktadır. Çevreye zararlı olmayan analitik süreçler için; analitik cihaz minyatürleştirilmesinin faydaları arasında zehirli reaktiflerin kullanımının ve atık oluşumunun azaltılmasıdır.

Çözücüler tekstil, kâğıt, gıda, ilaç endüstrisi ve kimya sanayisi gibi çok fazla endüstri dalında kullanılmaktadır. Laboratuvar çalışmalarında ise sentez, ekstraksiyon gibi aşamalarda kullanılmaktadır. Maddelerin çözücü olarak kullanımı için, bazı özellikleri sağlamaları gerekir. Örneğin, çalışılan ortam sıcaklığında sıvı fazda olabilmeli, ticari olarak saf halde bulunabilmeli ya da saflaştırılabilmesi basit ve ekonomik olmalıdır. Yeşil çözücüler, zehirli olmayan, geri dönüşümü mümkün olan, uçucu olmayan ve elde

edilmesi ekonomik olan çözücülerdir. Sürdürülebilir çevre için, kullanılan zararlı çözücüler yerine, yeşil çözücü kullanımı yaygınlaştırılmalıdır. Sıklıkla kullanılan yeşil çözücülerin sınıflandırılması şekil 1.2. de gösterilmiştir [60].



Şekil.1.2. Yeşil Çözücülerin Sınıflandırılması [60]

## 1.6. Kemometri

Analitik laboratuvarında, kullanılan yöntemlerin geliştirilmesine ivme katmak, verileri daha iyi kullanmak ve analiz sürecini açıklamak gibi çeşitli hedeflere ulaşmak için kemometri kullanılabilir. Analiz sonucu elde edilen kimyasal sonuçların matematiksel olarak işlenip yorumlanmasına yardımcı istatistiksel bir tekniktir. Kemometri; elektrokimyasal, kromatografik ve spektrofotometrik analiz yöntemlerinden elde edilen verilere uygulanabilir [61].

Kemometri çok farklı alanlarda kullanılmaktadır; analitik kimya, adli tıp, gıda ve çevre kimyası, biyoloji, ilaç kimyası gibi. Organik kimyacılar ve farmasötik kimyacılar, reaksiyon koşullarının en uygun şekilde konulmasında deneysel tasarım ve ilaç tasarım çalışmalarında kemometrinin araçlarını kullanmaktadırlar [62].

Ekstraksiyon işlemi sırasında yapılan yöntem geliştirme çalışmalarında optimizasyon genellikle karşımıza çıkmaktadır. Özellikle yeşil kromatografiyi içine alan bir çalışmada harcanan kimyasalları azaltmak, zaman ve enerjiyi iyi kullanmak kısaca çevreye verilen zararı en aza indirmek amacıyla kısa sürede birden çok deney tasarlayabilmek için kemometrik optimizasyon kullanılabilir [63].

## 2. BÖLÜM

### YÖNTEM VE MATERYAL

Bu tez çalışmasında eser düzeyde bulunan Patent Blue V (E131) boyar maddesinin sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi uygulandıktan sonra UV-VIS spektrofotometre kullanımı ile tayin edilmesi için ayırma ve zenginleştirme yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmada yeni nesil çevre dostu çözücüler olarak kabul edilen derin ötektik çözücüler (DES) kullanılmıştır. Elde edilen veriler kemometrik yöntemle işlenip rapor edilmiştir.

#### 2.1. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Deneysel çalışmaların çok büyük bir kısmı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Deneyler için gerekli saf su ihtiyacı Milli-Q marka saf su cihazından karşılanmıştır. Mettler Toledo FE28 marka pH metre ile çalışmalar esnasında çözeltilerin pH değerlerinin ölçümleri yapılmıştır. Tartımlar 0,001 mg hassasiyete sahip Quality Precisa 125 A SCS marka analitik terazi ile gerçekleştirilmiştir. Hacim ölçümlerinde Nichiryo marka 100-1000 µl aralığında ayarlanarak kullanılabilen mikropipet tercih edilmiştir. Hettich Rotofix 32A marka santrifüj, sulu faz ile organik fazın birbirinden ayrılması işleminde kullanılmıştır. Numunelerin karıştırılması işlemlerinde A SK5210LHC Kudos marka ultrasonik banyo kullanılmıştır. Bu çalışmada Patent Blue V(E131) boyar maddesinin tayin edilmesinde çift ışın yoluna sahip Shimadzu marka 1800 model mikro küvetin kullanıldığı bir UV-VIS spektrofotometre cihazı tercih edilmiştir. Kullanılan mikro küvetler 0.70 ml hacim kapasitesine sahiptir. Kemometri analizi, deneysel tasarım ve optimizasyon adımı için Design-Expert® yazılımı sürüm 13 kullanıldı.

## 2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Reaktifler

Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflığa sahiptir.  $1 \times 10^{-4}$  M patent blue V stok çözeltisi deiyonize su ile hazırlandı. Çalışma çözeltileri ve kalibrasyon ölçümlerinde kullanılan çözeltiler stok çözeltilerin günlük sıralı seyreltmeleri ile hazırlandı. n-oktanoik asit (C8, saflık  $\geq 98$ , Merck), nonanoik asit (C9, saflık  $\geq 96$ , Sigma), dekanolik asit (C10, saflık  $\geq 98$ , Sigma), undekanoik asit (C11, saflık  $\geq 99$ , Merck) ve dodekanoik asit (C12, saflık  $\geq 96$ , Merck), düşük viskoziteli yağ asidi bazlı derin ötektik çözücülerin hazırlanmasında kullanıldı.  $\text{KNO}_3$  çözeltileri onun stok katısından (saflık  $\geq 99$ , Merck) uygun miktarlarının su içerisinde çözünmesiyle hazırlandı. Metanol, etanol, aseton, tetrahidrofuran (THF), asetonitril, 1-propanol (saflık  $\geq 98$ ) Merck'ten (Almanya) satın alındı.



Şekil 2.1. DES-SA-DLLME Çalışması

Deneylerden önce erlen, beher, balon joje ve plastik saklama kapları, santrifüj tüpleri, cam tüpler gibi deneysel çalışmalarda kullanılan malzemelerden gelebilecek kimyasal kirlenmeleri ve analit kayıplarını önlemek amacıyla temizlik işlemleri yapıldı. Temizlik işleminde, malzemeler deterjanlı su ile iyice yıkayıp bol su ile durulandıktan sonra saf

su ile iyice durulanıp kurutularak kullanıldı. Şekil 2.1'de laboratuvarında DES-SA-DLLME çalışması verilmiştir.

### 2.3. Örnek Hazırlanması

Bu çalışmada bazı gıda ve ilaç örnekleri kullanılarak Patent Blue V (E131) boyar maddesinin ekleme geri kazanma çalışmaları yapılmıştır. Çeşitli toz içecekler, boğaz spreyi, takviye edici ilaç örnekleri farklı yerlerden alınarak temin edildi. Katı numunelerde 6 g alınarak 45 ml suda çözülerek hazırlanmıştır. Sıvı numunelerde ise 2 ml alınarak geliştirilen yöntem uygulanarak Patent Blue V içerikleri spektrofotometre ile analiz edildi.

### 2.4. DES Hazırlama

DES'ler, HBA ve HBD grupları içeren en az iki kimyasal türün belirli bir oranda (molar) karıştırılmasıyla hazırlanır. Bu çalışmada, literatürde bildirilen yönteme göre dört DES hazırlandı. HBA olarak dekanolik asit, metanol, tetrabutylamonyum bromür ve trioktilfosfinoksit, HBD olarak oktanol, levulinik asit, dodekanol ve timol kullanıldı. HBA ve HBD belirli molar oranda eklendi. Beherler magnetik ısıtıcı tablaya yerleştirildi ve karıştırılarak homojen sıvı elde edilerek ısıtıldı. Hazırlanan DES'ler, 25°C sıcaklığa getirildikten sonra mikroekstraksiyon çalışmaları için test edildi. Hazırlanan DES'lerin kombinasyonları, molar oranları ve sembolleri Tablo 2.1.'de sunulmuştur.

*Tablo 2.1. Hazırlanan DES'lerin molar oranları, bileşimi ve sembolü*

Kısaltma	HBA	HBD	Molar oran
DES-1	Dekanoik asit	Oktanol	1:2
DES-2	Metanol	Levulinik asit	1:2
DES-3	Tetrabutylamonyum bromür	1-dodekanol	1:2
DES-4	Trioktilfosfin oksit	Timol	1:2

## 2.5. Deneysel Modelleme

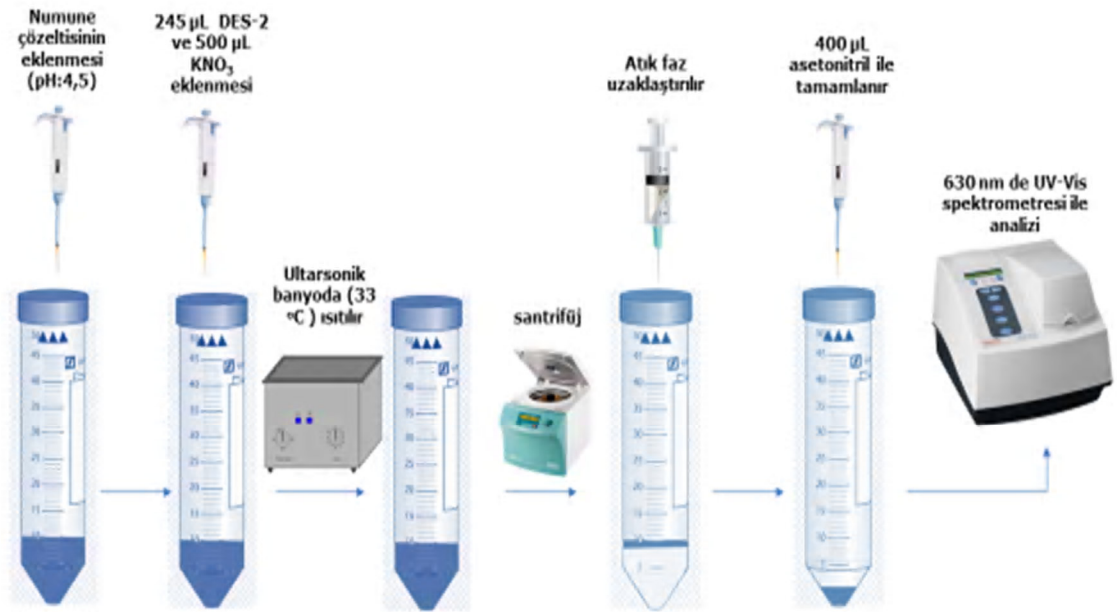
DES-LPME yönteminin temel mikro ekstraksiyon faktörlerinin optimizasyonu için kemometrik yaklaşıma dayalı Box Behnken tasarımı (BBD) uygulandı. Ön deneylerin sonucuna dayanarak, BBD tarafından optimizasyon için ekstraksiyon sıcaklığı (A), pH (B), DES-2 Hacmi (C), ve sonikasyon süresi (D) temel mikroekstraksiyon faktörleri olarak seçildi. Bu kapsamda dört değişkenli üç seviyeli bir tam BBD oluşturuldu. BBD'nin faktörleri, seviyeleri, birimleri ve sembolleri Tablo 2.2' de verilmiştir.

Tablo 2.2. Optimizasyon için BBD' deki değişkenler ve seviyeleri

Değişkenler	Birim	Sembol	Seviyeler		
			-1	0	+1
Ekstraksiyon sıcaklığı	°C	A	30	40	50
pH		B	4	6	8
DES-2 hacmi	µL	C	200	500	800
Sonikasyon süresi	dk	D	2	6	10

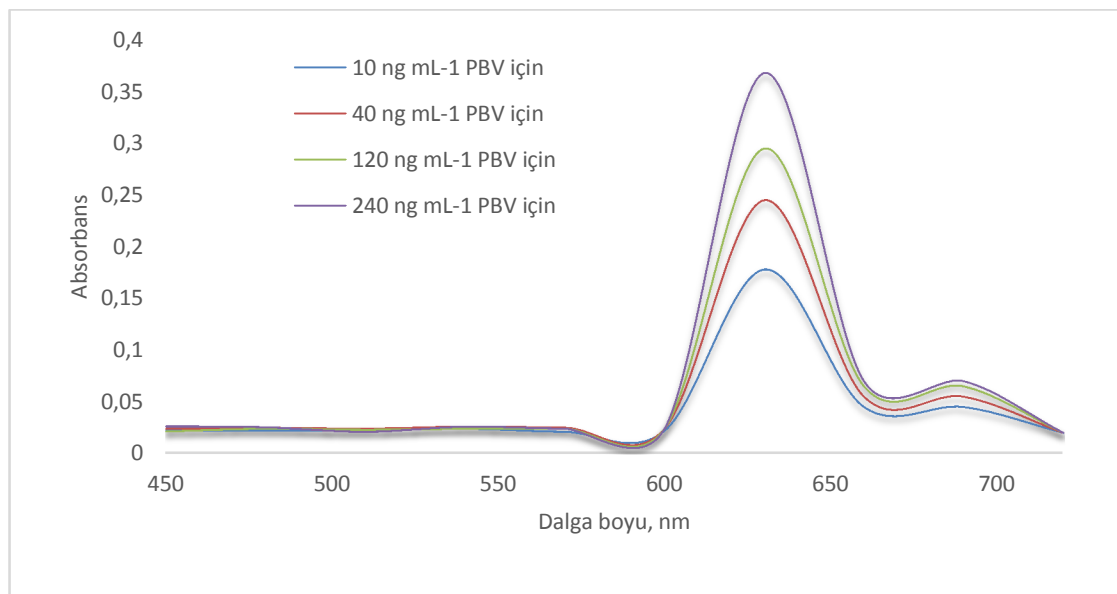
## 2.6. DES-SA-DLLME Yöntemi

DES kullanılarak yapılan bu sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemine göre deneysel aşamalar şöyledir. Geliştirilen DES-SA-DLLME yönteminin şematik diyagramı şekil 2.3' de gösterilmektedir. İlk olarak, hazırlanan katı numunelerin çözeltilerinden 2 mL falcon tüplere ilave edildi. Daha sonra, numune çözeltilerinin pH'ı, asetat tampon çözeltisi kullanılarak pH 4.4'e ayarlandı. 245 µL DES-2 (metanol-levülinik asit sırasıyla 1:2 molar oranlı) ve 500 µL KNO<sub>3</sub> elde edilen karışımdan Patent Blue V 'i ekstrakte için numune çözeltisine ilave edildi ve tüpler ultrasonik banyoya yerleştirildi. Hazırlanan DES-2'nin numune çözeltisine etkin dağılımını ve Patent Blue V ile etkileşimini arttırmak için tüpler 33 °C sıcaklıkta 8.5 dakika sonikasyona tabi tutuldu. Sonikasyondan sonra tüpler 4000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi ve Patent Blue V 'i içeren DES-2 fazı sulu çözeltinin üzerinde toplandı. Sulu kısım boşaltıldı, kalan fazın son hacmi asetonitril ile 400 µL'ye tamamlandı. Ardından elde edilen çözelti mikro kuvars küvetlere aktarıldı. Son olarak, UV-VIS spektrofotometresi kullanılarak 630 nm'de absorban ölçümleri yapıldı.



Şekil 2.2. Geliştirilen DES-SA-DLLME Yönteminin Şematik Gösterimi

Ekstraksiyon ve analiz adımları, numune körüne paralel olarak üç tekrar halinde gerçekleştirildi. Ayrıca optimum koşullarda Patent Blue V için elde edilen spektrumlar Şekil 2.2.'de verilmiştir.



Şekil 2.3. Optimum koşullarda farklı PBV derişimleri için elde edilen UV-spektrumları

## 2.7.Geri kazanım ve analitik parametrelerinin hesaplanması

Yüzde geri kazanım, DES-SA-DLLME yönteminin mikroekstraksiyon parametrelerinin uygun değerlerini belirlemek için referans olarak değerlendirildi. Geri kazanım yüzdesi aşağıda bulunan formül ile hesaplandı;

$$\text{Geri kazanım (\%)} = 100 \times C_{\text{final}} V_{\text{final}} / C_0 V_0 \quad (1)$$

Burada,  $V_{\text{final}}$ ,  $V_0$ ,  $C_{\text{final}}$  ve  $C_0$  sırasıyla ölçülen fazın hacmini, başlangıç çözeltinin hacmini, ölçülen fazdaki Patent Blue V derişimi ve başlangıç çözeltiye eklenen Patent Blue V derişimini ifade eder. Gözlenebilirlik sınırı (GS) ve tayin sınırı (TS) aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplandı.

$$\text{GS} = 3S_{\text{boş}}/m \quad (2)$$

$$\text{TS} = 10S_{\text{boş}}/m \quad (3)$$

Burada,  $S_{\text{boş}}$ , kör numunelerin standart sapması iken,  $m$ , kalibrasyon grafiğinin eğimidir. Ön deriştirme faktörü örnek hacminin son hacime bölünerek bulunması ile elde edilmiştir. Zenginleştirme faktörü (EF) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{EF} = m_1/m_2 \quad (4)$$

Burada  $m_1$ , DES-SA-DLLME yöntemi kullanılmadan elde edilen kalibrasyon grafiğinin eğimi iken  $m_2$ , DES-SA-DLLME yöntemi uygulandıktan sonra elde edilen kalibrasyon grafiğinin eğimidir.

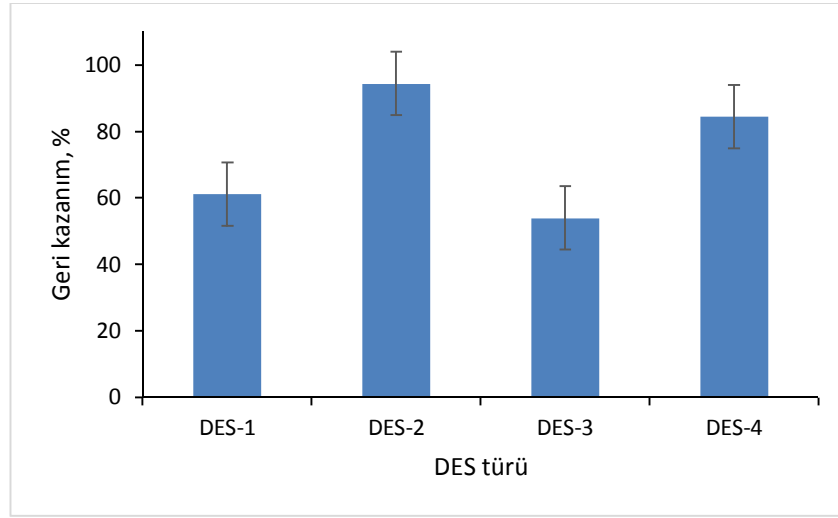
## 3. BÖLÜM

### BULGULAR

Derin ötektik çözücü kullanımı vasıtasıyla Patent Blue V (E131) boyar maddesinin mikroekstraksiyonun ve spektrofotometrik analiz sonuçlarını etkileyen pH, DES hacmi sonikasyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığı gibi farklı parametrelerin optimizasyonları yapılmıştır. Optimizasyon işlemlerinin tamamlanmasından sonra gıda ve ilaç örneklerine ekleme geri kazanma çalışmaları yapılmıştır.

#### 3.1. DES türünün etkisi

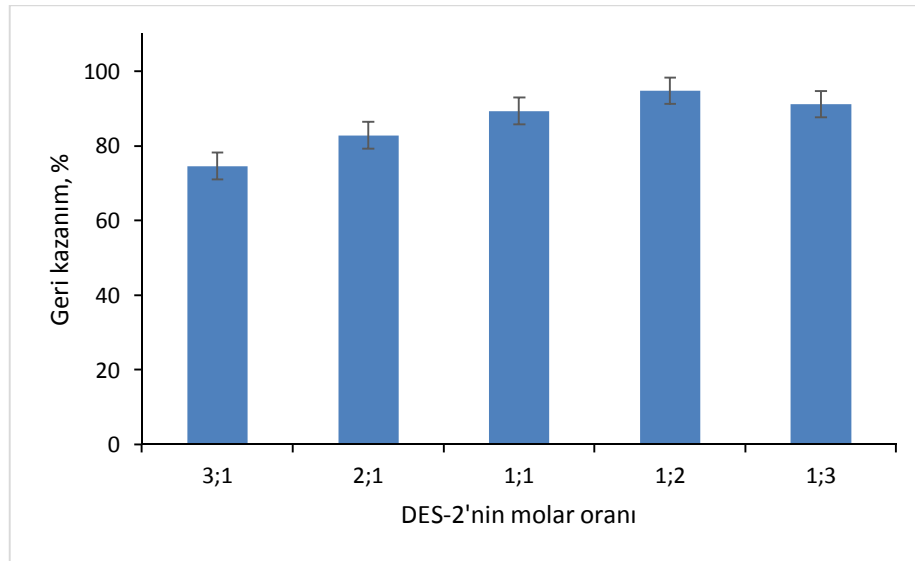
Kemometrik optimizasyonu uygulamadan önce, hızlı ekstraksiyon ve nicel geri kazanımları sağlamak için uygun DES tipi ve molar oranın seçimi önemlidir. Bu kapsamda, Bölüm 2.4' de hazırlanan 4 farklı DES, Patent Blue V 'in ekstraksiyonu için test edildi. Bu çalışmada tüm DES' lerin eşit hacimleri kullanıldı. Uygulama sonucunda elde edilen geri kazanım değerleri Şekil 3.1' de sunulmuştur. İlgili çizelgeden görüleceği üzere Patent Blue V için elde edilen geri kazanım değerleri sırasıyla DES-2 (%94.4) > DES-4 (%84.5) > DES-1 (%61.2) > DES-3 (%53.9) dur. Elde edilen sonuçlara göre uygun ekstraksiyon solventi olarak Menthol, Levulinic acid oluşan DES-2 seçildi.



Şekil 3.1. DES türünün PB-V'in geri kazanımına etkisi, N=3

### 3.2. DES'in molar oranının etkisi

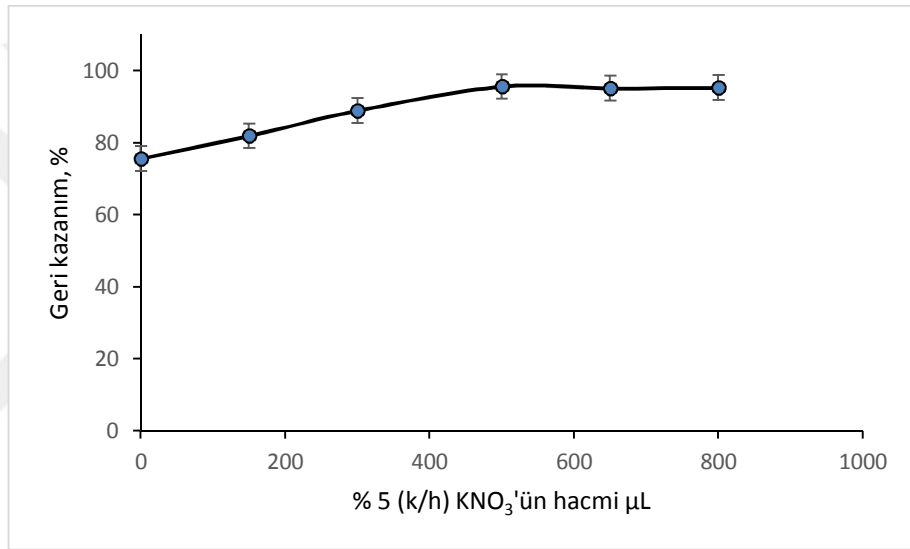
DES' in etkinliğini etkileyen diğer bir parametre, onu oluşturan bileşenlerin molar oranıdır. Bu kapsamda DES-2'yi oluşturan bileşenlerin molar oranları değiştirilerek en etkin molar oran belirlenmeye çalışıldı. Metanol, Levulinik asit karışımından oluşan DES-2 için optimum mol oranı 1:2 olarak belirlendi ve bu koşullar altında en iyi faz ayrımı ve dolayısıyla Patent Blue V 'den en yüksek geri kazanım elde edilmiştir. Kapsamlı sonuçlar Şekil 3.2 ' de verilmiştir.



Şekil 3.2. DES-2'nin molar oranının PB-V'nin geri kazanımına etkisi, N=3

### 3.3. İyonik şiddetin etkisi

DES'e dayalı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon çalışmalarında, numune çözeltisinin iyonik gücü ayırma verimini değiştirebilir. Bu bağlamda, iyonik gücün faz ayrılması ve Patent Blue V'in geri kazanılması üzerindeki etkisi, farklı  $KNO_3$  konsantrasyonları (%0 ila %10 (a/h)) için test edildi. Sonuçlar Şekil 3.3' de verilmiştir. İyonik şiddetin artmasıyla birlikte Patent Blue V'in geri kazanımının arttığı görülmüştür ve 500  $\mu L$  maksimuma ulaşmıştır. İyonik şiddetin artmasıyla faz ayırımının daha kolay olduğu çalışmada görülmüştür.



Şekil 3.3. İyonik şiddetin PB V'nin geri kazanımına etkisi, N=3

### 3.4. Kemometrik analiz

Kemometri analizi, Design-Expert® yazılımı ile Çizelge 3.2'deki veriler kullanılarak yapıldı. Bu kapsamda optimizasyon çalışmalarından elde edilen ANOVA verileri tablo 3.2.'de verilmiştir. ANOVA analizinde faktörlerin etkinliği için değerlendirilen ilk parametre p (anlamlılık) değeridir. Burada, Patent Blue V'in ekstraksiyonunun anlamlı olması için kurulan BBD modeli için %95 güven düzeyinde p-değerinin 0.05'ten küçük olması gerekir. Tablo 3.2.'deki veriler kurulan BBD modelinin p-değerinin 0.05' ten çok daha küçük olduğunu göstermekte ve buna göre kurulan BBD' nin anlamlı olduğu sonucuna varılır. Ek olarak, tüm doğrusal, ikili ve ikinci dereceden etkileşimlerin p değerleri de 0.05 'ten küçük olduğundan, BBD için tüm faktörler anlamlıydı. BBD modeline en fazla katkıda bulunan faktörü belirlemek için F değerleri değerlendirilir. F

değeri sayısal olarak ne kadar büyük olursa, kurulan BBD modeline katkısı o kadar büyük olur. Bu açıklamaya dayanarak, tablo 3.2.'den sonikasyon süresinin (F değeri: 207.17) BBD modeline en fazla katkıda bulunan faktör olduğu görülebilir. Ayrıca, Lack of Fit p değeri, BBD modelinin belirsiz hataların etkisini değerlendirmek için kullanıldı. Burada, belirsiz hataların sonuçlara önemli etki göstermemesi gereklidir. Bu nedenle, bu değerlerin %95 güven düzeyinde 0.05'ten büyük olması tercih edilir. Tablo 3.2.'deki veriler, Lack of Fit p-değeri (0.65) bu açıklamayı desteklemektedir. Bu açıklamalara dayanarak, tüm değişkenler BBD modeline önemli ölçüde katkıda bulunduğundan, Patent Blue V'in geri kazanımı aşağıdaki ikinci dereceden denklem ile ifade edilir.

$$\text{Geri kazanım (\%)} = +71.46 + 0.6250A - 1.35B + 0.3917C + 1.68D + 2.53AB + 5.55AC + 2.75AD + 9.70BC - 5.77BD - 2.52CD - 0.8300A^2 + 2.48B^2 + 9.07C^2 + 1.23D^2$$

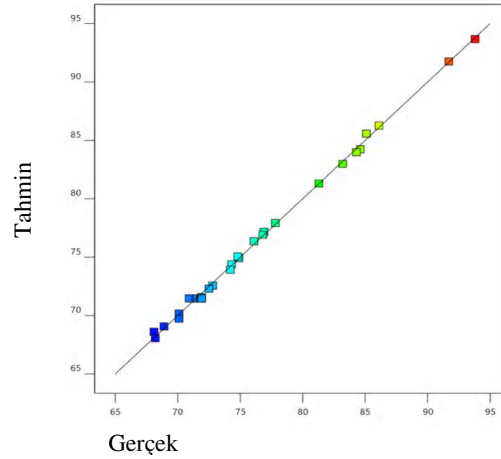
Tablo 3.1. BBD'ye ait deneysel tasarım ve elde edilen analitik sonuçlar (N=3)

Deney no	A	B	C	D	Geri kazanım,%	
					Deneysel	Tahmin
1	40	6	500	6	71.4	71.4
2	40	4	500	2	68.9	69.0
3	40	6	200	10	85.1	85.5
4	40	8	200	6	71.9	71.5
5	30	6	500	10	70.1	70.1
6	30	6	800	6	74.2	73.9
7	30	8	500	6	68.1	68.6
8	40	6	500	6	71.9	71.4
9	50	6	500	10	76.8	76.9
10	50	6	500	2	68.2	68.0
11	40	4	500	10	84.3	83.9
12	40	6	200	2	76.9	77.1
13	40	8	500	10	70.1	69.7
14	40	6	800	2	83.2	83.0
15	40	8	500	2	77.8	77.9
16	40	8	800	6	91.7	91.7
17	40	6	500	6	71.9	71.4
18	40	6	800	10	81.3	81.3
19	30	6	500	2	72.5	72.3
20	40	4	200	6	93.8	93.6
21	30	4	500	6	76.1	76.3
22	40	6	500	6	71.2	71.4
23	50	8	500	6	74.9	74.9
24	50	4	500	6	72.8	72.5
25	30	6	200	6	84.6	84.2
26	40	6	500	6	70.9	71.4
27	40	4	800	6	74.8	75.0
28	50	6	800	6	86.1	86.2
29	50	6	200	6	74.3	74.3

Tablo 3.2. Optimizasyon basamağının ANOVA sonuçları

Kaynak	df	Kareler Ortalama	F-değeri	p-değeri	
Model	14	97.41	593.48	< 0.0001	Anlamlı
A-Ekstraksiyon sıcaklığı	1	4.69	28.56	0.0001	
B-pH	1	21.87	133.25	< 0.0001	
C-DES-2 hacmi	1	1.84	11.22	0.0048	
D-Sonikasyon süresi	1	34.00	207.17	< 0.0001	
AB	1	25.50	155.38	< 0.0001	
AC	1	123.21	750.68	< 0.0001	
AD	1	30.25	184.30	< 0.0001	
BC	1	376.36	2293.05	< 0.0001	
BD	1	133.40	812.78	< 0.0001	
CD	1	25.50	155.38	< 0.0001	
A <sup>2</sup>	1	4.47	27.23	0.0001	
B <sup>2</sup>	1	39.97	243.56	< 0.0001	
C <sup>2</sup>	1	533.61	3251.12	< 0.0001	
D <sup>2</sup>	1	9.85	60.03	< 0.0001	
Kalıntı	14	0.1641			
Model uygunsuzluğu testi	10	0.1526	0.7906	0.6540	Anlamsız

İkinci dereceden modelin kalite parametreleri tablo 3.3' de sunulmuştur. Kurulan BBD modelinden elde edilen analitik verilerin güvenilirliği için 1.0' a yakın  $R^2$  değerleri tercih edilir. Ayrıca ayarlanan- $R^2$  ile tahmin edilen- $R^2$  değerleri arasındaki fark 0.2'den az olmalıdır. tablo 3.3'deki  $R^2$  değerleri ( $R^2$ : 0.9983, düzeltilmiş- $R^2$ : 0.9966 ve tahmin edilen-0.9927) bu açıklamaları desteklemektedir. İstatistiksel değerlendirmede, doğru ve istenen sonuçların elde edilebilmesi için yeterli-kesinlik 20'den büyük olmalıdır. Çalışmamızda elde edilen yeterli-kesinlik değerinin 87.9186 olması istatistiksel olarak anlamlıdır. Çalışmadan elde edilen sonuçların güvenilirliği, gerçek ve tahmini değerler arasındaki uyumdan da anlaşılmaktadır (bkz. Şekil 3.4)



Şekil 3.4. BBD tasarımının tahmini ile deneysel sonuçlar arasındaki uyum

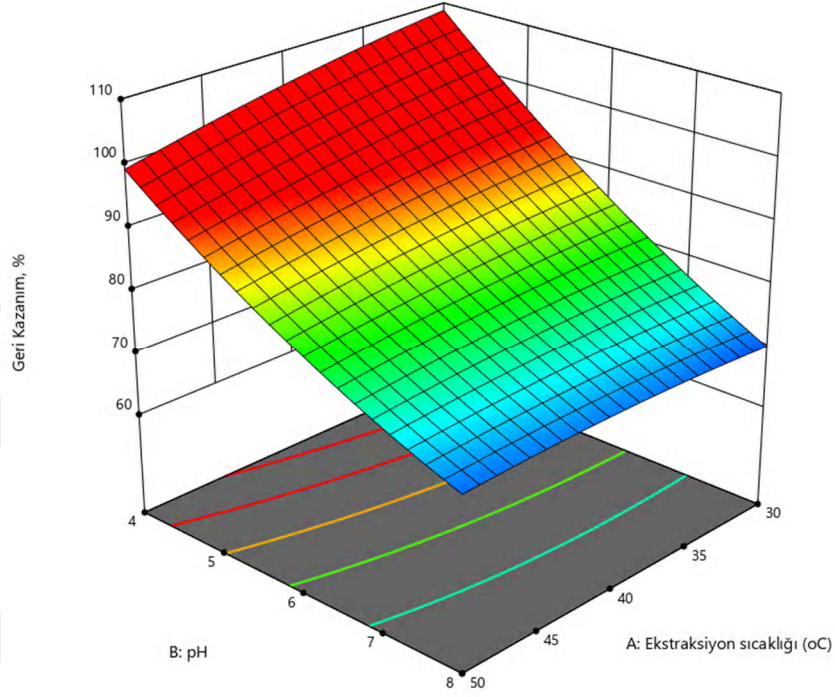
Tablo 3.3. BBD'ye ait kalite parametreleri

Kalite parametreleri	Değer
$R^2$	0.9983
Düzeltilmiş- $R^2$	0.9966
Tahmini- $R^2$	0.9927
Adeq Precision (Yeterli Hassasiyet)	87.9186

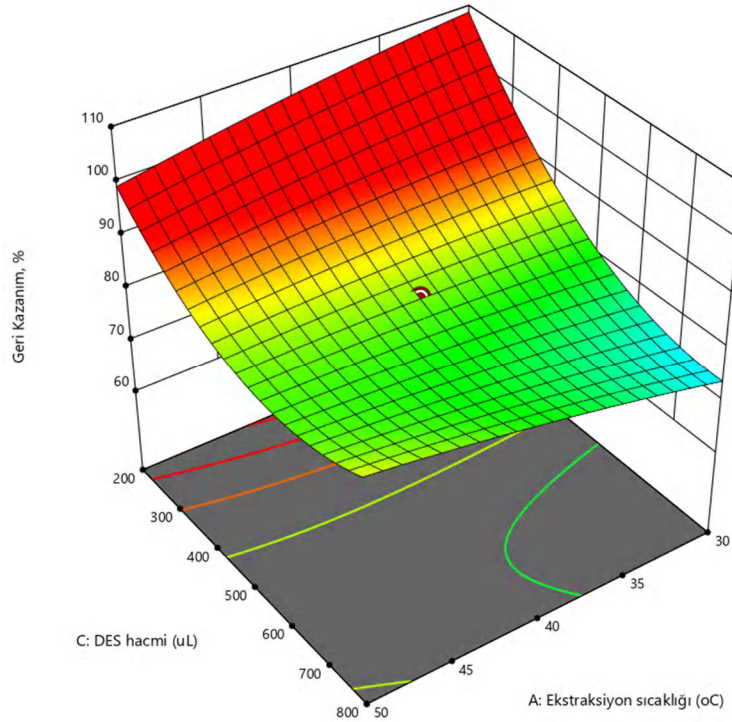
### 3.5.Faktörlerin etkisi

Optimize edilmiş faktörlerin ikili etkileşimlerinin Patent Blue V'in geri kazanılması üzerindeki etkileri, 3D yüzey tepki grafikleri çizilerek tartışıldı. Ekstraksiyon sıcaklığı ve pH etkileşiminin Patent Blue V'in geri kazanımı üzerindeki etkisi Şekil 3.5 (a)' de sunulmuştur. Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, Patent Blue V'in geri kazanımı pH 4-5 aralığında iken hem hemen tüm sıcaklıklarda nicel geri kazanımlar sağlanmıştır. DES-2 hacmi ve ekstraksiyon sıcaklığının etkileşiminin Patent Blue V'in geri kazanılması üzerindeki etkisi Şekil 3.5 (b)' de sunulmuştur. Burada, ekstraksiyon sıcaklığı ve DES-2 hacmi sırasıyla 45-35 °C ve 220-370 µL aralığında nicel geri kazanımlar sağlanmıştır. Sonikasyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığı etkileşiminin Patent Blue V'in geri kazanılması üzerindeki etkisi Şekil 3.5 (c)' de sunulmuştur. Burada, ekstraksiyon sıcaklığı 40°C' nin üzerinde olduğunda tüm sonikasyon sürelerinde nicel geri kazanımlar sağlanmıştır. Sonikasyon süresi ve pH' ın Patent Blue V'in geri kazanılması üzerindeki etkisi Şekil 3.5 (d) 'de gösterilmiştir. Burada, pH 6'nın üzerinde olduğunda farklı sonikasyon sürelerinde Patent Blue V'in geri kazanımında önemli bir değişim gözlemlenmedi. DES-2 hacmi ve sonikasyon süresinin etkileşiminin Patent Blue V'in geri kazanılması üzerindeki etkisi Şekil 3.5 (e)' de sunulmuştur. Burada, DES-2 hacmi

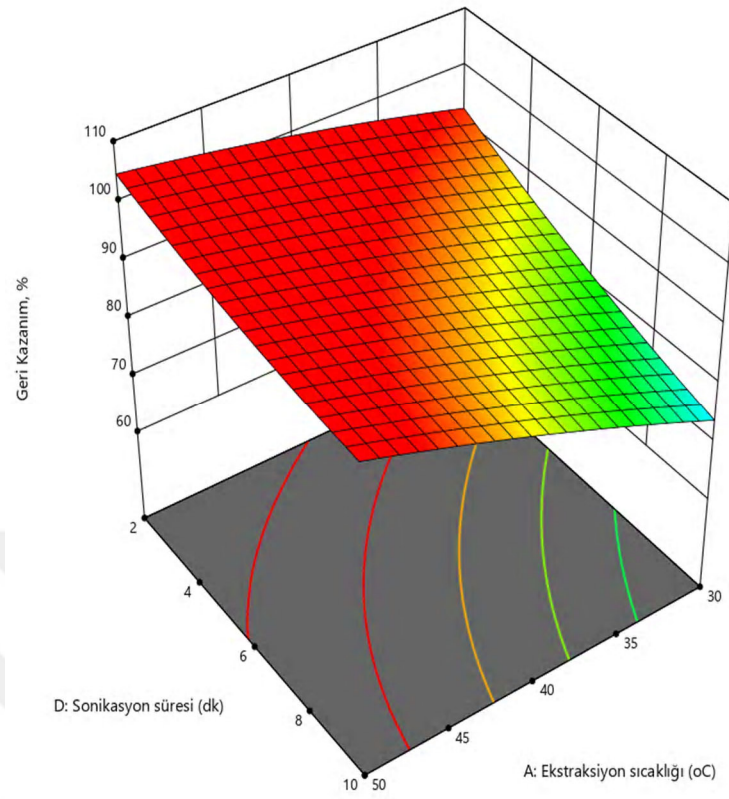
300 uL nin altında olduğunda 8 dakikanın üzerindeki sonikasyon uygulamalarında nicel geri kazanımlar sağlanmıştır. DES-2 hacmin artıkça sonikasyon süresi artsa bile Patent Blue V'in geri kazanımı nicel değildi.



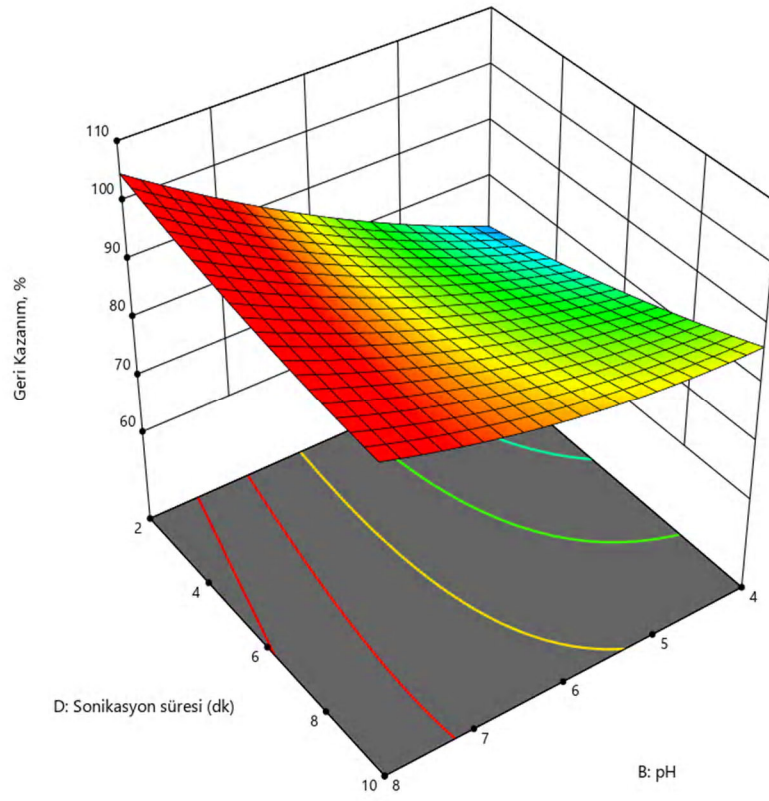
(a)



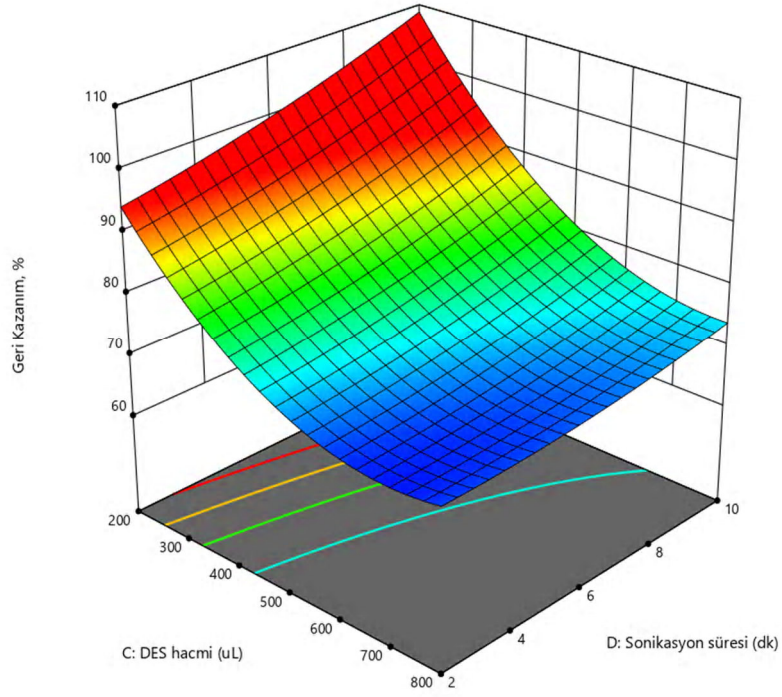
(b)



(c)



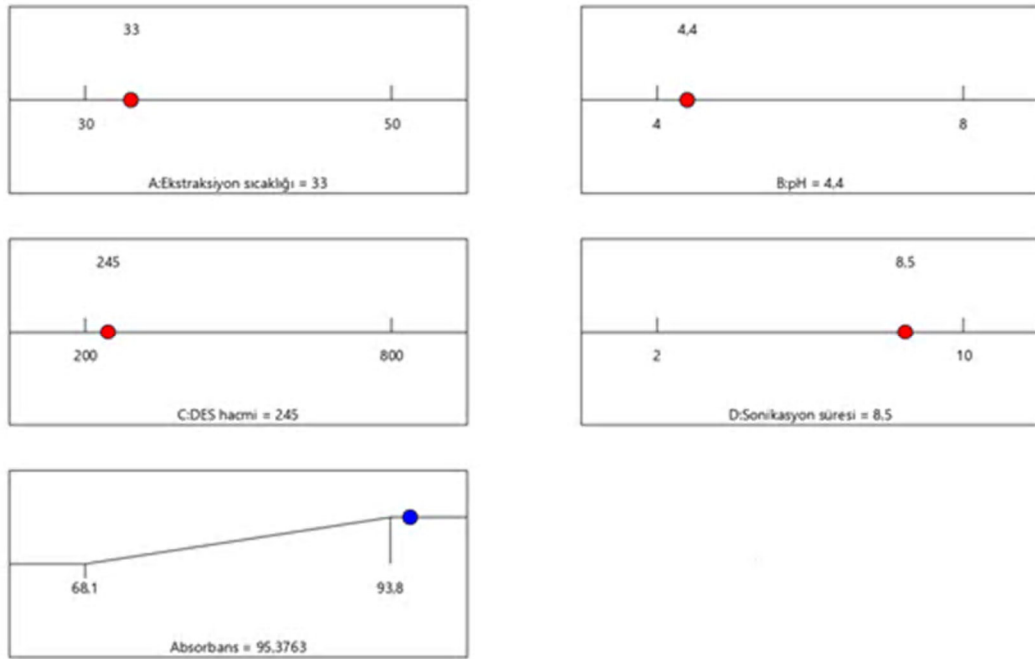
(d)



**(e)**  
 Şekil 3.5. Patent Blue V'in Box Behnken tasarımı için tepki yüzey grafikleri: (a) pH-ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ); (b) DES-2 hacmi ( $\mu\text{L}$ ) – ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ); (c) sonikasyon süresi (dk)– ekstraksiyon sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ); (d) sonikasyon süresi (dk)– pH; (e) DES-2 hacmi ( $\mu\text{L}$ )- sonikasyon süresi (dk)

### 3.6. Optimum koşullar

ANOVA analizinin ve faktör etkileşimlerinin dikkatli analizinden sonra, çalışılan dört faktör için BBD' ye göre optimal değerler şekil 3.6 'da verilmiştir. Şekil 3.6' ya göre pH:4.4, 245  $\mu\text{L}$  DES-2 özütlemeye çözücüsü, 8.5 dakikalık sonikasyon süresi ve  $33^{\circ}\text{C}$  ekstraksiyon sıcaklığıdır. 1.0 arzu edilebilirlik katsayısı için bu optimal koşullarda BBD tarafından tahmin edilen geri kazanım %95.4 idi. Deneysel çalışmanın üç tekrarından ortalama geri kazanım %94.8 olarak belirlendi. BBD' nin tahmini ile deneysel sonuçlar arasındaki bu uyum, bu ekstraksiyon koşullarının optimal olduğunu destekledi. Bu nedenle, doğrulama çalışmaları, gıda ve ilaç numunelere uygulama için bu koşullar kullanıldı.



Şekil 3.6. BBD tarafında oluşturulan değişkenler için optimum değerler ve tahmin edilen geri kazanım

### 3.7. Yöntemin analitik özellikleri

Optimizasyon adımı tamamlandıktan sonra, DES-S1V1-S1V1 mikroekstraksiyon yönteminin analitik parametreleri matris uyumlu kalibrasyon çözeltiler üzerinde yapılan çalışmalarla belirlendi. Öncelikle bu kalibrasyon çözeltileri, seçilen numuneler üzerine farklı miktarlarda standart Patent Blue V derişimlerine eklenerek hazırlandı. Bu şekilde ortam özdeşleştirilmesi yapılarak olası matris etkisi sonuçlara yansıtıldı. Deneysel çalışmalar sonucunda DES S1V1-S1V1 mikroekstraksiyon yöntemi için dinamik lineer aralık 0.9981 belirleme katsayısı ile 1-500  $\mu\text{g L}^{-1}$  aralığında belirlendi. Seçme sınırı, Tayin sınırı ve Zenginleştirme faktörü sırasıyla 0.33  $\text{ng mL}^{-1}$ , 1  $\text{ng mL}^{-1}$  ve 98 olarak hesaplandı.

**Tablo 3.4.** Optimize edilmiş koşullarda önerilen yöntemin analitik özelliklerinin sayısal değerleri

Analitik Parametreler	Optimum değerler
Kalibrasyon denklemi	$X = 0.0351 Y - 0.0279$ ( $r^2:0.9981$ )
Çalışma aralığı, ng mL <sup>-1</sup>	1-500
Seçme sınırı, ng mL <sup>-1</sup>	0.33
Tayin Sınırı, ng mL <sup>-1</sup>	1
*Bağıl standart sapma (%BSS)	1.2-2.4
*Geri kazanım, %	94.2-98.7
Önderiştirme faktörü	150
Zenginleştirme faktörü	98

X: derişim; Y: absorbans; \* 5, 30 ve 180 ng mL<sup>-1</sup> Patent blue V (PBV) derişimlerinin beş tekrarlı çalışmasından elde edilen değerlerdir.

### 3.8. Gün içi/ Günler arası kesinlik çalışması

DES-sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminin kesinliği, numune çözeltilerine eklenen üç farklı Patent Blue V konsantrasyonu için gün içi ve günler arası çalışmalarla test edildi. Gün içi çalışmalarda, eklenen Patent Blue V konsantrasyonlarının ekstraksiyonu ve analizi bir gün içinde üç tekrar halinde gerçekleştirildi. Günler arası çalışmada, aynı konsantrasyonların ekstraksiyonu ve analizi birbirini takip eden üç gün içinde üç tekrar halinde yapıldı. Eklenen her Patent Blue V konsantrasyonu için hem BSS hem de geri kazanım değerleri hesaplandı. BSS, gün içi ve gün arası çalışmalarda sırasıyla %2.1-2.8 ve %2.6-3.3 arasında bulundu ve Tablo 3.4' de verilmiştir. Ayrıca, geri kazanım değerleri %91±4 - 97±4 aralığında hesaplandı. Elde edilen bu BSS değerleri, DES-sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminin iyi bir kesinlik sergilediğini gösterdi. Kapsamlı veriler Tablo 3.5' de verilmiştir.

**Tablo 3.5.** Önerilen yöntemin gün içi ve günler arası kesinliği

Seviye	Eklenen derişim, ng mL <sup>-1</sup>	Gün içi (N=3)		Günler arası (N=3 x3)	
		BSS, %	Geri kazanım, %	BSS, %	Geri kazanım, %
Düşük	10	2.1	96±3	2.6	91±4
Orta	50	1.9	95±2	2.7	93±5
Yüksek	250	2.8	97±4	3.3	95±5

### 3.9. Sağlamlık

Sağlamlık, mikroekstraksiyon parametrelerindeki küçük değişikliklerin Patent Blue V'in geri kazanılması üzerindeki etkisi ölçülerek araştırıldı. Diğer tüm mikroekstraksiyon parametreleri sabit tutulurken pH, DES-2 hacmi, sonikasyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığı test edildi. Geri kazanım yüzdesinin BSS' si her parametre için hesaplandı. Ekstraksiyon sıcaklığı, pH, DES-2 hacmi ve sonikasyon süresi için %BSS değerleri sırasıyla %2.3, %1.8-1.4, %1.2-1.5 ve %1.7-1.8 idi. Düşük %BSS değerleri, DES-SA-DLLME yönteminin sağlamlığını gösterdi. (Tablo 3.6.)

Tablo 3.6. Önerilen yöntemin sağlamlılığı

Değişkenler	Optimum koşullar	Değişen koşullar	BSS	Geri Kazanım (%)
Ekstraksiyon sıcaklığı $\pm$ %10	33 °C	~36 °C	2.1	97.1
		~30 °C	2.3	96.8
pH $\pm$ %10	4.4	~4.8	1.8	96.4
		~4.0	1.4	97.2
DES-2 hacmi $\pm$ %10	245 $\mu$ L	~270 $\mu$ L	1.2	98.7
		~220 $\mu$ L	1.5	98.4
Sonikasyon süresi $\pm$ %10	8.5 dk	~9.5 dk	1.7	96.2
		~7.5 dk	1.8	97.3

### 3.10. Matriks etkisi

Patent Blue V için optimize edilmiş koşulların seçiciliğinin araştırılması, sonuçların güvenilirliği için çok önemlidir. Bu kapsamda model çözeltilere Tablo 3.10' da ki matris türleri eklendi ve daha sonra bu karışıma DES-SA-DLLME yöntemi uygulandı. Elde edilen sonuçlar kullanılarak her tür için tolere edilebilir limit, BSS ve geri kazanım değerleri hesaplandı. Tolere edilebilir limit, Patent Blue V' in absorbansında  $\pm$ %5'lik bir değişikliğe neden olan iyon miktarının, eklenen Patent Blue V miktarına oranından hesaplandı. Tablo 3.6' da ki sonuçlar, DES-SA-DLLME yönteminin benzer kimyasal türlerin varlığında bile yüksek tolere edilebilir limitler sergilediğini gösterdi. Ayrıca elde edilen sonuçlar, geri kazanımın (%94-99) nicel olduğunu ve BSS' lerin (%1.6-2.3) istenen sınırın (%5) altında olduğunu gösterdi.

Tablo 3.7. Önerilen yöntemin farklı kimyasal türler varlığında PB V için seçiciliği

Kimyasal türler	*Tolerans limiti	Geri kazanım (%)	BSS (%)
Ca <sup>2+</sup>	5000	99.2	1.6
Na <sup>+</sup>	5000	98.3	1.2
F <sup>-</sup>	1000	98.6	1.4
Mg <sup>2+</sup>	750	98.5	1.3
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	750	98.3	1.6
Cl <sup>-</sup>	500	98.1	2.1
Fe <sup>3+</sup>	100	97.9	2.0
Cu <sup>2+</sup>	100	97.6	1.7
Zn <sup>2+</sup>	50	96.8	1.5
Curcumin	50	96.2	1.8
Tartrazine	25	95.8	1.6
Malachite green	25	95.6	1.7
Rhodamine B	10	95.3	2.0
Erythrosine	5	94.8	2.3
Sudan I	5	94.3	2.2

\*[Kimyasal türün derişimi, ng mL<sup>-1</sup>]/[PBV derişimi, 50 ng mL<sup>-1</sup>]

### 3.11. İlaç ve Gıda Numunelerinin Analizi

Validasyon çalışmalarından sonra DES-SA-DLLME yönteminin bazı ilaç ve gıda numunelere uygulanabilirliği standart ekleme yaklaşımı kullanılarak araştırıldı. Önerilen DES-SA-DLLME yönteminin uygulanabilirliği toplam 9 farklı numunede test edildi (Tablo 3.8). Bu çalışmada, bölüm 2.3' te hazırlanan ilaç ve gıda numunelere önerilen DES-SA-DLLME yöntemi uygulandı. Patent Blue V, incelenen örneklerin bazılarında tespit edilemedi.

Tablo 3.8. Önerilen yöntemin toplanan gerçek örneklere uygulama sonuçları (N=3)

Örnek	Bulunan miktar	BSS (%)
Kaplıca suyu-1	TE*	-
Kaplıca suyu-1	TE*	-
Atık su	TE*	-
Çeşme suyu	TE*	-
Şurup-1 (µg mL <sup>-1</sup> )	14.74 ± 0.53	3.6
Şurup-2 (µg mL <sup>-1</sup> )	11.09 ± 0.42	3.8
Burun spreyi (µg mL <sup>-1</sup> )	7.81 ± 0.24	3.1
Toz içecek-1 (µg g <sup>-1</sup> )	3.66 ± 0.07	1.9
Toz içecek-2 (µg g <sup>-1</sup> )	5.73 ± 0.09	1.6

\*Tespit edilemedi.

Deneysel çalışma sonucunda sıvı numune için geri kazanım hesaplandı. Tablo 3.9.' deki sonuçlar, ilaç ve gıda numunelerinden nicel geri kazanımların (%91±5-98±2) elde edildiğini gösterdi.

*Tablo 3.9. Sıvı numuneler için önerilen yöntemin geri kazanım çalışması (N = 3).*

Sıvı örnekleri	Eklene n PBV miktarı, ng mL <sup>-1</sup>	Hesaplanan PBV miktarı, ng mL <sup>-1</sup>	Geri kazanım (%)
Kaplıca suyu-1	60	55.2±2.7	92±4
	180	174.6±4.9	97±2
Kaplıca suyu-2	60	55.8±3.4	93±6
	180	171.0±8.5	95±2
Atık su	60	54.6±3.2	91±5
	180	169.2±6.9	94±4
Çeşme suyu	60	57.6±3.6	96±3
	180	176.4±7.1	98±1
Şurup-1	60	55.2±3.3	92±4
	180	172.8±7.9	96±3
Şurup-2	60	54.0±2.7	90±6
	180	167.4±6.9	93±4
Burun spreyi	60	57.6±3.2	96±2
	180	176.4±7.1	98±2

## 4. BÖLÜM

### TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda, çeşitli ilaç ve gıda örneklerinde bulunabilecek Patent Blue V (E 131)' in zenginleştirilmesi ve belirlenmesi için farklı bir analitik yöntem geliştirildi. Yapılan bu çalışmada, derin ötektik solvent bazlı sonikasyon destekli dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DES-SA-DLLME) ile bazı ilaç ve gıda numunelerde bulunabilecek Patent Blue V ekstraksiyonu ve analizi için yeni bir analitik yöntem geliştirildi. DES-SA-DLLME' nin önemli parametreleri için kemometrik tabanlı BBD yaklaşımı kullanıldı ve veriler optimize edildi. BBD, az sayıda kimyasal tüketimi ve birkaç deneysel çalışma ile optimizasyon adımlarını gerçekleştirmeye izin verdi.

Patent Blue V 'in verimli faz ayrımı ve seçici ekstraksiyonunu sağlamak için dört DES hazırlandı ve bu hazırlanan DES' ler test edildi. İlk olarak, Patent Blue V için metanol-Levulinic asitten oluşan derin ötektik çözücü bulundu; Patent Blue V 'in bu çözücüdeki geri kazanımı yaklaşık %94,8'e ulaşıldı. Daha sonra DES' in molar oranının etkisi metanol-Levulinic asit 1:2 olarak bulundu.

Patent Blue V'in geri kazanımının iyonik şiddetin artması ile arttığı bulundu ve 500 µl KNO<sub>3</sub> kullanıldı. Daha sonra yapılan bu optimizasyon çalışmaları sonucunda kemometrik analiz uygulandı. Yapılan analiz sonucunda p(anlamlılık) değerine bakıldı. p değerleri 0.05' ten küçük çıkmıştır.

Yapılan bu çalışmada pH, DES-2 hacmi, sonikasyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığı optimal değerler bulundu. Bunlar, pH 4.4, DES-2 hacmi 245 µL, sonikasyon süresi 8.5 dakika ve ekstraksiyon sıcaklığı 33 °C' dir.

Optimizasyondan sonra DES-SA-DLLME yönteminin parametreleri matriks uyumlu çözeltilerde belirlendi. Çalışma sonucunda lineer aralık 0.9981 katsayısı ile 1-500 µg L<sup>-1</sup> bulundu. Seçme sınırı, tayin sınırı, zenginleştirme faktörleri bulundu.

Patent Blue V için optimize edilmiş koşulların seçiciliği ve sonuçların güvenilirliği için çok önemlidir. Bu nedenle matriksin etkine bakıldı ve DES-SA-DLLME yönteminin

benzer kimyasal türlerin varlığında yüksek tolere edilebilir limitler sergilemiştir. Geri kazanımın ve BSS' lerin istenen sınırdaki olduğu bulunmuştur.

Önerilen DES-SA-DLLME yönteminin uygulanabilirliği 9 farklı numunede test edildi. Patent Blue V dört numunede tespit edilemedi.

Patent Blue V için önerilen DES-SA-DLLME yöntemi, literatürde daha önce rapor edilmiş analitik yöntemlerle karşılaştırılarak tablo 4.1' de verilmiştir. Karşılaştırılan yöntemlerde daha fazla kimyasal madde kullanımı, daha fazla zaman alıcı ve bazen daha kompleks adımlar içerdiği görülmüştür. Önerilen derin ötektik çözücü destekli sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DES-SA-DLLME) yöntemi, yeşil bir çözücünün kullanılması nedeniyle karşılaştırılan yöntemlere göre tercih edilir. Önerilen DES-SA-DLLME yönteminde uzun işlemlerle bir ısıtma adımına gerek yoktur. DES-SA-DLLME yönteminin doğrusal dinamik aralığı ve gözlenebilirlik sınır değerleri, literatürde bulunan yöntemler ile karşılaştırılabilir seviyededir.

*Tablo 4.1. Önerilen yöntemin analitik özelliklerinin karşılaştırması*

Yöntem	Ortalama geri kazanma	BSS	Gözlenebilirlik sınırı ng mL <sup>-1</sup>	Tayin sınırı ng mL <sup>-1</sup>	KAYNAK
Bulutlanma Noktası Ekstraksiyon Yöntemi	%89-95	%1.3-2.3	0.56	1.85	[24]
Türev Spektrometri İle Tayini	%100,6	-	-	-	[64]
Ultrason Destekli İyonik Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon	%100	%4.5	0.68	-	[65]
Ultrason destekli emülsifikasyon sıvı faz mikroekstraksiyonu (UA-ELPME)	-	%6	0.37	-	[66]
Voltametik yöntem	-	-	43.1	-	[67]
Katı Faz mikroekstraksiyon (SPME)	%96.2	%1.5	3.5	11.7	[25]
DES-SA-DLLME	%91±4 -97±4	%1.2-2.4	0.33	1	Bu Çalışma

Önerilen DES-SA-DLLME yöntemi, organik çözücü tüketimine gerek olmadığı için çevre dostudur. DES-SA-DLLME yöntemi, bazı gıda ve kozmetik numunelerde Patent Blue V'in ekstraksiyonu ve nicel tayini için tatmin edici sonuçlar verdi. Önerilen Geliştirilen DES-SA-DLLME yönteminin avantajları şu şekildedir:

1.UV-VIS cihazının kolay kullanılması ve diğer cihazlara göre ucuz olmasıdır

2.Ekstraksiyon süresinin kısa olmasıdır.

3. Çok az miktarda örnek kullanarak spektrofotometrik analiz yapılmıştır.

4.Gözlemlenebilme sınırının düşük olmasıdır

5.Tayin sınırının düşük olmasıdır.

6.Ekstraksiyon veriminin yüksek olmasıdır.

7.Tekrarlanabilirliği yüksektir.

8. DES-SA-DLLME yöntemi, gıda ve kozmetik maddeleri gibi değişik matrikse sahip numunelere uygulanabilmektedir.

Bu DES-SA-DLLME yönteminin avantajlarından dolayı Patent Blue V boyar madde analizi için geleneksel analitik yöntemlere iyi bir alternatif olabilir. Sonuç olarak, elde edilen analitik sonuçlara dayanarak, önerilen DES-SA-DLLME yönteminin, karmaşık matrislerde Patent Blue V'in çıkarılması ve ölçülmesi için verimli bir yöntem olarak potansiyel olarak uygulanabilir olduğu sonucuna varılabilir.

## KAYNAKÇA

1. Tekeli, H. T., 2008. Bazı Gıdalarda Azorubine, Ponceau 4R ve Brilliant Blue'nun Spektrofotometrik Yöntemle Yanyana Tayini. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 140s.
2. Kestane, F., 2020. Katı Faz Mikroekstraksiyonu ile Malahit Yeşili Boyar Maddesinin Ayrılması-Zenginleştirilmesi ve Spektrofotometrik Tayini. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 45 s.
3. Saydan Kanberoglu, G., Yılmaz, E., Soylak, M., 2019. Developing A New And Simple Ultrasound-Assisted Emulsification Liquid Phase Microextraction Method Built Upon Deep Eutectic Solvents For Patent Blue V In Syrup And Water Samples. **Microchemical Journal**, **145**: 813-818
4. Özgür, A., 2021. Bazı Organik Kirleticilerin Derin Ötektik Çözücülerle Ekstraksiyonu ve Kromatografik Analizleri. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, 44 s.
5. Başer, İ., İnancı, Y., 1990. Boyar Madde Kimyası. Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi, Döner Sermaye İşletmesi Matbaa, İstanbul, 216 s.
6. Küçüköner, E., 2006. Yeni Ürün Geliştirmede Gıda Katkı Maddelerinin Fonksiyonları ve Önemi. **Türkiye 8. Gıda Kongresi**, 31/3: 175-181.
7. Atlı, B., 2010. Gıda Boyaları. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 74 s.
8. Cihan, H. Z., 2011. Karbon Nanotüp Üzerinde Boyar Madde Zenginleştirilmesi ve Spektrofotometrik Tayini. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 51 s.
9. Karaali, A., - Özçelik, B., 1993. Gıda Katkısı Olarak Doğal ve Sentetik Boyalar. **Gıda**, 18/6: 389-396.
10. Becenen, N., 2017. Azo Boyarmaddelerinin Yasaklanması: Bebek ve Çocuk Giysilerinde Uygulanabilirliğinin Araştırılması. **Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi**. 6/10: 1-6.
11. Duru, N., 2019. Bazı Gıda Örneklerindeki Tartrazin Boyasının Zenginleştirilmesi ve Spektrofotometrik Tayini. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir, 48 s.

12. Özdemir, Y., Akkan, A. A., 1999. Determination of Patent Blue V and Carmoisine in Gelatine Desserts By Derivative Spectrophotometry, **Turkish Journal of Chemistry**, **23/2**: 221-229.
13. Yentür, G. , Erdoğan, Ş., Er, B. , Demirhan, B. , Öktem, A. B., 2010. Ankara Bölgesinde Tüketime Sunulan Bazı Gıda Maddelerinde Sentetik Boya Düzeylerinin Araştırılması. **Gıda**, **35/1**: 1-5.
14. Altıniğne, N., 1999. Bazı Şekerlemeler ve Yapay Toz İçeceklerdeki Diazo Boyar Madde Olan Sunset Yellow FCF ile Tartrazin Miktar Tayinlerinin Voltametrik ve Spektrofotometrik Metod Karşılaştırması. **Gıda**, **24/2**: 139-143.
15. Başkan, D., 2015. Bazı Gıda Boyar Maddelerin Analizi İçin Yeni Bir Ters Faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) Metodu Geliştirme. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon, 52 s.
16. Gün, E. Ç., 2019. Şeker Hamurlarında Kullanılan Gıda Boyası Tartrazinin Yeni Bir Pirazol Türevi ile Spektroflorimetrik Metot ile Tayini. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon, 33 s.
17. Koç, E., 2019. Bazı Gıda Ürünlerinde Kullanılan Renk Maddelerinin Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi ile Tayini ve Optimizasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta, 80 s.
18. Ünsal, Y. E., 2016. Sudan Blue II, Rodamin B ve Kurkumin Boyar Maddelerinin Ayrılması, Zenginleştirilmesi ve Spektrofotometrik Tayini. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tokat, 91 s.
19. Yentür, G. , Yaman, Ş. , Bayhan, A., 1998. Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boyaların Miktarlarının Araştırılması. **Gıda**, **23/3**: 195-199.
20. Bal, I. , Seven, Ü. , Güçer, Ş., 2008. Zeytinyağına Renk Veren Yapay Bileşenlerin Ultraviyole-Görünür Bölge Spektrofotometresi ile İncelenmesi. **1. Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi**, 17-18 Mayıs 2008, Balıkesir: 183-187.
21. Güler, Z. , Enecür, H., 2005. Draje Yüzeyinde Kullanılan Renklendiricilerin UV/VIS Spektrofotometre ile Kalitatif ve Kantitatif Olarak Belirlenmesi. **Gıda**, **30/4**: 287-292.

22. Uruç, S., 2021. Gıda Katkı Maddelerinden Tartrazin, Sunset Sarısı Ve Allura Kırmızısı Azo Boyar Maddelerinin Elektrokimyasal Tayinleri. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 151 s.
23. Baran, S., 2021. Yeni Bir Yaklaşımla Amarant (E123) Boyar Maddesinin Mikroekstraksiyonu. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 43 s.
24. Yuvalı, D. , Koçak, E. G. , Narin, İ., 2019. Patent Blue V (E131)'in Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu ile Ayrılması ve UV-VİS Spektrofotometresi ile Miktar Tayini. **Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi**. **28/3**: 118-122.
25. Duman, S., 2022. Eser Düzeyde Bazı Analitlerin Ayırma ve Zenginleştirilmesi İçin Yeni Yaklaşımlar. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kayseri, 121 s.
26. Yıldırım Küçükkaraca, D., 2014. Gıda Katkı Maddelerinin Hplc ile Analizi ve Validasyonu. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 106 s.
27. Maulana, R., 2020. Bakır (II) Ve Kurşun (II) İyonlarının Önderiştirilmesi İçin Yeni Bir Yaklaşım. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 49 s.
28. Kariper, İ. A., 2008. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Eser Element Zenginleştirilmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 51 s.
29. Acar, D., 2015. Adsorpsiyona Dayalı Yeni Bir Eser Metal Zenginleştirme Yöntemi. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 57 s.
30. Kıranarlıgiller, E., 2014. Mikroekstraksiyon ile Bakırın Deriştirilmesi ve Spektrometrik Tayini. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 55 s.
31. Temeltaş, A., 2015. Aktif Karbon Kumaşı Üzerinde Eser Metal Ayrılması-Zenginleştirilmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 47 s.
32. Aydın, A., 2010. Bazı Metallerin Tayinleri Öncesi Birlikte Çöktürme ile Zenginleştirilmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 62 s.

33. Altun, F., 2013. Zenginleştirme Yöntemleri ile Bazı Ağır Metallerin Tayini. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, 62 s.
34. Gülmez, Ş., 2010. ALTIN-APDC Birlikte Çöktürme Yöntemiyle Bazı Eser Elementlerin Deriştirilmesi ve AAS ile Tayinleri. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, 67 s.
35. Doğru, S., 2019. Mikroekstraksiyonla Cıvanın Zenginleştirilmesi Sonrası Spektrometrik Tayini. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 45 s.
36. Görücü, H. H., 2018. Eser Düzeydeki Fosfatın Zenginleştirilmesi İçin Yeni Bir Yaklaşım. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 45 s.
37. Alver, E., Demirci, A., Özçimder, M., 2012. Mikroekstraksiyon Yöntemleri. **Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi. 30: 75-90.**
38. Büyüktuncel, E., 2012. Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. **Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 32/2: 209-242.**
39. Çelik, M., 2019. Sudan Orange G Boyar Maddesinin Supramoleküler Çözücü Kullanarak Mikroekstraksiyonu. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 45 s.
40. Kamaş, D., 2015. 1-(2-Piridilazo)-2Naftol(Pan) ile Doyurulmuş Manyetik Karbon Nanotüp Üzerinde Pb(II) ve Cu(II) İyonlarının Zenginleştirilmesi ve Alevli Aas İle Tayinleri. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir, 47 s.
41. Hasercan Şahinbaş, D., 2011. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Bazı Metal İyonlarının Zenginleştirilmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 71 s.
42. Kaya, M. E., 2014. Mikroekstraksiyon Yöntemi ile Yapılan İlaç Analizleri. Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Bitirme Ödevi, Kayseri, 46 s.
43. Yılmaz, E., Soylak, M., 2018. A Novel and Simple Deep Eutectic Solvent Based Liquid Phase Microextraction Method For Rhodamine B in Cosmetic Products and Water Samples Prior to its Spectrophotometric Determination. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 202: 81-86.**

44. Erbaş, Z., 2020. Yeni Nesil Mikroekstraksiyon Yöntemleri ile Bazı Eser Türlerin Ayrılması ve Zenginleştirilmesinde Yeni Yaklaşımlar. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kayseri, 109 s.
45. Deryol, S., 2019. Eser Düzeydeki Brown Ht Boyarmaddenin Ayrılması ve Zenginleştirilmesi İçin Yeni Bir Yaklaşım. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 41 s.
46. Gitti, Ü. B., 2019. Karakavak Yongalarından Derin Ötektik Çözücü Kullanılarak Kağıt Hamuru Üretimi. Bartın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bartın, 75 s.
47. Yılmaz, Y., 2020. Derin Ötektik Çözücüye Dayalı Mikroekstraksiyon Tekniği ile Gıda Numunelerinde Sudan Boyalarının Tayini. Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Düzce, 49 s.
48. Kutlu, N., 2022. Farklı Derin Ötektik Çözücülerin Ph ve Elektriksel İletkenlik Değerlerinin Sıcaklık ile Değişimi. **Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi**. **38**: 240-246.
49. Çakal, Ö., 2021. Karaçam (Pinus Nigra) Budaklarındaki Stilbenlerin Derin Ötektik Çözücülerle (Döç) Geri Kazanılması: Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bartın, 132 s.
50. Erdem, G. M., 2020. Derin Ötektik Çözgen Ön İşleminin Buğday Samanından Biyoetanol Üretimine Etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 64 s.
51. Rasulzade, H., 2022. Ayırma İşlemlerinde Yeşil Kimya Uygulamaları: Karşılaştırmalı Bir Çalışma. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 138 s.
52. Karakavuk, E., 2020. Doğal Derin Ötektik Çözücüler ile Kuşburnu Meyve, Çekirdek ve Atığından Biyoaktif Bileşiklerin Ekstraksiyon ve Mikroenkapsülasyonunun Yanıt Yüzey Yöntemi ile Optimizasyonu. Munzur Üniversitesi Atatürk Üniversitesi Ortak Doktora Programı, Doktora Tezi, Tunceli, 178 s.
53. Çıklaçiftci, H., 2023. Bartın Yöresinde Yetişen Kestane Meyve Kabuklarındaki Gallik Asitin Derin Ötektik Çözücülerle Eldesi. Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bartın, 63 s.

54. Soylak, M., Uzcan, F., 2020. A Novel Ultrasonication-Assisted Deep Eutectic Solvent Microextraction Procedure For Tartrazine At Trace Levels From Environmental Samples. **Journal Of The Iranian Chemical Society**, **17**: 461-467.
55. Özel, F., 2022. Çinkur Atıklarından Metal Kazanımında Kolin Klorür - Üre Derin Ötektik Çözücüsünün Kullanımı. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Karaman, 54 s.
56. Altunay, A., 2022. Kozmetik Ürünlerinde Paraben Tayini İçin Kemometrik Optimizasyona Dayalı Yeni Analitik Yöntem. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Sivas, 74 s.
57. Söğüt, Ö., Çelebi, B., 2020. Daha Temiz Analizler: Yeşil Kimya. **Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi**. **8**: 160-175.
58. Demir, B., 2017. Yeşil Kimya Kavramı ve Genel Kimya Laboratuvar Etkinliklerinin Yeşil Kimya İlkelerine Uygun Hale Getirilmesi. İnönü Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Malatya, 175 s.
59. Duman, S., 2022. Eser Düzeyde Bazı Analitlerin Ayırma ve Zenginleştirilmesi İçin Yeni Yaklaşımlar. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kayseri, 121 s.
60. Kutlu, N., Yılmaz, M. S., İşçi, A., Şakıyan, Ö., 2021. Gıdalardan Biyoaktif Bileşiklerin Ekstraksiyonunda Derin Ötektik Çözücülerin Kullanımı. **Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi**. **10/2**: 591-597.
61. Özbay, M., 2022. Ballarda Tağşişin Belirlenmesi İçin Spektroskopik ve Kromatografik Çok Değişkenli Kemometrik Modellerin Geliştirilmesi. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Niğde, 283 s.
62. Dinç, E., 2007. Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri. **Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**. **27/1**: 61-92.
63. Halıcı, N.E., 2022. H<sub>2</sub> Reseptör Antagonistlerinin Yeşil HPLC Ayırımı İçin Kemometrik Optimizasyon Yaklaşımı ve Famotidin İçeren Farmasötik Preparatlara Uygulanması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 150 s.

64. Özdemir, Y., Akkan, A. A., 1999. Determination of Patent Blue V and Carmoisine in Gelatine Desserts By Derivative Spectrophotometry. **Turkish Journal of Chemistry**, 23/2: 221-229.
65. Ünsal Y., Soylak M., Tüzen M., 2015. Ultrasound-Assisted Ionic Liquid-Based Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for Preconcentration of Patent Blue V and its Determination in Food Samples by UV-Visible Spectrophotometry. **Environ Monit Assess**, 187-203.
66. Kanberoglu, G. S., Yılmaz, E., - Soylak, M., 2019. Developing a New and Simple Ultrasound-Assisted Emulsification Liquid Phase Microextraction Method Built Upon Deep Eutectic Solvents For Patent Blue V in Syrup and Water Samples. **Microchemical Journal**, 145: 813-818.
67. Desimoni E, Brunetti B, Cosio M.S., 2006. Determination Of Patent Blue V (E131) At A Nafion-Modified Glassy Carbon Electrode. **Electroanalysis**, 18/3: 231–235.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı:** Amine DEMİR  
**Uyruğu:** Türkiye (T.C)

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı	
Yüksek lisans	Hacettepe Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü Kimya Eğitimi	2023
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya	2011
Lise	Talas Lisesi, Kayseri	2005

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2016-Halen	MEB	Kimya öğretmeni
2013-2016	Final okulları	Kimya öğretmeni

### YABANCI DİL

İngilizce