

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

**KIRMIZI GÜL YAPRAKLARINDAN FARKLI EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ İLE
DOĞAL BOYARMADDE ELDESİ VE TEKSTİL ALANINDA
UYGULANABİLİRLİĞİ**

EMRAH ÇİMEN

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

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

İSTANBUL, 2013

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIRMIZI GÜL YAPRAKLARINDAN FARKLI EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ İLE
DOĞAL BOYARMADDE ELDESİ VE TEKSTİL ALANINDA
UYGULANABİLİRLİĞİ**

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

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mahmure Üstün Özgür
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mahmure Üstün Özgür
Yıldız Teknik Üniversitesi

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün **2012-01-02- KAP13 ve 2012-01-02- GEP03** numaralı projeleri ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada, öncelikle bu tez çalışma konusunun belirlenmesinden başlamak üzere, çalışmanın her aşamasında karşılaştığım problemlerin çözümünde bana yol gösteren, aynı zamanda bilgi ve tecrübelerinden önemli derecede yararlanma imkanını benden esirgemeyen, çalışmam boyunca bana karşı hep motive edici yönde tavır sergileyen, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca zor anlarımda beni yalnız bırakmayan ve manevi desteğini esirgemeyen Uzman Kimyager Öznur DÜLGER'e,

Kumaş boyama işlemlerini gerçekleştirmemizde bize gerekli ortamı sağlayan, bilgi ve desteklerini esirgemeyen Y.T.Ü. Tekstil Laboratuvarı yöneticileri Dr. Basri DEMİRYÜREK ve Mustafa DEMİRELLİYE'ye,

Çalışmalarım süresince manevi desteklerini esirgemeyen Anorganik Kimya Araştırma Laboratuvarı'nda çalışan arkadaşlarım Merve DELMİDAN ve Zeynep KALAYCIOĞLU'na,

Tez çalışmam süresince manevi desteğini üzerimde hissettiğim arkadaşım Doktora öğrencisi Deniz ARSLAN'a,

Hayatım boyunca attığım her adımda maddi ve manevi desteklerini hissettiğim, bu zorlu süreçte sabır ve moral desteği ile sürekli yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Haziran, 2013

Emrah ÇİMEN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	xi
KISALTIMA LİSTESİ	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ	xvii
ÖZET	xxi
ABSTRACT	xxiv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	4
1.3 Hipotez.....	6
BÖLÜM 2	
2.1 Antosiyaninler.....	7
2.2 Antosiyaninlerin Renklerini ve Kararlılıklarını Etkileyen Faktörler	14
2.2.1 pH	16
2.2.2 Sıcaklık	19
2.2.3 Oksijen ve Hidrojen Peroksit	20
2.2.4 Işık.....	21
2.2.5 SO ₂	21
2.2.6 Enzimler	21
2.2.7 Şekerler ve Şekerlerin Bozunma Ürünleri	21
2.3 Antosiyaninlerin Spektroskopik Özellikleri.....	21
2.4 Antosiyaninlerin Ekstraksiyonu	23
2.5 Antosiyaninlerin Saflaştırılması	27

2.6	Antosiyaninlerin Kalitatif ve Kantitatif Analizleri.....	29
2.6.1	Antosiyaninlerin Kalitatif Analizi	29
2.6.2	Antosiyaninlerin Kantitatif Analizleri.....	30
2.7	Antosiyaninlerle İlgili Literatür Özetleri.....	30
2.7.1	Antosiyaninlerin Tayini İle İlgili Literatür Özetleri	30
2.7.2	Antosiyaninlerin Stabilitesi İle İlgili Literatür Özetleri.....	42
2.7.3	Antosiyaninlerin Sağlık Üzerine Etkileri İle İlgili Literatür Özetleri	52
2.7.4	Antosiyaninlerle İlgili Diğer Literatür Özetleri	55
2.8	Bitkisel Boyalarla Boyamann Tariçesi	59
2.8.1	Gül Bitkisi Hakkında Genel Bilgiler	62
2.8.2	Gül Yaprağı İle İlgili Yapılan Çalışmalara Ait Literatür Özetleri....	66
2.9	YününYapısı	68
2.9.1	Yünün Fiziksel Yapısı	68
2.9.2	Yünün Kimyasal Yapısı	70
2.9.3	Yünün Fiziksel Özellikleri	71
2.9.4	Yünün Kimyasal Özellikleri	72
2.10	Yünün Yapısının Boyamaya Etkisi ve Boyama Mekanizması	74
2.10.1	Yünün Yapısının Boyamaya Etkisi	74
2.10.2	Yün Boyamada Mekanizma	76
2.11	Yapılan Yün Boyama İşlemleri	77
2.11.1	Mordansız Boyalar.....	77
2.11.2	Mordanlı Boyalar	78
2.11.3	Tannik Asit İle Beraber Yünlü Kumaş Boyama.....	78
2.12	Tannik Asit İle İlgili Literatür Araştırmaları	79

BÖLÜM 3

KURAMSAL TEMELLER

3.1	Spektroskopik Yöntemlerle Miktar Tayini	83
3.1.1	Absorpsiyonun Nicel Yorumu	84
3.2	UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri.....	84
3.2.1	Işık Kaynakları	85
3.2.2	Dalga Boyu Seçicisi	85
3.2.3	Dedektörler	86
3.2.4	UV ve Görünür Bölge Spektroskopisinin Uygulama Alanları.....	87
3.3	Türev Spektroskopisi	88
3.3.1	Türev Spektrumunun Değerlendirilmesi	90
3.3.2	Türev Spektrumunun Avantajları ve Dezavantajları.....	91
3.3.3	UV-VIS Bölge Türev Spektroskopisinin Uygulamaları.....	92

3.4	Fark Spektrofotometrik Yöntem.....	94
3.5	pH Diferansiyel Yöntemi (Standart Yöntem, AOAC Method, 2005,02.)...	95
3.6	Renk Kavramı	96
3.6.1	Işık Kaynağı	97
3.6.2	Cisim	99
3.6.3	Gözlemci	100
3.7	CIE Renk Ölçüm Sistemi	101
3.7.1	Aditif ve Substraktif Olarak Renklerin Karşılaştırılması	101
3.7.2	Ölçülen Reflektans Değerlerinden Tristimulus Değerlerinin Hesaplanması	103
3.7.3	Kromatisite Diyagramı	103
3.7.4	CIELab Sistemi.....	103
3.8	Renk Ölçüm Sistemleri.....	105
3.9	Haslık Testleri ve Renk Kodlamaları.....	106
3.9.1	Haslık Kontrollerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Skalalar	107
3.9.1.1	Mavi Skala	107
3.9.1.2	Gri Skala	108
3.9.2	Işık Haslığı	111
3.9.3	Sürtme Haslığı, Sürtünme Haslığı	112
3.9.4	Ter Haslığı	113
3.10	Analitik Kimyada Verilerin İstatiksel Değerlendirilmesi	114
3.10.1	Özgünlük	115
3.10.2	Doğrusallık	115
3.10.3	Konsantrasyon aralığı	115
3.10.4	Doğruluk	115
3.10.5	Kesinlik.....	116
3.10.6	Dedeksiyon limiti	116
3.10.7	Kantitatif Tayin Limiti	117
3.10.8	Standart Ekleme Yöntemi.....	117

BÖLÜM 4

4.1	Malzemeler.....	120
4.1.1	Analizi Yapılan Materyal	120
4.1.2	Kullanılan Cihazlar ve Yardımcı Gereçler	120
4.1.3	Kullanılan Kimyasallar.....	120
4.1.4	Ekstraksiyon İşlemlerinde Kullanılan Çözeltiler.....	122
4.1.5	Yünlü Kumaş Boyamada Kullanılan Kimyasal Madde ve Cihazlar	123
4.1.5.1	Mordan Olarak Kullanılan Metal Tuzları	123
4.1.5.2	Kumaş Boyamada Kullanılan Cihazlar ve Materyaller.....	124
4.1.6	Gül Yapraklarından Doğal Boyarmadde Eldesinde Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemleri	124

4.1.7	Ultrasonik Ekstraksiyon İçin Çözücü Seçimi	124
4.1.8	Gül Yapraklarından Antosiyanin Ekstraksiyonu.....	125
4.1.9	Ultrasonik Ekstraksiyon İçin Seçilen Etanol / 0,1 N HCl Oranının Saptanması	125
4.1.10	Solid/likid Oranının Saptanması	125
4.1.11	Solid/likid Oranı İçin Ekstraksiyon Süresinin Saptanması.....	126
4.2	Çalışmada Kullanılan Diğer Ekstraksiyon Yöntemleri	126
4.2.1	Sokslet Ekstraksiyonu (S.E.).....	127
4.2.2	Normal Distilasyon (N.D.).....	127
4.2.3	Marine Ekstraksiyon	127
4.2.4	Manyetik Karıştırıcı Kullanılarak Yapılan Ekstraksiyon	128
4.3	Boyarmaddenin Çeşitli Faktörlere Karşı Bozunmasının İncelenmesi	128
4.3.1	Boyarmaddenin Sıcaklığa Karşı Bozunmasının İncelenmesi.....	128
4.3.2	Boyarmaddenin pH' a Karşı Bozunmasının İncelenmesi	129
4.3.3	Boyarmaddenin Hava Oksijenine Karşı Bozunmasının İncelenmesi	129
4.3.4	Boyarmaddenin UV Lamba Altında Bozunmasının İncelenmesi.....	129
4.3.5	Boyarmaddenin Yükseltgen ve İndirgenlere Karşı Bozunmasının İncelenmesi.....	130
4.3.6	NaOH'e Karşı Titrasyon.....	130
4.4	Toplam Antosiyaninin Kantitatif Tayini İçin Geliştirilen Yöntemler ve Standart Yöntem.....	130
4.4.1	Spektrumların Çizilmesi için Geliştirilen Yöntemler	130
4.4.2	Absorpsiyon Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1)	131
4.4.2.1	Absorpsiyon ve Türev Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1.a ve 1.b) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması	131
4.4.2.2	Absorpsiyon ve Türev Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1.a ve 1.b)'nin Gül Yaprığına Uygulanması	131
4.4.3	Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b).....	132
4.4.3.1	Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması	132
4.4.3.2	Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b)'nin Gül Yaprığına Uygulanması	132
4.4.4	Standart Yöntem (Referans Yöntem) (Yöntem 3).....	132
4.4.4.1	Standart Yöntem (Referans Yöntem) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması	132
4.4.4.2	Standart Yöntemin (Referans Yöntem) Gül Yaprığına Uygulanması	133
4.5	Gül Yaprığı Numunelerinde Kantitatif Tayinler	133
4.6	Validasyon Çalışmaları	133

4.6.1	Standart Antosiyanin Çözeltisi İçin Uygulanan Validasyon İşlemleri	133
4.6.2	Gül Yaprağı Ekstresine Uygulanan Validasyon İşlemleri	134
4.7	Kumaş Boyamada Uygulanan Yöntemler	135
4.7.1	1. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit+Mordan→Boya)	135
4.7.2	2. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Boya →Tannik asit+Mordan)	135
4.7.3	3. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit→Boya→Mordan).....	135
4.7.4	4. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit→Mordan→Boya).....	136
4.7.5	5. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Mordan→Boya→Tannik asit).....	136
4.7.6	6. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Mordan→Boya).....	137
4.7.7	7. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Boya→Tannik asit→Mordan).....	137
4.7.8	8. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit+Mordan+Boya).....	137
4.7.9	9. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit→Boya)	138
4.7.10	10. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Sadece boya)	138
4.8	Boyanmış Numunelere Haslık Testlerinin Uygulanması.....	138
4.8.1	Boyanmış Numunelerin Renk Ölçümleri	138
4.8.2	Boyanmış Numunelere Işık Haslığının Uygulanması	139
4.8.3	Boyanmış Numunelere Sürtünme Haslığının Uygulanması.....	140
4.8.3.1	Kuru Sürtünme Haslığı	140
4.8.3.2	Yaş Sürtünme Haslığı.....	140
4.8.4	Boyanmış Numunelere Ter Haslığının Uygulanması	141
4.8.5	Boyanmış Numunelerde Antibakteriyel Özelliğın Araştırılması	142

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER	143
5.1 Gül Yapraklarından Antosiyanin Ekstraksiyonu	143
5.2 Ultrasonik Ekstraksiyon İçin Seçilen Etanol/0,1 N HCl Oranının Saptanması.....	144
5.3 Solid/likid Oranının Saptanması	144
5.4 Solid/likid Oranı İçin Ekstraksiyon Süresinin Saptanması.....	144
5.5 Sokslet Ekstraksiyonu (S.E.) – Normal Distilasyon (N.D.)	145
5.6 Marine Ekstraksiyon	145
5.7 Manyetik Karıştırıcı Kullanılarak Yapılan Ekstraksiyon	145
5.8 Boyarmaddenin Sıcaklığa Karşı Bozunmasının İncelenmesi.....	146

5.9	Boyarmaddenin pH'a Karşı Bozunmasının İncelenmesi	146
5.10	Boyarmaddenin Hava Oksijenine Karşı Bozunmasının İncelenmesi.....	146
5.11	Boyarmaddenin UV Lamba Altında Bozunmasının İncelenmesi	146
5.12	Boyarmaddenin Yükseltgen ve İndirgenlere Karşı Bozunmasının İncelenmesi.....	147
5.13	Boyarmaddenin Baz (0,1 N NaOH) İle Titrasyonu.....	147
5.14	Absorpsiyon ve Türev Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1.a ve 1.b) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması	148
5.15	Absorpsiyon ve Türev Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1.a ve 1.b)'nin Gül Yapraklarına Uygulanması.....	148
5.16	Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması	148
5.17	Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b)'nin Gül Yapraklarına Uygulanması	149
5.18	Standart Yöntem (Referans Yöntem) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması.....	149
5.19	Standart Yöntemin (Referans Yöntem) Gül Yapraklarına Uygulanması	150
5.20	Gül Yapağı Numunelerinde Kantitatif Tayinler	150
5.21	Validasyon İşlemleri.....	151
5.21.1	Standart Antosiyanin Çözeltilisine Uygulanan Validasyon İşlemleri	151
5.21.2	Gül Yapağı Ekstrelerine Uygulanan Validasyon İşlemleri.....	152
5.22	Kumaş Boyamada Uygulanan Yöntemler	153
5.23	Boyanmış Numunelere Haslık Testlerinin Uygulanması.....	154
KAYNAKLAR.....		249
ÖZGEÇMİŞ.....		263

SİMGE LİSTESİ

A	Absorbans
C	Konsantrasyon
$^{\circ}\text{C}$	Celcius derecesi
g	Gram
L	Litre
μg	Mikrogram
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
N	Normalite
SD	Standart sapma
RSD	Bağıl standart sapma
%	Yüzde
^1D	1. türev
r	Regresyon katsayısı
pH	Bir çözeltinin asitlik veya bazlık derecesi
cm	Santimetre
nm	Nanometre
v/v	Hacimce yüzde
a*	CIE Lab değeri
b*	CIE Lab değeri
C*	CIE Lab değeri
m μ	Milimikron
μm	Mikrometre
Ka	Asit iyonlaşma sabiti
m 2	Metre kare
h	Saat (zaman)
λ	Dalga boyu
ϵ	Molar absorptivite katsayısı
ΔE	Renk farklılığı
s	Saniye
K	Kelvin derecesi

KISALTMA LİSTESİ

C.I.	Colour Index
CIE	Commission Internationale de L'éclairage, Uluslar arası aydınlatma komisyonu
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
M.Ö.	Milattan Önce
M.S.	Milattan Sonra
HPLC-DAD	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Diode Array (Diyot Dizisi) Dedektörü
MS	Kütle Spektrometresi
LC	Sıvı Kromatografisi
ESI	Elektrospray İyonizasyonu
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
IR	Infra-Red
UHPLC	Ultra Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
GLC	Gaz - Sıvı Kromatografisi
ISO	Uluslararası Standart Enstitüsü
CAC	Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu
LOD	Tayin Limiti
LOQ	Ölçüm Limiti
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
UV-Vis	Ultraviyole Görünür Bölge
NA	Difenil Borik Asit- β -aminoetilester
HVS-2	Genital Herpes Virüsü
SED	Spektral Enerji Dağılımı
N.D.	Normal Distilasyon
S.E.	Sokslet Ekstraksiyonu

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 Antosiyaninlerin genel yapısı.....	7
Şekil 2. 2 Antosiyaninlerin doğadaki dağılımı.....	11
Şekil 2. 3 Antosiyanidin degradasyon mekanizması.....	15
Şekil 2. 4 Antosiyaninlerin yapısının pH'a göre değişimi.....	18
Şekil 2. 5 Antosiyanidinin yüksek pH'da metal iyonlarıyla (Al^{3+} , Fe^{3+}) oluşturdukları kompleks yapı.....	19
Şekil 2. 6 Antosiyaninlerin ekstraksiyonu.....	26
Şekil 2. 7 Katı faz ekstraksiyonu.....	28
Şekil 2. 8 Antosiyaninlerin pH 1,0 ve pH 4,5 tampon sistemlerinde absorpsiyon spektrumları.....	33
Şekil 2. 9 Gül bitkisi.....	63
Şekil 2. 10 Yün lifinin kısımları.....	68
Şekil 2. 11 Yün lifinin elektron mikroskobu altındaki görünümü.....	69
Şekil 3. 1 Tek kanallı bir absorpsiyon spektrofotometresinin blok diyagramı.....	84
Şekil 3. 2 D_2 , W, H_2 ve Xe lambalarının yaydıkları sürekli ışımaya spektrumları.....	85
Şekil 3. 3 Çeşitli şekillerdeki Gauss diyagramlarının türev spektrumları.....	89
Şekil 3. 4 Türev spektrumlarının değerlendirilmesi.....	90
Şekil 3. 5 Işık kaynağı, cisim ve gözlemci (Cisim Türü Algılama).....	97
Şekil 3. 6 CIELab renk uzayı.....	104
Şekil 3. 7 Trikromatik kolorimetre.....	105
Şekil 3. 8 Tüm lekeleme ve solma hasılıklarının değerlendirildikleri gri skalalar.....	111
Şekil 3. 9 Standart ekleme eğrisi. Doğrunun y eksenini kestiği nokta bilinmeyen örneğin standart ilavesi yapılmadan verdiği absorbanstır. Bilinmeyen örneğin konsantrasyonu x-kesintisinden hesaplanabilir.....	119
Şekil 4. 1 Spectro Eye X-rite cihazı.....	139
Şekil 4. 2 700 Apollo James (H. Heal & Co. Ltd) ışık haslığı test cihazı.....	140
Şekil 4. 3 El tahrikli krockmeter.....	141
Şekil 4. 4 Ter haslığı test cihazı.....	142
Şekil 5. 1. a Antosiyaninlerin ultrasonik banyoda ekstraksiyonunda solvent seçimi için alınan absorpsiyon spektrumları.....	160
Şekil 5. 1. b Antosiyaninlerin ultrasonik banyoda ekstraksiyonunda solvent seçimi için alınan 1. türev absorpsiyon spektrumları.....	160

Şekil 5. 2	Antosiyaninlerin ultrasonik banyoda ekstraksiyonunda solvent seçimi çalışmalarının grafik gösterimi.....	160
Şekil 5. 3. a	Etanol / 0,1 N HCl çözücü karışımı için karışım oranının belirlenmesinde alınan absorpsiyon spektrumları.....	162
Şekil 5. 3. b	Etanol / 0,1 N HCl çözücü karışımı için karışım oranının belirlenmesinde alınan 1.türev absorpsiyon spektrumları.....	162
Şekil 5. 4. a	Etanol / 0,1 N HCl için solvent sistemi için karışım oranının belirlenmesinde ölçülen absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	163
Şekil 5. 4. b	Etanol / 0,1 N HCl için solvent sistemi için karışım oranının belirlenmesinde ölçülen 1. türev absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	163
Şekil 5. 5. a	Solid/likid oranının belirlenmesinde elde edilen absorpsiyon spektrumları.....	164
Şekil 5. 5. b	Solid/likid oranının belirlenmesinde elde edilen 1. türev absorpsiyon spektrumları.....	164
Şekil 5. 6	Solid/likid oranları için ölçülen absorbans 1. türev absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	165
Şekil 5. 7. a	1/40 Solid/likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında elde edilen absorpsiyon spektrumları.....	165
Şekil 5. 7. b	1/40 Solid/likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında elde edilen 1. türev absorpsiyon spektrumları.....	165
Şekil 5. 8. a	1/40 Solid/Likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında ölçülen absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	166
Şekil 5. 8. b	1/40 Solid/Likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında ölçülen 1. türev absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	166
Şekil 5. 9. a	1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorpsiyon spektrumları.....	167
Şekil 5. 9. b	1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen 1. türev absorpsiyon spektrumları.....	167
Şekil 5. 10. a	Seçilen 1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	167
Şekil 5. 10. b	Seçilen 1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen 1. türev absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	167
Şekil 5. 11. a	1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorpsiyon spektrumları.....	168
Şekil 5. 11. b	1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen 1. türev absorpsiyon spektrumları.....	168
Şekil 5. 12. a	Seçilen 1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	168
Şekil 5. 12. b	Seçilen 1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen 1. türev absorbans değerlerinin grafik gösterimi.....	168
Şekil 5. 13	Seçilen 1/40 Solid/likid oranı için 48 saat bekletilen gül ekstresine ait absorpsiyon spektrumu (marine ekstraksiyonu).....	170

Şekil 5. 14	Manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan farklı ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen absorpsiyon spektrumları (Solid/likid: 1/40).....	171
Şekil 5. 15	Manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan farklı ekstraksiyon işlemlerinde okunan absorbans değerlerinin grafik gösterimi (Solid/likid: 1/40).....	171
Şekil 5. 16	Manyetik karıştırıcı kullanılarak 2 kere peş peşe yapılan ekstraksiyon işlemlerinde alınan ölçümlerin grafik gösterimi (Solid/Likid: 1/40).....	172
Şekil 5. 17	Gül yaprağı ekstresinin sıcaklığa bağlı olarak bozunmasının grafik gösterimi.....	173
Şekil 5. 18	Gül yaprağı ekstresinin pH ile değişimi.....	174
Şekil 5. 19	Gül yaprağı ekstresinin pH ile renk değişiminin incelenmesi.....	174
Şekil 5. 20	Standart antosiyanin çözeltisinin pH ile değişimi.....	175
Şekil 5. 21	Standart antosiyanin çözeltisinin pH ile renk değişiminin incelenmesi.....	175
Şekil 5. 22	Gül yaprağı ekstresinin hava oksijenine karşı bozunmasına ait verilerin grafik gösterimi (λ_{max} :524 nm).....	176
Şekil 5. 23	Gül yaprağı ekstresinin Uv lamba altında bozunmasına ait verilerin grafik gösterimi (λ_{max} :524 nm).....	177
Şekil 5. 24	H ₂ O ₂ ile bozundurulmuş gül ekstresinin 5 dakika sonundaki UV spektrumu.....	178
Şekil 5. 25	H ₂ O ₂ ile bozundurulmuş gül ekstresinin 5 dakika sonundaki renk değişimi.....	178
Şekil 5. 26	NaNO ₂ ile bozundurulmuş gül ekstresinin 5 dakika sonundaki UV spektrumu.....	179
Şekil 5. 27	NaNO ₂ ile bozundurulmuş gül ekstresinin 5 dakika sonundaki renk değişimi.....	179
Şekil 5. 28	Boyarmaddenin NaOH' e karşı titrasyon eğrisi.....	181
Şekil 5. 29. a	Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla çizilen absorpsiyon eğrileri (12,5-62,5 µg/mL).....	182
Şekil 5. 29. b	Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla elde edilen standart eğri.....	182
Şekil 5. 30. a	Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla çizilen 1.türev absorpsiyon eğrileri (12,5-62,5 µg/mL).....	183
Şekil 5. 30. b	Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla elde edilen standart eğri.....	183
Şekil 5. 31. a	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 1.a 'nın uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri.....	185
Şekil 5. 31. b	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 1.b 'nin uygulanmasıyla elde edilen 1.türev absorpsiyon eğrileri.....	185
Şekil 5. 32. a	Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla çizilen absorpsiyon eğrileri (12,5-62,5 µg/mL).....	186
Şekil 5. 32. b	Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla elde edilen standart eğri.....	186
Şekil 5. 33. a	Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla çizilen absorpsiyon eğrileri (12,5-62,5 µg/mL).....	187
Şekil 5. 33. b	Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla elde edilen standart eğri.....	187
Şekil 5. 34. a	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.a 'nın uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri.....	189
Şekil 5. 34. b	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.a 'nın uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri.....	189

Şekil 5. 35. a	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.b 'nin uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri.....	190
Şekil 5. 35. b	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.b 'nin uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri.....	190
Şekil 5. 36	Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon spektrumları, (12,5-62,5 µg/mL).....	191
Şekil 5. 37	Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen standart eğri.....	191
Şekil 5. 38	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon spektrumları.....	194
Şekil 5. 39	Yöntem 1.a için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi.....	209
Şekil 5. 40	Yöntem 1.b için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi.....	210
Şekil 5. 41	Yöntem 2.a için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi.....	210
Şekil 5. 42	Yöntem 2.b için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi.....	210
Şekil 5. 43	Yöntem 3 için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi.....	211
Şekil 5. 44	(1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 µg/mL), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 1.a).....	220
Şekil 5. 45	(1): 3 ml standart antosiyanine (37,5 µg/mL), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait 1. türev absorpsiyon spektrumları (Yöntem 1.b).....	220
Şekil 5. 46	(1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 µg/mL), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 2.a).....	221
Şekil 5. 47	(1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 µg/mL), 2: 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 2.b).....	221
Şekil 5. 48	(1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 µg/mL), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 3, distile suya karşı pH: 1,0 ile hazırlanan çözeltinin spektrumu).....	222
Şekil 5. 49	(1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 µg/mL), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 3, distile suya karşı pH: 4,5 ile hazırlanan çözeltinin spektrumu).....	222
Şekil 5. 50	pH: 4 tampon çözeltisi ile K ₂ Cr ₂ O ₇ mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği.....	242
Şekil 5. 51	pH: 4 tampon çözeltisi ile Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği.....	242
Şekil 5. 52	pH: 4 tampon çözeltisi ile KAl(SO ₄) ₂ .12H ₂ O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği.....	243
Şekil 5. 53	pH: 4 tampon çözeltisi ile FeCl ₃ .6H ₂ O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği.....	243
Şekil 5. 54	pH: 4 tampon çözeltisi ile CuCl ₂ .2H ₂ O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği.....	244
Şekil 5. 55	pH: 4 tampon çözeltisi ile AgNO ₃ mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği.....	244
Şekil 5. 56	pH: 4 tampon çözeltisi ile MgCl ₂ .6H ₂ O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği.....	245
Şekil 5. 57	pH: 4 tampon çözeltisi ile FeSO ₄ .7H ₂ O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği.....	245

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1	Antosyaninlerin ana grupları ve R1-R7 yan grupları9
Çizelge 2. 2	Avrupa Birliğince listelenmiş doğal gıda boya ları.....12
Çizelge 2. 3	Bazı yenilebilir bitkilerin antosiyenin içeriği.....13
Çizelge 2. 4	Antosiyenin renklerinin pH'a göre değişimi.....17
Çizelge 2. 5	Antosiyenin pH' a göre renk değişimleri.....17
Çizelge 2. 6	Flavonoidlerin UV spektroskopisindeki absorpsiyon bantları.....22
Çizelge 3. 1	Spektroskopide kullanılan dalga boyu seçicileri.....86
Çizelge 3. 2	Renklerin karşılaştırılması.....102
Çizelge 3. 3	Mavi skalada kullanılan mavi yün elyafını boyayan boyarmaddelerin Colour İndeks numaraları ve değerleri.....108
Çizelge 3. 4	Aritmetiksel ölçek.....109
Çizelge 3. 5	Geometrik ölçek.....110
Çizelge 5. 1	Antosiyenin ultrasonik banyoda ekstraksiyonunda solvent seçiminde ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri.....161
Çizelge 5. 2	Etanol / 0,1 N HCl çözücü karışımı için karışım oranının belirlenmesinde ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri.....162
Çizelge 5. 3	Solid / likid oranları için ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri.....164
Çizelge 5. 4	1/40 Solid/likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri.....166
Çizelge 5. 5	1/40 Solid/likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri.....167
Çizelge 5. 6	1/40 Solid/likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri.....168
Çizelge 5. 7	Normal distilasyon ve Sokslet ekstraksiyon sistemi kullanılarak elde edilen ekstraktlarda geliştirilen yöntemler ile gül yaprağındaki antosiyenin kantitatif analizi için okunan absorbans değerleri.....169
Çizelge 5. 8	Normal distilasyon ve Sokslet ekstraksiyon sistemi kullanılarak elde edilen ekstraktlarda geliştirilen yöntemler ile gül yaprağındaki antosiyenin kantitatif analiz sonuçları (mg A /100 g gül).....169
Çizelge 5. 9	Seçilen 1/40 Solid/likid oranı için 48 saat bekletilen gül ekstresine ait absorbans ve 1. türev absorbans değerleri.....170

Çizelge 5. 10	Manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan farklı ekstraksiyon işlemlerinde okunan absorbands değerleri (Solid/likid:1/40).....	171
Çizelge 5. 11	Manyetik karıştırıcı kullanılarak 2 kere peş peşe yapılan ekstraksiyon işlemlerinde alınan ölçümler (Solid/likid: 1/40).....	172
Çizelge 5. 12	Gül yaprağı ekstresinin sıcaklığa bağlı olarak bozunmasının incelenmesi (λ_{max} :524 nm).....	173
Çizelge 5. 13	Gül yaprağı ekstresinin pH ile değişiminde ölçülen absorbands değerleri.....	174
Çizelge 5. 14	Standart antosiyanin çözeltisinin pH ile değişiminde ölçülen absorbands değerleri.....	175
Çizelge 5. 15	Gül yaprağı ekstresinin hava oksijenine karşı bozunmasına ait absorbands değerleri (λ_{max} :524 nm).....	176
Çizelge 5. 16	Gül yaprağı ekstresinin Uv lamba altında bozunmasına ait absorbands değerleri (λ_{max} :524 nm).....	177
Çizelge 5. 17	H ₂ O ₂ ile bozundurulmuş gül ekstresine ait absorbands değerleri.....	178
Çizelge 5. 18	NaNO ₂ ile bozundurulmuş gül ekstresine ait absorbands değerleri.....	179
Çizelge 5. 19	Gül yaprağı ekstresine ilave edilen baz ile (0,1 N NaOH) ölçülen pH ve renk değişimleri.....	180
Çizelge 5. 20	Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbands ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri.....	182
Çizelge 5. 21	Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler.....	183
Çizelge 5. 22	Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan 1.türev absorbands ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri (λ_{max} :510 nm).....	184
Çizelge 5. 23	Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler.....	184
Çizelge 5. 24	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 1.a ve 1.b'nin uygulanmasıyla elde edilen absorbands ve 1. türev absorbands değerleri.....	185
Çizelge 5. 25	Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbands ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri (λ_{max} :532 nm).....	186
Çizelge 5. 26	Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler.....	187
Çizelge 5. 27	Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbands ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri (λ_{max} :528 nm).....	188
Çizelge 5. 28	Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler.....	188
Çizelge 5. 29	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla elde edilen absorbands ve 1. türev absorbands değerleri.....	189
Çizelge 5. 30	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla elde edilen absorbands ve 1. türev absorbands değerleri.....	190

Çizelge 5. 31	Yöntem 3'ün uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans değerleri (referans: distile su, numune: pH 1'de hazırlanan standart çözeltiler).....	192
Çizelge 5. 32	Yöntem 3'ün uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans değerleri (referans: distile su, numune: pH: 4,5'da hazırlanan standart çözeltiler).....	192
Çizelge 5. 33	Yöntem 3'ün uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri (λ_{max} :530 nm ve λ : 700 nm).....	193
Çizelge 5. 34	Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler.....	193
Çizelge 5. 35	Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen absorbans değerleri ve standart yöntemin uygulanmasında kullanılacak hesaplanmış ortalama absorbans değerleri.....	195
Çizelge 5. 36	Farklı hacimlerde gül yaprağı ekstratlarında yapılan kantitatif tayinlerde 100 gram gül yaprağındaki gram cinsinden antosiyanin miktarının 3 yöntem ile birlikte gösterilmesi Ortalama, SD ve RSD değerleri (Ultrasonik ekstraksiyonda elde edilen ekstraktlar kullanıldı).....	196
Çizelge 5. 37	Yöntem 1.a için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	197
Çizelge 5. 38	Yöntem 1.b için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	198
Çizelge 5. 39	Yöntem 2.a için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	199
Çizelge 5. 40	Yöntem 2.b için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	200
Çizelge 5. 41	Yöntem 3 için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	201
Çizelge 5. 42	Yöntem 1.a için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar....	202
Çizelge 5. 43	Yöntem 1.b için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar....	203
Çizelge 5. 44	Yöntem 2.a için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar....	204
Çizelge 5. 45	Yöntem 2.b için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar....	205
Çizelge 5. 46	Yöntem 3 için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar.....	206
Çizelge 5. 47	37,5 μ g/mL konsantrasyonda hazırlanan 10 ayrı çözeltinin gün içinde (İntra-day) arka arkaya 3 ayrı yöntem ile alınan ölçümleri sonucunda elde edilen, ortalama konsantrasyon, SD, RSD, % Verim, LOD ve LOQ değerlerinin karşılaştırılması.....	207
Çizelge 5. 48	37,5 μ g/mL konsantrasyonda hazırlanan 10 ayrı çözeltinin 3 gün arka arkaya (İnter-day) 3 ayrı yöntem ile alınan ölçümleri sonucunda elde edilen, ortalama konsantrasyon, SD, RSD, % Verim, LOD ve LOQ değerlerinin karşılaştırılması.....	208
Çizelge 5. 49	Standart ekleme yöntemi için elde edilen absorbans değerleri.....	209
Çizelge 5. 50	Standart ekleme yönteminin uygulanmasıyla 3 Yöntem için elde edilen % Verimler.....	210
Çizelge 5. 51	Standart ekleme yönteminin uygulanmasıyla mg A/ 100 g gül yaprağında saptanan antosiyanin miktarları.....	212
Çizelge 5. 52	Yöntem 1.a için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	212
Çizelge 5. 53	Yöntem 1.b için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	213
Çizelge 5. 54	Yöntem 2.a için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	213
Çizelge 5. 55	Yöntem 2.b için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	214
Çizelge 5. 56	Yöntem 3 için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar.....	214

Çizelge 5. 57	Yöntem 1.a için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar....	215
Çizelge 5. 58	Yöntem 1.b için İnter-day (Günler arası) çalışmalara ait sonuçlar.....	215
Çizelge 5. 59	Yöntem 2.a için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar....	216
Çizelge 5. 60	Yöntem 2.b için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar....	216
Çizelge 5. 61	Yöntem 3 için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar.....	217
Çizelge 5. 62	Gül ekstresinden hazırlanan 5 ayrı çözeltinin gün içinde (İnter-day) arka arkaya 3 ayrı yöntem ile alınan ölçümleri sonucunda elde edilen, ortalama konsantrasyon, SD, RSD, LOD ve LOQ değerlerinin karşılaştırılması.....	218
Çizelge 5. 63	Gül ekstresinden hazırlanan 5 ayrı çözeltinin 3 gün arka arkaya (İnter-day, gün aşırı) 3 ayrı yöntem ile alınan ölçümleri sonucunda elde edilen, ortalama konsantrasyon, SD, RSD, LOD ve LOQ değerlerinin karşılaştırılması.....	219
Çizelge 5. 64	pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların renk koordinatları.....	223
Çizelge 5. 65	pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların ışık haslıkları.....	227
Çizelge 5. 66	pH: 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların sürtünme haslıkları.....	228
Çizelge 5. 67	pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların ter haslıkları.....	230
Çizelge 5. 68	pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri.....	234
Çizelge 5. 69	Değişik mordanlar kullanılarak 10 farklı yöneme göre boyanmış yünlü kumaş parçacıkları.....	246
Çizelge 5. 70	Değişik mordanlar kullanılarak 10 farklı yöneme göre boyanmış yünlü kumaş parçacıklarının ΔE renk farklılığı değerleri.....	248

**KIRMIZI GÜL YAPRAKLARINDAN FARKLI EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ İLE
DOĞAL BOYARMADDE ELDESİ VE TEKSTİL ALANINDA
UYGULANABİLİRLİĞİ**

Emrah Çimen

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR

Doğal boyalarda, doğadan elde edilen pigmentler kullanıldığı için, doğal boyamalar göze daha hoş görünür ve huzur verici bir etkiye sahiptir. Ayrıca bu boyalar çevre kirliliğini azaltıp, insan sağlığına da zarar vermezler. Turistlerin doğal boyanmış ürünlere gösterdikleri aşırı ilgi, ülkemize döviz girdisi açısından da doğal boyamacılığın önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Doğal boyamacılık, doğadaki boyarmaddelerden yararlanılarak yapılır. Son yıllarda yapılan araştırmaların, yapay renk maddelerinin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini ortaya koymasından sonra, doğal renk maddelerine olan ilgi günden güne artmaktadır. Ayrıca yapılan bazı araştırmalar, antosiyaninlerin insan sağlığı üzerine çok olumlu etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Antosiyaninler, antioksidan potansiyellerinden dolayı gıda ürünlerinde ve ayrıca ilaç ürünlerinde doğal gıda boyaları olarak artan bir ilgiye sahiptir. Antosiyaninler, gıdaların parlak kırmızı rengini sağlayan ve birçok gıdanın boyanmasında sentetik boyalara karşı önemli bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Literatür bilgileri, antosiyanin ekstraktlarının gıdalara yalnızca çekici renk özellikleri kazandırmadığı, aynı zamanda yüksek antioksidan kapasiteleri nedeniyle sağlık açısından çok yararlı bileşikler olduğunu göstermiştir. Günümüzde doğal renklendiriciler gösterdikleri çeşitli antioksidan, anti-bakteriyel, anti-mikrobiyal vb. aktivitelerden ve bazı sentetik renklendiricilerin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin gün yüzüne çıkmasından bu yana ilgi odağı haline gelmişlerdir. Antosiyaninler, ticari doğal pigmentlerin en

önemlidir. Kırmızı gül yapraklarından elde edilen ve doğal boyarmadde olan antosiyaninler, birçok meyve ve sebze de bulunmaktadır.

Antosiyaninler üzüm, kiraz, vişne, çilek gibi meyvelere rengini veren (kırmızı, mor, pembe, mavi) ayrıca çeşitli çiçekler ve bitki köklerinde de bulunan, en iyi doğal renklendiricilerdir. Antosiyaninlerin renkleri moleküler yapılarına ve buldukları ortamın pH değerine göre değişim gösterirler.

Bu çalışmada; farklı ekstraksiyon yöntemleriyle doğal boyarmadde elde edildi ve pigment kaynağı olarak kırmızı gül seçildi. Ekstrakte edilen antosiyaninlerin boyarmadde olarak kullanılması durumunda maksimum boyarmadde verimi, boyama kuvveti ve stabilitenin elde edilmesi için optimum koşullar araştırıldı. Ekstraksiyon işlemlerinden elde edilen antosiyaninlerin kantitatif tayini için absorpsiyon, türev spektroskopik, fark spektroskopik ve pH diferansiyel yöntemleri geliştirildi ve her bir yöntem için ayrı ayrı validasyon işlemleri uygulandı. Ekstraksiyon veriminin artırılması, boyarmadde bozunmasının en aza indirilmesi, kısa sürede ve ekonomik olarak boyanın özütlenmesi için kullanılacak ekstraksiyon yöntemlerinde çözücü etkisi, ekstraksiyon süresi ve katı-sıvı oranı gibi parametreler denendi ve çalışmalarda çözücü olarak Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı, Solid/likid oranı olarak 1/40 ve ekstraksiyon süresi olarak 10 dakika seçildi. Elde edilen boyar maddelerin gıdalarda kullanılabilirliğinin incelenmesi için ısıya, UV ışığa, pH'a, indirgen ve yükseltgenlere karşı direnci ve boyarmadde üzerine hava oksijeninin etkisi incelendi Boyarmaddenin; ısıya, UV ışığa ve hava oksijenine karşı dirençli olduğu; indirgen ve yükseltgenlere karşı dirençsiz olduğu, ancak çözücü karışımıyla hacmine tamamlandıktan sonra eski rengine geri döndüğü saptandı. Bu sonuçlar, çalışmada kullanılan çözücü karışımında boyarmaddenin oldukça kararlı olduğunu gösterdi.

Bu çalışmada, kırmızı gül yapraklarından elde edilen doğal boyarmadde, çeşitli geçiş metali tuzları mordan maddesi olarak kullanılmak suretiyle, on farklı boyama yöntemine göre, 100°C de, pH: 4 tampon çözeltisiyle, kapalı sistemde, yünlü kumaşlara uygulandı. Tannik asidin, halılardaki ufak kurtların ve diğer allerji yapan maddelerin giderilmesi amacıyla yün boyamada kullanıldığı, antibakteriyel, antiviral özelliklerle birlikte daha iyi ışık ve yıkama haslığı sağladığı bilindiğinden, çalışmamızda kullanılması uygun bulundu. Boyanan yünlü kumaşların renk kodları, renk farklılıkları ve reflektans değerleri tespit edildi. Boyanan kumaşlara ışık, sürtünme ve ter haslığı testleri yapıldı. AgNO₃ ve tannik asidin antibakteriyel özellikte olup olmadığı kontrol edildi ve Mordan+Tannik asit → Boya (1. Yöntem) ve Boya → Mordan+Tannik asit (2.yöntem)' in antibakteriyel özellik gösterdiği saptandı.

Işık haslığı test sonuçlarının nadiren 4, birkaç boyamada 7-8 arasında ve ortalama olarak da 4-6 arasında olduğu bulundu. Bu sonuçların literatür araştırmalarındaki doğal boyamalara göre iyi olduğu saptandı.

Sürtünme haslığı test sonuçlarının, FeCl₃.6H₂O, FeSO₄.7H₂O ve AgNO₃ mordan tuzları haricinde kalan diğer tüm mordan tuzları ile yapılan boyamalarda 4-5 arasında olduğu ve bu sonucun doğal boyamacılığın en çok uygulandığı alan olan yer sergileri (halı ve kilimler) için çok ideal olduğu anlaşıldı. FeCl₃.6H₂O, FeSO₄.7H₂O ve AgNO₃ mordan tuzları ile yapılan boyamalarda ise sürtünme haslığının ortalama 3-4 arasında olduğu saptandı.

Bütün mordan tuzları ile yapılan boyamalarda, ter haslığı test sonuçlarının, genellikle 5 nadiren 4-5 arasında, olduğu, ve bu sonuçların literatür araştırmalarındaki doğal boyamalara göre iyi olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Kırmızı gül, antosiyaninler, ultrasonik ekstraksiyon, türev spektroskopik yöntem, fark spektroskopik yöntem, pH-diferansiyel yöntem, tannik asit, mordan tuzları, yün kumaş, haslık testleri, antibakteriyel özellik

**USING DIFFERENT EXTRACTION METHODS TO OBTAIN NATURAL
DYESTUFF FROM RED ROSES LEAVES AND APPLICABILITY OF FIELD OF
TEXTILE**

Emrah ÇİMEN

Department of Chemistry

MSc. Thesis

Advisor: Prof. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR

Due to the use of natural pigments for the manufacture of the natural dyeings, the natural dyeings are more pleasing and have a peaceful effect on people. Besides these dyeings reduce the environmental pollution and don't damage people health. The tourists have more interests to the natural dyed products, once again expose the importance of the natural dyeing for our country's foreign currency input. The natural dyeings are made by using the natural dyestuff in nature. Research conducted in recent years, first put out the negative effects of artificial coloring substances on human health, then the interest in natural color agents is increasing day by day. In addition, in some studies, anthocyanins have revealed that many positive effects on human health. Anthocyanins, the antioxidant potential of medicinal products for food products, and also has a growing interest in natural food dyes. Anthocyanins, a bright red color of foods, and many foods dyeing that are considered as an important alternative to synthetic dyes. The knowledge of literature, anthocyanin extracts, foods not gain only features attractive color, but also because of the high antioxidant capacity of the compounds showed very beneficial for health. Nowadays, a variety of natural dyes in which antioxidant, anti-bacterial, anti-microbial and so on. activities, and some synthetic colorants light of day since the advent of negative effects on human health have become the focus of attention. Anthocyanins are the most

important commercial natural pigments. Anthocyanins, which are derived from the leaves of red roses and natural dyes, there are many fruits and vegetables.

Anthocyanins, gives color to fruits such as strawberry, grapes, cherries, cherry (red, purple, pink, blue) is also found in the roots of various flowers and plants, the best natural colorants. Anthocyanins colors, they are based on the molecular structure and the pH value of the medium.

In this study, we were obtained natural dyestuff with different extraction methods and red rose was chosen as pigment source. The optimum conditions will be searched for obtaining of maximum yield and colouring force and stability of the colouring substance in the case of using of anthocyanins. For the quantitative determination of anthocyanins which were obtained from extraction process, absorption, derivative spectroscopy, differential spectroscopic methods and the pH differential methods was developed and validation process was applied separately for each method. Some parameters as effect of the pressure on the effect of solvent and the time of extraction will be examined for the extraction methods which are used by increasing of the extraction yield and minimizing of the amount of colouring materials and the extraction of dye economically in the short time and in this study, ethanol / 0.1 N HCl (90/10, v / v) solvent mixture was used as a solvent, solid / liquid ratio of 1/40 and the extraction time was selected as 10 minutes. The resistance of colouring materials which have been in foods will be examined on the heat, the radiation of UV, pH and the effect of the air oxygen. It was found that pigments resisted to heat, UV light and the air oxygen, they are susceptibility to reducing and oxidizing agents but after the completion of the volume of the solvent mixture was returned to the old colors. These study showed that, dyestuff was quite stable in solvent mixture used in the study.

In this research, natural dyes derived from the leaves of red roses and various metal salts are used as a mordant material, was applied to the wool fabrics according to ten different dyeing methods, by means of tampon solution prepared pH:4, at 100°C, at the closed system. Tannic acid, which is used as a wool dyeing because of its light washing fastness and properties of antibacterial and antiviral behaviours like that removing marggot-larva and other allergic materials, was approved in our study. The dyed wool fabrics were determined color codes, color differences and reflectance values. The dyed fabrics were performed light, rubbing and perspiration fastness tests. Antibacterial properties tannic acid and AgNO_3 whether it was checked and Method 1 ve Method 2 were found to be in the antibacterial property.

According to the light fastness tests, it was obtained rarely 4, a few test gave 7-8 and average results were 4-6. These results were obtained as good according to the natural dyeing at the literature researches.

It was observed that the results test of the rubbing fastness were between 4-5 in the dyeing by the whole other mordant salts except $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and AgNO_3 mordant salts and this result was very ideal for floor materials (carpet and rug), the area which they were mostly applied. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and AgNO_3 mordant salts showed the rubbing fastness test result between 3 and 4 in the dyeing process.

All mordant dyeing with salt, perspiration fastness test results, usually between 4-5 rarely 5, and these results were obtained as good according to the natural dyeing at the literature researches.

Key words: Red rose leave, anthocyanins, ultrasonic extraction, derivative spectroscopic method, difference spectroscopic method, pH-differential method, tannic acid, mordant salts, wool fabric, fastness tests, antibacterial property

1.1 Literatür Özeti

Günümüzde tüketiciye sunulan gıdalar birçok kimyasal madde içermektedir. Bu kimyasal maddelerden çoğu gıdanın doğal bileşenleri olup, karbonhidratlar, yağlar, proteinler, vitaminler ve mineraller olarak sınıflandırılmaktadır. Bu doğal bileşenlerin yanı sıra gıda işleme sırasında gıdaya istenerek katılan veya istenilmediği halde bulaşan bazı maddeler de bulunmaktadır [1].

Günümüzde pek çok alanda olduğu gibi gıda endüstrisinde de doğal kaynaklı hammaddelere ve ürünlere olan ilgi artmıştır. Bunun sonucu olarak, bu alanda yapılan araştırmalar hız kazanmıştır.

Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (CAC) renklendiricileri “gıdaların rengini düzelteren ve/veya gıdalara renk vermek amacıyla ilave edilen madde” olarak tanımlamaktadır [2].

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

Doğal renklendiriciler ise, teknolojik olumsuzluklarına rağmen sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı günümüzde birçok üründe kullanılmaktadır [3].

Doğal renklendiriciler içinde yer alan en önemli grup, antosiyaninlerdir. Antosiyanin, Yunanca ‘anthos’ (çiçek), ‘kyanos’ (mavi) anlamına gelen iki kelimenin birleşmesiyle adlandırılmaktadır. Antosiyaninler, çilek, üzüm, erik, nar, kırmızı lahana, patlıcan, böğürtlen, vişne vb. gibi birçok meyve ve sebzenin pembeden mora kadar değişen

renklerini veren doğal pigmentlerdir. Meyve, sebze ve üzüksü bitkilerin birçoğu gösterişli renklerini, hücre özsuyunda bulunan ve suda çözünebilen bu bileşenlere borçludur.

Bu pigmentlerin stabiliteleri çevresel faktörler ile pH, sıcaklık, oksijen, enzimler ve kondenzasyon reaksiyonları gibi proses faktörleri tarafından etkilenir. Renk, ışığın spektral dağılımından meydana gelen görsel bir özelliktir. Doğal gıdaların renkleri içerdikleri çok çeşitli kimyasal formlara sahip olan ve pigment olarak tanımlanan maddelerden kaynaklanmaktadır. Meyve ve sebzeler gibi doğal kaynaklı birçok ürün çeşitli renklere sahip olup, çekicilikleri renkleri ile ilgilidir. Renk, gıdaların besinsel özelliklerinin yanı sıra, tüketicinin duyuusal tercihi açısından, gıdanın çekiciliğinde önemli rol oynamaktadır. Bir gıda ile ilgili ilk izlenim görseldir. Gıdanın tercih edilmesi onun renginin kabul veya red edilmesine bağlıdır. Diğer taraftan renk, gıdanın üretildiği hammaddenin niteliklerini, uygulanan üretim teknolojisini, depolama koşulları ve süresi gibi değişik faktörler hakkında da tüketicilere ipuçları verebilmektedir.

Son yıllarda yapılan araştırmaların, yapay renk maddelerinin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini ortaya koymasından sonra, doğal renk maddelerine olan ilgi günden güne artmaktadır. Ayrıca yapılan bazı araştırmalar, antosiyaninlerin insan sağlığı üzerine çok olumlu etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Antosiyaninler, antioksidan potansiyellerinden dolayı gıda ürünlerinde ve ayrıca ilaç ürünlerinde doğal gıda boyaları olarak artan bir ilgiye sahiptir [4]. Antosiyanin uygulamalarının büyük potansiyeline rağmen gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerindeki kullanımı için, göreceli kararsızlıkları ve düşük ekstraksiyon yüzdeleri nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Şu anda, birçok araştırmacı saflaştırma ve tanımlanmalarının yanı sıra bu problemleri çözmeye odaklanmışlardır [5]. Bu bileşiklerin renk ve kararlılıklarını pH, sıcaklık, ışık, kopigment varlığı, kendi kendine birleşme özelliği, metalik iyonlar, enzimler, oksijen, askorbik asit ve ortamda şeker varlığı gibi değişik faktörler etkiler. Bu nedenle, bu maddelerin kararlılığını arttırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır [6].

Günümüzde gelişen gıda üretim teknolojileri dikkate alındığında gıdalar proses sürecinde fiziksel ve kimyasal koşullara bağlı olarak renk solması ve/veya kaybına uğramaktadırlar. Ancak üreticiler, proses sırasında ortaya çıkan bu renk kayıplarını

önleyerek gıdanın orjinal rengini koruma ve gıdalara renk kazandırma amacı ile koruyucu ve renklendirici katkı maddelerini ürünlerinde kullanma yoluna gitmektedirler.

Doğadan elde edilen renk maddeleri, yapılarına göre inorganik ve organik olmak üzere ikiye ayrılır. İnorganik olanlar; topraktan, yani minerallerden elde edilen renk maddeleriyle üretilen boyalardır. Organik boyalar ise bitki ve hayvanlardan elde edilir. Boyalar bir de kendi aralarında sabit boyalar ve sabit olmayan boyalar olmak üzere ikiye ayrılır.

Sabit boyalar, boyanın yapışması ve kalıcı olması için herhangi bir yardımcıya ihtiyaç duymadan, doğrudan uygulanan boyalardır. Örneğin, bazı likenlerden elde edilen ve çivit adı verilen boya, bu sınıfta yer alır. Sabit olmayan boyalar ise, kalıcılık için sabitleyici bir maddeye ihtiyaç duyar. Bu tip boyaları sabitlemek için kullanılan maddelere mordan ve bu işleme mordanlama adı verilir. Mordanlar genellikle metal tuzları olup, renk maddelerinin boyanacak malzemeye yapışmasını ve uzun süre ayrılmamasını sağlarlar.

Eski çağlarda Mısır, Hindistan ve Sümer uygarlıklarında mordan olarak en çok şap adı verilen alüminyum oksit ve demir oksit kullanılırdı. Ortaçağda ise bu iki sabitleyiciye bakır oksitler ve potasyum bitartarat (krem tartar) da eklendi. Diğerleri kadar etkili olmasa da, tuz ve sirke de uzun yıllar mordan olarak kullanıldı. Çeşitli yosunlar da içerdikleri iyot nedeniyle mordan olarak kullanılırdı.

Boya bitkileri, tarih boyunca çoğunlukla doğu ülkelerinde keşfedildi. Herkesin ilgisini çeken renkli kumaşlar o dönemde Çin, Hindistan ve İran'da üretilir ve İpek yolu ile batıya taşınırdı. Bu bölgelerde yetişen en değerli boya bitkilerinin başında, sarı renk veren safran, mavi renk veren çivit otu ve kırmızı renk veren kök boya gelirdi. Teknolojinin gelişmesi ve sentetik boyaların üretilmeye başlaması ile doğal boyalar önemlerini giderek yitirmeye başladı. Ancak son yıllarda tekrar gündeme gelen doğal boyalar, günümüzde birçok alanda yeniden kullanılmaya başlandı [7].

Bugün bütün dünyada çevre dostu ürünler gündemdedir. Sentetik boyarmaddelerle yapılan kumaş boyaları, doğal çevreye zarar verdiği gibi insan sağlığı için de zararlı kanserojen özellik taşıyabilmektedir. Buna alternatif olarak araştırmacılar, doğal

boyalara yönelmektedir. Doğal boyaların kullanımı artık, tekstil, yiyecek, ev tekstili ve ilaç sektörü gibi geniş bir alana yayılmaktadır. Giyimde; iç giyim, uyku kıyafetleri ve yatak örtülerinin boyanmasında, yiyecekte; tabak, çanak boyanmasında, keklerin, ekmeklerin, şekerlemelerin ve dondurmaların renklendirilmesinde, ev dekorasyonunda; ağaç, metal, duvar kâğıdı ve yer döşemelerinin renklendirilmesinde, ilaç sektöründe de; bandaj ve sargı malzemelerinin renklendirilmesinde güvenle kullanılabilir [8].

Antosiyaninlerin çeşitli bitkisel kaynaklardan ekstraksiyonunda kullanılacak yöntemler, çoğunlukla ekstraksiyonun amacına ve antosiyaninlerin yapısına bağlı olmaktadır. Ekstraksiyon işlemleri için antosiyaninlerin yapısını ve stabilitesini etkileyen faktörlerin bilinmesi gerekmektedir. Ekstrakte edilen pigmentler kalitatif veya kantitatif olarak hemen analiz edilecekse yöntem pigmentleri mümkün olduğunca doğal durumlarına yakın tutacak şekilde seçilmelidir. Ekstrakte edilen pigmentlerin renklendirici veya gıda bileşeni olarak kullanılması durumunda maksimum pigment verimi, boyama kuvveti ve stabilite gibi faktörlerde önem kazanmaktadır. Ayrıca ekstraksiyon ve temizleme işlemlerinin çok kompleks olmaması, zaman alıcı ve pahalı olmaması gerekmektedir.

1.2 Tezin Amacı

Bu çalışmada; geleneksel olarak üretilen ve kökeni Osmanlı kültürüne dayanan kırmızı taze gül yapraklarından antosiyanin ekstraksiyonu; farklı çözücü sistemleri, katı-sıvı oranları ve ekstraksiyon süreleri denenerek ultrasonik ekstraksiyon, sokslet ekstraksiyonu, reflaks ekstraksiyonu, marine ekstraksiyonu ve manyetik karıştırıcı gibi ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak yapılan ekstraksiyon işlemleri ile elde edilen boyarmaddelerin toplam antosiyanin içeriği ve tekstil endüstrisindeki uygulanabilirliği araştırılmıştır. Yaptığımız deneysel çalışmalarda çözücü olarak Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı seçildi. Solid/likid oranı 1/40 ve ekstraksiyon süresi 10 dakika olarak seçildi.

Gül yaprağı ekstresinin sıcaklığa, pH'a, hava oksijenine, Uv ışığa, H₂O₂ ve NaNO₂ ilavesine karşı bozunmaları incelendi. Ayrıca 0,1 N NaOH'e karşı titrasyon işlemi de yapıldı. Elde edilen gül ekstrelerinde, toplam antosiyaninin kantitatif tayini için 3 yöntem geliştirildi. Yöntem 1.a; absorpsiyon yöntemi, Yöntem 1.b; türev yöntemi,

Yöntem 2.a ve 2.b; fark yöntemi 125 µg/mL stok antosiyanin çözeltisinden 4 seri olacak şekilde 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jodelere aktarıldı. Yöntem 2.a için pH 4,5 ve pH 1,0 tampon çözeltileriyle ve Yöntem 2.b için pH 7,0 ve pH 1,0 tampon çözeltileriyle hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra Yöntem 2.a'da pH 4,5'a (referans hücre) karşı pH 1,0 (numune hücresi)'de hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri 532 nm'de ve Yöntem 2.b'de pH 7,0'ye(referans hücre) karşı pH 1,0 (numune hücresi)'de hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri 528 nm'de alındı. Yöntem 3'de; 125 µg/mL stok antosiyanin çözeltisinden 2 seri olacak şekilde 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jodelere aktarıldı. Birinci seri çözeltiler pH 1,0 tampon çözeltisi ve ikinci seri çözeltiler pH 4,5 tampon çözeltileriyle hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra 1. seri çözeltilerin (pH:1,0 ile hazırlanan) ve çözeltilerden 2. seri çözeltilerin (pH:4,5 ile hazırlanan) distile suya karşı 300-800 nm dalga boyu aralığında ayrı ayrı alınan absorpsiyon spektrumlarında 530 ve 700 nm'deki absorbans değerleri okundu. Standart çözeltiler için geliştirilen yöntemler ayrı ayrı uygulanarak kalibrasyon eğrileri elde edildi ve ayrıca her bir yöntem gül yaprağı ekstrelerine de uygulanadı. Tekrarlanabilirliğin incelenmesi amacıyla gün içi ve gün aşırı analizler yapıldı. Bu analizlere ait standart sapma (SD), bağıl standart sapma (RSD), yüzde verim, tayin sınırı (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) değerleri elde edildi ve her bir yöntemin ayrı ayrı uygulanması ile mg A/ 100 gram gül için miktar tayinleri yapıldı. Ayrıca standart ekleme yöntemi de kullanıldı ve analizi yapılacak olan gül ekstresine belirli miktarlarda konsantrasyonu bilinen standart çözelti ilave edildi. Standart ekleme yöntemi için kalibrasyon grafikleri elde edildi, standart ekleme yönteminin uygulanmasıyla % verim değerleri ve 100 gram gül yaprağında saptanan antosiyanin miktarları her bir yöntem için ayrı ayrı hesaplandı.

Doğal boyarmaddeler, yüne doğrudan veya kendiliklerinden bağlanmazlar ya da bağlansalar bile iyi sonuç vermezler. Dolayısıyla bu çalışmada boyarmaddenin yüne bağlanmasını sağlamak ve kuvvetlendirmek için yün kumaş ile boya arasında bağlama görevi üstlenen mordanlar kullanılarak, mordanlı boyama metodu tercih edildi.

Antosiyaninlerin ligand özelliği göstererek metallerle kompleks verme özellikleri vardır. Tannik asidin, mordan tuzlarının yünlü kumaşa bağlanma kuvvetini arttırması ve

allergenlerin giderilmesinde etkili olduğunun bilinmesi, bizi tannik asitle beraber mordanlama yöntemiyle, yünlü kumaş boyamaya yöneltmiştir.

Kırmızı taze gül yapraklarından ekstrakte edilen antosiyaninler $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, $K_2Cr_2O_7$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, $AgNO_3$ ve $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ mordan tuzları ile pH 4'te hazırlanan tampon çözeltisi kullanılarak on farklı yöntem ayrı ayrı uygulanmak suretiyle 66 adet yünlü kumaş, 100 °C' de boyanarak, renk kodları ve reflektans değerleri tespit edildi. Ayrıca ışık haslığı, ter haslığı ve sürtünme haslığı testleri uygulandı ve $AgNO_3$ tuzu ile tannik asitin kullanıldığı boyamalara ait yünlü kumaşların antibakteriyel özellikte olup olmadığı araştırıldı.

1.3 Hipotez

Ülkemiz, doğal boyamacılık bakımından oldukça eski bir tarihsel geleneğe ve doğal boyamacılıkta kullanılan bitkiler açısından zengin bir potansiyele sahiptir. Günümüzde bu zenginlik boyamacılıkta kullanılan bitki sayısına yansıtılamamaktadır. Ülkemizde boya bitkilerinin kültürü yapılamamakta, boyama için gerekli materyal doğadan toplamalar yolu ile sağlanmaktadır. Ekonomik açıdan önemli boya bitkilerinin tespit edilerek, bu bitkilerin kültüre alınması ve belirli standartlarda üretilmesi ile unutulmaya yüz tutmuş eski bir tarımsal faaliyet alanı yeniden güncelleşecek, yöresel olarak yapılan el sanatları ve özellikle ihraç değeri yüksek olan halı ve kilimlerin boyanmaları için hammadde temin edilmiş olacaktır. İnsan sağlığına zarar veren sentetik boyalarla boyanan yünler yerine, insan sağlığına zarar vermeyen, doğal bitkilerden elde edilen boyalarla boyanan yünlerin günümüzde kullanılması, gerekliliğini ortaya koymaktadır. Doğal boyalarla boyanan materyaller turistik açıdan önemli bir yere sahiptir. Ayrıca uzun yıllardan beri ülkemizde uğraşılan bir ata sanatını yaşatmak, sürdürmek, genişletmek ve bir döviz kaynağı haline getirmek ülkemiz açısından önemlidir.

Son yıllarda, ekolojik denge, biyolojik ayrışma ve doğal boyaların çevreye daha iyi uyumu doğal boyaların gelecekteki önemini arttıracığı düşüncesini oluşturmuştur.

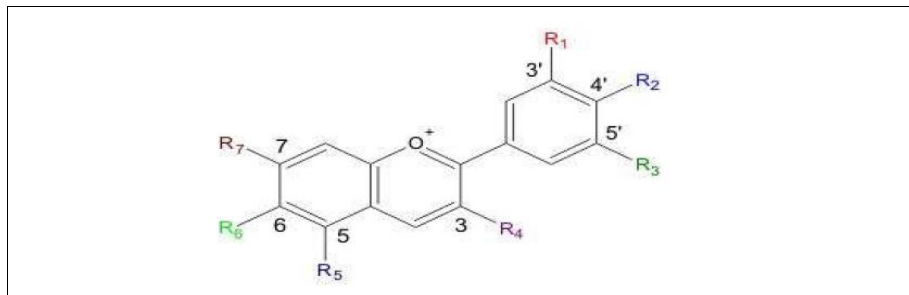
BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Antosiyaninler

Antosiyaninler, bitki aleminde suda çözünebilen en yaygın pigmentlerdir. Antosiyaninler benzer olarak bitki aleminde yaygın olarak bulunan, antioksidant, hepatoprotektant, UV-ışığa karşı koruyucu, antibakteriyel ve antikanserojen gibi çok farklı biyolojik etkiye sahip bileşiklerdir.

Kimyasal açıdan antosiyaninler, 2-fenilbenzopirilium' un (flavilium katyonu) polihidroksi ve polimetoksi türevlerinin glikozitleridir [10]. Şekil 2.1' de flavilium katyonu gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Antosiyaninlerin genel yapısı

Antosiyaninler arasındaki farklılıklar; moleküldeki hidroksil gruplarının sayısı, bu hidroksil gruplarının metilasyon derecesi, moleküle bağlanmış şekerlerin türü, sayısı ve bağlanma şekli ile bu şekerlere bağlanmış alifatik ve aromatik asitlerin yapı ve sayısı gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanmaktadır. Bilinen, doğal antosiyanidinler (aglikonlar)

Çizelge 2.1 ' de verilmiştir. Bunlardan bitkilerde en çok bulunanları; pelargonidin, siyanidin, peonidin, delfinidin, petunidin ve malvinidin'dir [11, 12]. Doğada yaygın olarak bulunan bu altı antosiyanidin, bitkilerin yenilebilir kısımlarındaki dağılımı ise şu şekilde sıralanmaktadır; siyanidin (% 50), pelargonidin (% 12), peonidin (% 12), delfinidin (% 12), petunidin (% 7) ve malvidin (% 7) . Dolayısıyla, doğada en yaygın olarak bulunan antosiyanin; siyanidin-3-glikozittir [13].

Hidroksil grupları, metoksil grupları, şekerler ve açillenmiş şekerler antosiyaninlerin renk yoğunluğu ve stabilitesi üzerine belirgin bir etkiye sahiptirler. Moleküldeki hidroksil grubu sayısı arttıkça, antosiyanidin maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyu büyümekte, ayrıca renk turuncudan maviye dönüşmektedir. Örneğin, % 0.01 HCl-MeOH çözeltisinde pelargonidin λ_{max} değeri 520 nm (turuncu) düzeyindeyken, siyanidin 535 nm (turuncu-kırmızı) ve delfinidin 545 nm (mavi-kırmızı) düzeyindedir. Yani; moleküldeki hidroksil grubu sayısının artışı, rengi daha mavi, metoksil grubu sayısının artışı ise daha kırmızı yapmaktadır [12].

Çizelge 2.1 Antosyaninlerin ana grupları ve R1-R7 yan grupları [12].

Antosiyandin	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Ana renk	E-numarası
Apigeninidin	-H	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH	turuncu	
Aurantininidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH	turuncu	
Capensinidin	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	mavimsi-kırmızı	
Cyanidin	-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	morumsu kırmızı renk	E163a
Delphinidin	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	pembe, mavi	E163b
Europinidin	-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	mavimsi kırmızı	
Hirsutinidin	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OCH ₃	mavimsi-kırmızı	
Luteolinidin	-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH	turuncu	
Pelargonidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	turuncu, somon	E163d
Malvidin	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH	pembe	E163c
Peonidin	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	morumsu kırmızı renk	E163e
Petunidin	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH	pembe	E163f
Pulchellidin	-OH	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	mavimsi-kırmızı	
Rosinidin	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃	kırmızı	
Triacetidin	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	-H	-OH	kırmızı	

E163 kodu ile bilinen antosiyantinler, suda iyi çözünebilen ve birçok meyveye, sebze ve çiçeğe mavi, kırmızı ve mor renklerini veren pigmentlerdir. Üzüm, kırmızı ve siyah frenk üzümü, ahududu, çilek, elma, vişne, kırmızı lahana ve nar içeren kaynak listesi oldukça uzundur. Antosiyantinler, gıdaların parlak kırmızı rengini sağlayan ve birçok gıdanın boyanmasında sentetik boyalara karşı önemli bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Literatür bilgileri antosiyantin ekstraktlarının gıdalara yalnızca çekici renk özellikleri kazandırmadığı, aynı zamanda yüksek antioksidan kapasiteleri nedeniyle sağlık açısından çok yararlı bileşikler olduğunu göstermiştir. Günümüzde doğal renklendiriciler gösterdikleri çeşitli antioksidan, anti-bakteriyel, anti-mikrobiyal vb. aktivitelerden ve bazı sentetik renklendiricilerin insan sağlığı üzerinde olumsuz

etkilerinin gün yüzüne çıkmasından bu yana ilgi odağı haline gelmişlerdir. Ticari doğal pigmentlerin en önemlisi antosiyaninlerdir.

Antosiyaninler, gıdalarda renk vermek amacıyla katkı maddesi olarak kullanılırlar ve genellikle altı antosiyanidinden şekillenirler. E163 kodu ile anılırlar. Bunlar,

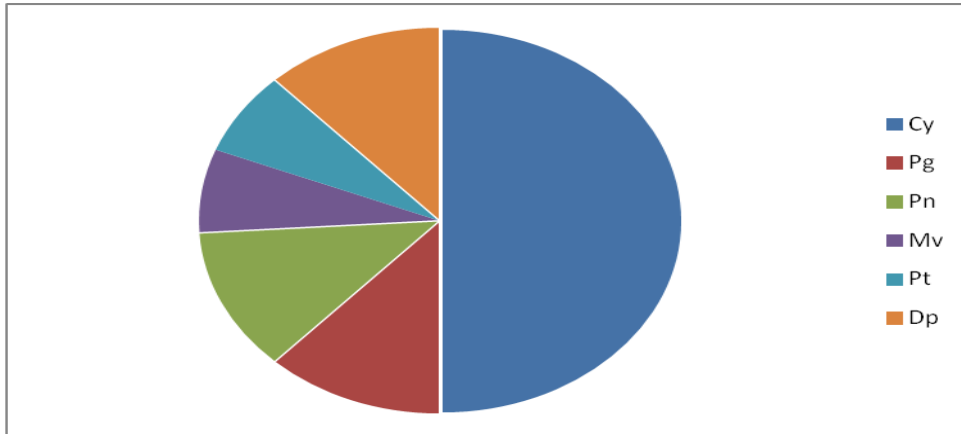
- Siyanidin (E163a)
- Delfinidin (E163b)
- Malvidin (E163c)
- Pelargonidin (E163d)
- Peonidin (E163e)
- Petunidin (E163f)

Doğal gıda boyaları, çeşitli bileşiklerden oluşan oldukça geniş bir gruptur. Bu bileşiklerin her biri farklı çözünürlük ve stabilite özelliklerine sahip olduğundan, gıdalara uygulama şekilleri ve özellikleri farklılık göstermektedir. Gıda boyaları üzerinde durulan özellikler aşağıdaki gibi özetlenmektedir [15].

- Çözünürlük
- Fiziksel form
- pH
- Mikrobiyel kalite
- Diğer bileşenler

Gıda endüstrisinde kullanılan başlıca doğal gıda boyaları, antosiyaninler, betalainler, koşinal (karmin), annatto ve kurkumindir. Klorofiller, karotenoidler, kırmızıbiber ekstraktı (Oleoresin paprika), safran (krosetin) ve karamel de renklendirici olarak kullanılmaktadırlar [16]. Ticari doğal pigmentlerin en önemlisi antosiyaninlerdir. Antosiyaninler, doğada bitkiler aleminde bulunan en yaygın pigment gruplarından birisidir. Meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü pembe, kırmızı, viole, mavi ve mor tonlarındaki çeşitli renklerini veren, suda çözünebilir nitelikteki doğal renk maddeleridir [17]. Hemen hemen her meyvede az veya çok miktarda antosiyanin bulunmaktadır. Bazı tahıl ve baklagillerde, kök ve yumru sebzeler başta olmak üzere çeşitli sebzelerde de antosiyanin bulunmaktadır. Antosiyaninler bir grup bileşiğin adı olup, doğada

400'den fazla antosiyanin bulunduğu tahmin edilmektedir [13]. Antosiyaninler, gıdaların parlak kırmızı rengini sağlayan, bilinen en iyi doğal gıda boyalarıdır ve birçok gıdanın boyanmasında sentetik boyalara karşı önemli bir alternatif olarak kabul edilmektedirler [14, 18]. Ayrıca suda çözünebilir özellikleri, antosiyaninlerin sulu gıda sistemlerine katılmalarını kolaylaştırmaktadır. Antosiyanin ekstraktlarının gıdalara yalnızca çekici renk özellikleri kazandırmadığı, aynı zamanda yüksek antiradikal kapasiteleri nedeniyle, eklendikleri gıdaların oksidatif stabilitelerini de arttırdığı belirlenmiştir [19]. Antosiyaninler en iyi doğal gıda renklendirici olmalarına karşın, saflaştırılmalarının zor olmaları ve kimyasal stabilitelerinin düşük olması nedeniyle renk maddesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmamaktadırlar [11]. Antosiyanin esaslı renk maddelerinin kaynağı meyve ve sebzelerdir. Bu amaçla kullanılan başlıca antosiyanin kaynakları arasında siyah üzüm posası [20], konkord üzümü [21], tatlı patates [22], kırmızı turp [23, 24], kırmızı patates [24], kırmızı lahana [25, 26], kırmızı tatlı patates, mor mısır [27], aronia (*Aronia melanocarpa*) [28], çilek [29], elderberry [30] ve blueberry [31] sayılabilir.



Şekil 2.2 Antosiyaninlerin doğadaki dağılımı

Avrupa Birliğince listelenmiş doğal gıda boyaları Çizelge 2.2 ' de verilmiştir.

Çizelge 2.2 Avrupa Birliğince listelenmiş doğal gıda boyaları

Numara	Renk	Numara	Renk
E100	Kurkumin	E160b	Annatto, biksin, norbiksin
E101	Riboflavin, Riboflavin-5' fosfat	E160c	Kırmızıbiber ekstraktı, kapsantin, kapsorubin
E120	Karminik asit ve karminler	E160c	Likopen
E140	Klorofiller ve klorofilinler	E160e	Beta-Apo-8'-karotenol(C30)
E141	Klorofiller ve klorofilinlerin bakır kompleksleri	E161b	Lutein
E150a	Saf Karamel	E161g	Kanthaksantin
E153	Sebze karbonu	E162	Kırmızı pancar, betanin
E160a	Beta-karoten ve karışık karotenler	E163	Antosyaninler

Antosiyaninler, neredeyse tüm bitki familyalarında bulunur. Esas rengi veren başlıca antosiyaninler; **Siyanidin**, şeftali, kiraz, incir, erik, ahududu, frenküzümü, kırmızı lahanada, **Malvidin** bazı üzümelerde, **Pelargonidin** çilek, kırmızı turp, dut, Peonidin bataklık kızılıçığında, **Petunidin** Amerikan üzümünde bulunur.

Çizelge 2.3 Bazı yenilebilir bitkilerin antosiyanin içeriği

Gıda maddesi	100 g gıdadaki antosiyaninin mg cinsinden değeri
patlıcan	750
black currant	130-400
Böğürtlen	83-326
Çayüzümü	25-497
Kiraz	350-400
Chokeberry	200-1000
Yabanmersini	60-200
Elderberry	450
Portakal	~200
Turp	11-60
Ahududu	10-60
frenk üzümü	80-420
kırmızı üzüm	30-750
kırmızı soğan	7-21
kırmızı şarap	24-35
Çilek	15-35

Bu grup içinde önemli bir yer tutan antosiyanin pigmentleri suda çözünür olması sebebiyle gıdalarda kullanıma uygundur. Antosiyaninlerin kullanımları için pH'ın düşük olması ve bulanıklığın olmaması gerekir. Belli oranlarda antosiyanin içeren gıda maddelerini şöyle gruplandırabiliriz [32];

1.Alkolsüz içecekler: Antosiyanin renk maddelerinin temel kullanım alanları alkolsüz içkilendir.

2.Meyve konserveleri: Antosiyaninler, meyve preparatlarında, marmelatlarında kullanılır. Meyvenin kalitesi ve özelliği önemlidir

3.Şekerlemeler: Asit kullanılarak yüksek sıcaklıklarda kaynatılan şekerlemeler ve pektin jelleri, kırmızı rengin gözlemlendiği antosiyaninler için ideal uygulamalardır.

4.Günlük ürünler" meyveli süt ve yoğurtlar gibi"

5.Dondurulmuş gıdalar

6.Toz karışımları" suyla seyreltilen toz içecekler gibi"

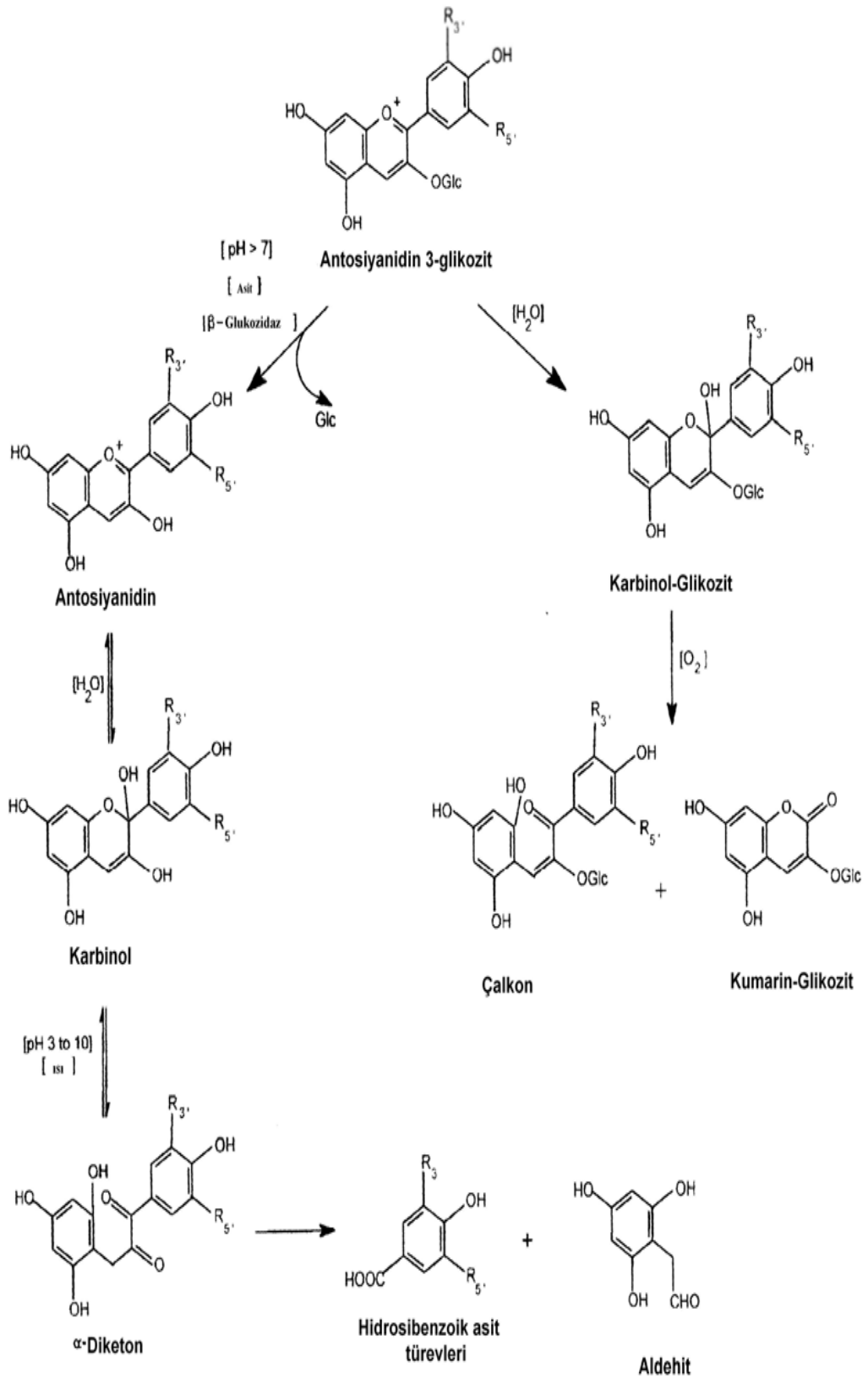
7.Alkollü içecekler " özellikle şarap üretimi": Alkollü içecek ve sirke içeren ürünlerin de antosiyaninlerle renklendirilmesi mümkündür.

8.Kuru karışımlar: Asidik tatlı karışım çeşitlerinde ve püskürtmeli kurutucuyla kurutulmuş toz içeceklerin renklendirilmesinde antosiyaninler kullanılır.

9.Kozmetik sektöründe: Cilt bakım ve saç bakım ürünleri.

2.2 Antosiyaninlerin Renklerini ve Kararlılıklarını Etkileyen Faktörler

Birçok gıda bileşeninde gözlemlendiği gibi antosiyaninler çeşitli faktörlerin etkisiyle parçalanarak Şekil 2.6' da kendilerine özgü renklerini kaybetmekte ve hatta bazen istenmeyen renkler oluşturmaktadırlar. Gıda maddesi çekiciliğini dolayısı ile ticari değerini önemli ölçüde kaybetmektedir. Antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan en önemli faktör sıcaklık-süre ilişkilisidir. Bu nedenle hangi süre ile olursa olsun uygulanan her ısıtma, antosiyaninlerde mutlaka parçalanmaya neden olmaktadır. Bu tahribat depolamada da sıcaklık-süre etkisiyle devam etmektedir [15].



Şekil 2.3 Antosiyanidin degradasyon mekanizması [33]

Antosiyaninlerin kararlılıkları ve renkleri pH, sıcaklık, oksijen ve hidrojen peroksit, ışık, enzimler, şekerler ve şekerlerin bozunma ürünleri ve SO₂ gibi faktörlerden etkilenir.

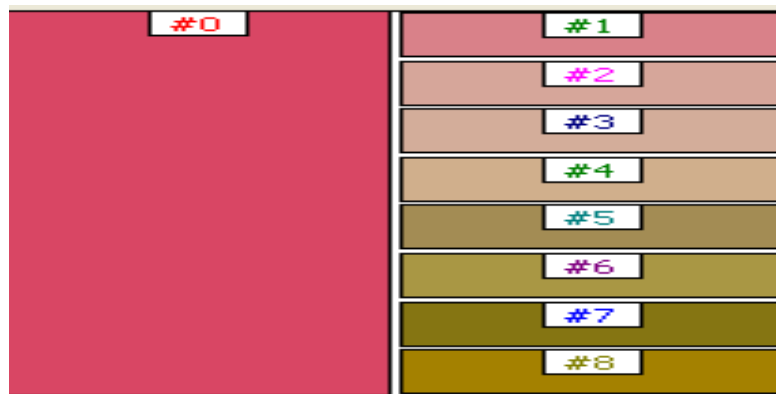
2.2.1 pH

Antosiyaninler kimyasal yapılarında yer alan gruptan dolayı pH'ya karşı oldukça duyarlı bileşikler olduğu ve buna bağlı olarak pH'nın antosiyaninlerin rengi, şiddeti, stabilitesi ve yapısı üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir. Nitekim antosiyaninlerin çoğu, sulu ortamlarda pH indikatörü gibi davranmaktadırlar. Ortam pH 2'nin altına düşüncü, antosiyanin kırmızı renkli flavilium katyonu formunda bulunmaktadır. Buna karşın pH yükseldikçe, hızlı bir proton kaybı meydana gelerek kırmızı veya mavi renkli kuinidal formu oluşmaktadır. pH sırasıyla 1'den 14'e doğru yükselirken, antosiyaninlerin rengi kırmızıdan mavi – kırmızıya, mora, maviye, yeşilden sarıya doğru değişim gösterir. Bunun doğal sonucu olarak antosiyaninler yalnızca asidik yani pH'ın 4'ün altında olduğu şartlarda kullanılabilirler. Renk tonu sadece pH'ın etkisiyle değişmez ancak renk şiddeti pH'ın 1 civarında olduğu durumlarda en yüksek seviyededir ve şiddet pH yükselmesiyle düşer [32].

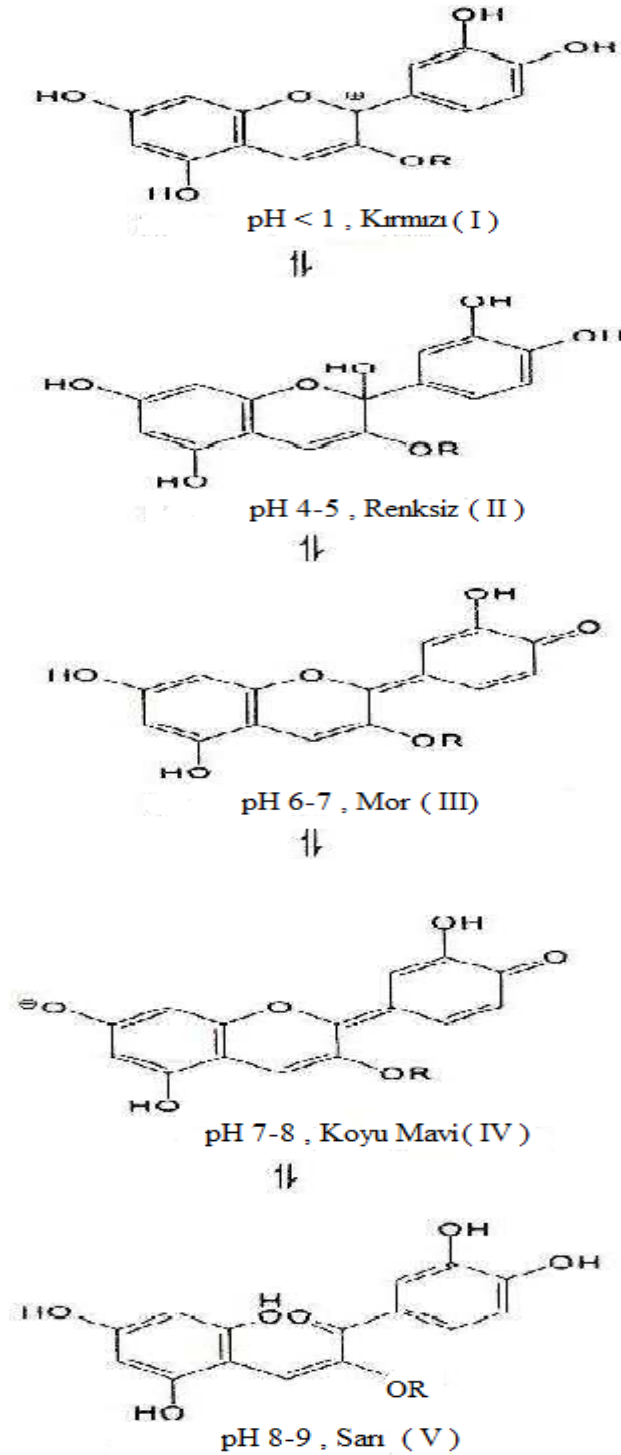
Çizelge 2.4 Antosiyaninlerin renklerinin pH'a göre değişimi

pH	Renk
1	Kırmızı
2	Pembe – Kırmızı
3	Pembe
4	Koyu pembe – Mor
5	Mor
6	Mor – Mavi
7	Mavi
8	Mavi – Yeşil
9	Yeşil
10	Koyu yeşil – Sarımsı
11	Açık yeşil – Sarı
12	Sarı

Çizelge 2.5 Antosiyaninlerin pH' a göre renk değişimleri

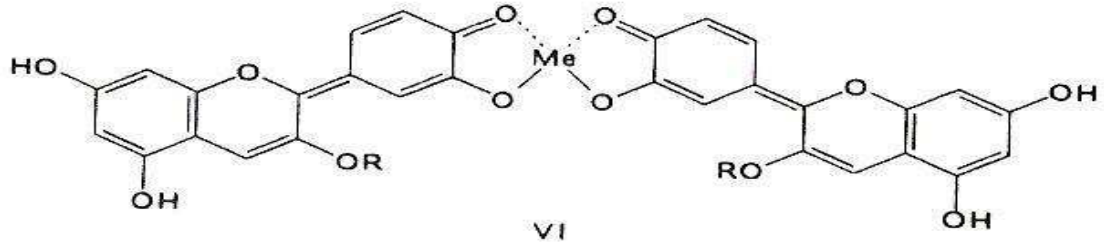


Ortamın fizikokimyasal özelliklerinden antosiyaninlerin renk tonu ve yoğunluğu üzerine en etkili olanı pH'dır [34]. Bir antosiyaninin renginin ortam pH'ına göre değişimi Şekil 2.7' de görülmektedir.



Şekil 2.4 Antosiyaninlerin yapısının pH'a göre değişimi

Flavilium kasyonu (I) çok düşük pH'larda stabildir. pH artışıyla renksiz karbinol (chromenol) yapısına (II) dönüşmektedir. Kuinoidal yapısı (III) ve anhidro bazı (IV) pH 6-8'de rengi yoğunlaşmaktadır. pH 8-9'da, IV' de görülen yapı halka açılmasıyla sarı kalkon'a dönüşmektedir. Daha yüksek pH derecelerinde renk, multivalent metal iyonları (Al^{3+} , Fe^{3+}) varlığında kararlı olmaktadır. Bu kompleksler (VI) koyu mavi renktedir [32, 34].



Şekil 2.5 Antosiyanidin yüksek pH'da metal iyonlarıyla (Al^{3+} , Fe^{3+}) oluşturdukları kompleks yapı

2.2.2 Sıcaklık

Antosiyaninlerin kimyasal reaksiyonlardaki kararlılıkları ve bozunma oranları sıcaklıktan bir miktar etkilenmektedir. Genel olarak yapısal özellikler, pH kararlılığında ve termal (ısı) kararlılıkta artışa yol açar [35]. Antosiyaninlerin bozunması anaerobik koşullarda pH'tan bağımsızdır [36]. Yapılan çalışmalar sonucunda, antosiyanin içeren gıdaların üretiminde yüksek sıcaklıkta kısa zamanlı prosesler tavsiye edilmektedir çünkü bu yolla en yüksek seviyede pigment tutumunu sağlanabilir. Kısa zaman antosiyaninlerde kayda değer bir bozunmayı önlediği gibi, antosiyaninlerin renksiz türlere dönüşümüne de engel olur [37, 38].

Genelde antosiyaninler, ışığa ve 120°C sıcaklığa kadar dayanıklıdır. Yüksek sıcaklıklarda depolanan örneklerde, kısa sürede çok hızlı bir antosiyanin kaybı meydana gelirken, depolama sıcaklığı düştükçe antosiyaninlerin stabilitesi artmaktadır. Nitekim kan portakalı sularının 15 °C, 24 °C ve 35 °C 'de depolanması boyunca 10 °C 'lik sıcaklık artışının, antosiyanin bozunma hızını 2 kat arttırdığı saptanmıştır.

Withy ve ark., kırmızı ahududu suyu konsantrelerinde antosiyanin kaybının depolama sıcaklığına bağlı olduğunu göstermişlerdir. 20 °C 'de 3 ay süreyle depolanan konsantrelerin antosiyanin içeriğinde % 80,4 kayıp olduğu saptanırken, -20°C'de depolamada kayıp oranı yalnızca % 3,1 düzeyinde kalmıştır [39].

Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyunda antosiyaninlerin bozunmasını inceleyen Marti ve ark. ise, 25 °C'de 2 aylık depolama sonunda nar suyundaki antosiyaninlerin % 99'unun parçalandığını, buna karşın 50 °C'de 5 aylık depolama sonunda antosiyanin içeriğinde % 80 ' lik bir kayıp olduğunu saptamışlardır.

Genel olarak sıcaklık düştükçe antosiyaninlerin stabilitesi artmasına rağmen, yapılan bazı araştırmalar sonucunda dondurma ve dondurarak depolama sırasında da antosiyanin kaybının olduğu saptanmıştır [40].

Bing kirazlarının -23 °C'de 3 aylık depolanması sonunda toplam antosiyanin içeriğinin % 66'sının, 6 ay sonunda ise % 87 'sinin parçalandığı saptanmıştır. Diğer yandan, aynı araştırmada -70°C'de depolanan örneklerde, 6 ay sonunda ise % 12 'sinin parçalandığı belirlenmiştir.

Dondurularak saklanan örneklerde gerçekleşen antosiyanin kaybının, meyvenin hem et hem de kabuk kısmında aktif halde bulunan enzimlerle, özellikle polifenol oksidazlarla ilişkili olduğu saptanmıştır [41].

2.2.3 Oksijen ve Hidrojen Peroksit

Oksijen, antosiyaninlerin doğrudan oksidasyon mekanizmalarıyla bozunmalarına veya dolaylı oksidasyonla yani reaksiyon ortamında yükseltgenmiş ürünlerle birleşerek bozunmalarına neden olur. Askorbik asit ve oksijen antosiyaninlerin bozunmasında benzer şekilde hareket ederler [42]. En yüksek derecede pigment kaybı yüksek konsantrasyonlarda oksijen ve askorbik asit varlığında gerçekleşir. Askorbik asit, antosiyaninlerde H₂O₂ ile dolaylı oksidasyon sonucu yıkıma neden olur. H₂O₂ ilavesi ile antosiyanin içeren meyve sularında yoğun olarak renk azalması gözlenir. Yükseltgenme ürünleri, bozunma ve/veya polimerizasyon reaksiyonlarına katılabilir. Meyve sularında yarı asetaller veya kalkon türlerinin doğrudan oksidasyonu sonucu çökme ve bulanıklık gözlenebilir [43].

2.2.4 Işık

Antosiyaninler genel olarak UV ve görünür bölge ışınlarına ya da diğer iyonizasyon kaynaklarına maruz kaldıklarında kararlılıklarını koruyamazlar. Işık termal bozunma altındaki antosiyanin seviyesinde bir artışa neden olur. Foto-oksidasyon ile antosiyaninler ısıl bozunma ile oluşan ürünlerin benzerlerini verirler [44, 45].

2.2.5 SO₂

SO₂, antosiyaninlerle reaksiyona girerek renksiz bir katılma ürünü verir. Bu reaksiyon geri dönüşümlü bir reaksiyondur. Isı altında SO₂ açığa çıkarak ürün olarak antosiyaninler kalır ve renk yeniden şekillenir. Sülfide olmuş meyvenin kaynatılarak konservelenmesinde bu yöntem esas alınmıştır [32].

2.2.6 Enzimler

Bitki dokularında bulunan bazı enzimler, antosiyaninlerin bozunmasına ve renk kayıplarına neden olabilirler [46].

2.2.7 Şekerler ve Şekerlerin Bozunma Ürünleri

Meyve içeren ürünlerin üretimi esnasında yüksek konsantrasyonlu şeker kullanımı (örneğin > % 20), azalan su aktivitesiyle antosiyanin kromoforları üzerinde kapsamlı bir koruma etkisi sağlar. Su aktivitesinin azalması, antosiyanin moleküllerinin bozunma oranını düşürür. Antosiyanin kromoforlarının hidratasyonu istenmeyen renksiz türlerin meydana gelmesine sebep olur. Bu sebeple kurutulmuş antosiyaninler toz halinde, oda sıcaklığında birkaç yıl saklanabilirler [47, 48].

Bir eşik seviyesinin üstünde (100 ppm gibi) şeker ve şekerin bozunma ürünleri antosiyaninlerdeki bozunmayı hızlandırırlar; fruktoz, laktoz ve sorboz; glukoz, sükroz veya maltoz 'dan daha yüksek oranda bozunmaya neden olurlar [49].

2.3 Antosiyaninlerin Spektroskopik Özellikleri

Antosiyaninler, UV ışıkta flouresans özellik göstermektedirler. Ayrıca fenolik yapıları nedeniyle de NH₃ ile renk değiştirirler. Bu özelliklerinden dolayı, ince tabaka ve kağıt

kromatografisinde UV ışık (254 ve 366) ile incelenmektedirler. Hidroksil gruplarının bağlı oldukları yerlere göre UV ışıkta, NH₃ buharında ve difenil borik asit-β-aminoesterler (NA) belirteciyle verdikleri renkler değişmektedir. UV spektroskopisi, antosiyanin bileşiklerin yapısı hakkında önemli bilgiler veren bir yöntemdir.

Bileşiğin metanoldeki çözeltisine ayrı ayrı NaOMe, susuz AlCl₃, AlCl₃/HCl, susuz NaOAc ve NaOAc/H₃BO₃ in metanoldeki çözeltilerinden az miktarda ilave edilerek alınan spektrumlarda gözlenen kaymalar, piklerin şiddeti ve şekilleri arasındaki farklar flavonoid bileşiğinin ana iskeleti ve moleküldeki hidroksil gruplarının yerleri hakkında fikir vermektedir.

UV spektrumunda flavonoid bileşikler biri uzun diğeri kısa dalga boyunda olmak üzere iki absorpsiyon bantı vermektedir. Uzun dalga boyunda olan, flavonoidin B halkasının (Sinnamoil) absorpsiyonu ile ilgilidir ve Bant I adını almaktadır. Kısa dalga boyunda olan ise A halkasının (Benzoil grubu) absorpsiyonu ile ilişkilidir ve Bant II adını almaktadır.

Çizelge 2.6 Flavonoidlerin UV spektroskopisindeki absorpsiyon bantları

	Bant I (nm)	Bant II (nm)
Flavon	304 – 350	250 - 270
Flavonol	352 – 385	250 - 270
Flavonon	310 – 330	275 - 290
Kalkon	360 – 390	240 - 260
Auron	390 – 430	240 – 260
Antosiyanidin	475 – 560	275 – 280
İzoflavon	300 – 340	245 – 270

2.4 Antosiyaninlerin Ekstraksiyonu

Antosiyaninlerin çeşitli bitkisel kaynaklardan ekstraksiyonunda kullanılacak yöntemler, çoğunlukla ekstraksiyonun amacına ve antosiyaninlerin yapısına bağlı olmaktadır. Ekstraksiyon işlemleri için antosiyaninlerin yapısını ve stabilitesini etkileyen faktörlerin bilinmesi gerekmektedir.

Ekstrakte edilen pigmentler kalitatif veya kantitatif olarak hemen analiz edilecekse yöntem, pigmentleri mümkün olduğunca doğal durumlarına yakın tutacak şekilde seçilmelidir. Ekstrakte edilen pigmentlerin renklendirici veya gıda bileşeni olarak kullanılması durumunda maksimum pigment verimi, boyama kuvveti ve stabilite gibi faktörler de önem kazanmaktadır. Ayrıca ekstraksiyon ve temizleme işlemlerinin çok kompleks olmaması, zaman alıcı ve pahalı olmaması gerekmektedir [50].

Antosiyaninleri doğala yakın elde etmek için pek çok araştırmacı tarafından başlangıç pigment ekstraksiyonunda nötral çözücülerin kullanımı önerilmiştir. Ayrıca zayıf organik asitlerinde ekstraksiyon çözücülerinde kullanıldığı bildirilmektedir [50].

Antosiyaninlerin çeşitli bitkisel materyallerden ekstraksiyonu üzerine günümüze kadar pek çok çalışma yapılmıştır.

Kızılcığa benzer bir meyveden (*Vaccinium oxycoccus*) antosiyaninleri ekstrakte etmek amacıyla yapılan bir çalışmada metanol, su, aseton, etilen, glikol, metil etil keton ve izopropanol kullanılmış ve maksimum renk maddesi ekstraksiyonunun % 0.03 oranında HCl içeren metanol ile sağlandığı ve HCl'nin asetik asitten daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Elde edilen ekstraktı saflaştırmak amacıyla da iyon değiştirici reçine kullanılmıştır [51].

Bir çeşit erik meyvesinin (*Prunus cerasifera*) kabuğu ve yapraklarının antosiyanin kaynağı olarak kullanılabilme durumunun araştırıldığı bir çalışmada, siyanidin ve peonidin-3-glikozit ve peonidin-3-rutinozitleri içeren erik antosiyaninleri, asitlendirilmiş etanol kullanılarak ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstraktın organoleptik açıdan kabul edilebilir özelliklere sahip olduğu ifade edilmiştir [52].

Metiever ve ark. (1980) antosiyaninlerin üzüm posasından ekstraksiyonunda kullanılan çözücü ve asidin ekstraksiyon derecesi ve oranı üzerine etkisini incelemiş, çözücü

olarak etanol, metanol ve su karışımı; asit olarak HCl, sitrik asit, tartarik asit, fumarik asit ve propiyonik asit kullanmış ve kullanılan ekstraksiyon çözücülerini arasında en iyi ekstraktın metanol olduğu bildirmiştir. % 10 HCl içeren metanolün etanolden % 20 ve sudan % 73 oranında daha etkili olduğu saptanmıştır. Metanol ekstraktındaki en yüksek pigment konsantrasyonuna 48 saat sonunda ulaşıldığı bildirilmiştir. HCl'in oldukça korozif bir etkiye sahip olmasından dolayı çalışmada ekstraksiyon çözücüsünde asit olarak organik asitlerde denenmiştir. Organik asitle yapılan denemelerden elde edilen bulgulara göre sitrik asidin metanol ile ve asetik asidin su ile birlikte kullanıldığında daha etkili olduğu rapor edilmiştir. Pigment analizi Fuleki ve Francis (1968)'in uyguladığı yöntemle göre pH:1 ve pH: 4.5'de, pH diferansiyel yöntem kullanılarak yapılmış ve bu çalışmada 100 g üzüm posasında 85 mg antosiyanin içeriği saptanmıştır [53].

Antosiyaninlerin özelliklerinin araştırılması üzerine yapılan bir çalışma da Takeoka ve ark. (2007) tarafından siyah fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) ile yapılmıştır. Antosiyaninler % 0.5 HCl içeren metanol ile ekstrakte edilmiş, toplam antosiyanin içeriği 537 nm'deki maksimum absorban değerlerinden hesaplanmıştır. Siyah fasulyenin pigment içeriği delfinidin-3-glikozit cinsinden 213 mg/100 g olarak saptanmıştır. Antosiyaninlerin özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yüksek basınç sıvı kromatografisi, kütle spektrofotometrisi ve spektrofotometrik analizler kullanılmış ve siyah fasulyede başlıca antosiyaninler; delfinidin-3-glikozit (%56), petunidin-3-glikozit (%26) ve malvidin-3-glikozit (%18) olarak tanımlanmıştır [54].

Antosiyaninler, nötral veya alkali ortamda kararlı olmadıklarından asidik çözeltiler kullanılarak ekstrakte edilirler. Antosiyaninlerin ekstraksiyonunda çoğunlukla düşük kaynama noktalı alkollerin seyreltik mineral asitli (\leq % 1 HCl gibi) çözeltileri kullanılır [55]. Bu amaçla genellikle metanol tercih edilir ancak gıdalarda toksitesinden dolayı metanol yerine etanol kullanılır [56]. HCl ile asitlendirme sonucu, düşük pH'ın yanı sıra basit antosiyaninlerden flavilyum klorür tuzları oluşacak bir aralık sağlanmış olur. HCl gibi mineral bir asidin kullanımı kompleks pigmentlerin ve ko-pigmentlerin doğal formlarının değişimine, sonraki konsantrasyonlarda ise kararsız açıl ve şeker kalıntılarının kaybına sebep olur [57]. Başlangıç pigment ekstraksiyonu için, %60 metanol, n-bütanol, etilen glikol, propilen glikol, soğuk aseton, aseton/metanol/su

karışımı kullanılabilir [58]. Buna ek olarak kompleks poliaçillenmiş antosiyaninler için, zayıf organik asitler; özellikle formik asit, ayrıca asetik asit, sitrik asit ve tartarik asit veya daha güçlü ve daha uçucu asitler; trifloroasetik asit ekstraksiyon çözeltisi olarak kullanılmaktadır. Ekstraksiyon sırasında pigment bozunumunu en düşük seviyede tutmak için 30 °C'nin altında çalışılmalıdır [56].

Antosiyaninler için en iyi kaynaklardan biri olan üzüm küspesi'nin kullanıldığı Timberlake ve Bridle 'in çalışmalarında, ekstrakte edici çözücü olarak % 0,1-1,0 oranında tartarik asit içeren metanol kullanılmış, sonra tartarik asidin fazlası %40'lık KOH çözeltisi kullanılarak çöktürülmüştür. Genellikle fenolik madde içeren birçok bileşenin metanol ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin diğer çözücü sistemlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür [51].

Antosiyaninlerin ekstraksiyonunda Lee ve Wrolstad, Chaovanalikit ve Wrolstad ve Skrede, Wrolstad ve Durst çalışmaları baz alınmış ve bir ekstraksiyon yöntemi ortaya konmuştur. Bu amaçla 10 g incir örneği plastik örnek kabına $\pm 0,0001$ hassasiyetle tartılmış ve üzerine 20 mL % 100 aseton eklenmiştir. 2 dakika boyunca Waring Blender ile orta hızda (3. kademedede) homojenize edilmiştir. Parçalanmış meyve kitlesi buchner hunisi kullanılarak whatman 1 nolu filtre kullanılarak vakum altında filtre edilmiştir. Filtre keki tekrardan bu sefer 2. kez 20 mL % 70 aseton ile yine waring blender ile 2 dakika homojenize edilmiş ve yine 10 mL yeni % 70 aseton ile yıkanarak huniye aktarılmıştır. Böylece 2. ekstraksiyon ile filtre üzerindeki kalıntı tamamen renksiz kılınmış tüm antosiyanin içeriği çözücüye geçirilmiştir. Toplanan filtratlar ayırma hunisine aktarılmış ve üzerine 100 mL kloroform eklenip, 1 dakika boyunca karıştırılmıştır. Bu karışım 1 gece +4 °C'de bekletilmiş ve keskin bir faz ayrımı sağlanmıştır. Antosiyaninleri içeren renkli üst faz rotary balonuna alınmış, rotary evaporator (Heidolph, Laborota, Schwabach,2003) yardımıyla 40 °C'de vakum altında aseton uçurulmuş ve asitlendirilmiş su (% 0,01 HCl) 10 mL'ye tamamlanmıştır [59]. Antosiyaninlerin ekstraksiyon işleminin aşamaları Şekil 2.11 ' de gösterilmiştir [47].

10 g incir meyvesi



20 mL aseton (%100) ekstraksiyon



Filtrasyon (whatman 1)



Kalıntı % 70 aseton (20 mL) 2. ekstraksiyon



Filtrat toplama (ayırma hunisi)



100 mL kloroform ekleme



karıştırma



+4°C de 1 gece bekletme



renkli faz ayrımı



evaporasyon



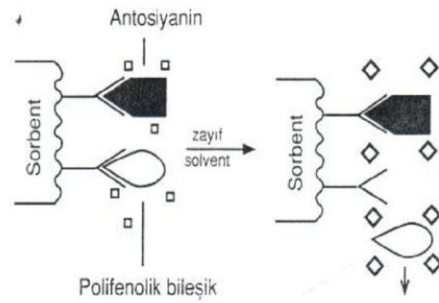
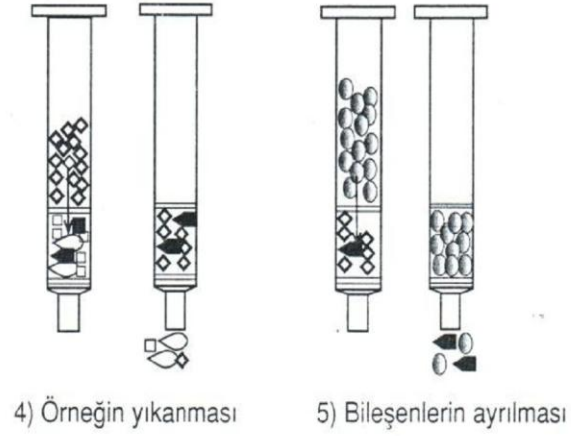
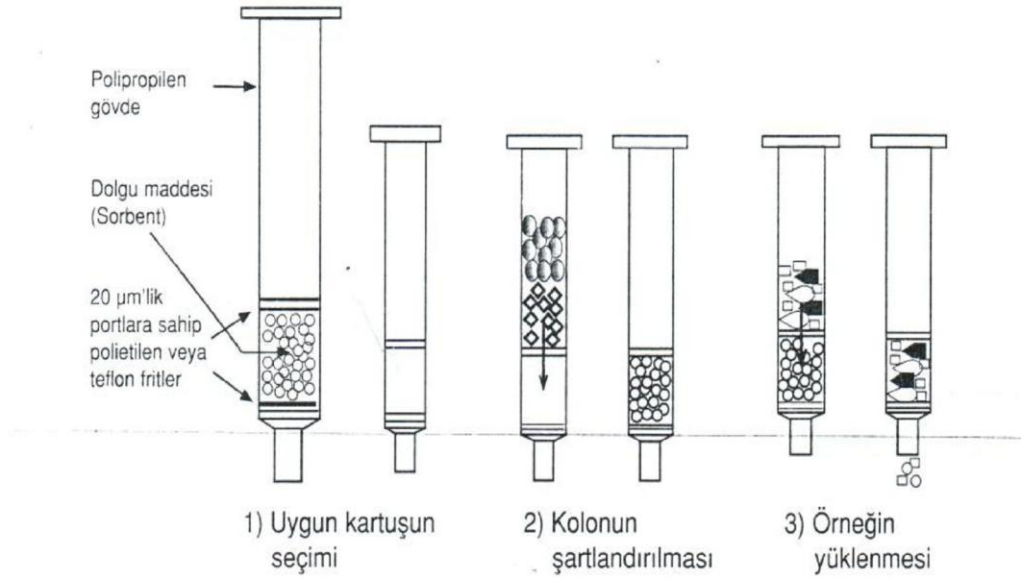
hacime tamamlama (10 mL, % 0,01 HCl)

Şekil 2.6 Antosiyaninlerin ekstraksiyonu

2.5 Antosiyaninlerin Saflaştırılması

Antosiyanin içeren ekstraktların saflaştırılmasında, çözücü sistemlerin genel olarak hiçbiri antosiyaninlere özgü bir ekstraksiyon sağlamaz. Bu çözeltiler, antosiyaninlerin yanı sıra pigment stabilitesi ve analizini etkileyebilen başka maddeleri de 'polifenolik maddeler, pektin,... gibi' ekstrakte ederler. Böyle maddeler genellikle kromatografik yöntemlerle sistemden uzaklaştırılırlar. Saflaştırma amacıyla ayrıca Sephadex G-25 veya LH-20, oktadesilsilan, zayıf anyon değiştirici reçine (örneğin Amberlite CG-50), polietilen glikol, dimetilakrilat ve selüloz tipi reçineler kullanılabilir [60, 61, 62, 63]. Ekstrakt içinde önemli oranda lipid, klorofil veya istenmeyen polifenoller varsa bu materyeller petrol eteri, etil eter veya etil asetat ile yıkanarak giderilir. Analitik amaçlarla antosiyaninlerin saflaştırılmalarında çoğunlukla kağıt ve ince tabaka kromatografisi yöntemleri kullanılırdı [56]. Ancak daha hızlı ve etkili bir ayırışım için bu yöntemlerin yerini yakın zamanda ters faz HPLC yöntemi almıştir. Bu teknik herhangi bir bozunmaya sebep olmadığı için elde edilen pikler kolaylıkla diğer analizler için saklanabilmektedir [64].

HPLC'de analizi interfere edecek diğer unsurları elimine etmek için bir saflaştırma basamağına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla tek kullanımlı C₁₈ Sep-Pak (Waters, Vac 1cc-100 mg) katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşları kullanılmıştir. Saflaştırma işleminin 5 temel basamaktan oluşmaktadır.



○ = matris ◊ = fenolik bileşik ◼ = antosiyenin □, ◻ : diğer bileşikler

◇ = solvent A (etil asetat) ○ = solvent B (MeOH)

Şekil 2.7 Katı faz ekstraksiyonu [65]

Burada birinci basamak uygun Sep-Pak kartuşun seçimi olmakla beraber ters faz katı faz ekstraksiyonu yapılacağından nonpolar sorbent ile doldurulmuş Waters marka C₁₈ Vac-100 mg tek kullanımlı kartuşlar tercih edilmiştir. Daha sonra ikinci basamakta kartuş sırasıyla 5 mL etil asetat, 5 mL MeOH (%0,01 HCl) ve 2 mL su (%0,01 HCl) ile şartlandırılmıştır. Örneği yüklemeye hazır hale gelen kartuşa 1 mL ekstrakt yüklenmiş ve 4. basamakta 2 mL su (%0,01 HCl) ile istenmeyen bileşikler (organik asitler ve şekerler) uzaklaştırılırken, antosiyaninler, polifenoller ve flavonoidler kartuş üzerinde tutulmuştur. Arzu edilen bileşikler tutunmuş halde iken kartuş azot altında 3 dakika kurutulmuş ve daha sonra son aşamada 5 mL etil asetat ile polifenoller ve 2 mL MeOH (%0,01 HCl) ile antosiyaninler ayrı ayrı kartuştan alınmıştır. Saflaştırılan polifenol ve antosiyanin ekstraktları azot altında kutulmuş ve % 0,01 su (%0,01 HCL) ile çözündürülmüştür. Bu ekstraktlar HPLC'ye enjekte edilmeden önce 0,45 µm (Millipore, MA, A.B.D.) filtreden filtre edilmiş ve analiz anına kadar -25°C'de depolanmıştır.

2.6 Antosiyaninlerin Kalitatif ve Kantitatif Analizleri

2.6.1 Antosiyaninlerin Kalitatif Analizi

Gelişmiş kromatografik ve spektroskopik yöntemlerle antosiyaninlerin hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanmaları mümkündür. Bununla birlikte, kromatografik ve spektroskopik yöntemler kesin tanımlama için tek başlarına yeterli değildirler. Yapısal karakterizasyon için genellikle aglikonların, şeker kısımlarının ve açıl gruplarının tanımlanması ile şeker ve açıl gruplarının bağlanma pozisyonlarının bilinmesi gerekir. Günümüzde bu amaçla infra-red (IR) [66], Raman Rezonansı, Ultraviolet/Visible (UV/VIS) [67], Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) [68] ve Kütle Spektrometresi (MS) [69] gibi farklı spektroskopik yöntemlerin kombinasyonları kullanılmaktadır. Kullanılabilir az miktarda materyal mevcut ise antosiyanin yapılarının aydınlanması için MS teknikleri tercih edilebilir. Antosiyaninlerin yapısal özelliklerinin tanımlanmasında hidroliz teknikleri halen önemini korumaktadır. Bu yöntem, HPLC ve gaz-sıvı kromatografisi (GLC) ile birlikte kullanıldığında çabuk ve kesin sonuç verebilmektedir [70].

Antosiyanin ve aglikonların tanımlanmasında daha geniş bilgi edinmek için sulu çözeltide veya kağıt da türetiriz. Renk turuncudan kırmızıya ve maviden kırmızıya

dönerken yapı ise pelargonidin, siyanidin, peonidin, malvidin, petunidin ve delphinidin doğru şekillenir. Ayrıca UV ışık altında C-5 pozisyonundan süstitue olmuş antosiyaninler floresans özellik gösterirler [71]. Asidik çözeltide antosiyaninler ve aglikonları iki karakteristik maksimum absorpsiyon sergilerler, 450-550 nm arasında görünür bölgede büyük bir pik ve 275 nm'de UV bölgede küçük bir pik verirler. En bilinen antosiyanidinlerin ve pek çok antosiyaninin, %0,1'lik HCl-metanol'deki spektral karakteristikleri Harbone tarafından yayınlanmıştır, bunlar diğer yöntemlerle birlikte kullanılarak tanınmaya yardımcı olurlar [67].

2.6.2 Antosiyaninlerin Kantitatif Analizleri

Antosiyaninlerin kantitatif analizleri aşağıda belirtildiği gibi yapılmaktadır:

1. Toplam antosiyanin konsantrasyonunun, çok az miktarda girişim yapan madde içeren ya da girişim yapan bu maddeleri hiç içermeyen sistemlerde tanımlanması.
2. Toplam antosiyanin konsantrasyonunun girişim yapan maddeler içeren sistemlerde tanımlanması.
3. Tekil pigmentlerin kantitatif tayini.

2.7 Antosiyaninlerle İlgili Literatür Özetleri

2.7.1 Antosiyaninlerin Tayini İle İlgili Literatür Özetleri

Taze bitki ekstraktlarında ya da meyve sularında genellikle, antosiyaninlerin maksimum absorpsiyon yaptıkları bölgede '465-550 nm' girişim yapan bileşikler az miktarda bulunur. Toplam antosiyanin konsantrasyonu, asitlendirilmiş alkolle seyreltilen örneğin uygun dalga boyunda absorbansının ölçülmesiyle ifade edilebilir. Adams; absorbans ölçümlerinin en yüksek düzeyde renk oluşumunu sağlayacak, mümkün olan en düşük pH'ta yapılmasını önermiştir. Toplam antosiyanin miktarının karşılaştırmalı ölçümleri, pH 1'de örnek ağırlıklı olarak 3-glikozitler içerirken, pH 1'in altındaki değerlerde ağırlıklı olarak 3,5-diglikozit varlığında yapılabileceğini önermiştir [36].

Karışık antosiyanin içeren örneklerde, düşük pH değerindeki absorbans ölçümleri toplam antosiyanin konsantrasyonu ile orantılıdır. Karışım içindeki antosiyaninlerin her birinin konsantrasyonu, örnekteki her bir pigmentin oranının önceden bilinmesi ile

hesaplanabilir. Mutlak konsantrasyonların, absorptivite­lerin ağırlıklı ortalaması kullanılarak ve belli dalga boylarındaki absorpsiyon ölçümlerinin ağırlıklı ortalamaları kullanılarak hesaplanabileceğini öne sürmüşlerdir [72]. Daha doğru hesaplamalar, içerisinde tek bir pigment içeren örneklerden elde edilir. Çok sayıda antosiyaninin molar ekstinksiyon katsayıları 'absorptivite­leri' yayınlanmıştır [56]. Tanımlama için molar absorptivite­lerden yararlanılacaksa, absorpsiyon ölçümlerinde aynı solventle ve aynı pH'ta çalışmak gerekmektedir. Saflaştırılmamış pigment ekstraktları, düşük pH'ta antosiyaninlerin maksimum absorpsiyon yaptıkları bölgede absorpsiyon yapan bileşikler içerebilirler. Girişim yapan maddeler içeren böyle örneklerde toplam antosiyanin konsantrasyonunu tanımlamak için diferansiyel veya subtraktif 'çıkarma' absorpsiyon yöntemleri kullanılacağı öne sürülmüştür [73].

Subtraktif 'çıkarma' yönteminde, örneğin görünür bölgedeki maksimum absorpsiyonuna gereksinim duyulur. Daha sonra ağartma yapılarak şahit okuma gerçekleştirilir. Bu değerden antosiyanin absorpsiyonu çıkarılarak antosiyanin miktarına orantılı bir absorpsiyon değeri elde edilir. Bu absorpsiyon değeri, standart pigmentler kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi kullanılarak antosiyanin konsantrasyonuna çevrilebilir. En çok kullanılan ağartıcı ajanlar sodyum sülfid ve hidrojen peroksittir. Subtraktif yöntemde kullanılan ağartıcı ajanlar, bazı girişim yapan maddelerin absorpsiyonlarını düşürebilirler ve toplam pigment konsantrasyonunun yanlış hesaplanmasına neden olabilirler. Bu nedenle subtraktif yöntem pek çok bilim adamı tarafından eleştirilmektedir [56, 73].

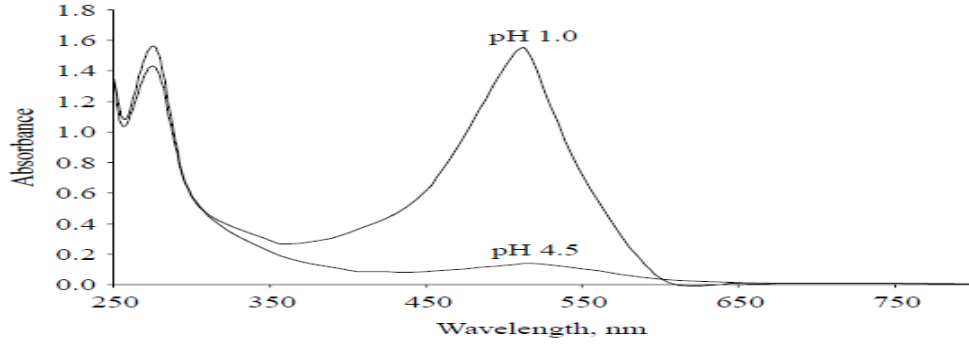
Diferansiyel yöntem, antosiyanin kromoforlarının yapısal değerlerinin pH'ın fonksiyonu olarak tanımlanması esasına dayanır. Yöntem ayrıca, girişim yapan kahverengi 'bozunma' ürünlerinin spektral davranışlarının incelenmesine dayanır [74]. Bozunma ürünleri genellikle pH'taki değişimden etkilenmez. Aynı dalga boyunda, iki pH değerinde ölçülen absorpsiyon arasındaki fark, antosiyanin konsantrasyonuna eşit kabul edilir. Aradaki farkın alınması, girişim yapan maddelerden kaynaklanan absorpsiyonun ihmal edilmesi anlamına gelir. pH 1 ve pH 4,5 diferansiyel yöntemde en çok tercih edilen pH'lardır. Dikkat edilmesi gereken bir nokta ise, pH'ın ayarlanması sırasında farklı antosiyanin türleri arasında denge oluşması için yeterli zamanın olmayışının yanlış sonuçlar doğurabilmesidir [75].

Her bir antosiyaninin kantitatif analizi, bunların öncelikle karışımdan ayrılmaları veya saflaştırılmaları ile mümkün olur. Bu amaçla genellikle kağıt veya ince tabaka kromatografisi yöntemlerine başvurulur. Pek çok antosiyaninin molar absorptiveleri miktar tayininde kullanılmaktadır. Antosiyaninler için en kesin kantitatif analiz yönteminin ters faz HPLC olduğu öne sürülmüştür [67].

Kırmızı şarapta yapılan bir çalışmada antosiyanin miktarı tayininde HPLC metodu ile spektrofotometrik yöntem karşılaştırılmıştır. HPLC metodu yalnızca serbest antosiyanin miktarını ölçmektedir, ancak spektrofotometrik yöntem pH etkilerine ve bisülfitin meydana getirdiği beyazlaşmaya karşı duyarlıdır. Buna bağlı olarak HPLC yöntemi ile bulunan sonuçların spektrofotometrik yöntemle bulunan sonuçlara göre her zaman daha düşük olduğu görülmüştür. Bir polyclar AT kolonundan geçirilen şarap örneğinin içerdiği antosiyaninler tek tek ayrılmış, kantitatif analiz sonuçları spektrofotometrik yöntemle karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlara göre, iki yöntem arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir [76].

Kırmızı lahana, sumak, böğürtlen, vişne ve üzüm üzerinde yapılan bir çalışmada ise antosiyanin tayini için türev spektroskopisi yöntemi (pik-pik metodu) kullanılmıştır. Numunelerin absorpsiyon ve 1. türev absorpsiyon spektrumlarıyla çalışılmıştır. Ekstraksiyon çözeltisi olarak ise % 5'lik perklorik asit çözeltisinin en uygun olduğu saptanmıştır. 1. türev spektrumlarında 490.5 nm de bir maksimum, 550.2 nm de ise minimum noktaları kantitatif analizde kullanılmıştır. Ölçü eğrisi ise 100-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ aralığında hazırlanmıştır [77].

Kırmızı turp üzerinde yapılan bir çalışmada ise fark türev spektroskopisi yöntemi ile pH 1 ve pH 4,5 tampon çözeltileri kullanılarak total antosiyanin tayini yapılmıştır. pH 1 ve pH 4,5 da antosiyaninler farklı yapıdadır ve buna bağlı olarak da absorbans spektrumları da farklıdır. Çalışmada pH 1 de antosiyanin renkli flavonyum yapısında iken, pH 4,5 da ise renksiz hemiketal yapıdadır. Bu iki yapı fark türev yöntemi ile ölçülmüş, maximum dalga boyu 510 nm olarak bulunmuştur [78].



Şekil 2.8 Antosiyaninlerin pH 1,0 ve pH 4,5 tampon sistemlerinde absorpsiyon spektrumları

Başka bir araştırmada ise fark türev spektroskopisi ile HPLC yöntemi karşılaştırılmıştır. Antosiyanin içeren çeşitli gıdalara pH 1 ve pH 4,5 tamponu kullanılarak fark türev spektroskopisi yöntemi uygulanmıştır. Ayrıca aynı gıdalara HPLC yöntemi de uygulanarak bu iki yöntemin tutarlılıkları incelenmiştir. HPLC yönteminde 2 farklı kolon ve mobil faz kullanılmıştır. Araştırma sonucunda ise bu iki yöntemin sonuçlarının tutarlılık gösterdiği tespit edilmiştir [79].

Yaban mersininin yapısında birçok antosiyanin çeşidi bulunmaktadır ve bu sebeple araştırmalar için oldukça uygun bir meyvedir. HPLC yöntemi yaban mersinindeki antosiyaninlerin tayininde çok kullanılan bir tayin yöntemidir [80].

Bir diğer HPLC ile antosiyanin tayininde, asit hidroliz HPLC yöntemi geliştirilerek yaban mersininde antosiyanin analizi için uygulanmıştır. Bu yöntemle yaban mersinindeki 11 antosiyanin çeşidi tespit edilmiştir. Yöntem, bitkilerde antosiyanin çeşidinin tespitinde ve antosiyaninlerin kantitatif analizinde tutarlılık göstermiştir. Asit hidroliz yöntemi, yaban mersinindeki antosiyanin profillerini basitleştirerek ölçümde kolaylık sağlar. Antosiyanin profillerini 5 ana antosiyanin çeşidi olan delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin ve malvidin'e dönüştürür. Bu antosiyanin çeşitlerinin daha düzgün ayrılarak, dış standartlarla kantitatif olarak ölçülebileceği saptanmıştır [81].

Başka bir çalışmada ise antosiyanin tayininde, analiz süresini kısaltmak amaçlanmıştır ve bunun için bir yöntem geliştirilmiştir. Antosiyanin açısından çok zengin olan yaban mersinindeki antosiyaninlerin tayini için duyarlı, hızlı ve etkin bir yöntem geliştirilmiştir ve bu yöntem diğer çalışmalarda da tutarlılık göstermiştir. Geliştirilen UHPLC

yönteminde yaban mersinindeki 15 antosiyanin çeşidi 30 dakikanın altında bir sürede tayin edilebileceği saptanmıştır [80].

Analiz süresini kısaltmak için yapılan başka bir çalışmada ise antosiyanin içeren numuneler basit bir seyreltme işleminden sonra HPLC yöntemi kullanılarak bir C₁₈ kolonundan geçirilmiş ve 5 ana antosiyanin grubuna ayrılmıştır ve 540 nm de ölçüm yapılmıştır. 8 dakikadan daha kısa bir süre içerisinde analiz tamamlanmıştır [80].

Mor mısır koçanında antosiyanin tayini için yapılan bir diğer çalışma ise yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Artan sıcaklıkla (85°C' de) birlikte antosiyanin veriminin de arttığı görülmüştür. Ancak mısır koçanındaki nişasta nedeniyle analiz sırasında filtrasyon işleminde güçlük yaşanmıştır. Kolon olarak ise C₁₈ kullanılmıştır. HPLC ile analiz sırasında gradient elüsyon tekniği kullanılarak ayırma işlemi verimi artırılmıştır. 1. mobil faz (%100 su), 2. mobil faz (%60 metanol ve %40 su) olarak kullanılmıştır. UV-VIS dedektör ile 520 nm de okuma yapılmıştır [82].

Kiraz antosiyaninleri için insan sağlığına faydalı çevre dostu ekstraksiyon ve saflaştırma metodu üzerine çalışan Claire Elfakir ve ark. (2012), bazı yeşil kimya ilkelerini takiben, çözücü kullanımını azaltarak, güvenli çözücü ve reaktifleri kullanılarak ve atık üretimi ve enerji tüketiminin mümkün olduğunca sınırlı kaldığını belirtmişlerdir. Bu amaçla çözücsüz bir mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Çözücü etkisi olmadan 1000 W gücünde her 45 saniyede bir 4 ışınlama döngüsü ile antosiyaninler ekstrakte edilmiştir. Daha sonra, antosiyaninler su/etanol/formik asit içeren mobil faz yardımıyla izokratik sıvı kromatografisi kullanılarak saflaştırılmıştır. Geri kazanım, 200 mg ham kiraz ekstresinde 1,0± 0,3 mg siyanidin-3-O-glikozit olarak bulunmuştur [83].

A.L.S. Dias ve ark. (2012), örnekler hazırlandıktan sonra Euterpe oleracea meyvelerindeki başlıca antosiyaninlerin miktar tayini ve hızlı ekstraksiyon prosedürleri için ilk kez UHPLC-PDA metodunu geliştirmişlerdir. Ayırma işlemi, toplamda sadece 17 dakika çalışma süresi içinde, asetonitril ve % 5'lik formik asit kullanılan gradient elüsyon ile C₁₈ kolonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışılan konsantrasyon aralığı, her bileşik için 1-48 g/mL olarak saptanmıştır [84].

Cevdet Demir ve ark.(2013), yüzey yanıt yöntemini kullanarak böğürtlen yapraklarından antioksidan bileşenlerinin ultrasonik ekstraksiyonunun optimizasyonu

üzerine çalışmışlardır. Bu amaçla, Box-Behnken tasarımını, toplam fenolik bileşenlerinin ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu için kullanmışlardır. ABST ve CUPRAC yöntemleri için ideal HCl konsantrasyonu 0,41 ve 0,45 M, metanol konsantrasyonu 61 ve 64 % (v/v), ekstraksiyon sıcaklığı 66 ve 68 °C ve ekstraksiyon zamanı 105 ve 117 dakika olarak tespit edilmiştir. Deneysel değerler % 95 güven aralığında tahmin edilen değerler ile uyuşmuştur. Bu yüzden uygulanan tasarımının böğürtlen yapraklarından fenolik bileşenlerin ultrasonik ekstraksiyonunun optimizasyonunda yüzey yanıt yönteminin uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak böğürtlen yapraklarında bulunan fenolik bileşenlerin önemli ölçüde antioksidan özellik gösterdiği görülmüştür. Optimum koşullarda ekstraksiyondan sonra böğürtlen yapraklarındaki ellayik asit, kafeik asit, klorojenik asit, quersetin, myrisetin, kaemferol ve kaemferol 3-d-glikoprinozit gibi yedi fenolik bileşen HPLC-DAD yardımıyla tayin edilmiştir [85].

Rong Tsao ve ark. (2007), üzümdeki antosiyaninlerin analizini kolaylaştırmak için iyon değişimi ve ters faz ayırma mekanizmalarını bir arada kullanarak yeni bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Kromatografik performans, antosiyanidin diglikozitlerinin ve açılmış bileşenlerinin analizleri, bilinen C₁₈ ters faz yöntemleri ile karşılaştırılmış ve geliştirilen yöntemin önemli ölçüde avantaj sağladığı görülmüştür. Geliştirilmiş kromatografik çözünürlük ile 37 antosiyanin türünün neredeyse tamamının ayrımının sağladığı ve Concord üzümleri derilerinin ilk kez ekstraksiyonu için delfinidin 3-O-d-glikozitin saptandığı belirtilmiştir [86].

M.K. Rotich ve ark. (2012), siyah ve yeşil çay örneklerinde, antosiyaninlerin karakterizasyonu ve miktar tayini üzerine çalışmışlardır. Antosiyaninler, asitlendirilmiş metanol / HCl (99:1 v/v) kullanılarak yeni yetiştirilen mor yapraklı Kenyan çayı çeşitlerinden ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen antosiyaninler C₁₈ katı faz ekstraksiyon kartuşlarıyla saflaştırılmış ve HPLC-UV-görünür bölge spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. Antosiyaninler, HPLC alıkonma zamanları, elüsyon sırası ve özgün standartların kullanımı ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Total monomerik antosiyanin miktarı pH diferansiyel yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. pH 6,0'da yeşil çayların antosiyanin bileşenlerinin verimi siyah çaylara göre önemli ölçüde yüksek çıkmıştır. Bu, siyah çayın üretimi ve oto-fermantasyon işlemi sırasında oluşan polifenol oksidaz

ürünleri nedeniyle antosiyaninlerin bozulmasının bir sonucudur. Hem siyah hem de yeşil çaylarda en sık kullanılan antosiyaninler (delphinidin, siyanidin, pelargonidin, peonidin ve malvidin) mor yapraklı renkli çay özlerinden saflaştırılmış ve tanımlanmıştır. Her iki çay ürünüde de malvidin en baskın antosiyanin olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmada buna ek olarak iki antosiyanin (siyanidin-3-O-galaktozid ve siyanidin-3-O-glukozid) de tanımlanmıştır [87].

Celestino Santos-Buelga ve ark. (2007), beş farklı çilek çeşidinde antosiyanin bileşimini analiz etmişlerdir. Aglikon olarak bulunan çoğu pelargonidin içeren ve ayrıca bazı siyanidin türevleri bulunan 25 adet bilinen antosiyanin pigmentini tespit etmişlerdir. Bazı antosiyaninlerin alifatik asitler ile açılme gösterdiği saptanmıştır. Glukoz ve rutinoz şekerlerinin yanı sıra arabinoz ve ramnoz şekerlerine de rastlanmıştır. 5 karboksipyanopelargonidin-3-glikozit ve 4 bağlı antosiyanin pigmentlerini ve flavanol kalıntılarını içeren antosiyanin türevi pigmentlerin tayini yapılmıştır. [88].

Ronald E. Wrolstad ve ark. (1999), yaptıkları çalışmada; spektral özellikler üzerine glikozillenme ve açillenmenin etkilerini, saf açillenmiş ve açillenmemiş pelargonidin türevlerinin molar absorptivite ve renk özelliklerini karşılaştırmışlardır. Pigmentler; çilek, turp, kırmızı etli patetes ve kısmen hidroliz edilen turptan elde edilen pigmentler HPLC kullanılarak izole edilmiştir. Saf pigmentlerin spektral ve renk özellikleri ölçülmüştür. Molar absorptivite değerleri, pumarik asit ile açillenmiş pelargonidin-3-glukosit (pg-3-glu) ve pg-3-rutinosit-5-glukosit için 15600'den 39590'a kadar nispeten değiştiği belirtilmiştir. Sinnamik asit açillenmesinin, batokromik kayma nedeniyle spektral ve renk özellikleri üzerine önemli etkisi olduğu görülmüştür. Ayrıca glikozitlenmenin oluşumunda, hipsokromik kayma ile şeker yer değiştirmesi önemli bir rol oynamıştır. pg-3,5-diglu ve pg-3,5-triglu pH 1,0'de sarı katının sarı-turuncu bölgeye karşılık gelen diğer pg türevlerinden daha iyi renk tonu açısına sahip olduğu görülmüştür [89].

Romà Tauler ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada Hibiscus acetosella çiçeğinden ekstrakste edilen önemli antosiyanin pigmentlerini Uv-vis spektroskopisi ve çok değişkenli kalibrasyon-en küçük kareler yöntemiyle incelemişlerdir. Saf spektrumları, farklı pH değerlerinde mevcut türlerin kinetiğinin antosiyanin dönüşümleri ve bozunma

ürünlerinin dönüşümü elde edilmiş ve bu değerler UV ışımaya maruz bırakılmadan bulunmuştur. UV ışımının yokluğunda, yedi farklı tür tespit edilmiş ve UV ışımaya maruz kalma sonucu bu sayının dokuza kadar yükseltilebileceği saptanmıştır. Pigment örnekleri UV ışımaya maruz kaldığında daha hızlı bozunmanın meydana geldiği yerde iki yeni türün bulunduğu saptanmıştır. Farklı pH değerlerinde elde edilen kinetik profiller, bir reaksiyon mekanizması ve yolunun önerilebileceğini göstermiştir [90].

Ronald E. Wrolstad ve ark. (2008), pH diferansiyel ve HPLC yöntemlerinin, araştırmacılar ve gıda endüstrisi tarafından, örneklerdeki antosiyaninlerin miktar tayininde birarada kullanılması nedeniyle yaptıkları çalışmada; bu iki analitik yöntem arasında ilişki kurmuşlardır. Bu çalışmada, farklı yedi meyve suyu örneğinin içerdiği antosiyaninleri, pH diferansiyel ve HPLC (iki farklı kolon ve mobil faz şartları) analizleri ile belirlemişlerdir. Kullanılan yöntemle rağmen, antosiyanin miktarı toplam antosiyanin olarak ifade edildiğinde genel olarak, malvidin-glikozit değerinin siyanidin-glikozit değerinden daha büyük olduğu görülmüştür. Bu çalışmada örneklerde bulunan antosiyaninlerin miktar tayininde pH diferansiyel ve HPLC yöntemlerinin her ikisinin sonuçları arasındaki farkın anlamsız olduğu gözlenmiştir. pH diferansiyel yöntemin, HPLC kapasitesi bulunmayan laboratuvarlarda toplam antosiyanin miktarını belirlemek için ekonomik ve basit bir yöntem olduğu belirtilmiştir [91].

Tian Tang ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada *Portulaca oleracea* L. içindeki flavonoidlerin farklı ekstraksiyon teknolojilerinde karşılaştırmalı çalışmayla Uv-Vis spektrofotometri ile analizleri üzerinde durmuşlardır. *L. Portulaca oleracea*'den flavonoidlerin ekstraksiyonu için beş ekstraksiyon teknolojisi (mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrasonik ekstraksiyon, reflüks ekstraksiyonu, sokslet ekstraksiyonu ve marine ekstraksiyonları) araştırılmış ve karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, *L. Portulaca oleracea*'den flavonoidlerin ekstraksiyonu için mikrodalga destekli ekstraksiyonun, kısa ekstraksiyon zamanı ve yüksek ekstraksiyon etkisi nedeniyle en kullanışlı yöntem olduğunu göstermiştir. Bulunan optimum ekstraksiyon şartları, etanol konsantrasyonu %70 (v/v) ve katı-sıvı oranı 1:50, ekstraksiyon sıcaklığı 50 °C ve ışınlama süresi 9 dakika olarak saptanmıştır. Miktar tayini, $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 'nin kromojenik sistemi ile Uv-Vis spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar altında, analit için kalibrasyon eğrisi 0,9999'dan daha yüksek korelasyon katsayısı olarak bulunmuştur.

Ortalama geri kazanım %102,6 ve RSD % 1,13'tir (n:5). *P. oleracea* L.'nin sekiz türü incelenmiştir. Flavonoidlerin toplam içeriği sırasıyla 7.16, 7.10, 9.38, 6.82, 6.78, 11.36, 5.12, ve 1.76 mg /g olarak bulunmuştur [92].

Luigi Mondello ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada; kırmızı portakal meyve sularındaki antosiyaninlerin miktar tayini için HPLC/UV-Vis metodunu geliştirmişlerdir. Farklı ağaçların meyvelerinden elde edilen örnekler, 1998 üretim sezonu boyunca her 15 günde bir analiz edilmiştir. Mevsimsel değişiklikler de çalışmada değerlendirilmiştir. Siyanidin 3-glikozit çözeltisi için elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak, HPLC sonuçları spektrofotometrik ölçümlerle karşılaştırılmıştır. İki yöntem ile elde edilen sonuçlar uyum göstermiş, ancak elde edilen sonuçlar literatürden çok farklı çıkmıştır [93].

Lin Peng ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada; *Artemisia selengensis* Turcz'daki Rutin'in ultrasonik destekli ve bilinen ekstraksiyon teknikleri ile ekstraksiyonu üzerinde durmuşlardır. *Artemisia selengensis* Turcz'daki Rutin'in daha hızlı ekstraksiyonu ve tayini için ultrasonik ekstraksiyonu takiben HPLC yöntemi kullanılmıştır. Çözücü olarak 90:10 (v/v) metanol/etonol kullanılmış, katı –sıvı oranı 30:1 ve 40 dakikalık ekstraksiyon zamanı olan standart ekstraksiyon koşulları saptanmıştır. Ultrasonik ekstraksiyonun üstünlüğünü göstermek amacıyla mikrodalga destekli ekstraksiyon, reflüks ekstraksiyon ve marine (çözücüde bekletmek) ekstraksiyonunu yöntemleri de incelenmiştir. Sonuçlar; ultrasonik ekstraksiyonun *Artemisia selengensis* Turcz'da bulunan Rutin'in ekstraksiyonunda, yüksek ekstraksiyon verimleri nedeniyle en kullanışlı yöntem olduğunu göstermiştir. Rutinin analizi için ultraviyole dedektör ile ters faz HPLC kullanılmıştır. Optimum koşullar altında, analit için kalibrasyon eğrisi 0,34-20,7 $\mu\text{g mL}^{-1}$ aralığında bulunmuştur. Rutinin ortalama verimi %100,77 ve bağıl standart sapması %0,37 olarak bulunmuştur. Farklı habitatlardaki *Artemisia selengensis* Turcz'un üç çeşidi incelenmiş ve Rutin'in toplam içeriği sırasıyla 9, 90,6, 23,5, 56 mg g^{-1} olarak saptanmıştır [94].

Çiğdem Uysal Pala ve Ayşeğül Kırca Toklucu (2011) yaptıkları çalışmada; nar suyunun antosiyanin bileşenleri ve diğer kalite parametreleri üzerinde UV-C ışığının etkilerini incelemiştir. Nar suyu, UV-C radyasyonuna maruz bırakılmış ve bu meyve suyundaki

antosiyeninlerin polimerik rengi, antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik bileşenleri tayin edilmiştir. Sonuçlar ısıyla muamele edilen ve edilmeyen meyve suyu örnekleriyle karşılaştırılmıştır. UV-C ışımaya maruz bırakılan nar suyunun önemli kalite özellikleri ısı işleme göre daha iyi korunmuştur. UV-C ışını muamelesi sonrası, nar suyunun toplam monomerik antosiyenin içeriğinin önemli ölçüde değişmediği ve pigmentlerde tek tek bulunan antosiyenlerde % 8,1 ile % 16 arasında bir azalma olduğu saptanmıştır. Ancak nar suyunun antosiyenin içeriği, ısı işlemden önemli ölçüde etkilendiği ve pigmentlerde tek tek bulunan antosiyeninlerin % 15 ile % 28 'inin bu süreçten sonra kaybedildiği saptanmıştır. Ayrıca, ısıyla muamele edilen nar suyunun polimerik rengi önemli ölçüde değişirken UV-C ışını ile muamele edilen nar suyu örneklerinde, rengin çok fazla değişmediği saptanmıştır. Nar suyunun ısı işlem ve UV-C ışını ile muamele edildikten sonraki antioksidan kapasitesinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir [95].

Luigia Longo ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada; üç yabancı çalı türü olan ve genellikle Akdeniz bölgesinde yetişen *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. ve *Rubia peregrina* L 'nin meyvelerindeki antosiyenin bileşimini ilk kez tespit etmişlerdir. Pigmentler, meyvelerden 0,1 N HCl-metanol çözeltisi ile ekstrakte edilmiş, C₋₁₈ katı faz kartuşu kullanılarak saflaştırılmış, HPLC-diyot dizisi ve kütle spektroskopisi vasıtasıyla karakterize edilmiştir. *P. Lentiscus* meyvelerinin başlıca antosiyenini, siyanidin 3-O-glikozit olarak tespit edilmiştir. Delphinidin 3-O-glukozit ve siyanidin 3-O-arabinosit de küçük bir miktarda bulunmuştur. *P. latifolia* and *R. Peregrina* meyvelerinin ekstrelerinde de başlıca antosiyenin, siyanidin 3-O-rutinozit olduğu bulunmuştur. Ayrıca, siyanidin 3-O-glikozitin düşük miktarları da saptanmıştır. Akdeniz bölgesinde yetişen bu bitkilerin bolluğu ve çekici rengi nedeniyle; bu bitkilerin, yeni doğal pigment kaynağı ve antioksidan ajanı olabileceği vurgulanmıştır [96].

Leonardo Rescio ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada; Akdeniz bölgesinin tipik yıllık yabancı çalısı olan *Rhamnus alaternus* L'nin meyvelerindeki antosiyenin bileşimini ilk kez belirlemişlerdir. Meyvelerdeki pigmentler metanol-0,1 N HCl ile ekstrakte edilmiş ve saflaştırma için C₋₁₈ katı faz kartuş kullanılmıştır. HPLC-DAD-MS analizleri, delpinidin 3-O-rutinozit'in toplam pigment içeriğinin, yaklaşık %62,4'ünü temsil ettiğini göstermiştir. Diğer antosiyeninler siyanidin (8.4%), petunidin (15.8%), pelargonidin (4.7%), peonidin ve malvidin 3-O-rutinozit (8.7%) türevleridir. En yaygın 6

antosiyamidinin bir aradaki varlığı, R. Alaternus meyvelerinin iyi bir pigment kaynağı olabileceğini göstermiştir [97].

Giuseppe Vasapollo ve Luigia Longo (2006) 'nın yaptıkları çalışmada; Akdeniz bölgesinin tipik sürünen çalı türü *Smilax aspera* L.'nin tanelerinde bulunan antosiyaninler, ilk kez ekstrakte edilmiş ve tanımlanmıştır. Pigmentler, çileğin yüzeyinden metanol çözeltisinde % 0,1 'lik HCl ile ekstrakte edilmiştir. C₋₁₈ katı faz kartuş kullanılarak saflaştırılmış ve HPLC-DAD-MS analizi ile karakterize edilmiştir. Spektral analizden önce ve sonra; asit ve alkali hidrolizi sonucunda, *Smilax aspera* çileklerinin yüzeylerindeki toplam antosiyanin bileşiminin yaklaşık % 83'ünü pelargonidin 3- rutinozitin temsil ettiği saptanmıştır. Siyanidin 3-O-rutinozit'in düşük miktarı da bulunmuştur. İtalya'nın güneyindeki bitkinin çekici rengi ve bolluğu *Smilax aspera* çileklerininin, doğal pigmentlerin yeni kaynağı haline gelmesini sağlamıştır [98].

Lucie Hartmanova ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada; şaraptaki antosiyaninlerin, desorpsiyon nano elektrospray iyonizasyon kütle spektroskopisi ile hızlı bir şekilde tanımlanabilmesi üzerinde durmuşlardır. Desorpsiyon elektrospray iyonizasyon kütle spektroskopisinin, farklı alanlarda (örneğin, ilaçların analizi ve dokulardaki biyolojik olarak aktif bileşenlerin aydınlatılması) uygulanabilir ve kullanışlı bir yöntem olduğu görülmüştür. Desorpsiyon elektrospray olarak adlandırılan (nano-DESI) yöntem, antosiyaninlerin analizi için test edilmiştir. Örnekleri asitlendirme ve asidik sıvı sprayi, (metanol/ su 75:25, v/v ile % 0.2 HCOOH) belirgin spektrumları elde etmek için gerekli olmuştur. Şarap örneklerindeki başlıca antosiyaninlerin profilleri, üç çeşidinin (Alibernet, Neronet ve Rubinet), iki mahsulünde (2005 ve 2007) başarılı şekilde elde edilmiştir. Elde edilen sonuçların, LC/MS deneylerinin sonuçlarıyla uyumlu olduğu görülmüştür. Nano-DESI-MS verileri de karışımlardaki iki türün oranın tayinine ve tenturier veya mürver özü ile şarabın boyanmasını belirlemeye izin vermiştir [99].

Mahmure Özgür ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada; türev spektrofotometrik yöntem ile bazı meyve ve sebzelerdeki antosiyaninlerin tayini üzerinde durmuşlardır. Antosiyaninler (E163) kırmızı lahana, böğürtlen, vişne, üzüm ve sumak meyvelerinde herhangi bir ayırma, saflaştırma teknikleri ve reaktifleri kullanılmadan birinci dereceden türev spektrofotometresi ile tayin edilmiştir. Bu yöntem ekstraktların birinci

derece türev spektrumunda iki tepe değeri arasındaki mesafenin ölçümüne dayanır. Geliştirilen yöntemde, en kullanışlı ekstraksiyon çözücüsü olarak perklorik asit (%5'lik v/v) bulunmuştur. Ekstraksiyon zamanı taze meyve ve sebzelerde 10 dakika, kuru olanlarda ise 20 dakika olarak belirlenmiştir. 1. türev spektrumunda, kırmızı lahana, sumak meyvesi, böğürtlen, vişne ve üzümdeki antosiyaninlerin miktar tayini için 490,5 ve 550,2 nm dalga boyundan yararlanılmıştır. Kalibrasyon eğrisi 100-500 µg mL⁻¹ konsantrasyon aralığında elde edilmiştir. 1. türev spektrumundan elde edilen kalibrasyon denklemi ve regresyon katsayısı D₁: 0,0543+0,926, r: 0,9999 olarak elde edilmiştir [77].

C.S. Pappas ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada; dağınık yansıtıcılı FT-IR spektroskopisi kullanılarak 3 türün hammaddelerinde kiraz antosiyaninlerinin miktar tayinini ve eğri ters evrişim yöntemini açıklamışlardır. Kiraz antosiyaninlerinin bileşimi ve pik alanı arasında doğrusal bir ilişki, 1640-1630 cm⁻¹'de yüksek korelasyon katsayısı ile kurulmuştur. Kullanılan eğri ters evrişim yöntemi analizlerinin, diğer hücre duvarı bileşenlerinden spektral engellemelerin kaldırılmasına izin verdiği belirtilmiştir. Önerilen yöntem; bir referans Uv-Vis spektrofotometrik yöntem ile karşılaştırılmış, tekrarlanabilirlik ve doğruluk değerleri (F testi, T testi) eşdeğer bulunmuştur. Önerilen yöntemin basit, hızlı, analitik örnekler için zararsız ve her kiraz örneği için uygulanabilir olabileceği belirtilmiştir [100].

Jin Hwan Lee ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada; yenilebilir Kore gülünün kırmızı yapraklarından elde edilen antosiyaninlerin antikanser, antioksidan ve antialerjik gibi biyolojik aktivitelerini ve profillerini araştırmışlardır. Bu tür, asidik-metanol ekstraktının 50 µg/mL konsantrasyonunda güçlü biyolojik aktivite göstermiştir. Bu antosiyaninler; ters faz C₁₈ kolon kromatografisi, NMR spektroskopisi ve HPLC-DAD-ESI-MS analizleri kullanılarak siyanidin-3,5-di-O-glikozit ve pelargonidin 3,5-di-O-glikozit olarak karakterize edilmiştir. Siyanidin 3,5-di-O-glikozit'in, toplam bileşimin % 85'ini temsil ettiği bulunmuştur. Antialerjik aktivitelerinin orta düzeyde olduğu saptanmıştır [101].

S. Oancea ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada; gıda uygulamaları çerçevesinden bakıldığında Vaccinium'un bioaktif antosiyanin bileşimi ve ekstraksiyon koşullarının etkisi üzerinde durmuştur. Highbush yabanmersinlerinden, zenginleştirilmiş ham bir

ekstrakt izole etmek için bilinen ekstraksiyon işlemleri uygulanmıştır. Sürekli olmayan bir işlem ile antosiyaninlerin ekstraksiyonu için su ve asitlendirilmiş alkol çözücüsü kullanılmıştır. Ekstraksiyon süresinin 2 saat olduğu belirtilmiş ve 4 °C, 30 °C, 50 °C ve 18 °C'deki depolanmaları da test edilmiştir. Monomerik antosiyaninlerin miktar tayini spektrofotometrik diferansiyel yöntem ile yapılmıştır [102].

Diego T. Santos ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada; çözücü olarak süperkritik CO₂ kullanılarak kapsülleme ile Jabuticaba derilerinden antosiyanin ekstraktlarının karakterizasyonu üzerinde durmuşlardır. Bu çalışmada süperkritik çözücü olarak CO₂ ve yardımcı çözücü olarak etanol kullanılmış ve polietilen glikolde Jabuticaba derilerinden elde edilen antosiyanin ekstraktının kapsüllemesini değerlendirmişlerdir. Bilinen bir yöntem ile iyonik jelleşme karşılaştırılmıştır [103].

2.7.2 Antosiyaninlerin Stabilitesi İle İlgili Literatür Özetleri

Memnune Şengül ve ark. (2012)'nin, yoğurda vişne posası eklenmesinin depolama sırasında; fizikokimyasal özellikleri, fenolik içeriği, sensör özellikleri ve antioksidan aktivitesine etkisi hakkında yaptığı çalışmada; yoğurt içine %0, %8, %12 ve %16 vişne posası eklenmiş ve 14 günlük soğuk depolama sonrasında ölçümler kontrol edilmiştir. Yoğurt içindeki artan vişne posası konsantrasyonu ile pH ve serum ayrılmasında artış gözlemlenmiş, fakat toplam katı madde, yağ, protein, kül, titrasyon asitliği ve vizkozite gibi diğer parametrelerin değerlerinin azaldığı görülmüştür [104].

Bekir Cemeroğlu ve ark. (2007), katı madde içeriği, pH ve sıcaklığın; siyah havuç antosiyaninlerinin kararlılığı üzerine etkisi hakkında yaptıkları çalışmada; monomerik antosiyanin bozulması 1.dereceden reaksiyon modeli olarak tasarlanmıştır. Monomerik antosiyaninlerin bozulmasının, ısıtma sırasında artan katı bileşen miktarıyla doğru orantılı olarak arttığını, buna karşın depolama sırasında azaldığını belirtmişlerdir. Antosiyaninlerin ısı kararlılıkları üzerine, sitrat-fosfat tampon çözeltisinde 6 değişik pH aralığında çalışılmış ve antosiyanin kararlılığındaki dikkate değer azalmanın pH 5,0'in üzerindeki pH değerlerinde olduğu gözlenmiştir. Artan katı bileşenlerde, ısıtma sırasında depolamaya göre daha yüksek aktivasyon enerjisi gözlenmiştir. [105].

Rodrigo N. Cavalcanti ve ark. (2011)'nin yaptıkları çalışmada; antosiyaninlerin renk ve kararlılıklarının; pH, sıcaklık, ışık, kopigment varlığı, kendi kendine birleşme özelliği, metalik iyonlar, enzimler, oksijen, askorbik asit ve şeker içeren değişik faktörler ile etkilendiklerini vurgulamışlardır [106].

Dietmar R. Kammerer ve ark. (2012), çilekteki polifenol, askorbik asit ve renk tutunması üzerine, farklı donma ve çözülme yöntemlerinin etkilerinin değerlendirilmesine yönelik yaptıkları çalışmada; çilek numunesi sıvı azot kullanılarak mikrodalga fırında çözülmüş ve değişik sıcaklıklarda (sırasıyla +4, +20 ve +37 °C'de) dondurulmuştur. Damla kaybı belirlenmiş ve renk ölçümleri CIE L a,b sistemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Askorbik asit, spektrofotometrik olarak izlenmiş ve tek tek bulunan antosiyaninler ve antosiyanin olmayan fenolik bileşenler HPLC-DAD-MS ile analiz edilmiştir. Antosiyanin ve askorbik asit tutulumunun, numune eridikten sonra uygulanan farklı çözme işlemlerine bağlı olarak meyve kalitesini önemli ölçüde etkilediği vurgulanmıştır. Çilek, 20 °C' de mikrodalga fırında çözüldüğünde antosiyaninlerin en iyi şekilde tutulduğu görülmüştür. Maksimum askorbik asit tutulması, çileğin mikrodalga fırında (10 dakika) çözüldüğünde gözlenmiştir. 4 °C'de (24 saat) olağan çözme işleminin belirgin pigment ve askorbik asit kaybına neden olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre uygun çözme işleminin seçiminin, çilek ürünlerindeki vitamin C ve renk tutulmaları için anahtar parametre olduğu kanıtlanmıştır [107].

Carlos Andres Galan-Vidal ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada antosiyaninlerin kimyasal araştırmalarındaki, pH'ın etkisi, yardımcı pigmentasyon, metal-iyon kompleksleşmesi ve antosiyaninlerin kararlılıkları üzerindeki antioksidan aktivitesini vurgulayan son gelişmeleri özetlemişlerdir. [108].

Virachnee Lohachoompol ve ark. (2004)'nin yaptıkları çalışmada; kurutma ve dondurma sonrasında yabanmersinindeki toplam antosiyaninlerin değişimi ve antioksidan etkileri üzerinde durulmuştur. Taze örnekler 5 °C 'de 2 hafta, donmuş örnekler ise; -20 °C 'de 3 ay süreyle bekletilmiştir. Burada kabin kurutmayı takiben osmotik ön uygulama ve sadece kabin kurutma olan iki kurutma uygulaması denenmiştir. Taze yabanmersinlerinde bulunan toplam antosiyaninler siyanidin-3-

rutinozit yapısında ve kuru madde halinde $7,2 \pm 0,5$ mg/g olarak saptanmıştır. Termal işlemi takiben osmotik işlem uygulanmış ve termal işlemin tek başına daha fazla antosiyanin kaybına sebep olduğu görülmüştür. Buna karşılık 3 ay boyunca depolanan dondurulmuş örneklerde antosiyanin seviyesinde önemli bir azalma görülmemiştir. Yabanmersinlerinden antosiyanin ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin ölçümü ile elde edilen sonuçlar; taze, kurutulmuş ve dondurulmuş yabanmersinleri arasında önemli bir fark olmadığını göstermiştir [109].

E. Margitanova ve ark. (2009), yabanmersinlerinde donma süresi ile ilgili olarak antosiyaninlerin bileşimi üzerine çalışmışlardır. Araştırması yapılan türden elde edilen örneklerden 21 tanesi seçilmiş ve -18 °C'de donma kutusunda, polietilen torbalarda muhafaza edilmiştir. Etanolik yabanmersini ekstraktlarının toplam antosiyanin bileşenleri 3 aylık periyotlar ile 6 ay boyunca spektrofotometrik yöntem ile tayin edilmiştir. Toplam antosiyanin bileşenlerinin değişiklikleri, gözlemlenen çeşitler arasında teyit edilmiştir. 6 ay boyunca donma kutusunda depolanan yabanmersinin toplam antosiyanin bileşiminin ortalama %16,7 azaldığı gözlenmiştir [110].

Jinsong Bao ve ark. (2005)'nin yaptıkları çalışmada; dört farklı Çin Bayberry çeşidinden elde edilen ekstraktlardaki antosiyaninlerin ve flavanollerin radikal süpürücü aktivite testlerinin karakterizasyonu araştırılmıştır. Biri baskın antosiyanin olmak üzere üç ana flavanol çeşidi HPLC ile ayrılmış, siyanidin 3-O-glikozit ve 3 flavanolden ikisi (myrisetin ve kuersetin-3-O-rutinosit) orijinal standartlar kullanılarak kromatografik yöntemle belirlenmiştir. DPPH ve ABTS⁺ katyon testleri sonucunda siyah türlerdeki radikal süpürücü aktivite, pembe ve sarı türlere göre çok daha yüksek bulunmuştur ve bu sonucun siyah türlerdeki toplam fenoliklerin, flavanollerin ve antosiyaninlerin seviyelerinin çok daha yüksek olmasından kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir. Pigmentin renk stabilitesinin pH'a bağımlı olduğu ve pigment renginin düşük pH değerlerinde (pH 1-1,5) daha kararlı olduğu saptanmıştır. pH değerinin 5'e kadar artışı ile renk azalırken, renk açıklığı artmış; ancak daha yüksek pH değerleri, renk açıklığında küçük bir azalışa ve renk seviyesinde ise artışa neden olmuştur [111].

Vasil Shikov ve ark. (2012)'nin yaptıkları çalışmada; dokusu geliştirilmiş konserve çileklerinin antioksidan kapasiteleri ile gül yaprağı ürünlerinde, depolama sırasında

zenginleştirilmiş polifenollerin ilavesine bağı olarak antioksidan aktiviteleri ve renk kararlılıkları üzerinde durulmuştur. Ayrıca pigment tutma ve yüzey renk gelişimi sırasıyla HPLC-DAD analizleri ve CIELab ölçümleri ile takip edilmiştir. Gül yaprağı ekstresinin ilavesi konserve çileklerinin antioksidan kapasitesi için önemli katkı sağlamış ve depolamadan 12 hafta sonraki karşılaştırma örneklerinden daha yüksek değerlere sahip olduğu saptanmıştır. Buna bağı olarak toplam renk farkı değerleri kontrol numunesine göre daha düşük bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar dokusu geliştirilmiş çilekler için gül yaprağı ekstraktlarının ilavesi ile antioksidan kapasitesinin gelişimini göstermiş ve yeni fonksiyonel gıda maddelerinin gelişimi için umut verici olarak görülmüştür [112].

Puspita Sari ve ark.(2012)'nin yaptıkları çalışmada; Jambolan antosiyaninlerinin rengi, kararlılığı ve radikal süpürücü özelliklerini, içecek model sisteminde hem doğal hem de kopigment formları olarak araştırmışlardır. Jambolan doğal antosiyaninlerinde farklı glikozasyon yapıları nedeniyle düşük renk şiddetleri gözlenmiştir. Sinapik asit, kafeik asit, ferulik asit ve biberiye polifenolik ekstresi ile antosiyaninlerin moleküllerarası kopigmentasyonunun kırmızıya kayması ve hiperkromik etki gibi spektrofotometrik parametreler aracılığıyla gözlenen renk yoğunluğunun arttırılabileceği belirtilmiştir. Ek olarak sinapik asit, kafeik asit ve biberiye polifenoliklerinin yanı sıra oda sıcaklığında ve soğutucuda depolama boyunca ve beyaz floresans ışığa maruz kalma sonucunda antosiyaninlerin renk kararlılığında artış gözlenmiştir, buna karşın termal işlemlerde bu durum gözlenmemiştir. Ayrıca doğal ve kopigment antosiyaninleri ile içecek renginde DPPH (2,2-difenil-1 picrylhydrazyl) radikal süpürücü aktivite ortaya çıkmıştır. AEAC (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity) değerleri, kopigment antosiyaninlerin süpürücü aktivitelerinin doğal antosiyaninlere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir [113].

Vişne suyu ve konsantresinde antosiyaninlerin bozunmasını inceleyen Cemeroğlu ve ark. (1994), 50 – 80 °C' lerde 8–48 saat ısıtma işlemi uyguladıkları örneklerde, antosiyanin bozunmasının birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiğini belirlemişlerdir [114].

Frenk üzümü ile yapılan bir çalışmada ise antosiyaninler, 4 – 140 °C 'ler arasında değişen sıcaklıklara maruz bırakılmış ve antosiyaninlerin ısıl bozunmasının birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiği bulunmuştur. Çalışmada 4 – 140 °C arasında; reaksiyon hız sabiti(k)'nin sırasıyla; $0.16 (\pm 0.01) \times 10^{-3}$ 'ten $9.954 (\pm 0.004)$ ' kadar arttığı görülmüştür [115].

5-30 °C ve 60-90 °C'ler arasındaki farklı sıcaklıklarda ısıtılan böğürtlen suyu ve konsantresi üzerine yapılan bir çalışmada; böğürtlen suyu antosiyaninlerin bozunmasının birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiği saptanmıştır. Böğürtlen suyu örneklerinde, aktivasyon enerjisi (Ea) değeri 58.95 kJ/mol iken depolama süresindeki böğürtlen suyu örneklerinde aktivasyon enerjisi (Ea) değerinin hızla 65.06 kJ/mol 'e yükseldiği saptanmıştır [116].

Gıda sisteminin yanı sıra gıdanın depolama sıcaklığı da, antosiyaninlerin degradasyonu üzerine son derece etkili diğer bir faktördür. Iversen (1999), 20°C'de, karanlık veya ışıklı ortamlarda depolanan frenk üzümü sularında antosiyanin bozunmasını birinci derece reaksiyon kinetiğiyle açıklamış ve hız sabitlerini ışıkta ve karanlıkta sırasıyla 4,2 ve $3,2 \times 10^{-3} \text{ gün}^{-1}$ olarak saptamıştır [117].

Çilek suyu ve konsantresinin 25 °C' de depolanması boyunca çilek antosiyaninlerinin bozunmasını inceleyen Garzon ve Wrolstad (2002)'da, olayın birinci dereceden kinetiğe uyduğunu saptamışlardır. Araştırmada, çilek konsantresinde antosiyaninlerin meyve suyuna kıyasla çok daha hızlı parçalandığı belirlenmiştir. Nitekim antosiyaninlerin bozunmasına ilişkin $t_{1/2}$ değeri çilek suyunda 8 gün, konsantrede ise 3,5 gün olarak belirlenmiştir [118].

Buna karşın, briks derecesi arttıkça; vişne (Asafi ve Cemeroğlu 2000) ve kan portakalı antosiyaninlerinin (Kırca ve Cemeroğlu 2003) depolanma stabilitesinin arttığı saptanmıştır [119, 120].

Yüksek sıcaklıklarda depolanan örneklerde, kısa sürede çok hızlı bir antosiyanin kaybı meydana gelirken, depolama sıcaklığı düştükçe antosiyaninlerin stabilitesi artmaktadır. Nitekim kan portakalı sularının 15°, 25° ve 35°C'de depolanması boyunca, 10°C 'lik sıcaklık artışının, antosiyaninin bozunma hızını 2 kat arttırdığı saptanmıştır [121].

Withy ve ark. (1993) da, kırmızı ahududu suyu konsantrelerinde antosiyanin kaybının depolama sıcaklığına bağlı olduğunu göstermişlerdir. 20 °C 'de 3 ay süreyle depolanan konsantrelerin antosiyanin içeriğinde % 80,4 kayıp olduğu saptanırken, -20 °C 'de depolamada kayıp oranı yalnızca % 3,1 düzeyinde kalmıştır [122].

Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyunda antosiyaninlerin bozunmasını inceleyen Marti ve ark. (2001) ise, 25°C' de 2 aylık depolama sonunda nar suyundaki antosiyaninlerin % 99' unun parçalandığını, buna karşın 5 °C 'de 5 aylık depolama sonunda antosiyanin içeriğinde % 80' lik bir kayıp olduğunu saptamışlardır [123].

Genel olarak sıcaklık düştükçe antosiyaninlerin stabilitesi artmasına rağmen, yapılan bazı araştırmalar sonucunda dondurma veya dondurarak depolama sırasında da antosiyanin kaybının olduğu belirlenmiştir.

Bing kirazlarının -23°C' de 3 aylık depolanması sonunda toplam antosiyanin içeriğinin % 66' sinin, 6 ay sonunda ise % 87' sinin parçalandığı saptanmıştır (Chaovanalikit ve Wrolstad 2004). Diğer yandan, aynı araştırmada -70 °C 'de depolanan örneklerde, 6 ay sonunda antosiyaninlerin sadece % 12'sinin parçalandığı belirlenmiştir. Dondurarak depolanan örneklerde gerçekleşen antosiyanin kaybının, meyvenin hem et hem de kabuk kısmında aktif halde bulunan enzimlerle, özellikle polifenol oksidazlarla ilişkili olduğu açıklanmıştır [124].

Diğer taraftan; ortamın pH derecesinin, antosiyaninlerin bozunması üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir. Antosiyaninler, pH'dan kaynaklanan renk dönüşümlerine uğramaları nedeniyle, genel olarak asitli gıdalara (pH<3,0) uygulanmaktadırlar. Ortam pH derecesinin antosiyaninlerin rengi üzerine etkisini araştıran Fossen ve ark. (1998), mor patatesten (petanin) ve pirinçten (siyanidin 3-O-β-D-glikopiranozit) izole ettikleri antosiyaninlerin 13 farklı pH değerindeki (pH:1-9) renk stabilitesini incelemişler ve pH değerindeki değişimin her iki antosiyaninin de renk yoğunluğunu etkilediğini belirlemişlerdir. pH 'ın 1'den 5'e yükselmesi her iki antosiyaninin renk yoğunluğunda azalmaya neden olurken, 5'den 8,1' e yükselmesi ise renk yoğunluğunun tekrar artmasıyla sonuçlanmış ve şaşırtıcı şekilde, pH 8,1 değerinde petanin için maksimum renk yoğunluğuna ulaşıldığı saptanmıştır. Pirinçten ekstrakte

edilen antosiyaninler ise, beklenildiği gibi pH 1'de maksimum renk yoğunluğuna ulaşmıştır [125].

Diğer taraftan, pH 'ın pelargonidin esaslı, açillenmiş farklı antosiyanin moleküllerinin renk özellikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla, pH 1-7 arasında değişen tampon çözeltilerine kırmızı turp ve kırmızı patates ekstraktları eklenmiş ve ekstraktların bu pH aralıklarında sergiledikleri renk tonu (hue angle) ve Chroma değerleri belirlenmiştir (Giusti ve Wrolstad 2003). Buna göre pH 1-2 arasında incelenen tüm ekstraktların benzer renk tonu ve Chroma değerleri sergilediği, buna karşın pH 3' e yükseldiğinde renk tonu değerinin 40'dan 20'ye düştüğü saptanmıştır. pH derecesinin daha fazla artması ise, antosiyaninlerin kimyasal yapısına bağlı olarak renk tonu ve Chroma değerlerinin değişmesine neden olmuştur. Diğer yandan, kırmızı patates antosiyaninleri pH değişikliklerinden daha fazla etkilenmiş ve pH değerindeki artışla beraber Chroma değerinde daha büyük bir azalma meydana gelmiştir. Sinamik asitlerle asitlenmiş kırmızı turp antosiyaninlerinin ise; pH'dan kaynaklanan renk değişikliklerine karşı daha dayanıklı olduğu saptanmıştır [14].

Giusti ve Wrolstad (2003), pH değeri 4,2-4,5 olan yoğurt ve ekşi krema gibi süt ürünlerinde, kırmızı turp, kırmızı lahana, siyah havuç ve siyah üzüm gibi açillenmiş antosiyanin içeren ekstraktların, boya maddesi olarak kullanılabilme olasılığını incelemişler ve kırmızı turp ve siyah havuç ekstraktlarının tek başına veya kombine halde uygulandığında (5 mg monomerik antosiyanin / 100 g örnek) süt ürünlerinde arzu edilen kırmızı renk tonunu sağladığını belirlemişlerdir. Siyah havuç ekstraktı ile boyanan örneklerin renk yoğunluğunun kırmızı turp ekstraktı ile boyananlardan daha yüksek olduğu; kırmızı lahana ekstraktının ise, örneklere çekici bir mor renk kazandırdığı saptanmıştır. Bu ürünlerin raf ömürlerinin soğukta depolama koşullarında yalnızca birkaç hafta ile sınırlı olduğu düşünülürse, bu koşullarda pigmentlerin stabilite açısından da sorun yaratmayacağı anlaşılmaktadır [14].

Başka bir çalışmada ise siyah havuç antosiyaninlerinin ısı degradasyonu üzerine pH ve askorbik asidin etkisi incelenmiş ve araştırma sonuçları, askorbik asidin siyah havuç antosiyaninlerinin parçalanması üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığını, buna karşın pH değeri yükseldikçe antosiyaninlerin stabilitesinin azaldığını göstermektedir [15].

Gerek siyah ahududu suyunda ve gerekse siyanidin-3-diglikozit içeren model sistemlerde pH 4,15'den 2,15'e düşürülmesi sonucunda, antosiyanin pigmentinin stabilitesinin arttığı belirlenmiştir [126].

Tanchev ve Joncheva (1973), kiraz ve eriklerden izole edilerek saflaştırılan siyanidin-3-rutinozit ve peonidin-3-rutinozitin, pH 2,5, 3,5 ve 4,5 olan tampon çözeltilerde ısıl stabilitesini incelemişler ve pH derecesi arttıkça antosiyaninlerin degradasyonuna ilişkin hız sabitlerinin (k) arttığını saptamışlardır [127].

Fossen ve ark. (1998), 10 ve 23°C' de depolama boyunca, mor patatesten (petanin) ve pirinçten (siyanidin-3-O-β-D-glikopiranozit) ekstrakte ettikleri antosiyaninlerin 13 farklı pH aralığındaki (pH:1–9) renk stabilitesini incelemişler ve ortam pH değerinin, antosiyaninlerin degradasyon hızı üzerine oldukça etkili olduğunu saptamışlardır. pH:1.0-1.3 arasında, 10°C' de 60 günlük depolama sonunda her iki antosiyaninin de yaklaşık % 90' ı bozunmadan kalırken; petanin'in pH:6'da 8 gün, siyanidin-3-O-β-D-glikopiranozit'in ise pH:7'de 2 günlük depolanma sonunda tamamen parçalandığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, 23°C' de depolama boyunca benzer şekilde; en yüksek renk stabilitesi, düşük pH derecelerinde saptanmış, pH:4– 9 arasında ise antosiyaninlerin stabilite hızı hızlı bir şekilde azalmıştır [125].

Shi ve ark. (1992a), telgraf çiçeği (*Tradescantia pallida*) yapraklarından ekstrakte ettikleri antosiyaninlerin, farklı pH derecelerinde (3,5, 4,5 ve 5,5) hazırlanan model içecek sistemlerde stabilitesini incelemişler ve aynı koşullarda enosiyanin ve "blackberry" antosiyaninleri ile kıyaslamışlardır. İncelenen ortamlarda telgraf çiçeği antosiyaninlerinin, özellikle yüksek pH derecelerinde enosiyanin ve "blackberry" antosiyaninlerinden çok daha kararlı olduğu saptanmıştır [128].

Diğer taraftan, kırmızı tatlı patates ve mor mısır ekstraktlarının farklı pH, sıcaklık ve ışık yoğunluklarındaki stabilite hızları incelenerek, sentetik renk maddeleri FD&C Red No.40 ve FD&C Red No.3 ile ticari siyah havuç ve siyah üzüm ekstraktları ile kıyaslanmıştır (Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos 2004). Araştırmada, açillenmiş antosiyaninler açısından zengin olan kırmızı patates ve siyah havuç antosiyaninlerinin, açillenmemiş antosiyanin içeriğine sahip olan mor mısır ve siyah üzümlerden daha yüksek stabilite gösterdiği saptanmıştır. Nitekim, 98°C' de antosiyaninlerin degradasyonuna ilişkin t ½

değerleri siyah havuç, tatlı kırmızı patates, siyah üzüm ve mor mısır için sırasıyla 4.6, 4.6, 2.4 ve 2.0 saat olarak belirlenmiştir [129].

Diğer taraftan ortamda bulunan bazı şekerlerin ve bunların parçalanma ürünlerinin de antosiyaninlerin degradasyonunu hızlandırdığı belirlenmiştir. Furfural ve HMF gibi şekerlerin parçalanma ürünleri, antosiyaninlerin degradasyonunda önemli etkiye sahiptirler [130]. Nitekim model sistemlerde (pH 3,25), farklı şekerlerin (glukoz, fruktoz, ksiloz, sakaroz) ve bunların parçalanma ürünlerinin siyanidin-3-diglikozitin bozunması üzerine etkisini inceleyen Daravingas ve Cain (1968), şekerlerin hepsinin, antosiyaninlerin degradasyonunu yaklaşık aynı oranda hızlandırdığını saptamışlardır. Aynı çalışmada şekerlerin parçalanma ürünleri olan furfural ve HMF' nin antosiyaninlerin degradasyonunu şekerlerden çok daha fazla hızlandırdığı sonucuna varılmıştır [126]. Benzer şekilde, Markakis ve ark (1957), model sistemlerde pelargonidin-3-glikozitin degradasyonunun HMF tarafından hızlandırıldığını saptamışlardır [131].

Model sistemlerde (pH 3,2) konkord üzümü antosiyaninlerinin degradasyonu üzerine farklı şekerlerin etkisini inceleyen Calvi ve Francis (1978), glukoz içeren sistemin degradasyon hızını etkilemediğini, buna karşın sakaroz içeren sistemde degradasyon hızının arttığını saptamışlardır. Kan portakalı ve çilek suyu gibi şeker ve askorbik asitçe zengin, asitli ortamlarda antosiyaninler ile askorbik asit ve şekerlerin parçalanma ürünleri (furfural ve HMF) arasında gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda çeşitli polikondensasyon bileşikleri oluşmakta ve meyve sularının renginin kiremit kırmızı-kahverenge dönüştüğü ileri sürülmektedir [132].

Shi ve ark. (1992b) tarafından yapılan bir çalışmada da, farklı model sistemlerde 55°C' de ve floresan ışık altında telgraf çiçeği ve kırmızı lahana antosiyaninlerinin stabilitesi incelenmiştir. Şeker içermeyen içecek model sistemlerinde, kırmızı lahana antosiyaninlerinin telgraf çiçeği antosiyaninlerinden yaklaşık 29 kat daha hızlı parçalandığı saptanmıştır. Protein içeren model sistemlerde ise, 24 saat içinde kırmızı lahana antosiyaninlerinin nerdeyse tamamı parçalanmıştır [25].

Bazı Avrupa ülkelerinde reçel, jel ve şarapların renklendirilmesi amacıyla, yüksek antosiyanin içeriğiyle potansiyel bir renk maddesi olan "elderberry" ekstraktı

kullanılmaktadır [30]. “Elderberry” ekstraktı, özellikle çilek reçellerinin renginin zenginleştirilmesi ve çilek antosiyaninlerinin esmerleşmesinden kaynaklanan rengin maskelenmesi amacıyla İspanya’da yaygın olarak kullanılmaktadır. Zafrilla ve ark. (1998) ise, çilek reçeli rengini stabilize etmek amacıyla “elderberry” ekstraktına alternatif olarak nar suyu kullanılabileceğini göstermişlerdir [133].

Kırca (2004) yaptığı çalışmada ise 70°-90 °C ve 4°-37 °C aralığında, siyah havuç suyu ve konsantrlerinde antosiyaninlerin ısıl stabilitesini araştırmış ve ayrıca, siyah havuç antosiyaninlerinin çeşitli meyve suları ve nektarları ile çilek marmelatlarında ısıl stabilitesini de incelenmiştir. Kinetik veriler, siyah havuç antosiyaninlerinin degradasyonunun incelenen tüm ortamlarda birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiğini göstermektedir. Sıcaklık ve brix derecesi arttıkça, siyah havuç suyu ve konsantrlerin de antosiyaninlerin ısıl degradasyon hızlarının arttığı saptanmıştır. 70°-90 °C aralığında, $t_{1/2}$ değerleri, 10,8 °briks için 16,7 ile 5 saat, 30 °briks için, 16,9 ile 4,5 saat, 45 °briks için, 14,8 ile 3,2 saat ve 64 °briks için 14,4 ile 2,3 saat arasında değişim göstermiştir. Diğer yandan, depolama süresince briks derecesi azaldıkça, antosiyaninlerin degradasyon hızlarının arttığı saptanmıştır. 30, 45 ve 64 °briks derecesindeki örnekler için $t_{1/2}$ değerleri sırasıyla, 4 °C’ de 71,7-4,1 hafta, 20 °C’ de 85,9-4,5 hafta ve 37 °C’ de 214,8-3,9 hafta arasında değişiklik göstermiştir [15].

Antosiyanin içermeyen fakat siyah havuç konsantresi eklenerek renklendirilmiş meyve suyu ve nektarlarında, antosiyaninlerin ısıl degradasyonuna ilişkin $t_{1/2}$ değerlerinin 70 °C’ de 12,6 ile 16,7 saat, 80 °C’ de 7,2 ile 10,1 saat ve 90 °C’ de ise 3,9 ile 5,6 saat arasında değiştiği saptanmıştır [15].

Siyah havuç antosiyaninlerinin ısıl degradasyonunun portakal suyunda en yüksek düzeyde gerçekleştiği gözlenmiştir. Siyah havuç antosiyaninlerinin 20 °C’ deki degradasyon hızları ise en düşükten başlayarak yükseğe doğru “üzüm suyu, mandarin suyu, elma suyu, şeftali nektarı, limon suyu, kayısı nektarı, ananas nektarı, greyfruit suyu, portakal suyu” şeklinde sıralanmıştır. Meyve suyunun doğal rengini geliştirmek ve bu rengin stabilitesini arttırmak amacıyla, doğal olarak antosiyanin içeren bazı meyve suyu (nar ve kan portakalı) ve nektarlarına (vişne) da siyah havuç konsantresi eklenmiştir. Kinetik veriler, antosiyanin içeren meyve suyu ve nektarlarına siyah havuç

suyu konsantresi eklenmesinin, antosiyaninlerin stabilitesini arttırdığını göstermiştir [15].

Rodriguez-Saona ve ark. (1999) tarafından, kırmızı turp ve kırmızı patates antosiyaninlerinin meyve suyu model sistemlerindeki stabilitesi incelenmiştir. Araştırmada, model sistemlerin boyanması amacıyla kimyasal olarak saflaştırılmış antosiyanin ekstraktları ile bizzat kırmızı turp ve patates suyu konsantreleri kullanılmıştır. 2°C ve 25°C' lerde 65 haftalık depolama boyunca, kırmızı turp antosiyaninlerin patates antosiyaninlerinden daha yüksek stabilite gösterdiği saptanmıştır. Nitekim 25°C' de depolama boyunca $t_{1/2}$ değerleri kırmızı turp antosiyaninleri için 16–24 hafta, patates antosiyaninleri için ise 10-11 hafta olarak belirlenmiştir. Ayrıca, antosiyanin ekstraktları ile boyanan sistemlerin renk stabilitesinin, konsantre ile boyanan sistemlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır [24].

Kırmızı lahana ekstraktındaki antosiyaninlerin tampon çözeltilerde ve gazsız içecek model sistemlerinde, 25°, 40°, 60° ve 80°C' lerdeki ısıl stabilitesini inceleyen Dyrby ve ark. (2001), ulaştığı sonuçları frenk üzümü, siyah üzüm ve "elderberry" ekstraktlarındaki antosiyaninlerin stabiliteyi ile kıyaslamışlardır. İncelenen ortamlarda antosiyaninlerin degradasyonu birinci derece reaksiyon kinetiğine uygun olarak gerçekleşmiş ve antosiyaninlerin stabiliteyi içecek model sistemlerde kırmızı lahana > frenküzümü > siyah üzüm > "elderberry" şeklinde sıralanmıştır. 80°C' deki hız sabitleri incelendiğinde hız sabitlerinin içecek model sistemlerde yaklaşık iki kat fazla olması, ortamda bulunan şeker ve askorbik asidin antosiyaninler üzerindeki yıkıcı etkisiyle açıklanmıştır [26].

2.7.3 Antosiyaninlerin Sağlık Üzerine Etkileri İle İlgili Literatür Özetleri

Genel olarak antosiyaninler doğal renklendirici olarak kullanılmaktadır. Üzümden elde edilen antosiyanin ticari amaçlı mor ve kırmızı renklendiriciler olarak alkolsüz içecekler, meyve suları, konserve meyveler, şarap, alkollü içecekler, tatlı, şekerlemeler ve yoğurtlarda kullanılmaktadır [134]. Antosiyaninlerin suda çözülebilen doğal ve ucuz bir pigment olması kullanım alanlarını da oldukça geniş kılmıştır.

Antosiyaninler, gıdaların parlak kırmızı rengini sağlayan, bilinen en iyi doğal gıda boyalarıdır ve birçok gıdanın boyanmasında sentetik boyalara karşı önemli bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Antosiyanin ekstraktlarının gıdalara yalnızca çekici renk özellikleri kazandırmadığı, aynı zamanda yüksek antiradikal kapasiteleri sayesinde eklendikleri gıdaların oksidatif stabilitelerini de arttırdığı belirlenmiştir [135].

Antosiyaninlerin gıdalara çekicilik kazandırma özellikleri yanında, sağlık açısından da yararlı bileşikler olduğu ve farmakolojik özellikleri nedeniyle çeşitli hastalıklarda tedavi etme amacıyla kullanıldığı bilinmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, antosiyaninlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bu özellikleri sayesinde serbest radikallerle ilişkili olan kanser, kardiovasküler hastalıklar, eklem iltihabı gibi çeşitli hastalıklara karşı olumlu yönde etkilerinin olduğu görülmüştür. Bu nedenle günlük diyetimizde antosiyanince zengin gıdaların eklenmesi sağlık açısından yararlıdır [136].

Proteggente ve ark.; çilek, mor erik ve ahududu ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini incelenmişler ve ekstraktların yüksek antioksidan aktivitelerini, ekstraktın içerdiği yüksek düzeydeki antosiyanin miktarı ile açıklamışlardır [137].

Nar suyunun delfinidin, siyanidin, pelargonidin gibi antosiyaninlerden ve pinikalin, ellagatinler ve ellagik asitten dolayı yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu bilinir. Nar; damar üzerindeki hasarı engelleme, prostat kanseri ve kireçlemeyi önleme, otooksidasyon zararlarına karşı hücreleri koruma, normal oranda kan glikoz seviyesini koruma, stokinlerin (hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlayan protein ve peptidlerin bir grubu) oluşumunu destekleme, doğal tümörleri inhibe eden hücre kapasitelerinin artırılması gibi beslenme ve terapötik özellikleri nedeniyle popülerdir. Aynı zamanda AIDS ve iltihaplanmaya karşı etkili olduğu bulunmuştur.

Marcin Horbowicz ve ark. (2008), meyve ve sebzelerin antosiyaninleri, onların oluşumları, analizleri ve insan beslenmesindeki rolü üzerine çalışmalar yapmışlardır. Antosiyaninlerin, bitkilerden kalitatif ve kantitatif tayinlerinin klasik (spektrofotometrik) yöntemle, NMR veya kütle spektroskopisinin değişik uygulamaları ve HPLC yöntemleri gibi çağdaş yöntemlerle gerçekleştirilebileceğini belirtmişlerdir. Antosiyaninlerin; meyve, sebze ve şarap tüketiminden dolayı yaygın bir şekilde insanlar

tarafından alındığını belirtmişlerdir. Beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak, kişi başına birkaç miligramdan yüzlerce miligrama kadar bireysel olarak günlük alımları olduğu tahmin edilmektedir. Meyve ve sebzelerde bulunan diğer flavanoidlerin yanı sıra antosiyaninlerin, özellikle kalp-damar hastalıklarına ve bazı kanser türlerine karşı koruyucu olduğu bilinmektedir [138].

Antosiyaninlerin, günlük diyetle yüksek düzeydeki alımı beslenme açısından da büyük ilgi çekmektedirler. Nitekim 1971 yılında, Amerika Birleşik Devletleri'nde gıdalarla alınan günlük ortalama antosiyanin miktarı 180 mg/gün (kışın) ve 215 mg/gün (yazın) olarak belirlenmiştir [18].

Son yıllardaki çalışmalarla, antosiyaninlerin çeşitli kan dolaşımı bozukluklarında ve bazı göz hastalıklarında tedavi edici niteliği bulunduğu ortaya konmuştur [13]. Özellikle siyanidin glikozitlerinin, antimutajenik, antikanserojenik aktivite ve gastrite karşı koruyucu etki gösterdiği ve oksidatif stresin azaltılması gibi çeşitli biyolojik özellikleri olduğu bildirilmiştir [139]. Bu yüzden, antosiyanin içeren birçok farmasotik ürünün piyasaya sunulmaya başlandığı bilinmektedir.

Yapılan birçok araştırmada da, antosiyaninlerin antioksidatif etkilerinin bulunduğu saptanmıştır [140, 141 ve 142]. Siyanidin ve siyanidin-3-glikozitin çeşitli sistemlerde antioksidatif aktivite gösterdiği, hatta bazı sistemlerde α -tokoferolden daha fazla antioksidatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir [140].

Proteggente ve ark. (2002) çilek, kırmızı erik ve ahududu ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini incelemişler ve ekstraktların yüksek antioksidan aktivite göstermesini, ekstraktın içerdiği yüksek düzeydeki antosiyanin miktarı ile açıklamışlardır [137].

Yine siyanidin, delfinidin, pelargonidin, malvidin ve peonidinin çeşitli türevlerinden oluşan 14 farklı antosiyaninin antioksidan kapasitesinin incelendiği bir araştırmada, siyanidin-3-glikozitin en yüksek antioksidatif aktive gösterdiği ve bu aktivitenin bir E vitamini analogu olan Troloksa göre, 3 ile 5 kat arasında daha yüksek olduğu saptanmıştır. Diğer yandan, incelenen bileşikler arasında en düşük antioksidatif aktivite gösteren pelargonidin-3,5-diglikozitin bile, Troloks ile eşit düzeyde bir aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [141].

2.7.4 Antosiyaninlerle İlgili Diğer Literatür Özetleri

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle Jabuticaba derilerinden antosiyaninlerin ekstraksiyonu ve ekonomik değerlendirmesini yapan Angela A. Meireles ve ark.(2011), Jabuticaba; antosiyaninlerin ve diğer fenolik bileşiklerin varlığı nedeniyle antioksidan özelliklerinin iyi bilindiğini ve antosiyanin pigmentlerinin antimutajenik ve kanser kemokoruyucu aktiviteleri ile güçlü antioksidan ve iltihap azaltıcı olarak etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Çeşitli bitki kaynaklarından antosiyanin pigmentlerinin ekstraksiyonu için literatürde değişik teknolojiler önerilmiştir. Diğer yandan endüstriyel ölçekte bu ekstraksiyon süreçlerinin uygulanabilme maliyetleri hakkında bilgi eksikliği vardır. Bu çalışmada; farklı teknikler ile Jabuticaba derilerinden antosiyaninlerin ekstraksiyonu, ekonomik fizibilite açısından değerlendirilmiştir. Ultrasound destekli, ajite yatak, sokslet ve basınçlı sıvı ekstraksiyonu ekonomik olarak karşılaştırılmıştır. Etanol, bütün ekstraksiyon teknikleri için ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmıştır. Sonuçlar basınçlı sıvı ekstraksiyonu sonuçlarının daha yüksek çıktığını göstermiştir. Verimlilik sıralaması ultrasound destekli ekstraksiyon, sokslet ve ajite yatak ekstraksiyonu şeklinde saptanmıştır. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu antosiyaninlerdeki ekstraksiyon zenginliği açısından en ekonomik ve uygun yöntem olduğu belirtilmiştir [143].

J. Chandrasekhar ve ark. (2012), kırmızı lahanadan antosiyaninlerin ekstraksiyonu ve saflaştırılması ile ilgili yaptıkları çalışmada, bitki maddelerinden antosiyaninlerin ekstraksiyonu için bilinen ekstraksiyon yöntemlerinin seçici olmadığı; şeker, organik asit ve proteinler gibi yan ürünlerin büyük miktarları ile pigment çözeltilisi vermesinden dolayı, bu katkıların bazılarının antosiyanin bozulmasını hızlandırabileceğini düşünmüşlerdir. Çalışmada farklı ekstraktlar kullanmış ve maksimum antosiyanin içeriğini % 50 etanol ve asitlendirilmiş su karışımında saptamışlardır. Antosiyaninlerin saflaştırılması için 6 farklı adsorban kullanılmıştır. Bunlar arasında, noniyonik akrilik ester (Amberlite XAD-7HP), yüksek adsorpsiyon kapasitesi ve desorpsiyon oranı (% 92.85) göstermiştir. Adsorpsiyonun özellikle düşük sıcaklıklarda Langmuir izoterm eşitliğiyle ilişkili olduğu bulunmuştur. Saflaştırmadan sonra şekerlerden arındırılmış antosiyanin çözeltilisinin sonuçları, şeker varlığının antosiyanin bozulması için önemli bir

neden olduğunu göstermiştir. Sonuçlar, ham antosiyaninle karşılaştırıldığında esmerleşme olmadan rengin (parlaklık) %27 arttığını göstermiştir [4].

Mimiek Murrukmihadi ve ark. (2013), Buni meyvelerinden antosiyaninlerin ekstraksiyonunun kararlılıklarını değerlendirmek ve en iyi ekstraksiyon sürecini tayin etmek için yaptıkları çalışmada; antosiyaninlerin ekstraksiyonu için etanol, hidroklorik asit ve sitrik asit gibi çözücülerin değişik kombinasyonlarını kullanmışlardır. Çözücünün en uygun bileşimini, toplam antosiyanin içeriğini ve renk yoğunluğunun analizini UV-Vis spektrofotometre kullanarak belirlemişlerdir. Antosiyaninlerin stabilitesi, farklı pH değerleri ve sıcaklıklar kullanılarak değerlendirilmiştir. % 70 etanol ve % 3 sitrik asit çözücüsünde antosiyaninin en yüksek toplam konsantrasyonu ve renk yoğunluğuna sahip olduğu saptanmıştır. Buni meyvesinden gelen antosiyaninlerin kararlılığı pH değerinin değişiminden etkilenmiş ve en kararlı koşulun pH 4-5 değerinde kurulduğu açıklanmıştır [144].

Xianzhe Zheng ve ark. (2013)'nın, toz yabanmersininden antosiyaninin mikrodalga destekli ekstraksiyonunu için optimal koşulları ve ekstraksiyon özelliklerini inceledikleri çalışmada; ekstraksiyon zamanı, sıcaklığı, etanol konsantrasyonu ve katı-sıvı oranını ekstraksiyon parametreleri olarak seçmişlerdir. Çalışmada her ekstraksiyon parametresinin, ekstraksiyon yüdesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Toz yabanmersininden antosiyaninlerin ekstraksiyon kinetiği üzerine en önemli etkiye katı-sıvı oranının sahip olduğu ve takiben etanol konsantrasyonu ve ekstraksiyon sıcaklığı son olarak da ekstraksiyon zamanının etkisi olduğu saptanmıştır [145].

Farid Chemat ve ark. (2011)'nin, gıda teknolojisinde ultrasound'ın uygulamaları: proses, koruma ve ekstraksiyon süreçleri üzerine yaptıkları çalışmada; ultrasound teknolojisi hakkındaki bazı detayları, teknikleri ve güvenlik önlemlerini araştırmışlardır. Ultrasound teknolojisinin gıda mühendisliği alanında umut verici yöntemlerden biri olduğunu belirtmişlerdir [146].

Kamaljit Vilkhue ve ark. (2008), gıda ve benzer endüstriler için ultrasound destekli ekstraksiyon sürecini geliştirmek için yaptıkları çalışmada; daha düşük ekstraksiyon süresini ve daha yüksek ekstraksiyon verimini elde etmeye çalışmışlardır.

Ultrasoundun, mevcut ekstraksiyon süreçlerini geliştirebileceğini ve yeni ticari ekstraksiyon fırsatlarını ve süreçlerini etkinleştirebileceğini belirtmişlerdir [147].

Carla Da Porto ve ark. (2013), üzüm tohumlarından polifenoller ve yağın, ultrasound destekli ekstraksiyonu ile bilinen ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması için yaptıkları çalışmada; 30 dakika için 20 kHz, 150 W 'ta yürütülen ve 6 saat uygulanan ultrasound destekli ekstraksiyonun verimi, sokslet ekstraksiyonuna benzer üzüm tohumu yağı verimi vermiştir. Sokslet ve 150 W 'ta ultrasound destekli ekstraksiyon yöntemleri ile yağların ekstraksiyonunda, başlıca kuvvetli asitler için önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Yağı alınmış farklı üzüm tohumlarından polifenoller ve fraksiyonları 12 saat boyunca yumuşatma ve 15 dakika ultrasound destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilmiştir. Polifenollerin ekstraksiyonu üzerindeki kinetik çalışmalarının ardından sonikasyon zamanı optimize edilmiştir. Yağı alınmış tohumlardan elde edilen üzüm tohumu ekstraktlarına, ultrasound destekli ekstraksiyon yönteminin uygulanmasıyla en yüksek polifenol konsantrasyonu ve antioksidan aktivitesi elde edilmiştir [148].

Meliha Oktav Bulut ve Ezgi Akar (2012), yaptıkları çalışmada biberiye, gül, lavanta ve mate çayı ekstraktları gibi doğal boya olarak ciddi çevre kirliliği yaratan bazı bitki atıklarını, katyonik pamuklu kumaş ve yün iplik üzerine metal tuzları olmadan doğal boyama yapmak için kullanmışlardır. Ekstraksiyon ve boyama zamanının etkisi, tuz ve biyo mordan konsantrasyonunun etkisi ve yün ipliklerin boyanması üzerine tek parti boyama koşullarının optimizasyonu üzerine çalışılmıştır. Boyamada bakır sülfat tuzu mordan olarak kullanıldığında bakır miktarının, hem atık su içinde hem de kumaş üzerinde sınır limitlerin üstünde olduğu bulunmuştur. Doğal boyamanın tahmin edilen maliyetleri sentetik boyamadan % 17,39 daha yüksek olmasına rağmen, doğal boyamanın insan sağlığı ve çevresel hususlar açısından avantajlı olduğunu belirtmişlerdir [149].

B.K. Tiwari ve ark. (2010)'nın, kırmızı üzüm suyunun rengi ve antosiyaninler üzerine ultrasound sürecinin etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmada; üzüm suyu örnekleri 20 kHz sabit frekansta ve 5 s açık 5 s kapalı atım süresinde genlik seviyesi ve işlem zamanının proses değişkenleri ile sonike (saniyede 20.000 veya daha fazla titreşim gerçekleştiren ses dalgaları ile enerji meydana getirilmesi olarak ifade edilmektedir) edilmiştir.

Regresyon modellemesi ile tam faktörlü bir deney tasarımı, renk parametreleri, antosiyaninler üzerindeki işlem zamanı ve genlik seviyesinin temel etkilerinin araştırılması amacıyla uygulanmıştır. Siyanidin-3-O glukozit (CA), malvanidin-3-O-glukozit (MA) ve delfinidin-3-O-glukozit gibi ana antosiyaninlerin üzerine sonikasyonun önemli etkileri, renk değerleri (L,a,b) ve renk indeksleri saptanmıştır. Antosiyaninlerin kritik kalite parametreleri için model tahminleri, renk değerleri (L,a,b), TCD ve renk indeksi inaktivitesi elde edilen deneysel sonuçlar için karşılaştırılmıştır. Bu çalışma, antosiyanin tutması arzu edilen meyve suyu işlenmesi sırasında ultrasound sürecinin koruma tekniği olarak kullanılmasını ortaya koymuştur [150].

E. Mataix ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada şaraptaki antosiyaninlerin tayini için kesintisiz katı-sıvı ekstraksiyon, buharlaştırma, HPLC ayrımı ve fotometrik algılamanın bağlantısına dayanan kesintisiz, otomatik ve kolay bir yöntem önermişlerdir. Hedeflenen analitler, C₁₈ minikolon ve elüent olarak % 16' lık asetonitril kullanılarak (pH 2,0) şaraptan ayrılmıştır. Elüe edilmiş fraksiyon, ısı ve N₂ akışını kapalı bir biçimde sürükleyerek çözücü buharlaşma desteği ile deriştirilmiştir. İspanyol kırmızı şarabında antosiyaninlerin belirlenmesi için manuel yöntemle göre daha duyarlı, daha düşük tayin limiti ile daha doğrusal kalibrasyon eğrisi olan bir yöntem geliştirilmiştir [151].

Carlos Andres Galan-Vidal ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada antosiyaninlerin kimyasal araştırmalarındaki, pH'ın etkisi, yardımcı pigmentasyon, metal-iyon kompleksleşmesi ve antosiyaninlerin kararlılıkları üzerindeki antioksidan aktivitesini vurgulayan son gelişmeler özetlenmiştir [5].

D.R. Kammerer ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada; ferrik antosiyanin şelatlarının polisakkarit ve jelatin bazlı jellerde doğal mavi gıda boyası olarak uygulamaları üzerinde durmuşlardır. Mürver, mor havuç ve kırmızı lahana suyundan elde edilen ferrik antosiyanin şelatlarının doğal mavi gıda boyası olarak potansiyellerini saptamak için farklı jel matrisleri uygulanmıştır. 4 ve 20 °C'lerde karanlıkta ve 25 °C'de aydınlatma altında depolama boyunca tristimulus reflektans ölçümlerinden elde edilen L,a ve b değerlerinin belirlenmesi ile 2 boyarmadde konsantrasyonu izlenmiştir. Özet olarak ferrik antosiyanin şelatlarının gıda matrisleri için doğal mavi gıda renklendiricisi olarak umut verici olabileceğini öne sürmüşlerdir [152].

Ashis Kumar Samanta ve Priti Agarwal (2009) 'ın yaptıkları çalışmada; doğal boyarmaddelerin kimyasal/biyokimyasal analizlerini ve karakterizasyonlarını, uygulanabilme özelliklerini, farklı doğal kaynaklardan elde edilen renklendiricilerin ekstraksiyonunu; farklı mordanlar ve mordanlama yöntemleri; doğal boyamanın bilinen ve bilinmeyen yöntemlerini; boyama kinetikleri ve kullanılabilir boyama işlemleri üzerine fizikokimyasal çalışmalarını; doğal boyarmaddeler ile tekstildeki boyamalar için renk parametrelerinin analizi ve daha yeni tonların gelişimini; doğal boyarmaddelerin ikili karşımlarının uygulamalarını açıklamışlardır. Boyanabilirliğin iyileştirilmesi için tekstil substratının kimyasal değişimi, genel renk haslık özelliklerinde iyileştirme girişimleri ve Hindistan'ın farklı bölgelerinde doğal boyamanın bazı bilinen işlemlerinin araştırılmasını açıklamışlardır [153].

H. Friedman ve ark. (2010), yenilebilir çiçekler için elverişli birkaç gül çeşidinin antioksidan bileşimi ve Botrytis için duyarlılık ve verimin karakterizasyonu üzerinde çalışmışlardır. Yenilebilir çiçekler olarak seçilen 12 bahçe gülü çeşidi için bu parametreler belirlenmiştir. Kesim için uygun olan çeşitler tarafından üretilen verimi daha yüksek olan çoğu çeşitlerin 80 ile 300 arasında çiçek/bitki olarak değiştiği belirtilmiştir. Botrytis için duyarlılık aralığı çeşitler arasında kaydedilmiştir. Tüm çeşitlerin hidrofilik antioksidan seviyesi, hidrofobik antioksidan seviyelerinden daha büyük bulunmuştur. San Fransisco çeşidinin ise; en yüksek hidrofilik antioksidan ve antosiyanin seviyesine sahip olduğu saptanmıştır. Botrytis için; direnç ve antioksidan seviyeleri arasında korelasyon gözlenmemiştir. Diğer tüm çeşitler yüksek antioksidan kapasiteleri ile taze yenilebilir çiçekler olarak geliştirilebilir bir potansiyele sahiptir; ancak çeşitlerin bazılarında Botrytis enfeksiyonunun azaltılması için hasat sonrası işlemlerin gerekeceği belirtilmiştir [154].

2.8 Bitkisel Boyalarla Boyamann Tarihçesi

İnsanların eski çağlardan beri canlı cansız doğanın renkleri karşısında büyük hayranlık duyduğu bir gerçektir. Renklere sahip olmak ve bu amaçla süslenmek, tarih öncesi çağlardan beri insanların tutkusu olmuştur.

İlk zamanlarda çiçekler, yapraklar, hayvan tüyleri ve renkli taşlarla süslenme güdülerini karşılayan insanlar, sonraları çevrelerini, giysilerini ve bizzat kendi vücutlarını renklendirmek yollarını aramışlardır [155].

İlk çağlardan bu yana çevresini değiştirme, çevresinden yararlanma ve o çevreyi güzelleştirme çabası içinde olan insan, süslenme güdüsünün etkisiyle doğadan birçok boya ve boyarmadde elde etmiştir. Bu konuda öncü olan örnekleri, İsa'dan yüzlerce yıl öncesine giden, mağara resimlerinde görmekteyiz.

Suda çözünmeyen maddeler ile tekstil materyalini boyamanın mümkün olmadığını gören insanlar, bitkilerin; çiçek, yaprak, meyve, kök ve gövdelerinden faydalanmayı düşünmüşler ve tamamen rastlantı sonucu çok sayıda bitkisel boyarmadde bulmuşlardır. Bitkisel boyarmaddelerin yanı sıra bazı hayvanlardan da boya elde etmişlerdir.

İlk sentetik boyarmaddelerin eldesine kadar, insanların çeşitli amaçlar için kullandıkları renklendirici maddeler, tamamen doğal kaynaklardan yani bitki, hayvan ve minerallerden elde edilmekteydi. MÖ. 3000'lerde bir Çin kaynağında boya işlerinden söz edilmektedir. Buna dayanarak, boyamacılıkla ilgili bilgilerin daha da eski tarihlerde, doğu'dan getirilmiş olduğu kabul edilebilir. Mısır'da Orta Krallık Döneminde sadece boyaların elde edilişi değil, dokuma lifleri üzerinde, boyaların sabitlenmesini sağlayan kimyasal maddelerin, yani mordanların da kullanılmış olduğu bilinmektedir. Avrupa kıtasında ilk boyayı kullanan insanlar ise büyük bir olasılıkla MÖ. 2000'lerde Zürih gölü civarında yaşamış olanlarıdır. Fenike boya endüstrisi MÖ. 15. yüzyılda kurulmuştur. Tır kentinde gelişen boyamacılık, kabuklu deniz hayvanlarından elde edilen eflatun rengi ile ün yapmıştır [156].

Hindistan boyamacılığının da çok eskilere dayanan bir geçmişi olduğu kesindir. Boyamacılığın, Hindistan'da yazılı olarak belgelenmesinden çok önce (MÖ. 2500'lerde), İndus Vadisi Uygarlıkları çağında başlamış olduğu sanılmaktadır. Marco Polo, indigonun Portekizliler tarafından Avrupa'ya sokulmasından 300 yıl önce (MS. 13.yüzyılda) Hindistan'da nasıl üretildiğini ayrıntılı bir biçimde anlatmaktadır.

Orta çağda doğu ülkeleri ile Avrupa arasında çok önemli rol oynayan ve bilhassa çok mühim bir ithalat merkezi olan Venedik'in, boyacılık tarihinde önemli bir yeri vardır.

Eski bitki boyamacılığında, aspir (*carthamus tinctorus*) çiçekleri çok büyük öneme sahipti. MÖ. 1660 yıllarına ait Mısır kazılarında bulunan Kral I. Amenhotep'in mumyasında, ketenlerin, sargıların ve eski Mısır dokumalarının, aspir çiçekleriyle boyandığı tespit edilmiştir.

Gittikçe artan ihtiyaç nedeniyle, bitki boyacılığının çeşitleri de gündün güne artmış ve eski bilinenlere yenileri eklenmiştir. Bunlar; sevgi çiçeği (*reseda lutea*) ve meşe mazısı (*quercus infectoria*)'dır. Yine bu devirde şaplı, bakırlı, demirli mordan tuzlarının kullanılmasına başlanmıştır. Daha sonra Hindistan'da yetişen "indigofera tinctoria" dan elde edilen indigo, Avrupa'ya girmiştir.

Gerek Orta Asya ve gerekse Anadolu, tarih boyunca bitki boyalarının daima bulunduğu ve yetiştirildiği yerler olmuştur. Anadolu, doğu ile batı arasında her zaman bir köprü vazifesi görmüştür. Kervan ticareti daima Türklerin elinde kalmıştır.

Osmanlılar zamanında; Bursa, İstanbul, Edirne, Konya, Tokat ve Kayseri boyacılık sanatının ortaya çıktığı en önemli merkezler olmuştur. Bu merkezlerden başka mahalli ihtiyaçları karşılamak amacıyla Anadolu'nun hemen her tarafında boyacılık yapılır ve ayrı bir titizlik gösterilerek kurulmuş seralarda boya bitkileri yetiştirilirdi. O zamanlardan kalma seralara Anadolu'nun birçok yerinde bugün bile rastlanmaktadır. Bitki boyacılığında kullanılan bitkiler arasında; ceviz (*juglans regia*), derici sumacı (*rhus coriaria*), nar (*punica granatum*), kadıntuzluğu (*lagina*), kökboyam (*rubia tinctoria*), cehri (*rhamnus cathartica*), safran (*crocus sativus*) vb. görülmektedir. Bu bitkiler içinde en önemli yeri tutan kök boya (*Rubia tinctoria*)'dır. Kök boya (*rubia tinctoria*), boyacılık tarihinde Türk kırmızısı, Edirne kırmızısı, alizarin, lizari adlarıyla da tanınmaktadır. Cehri (*rhamnus cathartica*) Türkiye'den başka İspanya, Fransa, Almanya, Macaristan, İtalya, Yunanistan ve İran'da da yetiştirilmekle beraber, Dünya piyasalarında en çok şöhret kazananı Türk cehrileri olmuştur. Boyacılık, Türklerin tarihinde çok eski ve köklü bir uygulamadır. Birçok el sanatı ürün için gerekli boya, uzun yıllar bitkilerden alınmıştır. Bu ürünlerin değerleri yüksek ve suni boyalarla boyananlara göre daha kalitelidir. Bitkisel boyalar denilince, bitkilerde görülen çok çeşitli renklerle, onlara bu renkleri veren boyarmaddeler akla gelmektedir. Uzun süre devam eden doğal boyamacılıkta maden, toprak, hayvan çeşitleri ve bitkiler kullanılmıştır.

Memleketimizde doğal boyamacılığın gerilemesi, sentetik boyaların 1882’de yurdumuza girmesi ve kolayca tüketiciye ulaşmasıyla başlamıştır. Kök boya ticaretinin durmasıyla, ülkemizin çok önemli gelir kaynaklarından biri yok olmuştur. İlk sentetik boya olan Prusya mavisi, 1704 yılında keşfedilmiştir. William Perkin tarafından, 1850’de maden kömürü katranından oksitleyici maddeler yardımıyla “anilin” elde edilmiştir. Bayer’in, 1860’ da “indigo” yu, Grabe Liebermann’ in 1868’de “alizarin” i sentetik olarak elde etmesiyle, doğal boyalar yerini yavaş yavaş sentetik boyalara bırakmıştır [9].

Doğal kaynaklı boyarmaddelerin sağlanmasının mevsimlere bağlı oluşu, bitkisel kökenli birçok boyarmaddenin doğal boyalara bütünüyle eşdeğer olarak sentezlenebilmesi, sentetik boyarmaddelerin bitkilerde bulunabilen ve boyama işlemi üzerine olumsuz etkilerde bulunan yan maddeleri içermemesi, doğal boyalarla seri üretimde belli bir standardın tutturulmasının güçlükleri gibi etkenler, sentetik boyarmaddelerin kullanımını hızla yaygınlaştırmıştır.

Son zamanlarda, Sanayi ve Ticaret Bakanlığının yapmış olduğu çalışmalarda elli adet boya bitkisi tespit edilmiş, ayrıca Tokat Köy Hizmetleri Enstitüsü otuz adet boya bitkisi koleksiyonu oluşturmayı başarmıştır [157].

2.8.1 Gül Bitkisi Hakkında Genel Bilgiler

Gül, güller familyasının (Rosaceae) *Rosa* cinsinden güzel kokulu [bitki türlerine](#) verilen addır. Anavatanı [Anadolu](#), [İran](#) ve [Çin](#)'dir ama başka yerlerde de yetişir. [Park](#) ve [bahçelerin](#) süslenmesinde kullanıldığı gibi odaları, balkon ve terasları da süsler. Kesme [çiçekçilikte](#) çok talep edilen bir çiçektir.



Şekil 2.9 Gül bitkisi

Güllerin bir çok türü bulunmaktadır. Genel olarak güller, çiçek ve gövde şekillerine göre sınıflandırılırlar. Bunlar:

- Çiçekleri bakımından:

1. Yalınkat güller
2. Yarım katmerli güller
3. Katmerli güller

- Boyları bakımından:

1. Bodur güller
2. Yüksek boylu güller
3. Sarılıcı-sarmaşık güller

- Çiçek açma zamanına göre:

1. Yılda bir çiçek açanlar
2. Yılda birden çok çiçek açanlar
3. Yediveren güller

- Katmer çiçekleri bakımından:

1. Çiçekleri küçük katmerli

2. Çiçekleri normal katmerli
3. Çiçekleri büyük katmerli güller [158]

Gülün Türk Kültüründeki Yeri ve Önemi : Türk kültürü ve edebiyatının önemli unsurlarından olan gül, özellikle sevgi ve güzellik duygumuz ile güzellik algımızı yansıtmada az bulunur aynalardan birisidir. İnsanımız onu, renginin göz alıcılığı, kokusunun güzelliği, biyolojik varlığının saflığı, tazeliği ve narinliği ile çiçeklerin şahı (şâh-ı ezhâr) seviyesine yükseltmiştir. Bunun içindir ki, öncelikle isimlerimizde olmak üzere, günlük hayatımızın farklı alanlarında (halı, kumaş, kitap vb.) veya edebiyat, mûsikî, mimarî, minyatür, hat, çini, ebrû vb. sanatlarımızda sık sık gül ile karşılaşırız [159].

Gülün İlaç Olarak Kullanımı : Gülün ilaç olarak etkisi çok geniş bir yelpazeye sahiptir. En önemlileri, ferahlama ve hafıza kuvvetlendirmede gül kokusunun, mide ve karaciğer hastalıklarında gül macununun, deri hastalıklarında gül yağının etkileridir. Bu çok önemli etkilerden yararlanabilmek için senede sadece iki ay açan gülün işlenmesi gerekir. Eski Tıpta hekimler bunu, taze güllerin damıtılması ile elde ettikleri gülsuyu veya gülyacağı, taze güllerin şeker veya balla muamelesiyle üretilen gül macunları, taze güllerin zeytinyağı ve susamyağı içinde bekletilmesi ile hazırlanan gül iksiri de denen yağlar şeklinde işleyerek başarmışlardır.

Eski tıbbın kullandığı birçok bitki 21. yüzyılda “Sağlıklı yaşam trendi” içinde tanınmaya başlandı. “Destekleyici Tıp” birçok bitkiyi kullanıyor. Osmanlı Tıbbında kullanılan bu bitkilerden biri de kokulu güldür. Gül ile ilgili yapılan çalışmalarda Gülhane Askeri Tıp Akademisi’nin adının nerden geldiği araştırılmış ve sonucunda Gülhane denilme sebebi bulunmuştur. Güllerin damıtılıp gülsuyu ve yağı elde edilen yere gülhane dendiğini, askeri tıp okulunun kurulduğu yerin Topkapı Sarayı’nın gülhanesi olduğu öğrenilmiştir.

M.S. 1. yüzyılda yaşamış Dioscorides’in “Materia Medica”sından gülün tedavideki yeri incelenmeye başlanabilir. Bu tıp kitabında, gülü zeytinyağı ve şarap içinde bekleterek ilaç hazırlandığından veya kurutulmuş güllerden kokulu toplar yaparak güzel kokusundan faydalandığından bahsedilir. 9. yüzyılda yaşayan büyük hekim Al-Kindî’nin Akrabadin kitabında yer alan tedavide kullanılan formüllerin içinde gül, özellikle mide ağrıları, ülserler, karaciğer hastalıkları, ağrıyan boğaz ve ağız hastalık-

larında hazırlanan ilaçların en önemli maddesidir. Ayrıca gül yağını yanıklar, ülser yaraları ve hemoroit merhemlerinin terkinde kullanır.

9. yüzyılda yaşamış bir başka hekim Dînaverî'dir. Kitabının "Gül bütün ağaçların nurudur, bütün çiçeklerin şahıdır" diye başladığı bölümünde kırmızı, beyaz gülleri tanıtır, Arabistan'da bahçelerde ve dağlarda güle sık rastlandığını yazar. Tedavide de gülsuyunun ferahlatıcı etkisini kullanır, serinletici niteliğinden dolayı ateşlenmelerde gül suyunu, baştaki hastalıklarda gül yağının başa sürülmesini tavsiye eder; "Bunlar başın ateşini alır teskin eder" diye söyler.

İbn-i Sîna 11. yüzyılda yaşamış, yazdığı kitaplarla doğu ve batıda tıbbi yüzlerce yıl etkilemiş olan İbn-i Sîna öncelikle gülsuyu ve gülyacağı kokusunun etkisi hakkında "Hoş kokusundan dolayı ruha hitap eder" der "Onun rahatlatma etkisi vardır, bayılmalarda ve hızlı atan kalplerde çok yararlıdır" diye yazar. Gülsuyunun hem ruha hem de akla olan etkisini vurgularken beynin çalışma ve algılama gücüne faydalı olduğunu da belirtir.

Gül macunu, şerbeti gibi şekerli ilaçlar mide ve karaciğeri koruyucu olarak tavsiye edilir. Hazımsızlıklarda, sindirimi kolaylaştırmak amacıyla özellikle ziyafetlerden sonra gül macunu yenilmesini şiddetle tavsiye ederler. Karaciğer hastalıklarında gül şurubu içirilerek tedavide hekimler hemfikirdirler. Hamile ve loğusa hanımlar için de gece yatarken bir kaşık gül macunu özellikle tavsiye edilir. Hafif müshil etkili olup, bulantılarda rahatlatır.

Gülün zeytinyağında bekletilmesi ile hazırlanan gülyacağı, gül iksiri dediğimiz, ilaçlar deri hastalıkları için kullanılıyordu. Derideki kaşıntılarda, çıban, kabarcık, hatta uyuz gibi hastalıklarda bu yağın sürülmesinin çok etkili olduğu, vücuttaki ağrı, sızı şişlikler, kabarcıklar ve sivilceler üzerine sürülmesinin de bu hastalıkları def ettiği yazılır.

Gülsuyunun ele dökülüp koklanmasıyla ferahlatıcı, rahatlatıcı ve serinletici etkisi hemen fark edilirdi. Osmanlı hekimlerine göre gülsuyu, ruhsal ve duygusal yapıları kuvvetlendirir, beyni ve akli güçlendirir, beden ve yaşam kuvvetini artırır, heyecandan oluşan kalp atışlarını düzenlerdi.

Ayrıca baş ağrısını geçirir, iğrenme, öğürme ve kusmayı dindirir, göz kanlanmalarını ve ağrılarını geçirir, dişetlerini güçlendirir, sarhoşluğa ve onun verdiği baş ağrısına çaredir. Bu sebeple hekimler gülsuyunu reçetelerinde çok kullanırlar [160].

2.8.2 Gül Yaprağı ile İlgili Yapılan Çalışmalara Ait Literatür Özetleri

Eski tıpta etkili bir ilaç olan gülün, bugünkü tıp araştırmaları içinde ilaç olarak kullanımı hakkında yazılmış birkaç makaleye dikkat çekmek isterim: 2005 yılında Kanada’da bir araştırma dergisinde yayınlanan çalışma (Biochem, Cell Biol. 83: 78– 85, 2005) gül çiçeği çözültisi ile fareler üzerinde yapılmıştır. Bu çözültinin antioksidan aktivitesini arttırdığı, lipid peroksidasyonunu düzenlediği ve bu sayede farelerin yaşama süresinin uzadığı belirtilmiştir.

2007 yılında Science dergisinde yayınlanan bir diğer araştırma, Lübeck Üniversitesi araştırmacısı Björn Rasch’ın çalışmasıdır. İnsanlar üzerinde gül kokusunun belleğe etkisi konusunda Rasch ve ekibinin yaptığı çalışmada, gül kokusu yardımıyla beyindeki süreçler daha yakından incelenmiş ve hatırlamaya olan etkisi gösterilmiştir; Manyetik rezonans görüntülerinde de gül kokulu odada uyuyan deneklerin hipokampus bölgesinde daha yüksek etkinlik saptanmıştır.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalından bir grup araştırmacı da, 2007 yılında yaptıkları bir deneysel çalışmayla, gül yağı aromasının sıçanların öğrenme davranışları üzerine etkisini araştırmışlar, sonuçta kokulu Isparta gül yağının öğrenme ve hafıza üzerine faydalı etkisini tespit etmişlerdir.

Hindistan’da Amala Nagar Kanser Araştırma Merkezi’nde yapılmış, 2007 yılında “Pharmaceutical Biology” dergisinde “Antioksidan, Hepatoprotective effects of *Rosa damascena*” başlıklı yayınlanmış olan bir araştırmada, *Rosa damascena*’nın antioksidan etkisi ve karaciğere etkileriyle kanserde faydalı olabileceğinden söz edilmektedir.

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi’nde Ayten Altıntaş ve ekibi yaptığı çalışmada, gülün çok eski dönemlerden beri kadınlar tarafından kırışıklık giderici olarak kullanımını araştırmıştır. Projenin hareket noktası, 2005’de (Biochem. Cell Biol. 83;78- 85) adlı bilimsel dergide yayınlanan “*Rosa rugosa*’nın çiçek ekstraktlarının antioksidan enzim aktivitesini artırdığı, lipid peroksidasyonunu düzeltici etkisi” başlıklı araştırma makalesiydi. Kanada’da

yayınlanan bu araştırmada *Rosa rugosa* kullanılıyordu. Cerrahpaşa ekibi bu metodu *Rosa damascena*'ya uyguladılar. Kan hücreleri ile çalışıldı ve "Evaluation Of In Vitro Antioxidant Activity And Cytotoxicity Of *Rosa damascena* Extract Using By Peripheral Blood Lymphocytes As Model System" başlığı ile bu alışma Barselona'da sunulmuştur. Yapılan alışmalar sonucunda güllerin kan hücrelerinde bozulan dokuları düzelttiği ve gençleştirici etkisi olduğu görülmüştür.

DNA Hasarlarını Tedavi : Cerrahpaşa Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Genetik Bilim Dalından Prof. Dr. Gönül Kanığür ve Doç. Dr. İlhan Onaran başkanlığındaki çalışma gurubunun yaptığı çalışmayla "Oksidatif Stresin İndüklediği Sitoksite ve DNA hasarları üzerine Rose Damascena'nın Etkisi" gösterilmiştir. Bu etki kısaca şöyle özetleniyordu: Hücre metabolizmasının ve çevresel faktörlerin etkisiyle hücre ve dokular yoğun oksidatif stres altında kalır, organizma strese karşı çeşitli antioksidan sistemleriyle karşı koyar. Antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda hücrenin çok çeşitli komponentleri hasarlanabilmekte, bunun sonucunda bazı patolojiler ortaya çıkabilmektedir. Antioksidan savunma mekanizmalarının ilerleyen yaşla birlikte zayıfladığı ve buna bağlı oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir. Gül yapraklarının ekstresi bu hasarı tedavide etkili olduğu gösterilmiştir.

Deri Üzerine Etkisi : 2008 yılında Cerrahpaşa ekibi gül ekstresinin kan hücreleri üzerine etkisini gösterdiler. Bu çalışmanın arkasından, 2009 yılında, bu ekstrenin deri hücrelerine etkisi araştırılmaya başlandı. Oksidatif stresin etkilerinin görüldüğu organlardan biri de deriydi, günümüzde çok çeşitli kozmetik ürünlerde değişik antioksidan bileşikler kullanılarak yaşlanma etkisiyle oluşan derideki oksidatif hasarların önüne geçilmeye çalışılmaktaydı. 2009 haziran ayında, fibroblast (deri) hücreleri üzerine etkisi çalışmalarına Sebat Gül'den alınan numunelerle başlandı. 2010 ocak ayında etkisinin bilimsel olarak anlamlı olduğu tespit edildi.

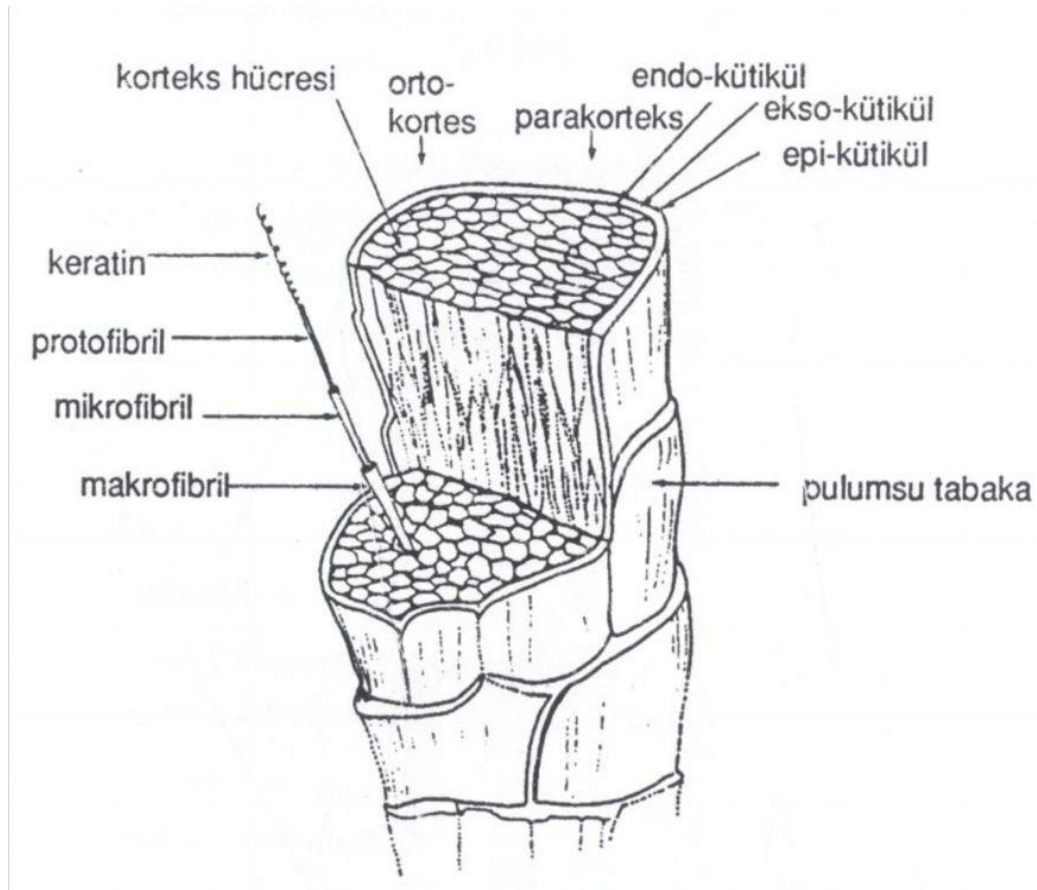
Diğer Araştırmalar : Süleyman Demirel Üniversitesinde kurulan "GÜLAR"da, gül araştırmaları konusunda yapılan araştırmalarda gül çiçeklerinden elde edilen ekstrenin antioksidan ve anti-bakteriyel etkisi mikrobiyolojik olarak gösterilmiştir [160].

Büyük şair Fuzuli gül bitkisinin önemini şu sözlerle belirtmiştir: “Bütün dertlerine şifa arıyorsan gül bahçesine git. Gül bahçesinde her derde deva vardır. Çünkü gül goncası sanki şifa sunan gül şerbetinin içinde bulunduğu kap gibidir”.

2.9 Yünün Yapısı

2.9.1 Yünün Fiziksel Yapısı

Yün, diğer elyaf türlerine oranla daha karmaşık bir yapıya sahiptir. Bir yün lifinin enine kesiti incelenecek olursa en dışta epiderm, ortada korteks ve içte de medulla tabakası olmak üzere üç tabaka görülür.



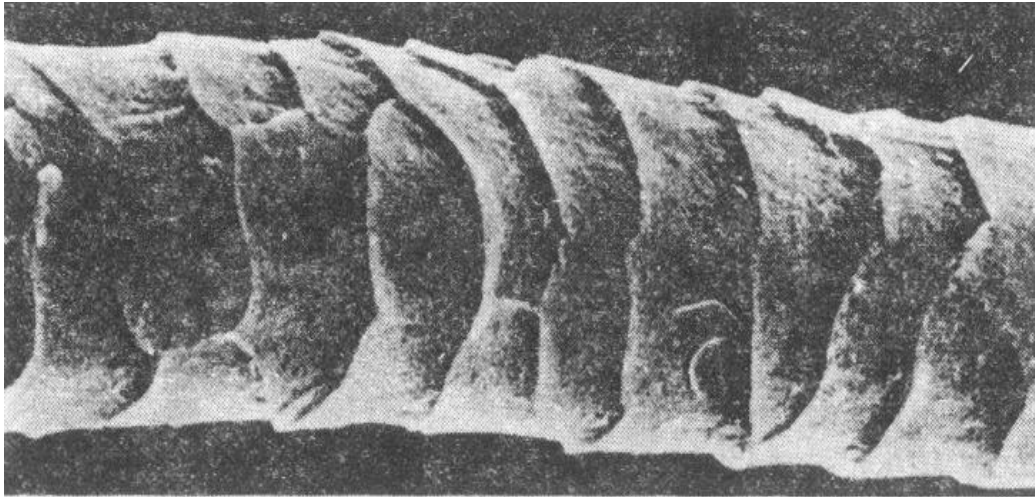
Şekil 2.10 Yün lifinin kısımları [161]

Epiderm : Kütikül de denilen epiderm tabakası, elyafın en dış yüzeyidir. Lifin mikroskop altında görülen yüzeyi bu tabakadır. Görünüm; balık pulları veya damdaki kiremitler şeklinde olup yünün pullu yapısı; bu elyafın diğer elyaf türlerinden kolaylıkla ayırt

edilmesini sağlamak suretiyle yün lifinin tanınmasında karakteristiktir Bu tabaka elyafın iç kısmının korunmasına yardım eder ve ona bir miktar sertlik verir.

Yün lifinin üzerindeki pulların şekli ve dizilişleri, lifin temel özelliklerine etki eder. İnce yünlerde tek bir pul, lifin tamamını sarar. Kalın liflerde ise, çap ile birlikte pulların sayısı da artar. Pulların yüksek ve düzgün oluşu da lifin yüzeyinin düzgün olmasına; buna bağlı olarak da parlak olmasına yol açar.

Son yıllarda elektron mikroskobu ile yapılan araştırmalarda, kütikül (epiderm) tabakasının dıştan içe doğru, epikütikül, eksokütikül ve endokütikül olmak üzere üç kısımdan oluştuğu bulunmuştur.



Şekil 2.11 Yün lifinin elektron mikroskobu altındaki görünümü [162]

Bu kısımların kimyasal ve mekanik davranışları farklıdır. Kütikül tabakası, boyarmaddenin elyafa nüfuz etmesine karşı direnç gösterir. Özellikle epikütikül tabakası, boyama bakımından çok önemlidir. Çünkü bu tabaka lifi kaplayan hidrofob bir tabaka olduğundan, boyarmadde çözeltilerinin lif içine girmesini engeller. Fakat son derece ince (50-100 m μ) oluşu nedeniyle dış etkenlere maruz kalan elyaf uçlarında bulunan kısmı tahrip olmuştur. Ayrıca fiziksel ve kimyasal işlemlerle de kolayca uzaklaştırılır. Tahribatın derecesi boyama kolaylığını tayin eder.

Korteks : Kütikül tabakasının alt kısmında korteks tabakası bulunur. Bu tabaka fibriler yapıda kortikol hücrelerinden meydana gelmiştir. Yün elyafın % 90'ı kortikal hücrelerinden ibaret olup, elyafın esas kısmını bu hücreler oluşturur.

Yünün doğal rengi, esneklik özellikleri, gerilme kuvveti, boyanabilme yeteneği ve dayanıklılığı kortikal hücrelerinin yapılarına bağlıdır. Korteks hücreleri, yapılarındaki keratinin farklı modifikasyonda olması ve farklı miktarlarda sistin içermeleri nedeniyle; kimyasal dayanıklılığı ve izoelektrik nokta gibi diğer özellikleri farklı iki ayrı bölümden ibarettir. Korteks tabakası; ortokorteks, parakorteks olmak üzere iki ayrı yarım silindirden meydana gelmiştir. Bunlardan kimyasal reaktif ve enzimlere daha az dayanıklı olan bölgeye; ortokorteks, daha dayanıklı kısma ise; parakorteks denir. Ortokorteks ve parakorteks hücreleri kimyasal maddelere karşı farklı davranırlar. Ortokorteks hücrelerinin reaksiyon gücü, para-korteks hücrelerinininkinden daha yüksektir. Elyaf kıvrımlarının iç tarafında bulunan ortokorteks (asidofil kısım) asidik boyarmaddelere karşı büyük afinite gösterir. Kıvrımın dış tarafında bulunan parakorteks'e (basofil kısım) katyonik boyarmaddeler daha kolay nüfuz ederler. Bu farklı davranış, her iki tabakanın izoiyonik noktasının farklı oluşundan ileri gelir.

Medulla : Korteks tabakasının orta kısımlarında, elyaf boyunca uzanan ve medulla hücreleri ile gevşek şekilde doldurulmuş dar bir kanaldır. Çok ince liflerde bulunmaz. İnce yünlerde ise dar bir tek kanal halindedir. Kaba liflerde medulla bölgesi, birbirine paralel birkaç kanal halindedir [162].

2.9.2 Yünün Kimyasal Yapısı

Yünün kimyasal yapısına bakacak olursak, hayvandan elde edilen ham yün ile yıkanmış yünün bileşiminin oldukça farklı olduğu görülür. Yün, keratin denilen özel bir proteinden meydana gelmiştir. Kuru yünün yaklaşık olarak bileşimi şöyledir:

Keratin (Yün proteini)	% 33
Kir ve Pislik	% 26
Ter Tuzları	% 28
Yün Vaksı (Yağ)	% 12
Anorganik Tuzlar	% 1

Doğal yağların çoğu, 12–18 karbonlu yağ asitlerinin (karboksilik asit) bir trialkol olan gliserin ile yapmış olduğu esterlerdir. Fakat yün yağı, yağ asitleri ile karmaşık bir mono

alkol olan kolesterin ($C_{27}H_{45}OH$) ve onun izomeri olan izokolesterinden trer. Böyle büyük moleküllü alkollerin büyük moleküllü karboksilli asitlerle yaptıkları esterlere yağ değil, vaks (balmumu) denir.

Yn vaksı, sarımsı beyaz renkte ve organik zclerde znebilir bir maddedir. Yn yağı fazla miktarda su absorplama gücüne sahiptir. Örneğin ağırlığının % 80'i kadar su ile karışabilir ve krem kıvamında dayanıklı emülsiyon oluşturur.

Ham yn lifleri önemli lde çevreden gelen pislikleri tutup, doğal halde oldukça fazla kir içerir. Bu kirler, gres yağının çekici kuvveti, diğer bir ifadeyle yn vaksının yapışkanlığı nedeniyle lif üzerinde tutulurlar. Yapak yıkama ve karbonizasyon işlemleri ile gres yağı uzaklaştırılınca, kir de uzaklaştırılmış olur [162].

2.9.3 Yünün Fiziksel zellikleri

Yn oldukça dayanıksız bir liftir. Az miktarda hidrojen bağı oluşturmasından dolayı gerilme direnci ve kopma mukavemeti düşüktür. Yn ısladığında dayanıklılığı daha da azalır. Çünkü su molekülleri polimerdeki hidrojen bağlarının kopmasına ve amorf bölgelerdeki tuz bağlarının hidrolizine sebep olur.

Pamuk ve keten gibi bitkisel elyafla karışlaştırıldığında onlardan daha dayanıksızdır. Yn liflerinde incelik çok önemlidir ve lifin kalitesini belirler. İncelik s derecesi ile ifade edilir. s derecesi, varlığı düşünülen özel bir elyaftan eğirilmış olan en ince tek kat ipliği temsil eder veya başka bir deyimle 1 pound ağırlığındaki bir elyaftan 560 yard tek kat iplik elde ediliyorsa bu elyaflın derecesi 1 s'dir. Bu durumda örneğin:

60 s incelikteki bir elyaflın, tek kat 60 ipliğinin,

48 s incelikteki bir elyaflın, tek kat 48 ipliğinin,

1 s incelikte, olduğu varsayılan lifin kalınlığına eşittir.

Gerçekte en düşük kaliteli yn 32 s, en yüksek kaliteli yn 90 s'dir. s derecesi arttıķa lifin inceliği de artar.

Yn, en fazla nem çeken elyaftır. Kendi ağırlığının yarısı kadar nem çekebilir. Yünün fazla miktarda nem çekmesinin nedeni; yapısında amorf bölgelerin çok olması ve su

moleküllerinin kolayca polimer zincirler arasına girebilmesidir. Bunun yanında yapıdaki polar peptid grupları ve tuz bağları da su molekülleri ile ilişkiyi arttırıcı olarak rol oynar.

Yün liflerinin en önemli özelliği; nem çekme sırasında fazla miktarda ısı açığa çıkarmasıdır. Bu nedenle konfor ve sağlık bakımından kışın kullanılacak en uygun tekstil materyalidir.

Aranan diğer özellikler; yumuşaklık ve doğal rengin güzel oluşudur. Yünün kalitesi, yünün vücutta bulunduğu yere de bağlıdır. Gövdenin yan kısımlarında en yüksek kaliteli, yani en uzun ve ince lifler, bacaklarda ve boyun altında en düşük kaliteli yani en kısa ve kalın lifler bulunur. Yün kalitesinden söz ederken elyaf düğümleri (neps) ve boynuzsu elyaf (kemps) ten de bahsetmek gerekir. Kempler, boyarmadde çözeltisinin girmesine karşı direnme gösterdiklerinden, boyamaya zorluk veren kusurlu liflerdir. Dalgalı boyamaya neden olurlar.

Yünün buhar halindeki nemi absorplama kapasitesinin yüksek olmasına karşılık, soğuk suda ıslanması oldukça zordur. Bunun nedeni buharın korteks tabakasına kolay nüfuz edebilmesidir.

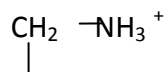
Uzun süre ışık altında kalan yün lifleri kırılğan ve gevşek bir hale gelir. Boyarmaddelere karşı ilgisi azalır. Renginde sararma görülür [9].

2.9.4 Yünün Kimyasal Özellikleri

Doğal ürünlerin pek çoğu gibi proteinler de, yüksek moleküllü polimer maddelerdir. Proteinlerin yapıtaşı amino asitler olup, bunların tür ve sayısı protein cinsine bağlı olarak çok farklıdır. Doğal proteinlerde bulunan amino asitler α -amino-monokarboksilli, α -w-diaminomonokarboksilli ve α -amino -dikarboksilli asitlerdir.

Glikokol hariç, bütün amino asitler asimetrik karbon atomu içerdiklerinden optikçe aktif özellik gösterirler.

Bir amino grubu ve bir karboksil grubu içeren amino asitler, sulu çözeltilerinde iç tuz halinde buldukları için hemen hemen nötral reaksiyon gösterirler.



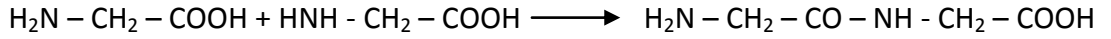


Amino asitler, amfoter karakterdedirler. Hem asitlerle, hem de bazlarla tuz oluştururlar.



Amino asitler, her amino asit için belirli bir pH değerinde olan izoionik noktada zwitter iyon, bunun daha üstündeki pH'larda anyon, daha altındaki alanlarda katyon şeklinde bulunurlar.

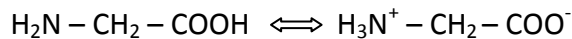
Amino asitlerden protein sentezi peptitleşme sayesinde olur. Amino asit moleküllerinden birinin α mevkiindeki amino grubu ile diğerinin karboksil grubu arasından bir mol su ayrılmasıyla iki amino asit birbirine bağlanarak dipeptit, peptitleşmenin daha da ileri gitmesiyle de polipeptit meydana gelir.



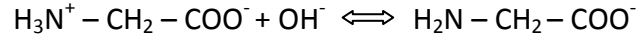
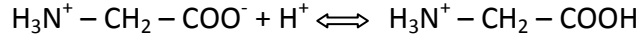
Çok sayıda ve çeşitli amino asit moleküllerinin birbiri ile birleşmesi sonucu, peptit bağı denilen karakteristik asit amid grupları (-CO-NH-) oluşur. Aynı bağlanma şekli sentetik elyaf olan naylon ve perlon elde edilmesinde de önem taşır.

Peptitleşme sonucu oluşan uzun protein zincirinin bir ucunda serbest amino, diğer ucunda serbest karboksil grubu yer alır. Ayrıca molekül içerisinde de diamino-monokarboksilli ve monoamino-dikarboksilli asitlerden doğan serbest amino ve karboksil grupları bulunur. Aynı molekülde hem amino, hem de karboksil gruplarının varlığı nedeniyle protein molekülü amfoter karakterdedir.

Elektrikçe, nötral durumlarda amino asitlerde ve keza proteinlerde iki formülün varlığı kabul edilebilir. Biri elektrik yükü olmayan $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$ şekli, diğeri elektrik yüklü zwitter iyon $\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$ şekli. Bu iki şekil denge halindedir. Fakat denge şiddetle sağ tarafın lehine kaymıştır.



H⁺ iyonu konsantrasyonunun artmasıyla karboksil gruplarının disosiyasyonu azalır. OH⁻ iyonları konsantrasyonunun artmasıyla amino gruplarının yükü ortadan kalkar.



Görüldüğü gibi, proteinler ortamın pH'ına bağlı olarak, katyon veya anyon haline geçerler. Bu nedenle gerek anyonik boyar maddelerle, gerekse katyonik boyar maddelerle tuz bağı oluşturabilirler.

Proteinlerde, her protein türü için karakteristik olan belirli bir pH alanında, disosiyasyon olan amino ve karboksil gruplarının sayısı birbirine eşittir. Ters yüklü gruplar iç tuz oluşturmuşlardır. Bunların yanında yüksüz tanecikler de vardır. İzoyonik denilen bu durumun pH değeri her protein türü için farklı olup serbest amino ve karboksil gruplarının sayısına ve bu grupların disosiyasyon sabitine bağlıdır.

İzoyonik durumda proteinin reaksiyon yeteneği minimum, stabilitesi maksimumdur. İzoelektrik nokta; proteinle çözücü arasındaki potansiyel farkının sıfır olduğu noktadır. Amino asitlerde izoyonik nokta ile izoelektrik nokta aynıdır.

Yün gibi suda çözünmeyen proteinlerde ise, yüzey yükü izoelektrik noktayı tayin eder. İzoelektrik nokta, kullanılan tampon sistemine bağlı olarak yünde pH 3,4–4,5'dur.

Yün proteini yan gruplarda asidik (-COOH) ve bazik (-NH₂) gruplar içerir. Bu gruplar tüm moleküle hem asidik hem de bazik özellik kazandırır. Bu bakımdan yün, hem asitlerle hem de bazlarla reaksiyon verebilen amfoter bir maddedir. Bu özelliği, boyamada büyük kolaylık sağlar. Anyonik ve katyonik boyarmaddelerle iyonik bağlar yaparak boyanır [161].

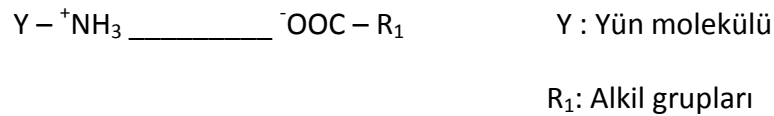
2.10 Yünün Yapısının Boyamaya Etkisi ve Boyama Mekanizması

2.10.1 Yünün Yapısının Boyamaya Etkisi

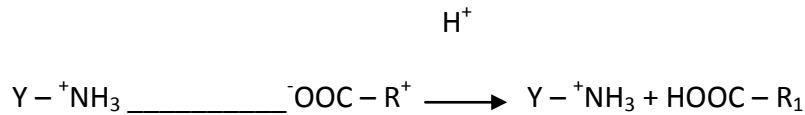
Yünün boyanmasında fiziksel faktörler, örneğin elyafın fiziksel yapısı çok önemlidir. Aynı kalitedeki bir örnekte bile, yün liflerinin çapı oldukça farklıdır. Boyarmaddenin

elyaf içine difüzyonu yüzeyde meydana geldiğinden ve ince liflerde materyalin birim ağırlığına tekabül eden birim yüzeyin daha fazla olmasından, genellikle ince lifler, kalın liflere göre boyarmaddeyi daha çok adsorplar. Diğer taraftan kalın ve ince lifler aynı % şiddetinde boyarmadde içerdiklerinde, ışığın ince liflerden geçmesine karşılık, kalın ve renkli liflerde yansımaları nedeniyle kalın lif, ince life göre daha koyu renkte görülür.

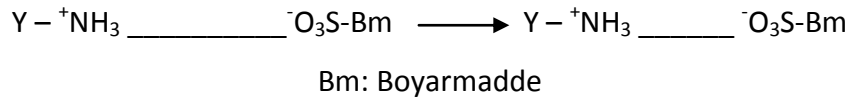
Boyarmaddenin yavaş nüfuz etmesinin diğer bir sebebi de; yüzeyde yün yağının kalmış olmasıdır. Fakat boyama hızı en fazla hidrofob karakterli epikütikül tabakasının yıpranma derecesine bağlıdır. Epikütikül tabakası kimyasal işlemlerle uzaklaştırılmışsa, boyarmadde düşük sıcaklıklarda bile elyaf içerisine kolayca nüfuz edebilir. İşlem görmemiş bir yünde, epikütikülün durumu sadece liften life değil, tek bir lifte bile lifin bir ucundan diğer ucuna değişir. Lifin fiziksel özelliklerindeki farklılık açık olarak bilinmişse, özellikle boyarmadde karışımları kullanıldığında 'Skittery' boyama denilen dalgalı boyama ortaya çıkar [161].



İzoyonik noktanın altındaki (pH = 4,9 - 5) pH'larda, iyon halindeki amino grupları serbest kalır.



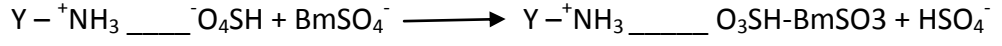
Orta derecede asidik karaktere sahip bir boyar madde ilave edildiğinde, boyar maddenin anyonu, amino gruplarıyla elektrostatik çekim kuvvetleriyle bağlanır [163].



Boyama asidik ortamda yapıldığı için, boya banyosuna ait sülfirik asit, formik asit, asetik asit gibi bir asit ilave edilir. Asit protonları karboksil gruplarıyla birleşmekte, geriye kalan anyonu ise boyar maddenin anyonuyla birlikte boya banyosunda bulunmakta ve yün lifin (+) yüklü amino gruplarının etrafındaki miktarları fazla olmaktadır. (+) yüklü

amino gruplarıyla hem asidin anyonu hem de boyar maddenin anyonu birleşir. Asit anyonları daha küçük olmaları sebebiyle ilk olarak amino gruplarıyla birleşir [163].

Fakat diğer taraftan, asit kökünün amino grubu ile meydana getirdiği tuza nazaran daha çabuk disosiyeye olduğu için zamanla asit köklerinin yerine boyarmadde anyonları geçer.



Boyarmadde anyonlarının asit köklerine nazaran daha dayanıklı tuz meydana getirebilmeleri, bunların yün moleküllerine yalnız elektrostatik çekim kuvvetleriyle değil, aynı zamanda Van der Waals, dipol kuvvetleri ve hidrojen kuvvetleri gibi yardımcı kuvvetlerle de bağlanmalarıyla izah edilebilirler. Asit boyarmaddeleri ile yapılan boyamaların yüne olan bağları bazik ortamda azalır. Bazın tesiri ile karboksil gruplarının disosiasyonu artar ve (+) yüklü amino gruplarının bir kısmı karboksil anyonlarına bağlanacağı için boyarmadde anyonu açıkta kalır, hatta (-) yüklü karboksil anyonları tarafından itilir.

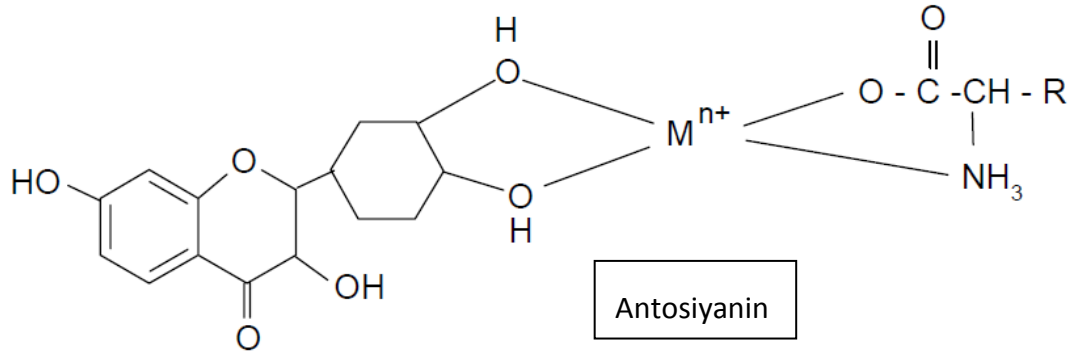
Diğer boyarmadde gruplarına gelince; bazik boyarmaddelerle bazik ortamda en iyi neticeler elde edilir. Asidik ortamda, disosiasyonu azalan karboksil gruplarına boyarmadde katyonları bağlanamaz. Kuvvetli bazik ortamda ise, boyarmadde molekülünün disosiasyonu azalacağından yüne bağlanma olmaz.

Kromkompleks boyarmaddelerinde de boyarmaddenin anyonu ile yünün (+) yüklü amino grupları elektrostatik çekim kuvvetleri ile bağlanmaktadır. Buna ilave olarak boyarmadde molekülündeki krom ile yündeki yüksüz amino (-NH₂) grubu arasında koordinatif bağlar meydana gelir [164].

2.10.2 Yün Boyamada Mekanizma

Boyamaya; pH, kullanılan mordan tuzunun türü ve boyama zamanı etki etmektedir. Boyama mekanizması aşağıda verilmiştir [165].

Boya..... Mordan Yün
(Mⁿ⁺)



Burada boyarmadde molekülü geçiş metali katyonu ile oksijen atomları üzerinden birleşmekte sonra yün üzerindeki serbest amino asitlerle kompleks yaparak koordinasyon sayısını tamamlamaktadır. Ortamın pH derecesine göre kompleksin oluşumu değişmektedir. En iyi dereceler zayıf asidik ya da nötr ortamda alınmaktadır [165].

2.11 Yapılan Yün Boyama İşlemleri

1) Mordansız Boyamalar

2) Mordanlı Boyamalar

- Ön Mordanlama
- Birlikte Mordanlama
- Son Mordanlama

2.11.1 Mordansız Boyalar

Boyamaya hazır hale getirilmiş yünün, herhangi bir mordan ile temas ettirilmeden direkt olarak boyarmadde ile boya banyosunda birlikte muamele edilmesiyle yapılan boyamalardır.

2.11.2 Mordanlı Boyalar

Mordan: Boyarmaddenin yün üzerine iyi bir şekilde bağlanmasını sağlayabilmek için kullanılan organik ya da inorganik maddelere denir.

Gül yaprağından elde edilen boyarmaddenin moleküllerinde, bazı metal katyonlarıyla dayanıklı koordinasyon bileşikleri yapabilecek gruplar bulunur. Başka bir deyimle, bu boyarmaddeler, yün içerisinde metal iyonlarıyla birleşerek sulu ortamda yapılan işlemlere karşı yüksek haslık gösteren ve **lak** denilen suda çözünmeyen metal kompleksleri oluşturma özelliğine sahiptirler. Boyama sonucunda yün içinde meydana gelen metal-boyarmadde kompleksi, yüne van der Waals kuvvetleri ile bağlanır.

Koordinasyon, batokromik değişimle orantılıdır. Kompleksleşen boyarmadde daha uzun dalga boylu ışınları absorplar. Aynı zamanda boyamanın ışık ve sürtünme haslığı da artar.

Mordan olarak suda çözünmeyen hidroksitler veren alüminyum, demir, kalay, krom gibi metallerin tuzları kullanılmaktadır.

•Ön Mordanlama

Yün → Mordan maddesi → Boyarmadde

•Birlikte Mordanlama

Yün + Mordan maddesi + Boyarmadde

•Son Mordanlama

Yün → Boyarmadde → Mordan maddesi [161].

Yaptığımız boyama çalışmasında 8 farklı tuz kullanarak mordanlı boyama yapılmıştır. Ayrıca mordan olarak tannik asitte kullanılmıştır. 10 farklı boyama yöntemi kullanılarak 66 parça yün kumaş boyanmıştır.

2.11.3 Tannik Asit İle Beraber Yünlü Kumaş Boyama

Tannik asitle beraber kumaş boyama üzerine yapılan literatür araştırmalarında, tannik asidin, mordanın kumaşa daha iyi bağlanmasını sağlamak suretiyle boyama kalitesini yükselttiği ve bunun yanında proteinlerle kuvvetli bir şekilde kompleks oluşturabilen

oldukça yüksek molekül ağırlıklı madde olduğu, antibakteriyel ve antibite gibi etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu literatür araştırmalarında; çeşitli boyama metotlarına rastlanıldı. Bu metotlar şöyledir:

1-Tannik asit+Mordan→Boya

2-Boya →Tannik asit+Mordan

3-Tannik asit→Boya→Mordan

4-Tannik asit→Mordan→Boya

5-Mordan→Boya→ Tannik asit

6-Mordan→ Boya

7- Boya →Tannik asit →Mordan

8- Tannik asit+Mordan+ Boya

9- Tannik asit→Boya

10-Sadece boya [166].

Yaptığımız çalışmada, bütün boyama metotlarında, boyamaya uygun olarak hazırlanan 5g ağırlığındaki yünlü kumaş parçacıkları, renk şiddeti % 2 olacak şekilde, pH:4'te hazırlanan tampon çözeltiler ve çeşitli mordan tuzları kullanılarak, yukarıda verilen on yöntemle göre 100 °C' de mordanlama işlemleri için 30 dakika ve boyama işlemleri için 1 saat kaynatma sürelerinde kaynatılmak suretiyle ATAÇ (YK-0,64) boyama test makinesinde (kapalı) boyandı.

2.12 Tannik Asit İle İlgili Literatür Araştırmaları

●Tanen polimerinin yapısı, hümik maddelere yapısal olarak çok benzemektedir. Polimerin yapısındaki hidroksil grupları, metaller ile kompleks oluşumunu sağlar. Tannik asidin uzun yıllardan beri bilinen antibakteriyel ve anti-korrozif etkisi, son yıllarda yapılan çok yönlü araştırmalarla tekrar gündeme gelmiştir [167].

●Bu çalışmada, tannik asidin proteinle kuvvetli kompleks yaptığı gözlenmiştir [168].

●Tıpta, nar kabuğundan elde edilen tanninin, kültür hücrelerindeki, genital herpes virüs (HVS-2)'e karşı antiviral aktivitesi gözlenmiştir [169].

●İpek elyafın antibakteriyal aktivitesi üzerine yapılan bir çalışmada, metal iyonlarının sulu çözeltilerinde, düşük pH'da tannik asit kullanılarak ve kullanılmayarak denemeler yapılmıştır. Metal iyonlarının sulu çözeltileriyle, tannik asit kullanılmadan yapılan çalışmada, elyaf üzerinde kararsız metal komplekslerinin oluştuğu ve antibakteriyal aktivitenin gerçekleşmediği gözlenmiştir. Tannik asit kullanıldığında ise bu komplekslerin oldukça kararlı oldukları ve kuvvetli antibakteriyal özellik gösterdikleri saptanmıştır [170].

●Kumaşların renklerine tannin uygulaması üzerine yapılan bu çalışmada, tannin kimyası, kaynakları, test metotları incelenmiş ve tannik asit kullanılarak, pamuk materyal boyanmıştır [171].

●Bu çalışmada, pyoverdin boyası ile, titan ve/veya zirkonyum elementlerinin bileşiklerinden oluşan mordan tuzları kullanılarak, sarı renkte elyaf elde edilmiştir. Mordanlamada bağlayıcı olarak tannin kullanılmıştır. Ayrıca mordan olarak kalay, bakır, krom, demir ve kobalt elementlerinin bileşikleri de kullanılmıştır. Yün iplikleri % 15 titan(III)klorür çözeltisi içeren ortamda 30 dak. kaynatıldığında, sarı renk aldıkları saptanmıştır [172].

●Tannin ve potasyum şapı'nın sulu çözeltileriyle muamele edilmiş kumaşların titan iyonu içeren sulu çözeltiyle mordanlandığı bu çalışmada, yün kumaş önce tannin ve potasyum şapı içeren sulu çözeltiyle 50°C' de; 30 dakika yıkanmış ardından % 20 titan (III) klorür çözeltisiyle 80°C'de; 10 dakika ve 100°C' de; 30 dakika muamele edilerek mordanlanmıştır [173].

●Japonya'da, siyah renkli elyaf boyama üzerine indigo boyası kullanılarak denemeler yapılmıştır. Bu çalışmaya göre indigo boyası ile doyurulmuş elyaf numune önce tannik asit sonra demir(II) sülfat ve demir(III) klorür bileşikleriyle muamele edilerek, yıkamaya karşı son derece duyarlı siyah renkli elyaflar elde edilmiştir [174].

●Tannik asitle ilgili yapılan bu çalışmada, allergen azaltılmasında tannik asitin halılar üzerindeki kimyasal davranışı incelenmiştir. Tannik asit ile halılarda, kurtçuk ve diğer allergenlerin seviyesini azaltmak için denemeler yapılmış ve allergenlerde tannik asitin etkileri değerlendirilmiştir. Benzilbenzoat ve iki halı temizleyicisi ile temizlenen halılarda, böceklerden gelen allergenlerin azaldığı fakat benzilbenzoat ve tannik asidin

birlikte kullanılması ile, allergenlerin % 64 ten daha büyük bir oranda azaldığı gözlenmiştir [175].

●Deri üzerine yapılan bu çalışmada, tannik asit ilavesiyle, derinin işleme kalitesinde artış gözlenmiştir. İşlenmemiş deri önce % 9-10 üre ve amonyum sülfat ile muamele edilmiş, daha sonra tannik asit ilave edilerek krom ve alüminyum metallerinin bağlanması sağlanmıştır [176].

●Deride doğal kusur ve yara izleri boyanırken tannik asit ilavesinin etkileri üzerine yapılan bu çalışmada tannik asidin, mükemmel derecede nüfuz etme özelliği, düşük boya sarfiyatı, yüksek renk seviyesi ve yoğunluğu, boyamayı daha kolay bir şekilde bitirme ve abrajsız boyama ile yüksek kaliteye sahip deri elde etmeyi sağladığı saptanmıştır [177].

● Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} ve Ag^+ metal kompleksleri içeren ipek elyafın hazırlanması ve antibakteriyal aktiviteleri üzerine çalışılmıştır. Metallerin, sulu tannik asit çözeltisi ile muamele edilmiş ve edilmemiş ipek elyafa bağlanması, yüksek ve düşük pH'larda ayrı ayrı çalışılmıştır. Düşük pH'da, tannik asit ile muamele edilmemiş elyaf üzerinde, kararsız metal kompleksleri oluştuğu ve metal iyonlarının düşük konsantrasyonlarından dolayı, antibakteriyal aktivite göstermediği saptanmıştır. Diğer taraftan, yine düşük pH'da tannik asitle muamele edilmiş elyaf üzerinde, tannik asitle Cu^{2+} , Fe^{2+} ve Ag^+ metal kompleksleri oluşmuş fakat komplekslerin tespiti yetersiz kalmıştır ve sadece Ag(I)-tannik asit kompleksinin antibakteriyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Yüksek pH'da ise Cu^{2+} , Zn^{2+} ve Ni^{2+} metalizasyonu ile meydana gelen komplekslerin, kuvvetli antibakteriyal aktivite gösterdikleri belirtilmiştir. Metal-tannik asit kompleksleri yolu ile metallenen ipek elyaflara, bu şekilde antibakteriyal özellik kazandırılmıştır [178].

●Doğal ipeğin siyaha boyanması ve önceden mordanlanmayan ipek kumaşın Fe(III)-tannat ile muamelesinin kimyasal mekanizması, spektroskopik olarak çalışılmıştır [179].

●Rehmannia ekstraktı ile kumaş boyama üzerine yapılan bu çalışmada, kumaş önce tannik asit ve isteğe bağlı olarak tartar emetikle, bunu takiben mordan tuzu ve daha sonra da Rehmannia ekstraktı ile muamele edildiğinde, morumsu siyah renk oluşmuştur. Özel bir testte % 100 bakteri imha özelliğinin kazanıldığı görülmüş ve ışık haslığı; 3-4, yıkama haslığı ise; 4-5 olarak tespit edilmiştir [180].

•Yapılan bu çalışmada, pamuklu kumaşların, önce tannik asit ve mordan tuzu ile daha sonra imenden ekstrakte edilen boya ile muamele edildiklerinde, iyi bir renk haslığı ile antialerjik ve antibakteriyal özellikler kazandıkları belirtilmiştir [181].

•Yapılan bu çalışmada, yün kumaş önce tannik asit ve alüminyum sülfat ile sonra Alizarin Fast Blue ERL ile 15 dak. 100°C'de muamele edildiğinde, soluk fakat kalıcı bir renk elde edilmiştir [182].

KURAMSAL TEMELLER

3.1 Spektroskopik Yöntemlerle Miktar Tayini

Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında, absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının ölçülmesi ve yorumlanmasıdır [183].

Her madde, üzerine düşürülen ışıklardan bazılarını absorplayabilir. Maddenin hangi dalga boylarındaki ışınları 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 Spektrofotometresi** denir. Bu bölgedeki ışınların absorplanmalarının ölçümlerini temel alan 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 yapmasına sebep olur. UV ve görünür bölge ışınları, moleküllerde benzer etki yaptığı için birleştirilmişlerdir [184].

3.1.1 Absorpsiyonun Nicel Yorumu

Işığın geçiren bir kap içerisinde bulunan bir madde üzerine I_0 şiddetindeki monokromatik ışın demeti gönderilecek olursa demetten bir kısım ışın yansır (I_y), bir kısmı maddenin tanecikleri (iyon, molekül) tarafından absorplanır (I_a), bir kısmı çözültide bulunan büyük ve büyükçe moleküller tarafından etrafa saçılır (I_s), bir kısmı da çözültiden geçer (I). Bunlar arasında,

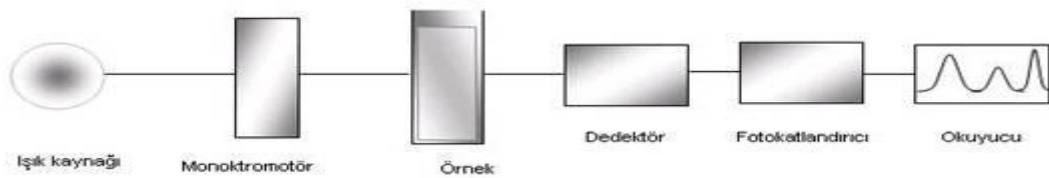
$$I_0 = I + I_a + I_y + I_s$$

şeklinde bir bağıntı vardır [184].

Burada amaç, ışık şiddetinin madde tarafından absorplanan ışık miktarını ölçmektir. Bu nedenle saçılma ve yansımada olan kayıpların engellenmesi gerekir. Bu amaçla I_0 şiddetindeki ışın demeti birkaç kez çözücüden birkaç kez de incelenecek maddeyi içeren çözültiden geçirilir. Saf çözücüden geçen ışık şiddeti I_0 olarak alınır. Maddeyi içeren çözültide yansıma, saçılma, absorplama, saf çözücüde ise sadece yansıma ve saçılma gerçekleşir [184].

3.2 UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri

Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe **absorpsiyon spektrometresi** veya **absorpsiyon spektrofotometresi** denir. Bir spektrofotometre düzeneği başlıca ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi ve dedektörden oluşur. Dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür. Bu ana bileşenlere ek olarak spektrofotometrelerde ışığı toplamak, odaklamak, yansıtmak, iki demete bölmek ve örnek üzerine belli bir şiddette göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüleri ve giriş çıkış aralıkları vardır. Örnek ise, kullanılan dalga boyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına konularak ışık yoluna yerleştirilir [184].



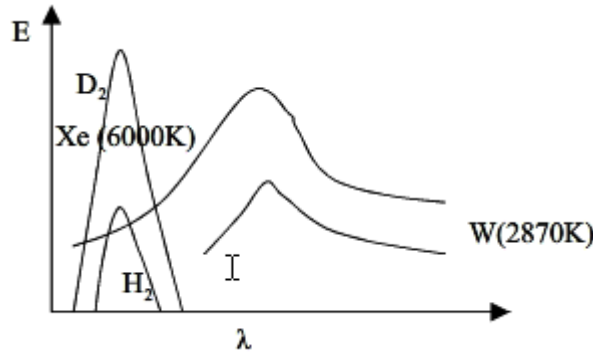
Şekil 3.1 Tek kanallı bir absorpsiyon spektrofotometresinin blok diyagramı

3.2.1 Işık Kaynakları

UV ve görünür bölgede döteryum (D_2), tungsten (W), hidrojen (H_2) ve ksenon (Xe) gibi sürekli ışın kaynakları kullanılır. Ultraviyole bölgede en çok kullanılan lambalar hidrojen veya döteryum elektriksel boşalım lambalarıdır.

Bu lambalar 180 nm ile 380 nm dalga boyu aralığında ışık yayar. Daha pahalı ve daha uzun ömürlü olan D_2 lambasının yaydığı ışının şiddeti H_2 lambasının ışığına göre daha fazladır. UV ve görünür bölgenin tümünde (150 nm – 700 nm) kullanılabilir bir başka şiddetli ve sürekli ışık kaynağı, Xe ark lambasıdır. Bundan başka civa buhar lambası da her iki bölgede ışın yapabilen bir ışık kaynağıdır. Civa buhar lambası, sürekli spektruma ek olarak kesikli hatlar da içerir. Ksenon ve civa lambaları daha çok lüminesans spektroskopisi yönteminde ışık kaynağı olarak kullanılırlar.

Kuartz, 200 – 320 nm arasındaki ultraviyole ışığı geçirdiğinden bu bölgedeki ışıkla çalışabilmek için, lambaların pencereleri, mercekler, örnek kapların duvarları ve dedektörün giriş penceresi kuartzdan yapılır. 320 – 700 nm arasındaki bölgede ise, bu kısımların camdan yapılmış olması yeterlidir [184].



Şekil 3.2 D_2 , W, H_2 ve Xe lambalarının yaydıkları sürekli ışın spektrumları

3.2.2 Dalga Boyu Seçicisi

Genel olarak spektroskopik cihazlar, analit tarafından absorplanan veya yayılan dar bir ışın bandını diğer ışınlardan ayırıp seçebilecek bir sistem gerektirir. Bu sistemler cihazın hem seçiciliğini hem de duyarlılığını büyük ölçüde artırır. Dar bir ışın bandı elde etmek için kullanılan iki tip dalga boyu seçiciden biri filtreler, diğeri ise

monokromatörlerdir (Çizelge 3.1). Monokromatörlerin dalga boyunu, geniş bir dalga boyu aralığında sürekli olarak değiştirebilme üstünlüğü vardır [185].

Çizelge 3.1 Spektroskopide kullanılan dalga boyu seçicileri

Tipi	Dalga boyu aralığı (nm)
Sürekli Değiştirilebilen	
Şebekeli Monokromatör	100 – 40000
Prizmalı Monokromatör	120 – 30000
Sürekli Olmayan	
Girişim Filtreleri	200 – 14000
Absorbsiyon Filtreleri	380 – 750

3.2.3 Dedektörler

Maddenin ışığı absorplayıp absorplamadığını anlamak için ışık kaynağından gelen ışığın şiddetinin ölçülmesi amacıyla spektrofotometrelerde kullanılan bileşene **dedektör** adı verilir. Bir dedektörün ışığa karşı duyarlı olması ışık şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi, üzerine düşen ışığa cevap verme, yani sinyal üretme süresinin kısa olması, kararlı olması ve üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılabilmesi istenir. Ultraviyole ve görünür bölgede kullanılabilen üç tür dedektör vardır.

Bir absorbsiyon spektrumundaki değişmelerin sadece incelenen örneğin özelliği olduğundan emin olabilmek için, absorpsiyon ölçümünün yapıldığı her dalga boyunda aynı olması istenir. Bu yüzden kaynağın şiddetinin az olduğu ve dedektörün duyarlılığının düşük olduğu dalga boylarında ışığın geçtiği aralık geniş tutulur ve daha şiddetli ışık elde edilir. Ancak bu durumda, ışığın bant genişliği büyük olduğu için monokromatiklikten sapmalar olur. Günümüz elektronik teknolojisini kullanarak foto çoğaltıcı dedektörlerle çok düşük şiddetteki ışımaya söz konusu olduğunda bile, fotonları tek tek saymak mümkündür. Foton sayma adını alan bu yöntem spektrofotometrik uygulamalarda giderek daha yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Daha hızlı bir

dedektör türü fotodiyot dizisidir. Fotodiyot dizisi ile birçok dalga boyu değerlerinde, aynı zamanda ve çok hızlı bir biçimde ölçüm yapmak mümkündür. Bu nedenle özellikle bilgisayarlı spektrofotometrelerde kullanılmaktadır. Fotodiyot dizisindeki her bir fotodiyot, farklı dalgaboyundaki ışığın şiddetini ölçebilmektedir. Bu tür dedektörlerin kullanıldığı spektrofotometrelerde dalga boyu seçicisi diğer uygulamalarda olduğu gibi ışık kaynağı ile örnek arasına değil, örnek ile dedektör arasına yerleştirilir. Bu tür bir optik yerleştirmede, ışık kaynağından gelen ışığın tümü birden örneğe gönderilerek duyarlık arttırılmış olur [184].

3.2.4 UV ve Görünür Bölge Spektroskopisinin Uygulama Alanları

Bu yöntemin başlıca uygulamaları 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 absorplanmasına dayanan analiz yöntemleri nicel analiz için oldukça yararlı ve güçlü yöntemlerdir. Bu yöntemlerin klasik yöntemlere göre önemli avantajları vardır:

- Analiz süresi kısadır. Sonuç çabuk alınır.
- Doğruluk derecesi yüksektir. Çoğunlukla analizlerdeki hata binde bir veya iki civarındadır.
- Son derece duyarlı bir yöntemdir. 10^{-8} M a kadar seyreltik çözeltilerin bile analizleri yapılabilir.
- Her maddenin kendine özgü bir absorpsiyon spektrumu olduğu için seçiciliği yüksektir. Çoğunlukla bir karışımdaki maddeler bir ön ayırma işlemine gerek kalmaksızın analizleri yapılabilir.

- Hem organik hem de anorganik pek çok molekül UV ve görünür bölge ışınları absorpladığından uygulama alanı geniştir.

3.3 Türev Spektroskopisi

Spektrumların birden fazla türevlerinin alınması spektrumların daha iyi analizini ve çizgileri düzelterek daha da belirginleştirmesini ve zemin spektrumundan gelen gürültülerin giderilmesini sağlamaktadır. Bu teknik ya doğrudan ya da sayısal algoritmalarla elde edilen eğrilere uygun fonksiyonlar elde edildikten sonra uygulanır. Bir eğrinin veya onun matematiksel fonksiyonunun türevinin alınması basit bir bütün bölgeye ait eğim hesabıdır.

Absorpsiyon (A), aşağıdaki gibi tanımlanır.

$$A = \log(I_0/I) = \log(1/T) = c\epsilon'$$

ϵ' çözeltinin absorpsiyon molar katsayısıdır.

$$\epsilon' = \epsilon / 2,303$$

I_0 sabit tutulursa birinci türev için;

$$dA/d\lambda = c d\epsilon'/d\lambda$$

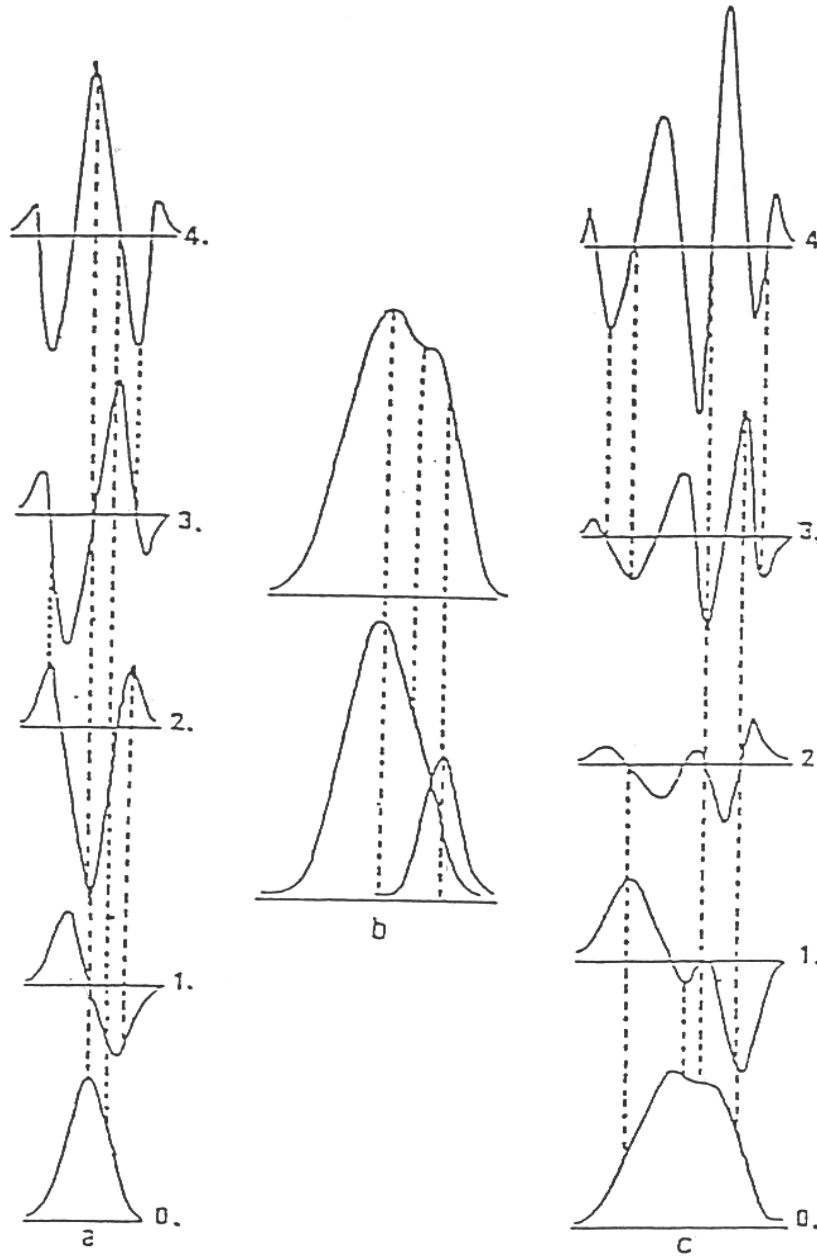
ve ikinci türev için,

$$d^2A/d\lambda^2 = c d^2\epsilon'/d\lambda^2$$

n. derece türev için;

$$d^n A/d\lambda^n = c(d^n \epsilon'/d\lambda^n)$$

Her durumda A'nın bütün türevleri c konsantrasyonuna lineer oransal olur. Bu türevsel spektrumların açıklanması ve hesaplanması için büyük bir avantajdır. Bu yüzden pratikte A'nın türevleri yaygın olarak üretilir. Bazen A'nın türevinin alınması türevlerin konsantrasyona lineer olmayan bağımlılığını verebilir. Bu Beer kanununa uyulmadığında uygulanabilir. Örnek olarak, madde molekülleri arasında veya maddeyle çözücü arasında etkileşim oluşması veya ortak pik ya da tam tersi durumların olması ana sinyalleri etkiler, bu durumda daha düşük veya daha yüksek derece türev alma hesaplanır [186].



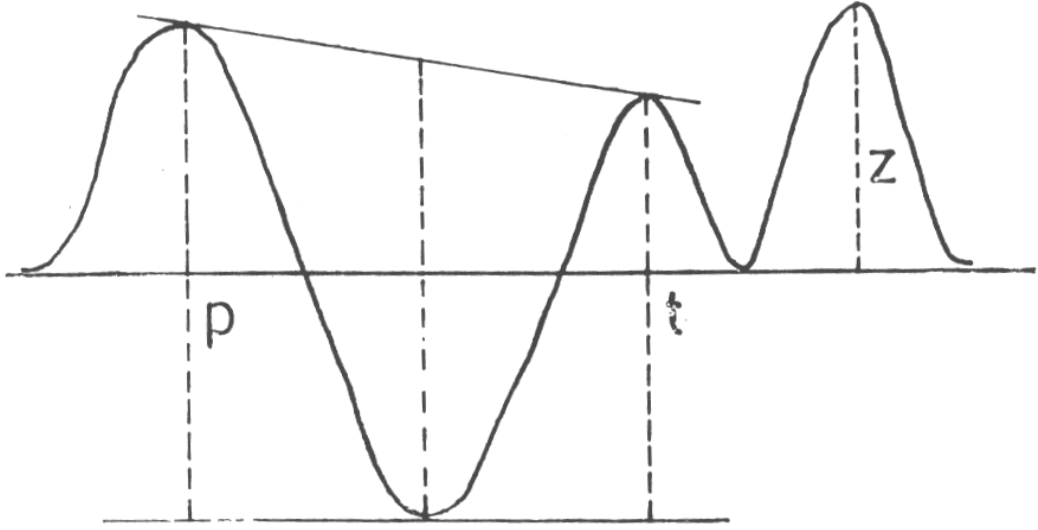
Şekil 3.3 Çeşitli şekillerdeki Gauss diyagramlarının türev spektrumları [186, 187].

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

3.3.1 Türev Spektrumunun Değerlendirilmesi

Birinci ve ikinci türev spektrumunda ordinat değişimleri normal spektrumdaki ordinat değerinin büyüklüğü ile değil, eğim değişimi ile ilişkili oluşu nedeniyle türev eğrisinin apsisteki konumu ile dönüm noktalarının birbirine karşı durumları karakteristik olur.

Nicel analizlerde yalnızca bitişik, peşpeşe ekstremum noktaları değerlendirilerek bu iki noktanın mutlak değer olarak farkı ölçülür. Birkaç ekstremum nokta varsa ordinat farkının en yüksek olduğu bir bitişik çift seçilir.



Şekil 3.4 Türev spektrumlarının değerlendirilmesi [188]

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

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

c. Pikten Sıfıra Ölçüm Yöntemi : Ölçümü yapılacak olan pikin maksimumu ile sıfır arası veya minimumu ile sıfır arası uzaklığı ölçülür. Özellikle apsise göre simetrik sinyaller içeren yüksek derece türevler için üst üste çakışan eğrilerden biri sıfırdan geçtiğinde kullanılır. Bulanık örneklerde bulanıklık genellikle spektrumun kısa dalgaboyu tarafına doğru artar. 1. ve 2. türevde nicel analiz için kullanılan yukarıdaki yöntemler bu artışın etkisini ortadan kaldırır [188].

3.3.2 Türev Spektrumunun Avantajları ve Dezavantajları

Avantajları

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

Dezavantajları

- a.** Kullanımı çok kolay olmasına karşılık pahalı spektrofotometrelere ve oldukça karmaşık bir elektronik yapıya ihtiyaç vardır.
- b.** Türev spektrumlarında çok sayıda uydu pikleri görülür. Bu pikler, bir karışım ile çalışılır iken başka bileşenlerin de varlığını gösterir. Türev derecesi arttıkça bu cins piklerin sayısı da artacağı için karışıklık daha da fazla olacaktır [188, 189].

3.3.3 UV-VIS Bölge Türev Spektroskopisinin Uygulamaları

Anorganik Analizler

Anorganik analizlerde türev spektrofotometrisinin kullanımı özellikle metal iyon karışımlarının tayininde son yıllarda ilerleme kaydetmiştir. Bununla birlikte anyonların analizleri zorlukla araştırılmaktadır. Sadece sudaki nitrit ve nitratın lineer regresyon türev spektrofotometrisi kullanılarak aynı anda tayininin anlatıldığı çalışmalar vardır.

Organik Analizler

Üçlü ve ikili organik bileşik karışımları Türev Spektrofotometrisi kullanılarak geniş olarak analiz edilebilmektedir. Farmasötik formülasyonlar en çok denenen karışımlar olmalarına rağmen diğer farklı karışımlarda da (antioksidanlar, pestisitler, herbisitler vb.) yapılan analizler iyi sonuçlar vermektedir. Organik analizler çerçevesinde; farmasötik analizler, aminoasitler, proteinler ve diğer biyolojik bileşiklerin analizleri, besin analizleri, klinik ve adli analizler, boya analizleri, polimerlerin analizleri ve çevresel analizlerden bahsedilebilir.

Farmasötik Analizler

Türev spektrofotometrisi tekniği farmasötik formülasyonlarda kolayca uygulanmaktadır. Bu, iki ya da üç komponentli farklı kimyasal yapıları karışımların farklı pikli UV-VIS spektrum ve farklı genlik göstermesi sayesinde. Uygulamaların çoğunluğunu, ticari preparatlarda bir arada bulunan ilaç aktif maddelerinin aynı anda analizi oluşturmaktadır. Bu analizlerde genellikle pik-sıfır tekniği kullanılmıştır.

Türev spektrofotometrisi, yakın UV'de zayıf absorpsiyon gösteren aromatikleri de içeren matriks bozucu etkilerini gidermede özellikle kullanışlıdır.

Aminoasitler, Proteinler ve Diğer Biyolojik Bileşikler

Türev spektrofotometrisi aminoasitlerin özellikle de fenilalanin, tirozin ve triptofan karışımlarının analizlerinde geniş olarak kullanılmaktadır.

Proteinlerin Karakterizasyonu

İzoenzimlerin veya izoproteinlerin ayrılması, papaverin hidroklorür ve barbanil ile teobroninin ayrılması için bir ikinci türev spektroskopisi araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır.

Klinik ve Adli Analizler

Türev spektrofotometrisi biyolojik ortamlarda yapılan analizlerde karışımların aynı anda analizi veya zemin absorpsiyonu ve ışın saçılması gibi etkilerin giderilmesi amacıyla kullanılmıştır. Türev spektrofotometrisi kullanan farklı yöntemler, kan içinde hemoglobin ve oksihemoglobin tayini için olduğu kadar biyolojik sıvılarda farklı farmasötik bileşiklerin tayini için de tanımlanmıştır.

Besin Analizleri

Genel olarak türev teknikleri özellikle yiyeceklerdeki katkı maddelerinin tayinleri için (renklendirici, tat arttırıcılar) kullanılmaktadır.

Boyalar

Türev spektrofotometrisi boyaların identifikasyonu, saflık testleri ve karışımlarının kantitatif analizine uygulanmıştır.

Polimer Analizleri

Türev spektrofotometrisi kullanılarak yapay polimerlerin bozunma kinetikleri incelenmiştir. Türev spektrofotometrisi kopolimer kompozisyonu, bir polimer örneğindeki dönüştürülmemiş monomerlerin tayini, sentetik polimerlerdeki katkı maddelerinin analizi ve proteinler ve diğer doğal ya da sentetik makromoleküllerin karakterizasyonu gibi analitik problemlerin çözümlenmesinde başarıyla kullanılmaktadır.

Çevresel Analizler

Yüksek dereceli türev absorpsiyon spektrofotometrisi atık sulardaki yağın, karmaşık örnek ekstraksiyonu işlemlerinden kaçınılarak ve diğer kimyasal türlerin bozucu etkilerinden kurtarılarak tayini için kullanılmaktadır. Atık sularda fenol ve anilin, içme suyunda pentaklorofenol, su örneklerinde nitrat, petrol fraksiyonlarında alkil

naftalenler, kömür katranında antrasen, piren ve naftalen, alkolde eser benzen tayinleri türev spektrofotometrisinin uygulamaları arasındadır [190].

3.4 Fark Spektrofotometrik Yöntem

Karışımlarda yer alan çeşitli maddeleri kantitatif olarak analiz etmeyi ya da matriks etkisi nedeniyle küçük derişimlere rağmen hassas bir ölçüm sağlar. Fark yöntemi ile spektrofotometrik analizlerin doğruluğu ve seçiciliği belirgin bir biçimde geliştirilmiştir. Fark yönteminin önemli özelliği eşit kütlelere sahip çözeltilerin farklı formlarını elde etmektir. Diğer absorban maddelerin varlığında fark spektrumlarının uygulama kriterleri şunlardır:

- Bir ya da daha fazla belirteç eklenmesi örneğin spektrumunda tekrarlanabilirliğini azaltır.
- Girişim yapan bileşenlerin absorbansları belirteç eklenmesi ile değişmez.

Örneğin spektral özelliklerinin değişimi asit, baz ve tampon çözeltileri ile yapılır. Birçok örneğin UV-VIS absorpsiyon spektrumları iyonize olabilen fonksiyonel gruplar içermektedir. Örneğin fenol, aromatik karboksilli asit ve aminler gibi. Fonksiyonel grupların iyonize olmaları çözeltilerin pH'sına bağlıdır. Eğer örneklerin asit ve baz değerleri konsantrasyonları ile orantılı ise $\Delta A: \Delta abc$ dir. Girişim yapan bileşenlerin etkisini azaltmak ve absorbansın değişmesini engellemek yani ΔA prosedürünün seçiciliği pH değerlerinin doğru seçimine bağlıdır. Analitin ΔA değerlerinin uygun olabilmesi için 0,1 M HCl ve 0,1 M NaOH kullanılması gerekir. Böylece girişim yapabilecek bileşenlerin absorbans etkileri en aza indirilmiş olur [191].

Fark yönteminin ilkesi, monomerik antosiyaninlerin pH 1,0' de renkli oksonium formunun egemen olmasına dayanmaktadır. Buna göre ortam pH 1,0 ve pH 4,5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır. Yöntem son derece basit ve duyarlıdır. Ortamda antosiyanin parçalanma ürünlerinin, renkli polimerlerinin veya diğer girişim yapan bileşiklerin bulunması durumunda bile yöntem çok duyarlı sonuç vermektedir [192]. Aynı ilkeye dayanarak iki ayrı pH için (pH 1,0 ve pH 7,0) da çalışma yapıldı.

Aşağıda belirtilen standart yöntemden farklı olarak pH 4,5 tamponu ile hazırlanan çözeltiler referans hücreye, pH 1,0 tamponu ile hazırlanan çözelti ise numune hücreye konularak fark absorbans değerleri okundu. Ayrıca pH 7,0 tamponu ile hazırlanan çözeltiler referans hücreye, pH 1,0 tamponu ile hazırlanan çözelti ise numune hücreye konularak fark absorbans değerleri okundu.

3.5 pH Diferansiyel Yöntemi (Standart Yöntem, AOAC Method, 2005,02.)

Diferansiyel yöntem, antosiyanin kromoforlarının yapısal değerlerinin pH'ın fonksiyonu olarak tanımlanması esasına dayanır. Yöntem ayrıca, girişim yapan kahverengi 'bozunma' ürünlerinin spektral davranışlarının incelenmesine dayanır [74]. Bozunma ürünleri genellikle pH'taki değişimden etkilenmez. Aynı dalga boyunda, iki pH değerinde ölçülen absorbanslar arasındaki fark, antosiyanin konsantrasyonuna eşit kabul edilir. Aradaki farkın alınması, girişim yapan maddelerden kaynaklanan absorbansın ihmal edilmesi anlamına gelir. pH 1,0 ve pH 4,5, diferansiyel yöntemde en çok tercih edilen pH'lardır. Dikkat edilmesi gereken bir nokta ise, pH'ın ayarlanması sırasında farklı antosiyanin türleri arasında denge oluşması için yeterli zamanın olmayışının yanlış sonuçlar doğurabilmesidir [75].

Standart yöntem olarak kullanılan bu yöntemde de fark yöntemin ilkesi geçerli olup ölçüm şekli farklıdır. 125 µg/mL stok antosiyanin çözeltisinden 2 seri olacak şekilde 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jöjelere aktarıldı. Birinci seri çözeltiler pH 1,0 tampon çözeltisi ve ikinci seri çözeltiler ise pH 4,5 tampon çözeltisiyle hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra 1. seri çözeltilerin (pH:1,0 ile hazırlanan) ve 2. seri çözeltilerin (pH:4,5 ile hazırlanan) distile suya karşı 300-800 nm dalga boyu aralığında ayrı ayrı alınan absorpsiyon spektrumlarında 530 ve 700 nm'deki absorbans değerleri okundu ve aşağıdaki eşitliğe göre hesaplama yapıldı.

$$A=(A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Bu eşitlikte belirtildiği gibi, pH 1,0 için 530 ve 700 nm dalga boylarında absorbanslar okundu ve absorbans değerleri birbirinden çıkarıldı. Aynı işlem pH 4,5 için tekrarlandı ve tek bir absorbans değeri elde edilmiş oldu.

Bu konuda yapılan çalışmalara kısaca bakacak olursak;

Jugmin Lee ve arkadaşları; pH diferansiyel yöntemi kullanarak meyve suları, içecekler, doğal renklendiricilerin toplam monomerik antosiyanin pigment içeriğinin belirlenmesi için çalışmalar yapmışlardır. Ticari laboratuvarları, akademik kurumları ve devlet laboratuvarlarını temsilen 11 kişinin katıldığı ortak çalışmada pH'daki değişme ile (pH 1,0'de renkli, pH 4,5'ta renksiz) antosiyanin yapısında meydana gelen değişmelere dayanan hızlı ve basit bir spektrofotometrik yöntem olan pH diferansiyel metodu ile toplam monomerik antosiyanin konsantrasyonu tayini yapılmıştır [193].

Jungmin Lee ve Chad E. Finn; Avrupa ve Amerikan mürver çeşitlerinde antosiyaninleri, toplam fenolik madde miktarını, briks, titrasyon asitliği ve pH değerlerini incelemişlerdir. Toplam monomerik antosiyanin tayini, pH diferansiyel yöntemi ile belirlenmiştir. 520 ve 700 nm'lerde absorbans değerleri ölçülmüş ve siyanidin-3-glikozit antosiyaninlerin baskın olarak bulunduğu HPLC çalışmaları sonucunda belirlenmiştir [194].

Gökhan Özen ve Mehmet Akbulut pH diferansiyel yöntemi kullanarak karadut suyu antosiyanin içeriğini araştırmış ve analizler sonucunda karadut suyu antosiyanin içeriği, karadut suyu baskın antosiyanini olan siyanidin-3-glikozit cinsinden bulunmuştur. Analiz sonucunda karadut suyu antosiyanin içeriği $367,7 \pm 4$ mg/L olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar yapılan diğer araştırmalarla karşılaştırıldığında karadut suyunun antosiyanince zengin bir ürün olduğu görülmüş, besleyici değeri yanında doğal renk maddesi olarak da kullanılabilceğini belirtmişlerdir [192].

3.6 Renk Kavramı

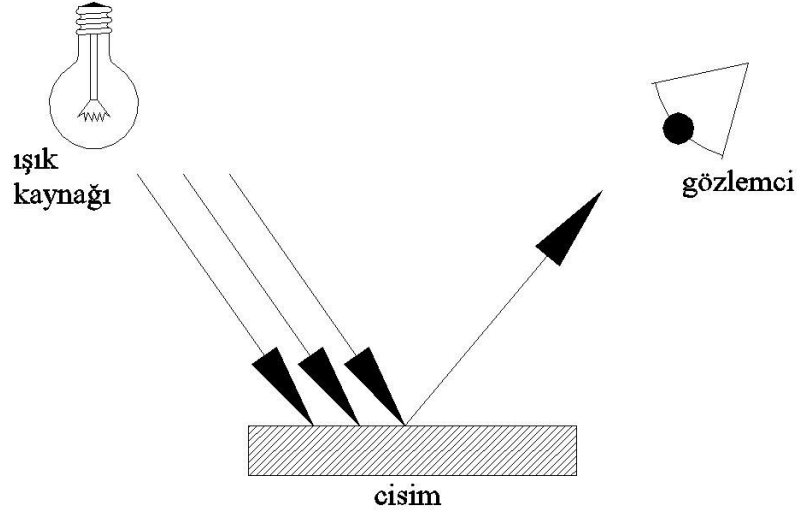
Renk belli bir ışık türü olup bu ışığın insan gözü üzerine etkisi veya algılayıcının zihninde bu etkinin sonucudur. İnsan gözünün, yaklaşık 10 milyon farklı rengi birbirinden ayırt edebildiği tahmin edilmektedir.

Renk ölçüm bilimi, bir rengi "sayısal" olarak ifade edebilmek üzere yapılan çalışmaları kapsar ve fizik, kimya gibi yalnızca malzemeye ait olan bilimlere değil, bunların yanında, psikoloji ve fizyoloji gibi biyolojik bilimlere de içine alır.

Bir rengin algılanabilmesi için:

- Işık kaynağına,

- Bu ışık kaynağının aydınlattığı bir cisme ve
- Rengi algılayacak olan “göz/beyin” veya benzer faaliyette bulunabilecek ek bir teçhizata ihtiyaç duyulmaktadır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Işık kaynağı, cisim ve gözlemci (Cisim Türü Algılama)

3.6.1 Işık Kaynağı

Işığın doğası ve renk kavramının anlaşılmasına ait en önemli çalışmalar Isaac Newton tarafından gerçekleştirilmiştir.

Elektromanyetik spektrum içerisinde *görünür alan spektrumu* 380-780 nm aralığında yer alır ve yaklaşık altı bölgeye ayrılabilir:

Mor 380-450 nm

Mavi 450- 490 nm

Yeşil 490-560 nm

Sarı 560-590 nm

Turuncu 590-630 nm

Kırmızı 630-780 nm

Yapısındaki değişkenliklerden dolayı, renk ölçümünde doğal ışık kaynağı olan güneş kullanılamaz, “yapay ışık kaynakları” kullanılır. Yapay ışık, esasen iki şekilde elde edilebilir:

- Akkor ışımaya (tungsten filamanlı lamba)
- Gaz deşarjı (fluoresans lamba)

Işık kaynakları, Spektral Enerji Dağılımı (SED) değerleri ile karakterize edilir. Bir ışık kaynağının SED’si, ışık kaynağının her bir dalga boyundaki radyoaktif ışımalarının gücüdür ($W.cm^{-2}.nm^{-1}$).

Yapay ışık kaynakları, mesela bir tungsten filamanlı lambanın radyasyonu (SED’ si):

- Lambanın ne kadar kullanılmış olduğuna,
- Boyutlarına
- Uygulanan voltaja göre değişiklik göstermektedir.

Bir ışık kaynağının önüne çeşitli renkte filtreler (jelatin veya sıvı filtreler) konmak suretiyle SED değerlerinde değişiklik yapılabilir. Bu durumda yeni SED değerlerine sahip bir “sistem” oluşturulmuş olacaktır. Eğer bu sistemin (gerçek bir ışık kaynağı ve filtre; örnek: tungsten filamanlı lambanın önüne farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4$ çözeltileri konarak elde edilen sistem, vb.) SED değerleri tanımlanmışsa ve renk ölçümü konusunda standartları oluşturan CIE (Commission Internationale de l’Eclairage, Uluslararası Aydınlatma Komisyonu) tarafından “standart kaynak” olarak adlandırılmış ise, bu ışık kaynağı “illüminant” veya “standart kaynak” olarak adlandırılır ve kullanıma sunulur.

Yapay ışık kaynaklarını kullanmak üzere seçerken, iki önemli hususa dikkat etmek gereklidir. Bunlar ışık kaynağının

- Lamba tesiri ve
- Renk oluşturma indeksi’dir.

Lamba tesiri, bilinen bir elektriksel güç girdisi için lamba tarafından yayılan ışığın miktarı olarak ifade edilmektedir. Renk oluşturma indeksi ise, seçilen referans bir ışık

kaynağı altında bir lambanın, standart renkler serisindeki renkleri, “gerçek renklerinden” ne derece değiştirebildiğinin ölçütüdür.

CIE (Commission Internationale de l' Eclairage, Uluslararası Aydınlatma Komisyonu), 1931 yılında, o zaman mevcut olan ve spektral karakterleri (SED değerleri) bilinen temel kaynaklarından bir seri standart illüminantın renk ölçümünde kullanımını önermiştir. Bunlar, gün ışığı ve tungsten filamanlı lambalardır.

CIE illüminant A: 2856 K renk sıcaklığına sahip bir siyah cisim radyasyon kaynağının SED değerlerine sahip, içi gaz dolu bir tungsten filamanlı lambanın ışığı olarak tanımlanmaktadır.

CIE illüminant B: 4875 K' deki direkt güneş ışığı simüle edilmeye (benzetilmeye) çalışılmıştır.

CIE illüminant C: 6774 K' deki ortam gün ışığı simüle edilmiştir.

CIE illüminant D: Renk sıcaklığı yaklaşık 6500 K' dir ve gün ışığı simüle edilmektedir.

Işık kaynakları, *SED değerleri* ile “tanımlanır” ve renk sıcaklığı yaklaşımı ile de “isimlendirilir”.

Bir ışık süzmesi, pigment partikülleri ile kaplı bir yüzey üzerine düşürüldüğünde bu yüzey tarafından

- yansıtılır (geldiği ortama geri gönderilir) (Frensel ifadesi),
- kırınımına uğratılır (Snell ifadesi),
- pigment partiküller tarafından absorblanır (Beer- Lambert ifadesi) veya
- saçınımına uğratılır (Kubelka- Munk ifadesi).

3.6.2 Cisim

Renk ölçümünde, *cisme* ait özellikleride tanımlamamız ve “sayısal” olarak ifade edebilmemiz gerekmektedir. Ayrıca, “ışık kaynağı-cisim-algılayıcı” üçgeninde (Şekil 3.6), bu üç unsurun birbirlerine göre yerleşimlerinin (konuşlandırılmalarının) tanımlanması standart (tekrarlanabilir) bir ölçüm için gereklidir. Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (CIE), “ölçüm geometrisi” adı altında dört temel ölçüm

pozisyonunu tanımlamıştır. Bunlar, ışık kaynağı, ölçüm yapılan yüzeyin “düzlem normali” ile yansıyan ışığı ölçen sistemin “konumuna” göre:

- 45°/ 0° ölçüm geometrisi,
- 0°/45° ölçüm geometrisi,
- diffüze/0° veya diffüze/8° ölçüm geometrisi ve
- 0°/diffüze ölçüm geometrisi olarak adlandırılırlar.

Üzerine bir ışık süzmesi (ışık demeti) düşürülen herhangi bir yüzeyden yapılan reflektans (yansıma), aynı ışık süzmesinin BaSO₄ ile kaplı beyaz plakadan yapılan reflektansı ile karşılaştırılarak (oranlanarak) “% Reflektans” olarak ifade edilir. BaSO₄ beyazının reflektans değeri, “100 birim” kabul edilmektedir.

3.6.3 Gözlemci

İnsan gözünün farklı dalga boylarındaki ışığa karşı davranışını ifade eden üç adet “hassasiyet eğrisi” elde edilmiştir ve deneklerin 2° lik gözlem açısı ile çalışmış olmalarından dolayı da bu eğriler, “2° Standart Gözlemci” veya “CIE 1931 Gözlemcisi” olarak tanımlanmıştır.

x λ : “kırmızı hassasiyeti” eğrisi,

y λ : “yeşil hassasiyeti” eğrisi,

z λ : “mavi hassasiyeti” eğrisi olarak adlandırılabilir.

“ λ ” indisi, bu eğrilerin dalga boyuna bağımlı olarak değiştiğini göstermektedir.

1964 yılında yapılan çalışmalarda daha büyük bir gözlem açısı (10°) kullanılmış ve CIE, elde edilen yeni hassasiyet eğrilerini “10° Standart Gözlemci” olarak tanımlamıştır. Günümüzde yapılan hesaplamalarda, bu gözlemciye ait değerler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu gözlemci değerleri ile hesaplama yapıldığının belirtilmesinde aşağıdaki notasyonun kullanılması gereklidir:

x **10, λ** : CIE 10° Standart Gözlemcisine ait “kırmızı hassasiyeti ” eğrisi,

y **10, λ** : CIE 10° Standart Gözlemcisine ait “yeşil hassasiyeti ” eğrisi,

z **10, λ** : CIE 10° Standart Gözlemcisine ait “mavi hassasiyeti ” eğrisi,

3.7 CIE Renk Ölçüm Sistemi

Bir cismin renginin doğru olarak algılanabilmesinde:

- ışıklandırma
- numune boyutu
- arka tarafındaki ve etrafındaki renkler gibi birçok faktör önemli rol oynamaktadır.

Bir cismin görünüşünü ele aldığımızda:

- cismin dokusu,
- parlaklığı ve
- rengi önemli faktörlerdendir.

Günümüzde hemen hemen tüm modern renk ölçümü, renk spesifikasyonu, CIE sistemine dayanmaktadır. Bu sistem, 1931' de oluşturulmuştur, buna rağmen temel yapı ve prensiplerde değişiklik yapılmaksızın bu tarihten itibaren yeni eklemeler ve düzeltmeler yapılmıştır. CIE sistemi, renk algılama teorilerinden ziyade deneysel gözlemlere dayanmaktadır. Renk ölçümünde, ışık kaynağı, gözlemci ve yüzey daima göz önünde tutulmalıdır.

3.7.1 Aditif ve Substraktif Olarak Renklerin Karşılaştırılması

Kırmızı, turuncu, sarı, yeşil, mavi ve mor renklerden oluşan ve gökkuşağında görülen spektrum renkleri, beyaz ışığın bir cam prizmadan geçirilerek beyaz bir ekran üzerine düşürülmesi yoluyla elde edilebilir. Aynı şekilde, spektrum renklerinin bir prizmadan geçirilerek yeniden bir araya getirilmesi ile beyaz ışık elde edilebilir. Ayrıca, beyaz ışık, "primer (birincil) renkler" olarak bilinen "kırmızı", "yeşil" ve "mavi" ışıkların bir araya getirilmesi ile de oluşturulmaktadır. Her primer renk, spektrumun yaklaşık 1/3' ünden oluşmuştur ve kendi aralarında tüm spektrum renklerini içerirler. Böylece, bunların kombine (beraberce) etkileri sonucunda "beyaz renk" açığa çıkar.

kırmızı + mavi : magenta

kırmızı + yeşil : sarı

mavi + yeşil : turkuaz

mavi + kırmızı + yeşil : beyaz

Primer renklerin ikili karışımlarından elde edilen magenta, sarı ve turkuaz renkleri, “sekonder (ikincil)” renkler olarak adlandırılır (Aditif olarak renklerin karşılaştırılması).

Çizelge 3.2 Renklerin karşılaştırılması

Cismin rengi	Yansıtılan ışık	Absorblanan ışık
Magenta	Mavi+kırmızı	Yeşil
Sarı	Kırmızı+yeşil	Mavi
Turkuaz	Mavi+yeşil	Kırmızı

Substraktif yöntemle, sekonder renklerin ikili karışımlarından primer renkler elde edilmektedir.

magenta+sarı: kırmızı

magenta+turkuaz: mavi

turkuaz+sarı: yeşil

magenta+sarı: siyah

Bir veya birkaç sekonder rengin farklı oranlarda karıştırılması ara renkleri oluşturacaktır. Dolayısıyla kırmızı, turuncu, sarı, yeşil, mavi-yeşil, mavi, violet ve mor’dan oluşan bir renk çemberini oluşturmak mümkündür. Bu renklerin her birinin belli oranlarda siyah ile donuklaştırılması yoluyla “tersiyer (üçüncül) renkler” meydana gelecektir.

Kırmızı (red), yeşil (green) ve mavi (blue) ışıkları sırasıyla [R], [G] ve [B] ile temsil edelim. c miktardaki [C] ışığını aşağıdaki şekilde elde edebiliriz:

$$c[C] : R[R] + G[G] + B[B]$$

Her primer rengin kullanılan miktarı R, G ve B, [C] renginin “tristimulus değerleri” (üç uyarıcıya ait değer) olarak bilinir.

3.7.2 Ölçülen Reflektans Değerlerinden Tristimulus Değerlerinin Hesaplanması

Rengi sayısal olarak ifade edebilmek için daha önce söz konusu edilen üç unsurun (ışık kaynağı, cisim ve gözlemci) “sayısal olarak tanımlanmasının” gerekli olduğu belirtilmişti. Işık kaynağı SED değerleri ile; cisme ait özellik, % reflektans değerleri ile gözlemciye ait özellik de Standart Gözlemci'nin “renk eşleme fonksiyonları” (renk hassasiyet değerleri) ile tanımlanmıştır. Her bir dalga boyunda bu unsurlara ait büyüklüklerinin çarpımlarının toplamı, bize o rengin sayısal değerlerini verecektir. Bu değerler, o rengin “ tristimulus” değerleri olarak adlandırılırlar ve X, Y, Z ile ifade edilirler.

3.7.3 Kromatisite Diyagramı

2° veya 10° Standart Gözlemci' ye ait değerlerin oranlarından hesaplanan “x” ve “y” değerleri ile çizilen grafiğe “kromatisite diyagramı” adı verilir. Her dalga boyu için x ve y değerleri, renk eşleme fonksiyonu dağılım katsayılarının kullanımı yoluyla hesaplanmaktadır:

$$x \square x_{\lambda} / x_{\lambda} + y_{\lambda} + z_{\lambda} \qquad y \square y_{\lambda} / x_{\lambda} + y_{\lambda} + z_{\lambda}$$

Bu diyagramda spektrum renkleri yer almaktadır. Herhangi bir renk, o renge ait tristimulus oranlarından “kromatisite koordinatları” nın hesaplanması yoluyla kromotisite diyagramı içerisinde gösterilebilir:

$$X \square X / X + Y + Z \qquad y \square Y / X + Y + Z \qquad z \square Z / X + Y + Z$$

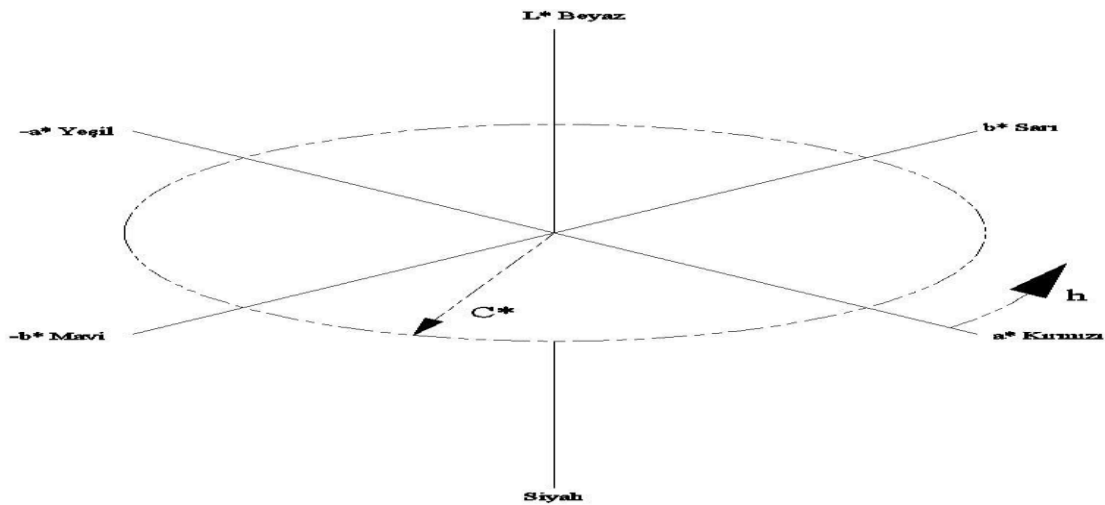
olup, her renk için $x+y+z=1'$ dir.

3.7.4 CIELab Sistemi

X, Y, Z tristimulus değerleri, rengi sayısal olarak ifade edebilmekle birlikte “renk” hakkında bilgi vermemektedir. Rengin daha kolaylıkla anlaşılabilir bir tanımını yapmak üzere 1976 yılında CIE, X, Y ve Z tristimulus değerlerinden hesaplanabilen L^* , a^* ve b^* şeklindeki üç koordinatı bulunan ve “CIELab Sistemi” olarak adlandırılan sistemi tanımlamıştır. Bu sistem tekstil endüstrisinde yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bu

parametrelerdeki “*” işareti, daha önce geliştirilmiş farklı renk sistemlerindeki benzer formüllerden CIE formüllerini ayırt edebilmek için kullanılmaktadır.

a^* ve b^* eksenleri birbirlerine dik açı yapar ve nötral noktada kesişir (parlaklığa bağlı olarak gri veya beyaz). Üçüncü eksen L^* , “açıklık/koyuluk” un (parlaklığın) bir ölçüsüdür ve a^* ve b^* eksenleri tarafından oluşturulan düzleme dik olup bu düzlemi nötral noktada kesmektedir. Aynı rengin farklı tonları, a^* ve b^* eksenleri tarafından oluşturulan düzlem içerisinde nötral noktadan dışarıya doğru uzanan bir hat üzerinde yer almaktadır. Burada, kırmızıdan sarıya doğru artış gösteren dönme açısı “ h ” (derece cinsinden), “rengin” bir ölçüsüdür. Örneğin, $h:0^\circ$ kırmızı bir renk tonuna, $h:90^\circ$ sarı bir renk tonuna, $h:270^\circ$ mavi renk tonuna karşılık gelmektedir. Nötral noktadan uzaktaki bir nokta, “kroma”yı (C^*) ifade eder ve bu da belirli parlaklıktaki (L^* değerindeki) bir rengin canlılığının (doygunluğunun) bir ölçüsüdür. Bir renk, ya L^* , a^* ve b^* ile ya da L^* , C^* ve h değerleri yardımıyla belirlenebilmektedir. Genel olarak, koloristik açıdan düşünüldüğünde rengin a^* ve b^* koordinatları yoluyla tanımlanmasından çok renk açısı h ve kroma C^* nin kullanımı yoluyla tanımlanması daha uygundur. Her iki durumda da L^* , rengin açıklık/koyuluğunun (parlaklığının) bir ölçüsünü ifade etmektedir. L^* nin değerleri, siyah için 0 değeri ile beyaz için 100 değeri arasında değişmektedir. Çok parlak renkler için a^* ve b^* nin en yüksek değerleri, +80 ve -80 arasındadır. Nötral nokta ($a^* = b^* = 0$) etrafında çizilen bir çember, sabit kromaya sahip bir renk çemberini tanımlamaktadır ve kırmızıdan başlamak üzere h açısı (derece cinsinden) rengin bir ölçüsüdür (Şekil 3.6).



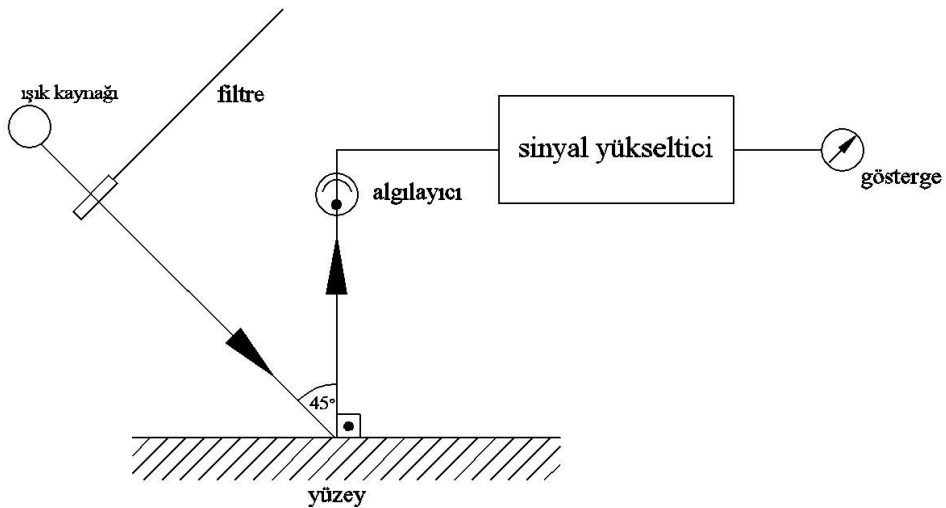
Şekil 3.6 CIE Lab renk uzayı

3.8 Renk Ölçüm Sistemleri

Mat yüzeylerden renk ölçümünde kullanılan cihazları üç grup altında toplamak mümkündür:

- Kolorimetreler,
- Reflektans spektrofotometreleri ve
- Dijital sistemler (dijital video, dijital kamera, vb.)

Trikromatik kolorimetreler basit yapılı cihazlar olup, bir ışık kaynağına, geniş band aralığına sahip üç farklı filtre serisi (genellikle *kırmızı*, *yeşil* ve *mavi* olarak adlandırılır) ve bir göstergesi bulunan algılayıcılara sahip cihazlardır. Işık hüzmesinin önüne renkli filtrelerden biri yerleştirilerek (mesela “kırmızı filtre”), ışık “beyaz standardın” üzerindeki gösterge % 100’ e ayarlanır. Ayarlama hiçbir değişiklik yapılmaksızın rengi ölçülecek numune, “standart” ile yer değiştirir ve numune tarafından yansıtılan kırmızı ışık yüzdesi (R) okunarak, beyaz standardındaki ile karşılaştırılır. “Kırmızı” filtre, sırasıyla “mavi” ve “yeşil” filtreler ile değiştirilir ve bu filtrelerin kullanımı ile ölçülen B (mavi) ve G (yeşil) yansıma değerleri aynı işlem yoluyla elde edilir. Ölçülen değerlerden (R, G ve B değerleri), tristimulus değerleri hesaplanır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Trikromatik kolorimetre

Reflektans spektrofotometreleri, görünür alan spektrumu boyunca bir numune üzerine düşen ışığın yansıtılan miktarına oranını (“reflektansı” nı) ölçer. Bu değer, “ %

reflektans” şeklinde ifade edilir. Bu reflektans spektrofotometresi aşağıdaki bölümlerden oluşur.

- Işık kaynağı
- Ölçüm küresi ve
- Spektral analiz ünitesi.

Son yıllarda hızla gelişen “dijital teknoloji” nin kullanımı ile de renk ölçümünü gerçekleştirmek mümkün olup, kontrollü ve standartlaştırılmış koşullarda gerçekleştirilen ölçümlerde “R” , “G” ve “B” değerlerinin X, Y ve Z tristimulus değerlerine dönüşümü gerçekleştirilebilmektedir [195].

3.9 Haslık Testleri ve Renk Kodlamaları

Önceleri haslığın belirtilmesinde ve test metotlarında uygunluk yoktu. Test metotları her işletmede farklıydı ve haslık değerleri bilimsel olarak belirtilmeyip, her fabrika kendi boyarmaddelerinin haslıklarını birbiriyle karşılaştırarak veriyordu. Bu nedenle çeşitli firmaların boyarmaddelerinin haslıklarının karşılaştırılması imkânsızdı. Haslık derecesinin tayininde standartlaşma, hem boyarmadde yapımcısı, hem de boyacı bakımından çok önemliydi. 1927 yılında İngiltere’de Tekstil Boyacıları Cemiyeti, haslık test yöntemleri belirleyerek, test metotlarını koordine etmek üzere çalışmalarına başladı. Işık, ter ve yıkama haslığı testlerini içeren ilk raporunu 1934’te, 4 elyaf grubu için 33 etkene kadar test metotlarını içeren ikinci metodunu ise 1948’de yayınladı. Amerika Birleşik Devletlerinde de Amerikan Tekstil Kimyacıları ve Boyacıları Birliği, bir haslık komisyonu kurdu. Bu komisyonun kabul ettiği testlerden bazıları prensip bakımından Avrupa’ninkilere uyuyordu. Fakat Pars-test denilen birçok testte, aynı şiddetteki boyamaya, birbirini takiben gittikçe artan şiddette bir seri test uygulanıyordu. Bu farkı kaldırıp, test metotlarında standartlaşmak için 1947’de uluslararası bir organizasyon [International Organisation for Standardization (ISO)] kuruldu. Bunun Teknik Komitesi, tekstile etki eden bütün sorunlarla ilgileniyordu. 1948’de ilk toplantısını yaparak, Renk Haslığı Alt Komitesi’ni kurdu. Bu iki cemiyet, uluslar arası organizasyon olan ISO’da çalışmaya başladılar. Haslık kontrollerinde kullanılan standartlar yardımı ile tekstil mamulünün bir özelliği sayısal değerlerle ortaya

konulabilmektedir. Bu özellik bir kullanım, bakım veya işleme ile ilgili kalite özelliği olabilir. Tekstil mamulünde bir özelliği değerlendirebilmek için genellikle birden çok standart deney sonucu gerekebilir. Örneğin, bir bakım özelliğinin tespitinde; renk, yıkama, kuru temizleme, ütü, ter, sürtme vb. haslık test sonuçlarını bir arada değerlendirmek zorunluluğu vardır.

Tekstil mamullerinin kullanım yerleri çok değişik olduğu için bazı haslık değerleri diğerlerinden daha önemli gelmektedir. Örneğin bir perde de ışık haslığı, mayoluk kumaşta deniz suyu haslığı, bir astarda ter ve sürtünme haslığı, gömleklik, pijama ve iç giyside yıkama haslığı vb. haslıklar tercih edilmektedir.

Haslıklar genel olarak ikiye ayrılır:

Kullanım esnasında istenen haslıklar: Işık, yıkama, sürtünme, deniz suyu, ter, ütüleme, kuru temizleme vb.

Üretim esnasında istenilen haslıklar: Asit, karbonize, merserize, soda, pişirme vb.

3.9.1 Haslık Kontrollerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Skalalar

Haslık kontrollerinin değerlendirilmesinde, mavi ve gri skalalar kullanılmaktadır. Işık haslığı; 8, diğer bütün haslıklar; 5 ölçeği üzerinden değerlendirilirler. 1; en düşük haslığı, diğer rakamlar; sırasıyla daha yüksek haslıkları gösterirler.

3.9.1.1 Mavi Skala

Mavi skala, ışık haslıklarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bunlar 200 g/m²'lik yünlü kumaşların aşağıda belirtilen boyarmaddelerle boyanması sonucu elde edilen 8 basamaklı skalalardır. 1. basamak en düşük ışık haslığını, 8. basamak ise en yüksek ışık haslığını göstermektedir. Mavi skalayı oluşturan boyarmaddeler özel olarak seçilmiş, ender bulunan boyarmaddeler olup, pratik olarak değişik klima şartlarından etkilenmemektedirler. Bu boyarmaddeler ve bunlara karşılık olan haslık değerleri Çizelge 3.3' de verilmiştir.

Çizelge 3.3 Mavi skalada kullanılan mavi yün elyafını boyayan boyarmaddelerin Colour İndeks numaraları ve değerleri

Boyarmadde (Colour Index'te gösterilişi)	Haslık Değeri	Anlamı
C.I.Acid Blue 104	1	Çok az
C.I.Acid Blue 109	2	Az
C.I.Acid Blue 183	3	Orta
C.I.Acid Blue 121	4	Oldukça iyi
C.I.Acid Blue 47	5	İyi
C.I.Acid Blue 23	6	Pekiyi
C.I.Solubilised Vat Blue 5	7	Mükemmel
C.I.Solubilised Vat Blue 8	8	Harikulade

3.9.1.2 Gri Skala

Haslıkları değerlendirmek için çeşitli sistemler denendikten sonra, gri karşılaştırma skalaları önerildi. İlk önce 24 aşamalı gri daire, daha sonra 18 aşamalı ve en son olarak bugünkü 5 aşamalı gri skala kabul edildi. Bugün iki ayrı ölçek kullanılmaktadır. Gri skala, ışık, gaz soldurması ve ağartma haslıkları dışında, diğer bütün haslıkların kontrolünde boyalı materyalin kendisine bitişik beyaz bir kumaşı lekeleme derecesini ölçmeye yarar.

Boyalı tekstil materyale, kendisiyle aynı veya farklı cinsten boyanmamış bir tekstil materyali ile sıkıca bir temasta olarak üretim veya kullanımı esnasında rastlayacağı koşullar altında çeşitli maddeler etki ettirilir. Boyalı örnekte meydana gelen renk değişikliği ve boyanmamış örneğin lekelenme derecesi bu gri ölçekler yardımıyla değerlendirilir.

Renk değişikliğini ölçmeye yarayan gri skalada beş çift gri renkli kumaş veya karton vardır. Her çift, gözle görülebilen farkı temsil eder. Şöyle ki; çiftlerden biri daima değişikliğe uğramamış orijinal şiddette, diğerleri ise derece derece azalan şiddetlerde boyanmıştır. Her çiftin temsil ettiği fark, belirli bir haslık derecesinin renk değişikliğine uyar. Bu gri tonların derecelenmesi NBS (National Bureau of Standarts) birimi cinsinden yapılır. 1 NBS birimi, renk şiddetinde aritmetiksel aralıklarla oluşturulan farklar mevcuttur. Eğer n, NBS biriminin keyfi bir sayısı ise aritmetiksel aralıklarla oluşturulan ölçekler çizelgede görüldüğü gibidir.

Çizelge 3.4 Aritmetiksel ölçek

Haslık Derecesi	Test Öncesi ve Sonrası Renk Farkı
5	0 NBS birimi
4	n NBS birimi
3	2n NBS birimi
2	3n NBS birimi
1	4n NBS birimi

Aritmetiksel aralıklarla oluşturulan ölçekte özellikle 3,4 ve 5 haslık derecelerindeki farklar oldukça küçük olduğundan, ölçek bu farkları yeterince kesinlikte gösteremez, oysa boyarmadde ne kadar has ise, küçük değişiklikler o kadar önemlidir. Bu bakımdan Mc Laren aşamaların üst kısımlarında birbirine daha yakın, alt kısımlarında daha uzak olduğu geometrik farklar ölçęini önerdi. Bugün 1945 yılında kurulmuş olan standardizasyon için uluslar arası organizasyon (International Organisation for Standardization "ISO")'nun tavsiye ettiği testlerde bu ölçek kullanılmaktadır.

Çizelge 3.5 Geometrik Ölçek

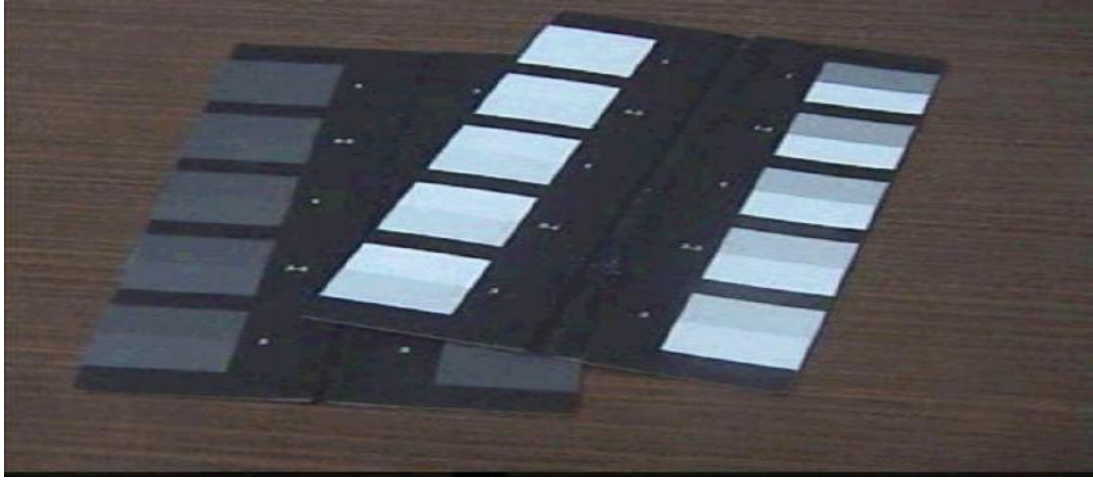
Haslık Derecesi	Test Yapılan ve Yapılmayan Örnekler Arasındaki Fark	ISO'nun Tavsiye Ettiği Ölçek
5	0 NBS birimi	0 NBS birimi
4	n NBS birimi	1.5 NBS birimi
3	2n NBS birimi	3 NBS birimi
2	4n NBS birimi	6 NBS birimi
1	8n NBS birimi	12 NBS birimi

Işık haslığı dışında haslıkların değerlendirilmesinde, gri skala kullanılmaktadır. Gri skala, 5 ölçekli bir skala olup, '1' değeri en düşük haslığı, '5' değer ise en yüksek haslığı göstermektedir. Değerlendirmelerde, iki ayrı gri skala kullanılmaktadır. Bunlardan biri, test sonucu boyalı materyalin renginde meydana gelen değişikliği ölçmeye yaramaktadır (Renk değişiminin değerlendirilmesinde kullanılan gri skala). Diğeri ise, boyalı materyalin kendisine bitişik beyaz bir kumaş (refakat bezi) ile sıkıca temasta olacak şekilde (sandviç gibi hazırlayarak) üretim veya kullanma esnasında rastlayacağı koşullar altında çeşitli maddelerle etki ettirilir. Boyalı örnekte meydana gelen renk değişikliği ve boyanmamış örneğe akma derecesi bu gri skalalarla saptanır.

Renk Değişiminin (Solma) Değerlendirilmesinde Kullanılan Gri Skala: Bu skala, beş çift gri renkli plaka veya kumaş parçasıyla hazırlanır. Çift numaralar renk koyuluğu renkli plaka veya kumaş parçasıyla hazırlanır. Çift numaralar arasında renk koyuluğu bakımından gözle görülebilir farklar vardır. Renk koyuluğu farkları, renk farkı formülüne göre saptanmaktadır. Bu farklar rakamlarla ifade edilen haslık değerlerini göstermektedir.

Akmanın (Lekeleme) Değerlendirilmesinde Kullanılan Gri Skala: Bu skala bir çift beyaz ve dört çift gri ve beyaz levha veya kumaş parçası ile hazırlanır. Gri tonlarda, görünen renk tonları mevcuttur.

Renk koyulukları farkı, renk farkı formülüne göre tespit edilmektedir. Bu farklar rakamlarla ifade edilen haslık değerlerini göstermektedir [196].



Şekil 3.8 Tüm lekeleme ve solma haslıklarının değerlendirildikleri gri skalalar

Akma derecesinin tayini için, test sonucu kirlenen materyal, boyanmamış orijinal kumaşla yan yana konur ve aralarındaki fark, Gri Skaladaki farklarla karşılaştırılır. Renkleri etkileyebilecek görünüm farklarını ortadan kaldırmak ve zeminin numunelerin görünümünü etkilemesini önlemek amacıyla, gerekiyorsa deneyden geçirilmiş ve geçirilmemiş numuneler, iki veya daha fazla katlı deneyden geçirilmemiş malzeme üzerine yerleştirilir. Yüzeyler, kuzey ışığı veya 600 lüks ve daha fazla bir aydınlatma verebilecek eşdeğer bir ışık kaynağı ile aydınlatılmalıdır. Işık, yüzeylere 45° açıdan gelmeli ve bakış yüzeye dik olmalıdır. Renk değerlendirme kabinleri içine yerleştirilen 45° açılı sehpa larla pratik olarak yapılır [9].

3.9.2 Işık Haslığı

Işık haslığı; ışığın renk giderme etkisine karşı, boyanmış ya da basılmış tekstil materyalinin direnç derecesidir. Gün ışığına maruz kalan materyaller, zamanla solacak ya da renk değiştirecektir. Bu özellik ışık haslığı olarak adlandırılır, gün ışığı haslığı denmez. Işık haslığı kontrollerinde kullanılan iki metot vardır:

1) Materyali bir cam altında genellikle kuzeye bakacak şekilde gün ışığında bırakmak

2) Soldurma lambası altında bırakmak: Bu işlem çok zaman alıcı olduğu için güneşin soldurma etkisini veren cihazların kullanımı ile hızlandırılmış yöntemler geliştirilmiştir. Haslık dereceleri 1 ile 8 arasındadır. Eğer hava şartlarına karşı renk haslığı istenirse, atmosferik nemin de solmanın derecesini etkilediği hesaba katılarak, test değişik hava şartlarında tekrarlanır. Bunlar genellikle; güneş ışığının az olduğu saatler için lamba yönünde ve güneş ışığının yoğun olduğu saatler için lambaya ters yönde 30 dakikada bir 1 dakika yağmurlama altında tutularak soldurma işlemi gerçekleştirilir.

Solma süreleri, mavi yün referansların solmaları kontrol edilerek ayarlanır. 4 numaralı mavi yün referans, gri skalaya göre 4'e kadar solunca değerlendirmeye alınabilir hale geldiği anlaşılır. Eğer soldurma mavi yün referansla yapılmaz, sadece yaşlandırma işlemi uygulanırsa boyanmış materyelin cihazda kalma süreleri belirtilmelidir.

Işık haslığı test lambası; renkli mamullerin ışık haslığını ölçmek için soldurmayı hızlandırmak amacıyla tasarlanmış bir alettir. Gün ışığına mümkün olduğunca yakın ışık özelliklerini sağlayan çeşitli elektrik lambası tipleri mevcuttur. Bu lambaların büyük bir kısmı, ışık kaynağı olarak karbon ark içerirken, bazı tipler de ksenon arkı içerebilirler [9].

3.9.3 Sürtme Haslığı, Sürtünme Haslığı

Sürtünmeyle rengini atma direnci; bir kumaşın temas halinde bulunduğu başka bir kumaşa rengini transfer etmeye, yani boyasını ona geçirmeye karşı olan direncidir. Yaş ve kuru hallerde olmak üzere iki durumda değerlendirilir. Sürtünme haslığı; boyanmış ya da basılmış bir materyalin, beyaz bir materyale sürtünmesi sonucu, bu materyali kirletme (boyama) derecesidir. Bu; özellikle koyu tonlardaki boyamalarda ortaya çıkan bir hatadır. Büyük ölçüde materyalin cinsine, boyarmaddenin life bağlanma şekline bağlıdır. Boyarmaddelerde sürtünme haslığı, binder kalitesine bağlı olmakla birlikte genellikle düşüktür.

- Sürtünme haslıkları, life kimyasal bağlanmada yüksek (reaktif boyarmaddelerdeki gibi), adsorbif kuvvetlerle bağlamada düşüktür.
- Kötü boyarmadde nufuziyetine sahip kumaşlarda yüzeyde boyanmış liflerin sürtünmeyle aşınması sonucunda, çok az renkli bir bölge kalır, rengi çabucak solar.

- Koyu renkler, açık renklere daha çabuk renk çıkarırlar. Koyu boyanmış kumaşın içinde ve yüzeyde daha fazla boyarmadde vardır. Bu nedenle sürtünmeyle daha fazla boyarmadde verirler.
- Baskılı kumaşlar, boyalı kumaşlardan daha kolay renk verirler. Çünkü, boyanın çoğu kumaşın yüzeyindedir, boyanmış kumaşlar gibi lifin içerisinde değildir.
- Yaş kumaş, kuru kumaştan daha kolay renk çıkarır, çünkü nem boyayı sökmek için yardımcı olur.
- Sürtünme haslığı; özellikle giyim eşyası ve döşemelik kumaşlarda önemlidir.

Yaş sürtünme haslığı: Kuru kumaşın rengini ıslak kumaşa transfer etmesidir.

Kuru sürtünme haslığı: Kuru kumaşın rengini diğer bir kuru kumaşa aktarmasıdır.

Örneğin beyaz polyester/siyah pamuktan oluşan koyu gri bir kumaşta, siyah pamuk liflerinin renkleri beyaz polyester liflerininkinden çok daha çabuk aşınacağından kumaş üzerinde açık gri ve beyazlanmış bölgeler oluşacaktır. Aynı nedenle; karışım boyamalarda da sorun olabilir. Yıkama ve kuru temizleme de test sonuçlarını etkileyebilir. Test böyle bir işlemde önce, sonra ya da hem önce hem de sonra yapılabilir. Testin tamamlanmasından önce örneğe sürtünmüş olan beyaz test kumaşın rengi gri skalalarla karşılaştırılarak haslık derecelendirilir [9].

3.9.4 Ter Haslığı

Boyalı ve baskılı tekstil ürünlerinin renginin, ter çözeltisi etkisine karşı gösterdiği solma direncine ter haslığı denir. Ter haslığı asidik ve alkali olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır.

Alkali ter haslığı

0,5 g/L L-histidinmonohidroklörür (kristal)

5 g/L Sodyum klorür

5 g/L Disodyumhidrojen fosfat

Bu karışımın pH'ı 0,1 N sodyum hidroksit çözeltisi ile 8'e ayarlanır.

Alkali ter haslığı

0,5 g/L L-histidinmonohidroklörür (kristal)

5 g/L Sodyumklorür

5 g/L Monosodyumhidrojen fosfat

Bu karışımın pH'ı 0,1 N sodyum hidroksit çözeltisi ile 5,5'a ayarlanır.

10x4 cm boyutlarındaki test numunesi iki refakat bezinin arasına alınır ve bir kısa kenarından dikilir. Numuneler asit veya alkali ter haslığı çözeltilerinden birisi ile 1/50 flotte oranında, oda sıcaklığında 30 dakika muamele edilir. % 100 flotte içeren numuneler hidrotest aletinde 5 kg ağırlık altında 37 °C'de 4 saat bekletilir. Bu süre sonunda alınıp 60 °C'yi geçmeyecek şekilde kurutulur. Akma ve renk değişimi gri skala ile değerlendirilir [197].

3.10 Analitik Kimyada Verilerin İstatiksel Değerlendirilmesi

Analitik yöntem doğrulaması, yöntemin amaçlanan analitik uygulamanın tüm gereklerini karşıladığının, laboratuvar çalışmaları ile kanıtlanması işlemidir. Doğrulamanın yapılması gereken durumlar:

- Tanınma testleri
- Safsızlıkların miktar tayini
- Safsızlıkların limit testleri
- Bitmiş üründe etken maddenin kantitatif analizi

Analitik yöntem parametreleri

a) Özgünlük

b) Doğrusallık

c) Konsantrasyon aralığı

d) Doğruluk

e) Kesinlik

- Gün içinde tekrarlanabilirlik
- Günler arası tekrarlanabilirlik
- Laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik

f) Deteksiyon limiti (LOD)

g) Kantitatif tayin limiti (LOQ)

h) Sağlamlık (Robustness)

i) Sistem uygunluk testi

3.10.1 Özgünlük

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

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

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

3.10.2 Doğrusallık

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

3.10.3 Konsantrasyon aralığı

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

3.10.4 Doğruluk

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

a) Standart ile karşılaştırma : Analiz edilecek madde karışık bir matriks içinde değilse bu yöntemden yararlanır. Saf standart madde sağlayan kuruluşlardan analiz

maddesinin standardı satın alınır. Farklı tartımla hazırlanmış en az üç farklı konsantrasyondaki çözeltilerden 3 defa ölçüm yapılır, çıkan sonuçlar başka bir yöntemle elde edile sonuçlar ile kıyaslanır ve rapor edilir.

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

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

3.10.5 Kesinlik

Üçe ayrılır:

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

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

c) Laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik : Farklı laboratuvarlarda yöntemin uygulanmasıdır. Pik alanı veya pik yüksekliği değerlerinin bağıl standart sapması hesaplanır.

3.10.6 Dedeksiyon limiti

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

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

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

c) Kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak istatistiksel hesaplamalara dayanan yöntem : Çalışılacak dalga boyu aralığı belirlendikten sonra, analizi yapılacak maddeyi içeren ve derişimleri bilinen bir dizi standart çözelti hazırlanır ve absorbans değerleri, standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı grafiğe geçirilir ve böylece bir kalibrasyon grafiği elde edilir. Bundan sonra bilinmeyen örneğin absorbans değeri ölçülür ve kalibrasyon doğrusunda bu değere karşılık gelen derişim saptanır.

3.10.7 Kantitatif Tayin Limiti

Kantitatif tayin limitinin hesaplanmasında yöntemin enstrümental olup olmadığına göre birkaç yaklaşım vardır.

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

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

c) Kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak istatistiksel hesaplamalara dayanan yöntem : Çalışılacak dalga boyu aralığı belirlendikten sonra, analizi yapılacak maddeyi içeren ve derişimleri bilinen bir dizi standart çözelti hazırlanır ve absorbans değerleri, standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı grafiğe geçirilir ve böylece bir kalibrasyon grafiği elde edilir. Bundan sonra bilinmeyen örneğin absorbans değeri ölçülür ve kalibrasyon doğrusunda bu değere karşılık gelen derişim saptanır.

[198, 199, 200].

3.10.8 Standart Ekleme Yöntemi

Kalibrasyon eğrileri içeriği bilinen standartlarla analitin kütle, hacim veya konsantrasyonunun grafiğidir. Gelen sinyaller neticesinde absorbans, elektromanyetik ışımının emülsiyon şiddeti, elektrokimyasal hücrenin potansiyeli veya akımı, kromatografik pik alanı vb. değerler ölçülebilir. Veriler genellikle doğrudan grafiğe

aktarılır. Grafik üzerinde doğrusal bir çizgi elde edilmiş fakat bazı noktalar dışarıda kalıyorsa lineer regresyon analizi ile en optimum doğru elde edilebilir. Kalibrasyon grafiklerinin kullanımı kolaydır. Çünkü numune içindeki analit konsantrasyonu eğriden kolayca okunabilir veya eğrinin doğrusal olduğu yerdeki faktörü kullanılarak hesaplanabilir.

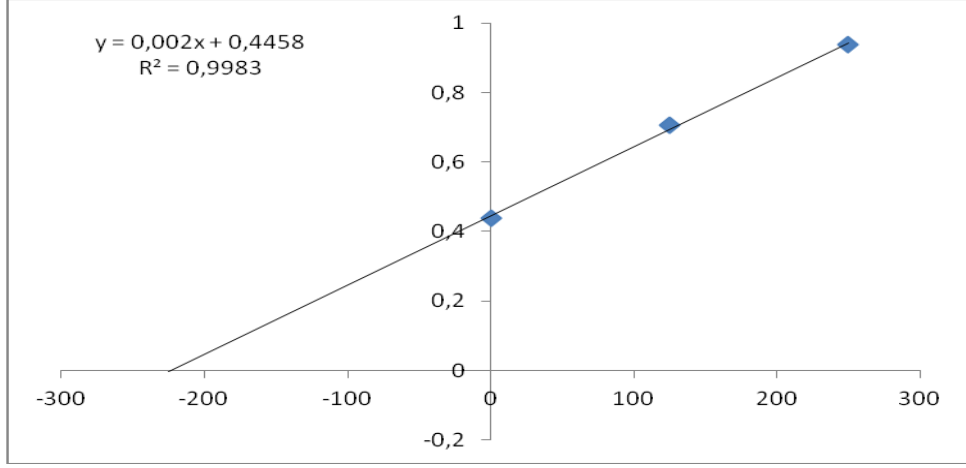
Kalibrasyon eğrisi yönteminde saf su içinde çözündürülmüş saf bileşiklerden elde edilen standart çözeltiler kullanılır. Diğer taraftan örneğin içinde bulunan bilinmeyen diğer maddeler ve diğer bileşik matrisleri analiz işlemi üzerinde girişimlerde bulunarak büyük sistematik hataların yapılmasına neden olurlar. Buna matris etkisi denir ve bunu önlemenin iki yolu vardır.

Bunlardan bir tanesi standart çözeltilerin içine bilinmeyen örnekte bulunduğu tahmin edilen maddeleri katmaktır. Bu yöntemin zorluğu bilinmeyen çözelti içindeki yabancı maddelerin ne olduklarını tahmin etmektir, zira matris bazen çok karmaşık bir karışım olabilir.

Daha genel bir yaklaşım da saf çözücü ve saf bileşik yerine örnekten bir standart hazırlamaktır. Burada bilinmeyen çözeltinin absorbansı ölçülür, içine belli miktarda bilinen bir bileşik ilave edilir ve ölçüm tekrarlanır. İki çözelti ilave yapılmadan önce ve ilaveden sonra aynı içeriğe sahip olmalıdırlar. Ayrıca içeriğe uygunluk sağlamak için bilinmeyen çözeltilerden pipetle birbirine eşit miktarlar alınıp, iki dereceli erlenmayer şişesine aktarılır ve ikisine de su ilave edilerek aynı hacme getirilir.

Analizi yapılacak çözeltilere belirli miktarlarda konsantrasyonu bilinen bir madde ilave edilir ve bu işleme Standart Ekleme yöntemi adı verilir.

Genel olarak kalibrasyon eğrisi yönteminde örneğe muhtelif standart ilavesi ile oluşturulan eğride en düzgün doğru elde edilir. X-ekseni ilave edilen standardın konsantrasyonu ise (Spike konsantrasyonu) Beer Kanununa göre eğrinin lineer olması gerekir [201].



Şekil 3.9 Standart Ekleme Eğrisi. Doğrunun y eksenini kestiği nokta bilinmeyen örneğin standart ilavesi yapılmadan verdiği absorbanstır. Bilinmeyen örneğin konsantrasyonu x-kesintisinden hesaplanabilir

BÖLÜM 4

DENEYSEL BÖLÜM

4.1 Malzemeler

4.1.1 Analizi Yapılan Materyal

Çalışmada, Y.T.Ü. Davutpaşa kampüsünden toplanan taze kırmızı gül yaprakları kullanıldı.

4.1.2 Kullanılan Cihazlar ve Yardımcı Gereçler

Çalışmada Kern ABJ marka hassas terazi, Ultrasonik ekstraksiyon cihazı, İntersonik marka su banyosu, manyetik karıştırıcı, ısıtıcı, sokslet ekstraksiyon düzeneği, normal distilasyon düzeneği, termometre, geri soğutucu düzeneği, 10.10.45 mm küvetler, mavi bantlı süzgeç kağıdı, teknik cam malzemeler ve kumaş boyama işlemi için yün kumaş kullanıldı. Absorpsiyon ölçümleri için Shimadzu UVPC yazılımı yüklenmiş Shimadzu UV-1800 çift ışınlı UV-VIS spektrofotometresi kullanıldı ve spektrumlar 0,1 nm aralıklarla elde edildi. Verilerin düzenlenmeleri, regresyon ve istatistiksel analizler için UVPC ve Excel yazılımları kullanıldı.

4.1.3 Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılan kimyasallar; HCl (Hidroklorik asit), NaOH (Sodyum hidroksit), C₂H₅OH (Etanol), KH₂PO₄ (Potasyum dihidrojen fosfat), CH₃COOH (Asetik asit),

CH₃COONa (Sodyum asetat), C₃H₆O (Aseton), CH₃OH (Metanol), NaHCO₃ (Sodyum bikarbonat), KCl (potasyum klorür), H₂O₂ (Hidrojen peroksit) ve NaNO₂ (Sodyum nitrit) analitik saflıktadır. Ayrıca çalışmalarımızda distile su kullanıldı. Kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup E. Merck ve Riedel firmasının ürünleridir.

Çözeltilerin Hazırlanması

- **0,1 N HCl Çözeltisi** : 8,25 mL HCl (% 37 lik; M=36,46 g/mol ; d=1,19 g/mL) alındı ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.
- **0,1 N NaOH Çözeltisi** : 4 g NaOH (M=40 g/mol) distile suda çözülerek hacim 1 litreye distile su ile tamamlandı.
- **0,1 N CH₃COOH Çözeltisi** : 5,8 mL CH₃COOH (%99, M= 60 g/mol, d=1.05 g/mL) alındı ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.
- **0,2 M HCl Çözeltisi** : 16,5 mL HCl (% 37 lik ; M=36,46 g/mol ; d=1,19 g/mL) alındı ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.
- **0.2 M CH₃COONa.3H₂O Çözeltisi** : 27.2 g CH₃COONa.3H₂O (M=136.03 g/mol) tartıldı ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.
- **0.2 M CH₃COOH Çözeltisi** : 11.55 mL CH₃COOH (%99, M= 60 g/mol, d=1.05 g/mL) alındı ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.
- **2 M CH₃COOH Çözeltisi** : 11.55 mL CH₃COOH (%99, M= 60 g/mol, d=1.05 g/mL) alındı ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **2 M CH₃COONa.3H₂O Çözeltisi** : 27,2 g CH₃COONa.3H₂O (M=136.03 g/mol) tartıldı ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **0,1 M KH₂PO₄ Çözeltisi** : 0,68 g KH₂PO₄ (M:136,09 g/mol) tartıldı ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **0,2 M KCl Çözeltisi** : 14,2 g KCl tartıldı ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.
- **0,05 M NaHCO₃ Çözeltisi** : 4,2 g NaHCO₃ (84,0 g/mol) tartıldı ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.

➤ **pH: 1,0** : 0,3725 gram KCl tartıldı ve üzerine 67,0 mL 0,2 M HCl çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

- **pH: 2,0** : 0,3725 gram KCl tartıldı ve üzerine 6,5 mL 0,2 M HCl çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **pH: 4,0** : 0,2 M CH₃COOH çözeltisinden 41,0 mL alındı ve üzerine 0,2 M CH₃COONa çözeltisinden 9,0 mL ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **pH: 4,5** : 2 M CH₃COONa çözeltisinden 4,15 mL alındı ve üzerine 2 M CH₃COOH çözeltisinden 5,85 mL ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **pH: 6,0** : 50 mL 0,1 M KH₂PO₄ çözeltisi üzerine 5,6 mL 0,1 M NaOH çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf suyla 100 mL'ye tamamlandı.
- **pH: 7,0** : 50 mL 0,1 M KH₂PO₄ çözeltisi üzerine 29,1 mL 0,1 M NaOH çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı
- **pH: 8,0** : 50 mL 0,1 M KH₂PO₄ çözeltisi alındı ve üzerine 46,1 mL 0,1 M NaOH çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **pH: 10,0** : 50 mL 0,05 M NaHCO₃ çözeltisi üzerine 10,7 mL 0,1 M NaOH çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **pH:12,0** : 25 mL 0,2 M KCl çözeltisi üzerine 6,0 mL 0,2 M NaOH çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı ve hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

4.1.4 Ekstraksiyon İşlemlerinde Kullanılan Çözeltiler

- **Etanol / 0,1 N HCl Çözeltisi (90:10, v/v)** : 90 mL C₂H₅OH üzerine 10 mL 0,1 N HCl çözeltisi ilave edildi.
- **Etanol / 0,1 N CH₃COOH Çözeltisi (90:10, v/v)** : 90 mL C₂H₅OH üzerine 10 mL 0,1 N CH₃COOH çözeltisi ilave edildi.
- **Etanol / Metanol Çözeltisi (90:10, v/v)** : 90 mL C₂H₅OH üzerine 10 mL CH₃OH çözeltisi ilave edildi.
- **Etanol / Aseton Çözeltisi (90:10, v/v)** : 90 mL C₂H₅OH üzerine 10 mL C₃H₆O çözeltisi ilave edildi.
- **Metanol / 0,1 N HCl Çözeltisi (90:10, v/v)** : 90 mL CH₃OH üzerine 10 mL 0,1 N HCl çözeltisi ilave edildi.

•**Metanol / 0,1 N CH₃COOH Çözeltisi (90:10, v/v)** : 90 mL CH₃OH üzerine 10 mL 0,1 N CH₃COOH çözeltisi ilave edildi.

•**Metanol / Aseton Çözeltisi (90:10, v/v)** : 90 mL CH₃OH üzerine 10 mL C₃H₆O çözeltisi ilave edildi.

•**Metanol / Etanol Çözeltisi (90/10, v/v)** : 90 mL CH₃OH üzerine 10 mL C₂H₅OH çözeltisi ilave edildi.

•**Aseton / Etanol Çözeltisi (90/10, v/v)** : 90 mL C₃H₆O üzerine 10 mL C₂H₅OH çözeltisi ilave edildi.

• **Aseton / Metanol Çözeltisi (90/10, v/v)** : 90 mL C₃H₆O üzerine 10 mL CH₃OH çözeltisi ilave edildi.

•**Antosiyanin stok çözeltisi** : 0,125 g saf antosiyanin tartıldı ve hazırlanan Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözeltisi ilave edilerek çözünmesi için ultrasonik banyoda bekletildi. Çözünme gerçekleştikten sonra Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözeltisi ile 100 mL' ye tamamlandı. Böylece 125 µg/mL'lik stok çözelti hazırlanmış oldu.

4.1.5 Yünlü Kumaş Boyamada Kullanılan Kimyasal Madde ve Cihazlar

4.1.5.1 Mordan Olarak Kullanılan Metal Tuzları

- 1) Potasyum dikromat (K₂Cr₂O₇): 296 g/mol
- 2) Alüminyum nitrat (Al(NO₃)₃.9H₂O): 375 g/mol
- 3) Potasyum alüminyum şapı (KAl(SO₄)₂.12H₂O): 475 g/mol
- 4) Demir (III) klorür (FeCl₃.6H₂O) : 270,204 g/mol
- 5) Bakır (II) klorür (CuCl₂.2H₂O) : 170,452 g/mol
- 6) Gümüş nitrat (AgNO₃) : 169,873 g/mol
- 7) Magnezyum klorür (MgCl₂.6H₂O): 203.31 g/mol
- 8) Demir (II) sülfat (FeSO₄.7H₂O) : 278,05 g/mol

Kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup E. Merck ve Riedel firmasının ürünleridir. Kullanılan metal tuzları, mordanlı boyama işlemlerinde de aynı sıralamayla uygulandı.

4.1.5.2 Kumaş Boyamada Kullanılan Cihazlar ve Materyaller

Boyama makinesi (ATAÇ, 8 tüplü), ışık haslığı cihazı (Light fastness, 700 Apollo James H. Heal & Co. Ltd.) , renk ölçüm cihazı (Spectro Eye X-rite), sürtünme cihazı (El tahrikli Krockmeter), su distilasyon cihazı, pH kağıdı, süzgeç kağıdı ve teknik cam malzemeler. % 100 yünlü kumaş parçacıkları, Altınyıldız fabrikasından temin edildi. Gramajı 188 g/m² dir.

4.1.6 Gül Yapraklarından Doğal Boyarmadde Eldesinde Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemleri

Gül yapraklarından doğal boyarmadde eldesinde şu yöntemler kullanıldı:

- 1-) Ultrasonik Ekstraksiyon
- 2-) Sokslet Ekstraksiyonu
- 3-) Kondanse Reflaks Ekstraksiyonu (Normal Distilasyon)
- 4-) Marine Ekstraksiyonu (Çözücüde bekletme)
- 5-) Manyetik Karıştırıcı İle Ekstraksiyon

4.1.7 Ultrasonik Ekstraksiyon İçin Çözücü Seçimi

Ultrasonik banyo kullanılarak, gül yapraklarındaki antosiyaninlerin ekstraksiyonu için literatürde verilen çözücü sistemleri denendi. Bunlar;

- 1) Etanol/ Metanol (90/10, v/v)
- 2) Metanol/ Etanol (90/10, v/v)
- 3) Aseton/ Metanol (90/10, v/v)
- 4) Aseton/ Etanol (90/10, v/v)
- 5) Metanol/Aseton (90/10, v/v)
- 6) Etanol/ Aseton (90/10, v/v)
- 7) Metanol/0,1 N HCl (90/10, v/v)
- 8) Etanol/ 0,1 N HCl (90/10, v/v)

9) Metanol/ 0,1 N CH₃COOH (90/10, v/v)

10) Etanol/ 0,1 N CH₃COOH (90/10, v/v)

4.1.8 Gül Yapraklarından Antosiyanin Ekstraksiyonu

Yukarıda verilen çözücü sistemleri gül yaprağı numunelerine uygulandı. Ekstraksiyon için 1 gram gül yaprağı tartılıp, şilifli erlene alındı ve 25 mL seçilen çözücü karışımı ilave edildi ve ultrasonik banyoda 40 dakika bekletildi (25 °C). Elde edilen ekstraksiyon numuneleri mavi bant süzgeç kağıtları yardımıyla süzüldü. Gül yapraklarına 3 defa yıkama işlemi uygulandı. Daha sonra elde edilen süzüntünün hacmi, hangi çözücü karışımıyla çalışılıyorsa o çözücü karışımıyla 50 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltiden 5 mL alınıp çalışılan çözücü karışımıyla 10 mL'ye seyreltme işlemi yapıldı. Elde edilen çözeltilerin Uv-Vis spektrofotometre cihazı ile absorbans değerleri okundu ve sonuçlar karşılaştırıldı. Blank çözeltisi çalışılan çözücü karışımı oldu. Yukarıda verilen ekstraksiyon işlemi 10 farklı çözücü karışımı için ayrı ayrı tekrarlandı.

4.1.9 Ultrasonik Ekstraksiyon İçin Seçilen Etanol / 0,1 N HCl Oranının Saptanması

Yapılan çözücü seçme çalışmaları sonucunda Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı uygun çözücü olarak saptandı. Daha sonra Etanol/0,1 N HCl çözücü karışımı için farklı Etanol/asit oranlarında denemeler tekrarlandı.

Bu oranlar;

1) (10/90), 2) (20/80), 3) (30/70), 4) (40/60), 5) (50/50), 6) (60/40), 7) (70/30), 8) (80/20), 9) (90/10)

şeklindedir. 1 gram gül yaprağı için ekstraksiyon prosedürümüzdeki (Bölüm 4.1.8) basamaklar uygulandı.

4.1.10 Solid/likid Oranının Saptanması

Yapılan ekstraksiyon işlemleri sonrasında Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı en uygun olan karışım olarak seçildi. 1 gram gül yaprağı için gerekli çözücü miktarını saptamak için değişik oranlarda gül yaprağı / çözücü karışımı kullanarak ekstraksiyon çalışmaları tekrarlandı.

➤1/10, 1/20, 1/30, 1/40 solid/likid oranları için seçtiğimiz çözücü karışımı kullanılarak ultrasonik banyoda 40 dakika ekstraksiyon işlemi uygulandı (25 °C). Elde edilen ekstraktlar mavi bant süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü, kullanılan çözücüyle yıkama işlemi yapıldı ve hacim 50 mL'ye çözücüyle tamamlandı.

➤1/60 ve 1/80 solid/likid oranları için seçtiğimiz çözücü karışımı kullanılarak ultrasonik banyoda 40 dakika ekstraksiyon işlemi uygulandı (25 °C). Elde edilen ekstraktlar mavi bant süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü, kullanılan çözücüyle yıkama işlemi yapıldı ve hacim 100 mL'ye çözücüyle tamamlandı.

Elde edilen 50 mL'lik çözeltilerden 5 mL alınıp seçilen çözücü karışımı ile 10 mL'ye (1/2) seyreltme yapıldı. Daha sonra numunelerin blank çözeltilisine (Etanol/0,1 N HCl, (90/10, v/v) karşı Uv-Vis spektrofotometre cihazında absorbans değerleri okundu.

Elde edilen 100 mL'lik çözeltiden alınıp seyreltme yapılmadan numunelerin blank çözeltilisine (Etanol/0,1 N HCl, (90/10, v/v) karşı Uv-Vis spektrofotometre cihazında absorbans değerleri okundu.

4.1.11 Solid/likid Oranı İçin Ekstraksiyon Süresinin Saptanması

Solid/likid oranını 1/40 olarak saptadıktan sonra, ekstraksiyon süresinin saptanması için 1 gram gül yaprağı tartıldı ve şilifli erlene konularak üzerine 40 mL Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı ilave edildi. 5, 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dakika ultrasonik ekstraksiyona tabi tutulan gül numuneleri daha sonra mavi bant süzgeç kağıdı yardımıyla süzülerek, çözücü karışımı ile 3 kere yıkama işlemi yapıldıktan sonra aynı çözücüyle 50 mL'ye tamamlandı. Uv-Vis spektrofotometre cihazında absorbans değerleri okundu. Ekstraksiyon işlemi 2. ve 3. kez, 10 ve 40 dakika ekstraksiyon süreleri için kalıntı gül yapraklarına uygulandı.

4.2 Çalışmada Kullanılan Diğer Ekstraksiyon Yöntemleri

Çalışmamızda, ultrasonik ekstraksiyon dışında sokslet ekstraksiyon, normal distilasyon, marine ekstraksiyon ve manyetik karıştırıcı yardımıyla yapılan ekstraksiyon işlemleri de denendi.

4.2.1 Sokslet Ekstraksiyonu (S.E.)

Ultrasonik ekstraksiyon için seçilen Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı, sokslet ekstraksiyonunda da kullanıldı. 5 gram gül yaprağı hassas terazide tartılıp, kartuşa konuldu. Cam balona kaynama taşları ve Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) ekstraksiyon çözücüsü 700 mL kadar konuldu. Düzenek kurulduktan sonra soğutma suyu açıldı ve ısıtıcı orta seviyede çalıştırıldı. Düzeneğimizin bir sifon yapması için ekstraksiyon işlemimiz 6 saat sürdü. Elde edilen sokslet ekstresinde çözücünün geri kazanılması rotary evaporatörde yapıldı. Gül ekstresinin toplam hacmi 150 mL olacak şekilde çözücü karışımı uçuruldu. Elde edilen gül ekstresi mavi bant süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü. Elde edilen gül ekstresine çalışmada kullanılan 3 kantitatif yöntem ayrı ayrı uygulandı. Çalışma 3 kez tekrarlandı.

4.2.2 Normal Distilasyon (N.D.)

Ultrasonik ekstraksiyon için seçilen Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı, normal distilasyon düzeneği için yapılan işlemlerde de kullanıldı. 5 gram gül yaprağı hassas terazide tartılıp destilasyon balonuna konuldu. Ayrıca destilasyon balonuna kaynama taşları da konuldu. Destilasyon balonuna 120 – 130 mL kadar çözücü karışımı ilave edildi. Düzenek kurulduktan sonra soğutma suyu açıldı ve ısıtıcı orta seviyede çalıştırıldı. 2,5 saat sonunda ısıtıcı kapatıldı ve düzenek soğuduktan sonra gül ekstresi mavi bant süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü hacim 150 mL'ye çözücü karışımıyla tamamlandı. Elde edilen gül ekstresine çalışmada kullanılan 3 kantitatif yöntem ayrı ayrı uygulandı. Çalışma 3 kez tekrarlandı.

4.2.3 Marine Ekstraksiyon

Ultrasonik ekstraksiyon için seçilen Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı, marine ekstraksiyonu işleminde de kullanıldı. 1 gram gül yaprağı hassas terazide tartılıp, şilifli erlene alındı ve 40 mL Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı ilave edildi. 24 saat ve 48 saat sonunda ölçümler alındı. Çalışma 3 kez tekrarlandı.

4.2.4 Manyetik Karıştırıcı Kullanılarak Yapılan Ekstraksiyon

Ultrasonik ekstraksiyon için seçilen Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı, manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan işlemlerde de kullanıldı. 1 gram gül yaprağı tartılıp, üzerine 40 mL çözücü eklendi ve aşağıdaki işlemler uygulandı.

- a) 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldı, Uv-Vis spektrofotometre’de ölçüm alındı.
- b) 2 saat karıştırılıp ölçüm alınan numune(a’daki numuneden), 24 saat bekletilip tekrar Uv-Vis spektrofotometre’de ölçüm alındı. Bozunma olup olmadığı kontrol edildi.
- c) 2 saat karıştırıp 24 saat beklettikten sonra ölçüm alındı.
- d) Karıştırma işlemi yapılmadan hazırlanan numune, 24 saat bekletildi ve elde edilen gül ekstreleri mavi bant süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü ve hacmi 50 mL’ye çözücü karışımıyla tamamlandı ve Uv-Vis spektrofotometre’de ölçümler alındı.

Yapılan tüm işlemler 2 kez tekrar edildi.

4.3 Boyarmaddenin Çeşitli Faktörlere Karşı Bozunmasının İncelenmesi

Gül yaprağı ekstresinin sıcaklığa, pH’a, hava oksijenine, Uv ışığa, H₂O₂ ve NaNO₂ ilavesine karşı bozunmaları incelendi. Ayrıca 0,1 N NaOH’e karşı titrasyon işlemi de yapıldı.

4.3.1 Boyarmaddenin Sıcaklığa Karşı Bozunmasının İncelenmesi

Bu çalışmada ekstraksiyon süresi 40 dakika olarak uygulandı. Çalışma sıcaklıkları 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 °C olacak şekilde seçildi. Su banyosunda bekletilen gül ekstresinden yukarıda belirtilen sıcaklıklara ulaşıldığında 5 mL alındı ve soğuması beklendikten sonra çözücü karışımıyla hacim 10 mL’ye tamamlandı. Gül numuneleri su banyosunda belirtilen sıcaklıklarda 20’şer dakika bekletildi ve tüm örneklerin sıcaklıklarının oda sıcaklığına düşmesinin ardından Uv-Vis spektrofotometre’de ölçümler alındı. Çalışmalar 2 kez tekrar edildi. Blank çözeltisi, Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücüsüdür.

4.3.2 Boyarmaddenin pH' a Karşı Bozunmasının İncelenmesi

5 gram gül yaprağı tartılıp şilifli erlene konuldu ve 40 mL Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı ilave edilerek ultrasonik banyoda 10 dakika bekletildi ve mavi bant süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü ve çözücü karışımıyla hacim 50 mL'ye tamamlandı. Aynı gül yapraklarına 2. ve 3. ekstraksiyonlar için benzer işlemler uygulandı. 3 ekstraksiyon sonucunda elde edilen gül ekstreleri birleştirildi. Ve elde edilen 150 mL'lik ekstraksiyon numunesinden 1'er mL alınıp, pH tamponlarıyla 10 mL'ye tamamlandı.

Ayrıca standart antosiyanin çözeltilisinin de pH' a karşı bozunması incelendi.

Çalışılan pH'lar; 2, 4, 6, 8, 10 ve 12 'dir. Hazırlanan pH tampon çözeltileri kullanılarak numuneler 10 mL'ye tamamlandı. Her bir çözelti için UV spektrumu alındı. Blank çözeltisi olarak her pH değeri için çalışılan (kendi) pH tamponları kullanıldı. Çalışma 2 kez tekrar edildi.

4.3.3 Boyarmaddenin Hava Oksijenine Karşı Bozunmasının İncelenmesi

Marine ekstraksiyonu işleminde 24 saat bekletilen gül ekstresi ile boyarmaddenin hava oksijenine karşı bozunması incelendi. Bu çözeltiden 50 mL kadar çözelti bir behere alındı ve ağzı açık beherde hava ile temas halinde bırakıldı. Çeşitli zaman aralıklarında bu çözeltiden, 5 mL alınıp hacim 10 mL'ye Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımıyla tamamlandı ve UV –Vis spektrofotometre'de ölçümler alındı. Blank çözeltisi çözücü karışımıdır. Çalışma 2 kez tekrar edildi.

Çalışılan zaman aralıkları: 0, 20 dakika, 30 dakika, 40 dakika, 50 dakika, 60 dakika, 90 dakika, 120 dakika ve 180 dakika.

4.3.4 Boyarmaddenin UV Lamba Altında Bozunmasının İncelenmesi

Marine ekstraksiyonu işleminde 24 saat bekletilen gül ekstresi ile boyarmaddenin UV ışığa karşı bozunması incelendi. Bu çözeltiden 50 mL kadar çözelti şilifli bir erlene alındı ve 125 watt'lık UV ışık kaynağı ile arasında yaklaşık 25 cm mesafe olacak şekilde bir kabin içine yerleştirildi. Uv lamba altında bekletilen çözeltiden çeşitli zaman aralıklarında, 5 mL alınıp hacim 10 mL'ye Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü

karışımıyla tamamlandı ve UV –Vis spektrofotometre’de ölçümler alındı. Blank çözeltisi çözücü karışımıdır. Çalışma 2 kez tekrar edildi.

Çalışılan zaman aralıkları : 30 dakika, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 24 h.

4.3.5 Boyarmaddenin Yükseltgen ve İndirgenlere Karşı Bozunmasının İncelenmesi

Marine ekstraksiyonu işleminde 24 saat bekletilen gül ekstresinde boyarmaddenin H₂O₂ ilavesine karşı bozunması incelendi. Bu çözeltiden 25 mL kadar çözelti bir behere alındı ve üzerine 5-6 damla H₂O₂ çözeltisi damlatılıp 5 dakika beklendi ve rengin kaybolduğu gözlemlendi.

Marine ekstraksiyonu işleminde 24 saat bekletilen gül ekstresinde boyarmaddenin NaNO₂ ilavesine karşı bozunması incelendi. Bu çözeltiden 25 mL kadar çözelti bir behere alındı ve üzerine 5-6 damla % 10’luk NaNO₂ çözeltisi damlatılıp 5 dakika beklendi ve rengin kahverengi-yeşile döndüğü gözlemlendi.

4.3.6 NaOH’e Karşı Titrasyon

Marine ekstraksiyonu işleminde 24 saat bekletilen gül ekstresinden, titrimetrik olarak miktar tayin etme ve ayrıca asidin kuvvetini görebilmek amacıyla 25 mL’lik bir çözelti alınarak, 0,1 N NaOH değişik miktarlarda ilave edilerek pH ölçümü yapıldı ve renk değişimleri kontrol edildi.

4.4 Toplam Antosiyaninin Kantitatif Tayini İçin Geliştirilen Yöntemler ve Standart Yöntem

4.4.1 Spektrumların Çizilmesi İçin Geliştirilen Yöntemler

Gül yapraklarından doğal boyarmadde eldesi için uygulanan ekstraksiyon işlemleri ile elde edilen ekstraktelerde antosiyanin tayini için absorpsiyon, 1. türev absorpsiyon (¹D), fark spektroskopisi ve pH diferansiyel referans yöntemleri kullanıldı. Absorpsiyon ve türev yöntemlerinde spektrumların çizilmesinde absorpsiyon spektrumları, Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımına karşı, fark türev spektroskopik yöntemde, pH 1,0 ve pH 7,0 ’ye karşı 400 – 600 nm dalga boyu aralığında, referans yöntem için 300 – 800

nm dalga boyu aralığında distile suya karşı 1 nm bant genişliğinde ve 1200 nm/dk tarama hızı ile alındı.

4.4.2 Absorpsiyon Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1)

4.4.2.1 Absorpsiyon ve Türev Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1.a ve 1.b) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

125 µg/mL stok antosiyanin çözeltisinden 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jodelere aktarıldı ve Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra absorpsiyon ve 1. türev absorpsiyon spektrumları alındı. Çalışma 3 kez tekrarlandı.

4.4.2.2 Absorpsiyon ve Türev Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1.a ve 1.b)'nin Gül Yaprığına Uygulanması

Gül yaprakları küçük parçalara ayrıldıktan sonra 5 gramlık örnek hassas terazi ile tartıldı ve 100 mL'lik kapaklı şilifli erlene alındıktan sonra üzerine 40 mL Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı ilave edildi. Ultrasonik banyoda 10 dakika ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Erlen içindeki karışım mavi bantlı süzgeç kağıdından süzüldü ve hacim 50 mL'ye Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı ile tamamlandı. Peş peşe 3 ekstraksiyon işlemi aynı gül yapraklarına 10'ar dakika süre ile uygulandı. Hacimler 50 mL'ye tamamlandığından toplam çözelti miktarımız 3 ekstraksiyon sonunda 150 mL'dir. Bu çözeltiden 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jodeye aktarıldı ve ekstraksiyon çözücüsü ile hacmine tamamlandı. Elde edilen çözeltilerin Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımına karşı absorpsiyon (A) ve birinci türev (¹D) absorpsiyon eğrileri alındı.

Çalışma 3 kez tekrarlandı.

Elde edilen antosiyanin içeren ekstrakta aşağıda belirtilen tüm analiz yöntemleri uygulandı.

4.4.3 Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b)

4.4.3.1 Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

125 µg/mL stok antosiyanin çözeltisinden 4 seri olacak şekilde 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jöjelere aktarıldı. Yöntem 2.a için pH 4,5 ve pH 1,0 tampon çözeltileriyle ve Yöntem 2.b için pH 7,0 ve pH 1,0 tampon çözeltileriyle hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra Yöntem 2.a'da pH 4,5'a (referans hücre) karşı pH 1,0 (numune hücresi)'de hazırlanan çözeltilerin absorbens değerleri 532 nm'de ve Yöntem 2.b'de pH 7,0'ye(referans hücre) karşı pH 1,0 (numune hücresi)'de hazırlanan çözeltilerin absorbens değerleri 528 nm'de alındı. Çalışma 3 kez tekrarlandı.

4.4.3.2 Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b)'nin Gül Yaprığına Uygulanması

Bölüm 4.4.2.2'de anlatıldığı gibi ekstraksiyon işlemi aynı şekilde uygulandı. Elde edilen ekstraksiyon çözeltisinden 4 seri olacak şekilde 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jöjeye aktarıldı. Yöntem 2.a için pH 4,5 ve pH 1,0 tampon çözeltileriyle ve Yöntem 2.b için pH 7,0 ve pH 1,0 tampon çözeltileriyle hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra elde edilen ekstraksiyon çözeltisi Yöntem 2.a'da pH 4,5'a (referans hücre) karşı pH 1,0 (numune hücresi)'de hazırlanan çözeltilerin absorbens değerleri 532 nm'de ve Yöntem 2.b'de pH 7,0'e (referans hücre) karşı pH 1,0 (numune hücresi)'de hazırlanan çözeltilerin absorbens değerleri 528 nm'de alınmıştır. Çalışma 3 kez tekrarlandı.

4.4.4 Standart Yöntem (Referans Yöntem) (Yöntem 3)

4.4.4.1 Standart Yöntem (Referans Yöntem) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

125 µg/mL stok antosiyanin çözeltisinden 2 seri olacak şekilde 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jöjelere aktarıldı. Birinci seri çözeltiler pH 1,0 tampon çözeltisi ve ikinci seri çözeltiler pH 4,5 tampon çözeltileriyle hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra 1. seri çözeltilerin (pH:1,0 ile hazırlanan) ve 2. seri çözeltilerin

(pH:4,5 ile hazırlanan) distile suya karşı 300-800 nm dalga boyu aralığında ayrı ayrı alınan absorpsiyon spektrumlarında, 530 ve 700 nm'deki absorbans değerleri okundu. Çalışma 3 kez tekrarlandı.

4.4.4.2 Standart Yöntemin (Referans Yöntem) Gül Yaprağına Uygulanması

Bölüm 4.4.2.2'de anlatıldığı gibi ekstraksiyon işlemleri aynı şekilde uygulandı. Bu çözeltiden 2 seri olacak şekilde 1, 2, 3, 4 ve 5 mL alınarak 10 mL'lik balon jöjeye aktarıldı. Yöntem 3.a için pH 1,0 ve Yöntem 3.b için pH 4,5 tampon çözeltileriyle hacmine tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra elde edilen ekstraksiyon çözeltisi Yöntem 3.a'da distile suya (referans hücre) karşı pH 1,0 (numune hücresi)'de ve Yöntem 3.b'de distile suya (referans hücre) karşı pH 4,5 (numune hücresi)'de hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri 530 ve 700 nm'de okundu. Çalışma 3 kez tekrarlandı.

4.5 Gül Yaprağı Numunelerinde Kantitatif Tayinler

Bölüm 4.2.2.2'de anlatıldığı şekilde uygulanan ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen gül ekstrelerine geliştirilen kantitatif yöntemlerin uygulanmasıyla elde edilen antosiyanin miktarı mg A/ 100 g gül olarak hesaplandı. Hesaplar yapılırken, her bir yöntem için ayrı ayrı hazırlanan ölçü eğrileri kullanılarak absorbans değerlerinden konsantrasyon değerlerine geçiş yapıldı. (A: Antosiyanin)

4.6 Validasyon Çalışmaları

Validasyon; bir metod veya ölçüm prosedürünün, belirlenen amaçlara uygunluğunun objektif olarak test edilip belgelendirilmesidir (ISO/IEC 17025). Bu amaçla gerçekleştirilen validasyon işlemleri Bölüm 3.6 'da detaylı bir şekilde anlatıldı. Validasyon çalışmaları standart çözelti ve ekstraksiyon numuneleri için ayrı ayrı yapıldı.

4.6.1 Standart Antosiyanin Çözeltisi İçin Uygulanan Validasyon İşlemleri

Stok antosiyanin çözeltisinden (125 µg/mL) 3 mL alındı ve her bir yöntem için ayrı ayrı uygulanmak suretiyle 10 mL'ye tamamlandı. Elde edilen standart antosiyanin çözeltisi kullanılarak çalışmanın tekrarlanabilirliğini (kesinliğini) test etmek için İntra-day (Gün

içi) ve İnter-day (Günler arası) ölçümleri alınarak validasyon işlemleri uygulandı. Aynı şekilde hazırlanan 10'ar adet standart çözeltiye her bir yöntem ayrı ayrı uygulanarak UV spektrofotometrede ilgili dalga boylarında absorbans değerleri okundu ve her bir yöntem için elde edilen kalibrasyon denklemleri yardımıyla miktar tayini yapıldı. Her bir yöntem için ortalama, standart sapma (SD), bağıl standart sapma (RSD) hesapları ve % verim (geri kazanma) çalışmaları yapıldı.

Bölüm 4.4.2.2'de anlatıldığı gibi ekstraksiyon işlemleri uygulanarak elde edilen gül ekstreslerinde girişim yapan maddelerin matris etkisini gidermek amacıyla; gül ekstresinden 2 mL alındı ve üzerine stok antosiyanin çözeltisinden 1 mL ve 2 mL artan derişimlerde ilave edildi. İlk numune çözeltisine ilave yapılmadı ve UV spektrofotometrede absorbans değeri ölçüldü. Daha sonra numuneye 1 mL ve 2 mL olacak şekilde standart çözeltiden ilave yapıldı. Aynı prosedür her bir yöntem için ayrı ayrı uygulandı ve kalibrasyon eğrileri elde edildi. Bu eğrilerden yararlanarak ekstrelerdeki antosiyanin miktarı mg antosiyanin / 100 g gül yaprağı olarak hesaplandı ve her bir yöntem için % verim değerleri saptandı.

4.6.2 Gül Yaprığı Ekstresine Uygulanan Validasyon İşlemleri

Gül yaprağı ekstreleri için; Bölüm 4.4.2.2'de anlatıldığı şekilde ekstraksiyon işlemi ile elde edilen gül ekstresinden belli bir miktar alındı ve her bir yöntem için ayrı ayrı uygulanmak suretiyle 10 mL'ye tamamlandı. Aynı şekilde hazırlanan 5'er adet numune çözeltisine her bir yöntem ayrı ayrı uygulanarak UV spektrofotometrede ilgili dalga boylarında absorbans değerleri okundu. Her bir yöntem için ortalama, standart sapma (SD), bağıl standart sapma (RSD) ve % verim hesapları yapıldı.

Bölüm 4.4.2.2'de anlatıldığı gibi ekstraksiyon işlemleri uygulanarak elde edilen gül ekstrelerinde çalışmanın tekrarlanabilirliğini (kesinliğini) test etmek için İnter-day (Gün içi) ve İnter-day (Günler arası) ölçümleri alınarak validasyon işlemleri uygulandı.

Kullandığımız yöntemlerin performansını izlemek için, ilgili bileşiklerin en düşük tespit edilebilir (LOD) ve en düşük hesaplanabilir (LOQ) limit değerleri her bir yöntem için ayrı ayrı hesaplandı.

4.7 Kumaş Boyamada Uygulanan Yöntemler

Yünlü kumaş parçacıklarına Bölüm 2.11.3'de belirtilen boyama yöntemleri ayrı ayrı uygulandı ve boyanmış yünlü kumaş parçacıklarının renk kodları belirlenerek, sürtünme haslıkları, ışık haslıkları ve ter haslıkları tespit edildi. Ayrıca reflektans eğrileri çizildi.

4.7.1 1. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit+Mordan→Boya)

Tüm boyamalarda 0,2 g mordan tuzu ve 0,1 g tannik asit pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları (5 gram), hazırlanan çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 25 mL gül ekstresi, çalışılacak pH'daki tampon çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları elde edilen boya çözeltisinde tekrar 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile tekrar yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kâğıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.2 2. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Boya →Tannik asit+Mordan)

Tüm boyamalarda, 25 mL gül ekstresi, pH 4,0 tampon çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları (5 gram), hazırlanan boya çözeltisinde 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 0,2 g mordan tuzu ve 0,1 g tannik asit pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları elde edilen çözeltide, tekrar 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kâğıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.3 3. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit→Boya→Mordan)

Tüm boyamalarda 0,1 g tannik asit pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları hazırlanan çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 25 mL gül ekstresi pH 4,0 tampon çözeltisi ile 100 mL'ye

tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen boya çözeltisinde 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 0,2 g mordan tuzu, pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL' ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen çözeltide tekrar 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kağıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.4 4. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit→Mordan→Boya)

Tüm boyamalarda 0,1 g tannik asit pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları hazırlanan çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 0,2 g mordan tuzu pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 25 mL gül ekstresi pH 4,0 tampon çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen boya çözeltisinde tekrar 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kağıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.5 5. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Mordan→Boya→Tannik asit)

Tüm boyamalarda 0,2 g mordan tuzu pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları hazırlanan çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 25 mL gül ekstresi, pH 4,0 tampon çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen boya çözeltisinde tekrar 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 0,1 g tannik asit pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları hazırlanan çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce

soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kağıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.6 6. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Mordan→Boya)

Tüm boyamalarda 0,2 g mordan tuzu pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları hazırlanan çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 25 mL gül ekstresi pH 4,0 tampon çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen boya çözeltisinde tekrar 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kağıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.7 7. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Boya→Tannik asit→Mordan)

Tüm boyamalarda, 25 mL gül ekstresi pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, hazırlanan boya çözeltisinde 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, yünlü kumaş parçacıkları, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 0,1 g tannik asit pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları hazırlanan çözeltide 100°C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 0,2 g mordan tuzu pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL' ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kağıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.8 8. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit+Mordan+Boya)

Tüm boyamalarda 0,2 g mordan tuzu ve 0,1 g tannik asitin, pH 4,0 tampon çözeltisinde çözünmesi sağlandı, daha sonra 25 mL gül ekstresi ilave edildi ve hacim 100 mL olacak şekilde pH 4,0 tampon çözeltisi ile tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen boya çözeltisinde 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde,

yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kağıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.9 9. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Tannik asit→Boya)

Tüm boyamalarda 0,1 g tannik asit pH 4,0 tampon çözeltisinde çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları hazırlanan çözeltide 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı ve iyice sıkıldı. 25 mL gül ekstresi pH 4,0 tampon çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, elde edilen boya çözeltisinde tekrar 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma işlemi sona erdiğinde, yünlü kumaş parçacıkları önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kağıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.7.10 10. Yöntemle Yünlü Kumaş Boyama (Sadece boya)

Tüm boyamalarda, 25 mL gül ekstresi pH 4,0 tampon çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlandı. Yünlü kumaş parçacıkları, hazırlanan boya çözeltisinde 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Kaynatma süresi sonunda, yünlü kumaş parçacıkları, önce soğuk, sonra kaynamış sıcak destile su ile yıkandı, sıkıldı ve süzgeç kağıtlarının üzerine serilerek kurutuldu.

4.8 Boyanmış Numunelere Haslık Testlerinin Uygulanması

4.8.1 Boyanmış Numunelerin Renk Ölçümleri

Tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan CIELab sistemi rengin daha kolay ve anlaşılır tanımını yapmaktadır. Spectro Eye X-rite Spectro Ey cihazında (Şekil 4.1), D65 ışığı altında (L,a ve b), (L,c ve h), (X, Y ve Z) ve (x ve y) koordinat sistemleri ve reflektans eğrileri kontrol edildi.

Bilindiği gibi, farklı ışık kaynakları, renkleri farklı gösterir. Çünkü her ışık kaynağının spektrumu farklıdır. En iyi ışık kaynağı Güneş' tir. Bilinen ışınlar yaklaşık olarak 10^{-14} nm ila 10^{+2} nm dalga boyuna sahiptirler. Görünen ışık bölgesi ise 380 – 780 nm arasındadır.

Reflektans eğrileri 380 – 730 nm dalga boyu aralığında ölçüm yapmak amacıyla hem reflektans hem de transmitans olarak renk ölçümü yapmak amacıyla dizayn edilmiştir. Yaptığımız deneysel çalışmada, reflektans eğrileri için 380-710 nm dalga boyu aralığında her 30 nm’de bir ölçüm alındı. Reflektans eğrileri sonuçlar ve tartışma kısmında yorumlandı.

Spectro Eye X-rite cihazında renk koordinatlarının alınması amacıyla L^* , a^* , b^* , C^* , h , X , Y , Z , x , y değerleri okundu.



Şekil 4.1 Spectro Eye X-rite cihazı

4.8.2 Boyanmış Numunelere Işık Haslığının Uygulanması

Işık haslığı uygulanacak boyanmış yünlü kumaş parçacıkları, $12 \times 6 \text{ cm}^2$ 'lik kartelâlara, standartlara uygun şekilde yerleştirildikten sonra yarısı kapatıldı ve 700 Apollo James (H. Heal & Co. Ltd) soldurma cihazındaki yerlerine dikkatli bir şekilde yerleştirildi (Şekil 4.2). Hazırlanan mavi kartelâ da soldurma cihazına yerleştirildi. 2200 Watt ark ksenon lamba altında ISO 105 B02 1999 standardına göre ışığa karşı renk haslıkları kontrol edildi. 4 numaralı mavi yün referans olarak alındı ve gri skalaya göre 4'e kadar solma işlemi gerçekleşinceye kadar teste devam edildi.



Şekil 4.2 700 Apollo James (H. Heal & Co. Ltd) ışık haslığı test cihazı

4.8.3 Boyanmış Numunelere Sürtünme Haslığının Uygulanması

Sürtme cihazı (Krokmetre) (Şekil 4.3), sürtünmeye karşı renk haslıklarının tayininde kullanıldı. Sürtme bezi olarak 5x5 cm boyutunda, boyasız, nişasta ve diğer apre maddeleri giderilmiş, ağartılmış pamuklu kumaşlar hazırlandı. Kuru ve yaş sürtme haslığı olmak üzere iki şekilde uygulandı.

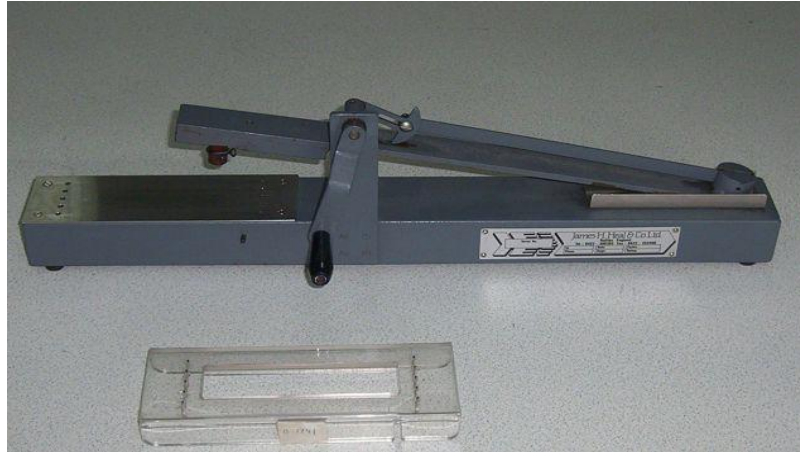
4.8.3.1 Kuru Sürtünme Haslığı

Boyanmış yünlü kumaş parçacıkları, sürtme cihazının çeneleri arasına uzunlamasına sürtülecek şekilde kırışksız olarak yerleştirildi. Cihazın sürtme baskı ayağına beyaz pamuklu sürtme bezi (refakat bezi) sarıldı ve kısıkaç ile tutturuldu. 10 cm' lik aralık içinde, 10 saniyede, 10 defa gidip gelecek şekilde ve aynı doğrultuda pamuklu bez numuneye sürtüldü.

4.8.3.2 Yaş Sürtünme Haslığı

Bu haslık tayininde, sürtme cihazı aynı şartlar altında yeni bir kuru numune üzerine, su ile ıslatılmış pamuklu bez ile kuru sürtünme haslığında anlatıldığı gibi çalışıldı. Sürtme

bezi (refakat bezi), ya tel kafese konulup üzerine su damlatılarak veya başka bir metotla kendi ağırlığının % 100' ü kadar su alması sağlandıktan sonra deneyde kullanıldı. Deneyden sonra pamuklu bez oda sıcaklığında bırakılarak kurutuldu (TS 717 EN ISO 105-X12).

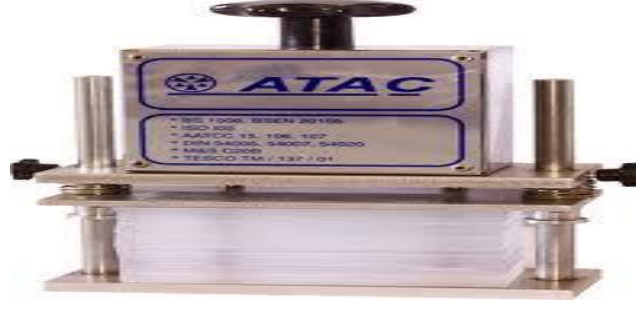


Şekil 4.3 El tahrikli krockmeter [203]

4.8.4 Boyanmış Numunelere Ter Haslığının Uygulanması

Bu haslık tayininde, asidik ve bazik (alkali) çözeltiler kullanıldı. Asidik çözeltinin pH'sı 5,5 ve alkali çözeltinin pH'sı 8,0'dir. Ter haslığında refakat bezi olarak üzerinde çeşitli kumaş türleri bulunan referans bez kullanıldı. Numuneler asit veya alkali ter haslığı çözeltilerinden birisi ile 1/50 flotte oranında, oda sıcaklığında 30 dakika muamele edildi. % 100 flotte içeren numuneler hidrotest aletinde (Şekil 4.4) 5 kg ağırlık altında 37 °C'de 4 saat bekletildi. Bu süre sonunda alınıp 60 °C 'yi geçmeyecek şekilde kurutulur. Akma ve renk değişimi gri skala ile değerlendirildi (**TS EN ISO 105-E-04, Ocak 2010**).

Asetat, pamuk, poliamid, poliester, akrilik, yün kumaş türlerinde akma ve solma düzeyleri incelendi.



Şekil 4.4 Ter haslığı test cihazı

4.8.5 Boyanmış Numunelerde Antibakteriyel Özelliğin Araştırılması

AATCC 147 Antibakteriyel Test Metodu ile mevcut kumaşın antibakteriyel etki gösterip göstermediği belirlendi. Bu test işlemi bakteristatik etkilerin tespit edilmesinde kullanılmaktadır.

AATCC 147 Antibakteriyel Test Metodunun uygulanması : E. coli bakterileri ile hazırlanan bakteri konsantrasyonu, içerisinde nutrient Broth Agar bulunan petri kaplarına paralel çizgiler halinde aşılandı. Aktivitesi tespit edilmek istenen kumaş 2,5 x 5 cm boyutlarında kesilerek; aşılanan bakteri kolonileri ile temas edecek şekilde yerleştirildi. Bakteriler kumaş üzerinde kolaylıkla üreyebilsinler diye 37 °C' de 24 saat süre ile etüvde bekletildi. 24 saatlik sürenin ardından, bakteriler kumaş üzerinde bulunmuyorsa; tekstil yüzeyinin antibakteriyel özellik gösterdiği anlaşıldı.

5.1 Gül Yapraklarından Antosiyanin Ekstraksiyonu

Bölüm 4.1.7 ve 4.1.8’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde; Ultrasonik banyo ile gül yapraklarından doğal boyarmadde eldesi için literatürde verilen çözücü sistemleri denendi. Çözücü sisteminin belirlenebilmesi için elde edilen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri Çizelge 5.1 ‘de ve Şekil 5.1 ve 5.2’de verilmiştir. Etanol / 0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü sisteminin ekstraksiyon veriminin oldukça iyi olması; etanolün, metanol kadar zehirli olmaması ve aseton kadar uçucu olmaması nedeniyle bu çözücü sistemi ekstraksiyon çözücüsü olarak tercih edildi.

Antosiyaninler, nötral veya alkali ortamda kararlı olmadıklarından asidik çözeltiler kullanılarak ekstrakte edilirler. Antosiyaninlerin ekstraksiyonunda çoğunlukla düşük kaynama noktalı alkollerin seyreltik mineral asitli (\leq % 1 HCl gibi) çözeltileri kullanılır (Harborne, 1984). Ekstraksiyon işlemi her bir çözücü sistemi ile tekrarlandı ve elde edilen ekstraktlerin UV-Vis spektrofotometre’de absorbans değerleri okundu. Yapılan çalışmalarda gül yapraklarındaki antosiyaninlerin ekstraksiyonu için çalışılan çözücü sistemlerinden Etanol/ 0,1 N HCl (90/10, v/v) karışımı en uygun çözücü olarak seçildi. Etanol/ Metanol (90/10, v/v), Metanol/ Etanol (90/10, v/v), Etanol/ 0,1 N CH₃COOH (90/10, v/v) çözücüleri de iyi sonuç verdi. Ancak metanol zehirli olduğundan gıdalarda kullanılması zordur. Bu yüzden metanol sistemleri elendi (Francis, 1982). Antosiyaninlerin düşük pH’larda daha kararlı olduğu bilindiğinden asitli ortam tercih edildi. HCl ile asitlendirme sonucu, düşük pH’ın yanı sıra basit antosiyaninlerden flavilyum klorür tuzları oluşacak bir aralık sağlanmış olur. HCl gibi mineral asitin

kullanımı kompleks pigmentlerin ve ko-pigmentlerin doğal formlarının değişimine ve kararsız açıl kalıntılarının kaybına sebep olur (Moore v.d., 1982). Ekstraksiyon sırasında pigment bozunumunu en düşük seviyede tutmak için 30 °C'nin altında çalışılmalıdır [56].

5.2 Ultrasonik Ekstraksiyon İçin Seçilen Etanol/0,1 N HCl Oranının Saptanması

Bölüm 4.1.8'de anlatıldığı şekilde elde edilen gül ekstrelerini kullanarak, Etanol / 0,1 N HCl çözeltisi için ayrı ayrı alkol/asit oranlarının denenmesindeki amacımız; ortamın pH'ındaki değişimlerin absorpsiyon üzerinde ne kadar etkili olduğunu görebilmeyi ve ortamın pH'ının 1 civarında olduğu durumlarda antosiyaninlerin en kararlı olduğu yapı ele geçmiştir (Moore v.d., 1982). Bölüm 4.1.9'da verilen her bir çözücü oranı için ayrı ayrı Uv-Vis spektrofotometre'de absorbans değerleri ölçüldü. Çözücü oranlarına baktığımızda, Şekil 5.4.a ve 5.4.b'de görüldüğü gib en uygun oranların 5, 8 ve 9 numaralı ekstraksiyon işlemlerinde elde edildiği görüldü. Ancak elde edilen ekstraktın gıdalarda kullanımını da göz önünde bulundurarak asit oranı 9 numaralı işlem olacak şekilde seçildi. En iyi sonuç; Etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü sistemi ile elde edildi. Etanol / 0,1 N HCl çözücü sistemi için karışım oranının belirlenmesinde ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri Çizelge 5.2 'de alınan spektrumlar ise Şekil 5.3 ve 5.4'de verildi.

5.3 Solid/likid Oranının Saptanması

Bölüm 4.1.10'da anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, 1/40 solid/likid oranından sonra yapılan 5 ve 6 numaralı ekstraksiyon işlemlerinde türev ve absorbans değerlerinde pek fazla bir değişim gözlenmedi. En yüksek absorbans değeri 1/40 solid/likid oranı ile elde edildi. Böylece solid/likid oranımız 1/40 olarak seçildi. Solid/likid oranları için ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri Çizelge 5.3 'de alınan spektrumlar ise Şekil 5.5 ve 5.6'da verildi.

5.4 Solid/likid Oranı İçin Ekstraksiyon Süresinin Saptanması

Bölüm 4.1.11'de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, en yüksek absorbans değeri 40 dakika ekstraksiyon süresi için okundu, ancak yapılan çalışmada 10

10 dakika ekstraksiyon süresi tercih edildi. Çünkü gül numuneleri için ekstraksiyon işlemi 3 kere tekrar edildi. Hem zaman kaybını hem de enerji sarfiyatını azaltmak için 10 dakika ekstraksiyon süresi seçildi. 10'ar dakikalık 3 ekstraksiyon sonunda gül yapraklarındaki kırmızı boyanın neredeyse tamamını almayı başardık. Artık 3. ekstraksiyon sonucunda spektrofotometreden okunan absorbans değerlerinde bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Bu yüzden de zaman ve enerji kaybını engellemek için 10 dakika ekstraksiyon süresi tercih edildi. 1/40 Solid/likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri Çizelge 5.4'de alınan spektrumlar ise Şekil 5.7, 5.8'de verilmiştir. 40 dakika ekstraksiyon süresi için yapılan 3 ekstraksiyon işlemine ait sonuçlar Çizelge 5.5'de alınan spektrumlar ise Şekil 5.9 ve 5.10'da verildi. Ayrıca 10 dakika ekstraksiyon süresi için yapılan 3 ekstraksiyon işlemine ait sonuçlar Çizelge 5.6'da alınan spektrumlar ise Şekil 5.11 ve 5.12'de verildi.

5.5 Sokslet Ekstraksiyonu (S.E.) – Normal Distilasyon (N.D.)

Bölüm 4.2.1 ve 4.2.2'de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, sokslet ve distilasyon düzeneklerinden elde edilen gül ekstrelerine ait absorbans değerleri Çizelge 5.7'de ve ayrıca kantitatif analiz sonuçları Çizelge 5.8'de verildi.

5.6 Marine Ekstraksiyon

Bölüm 4.2.3'de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, marine ekstraksiyonuna ait absorbans değerleri Çizelge 5.9'da ve absorpsiyon spektrumu ise Şekil 5.13'de verildi.

5.7 Manyetik Karıştırıcı Kullanılarak Yapılan Ekstraksiyon

Bölüm 4.2.4'de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan farklı ekstraksiyon işlemlerinde okunan absorbans değerleri (Solid/likid:1/40) Çizelge 5.10 'da ilgili absorpsiyon spektrumu ise Şekil 5.14 ve 5.15'de, manyetik karıştırıcı kullanılarak 2 kez peş peşe yapılan ekstraksiyon işlemlerinde alınan ölçümler (Solid/likid:1/40) Çizelge 5.11'de ve ilgili absorpsiyon spektrumu ise Şekil 5.16'da verildi.

5.8 Boyarmaddenin Sıcaklığa Karşı Bozunmasının İncelenmesi

Bölüm 4.3.1’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, gül yaprağı ekstresinin sıcaklığa karşı bozunmasının incelenmesi ile elde edilen absorbans değerleri ve spektrumlar (λ_{\max} :524 nm) Çizelge 5.12 ve Şekil 5.17’de verildi. Elde edilen sonuçlar, boyarmaddenin yüksek sıcaklığa kadar dayanıklı olduğunu gösterdi.

5.9 Boyarmaddenin pH’a Karşı Bozunmasının İncelenmesi

Bölüm 4.3.2’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, pH’ı 2 olan boya çözeltilerinin rengi pek değişmezken, pH’ı 4 ve 6 olan çözeltilerin rengi açılmıştır. pH’sı 8 ve 10 olan çözeltilerin rengi maviye kayarken, pH’sı 12 olan çözeltinin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi. Gül yaprağı ekstresinin pH’a karşı değişiminin incelenmesi ile elde edilen absorbans değerleri (λ_{\max} :524 nm) Çizelge 5.13’de ve ilgili absorpsiyon spektrumları ise Şekil 5.18, 5.19’da verildi. Standart çözelti için elde edilen absorbans değerleri Çizelge 5.14 ve ilgili absorpsiyon spektrumları ise Şekil 5.20 ve 5.21’de verildi.

5.10 Boyarmaddenin Hava Oksijenine Karşı Bozunmasının İncelenmesi

Bölüm 4.3.3’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen sonuçlarda, λ_{\max} ’larda bir değişiklik olmazken, absorbanslarda küçük artışlar görülmektedir. Absorbanstaki bu artışın, ağız açık olarak bekletilen çözeltinin çözücüsünün uçması sonucu meydana gelen konsantrasyon artışından kaynaklandığı düşünülmektedir. Gül yaprağı ekstresinin hava oksijenine karşı bozunmasının incelenmesi ile elde edilen absorbans değerleri (λ_{\max} :524 nm) Çizelge 5.15’de ve ilgili absorpsiyon spektrumu ise Şekil 5.22’de verildi.

5.11 Boyarmaddenin UV Lamba Altında Bozunmasının İncelenmesi

Bölüm 4.3.4’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, gül yaprağı ekstresinin Uv lamba altındaki bozunmasından elde edilen absorbans değerleri (λ_{\max} :524 nm) Çizelge 5.16’de ve ilgili absorpsiyon spektrum ise Şekil 5.23’de verilmiştir.

5.12 Boyarmaddenin Yükseltgen ve İndirgenlere Karşı Bozunmasının İncelenmesi

Bölüm 4.3.5’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, H₂O₂ ilave edildi ve 5, 10 ve 20 dakika sonra ölçümler alınarak H₂O₂ ilavesine karşı boyarmaddenin bozunup bozunmadığı incelendi ve absorbands değerleri Çizelge 5.17’de ve ilgili absorpsiyon spektrumu ise Şekil 5.24, 5.25’de verildi. H₂O₂ ilavesinden sonra boyarmaddenin renginin açıldığı gözlemlendi ancak hacim tamamlama için kullandığımız etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı ile tamamlandığında, rengin tekrar eski haline döndüğü gözlemlendi. Bu sonuçlar, çalışmada kullanılan çözücü karışımında boyarmaddenin oldukça kararlı olduğunu gösterdi.

Bölüm 4.3.5’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde, NaNO₂ ilave edildi ve 5, 10 ve 20 dakika sonra ölçümler alınarak NaNO₂ ilavesine karşı boyarmaddenin bozunup bozunmadığı incelendi ve absorbands değerleri Çizelge 5.18’de ve ilgili absorpsiyon spektrumu ise Şekil 5.26 ve 5.27’de verildi. NaNO₂ ilavesinden sonra boyarmaddenin renginin kahverengi-yeşile döndüğü gözlemlendi ancak hacim tamamlama için kullandığımız etanol/0,1 N HCl (90/10, v/v) çözücü karışımı ile tamamlandığında, rengin tekrar eski haline döndüğü gözlemlendi. Bu sonuçlar, çalışmada kullanılan çözücü karışımında boyarmaddenin oldukça kararlı olduğunu gösterdi.

5.13 Boyarmaddenin Baz (0,1 N NaOH) İle Titrasyonu

Bölüm 4.3.6’da anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen sonuçlara göre düşük pH değerlerinde renk, kırmızı ve pembe oldu. İlave edilen NaOH miktarı arttıkça pH belli bir noktaya kadar artmış ve sonra sabit kalmıştır. Oluşan renklerin sırasıyla kırmızıdan yeşile ve kahverengiye kaydığı gözlemlendi. Sonuçlar Çizelge 5.19 ve ilgili absorpsiyon grafiğinde Şekil 5.28’de verildi. Grafikte görüldüğü gibi eşdeğer nokta pH:8,2’de ortaya çıkmaktadır. Bu noktanın dışında başka bir dönüm noktası görülmediğinden boyarmaddenin monoprotik özellik taşıdığı saptandı. Elde edilen denklemden, yarı nötralizasyon noktasına karşılık gelen pH değeri 3,61 bulundu. Sonuç olarak bu asidin pK_a değeri 3,61, disosiyasyon sabiti ise K_a: 2,45x10⁻⁵ bulundu.

5.14 Absorpsiyon ve Türev Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1.a ve 1.b) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

Bölüm 4.4.2.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan stok antosiyanin çözeltisinden hazırlanan standart çözeltilerin (12,5-62,5 µg/mL) 400-600 nm dalga boyu aralığında alınan absorpsiyon spektrumları Şekil 5.29'da verildi. Stok antosiyanin çözeltisinden hazırlanan standart çözeltilerin (12,5-62,5 µg/mL) 544 nm'deki absorbans değerleri ölçüldü ve 3 kez tekrarlanan çalışmadan elde edilen ortalama absorbans değerleri yardımıyla hazırlanan ölçü eğrisi Şekil 5.29'da, bu ölçü eğrisine ait değerler ise Çizelge 5.20'de ve bu eğrinin regresyon analizine ait parametreler Çizelge 5.21'de verildi. Stok antosiyanin çözeltisinden hazırlanan standart çözeltilerin (12,5-62,5 µg/mL) 400-600 nm dalga boyu aralığında alınan 1. türev absorpsiyon spektrumları Şekil 5.30'da verildi. Stok antosiyanin çözeltisinden hazırlanan standart çözeltilerin (12,5-62,5 µg/mL) 510 nm'deki 1. türev absorbans değerleri ölçüldü ve 3 kez tekrarlanan çalışmadan elde edilen ortalama absorbans değerleri yardımıyla hazırlanan ölçü eğrisi Şekil 5.30'da, bu ölçü eğrisine ait değerler ise Çizelge 5.22'de ve bu eğrinin regresyon analizine ait parametreler Çizelge 5.23'de verildi.

5.15 Absorpsiyon ve Türev Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 1.a ve 1.b)'nin Gül Yapraklarına Uygulanması

Bölüm 4.4.2.2'de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen gül yaprağı ekstrelerine ait absorpsiyon spektrumları ve ¹D absorpsiyon spektrumları Şekil 5.31'de verildi. Yöntem 1.a ve 1.b için elde edilen absorbans değerleri Çizelge 5.24'de verildi.

5.16 Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

Bölüm 4.4.2.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan stok antosiyanin çözeltisinden hazırlanan standart çözeltilerin (12,5-62,5 µg/mL); Yöntem 2.a için pH 4,5 blank çözeltisine karşı elde edilen absorpsiyon spektrumları Şekil 5.32'de verildi. Stok antosiyanin çözeltisi için 532 nm'deki absorbans değerleri yardımıyla hazırlanan ölçü eğrisi Şekil 5.32'de, bu ölçü eğrisine ait değerler ise Çizelge 5.25'de ve bu eğrinin

regresyon analizine ait parametreler Çizelge 5.26'da verildi. Yöntem 2.b için pH 7,0 blank çözeltisine karşı elde edilen absorpsiyon spektrumları Şekil 5.33'de verildi. Stok antosiyanin çözeltisi için 532 nm'deki absorbans değerleri yardımıyla hazırlanan ölçü eğrisi Şekil 5.33'de, bu ölçü eğrisine ait değerler ise Çizelge 5.27'de ve bu eğrinin regresyon analizine ait parametreler Çizelge 5.28'de verildi.

5.17 Fark Spektroskopisi Yöntemi (Yöntem 2.a ve 2.b)'nin Gül Yapraklarına Uygulanması

Bölüm 4.4.2.2'de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen gül yaprağı ekstreleri kullanılarak; Bölüm 4.4.2.2'de anlatılan fark spektroskopisi uygulandı. Yöntem 2.a için pH 4,5 blank çözeltisine karşı elde edilen absorpsiyon spektrumları Şekil 34'de verildi. Yöntem 2.a için elde edilen absorbans değerleri Çizelge 5.29'da verildi. Yöntem 2.b için pH 7,0 blank çözeltisine karşı elde edilen absorpsiyon spektrumları Şekil 35'de verildi. Yöntem 2.b için elde edilen absorbans değerleri Çizelge 5.30'da verildi. Yöntem 2.a ve 2.b için 1.türev değerleride kontrol edildi ve antosiyaninin kantitatif tayini için hesaplamalarda kullanıldı. Ancak absorbans ve 1.türev absorbans değerlerinden elde edilen antosiyanin miktarları birbirine yakın olduğundan hesaplamalar absorbans değerleri üzerinden yapıldı.

5.18 Standart Yöntem (Referans Yöntem) ile Gül Yapraklarında Antosiyanin Tayini İçin Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

Bölüm 4.4.2.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan stok antosiyanin çözeltisinden hazırlanan standart çözeltilerin (12,5-62,5 µg/mL); birinci seri çözeltiler (pH:1,0 ile hazırlanan) ve ikinci seri çözeltiler (pH:4,5 ile hazırlanan) için distile su blank çözeltisine karşı elde edilen absorpsiyon spektrumları Şekil 5.36'da ve bu spektrumlara ait absorbans değerleri Çizelge 5.31 ve 5.32'de verildi. Stok antosiyanin çözeltisi için 530 nm ve 700 nm'deki absorbans değerleri yardımıyla hazırlanan ölçü eğrisi Şekil 5.37'de, bu ölçü eğrisine ait değerler ise Çizelge 5.33'de ve bu eğrinin regresyon analizine ait parametreler Çizelge 5.34'de verildi.

5.19 Standart Yöntemin (Referans Yöntem) Gül Yapraklarına Uygulanması

Bölüm 4.4.2.2’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen gül yaprağı ekstreleri kullanılarak; Bölüm 4.2.3.2’de anlatılan standart (referans) yöntem uygulandı. Yöntem 3.a (pH:1,0 ile hazırlanan) ve 3.b (pH:4,5 ile hazırlanan) için distile su blank çözeltilisine karşı elde edilen absorpsiyon spektrumları Şekil 5.38’de verildi. Yöntem 3.a ve 3.b için elde edilen absorpsiyon değerleri Çizelge 5.35’de verildi.

5.20 Gül Yaprağı Numunelerinde Kantitatif Tayinler

Bölüm 4.3’de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen gül yaprağı ekstreleri kullanılarak; geliştirilen yöntemlerin uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar g A/100 g gül olarak ve bu çalışmalara ait ortalama, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri Çizelge 5.36’da verildi.

Geliştirilen yöntemler ile bulunan sonuçların karşılaştırılması amacıyla gül yaprağı ekstreleri (AOAC Method, 2005, 02.) belirtilen yöntem ile analiz edilmiştir. Geliştirilen yöntemlerle elde edilen sonuçların 4 deneme üzerinden standart sapma, bağıl standart sapma ve %95 olasılık düzeyinde güven sınırları ile hesaplanarak yapılan istatistik değerlendirmeler kıyas yöntemi ile karşılaştırıldı. Elde edilen antosiyanin miktarlarının 0,2959-0,5345 (g A/100 g gül) arasında değiştiği belirlendi ve bu ölçümlere ait RSD değerlerinin 1,49-7,59 arasında değiştiği saptandı. Geliştirilen yöntemlerin aynı sonucu verip vermediğini kontrol etmek amacıyla %95 güven aralığında “t” testi uygulandı ve sonuçların 8,31-13,65 arasında değiştiği belirlendi ve elde edilen sonuçların; geliştirilen yöntemler ile karşılaştırılan yöntem arasındaki farkın anlamlı olduğu yani ortalamalar yönünden farkın çok olduğu görüldü. Geliştirilen yöntemlerin kesinlikleri arasında farkın belirlenebilmesi amacıyla “F” testi uygulandı ve sonuçların 1,33-56,25 arasında değiştiği belirlendi. F testi analizleri sonucunda ise Yöntem 1.b hariç diğer yöntemler ile standart yöntem arasında standart sapmalar yönünden anlamlı bir fark olmadığı yani standart sapmalar arasındaki farkın anlamsız olduğu görüldü.

5.21 Validasyon İşlemleri

5.21.1 Standart Antosiyanin Çözeltilisine Uygulanan Validasyon İşlemleri

Bölüm 3.10.2’de anlatılan yöntemin doğrusallığının belirlenebilmesi amacıyla her bir yöntem için konsantrasyon aralığı 12,5-62,5 µg/mL olacak şekilde hazırlanan kalibrasyon eğrilerinin R² değerlerine bakıldığında değerlerin 0,9974-0,9987 arasında değiştiği saptandı. Sonuçlardan görüldüğü üzere kalibrasyon eğrilerinin doğrusal olduğu gözlemlendi.

Yöntemin doğruluğunun saptanabilmesi amacıyla % verim ve standart ekleme çalışmaları 3 yöntem için ayrı ayrı yapıldı. Yapılan % verim çalışmalarında değerlerin %79,32 - %97,68 arasında değiştiği görüldü. Standart ekleme yönteminde elde edilen % verim değerlerinin ise %90,75 - %99,16 arasında değiştiği görüldü. Yöntem 1.b haricinde kalan diğer yöntemlerde oldukça yüksek % verim değerleri elde edildi ve yöntemlerin doğruluğu saptanmış oldu.

Yöntemlerin kesinliği hakkında bilgi verebilmek amacıyla her bir yöntem için gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik çalışmaları yapıldı. Elde edilen % verim değerlerinin %79,32 - %97,68 arasında değiştiği saptandı. Yapılan tekrarlanabilirlik çalışmalarında elde edilen bağıl standart sapma değerlerinin (RSD) 0,25-0,95 arasında değiştiği saptandı. Elde edilen RSD değerlerinin düşük olmasından dolayı yöntemlerin kesinliğinin yüksek olduğu belirlendi.

Geliştirilen yöntemlerde, antosiyanin varlığının güvenilebilir bir şekilde saptanabileceği en düşük konsantrasyon düzeyini saptayabilmek amacıyla hesaplanan LOD değerlerinin 0,21-1,07 µg/mL arasında değiştiği ve bu sonuçların oldukça iyi olduğu görüldü. Geliştirilen yöntemlerde, antosiyanin miktarının güvenilebilir bir şekilde ölçülebileceği minimum konsantrasyonları saptayabilmek amacıyla hesaplanan LOQ değerlerinin 0,69-3,58 µg/mL arasında değiştiği ve bu sonuçların oldukça iyi olduğu görüldü.

Bölüm 4.4.1’de anlatıldığı şekilde yapılan işlemler her bir yöntem için ayrı ayrı uygulandı. Her bir yöntem için, aynı gün ve farklı günler içerisinde yapılan çalışmaların tekrarlanabilirliği hakkında bilgi sahibi olmak için; İntra-day (Gün İçi) ve İnter-day (Günler arası) çalışmalar yapıldı. Bu çalışmaya ait sonuçlar İntra-day (Gün İçi) ve İnter-

day (Günler arası) olarak Çizelge 5.37-5.48'de verildi. Buna göre; geliştirilen yöntemlerin yüksek kesinliğe sahip olduğu sonucuna ulaşıldı.

5.21.2 Gül Yaprığı Ekstrelerine Uygulanan Validasyon İşlemleri

Yöntemlerin kesinliği hakkında bilgi verebilmek amacıyla, her bir yöntem için gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik çalışmaları yapıldı. Elde edilen RSD değerlerinin 0,09-0,78 arasında değiştiği görüldü. Buna göre; gül ekstralarının RSD değerlerinin düşük olmasından dolayı yöntemlerin kesinliğinin yüksek olduğu sonucuna ulaşıldı.

Geliştirilen yöntemlerde, antosiyanin varlığının güvenilebilir bir şekilde ölçülebileceği en düşük konsantrasyon düzeyini saptayabilmek amacıyla hesaplanan LOD değerlerinin 0,10-0,80 µg/mL arasında değiştiği ve bu sonuçların oldukça iyi olduğu görüldü. Geliştirilen yöntemlerde, antosiyanin miktarının güvenilebilir bir şekilde ölçülebileceği minimum konsantrasyonları saptayabilmek amacıyla hesaplanan LOQ değerlerinin 0,33-2,62 µg/mL arasında değiştiği ve bu sonuçların oldukça iyi olduğu görüldü.

Geliştirilen yöntemlerin doğruluğunun saptanabilmesi için yukarıda da bahsedildiği gibi yapılan standart ekleme çalışması sonucunda elde edilen absorpsiyon değerleri, kalibrasyon eğrileri, % Verimler ve mg Antosiyanin / 100 g gül yaprağındaki antosiyanin miktarları Çizelge 5.49-5.51'de ve kalibrasyon grafikleri ise Şekil 5.39-5.43'de verildi.

Bölüm 4.4.1'de anlatıldığı şekilde yapılan işlemler her bir yöntem için ayrı ayrı uygulandı. Sonuçlar İntra-day (Gün İçi) ve İnter-day (Günler arası) olarak Çizelge 5.52-5.63'de verildi. Bu çalışmaların asıl amacı; doğal kaynaklı bir numune olan kırmızı gül yapraklarındaki karmaşık matriks içerisindeki antosiyaninin bekleme sonucunda göstermiş olabileceği değişimleri ve matriks girişimlerini incelemektir. Buna göre; İntra-day (Gün İçi) ve İnter-day (Günler arası) çalışmalarında, yukarıda da belirtildiği üzere ölçüm sonuçlarına matriks etkisinin çok düşük olduğu ve elde edilen RSD değerlerinden kesinliğin yüksek olduğu sonucuna ulaşıldı.

Ayrıca, stok antosiyanin çözeltisinden hazırlanmış olan standart çözeltinin (37,5 µg/mL) ve Bölüm 4.4.2.2'de anlatıldığı şekilde yapılan ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen gül yaprağı ekstralarının 3'er mL'si alınarak absorpsiyon spektrumları karşılaştırıldı. Sonuçlar Şekil 5.44- 5.49'da verildi.

5.22 Kumaş Boyamada Uygulanan Yöntemler

Bölüm 4.5 'de anlatılan boyama yöntemleri kullanılarak boyama prosedürleri uygulandı. Antosiyanin doğal bir boyarmaddedir ve suda çözünür. Boyar maddenin yüne bağlanarak, çözünmemesini sağlamak amacıyla, $K_2Cr_2O_7$, $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, $AgNO_3$, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ mordan tuzları ve tannik asit kullanıldı.

Yukarıda bahsedilen mordanlar ile on farklı boyama yöntemi uygulanarak, pH: 4'de hazırlanan tampon çözelti ile 66 adet ham yünlü kumaş parçacığı boyandı. Boyama yöntemi değiştirilince farklı renkler elde edildi. Boyanmış yünlü kumaş parçacıkları Çizelge 5.69 'da görülmektedir. 5 g yünlü kumaş ve % 2 renk şiddeti için, 0,2 g mordan tuzu ve 0,1 g tannik asidin yeterli olduğu bilindiğinden belirtilen miktarlar kullanıldı [202].

Tannik asit ile ilgili yapılan literatür araştırmalarında, yapısındaki hidroksil grupları sebebiyle, mordan tuzunun kumaşa daha iyi bağlanmasında iyi bir aracı olması, antibakteriyal özellik taşıması ve tannik asit ile muamele edilen kumaşlarda ışık ve yıkama hasılığının arttığı tespit edilmesi, bizi çalışmalarımızda tannik asit kullanmaya yöneltti.

$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ ve $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ mordan tuzları ile pH 4'de yapılan boyamalarda oluşan renklerin açık sarı, toprak rengi, haki ve açık kahverengi arasında değiştiği ve renklerin birbirine çok yakın olduğu gözlemlendi.

$K_2Cr_2O_7$ ve $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ mordan tuzları ile pH 4'de yapılan boyamalarda oluşan renklerin açık yeşil, yeşilimsi kahve, açık kahverengi arasında değiştiği ve renklerin birbirine çok yakın olduğu gözlemlendi.

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ mordan tuzları ile pH 4'de yapılan boyamalarda oluşan renklerin koyu mavi, lacivert ve lacivert tonları arasında değiştiği ve renklerin birbirine çok yakın olduğu gözlemlendi.

$AgNO_3$ mordan tuzu ile pH 4'de yapılan boyamalarda oluşan renklerin koyu kahverengi, açık kahverengi ve kahverengi tonları arasında değiştiği ve renklerin birbirine çok yakın olduğu gözlemlendi.

Mordan olarak kullanılan geçiş metali tuzlarının değiştirilmesiyle, renk değişikliğinin oluşması; geçiş element katyonu, boyarmadde ve yündeki serbest aminoasit moleküllerinin oluşturduğu komplekslerdeki, ışık absorpsiyonunun farklı olması ve ligand alan yarılması teoremi ile açıklanabilir. Yarılma enerjileri her katyon için farklı olduğundan, oluşan renkler de farklı olmaktadır [202].

5.23 Boyanmış Numunelere Haslık Testlerinin Uygulanması

Bölüm 4.8 'de anlatılan işlemler uygulanarak; boyanmış numunelere ışık haslığı, ter haslığı, kuru-yaş sürtünme haslık testleri uygulandı. Ayrıca renk kodları belirlendi ve reflektans eğrileri kontrol edildi. Sonuçlar Çizelge 5.64-5.68'de ve Şekil 5.50-5.57 'de verilmiştir.

Boyanmış yünlü kumaş parçacıklarına ışık haslığı testi (TS EN ISO 105 B02 1999) uygulandı ve elde edilen sonuçlar mavi ve gri skalaya göre değerlendirildi. Buna göre ışık haslığı test sonuçlarının nadiren 3, ortalama olarak da 4-6 arasında, birkaç boyamada ise 7-8 olduğu, bu sonuçların doğal boyama için oldukça yüksek değerler olması boyama kalitesi açısından önemlidir.

Boyanmış yünlü kumaş parçacıklarına sürtünme haslığı testi (TS 717 EN ISO 105-X12) de uygulanarak elde edilen sonuçlar gri skalaya göre değerlendirildi. Buna göre sürtünme haslığı test sonuçlarının, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ mordan tuzları haricinde kalan diğer tüm mordan tuzlarında 4–5 arasında olduğu ve bu sonucun çok iyi olduğu, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ mordan tuzlarında ise ortalama 3-4 arasında olduğu ve bu sonucun normal olduğu saptandı. $K_2Cr_2O_7$, $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, $AgNO_3$ ve $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ mordan tuzlarının kullanıldığı boyamalarda genelde yüksek sürtünme haslığı sonuçları elde edildi.

$AgNO_3$ ve $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ mordan tuzlarının kullanıldığı boyamalarda genelde yüksek ışık haslığı sonuçları elde edildi. Bu tuzların sağlığa zararlı olmadığı ve $AgNO_3$ tuzunun sağlık açısından yararlı olduğu bilindiğinden pH: 4 ortamında gül yaprağı ile yapılan boyamalarda $AgNO_3$ ve $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ mordan tuzlarının etkin olarak kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

Boyanmış ynl kumaş parçacıklarına ter haslığı testi (TS EN ISO 105-E-04, Ocak 2010) de uygulanarak elde edilen sonuçlar gri skalaya göre değerlendirildi. Buna göre ter haslığı sonuçlarının birkaç boyamada 4-5 arasında diğer bütün mordan tuzları için 5 olduğu ve bu sonucun çok iyi olduğu belirlendi.

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ mordan tuzlarının sürtünme haslıkları haricinde diğer bütün mordan tuzlarının sürtünme, ışık ve ter haslıklarının sonuçları oldukça yüksek olduğu belirlendi.

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ mordan tuzları ile 5. ve 7. yöntemler kullanılarak yapılan boyamalarda en yüksek ışık, sürtünme ve ter haslığı elde edilmiştir.

Boyanmış kumaş numunelerinin antibakteriyel özellik gösterip göstermediği (AATCC 147 Antibakteriyel Test Metodu) araştırıldı ve 1. ve 2. yöntemlerin uygulanmasıyla elde edilen boyanmış ynl kumaş parçacıklarının antibakteriyel özellik gösterdiği saptandı. Sonuç olarak tannik asit ve $AgNO_3$ mordan tuzunun bir arada olduğu boyama yöntemlerinin antibakteriyel özellik gösterdiği belirlendi.

Ülkemiz, doğal boyamacılık bakımından oldukça eski bir tarihsel geleneğe ve doğal boyamacılıkta kullanılan bitkiler açısından zengin bir potansiyele sahiptir. Günümüzde bu zenginlik boyamacılıkta kullanılan bitki sayısına yansıtılamamaktadır. Ülkemizde boya bitkilerinin kültürü yapılamamakta, boyama için gerekli materyal doğadan toplamalar yolu ile sağlanmaktadır. Ekonomik açıdan önemli boya bitkilerinin tespit edilerek, bu bitkilerin kültüre alınması ve belirli standartlarda üretilmesi ile unutulmaya yüz tutmuş eski bir tarımsal faaliyet alanı yeniden gncelleşecek, yöresel olarak yapılan el sanatları ve özellikle ihraç değer yüksek olan halı ve kilimlerin boyanmaları için hammadde temin edilmiş olacaktır. İnsan sağlığına zarar veren sentetik boya ile boyanan ynler yerine, insan sağlığına zarar vermeyen, doğal bitkilerden elde edilen boya ile boyanan ynlerin günümüzde kullanılması, gerekliliğini ortaya koymaktadır. Doğal boya ile boyanan materyaller turistik açıdan önemli bir yere sahiptir. Ayrıca uzun yıllardan beri ülkemizde uğraşılan bir ata sanatını yaşatmak, sürdürmek, genişletmek ve bir döviz kaynağı haline getirmek ülkemiz açısından önemlidir. Son yıllarda, ekolojik denge, biyolojik ayrışma ve doğal boyaların çevreye daha iyi uyumu doğal boyaların önemini artırmaktadır [202].

ΔE renk farklılıklarını tespit etmek amacıyla; 9. ve 10. boyama yöntemleri tuz barındırmadıklarından dolayı referans olarak kabul edildi. 6. boyama yöntemi (M →Boya) için sadece boyanın olduğu 10. yöntem, diğer boyama yöntemlerine ise 9. yöntem referans olarak kullanıldı.

Reflektans eğrilerine bakıldığında $K_2Cr_2O_7$ için 2., 6. ve 8. yöntemler az da olsa ufak farklılıkla diğer reflektans eğrilerinden ayrılmaktadır. L_a ve b değerlerinden elde edilen ΔE renk farklılıkları referanslara göre hesap edildiğinde (Çizelge 5.70) 2., 6. ve 8. yöntemlerin ΔE renk farklılıkları daha düşük bulundu. 3., 4. ve 7. yöntemler $K_2Cr_2O_7$ mordan tuzunun ön plana çıkışında daha uygun yöntemler olarak görüldü. 1. ve 5. yöntemlerde ise mordan ve boya renklerinin dengeli bir şekilde yüne fiske olduğu görüldü. ΔE renk farklılıkları değerlerinin 7'den 27'ye kadar geniş bir aralıkta yer alması ve dağınık ΔE renk farklılıkları değerleri görülmesi nedeniyle bu yöntemlerin, $K_2Cr_2O_7$ mordan tuzunun kullanımında önemli renk farklılıkları oluşturduğu saptandı.

Bu sonuçlar ise; $K_2Cr_2O_7$ tuzunun 2., 6. ve 8. yöntemlerde daha arka planda kalarak boya renginin ön plana çıktığını gösterdi. 2. yöntemde bu sonucun ortaya çıkması boyanın renginin ön plana çıkışında 2. Yöntemin bu tuza uygunluğunu gösterdi.

Haslıklar konusunda ön plana çıkan bir yöntem bulunmadığından renk farklılıkları oluşturma yönünde yöntem tercihi yapıldı ve bu yöntemlerin her birinin, $K_2Cr_2O_7$ mordan tuzunun kullanımında uygun olduğu saptandı.

Reflektans eğrilerine bakıldığında $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ için 2. ve 8. yöntemler gözle görülür bir farklılıkla diğer reflektans eğrilerinden ayrılmaktadır. Bu ayrılma, L_a ve b değerlerinden elde edilen ΔE renk farklılıkları referanslara göre hesap edildiğinde (Çizelge 5.70) 2. ve 8. yöntemlerin daha yüksek ΔE renk farklılığı değerlerine sahip olmasından anlaşıldı. Fakat tüm ΔE değerlerinin düşük değerlerde seyretmesi tuzun, boyanın rengini değiştirme konusunda çok fazla etkili olmadığını gösterdi. Bu nedenle farklı renkler oluşturma konusunda sadece 2. ve 8. yöntemlerin az da olsa etkili olduğu anlaşıldı.

2. ve 8. yöntemlerde bu sonucun ortaya çıkması ile, tuzun daha ön plana çıktığı ve boyanın rengini kapattığı anlaşıldı. Renk haslıklarına bakıldığında, uygulanan yöntemlerin sonuçları fazla etkilemediği görüldü ve bu nedenle fiksasyondan

(tutunum) çok, farklı renklerin oluşumu için yöntemlerin uygulanabilirliği kontrol edildi. Farklı renkler oluşturma konusunda 2. ve 8. yöntemlerin uygun olduğu saptandı.

Reflektans eğrilerine bakıldığında $KAl(SO_4)_2 \cdot 9H_2O$ için 2. ve 8. yöntemler gözle görülür bir farklılıkla diğer reflektans eğrilerinden ayrılmaktadır. Bu ayrılma, L, a ve b değerlerinden elde edilen ΔE renk farklılıkları referanslara göre hesap edildiğinde (Çizelge 5.70) 2. ve 8. yöntemlerin daha yüksek ΔE renk farklılığı değerlerine sahip olmasından anlaşıldı. Fakat tüm ΔE değerlerinin düşük değerlerde seyretmesi tuzun, boyanın rengini değiştirme konusunda çok fazla etkili olmadığını gösterdi. Bu nedenle farklı renkler oluşturma konusunda sadece 2. ve 8. yöntemlerin az da olsa etkili olduğu anlaşıldı.

2. ve 8. yöntemlerde bu sonucun ortaya çıkması ile tuzun daha ön plana çıktığı ve boyanın rengini kapattığı anlaşıldı. Renk haslıklarına bakıldığında, uygulanan yöntemlerin sonuçları fazla etkilemediği görüldü ve bu nedenle fiksasyondan (tutunum) çok, farklı renklerin oluşumu için yöntemlerin uygulanabilirliği kontrol edildi. Farklı renkler oluşturma konusunda 2. ve 8. yöntemlerin uygun olduğu saptandı.

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ tuzu için reflektans eğrilerine bakıldığında sadece 8. yöntemin daha üst değerlerde çıktığı görüldü. Renk farklılıkları (ΔE) tablosunda da bu yöntemin değerinin diğer yöntemlere göre daha düşük olduğu ve $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ mordan tuzunun renginin arka planda kalarak boya renginin ön plana çıktığı saptandı. ΔE renk farklılığı değerlerine bakıldığında 8. yöntem dışında kalan yöntemlerin ΔE renk farklılığı değerleri 30-45 arasında elde edilmişken 8. yöntemin ΔE renk farklılığı değeri yaklaşık 24 olarak bulundu ve bu değer 8. Yöntemin renginin, boya rengine yakınlığını gösterdi. Diğer yöntemlerin ΔE renk farklılığı değerleri 30-45 aralığı gibi geniş bir aralıkta dağılmış olması, renk farklılığında oluştuğunu gösterdi. Renk haslıkları yönünden kontrol edildiğinde, herhangi bir yöntemin diğerine üstünlüğünden söz edilemeyeceği saptandı. Bu nedenle, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ mordan tuzunun kullanımında fiksasyondan (tutunum) çok, farklı renklerin oluşumu için yöntem tercihi yapmanın daha uygun olacağı saptandı.

Reflektans eğrilerine bakıldığında $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ için 2. ve 6. yöntemler gözle görülür bir farklılıkla diğer reflektans eğrilerinden ayrılmaktadır. L, a ve b değerlerinden elde

edilen ΔE renk farklılıkları referanslara göre hesap edildiğinde Çizelge 5.70 'deki değerler elde edildi. Bu sonuçlara göre 2. ve 6. yöntemlerde daha düşük ΔE renk farklılıkları bulunmuş bu da, tuzun bu yöntemlerde daha arka planda kalarak boya rengi ön plana çıktığı görüldü. 6. yöntemde tannik asit kullanılmaması, tuz kullanımı sırasında tannik asit kullanımı boyanın etkisini azalttığını ve mordanın etkisini arttırdığını gösterdi. 2. yöntemde ise bu sonucun çıkması boyanın renginin ön plana çıkışında 2. Yöntemin bu tuza uygunlunu gösterdi.

Fakat renk haslıkları kontrol edildiğinde 2. ve 6. yöntemlerin diğer yöntemlerin haslıklarından çok farklı olmadığı görülmüş ve bu yöntemlerin hali hazırdaki rengi korumak için kullanılmasının bir gereği olmadığı anlaşıldı. Bu nedenle $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tuzu için uygulanan yöntemlerin haslık değerlerini arttırmaktan çok, farklı renkler oluşturmak için kullanılması daha uygun olacaktır. Buradan hareketle 2. ve 6. yöntemler dışındaki yöntemler, ΔE renk farklılıklarının daha yüksek olmasından kaynaklı olarak farklı renkler oluşturma konusunda daha uygun bulundu.

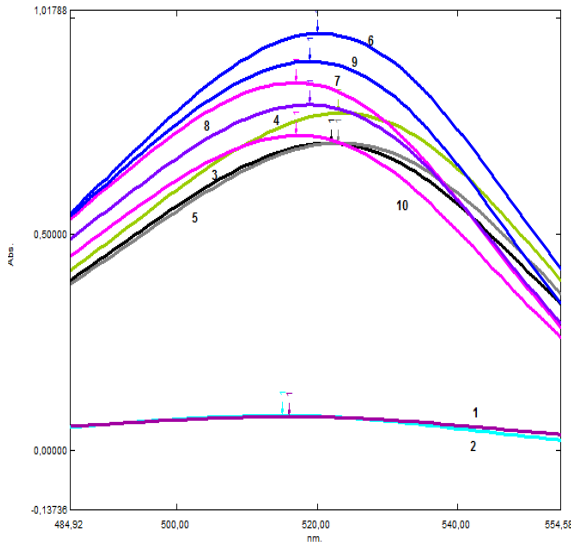
Reflektans eğrilerine bakıldığında AgNO_3 için 5. ve 6. yöntemler gözle görülür bir farklılıkla diğer reflektans eğrilerinden ayrılmaktadır. L, a ve b değerlerinden elde edilen ΔE renk farklılıkları referanslara göre hesap edildiğinde Çizelge 5.70 'deki değerler elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre 5. ve 6. yöntemlerde daha düşük ΔE renk farklılıkları bulunmuş bu da, tuzun bu yöntemlerde daha arka planda kalarak boya rengi ön plana çıktığı görüldü. 6. yöntemde tannik asit kullanılmaması, tuz kullanımı sırasında tannik asit kullanımı boyanın etkisini azalttığını ve mordanın etkisini arttırdığını gösterdi. 5. yöntemde ise bu sonucun çıkması boyanın renginin ön plana çıkışında 5. Yöntemin bu tuza uygunlunu gösterdi.

Renk haslıkları kontrol edildiğinde tuzun kullanımının renk haslığını arttırdığı görülmüş ve rengi çok çok fazla değiştirmeden haslık değerlerini yükseltmek için 5. yöntemin uygun bir yöntem olduğu anlaşıldı. Buradan hareketle, reflektans sonuçlarının ΔE renk farklılıkları sonuçlarıyla örtüştüğü görülmüş ve 5. ve 6. yöntemlerin reflektans eğrilerinde görünür farklılıkla ayrılmasının boyanın daha ön plana çıkmasından kaynaklandığı anlaşıldı. 5. ve 6. yöntemin dışında kalan yöntemler ise ΔE renk farklılıkları büyük oldukları ve bu farklılıklarında reflektans eğrilerinde de kendisini

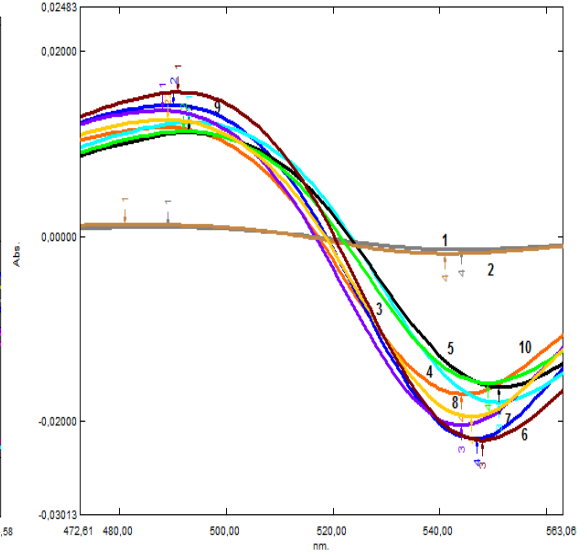
gösterdi. Farklı renk oluşturma konusunda diğer yöntemler daha uygundur. Fakat renk haslıkları bakımından 5. ve 6. yöntemlerin daha iyi sonuçlar verdiği görüldü.

Reflektans eğrilerine bakıldığında $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ tuzu için 7. yöntemin diğer yöntemlerden farklı olarak daha alt bölgelerde çıktığı görüldü. Bu ayrılma Çizelge 5.70'de ΔE renk farklılıkları incelendiğinde de 7. yöntemin daha yüksek renk farklılığı vermesinden anlaşıldı. Fakat tüm ΔE renk farklılıklarının düşük değerlerde seyretmesi tuzun, boyanın rengini değiştirme konusunda çok fazla etkili olmadığını gösterdi. Bu nedenle farklı renkler oluşturma konusunda sadece 7. Yöntemin az da olsa etkili olduğu anlaşıldı ve diğer yöntemlerde renklerin farklılaşmasından çok, haslıklarının yükselip yükselmediği kontrol edildiğinde sonuçların diğer tuzlara oranla üst değerlerde seyrettiği görüldü. Bu nedenle $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ tuzunun bu boyayı fiske etme (tutunumunu arttırma) konusunda daha uygun bir tuz olduğu, haslık değerlerini yükseltmek ve boyanın rengini korumak için iyi bir mordan tuzu olduğu anlaşıldı.

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ tuzu için reflektans eğrilerine bakıldığında sadece 6. yöntemin daha üst değerlerde çıktığı görüldü. Renk farklılıkları (ΔE) tablosunda da bu yöntemin değerinin diğer yöntemlere göre daha düşük olduğu tespit edildi. 6. yöntemde tannik asidin kullanılmamış olması; tannik asidin, tuzun boyama etkisini arttırdığı ve bu nedenle boyanın etkisini azalttığı görüldü. Ancak renk haslığı etkisi görünür derecede etkilenmemektedir. Diğer yöntemlerde ise renk farklılıklarının (ΔE) yüksek olması ve değerlerin birbirine çok yakın olmaları bu yöntemlerde tuzun farklı renk oluşturma konusunda çok çeşitli olmamakla birlikte etkili olduğu görüldü. Fakat tuzun neredeyse tüm yöntemlerde renk haslıklarını, referans numuneye göre aşağı çektiği görülmüş bu da farklı renkler oluşturma konusunda bu mordan tuzunun başarılı olduğunu; fakat haslıklar konusunda istenen başarıyı gösteremediği anlaşıldı.



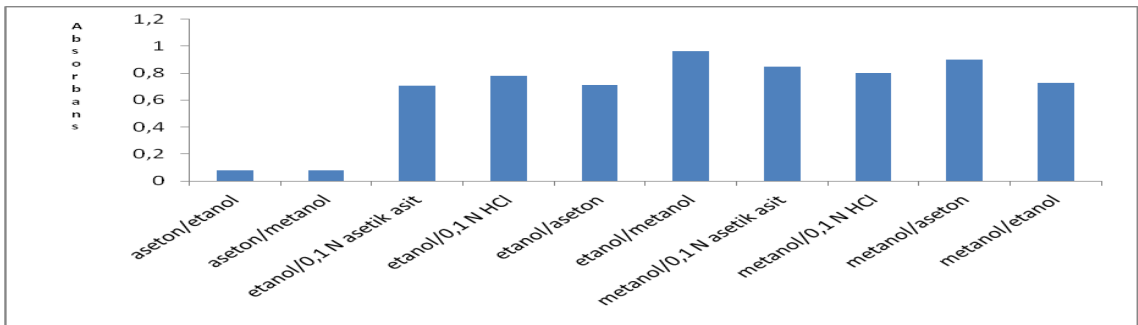
Şekil 5.1.a



Şekil 5.1.b

Şekil 5.1.a Antosiyaninlerin ultrasonik banyoda ekstraksiyonunda solvent seçimi için alınan absorpsiyon spektrumları

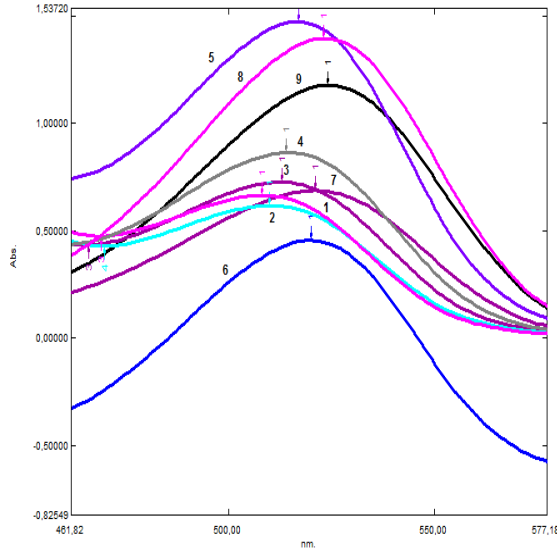
Şekil 5.1.b Antosiyaninlerin ultrasonik banyoda ekstraksiyonunda solvent seçimi için alınan 1. türev absorpsiyon spektrumları



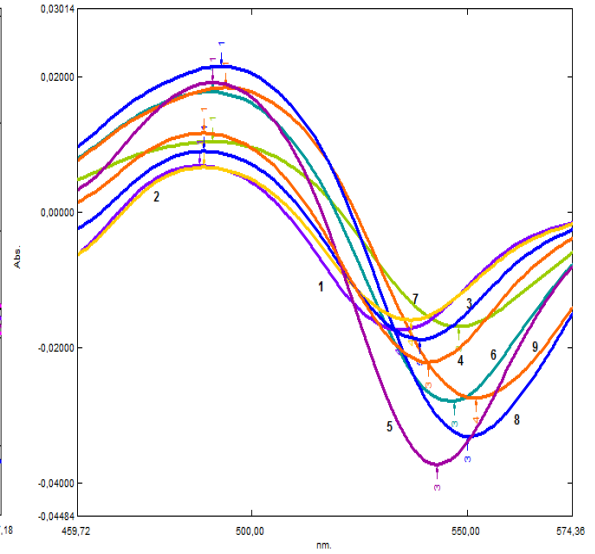
Şekil 5.2 Antosiyaninlerin ultrasonik banyoda ekstraksiyonunda solvent seçimi çalışmalarının grafik gösterimi

Çizelge 5.1 Antosiyaninlerin ultrasonik banyoda ekstraksiyonunda solvent seçiminde ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri

No	Solvent Sistemleri (90/10)	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	Absorbans Değerleri	1.türev absorbans değerleri	
				$\lambda_{\max}(\text{nm}): 490$	$\lambda_{\min}(\text{nm}): 550$
1	Aseton/Etanol	516	0,078	0,001	-0,001
2	Aseton/Metanol	515	0,080	0,001	-0,002
3	Etanol/0,1 N AcOH	523	0,709	0,011	-0,016
4	Etanol/0,1 N HCl	523	0,780	0,012	-0,018
5	Etanol/Aseton	523	0,711	0,011	-0,016
6	Etanol/Metanol	520	0,964	0,016	-0,022
7	Metanol/0,1 N AcOH	518	0,850	0,014	-0,019
8	Metanol/0,1 N HCl	520	0,798	0,013	-0,019
9	Metanol/Aseton	519	0,900	0,014	-0,021
10	Metanol/Etanol	518	0,728	0,012	-0,016



Şekil 5.3.a



Şekil 5.3.b

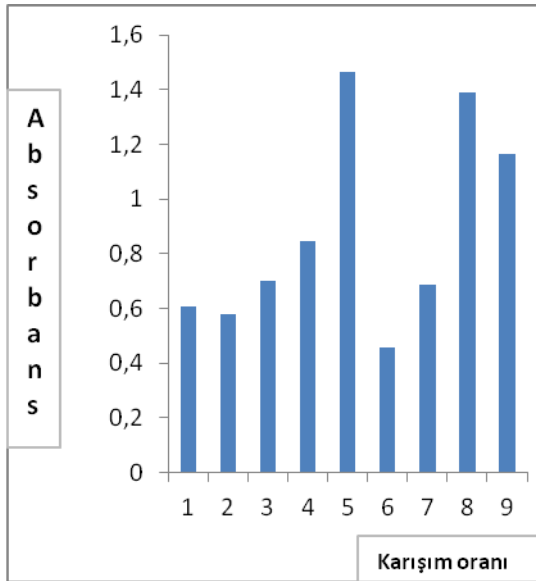
Şekil 5.3.a Etanol / 0,1 N HCl çözücü karışımı için karışım oranının belirlenmesinde alınan absorpsiyon spektrumları

Şekil 5.3.b Etanol / 0,1 N HCl çözücü karışımı için karışım oranının belirlenmesinde alınan 1.türev absorpsiyon spektrumları

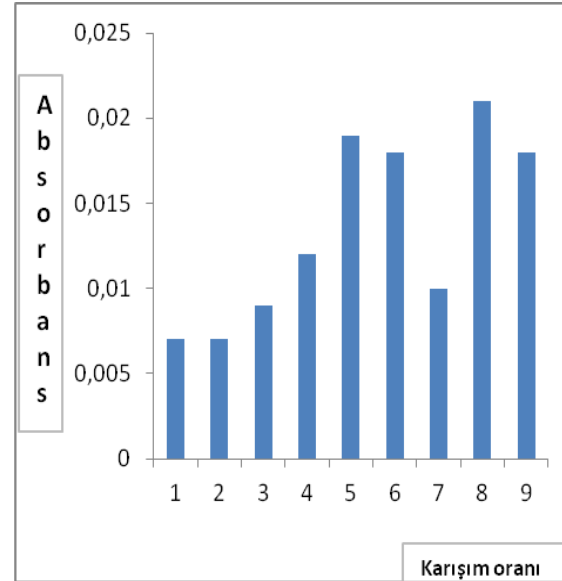
Çizelge 5.2 Etanol / 0,1 N HCl çözücü karışımı için karışım oranının belirlenmesinde ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri

No	Çözücü oranları	Absorbans Değerleri	1.Türev Absorbans Değerleri	
	Etanol / 0,1 N HCl	$\lambda_{\max}(\text{nm}) : 520$	$\lambda_{\min}(\text{nm}) : 543$	$\lambda_{\max}(\text{nm}) : 490$
1	10 ml / 90 ml	0,6055	-0,015	0,007
2	20 ml / 80 ml	0,5790	-0,015	0,007
3	30 ml / 70 ml	0,7014	-0,018	0,009
4	40 ml / 60 ml	0,8476	-0,022	0,012
5	50 ml / 50 ml	1,4651	-0,037	0,019
6	60 ml / 40 ml	0,4550	-0,027	0,018

No	Çözücü oranları	Absorbans Değerleri	1.Türev Absorbans Değerleri	
	Etanol / 0,1 N HCl	$\lambda_{\max}(\text{nm}) : 520$	$\lambda_{\min}(\text{nm}) : 543$	$\lambda_{\max}(\text{nm}) : 490$
7	70 ml / 30 ml	0,6866	-0,016	0,010
8	80 ml / 20 ml	1,3882	-0,030	0,021
9	90 ml / 10 ml	1,1664	-0,024	0,018



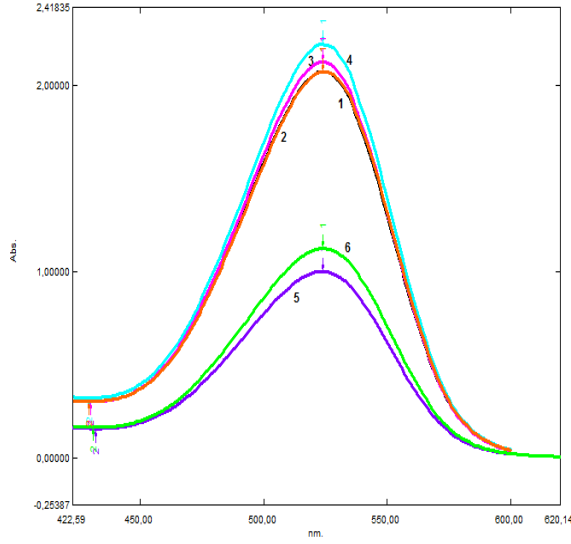
Şekil 5.4.a



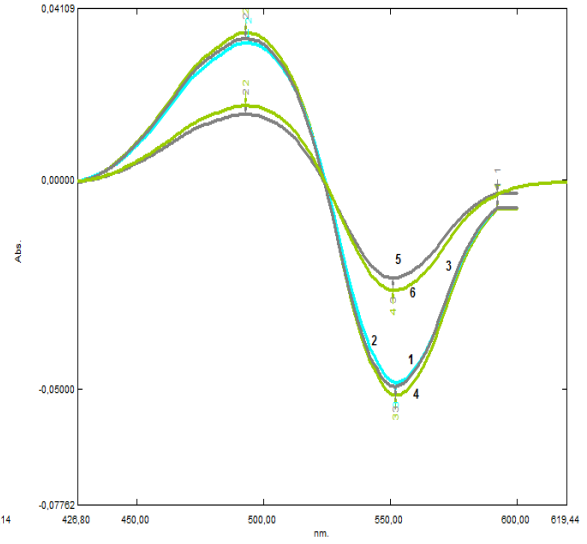
Şekil 5.4.b

Şekil 5.4.a Etanol / 0,1 N HCl için solvent sistemi için karışım oranının belirlenmesinde ölçülen absorbans değerlerinin grafik gösterimi

Şekil 5.4.b Etanol / 0,1 N HCl için solvent sistemi için karışım oranının belirlenmesinde ölçülen 1. türev absorbans değerlerinin grafik gösterimi



Şekil 5.5.a



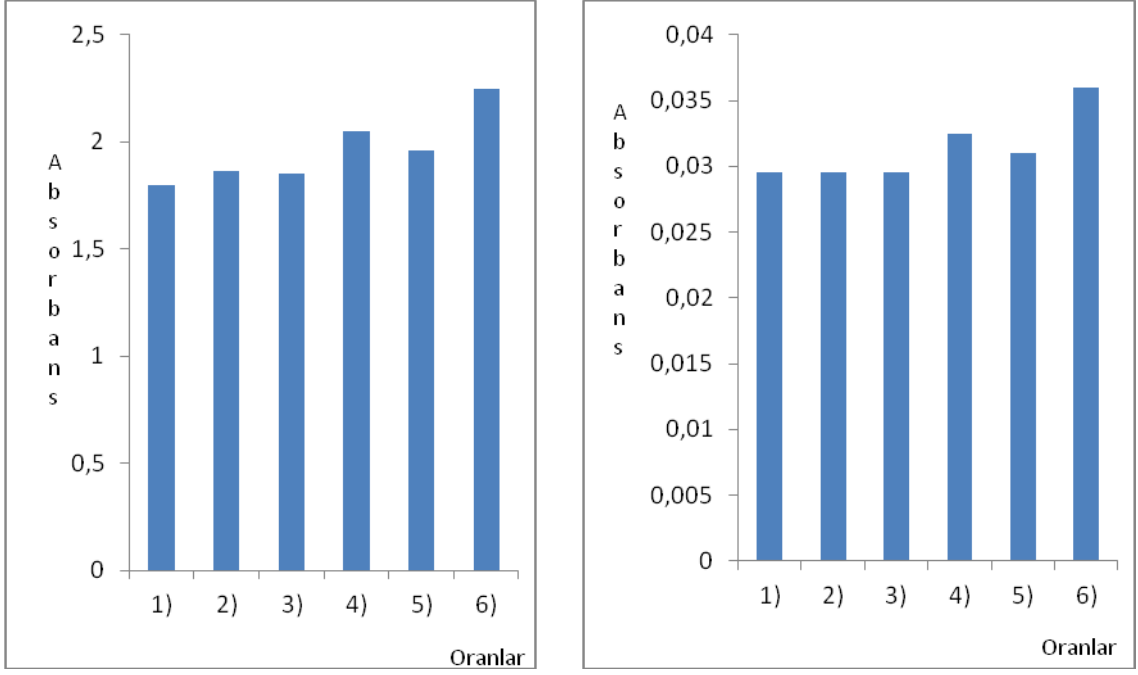
Şekil 5.5.b

Şekil 5.5.a Solid / likid oranının belirlenmesinde elde edilen absorpsiyon spektrumları

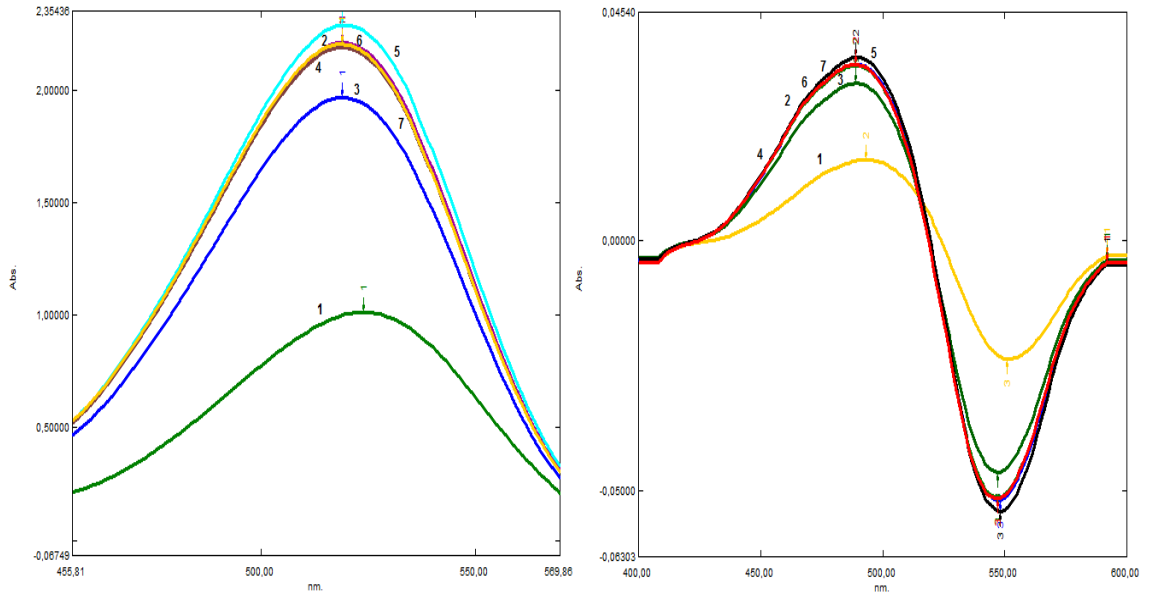
Şekil 5.5.b Solid / likid oranının belirlenmesinde elde edilen 1. türev absorpsiyon spektrumları

Çizelge 5.3 Solid/likid oranları için ölçülen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri

Solid/Likid oranları	λ_{\max} (nm): 524			${}^1D \lambda_{\max}$ (nm) : 493		
	1. Çalışma	2.Çalışma	Ortalama	1. Çalışma	2.Çalışma	Ortalama
1)1/10	1,518	2,073	1,795	0,026	0,033	0,0295
2)1/20	1,660	2,073	1,866	0,026	0,033	0,0295
3)1/30	1,575	2,124	1,849	0,025	0,034	0,0295
4)1/40	1,876	2,220	2,050	0,030	0,035	0,0325
5)1/60	1,920	2,000	1,960	0,030	0,032	0,0310
6)1/80	2,248	2,248	2,248	0,036	0,036	0,0360



Şekil 5.6 Solid/likid oranları için ölçülen absorpsiyon ve 1. türev absorpsiyon değerlerinin grafik gösterimi



Şekil 5.7.a

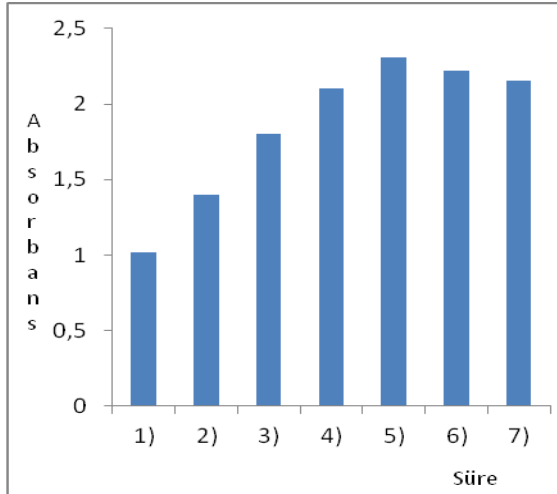
Şekil 5.7.b

Şekil 5.7.a 1/40 Solid/likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında elde edilen absorpsiyon spektrumları

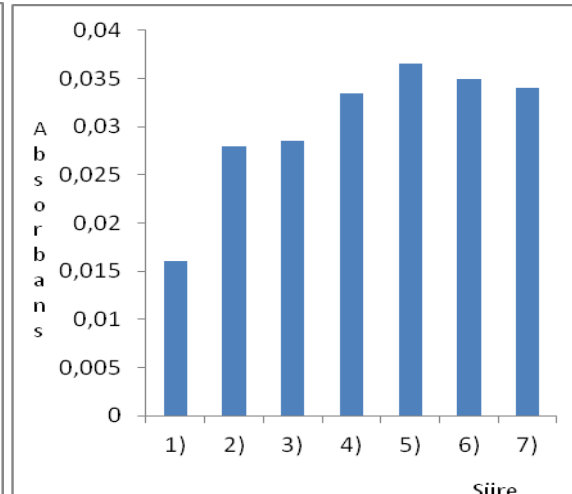
Şekil 5.7.b 1/40 Solid/likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında elde edilen 1. türev absorpsiyon spektrumları

Çizelge 5.4 1/40 Solid/Likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında ölçülen absorbans ve 1.türev absorbans değerleri

Ekstr. Süresi (dak.)	Absorbans Değerleri			¹ D Absorbans değerleri		
	1.Çal.	2.Çal.	Ort.	1.Çal.	2.Çal.	Ort.
1)5	1,015	1,015	1,015	0,016	0,016	0,016
2)10	1,502	1,293	1,398	0,035	0,021	0,028
3)20	1,970	1,630	1,800	0,031	0,026	0,029
4)30	2,192	2,020	2,106	0,035	0,032	0,034
5)40	2,290	2,330	2,310	0,036	0,037	0,037
6)50	2,213	2,230	2,221	0,035	0,035	0,035
7)60	2,208	2,103	2,155	0,035	0,033	0,034



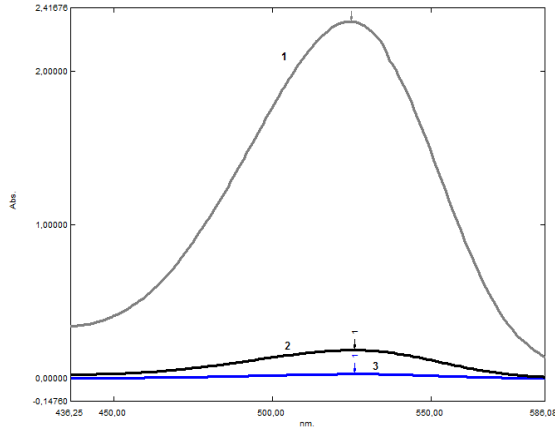
Şekil 5.9.a



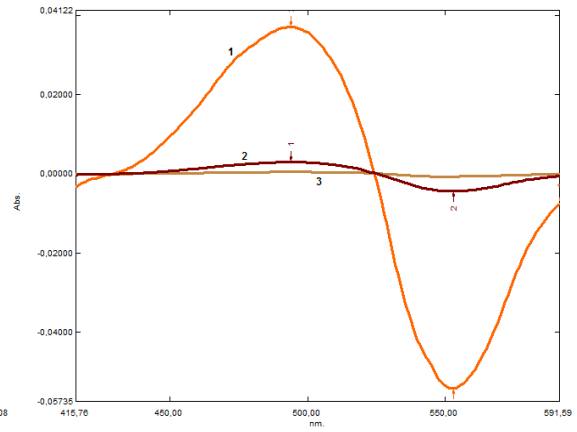
Şekil 5.9.b

Şekil 5.8.a 1/40 Solid/Likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında ölçülen absorbans değerlerinin grafik gösterimi

Şekil 5.8.b 1/40 Solid/Likid oranı için ekstraksiyon süresinin saptanmasında ölçülen 1. türev absorbans değerlerinin grafik gösterimi



Şekil 5.9.a



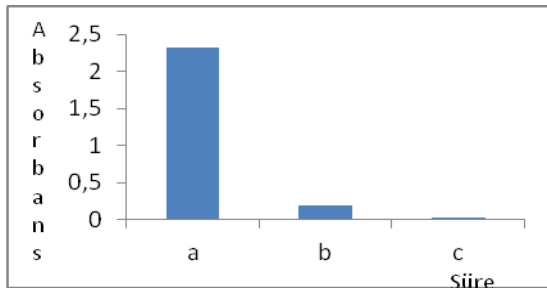
Şekil 5.9.b

Şekil 5.9.a 1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorbans spektrumları

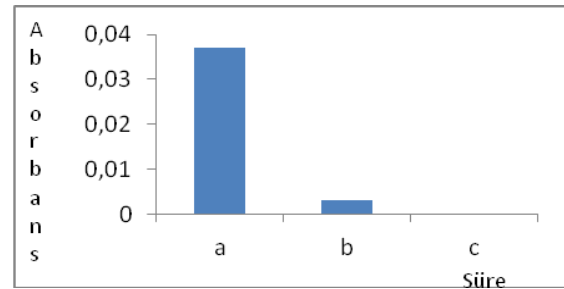
Şekil 5.9.b 1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen 1. türev absorbans spektrumları

Çizelge 5.5 1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri

Solid/Likid Oranı 1/40	Absorbans Değerleri λ_{max} (nm) : 524			¹ D absorbans değerleri λ_{max} (nm) : 494		
	1.Ekst.(a)	2.Ekst.(b)	3.Ekst.(c)	1.Ekst.(a)	2.Ekst.(b)	3.Ekst.(c)
	2,327	0,185	0,029	0,037	0,003	0,000



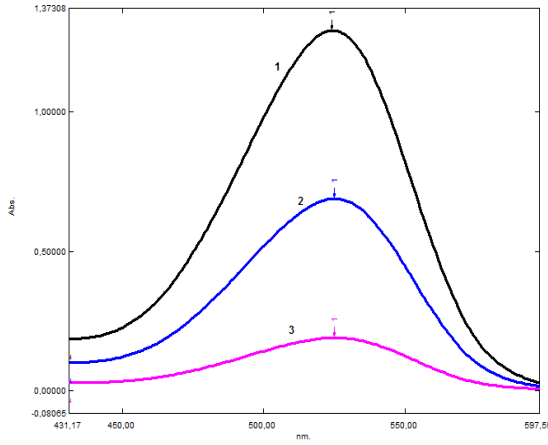
Şekil 5.10.a



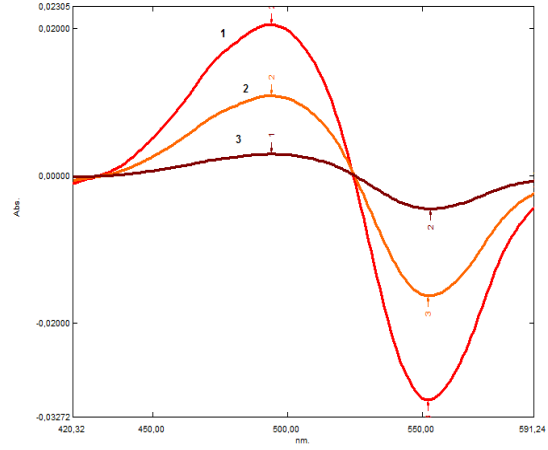
Şekil 5.10.b

Şekil 5.10.a Seçilen 1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorbans değerlerinin grafik gösterimi

Şekil 5.10.b Seçilen 1/40 Solid/Likid oranı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen 1. türev absorbans değerlerinin grafik gösterimi



Şekil 5.11.a



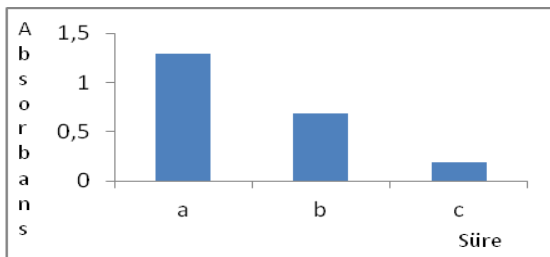
Şekil 5.11.b

Şekil 5.11.a 1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorpsiyon spektrumları

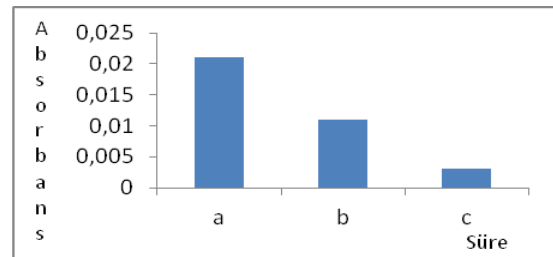
Şekil 5.11.b 1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen 1. türev absorpsiyon spektrumları

Çizelge 5.6 1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorpsiyon ve 1. türev absorpsiyon değerleri

Solid/Likid Oranı 1/40	Absorbans değerleri λ_{\max} (nm) : 524			¹ D absorpsiyon değerleri λ_{\max} (nm) : 494		
	1.Ekst.(a)	2.Ekst.(b)	3.Ekst.(c)	1.Ekst.(a)	2.Ekst.(b)	3.Ekst.(c)
	1,293	0,689	0,190	0,021	0,011	0,003



Şekil 5.12.a



Şekil 5.12.b

Şekil 5.12.a Seçilen 1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen absorpsiyon değerlerinin grafik gösterimi

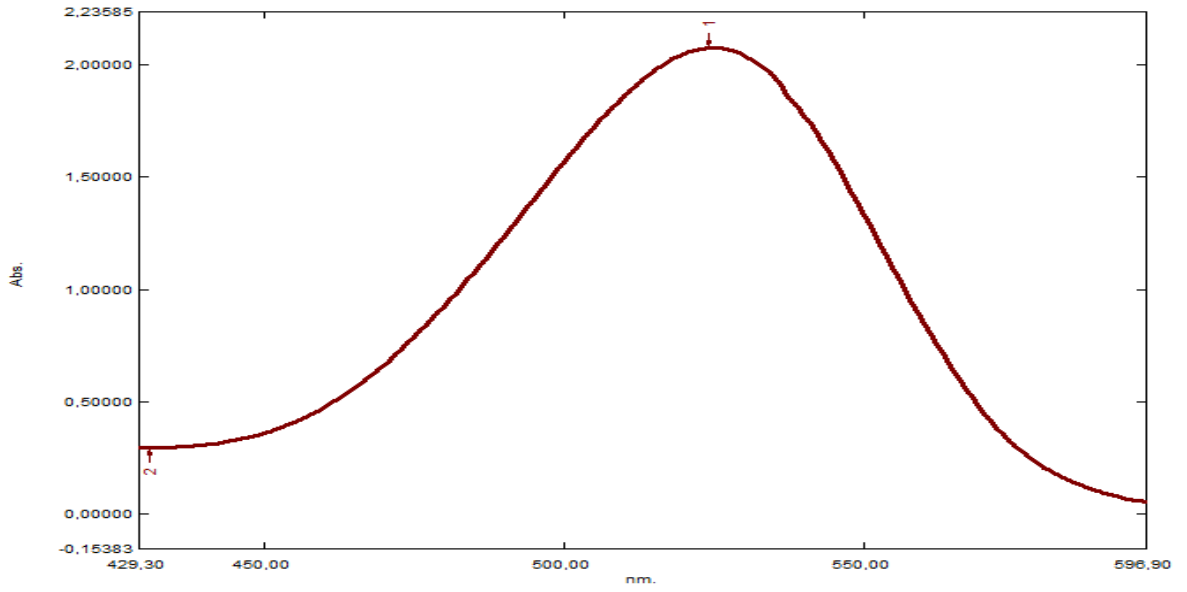
Şekil 5.12.b Seçilen 1/40 Solid/Likid oranı ve 10 dakika ekstraksiyon süresi için 3 ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen 1. türev absorpsiyon değerlerinin grafik gösterimi

Çizelge 5.7 Normal distilasyon ve Sokslet ekstraksiyon sistemi kullanılarak elde edilen ekstraktlarda geliştirilen yöntemler ile gül yaprağındaki antosiyaninin kantitatif analizi için okunan absorbans değerleri

Ölçüm Yöntemleri															
Eks. Yön.	Yöntem 1.a			Yöntem 1.b			Yöntem 2.a			Yöntem 2.b			Yöntem 3		
	1.	2.	3.	1.	2.	3.	1.	2.	3.	1.	2.	3.	1.	2.	3.
N.D.	0,60	0,65	0,63	0,009	0,011	0,010	0,85	0,70	0,83	0,92	0,74	0,86	0,85	0,70	0,80
S.E.	0,78	0,67	0,75	0,010	0,008	0,009	0,87	0,83	0,83	0,69	0,72	0,69	0,87	0,87	0,91

Çizelge 5.8 Normal distilasyon ve Sokslet ekstraksiyon sistemi kullanılarak elde edilen ekstraktlarda geliştirilen yöntemler ile gül yaprağındaki antosiyaninin kantitatif analiz sonuçları (mg A /100 g gül)

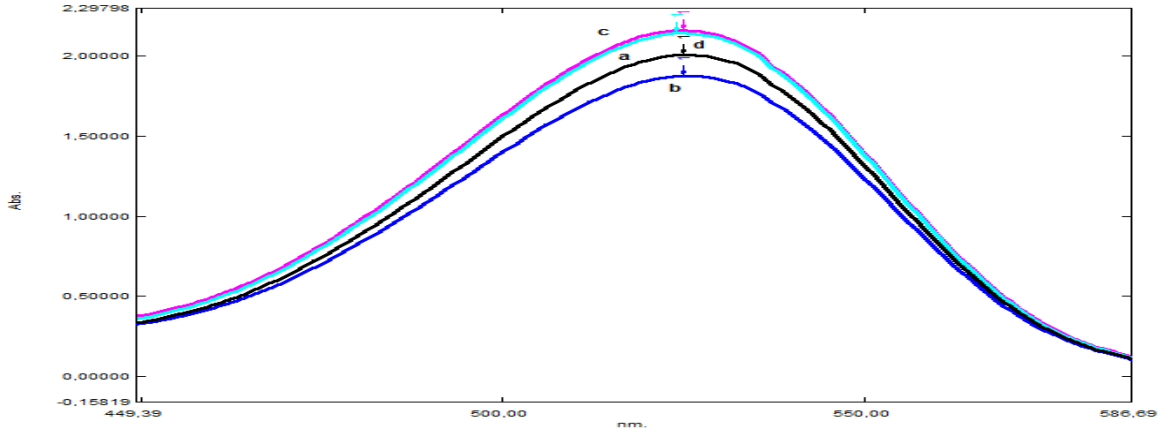
Ölçüm Yöntemleri					
Ekstraksiyon yöntemi	Yöntem 1.a	Yöntem 1.b	Yöntem 2.a	Yöntem 2.b	Yöntem 3
N.D.	307,72	333,00	473,76	609,57	482,29
S.E.	360,05	299,66	502,00	508,86	539,94



Şekil 5.13 Seçilen 1/40 Solid/likid oranı için 48 saat bekletilen gül ekstresine ait absorpsiyon spektrumu (marine ekstraksiyonu)

Çizelge 5.9 Seçilen 1/40 Solid/likid oranı için 48 saat bekletilen gül ekstresine ait absorbans ve 1. türev absorbans değerleri

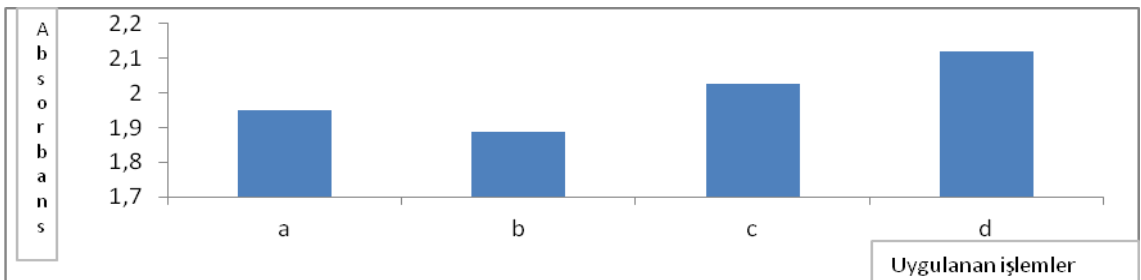
Yöntemler	λ_{max} (nm) : 524	$^1D \lambda_{max}$ (nm) : 494
Yöntem 1.a	2,076	
Yöntem 1.b		0,033



Şekil 5.14 Manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan farklı ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen absorpsiyon spektrumları (Solid/likid: 1/40)

Çizelge 5.10 Manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan farklı ekstraksiyon işlemlerinde okunan absorpsiyon değerleri (Solid/likid:1/40)

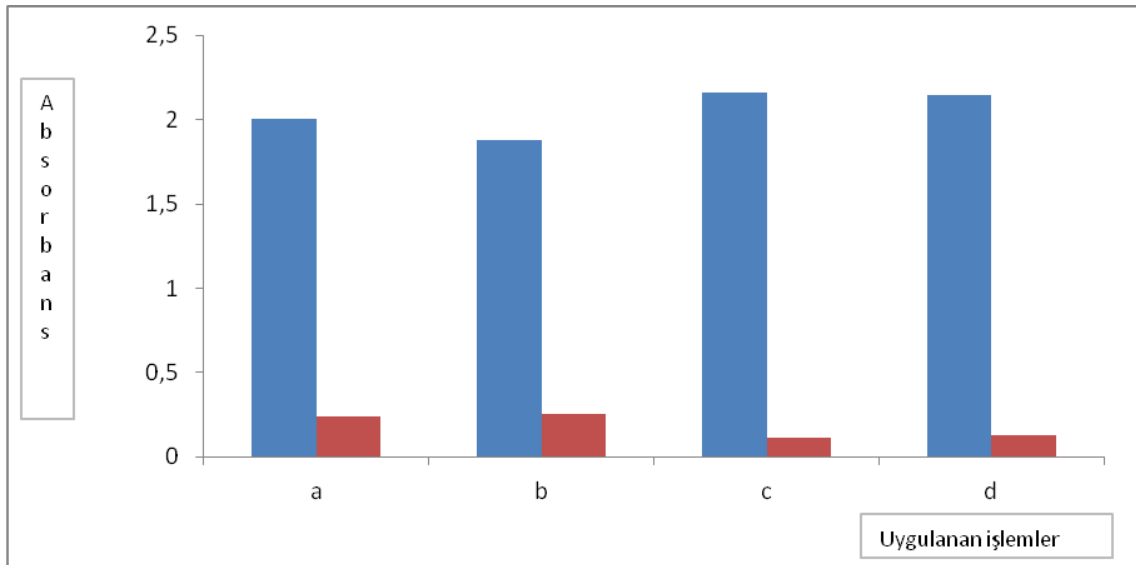
Manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan ekstraksiyon işlemlerinde alınan ölçümler	λ_{\max} (nm) : 524		
	1.Çalışma	2.Çalışma	Ortalama
a)	1,895	2,007	1,951
b)	1,896	1,876	1,886
c)	1,896	2,159	2,027
d)	2,100	2,142	2,121



Şekil 5.15 Manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılan farklı ekstraksiyon işlemlerinde okunan absorpsiyon değerlerinin grafik gösterimi (Solid/likid: 1/40)

Çizelge 5.11 Manyetik karıştırıcı kullanılarak 2 kere peş peşe yapılan ekstraksiyon işlemlerinde alınan ölçümler (Solid/likid: 1/40)

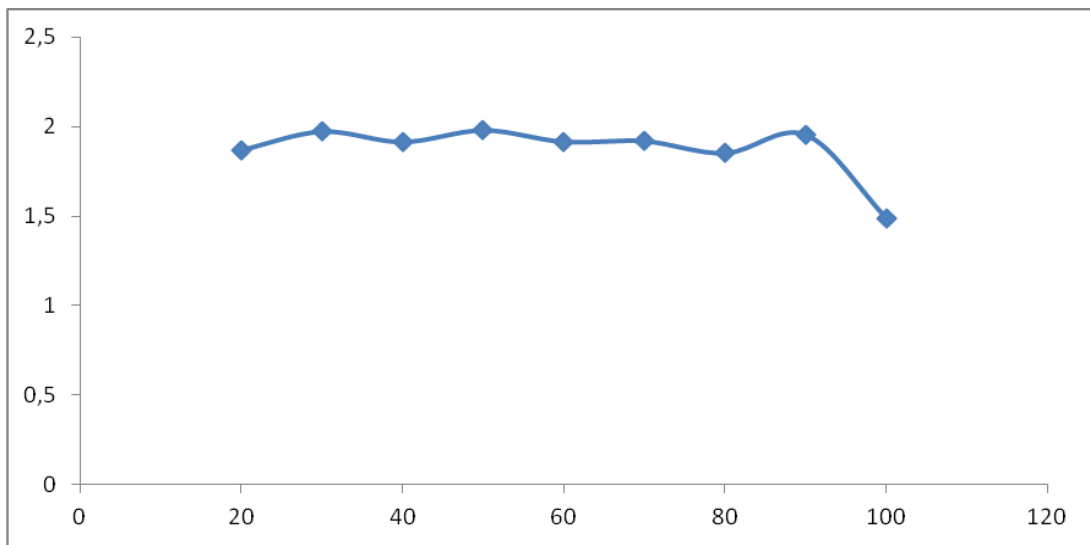
λ_{\max} (nm) : 524		
Manyetik karıştırıcı kullanılarak 2 kere peş peşe yapılan ekstraksiyon işlemlerinde alınan ölçümler	1.Karıştırma	2.Karıştırma
a)	2,007	0,240
b)	1,876	0,254
c)	2,159	0,116
d)	2,142	0,132



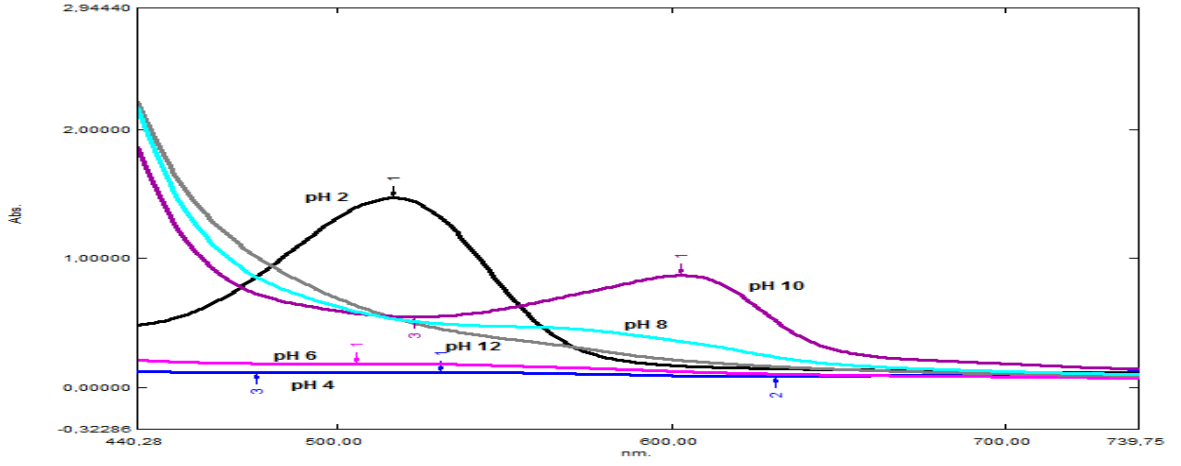
Şekil 5.16 Manyetik karıştırıcı kullanılarak 2 kere peş peşe yapılan ekstraksiyon işlemlerinde alınan ölçümlerin grafik gösterimi (Solid/Likid: 1/40)

Çizelge 5.12 Gül yaprağı ekstresinin sıcaklığa bağlı olarak bozunmasının incelenmesi
(λ_{\max} :524 nm)

Sıcaklık (°C)	Okunan absorbans değerleri		
	1.Çalışma	2.Çalışma	Ortalama
20	1,869	1,868	1,8685
30	1,981	1,962	1,9715
40	1,855	1,972	1,9135
50	1,976	1,981	1,9785
60	1,947	1,882	1,9145
70	1,941	1,895	1,9180
80	1,888	1,815	1,8515
90	1,919	1,987	1,9530
100	1,611	1,365	1,4880



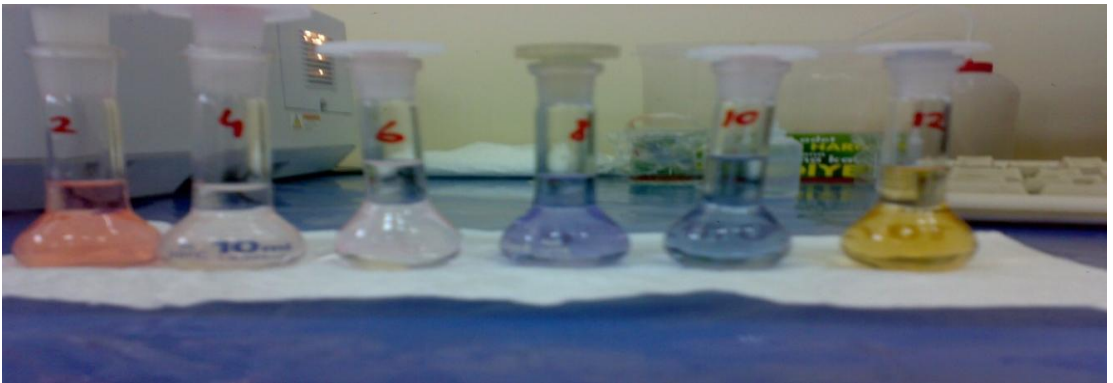
Şekil 5.17 Gül yaprağı ekstresinin sıcaklığa bağlı olarak bozunmasının incelenmesinin grafik gösterimi (λ_{\max} :524 nm)



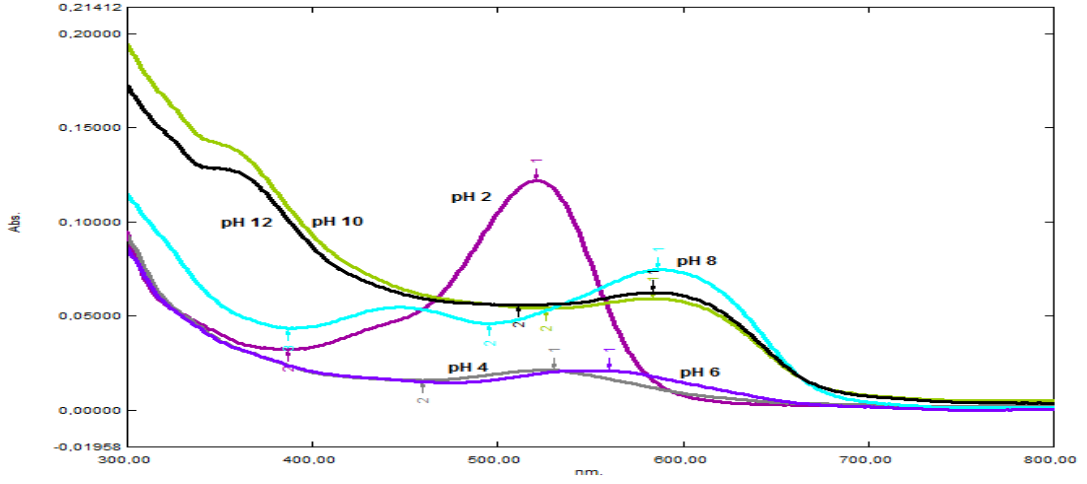
Şekil 5.18 Gül yaprağı ekstresinin pH ile değişimi

Çizelge 5.13 Gül yaprağı ekstresinin pH ile değişiminde ölçülen absorbanans değerleri

pH	λ_{\max} (nm)	Okunan absorbanans değerleri
2	517	1,470
4	532	0,120
6	506	0,183
8	603	0,356
10	603	0,868
12	585	0,261



Şekil 5.19 Gül yaprağı ekstresinin pH ile renk değişiminin incelenmesi



Şekil 5.20 Standart antosiyanin çözeltisinin pH ile değişimi

Çizelge 5.14 Standart antosiyanin çözeltisinin pH ile değişiminde ölçülen absorban değerleri

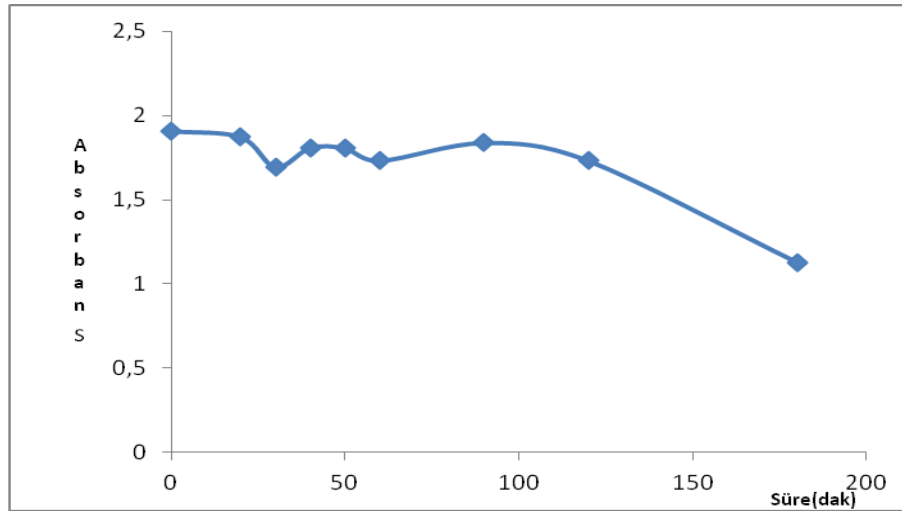
pH	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	Okunan absorban değerleri
2	522	0,122
4	531	0,021
6	559	0,021
8	586	0,075
10	585	0,060
12	585	0,062



Şekil 5.21 Standart antosiyanin çözeltisinin pH ile renk değişiminin incelenmesi

Çizelge 5.15 Gül yaprağı ekstresinin hava oksijenine karşı bozunmasına ait absorbans değerleri (λ_{\max} :524 nm)

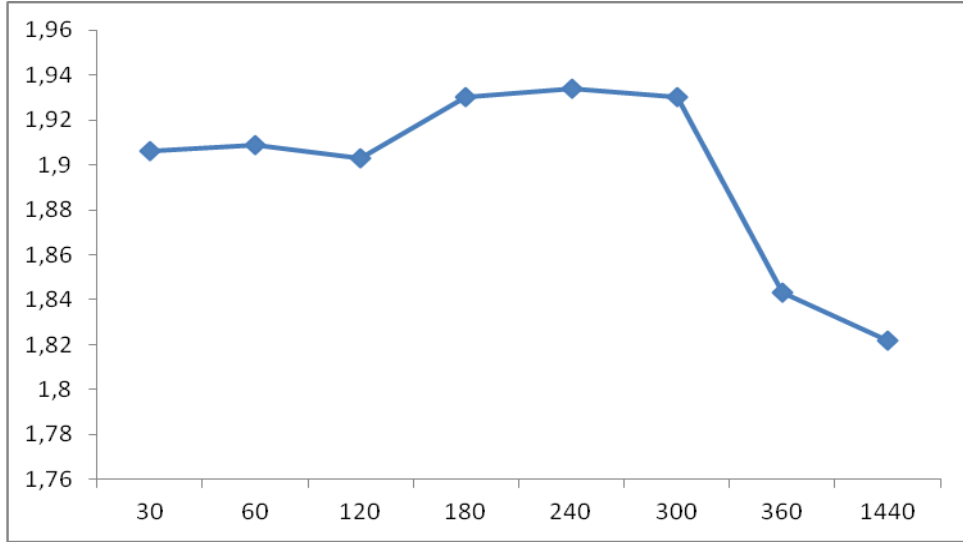
Süre (dakika)	Okunan absorbans değerleri		
	1.Çalışma	2.Çalışma	Ortalama
0	1,911	1,905	1,908
20	1,879	1,868	1,873
30	1,697	1,692	1,694
40	1,806	1,812	1,809
50	1,808	1,804	1,806
60	1,724	1,741	1,732
90	1,845	1,831	1,838
120	1,727	1,736	1,731
180	1,126	1,133	1,129



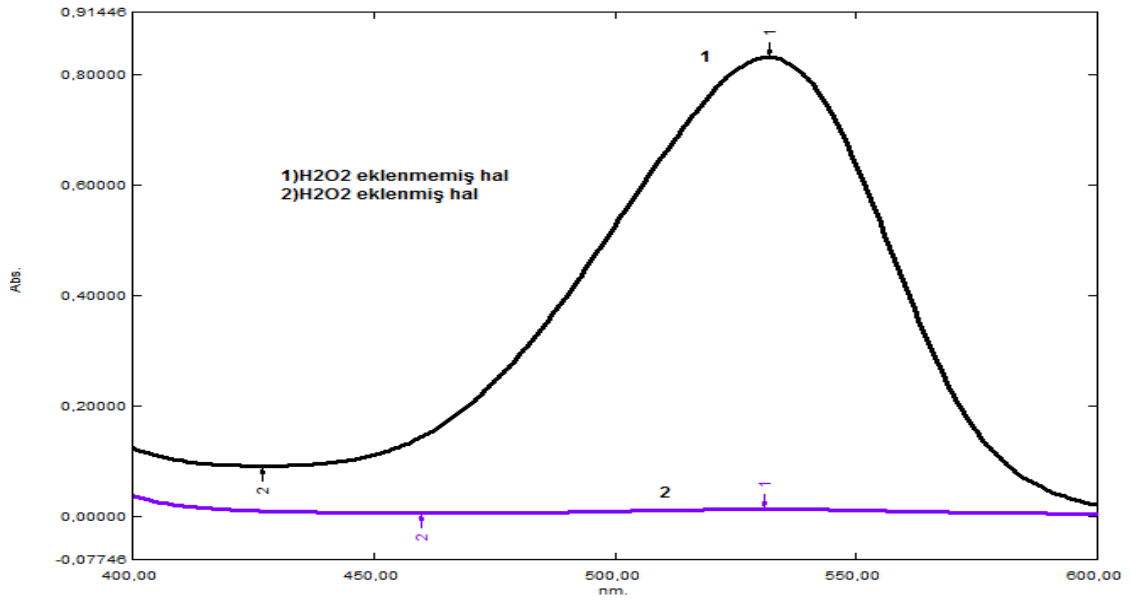
Şekil 5.22 Gül yaprağı ekstresinin hava oksijenine karşı bozunmasına ait verilerin incelenmesinin grafik gösterimi (λ_{\max} :524 nm)

Çizelge 5.16 Gül yaprağı ekstresinin Uv lamba altında bozunmasına ait absorbans değerleri (λ_{\max} :524 nm)

Süre (dakika)	Okunan absorbans değerleri
30	1,906
60	1,909
120	1,903
180	1,930
240	1,934
300	1,930
360	1,843
1440	1,822



Şekil 5.23 Gül yaprağı ekstresinin Uv lamba altında bozunmasına ait verilerin grafik gösterimi (λ_{\max} :524 nm)



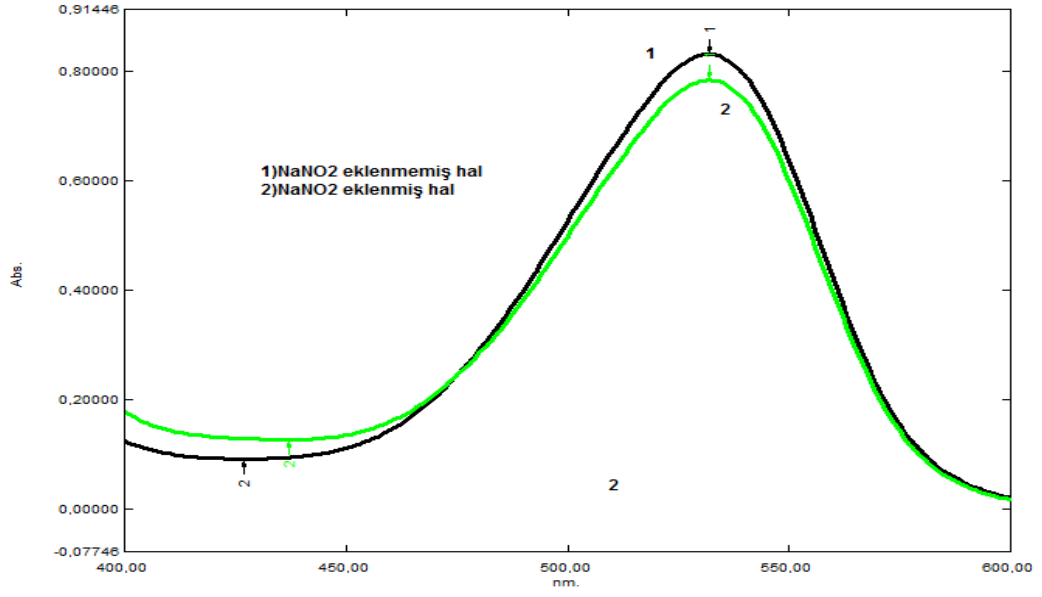
Şekil 5.24 H₂O₂ ile bozundurulmuş gül ekstresinin 5 dakika sonundaki UV spektrumu

Çizelge 5.17 H₂O₂ ile bozundurulmuş gül ekstresine ait absorbans değerleri

Eklene H ₂ O ₂ miktarı (mL)	λ_{\max} : 532 nm
0,00	0,832
0,50	0,013



Şekil 5.25 H₂O₂ ile bozundurulmuş gül ekstresinin 5 dakika sonundaki renk değişimi



Şekil 5.26 NaNO₂ ile bozundurulmuş gül ekstresinin 5 dakika sonundaki UV spektrumu

Çizelge 5.18 NaNO₂ ile bozundurulmuş gül ekstresine ait absorbands değerleri

Eklenen NaNO ₂ miktarı (mL)	λ_{\max} : 532 nm
0,00	0,832
0,50	0,784

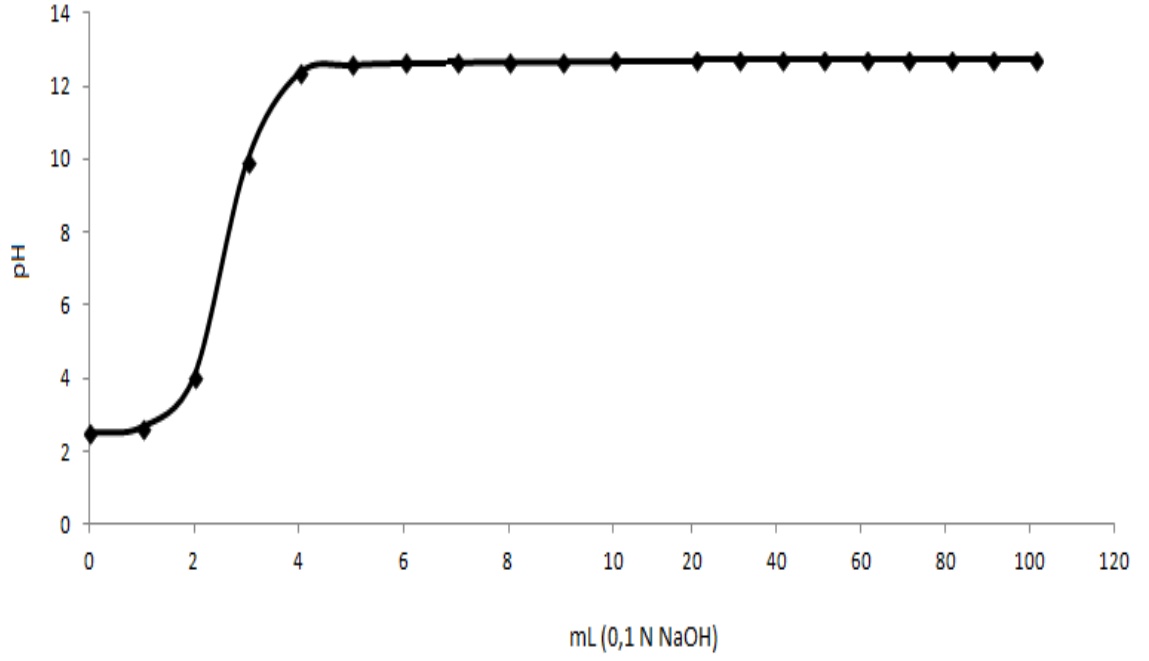


Şekil 5.27 NaNO₂ ile bozundurulmuş gül ekstresinin 5 dakika sonundaki renk değişimi

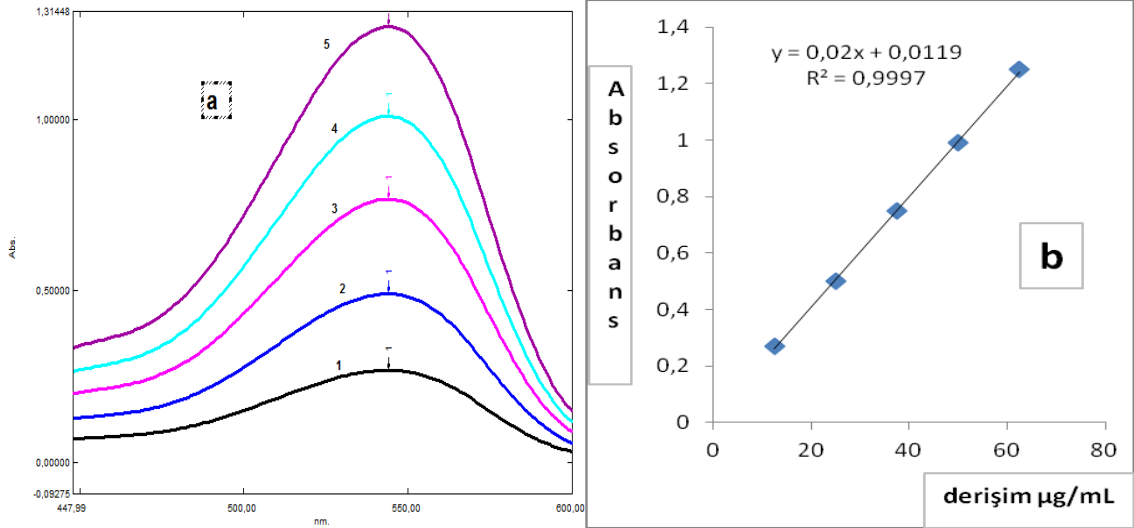
Çizelge 5.19 Gül yaprağı ekstresine ilave edilen baz ile (0,1 N NaOH) ölçülen pH ve renk değişimleri

mL (0,1 N NaOH)	pH	Renk
0,0	2,48	Kırmızı
1,0	2,63	Kırmızı
2,0	4,03	Pembe-kırmızı
3,0	9,89	Yeşil
4,0	12,35	Kahverengi-yeşil
5,0	12,58	Kahverengi-yeşil
6,0	12,63	Kahverengi-yeşil
7,0	12,65	Kahverengi-yeşil
8,0	12,66	Kahverengi-yeşil
9,0	12,67	Kahverengi
10,0	12,68	Kahverengi
20,0	12,72	Kahverengi
30,0	12,72	Kahverengi
40,0	12,72	Kahverengi
50,0	12,72	Kahverengi
60,0	12,72	Kahverengi
70,0	12,72	Kahverengi

mL (0,1 N NaOH)	pH	Renk
80,0	12,72	Açık Kahverengi
90,0	12,72	Açık Kahverengi
100,0	12,72	Açık Kahverengi



Şekil 5.28 Boyarmaddenin NaOH' e karşı titrasyon eğrisi



Şekil 5.29.a Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla çizilen absorpsiyon eğrileri (12,5-62,5 µg/mL)

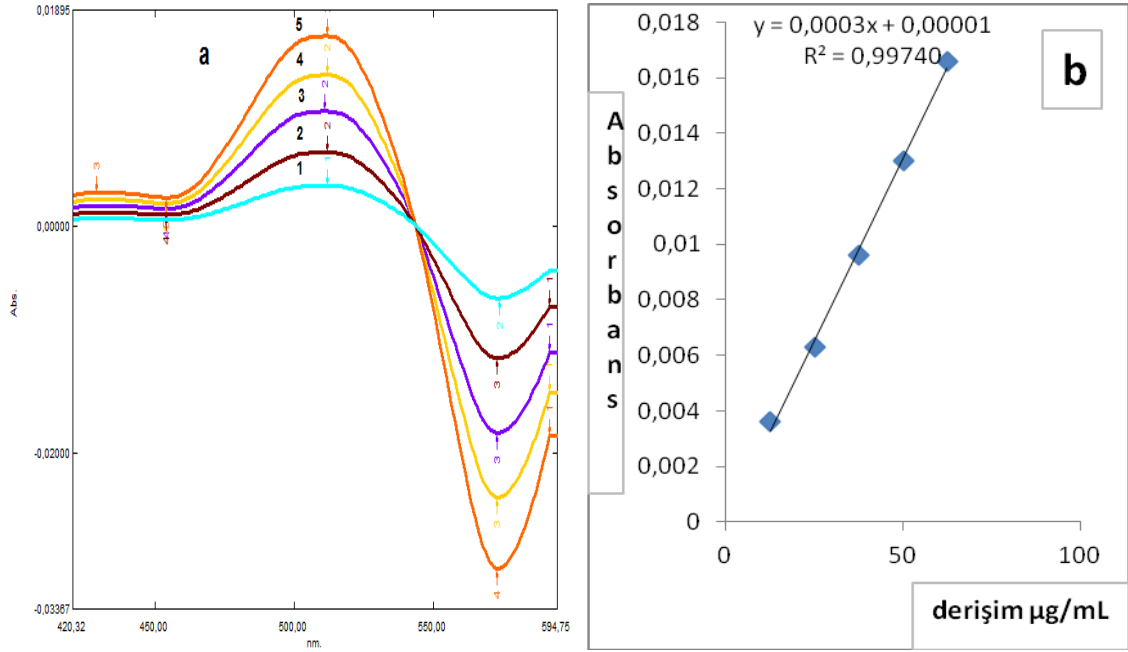
Şekil 5.29.b Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla elde edilen standart eğri

Çizelge 5.20 Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri

C(µg/mL)	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ort	SD	RSD
12,5	0,28	0,27	0,25	0,27	0,02	7,04
25,0	0,52	0,49	0,48	0,50	0,02	4,80
37,5	0,79	0,77	0,70	0,75	0,05	6,30
50,0	1,00	1,01	0,97	0,99	0,02	2,00
62,5	1,28	1,27	1,20	1,25	0,05	3,84

Çizelge 5.21 Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler

	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ortalama
a	0,0318	0,0040	-0,0004	0,0119
b	0,020	0,020	0,019	0,020
r	0,9989	0,9992	0,9988	0,9997



Şekil 5.30.a Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla çizilen 1.türev absorpsiyon eğrileri (12,5-62,5 µg/ml)

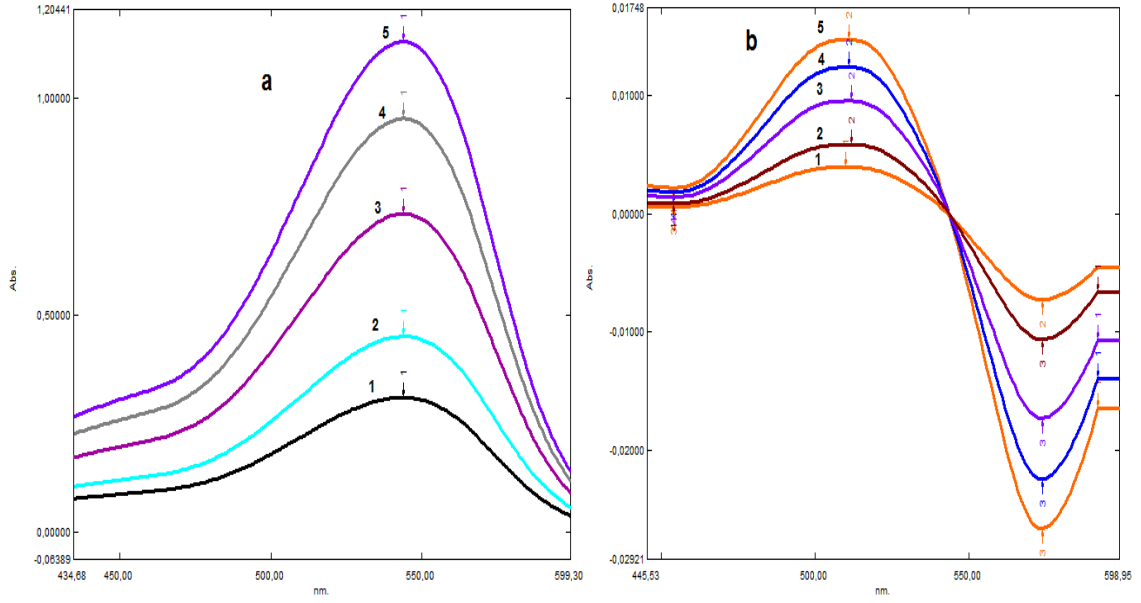
Şekil 5.30.b Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla elde edilen standart eğri

Çizelge 5.22 Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan 1.türev absorbans ve hesaplanan standart sapma ile bağıl standart sapma değerleri (λ_{\max} : 510 nm)

C($\mu\text{g/mL}$)	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ort	SD	RSD
12,5	0,004	0,004	0,003	0,0036	0,0006	16,11
25,0	0,007	0,006	0,006	0,0063	0,0006	9,20
37,5	0,010	0,010	0,009	0,0096	0,0006	6,04
50,0	0,013	0,013	0,013	0,0130	0,0000	0,00
62,5	0,017	0,017	0,016	0,0166	0,0006	3,50

Çizelge 5.23 Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler

	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ortalama
a	0,0006	0,0001	-0,0005	0,0001
b	0,0003	0,0003	0,0003	0,0003
r	0,9961	0,9900	0,9972	0,9997

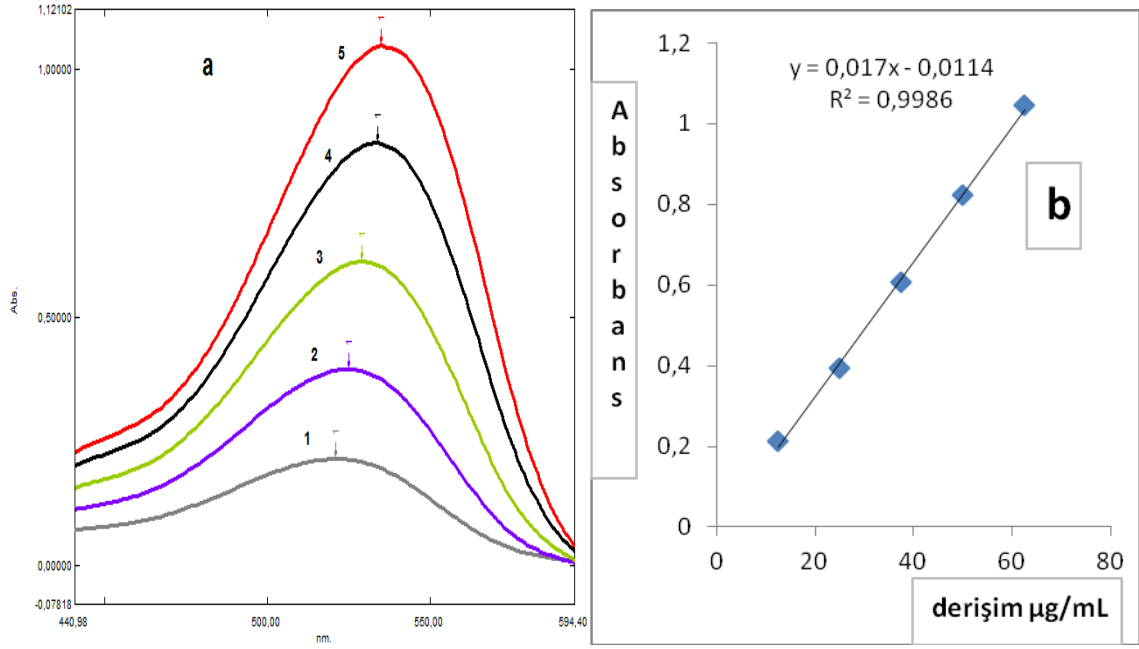


Şekil 5.31.a Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 1.a'nın uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri

Şekil 5.31.b Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 1.b'nin uygulanmasıyla elde edilen 1.türev absorpsiyon eğrileri

Çizelge 5.24 Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 1.a ve 1.b'nin uygulanmasıyla elde edilen absorbens ve 1. türev absorbens değerleri

Alınan (mL)	Absorbans Değerleri $\lambda_{\max}:544 \text{ nm}$				¹ D absorbens değerleri $\lambda_{\max}:510 \text{ nm}$			
	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort.
1	0,29	0,31	0,31	0,30	0,00368	0,00399	0,00396	0,00388
2	0,45	0,47	0,47	0,46	0,00589	0,00609	0,00607	0,00602
3	0,73	0,76	0,76	0,75	0,00959	0,00989	0,00985	0,00985
4	0,95	1,00	0,99	0,98	0,01245	0,01295	0,0129	0,01277
5	1,13	1,17	1,16	1,16	0,01478	0,01508	0,01498	0,01495



Şekil 5.32.a Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla çizilen absorpsiyon eğrileri (12,5-62,5 µg/mL)

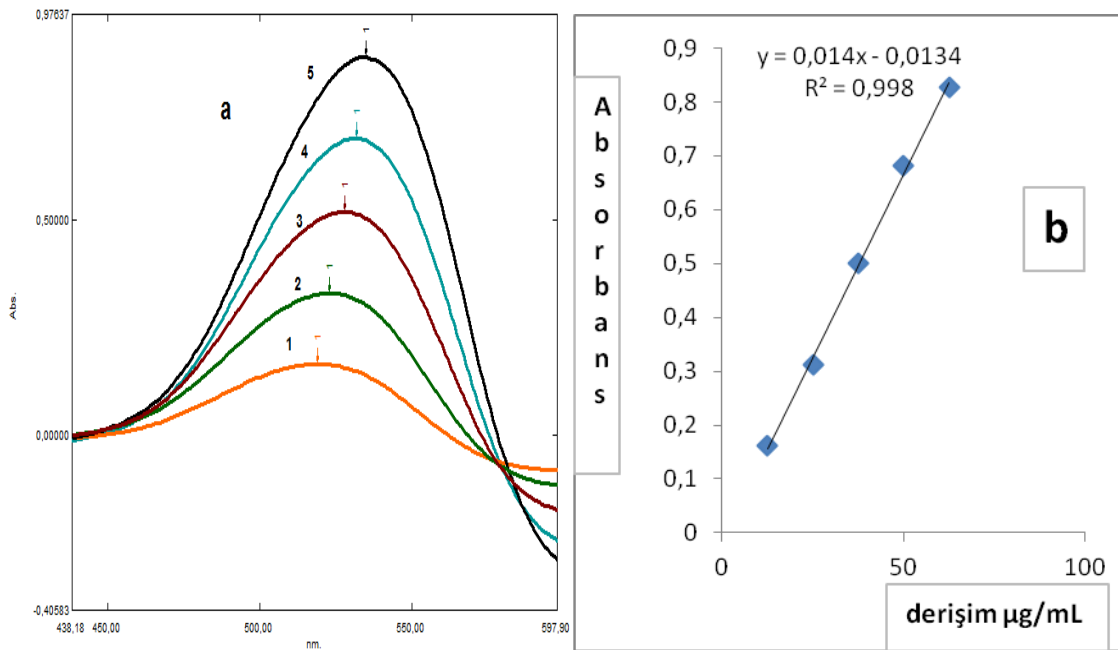
Şekil 5.32.b Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla elde edilen standart eğri

Çizelge 5.25 Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri (λ_{max} : 532 nm)

C(µg/mL)	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ort	SD	RSD
12,5	0,224	0,203	0,212	0,213	0,010	4,70
25,0	0,432	0,385	0,365	0,394	0,034	8,63
37,5	0,626	0,610	0,581	0,606	0,023	3,80
50,0	0,844	0,850	0,778	0,824	0,040	4,85
62,5	1,079	1,040	1,012	1,044	0,033	3,16

Çizelge 5. 26 Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler

	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ortalama
a	0,0044	-0,0241	-0,0143	-0,0114
b	0,0170	0,0170	0,0160	0,0170
r	0,9988	0,9979	0,9956	0,9986



Şekil 5.33.a Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla çizilen absorpsiyon eğrileri (12,5-62,5 µg/mL)

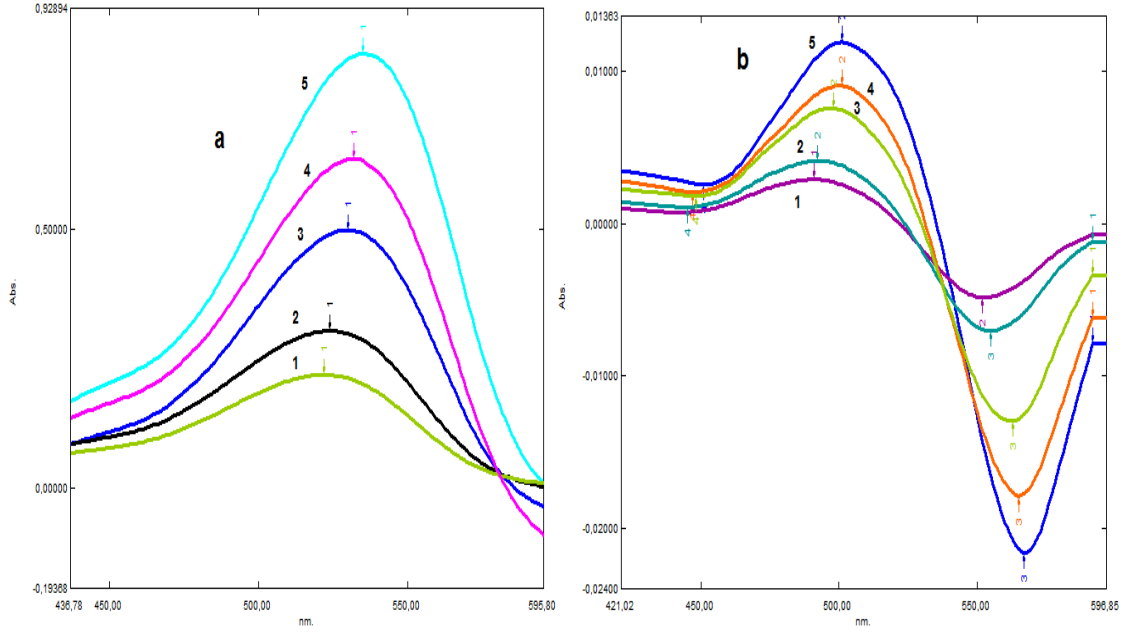
Şekil 5.33.b Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla elde edilen standart eğri

Çizelge 5.27 Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri (λ_{\max} :528 nm)

C($\mu\text{g/mL}$)	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ort	SD	RSD
12,5	0,157	0,157	0,172	0,162	0,009	5,37
25,0	0,324	0,320	0,292	0,312	0,017	5,45
37,5	0,518	0,521	0,462	0,500	0,033	6,60
50,0	0,684	0,752	0,610	0,682	0,071	10,4
62,5	0,858	0,813	0,809	0,827	0,027	3,26

Çizelge 5.28 Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler

	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ortalama
a	-0,0204	-0,0106	-0,0086	-0,0134
b	0,0140	0,0140	0,0130	0,0140
r	0,9995	0,9775	0,9936	0,9980

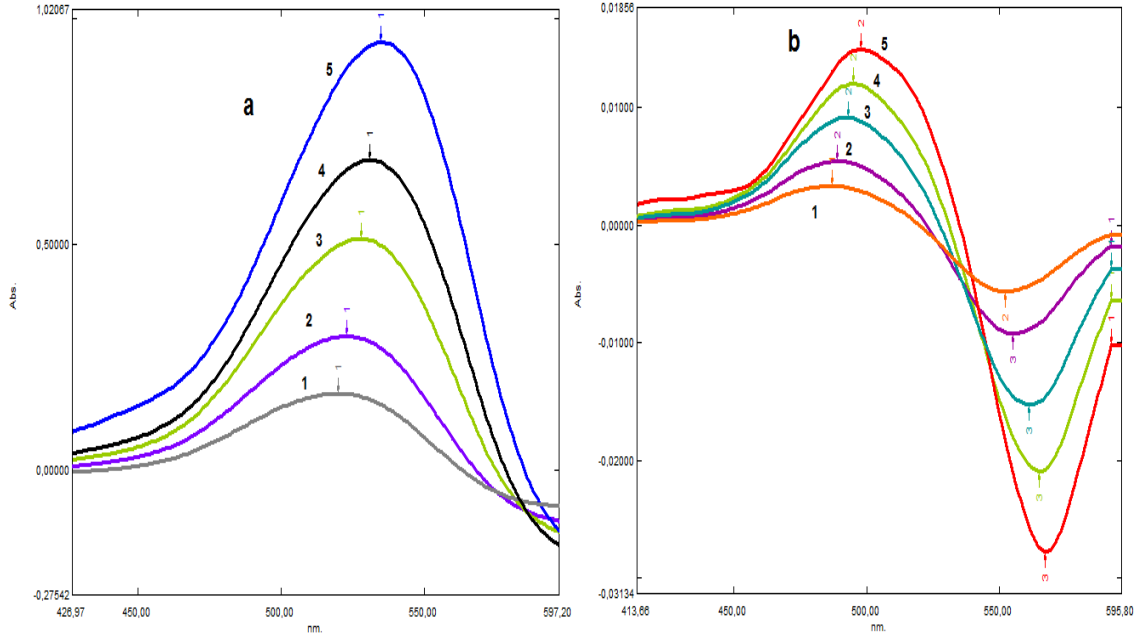


Şekil 5.34.a Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri

Şekil 5.34.b Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri

Çizelge 5.29 Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.a'nın uygulanmasıyla elde edilen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri

Alınan (mL)	Absorbans Değerleri $\lambda_{max}:532 \text{ nm}$				¹ D absorbans değerleri $\lambda_{max}:495 \text{ nm}$			
	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort
1	0,20	0,21	0,21	0,21	0,00281	0,00283	0,00292	0,00285
2	0,31	0,295	0,368	0,32	0,00448	0,00410	0,00504	0,00454
3	0,56	0,50	0,62	0,56	0,00779	0,00752	0,00814	0,00782
4	0,769	0,637	0,869	0,758	0,01025	0,00881	0,01075	0,009937
5	0,937	0,837	1,031	0,935	0,01276	0,01144	0,01390	0,01270

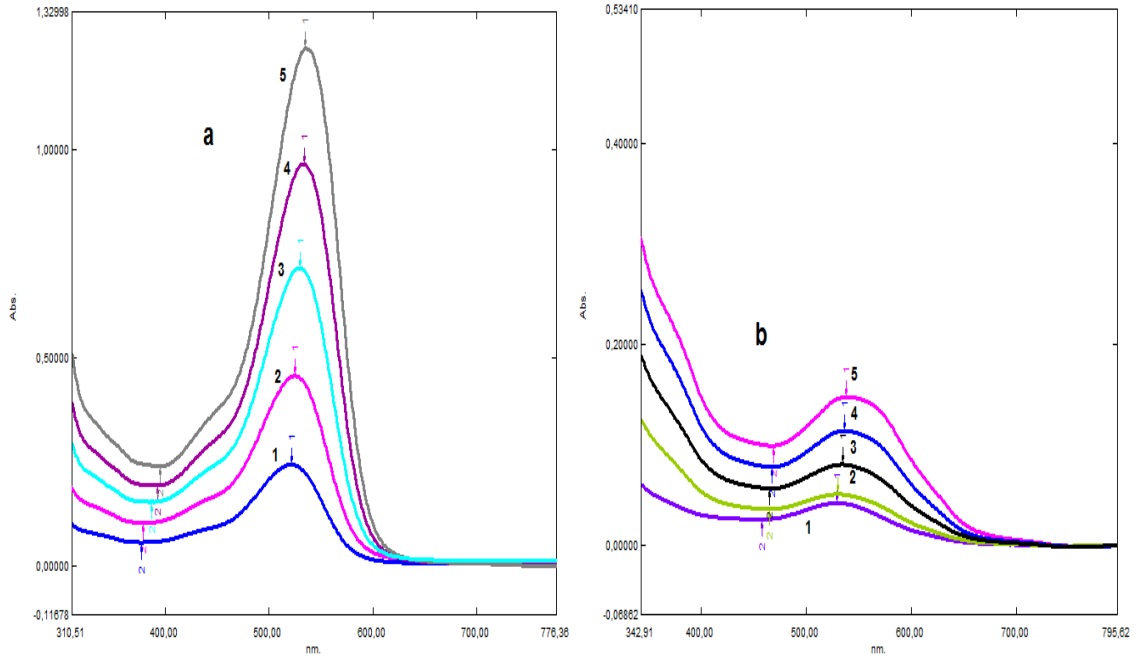


Şekil 5.35.a Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.b 'nin uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri

Şekil 5.35.b Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.b 'nin uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon eğrileri

Çizelge 5.30 Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 2.b'nin uygulanmasıyla elde edilen absorbans ve 1. türev absorbans değerleri

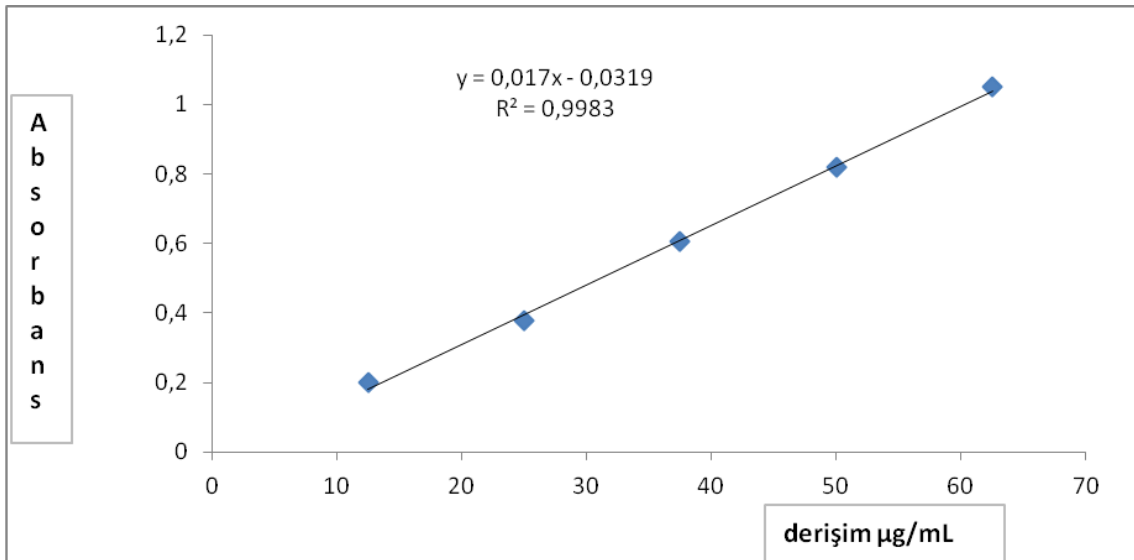
Alınan (mL)	Absorbans Değerleri $\lambda_{\max}:528 \text{ nm}$				¹ D absorbans değerleri $\lambda_{\max}:495 \text{ nm}$			
	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort
1	0,18	0,14	0,16	0,16	0,00307	0,00308	0,00311	0,00310
2	0,29	0,22	0,29	0,27	0,00492	0,00458	0,00527	0,00492
3	0,51	0,45	0,51	0,49	0,00900	0,00844	0,00911	0,00885
4	0,65	0,53	0,68	0,62	0,01121	0,01061	0,01204	0,01130
5	0,87	0,67	0,93	0,82	0,01370	0,01250	0,01485	0,01368



Şekil 5.36 Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon spektrumları, (12,5-62,5 µg/mL)

a) distile suya karşı pH:1,0 ile hazırlanan çözeltilerin spektrumları

b) distile suya karşı pH:4,5 ile hazırlanan çözeltilerin spektrumları



Şekil 5.37 Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen standart eğri

Çizelge 5.31 Yöntem 3'ün uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans değerleri (referans: distile su, numune: pH 1'de hazırlanan standart çözeltiler)

C (µg/mL)	1.Çalışma		2.Çalışma		3.Çalışma		Ortalama	
	λ_{max} 530 nm	λ 700 nm	λ_{max} 530 nm	λ 700 nm	λ_{max} 530 nm	λ 700 nm	λ_{max} 530 nm	λ 700 nm
12,5	0,236	0,006	0,227	0,006	0,243	0,002	0,235	0,005
25,0	0,451	0,012	0,444	0,008	0,419	0,005	0,438	0,008
37,5	0,715	0,014	0,696	0,004	0,666	0,004	0,692	0,007
50,0	0,960	0,006	0,960	0,006	0,886	0,005	0,935	0,006
62,5	1,223	0,006	1,158	0,009	1,158	0,007	1,190	0,007

Çizelge 5.32 Yöntem 3'ün uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans değerleri (referans: distile su, numune: pH: 4,5'da hazırlanan standart çözeltiler)

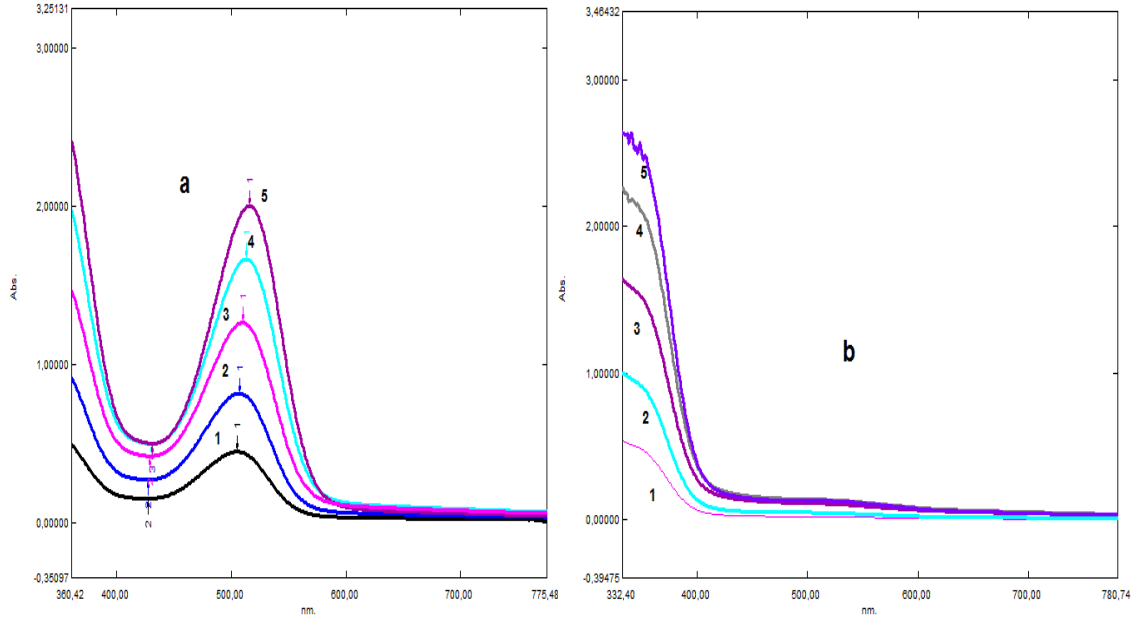
C (µg/mL)	1.Çalışma		2.Çalışma		3.Çalışma		Ortalama	
	λ_{max} 530 nm	λ 700 nm	λ_{max} 530 nm	λ 700 nm	λ_{max} 530 nm	λ 700 nm	λ_{max} 530 nm	λ 700 nm
12,5	0,042	0,001	0,029	0,004	0,030	0,004	0,034	0,003
25,0	0,051	0,001	0,057	0,007	0,055	0,004	0,543	0,004
37,5	0,081	0,002	0,082	0,002	0,084	0,004	0,082	0,003
50,0	0,113	0,004	0,114	0,004	0,114	0,004	0,114	0,004
62,5	0,129	0,004	0,148	0,006	0,149	0,007	0,137	0,006

Çizelge 5.33 Yöntem 3'ün uygulanmasıyla standart eğrinin çizilmesi için okunan absorbans ve hesaplanan standart sapma ile bağlı standart sapma değerleri (λ_{max} :530 nm ve λ : 700 nm)

C(μg/mL)	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort	SD	RSD
12,5	0,189	0,196	0,215	0,20	0,013	6,506
25,0	0,389	0,386	0,364	0,38	0,014	3,690
37,5	0,622	0,612	0,582	0,60	0,021	3,470
50,0	0,845	0,844	0,771	0,82	0,043	5,245
62,5	1,108	1,039	1,009	1,05	0,051	4,851

Çizelge 5.34 Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen standart eğriye ait parametreler

	1.Çalışma	2.Çalışma	3.Çalışma	Ortalama
a	-0,0576	-0,0278	-0,0103	-0,0319
b	0,0180	0,0170	0,0160	0,0170
r	0,9979	0,9988	0,9948	0,9983



Şekil 5.38 Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen absorpsiyon spektrumları

a) distile suya karşı pH 1,0 ile hazırlanan çözeltilerin spektrumları

b) distile suya karşı pH 4,5 ile hazırlanan çözeltilerin spektrumları

Yöntem 1.a: Absorbans değerleri

Yöntem 1.b: 1. Türev absorbans değerleri

Yöntem 2.a : Difference yöntemi (pH: 4,5 – pH: 1,0)

Yöntem 2.b : Difference yöntemi (pH: 7,0 – pH: 1,0)

Yöntem 3 : Standart(referans) yöntemi (distile suya karşı pH: 1,0 ve pH: 4,5 okuması yapıldı)

Çizelge 5.35 Farklı miktardaki gül ekstratlarına Yöntem 3'ün uygulanmasıyla elde edilen absorbands değerleri ve standart yöntemin uygulanmasında kullanılacak hesaplanmış ortalama absorbands değerleri

Alınan (mL)	Distile suya karşı pH 1,0'de hazırlanan gül ekstraktlarında okunan Absorbans Değerleri λ_{\max} :530 nm ve λ :700 nm				Distile suya karşı pH 4,5'da hazırlanan gül ekstraktlarında okunan Absorbans Değerleri λ_{\max} :530 nm ve λ :700 nm				Absorbans değerleri
	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort	1.Çal.	2.Çal.	3.Çal.	Ort	
1	0,300 0,021	0,322 0,029	0,322 0,029	0,315 0,026	0,022 0,007	0,027 0,012	0,027 0,012	0,025 0,010	0,274
2	0,584 0,041	0,602 0,057	0,602 0,057	0,596 0,052	0,047 0,016	0,047 0,016	0,047 0,016	0,047 0,016	0,513
3	0,987 0,075	1,030 0,084	1,030 0,084	1,016 0,081	0,107 0,046	0,114 0,049	0,114 0,049	0,111 0,048	0,873
4	1,042 0,085	1,383 0,086	1,383 0,086	1,270 0,086	0,133 0,054	0,133 0,056	0,133 0,056	0,133 0,056	1,107

Çizelge 5.36 Farklı hacimlerde gül yaprağı ekstralarında yapılan kantitatif tayinlerde 100 gram gül yaprağındaki gram cinsinden antosiyanin miktarının 3 yöntem ile birlikte gösterilmesi Ortalama, SD ve RSD değerleri (Ultrasonik ekstraksiyonda elde edilen ekstraktlar kullanıldı)

İstatistiksel parametreler	Yöntem 1.a	Yöntem 1.b	Yöntem 2.a	Yöntem 2.b	Yöntem 3
1	0,34	0,30	0,304	0,3079	0,540
2	0,37	0,29	0,337	0,3617	0,481
3	0,36	0,29	0,340	0,3420	0,532
4	0,34	0,30	0,340	0,3645	0,545
Xort	0,35	0,30	0,330	0,3440	0,534
SD	0,015	0,004	0,017	0,026	0,030
RSD	4,24	1,49	5,16	7,59	5,54
*Xort± t.S/n ^{1/2}	0,3534± 0,024	0,2959± 0,006	0,3292± 0,027	0,3440± 0,041	
t testi	9,35	13,65	10,31	8,31	
F testi	4,00	56,25	3.11	1,33	

*n: Ölçüm Sayısı ve (n-1): Serbestlik Derecesi olmak üzere, n=4 ve (n-1)=3 için %95 Güven Seviyesi'nde t değeri 3,182, F değeri 9,28 olarak alındı.

5.20 Standart Antosiyanin Çözeltisine Uygulanan Validasyon İşlemleri

Çizelge 5.37 Yöntem 1.a için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	% Verim	SD	RSD
	35,21	34,30	34,25	34,60	92,24	0,56	1,55
	35,11	34,70	34,31	34,71	92,55	0,40	1,15
	35,11	35,00	34,00	34,71	92,55	0,61	1,76
	34,51	34,81	34,36	34,56	92,15	0,23	0,66
	34,51	34,90	34,26	34,60	92,24	0,33	0,95
	35,06	34,25	34,00	34,46	92,00	0,55	1,60
	34,86	34,51	34,45	34,61	92,30	0,22	0,64
	34,90	34,61	34,71	34,74	92,65	0,15	0,44
	34,71	34,65	34,65	34,67	92,46	0,03	0,09
	35,01	34,25	34,55	34,61	92,30	0,38	1,10

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan absorpsiyon değerleri ile hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.38 Yöntem 1.b için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	% Verim	SD	RSD
	30,97	29,73	28,53	29,74	79,32	1,22	4,10
	30,77	30,30	28,57	29,90	79,67	1,16	3,90
	30,77	30,67	28,77	30,07	80,20	1,13	3,75
	30,23	30,30	29,00	29,84	79,60	0,73	2,45
	30,17	30,40	28,57	29,71	79,23	1,00	3,36
	30,60	29,93	28,37	29,63	79,02	1,15	3,87
	30,47	30,13	28,80	29,80	79,50	0,88	2,96
	30,63	30,27	28,57	29,82	79,52	1,10	3,70
	30,63	30,23	28,07	29,64	79,05	1,38	4,66
	29,90	29,53	28,40	29,30	78,07	0,78	2,67

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan 1. türev absorbands değerleri ile hesapllanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.39 Yöntem 2.a için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	% Verim	SD	RSD
	34,53	34,85	35,40	34,93	93,13	0,42	1,20
	34,26	34,73	35,08	34,69	92,50	0,41	1,20
	34,38	34,55	35,14	34,69	92,50	0,40	1,15
	34,49	34,67	35,26	34,81	92,82	0,40	1,15
	34,67	34,67	35,43	34,93	93,13	0,44	1,26
	35,02	34,34	35,61	35,00	93,34	0,62	1,80
	35,02	34,32	35,02	34,80	92,80	0,40	1,15
	34,80	35,08	35,10	35,00	93,30	0,17	0,50
	35,08	35,73	35,20	35,34	94,20	0,34	1,00
	35,73	35,61	35,14	35,50	94,65	0,31	0,90

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan absorpsiyon değerleri ile hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.40 Yöntem 2.b için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	% Verim	SD	RSD
	36,31	36,74	36,03	36,36	96,70	0,36	1,00
	36,90	37,17	36,67	36,91	98,42	0,25	0,68
	36,31	36,46	36,10	36,29	96,80	0,18	0,50
	35,81	37,32	36,17	36,43	97,15	0,78	2,15
	35,67	36,53	35,96	36,05	96,15	0,44	1,21
	37,31	36,60	36,38	36,80	98,00	0,49	1,33
	35,90	36,31	37,17	36,46	97,22	0,65	1,80
	36,81	36,96	36,90	36,90	98,36	0,07	0,20
	36,96	37,24	37,03	37,08	98,74	0,15	0,40
	36,90	37,10	37,24	37,08	98,74	0,18	0,50

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan absorpsiyon değerleri ile hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.41 Yöntem 3 için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	% Verim	SD	RSD
	36,23	36,70	36,17	36,36	97,00	0,29	0,80
	36,17	36,17	36,35	36,23	96,61	0,10	0,28
	36,05	35,93	36,30	36,10	96,25	0,18	0,50
	36,35	36,30	35,90	36,15	96,40	0,24	0,70
	36,46	36,17	36,23	36,30	96,80	0,16	0,43
	35,82	35,90	36,46	36,05	96,14	0,36	1,00
	36,30	35,82	35,90	35,99	96,00	0,26	0,71
	36,00	36,40	36,41	36,27	96,70	0,24	0,65
	35,76	36,82	36,64	36,41	97,10	0,57	1,55
	36,41	37,00	36,93	36,80	98,10	0,32	0,90

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan absorpsiyon değerleri ile hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.42 Yöntem 1.a için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	% Verim	SD	RSD
	35,40	34,51	34,26	34,72	92,60	0,60	1,73
	35,10	34,26	34,31	34,56	92,15	0,48	1,38
	35,10	34,16	34,51	34,60	92,23	0,48	1,39
	34,50	34,66	34,86	34,67	92,46	0,18	0,50
	34,40	34,26	34,31	34,32	91,53	0,08	0,22
	35,05	34,21	34,00	34,42	91,80	0,56	1,62
	34,85	34,16	34,11	34,37	91,66	0,42	1,22
	34,90	34,86	34,21	34,66	92,41	0,39	1,12
	34,90	34,00	34,16	34,36	91,61	0,48	1,40
	34,05	34,26	34,06	34,12	90,10	0,12	0,34

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan absorpsiyon değerleri ile hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.43 Yöntem 1.b için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	% Verim	SD	RSD
	30,97	29,30	28,53	29,60	78,93	1,24	4,20
	30,77	29,17	28,57	29,50	78,67	1,14	3,85
	30,77	28,56	28,77	29,37	78,31	1,22	4,14
	30,23	29,10	29,00	29,44	78,52	0,68	2,33
	30,17	28,77	28,57	29,17	77,80	0,87	3,00
	30,60	29,13	28,37	29,37	78,31	1,13	3,86
	30,47	28,70	28,80	29,32	78,20	0,99	3,38
	30,63	29,30	28,57	29,50	78,67	1,05	3,55
	30,63	29,00	28,07	29,23	78,00	1,30	4,45
	29,90	29,23	28,40	29,18	78,81	0,75	2,60

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan 1. türev absorbands değerleri ile heseaplanmış µg/mL konsantrasyon cinsinden değerleri

Çizelge 5.44 Yöntem 2.a için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	% Verim	SD	RSD
	34,32	34,14	34,20	34,22	91,25	0,09	0,26
	33,80	34,08	34,49	34,12	90,10	0,36	1,04
	33,67	34,32	34,49	34,16	91,10	0,43	1,27
	34,49	34,40	34,02	34,30	91,46	0,25	0,71
	33,80	34,26	34,20	34,08	90,10	0,26	0,75
	35,61	34,73	34,26	34,90	92,98	0,70	2,00
	35,02	34,49	34,44	34,65	92,40	0,32	0,94
	34,80	34,49	34,49	34,59	92,24	0,17	0,49
	35,08	34,61	34,61	34,77	92,72	0,27	0,78
	35,90	34,32	34,40	34,86	92,95	0,90	2,54

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltisinin okunan absorbans değerleri ile hesaplanmış µg/mL cinsinden değerler

Çizelge 5.45 Yöntem 2.b için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	% Verim	SD	RSD
	36,17	35,96	36,74	36,29	96,77	0,41	1,12
	37,10	36,53	35,96	36,53	97,41	0,57	1,56
	36,31	36,31	36,10	36,24	96,65	0,12	0,34
	35,67	35,96	36,03	35,90	95,70	0,19	0,53
	35,81	37,31	36,67	36,60	97,60	0,75	2,06
	35,67	37,17	37,10	36,65	97,72	0,85	2,31
	37,31	36,75	37,17	37,10	98,87	0,29	0,80
	35,90	36,10	36,17	36,05	96,14	0,15	0,41
	36,8	36,24	36,96	36,67	97,80	0,38	1,04
	37,31	36,10	36,31	36,60	97,54	0,65	1,77

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan absorpsiyon değerleri ile hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.46 Yöntem 3 için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

C₀: 37,5 µg/mL	1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	% Verim	SD	RSD
	36,11	35,99	36,11	36,07	96,20	0,07	0,19
	36,23	36,30	36,64	36,40	97,01	0,22	0,61
	35,99	35,76	36,05	35,94	95,83	0,15	0,43
	36,17	35,70	36,30	36,03	96,10	0,29	0,81
	36,46	36,35	36,58	36,46	97,24	0,18	0,48
	35,76	36,58	36,93	36,43	97,14	0,60	1,65
	36,30	36,17	36,41	36,31	96,82	0,12	0,33
	35,93	36,17	36,46	36,19	96,51	0,26	0,73
	35,70	36,52	36,35	36,19	96,51	0,43	1,20
	36,52	36,64	36,76	36,64	97,71	0,12	0,32

* C₀: 37,5 µg/mL standart çözeltinin okunan absorbans değerleri ile hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.47 37,5 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan 10 ayrı çözeltinin gün içinde (Intra-day) arka arkaya 3 ayrı Yöntem ile alınan ölçümleri sonucunda elde edilen, Ortalama konsantrasyon, SD, RSD, % Verim, LOD ve LOQ değerlerinin karşılaştırılması

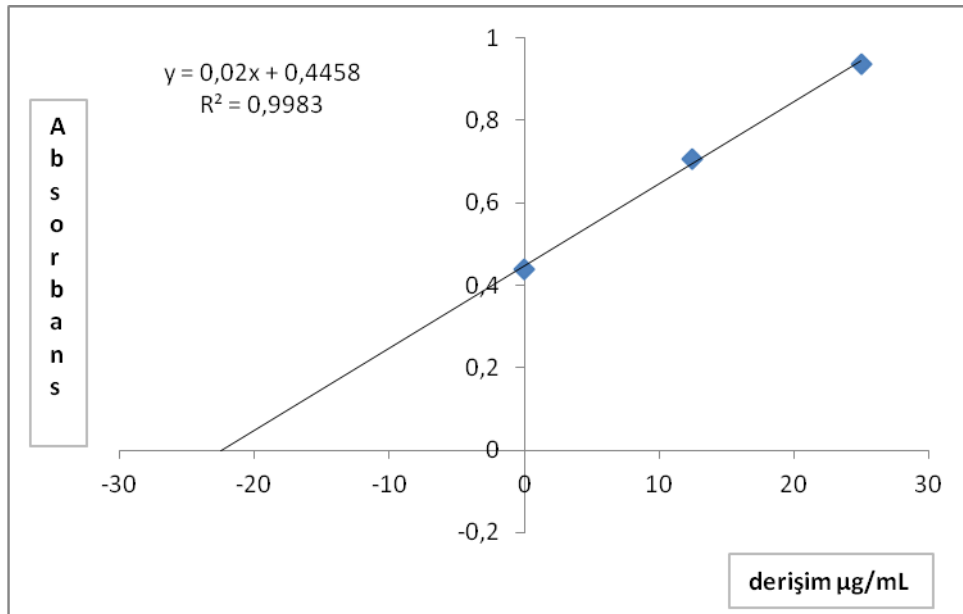
İstatistiksel veriler	Yöntemler				
	Yöntem 1.a	Yöntem 1.b	Yöntem 2.a	Yöntem 2.b	Yöntem 3
	34,60	29,74	34,92	36,36	36,36
	34,70	29,90	34,69	36,91	36,23
	34,70	30,07	34,69	36,29	36,09
	34,56	29,84	34,81	36,43	36,15
Alınan miktar:	34,60	29,71	34,92	36,05	36,30
37,5 µg/mL	34,45	29,63	35,00	36,77	36,05
	34,60	29,80	34,80	36,46	35,99
	34,74	29,82	34,98	36,90	36,27
	34,67	29,64	35,34	37,08	36,41
	34,61	29,30	35,49	37,08	36,80
Ortalama	34,62	29,74	34,96	36,63	36,26
SD	0,08	0,21	0,26	0,36	0,22
% RSD	0,25	0,69	0,76	0,98	0,62
% Verim	92,32	79,31	93,24	97,68	96,70
LOD	0,26	0,21	0,79	1,07	0,68
LOQ	0,85	0,69	2,65	3,58	2,25

Çizelge 5.48 37,5 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan 10 ayrı çözeltinin 3 gün arka arkaya (İnter-day, gün aşırı) 3 ayrı Yöntem ile alınan ölçümleri sonucunda elde edilen, Ortalama konsantrasyon, SD, RSD, % Verim, LOD ve LOQ değerlerinin karşılaştırılması

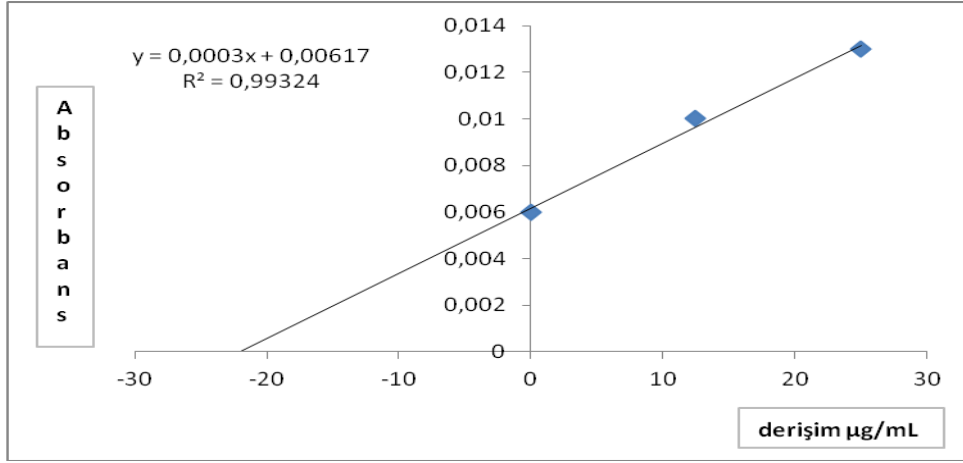
İstatistiksel veriler	Yöntemler				
	Yöntem 1.a	Yöntem 1.b	Yöntem 2.a	Yöntem 2.b	Yöntem 3
Alınan miktar: 37,5 µg/mL	34,72	29,60	34,22	36,29	36,07
	34,56	29,50	34,12	36,53	36,40
	34,60	29,40	34,16	36,24	35,94
	34,67	29,44	34,30	35,90	36,03
	34,32	29,20	34,08	36,60	36,46
	34,42	29,40	34,90	36,65	36,43
	34,37	29,32	34,65	37,08	36,31
	34,66	29,50	34,59	36,05	36,19
	34,36	29,23	34,77	36,67	36,19
	34,12	29,20	34,86	36,60	36,64
Ortalama	34,50	29,37	34,46	36,46	36,27
SD	0,19	0,15	0,32	0,34	0,22
% RSD	0,55	0,50	0,92	0,95	0,61
% Verim	91,94	78,32	91,90	97,22	96,71
LOD	0,57	0,44	0,95	1,04	0,66
LOQ	1,90	1,46	3,17	3,45	2,20

Çizelge 5.49 Standart Ekleme yöntemi için elde edilen absorbans değerleri

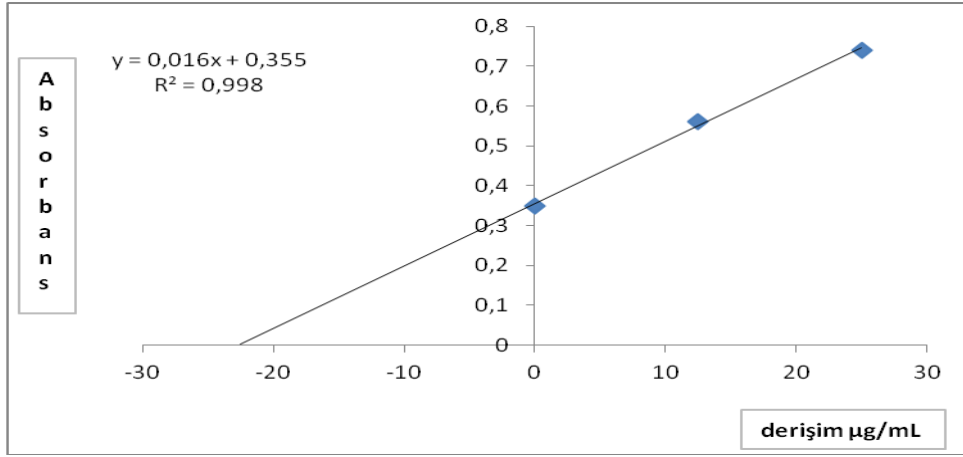
Yöntemler	2 mL gül ekstresi	2 mL gül ekstresi+1 mL stok çözeltisi	2 mL gül ekstresi+2 mL stok çözeltisi
Yöntem 1.a	0,440	0,706	0,937
Yöntem 1.b	0,006	0,010	0,013
Yöntem 2.a	0,350	0,560	0,740
Yöntem 2.b	0,270	0,432	0,582
Yöntem 3	0,510	0,710	0,890



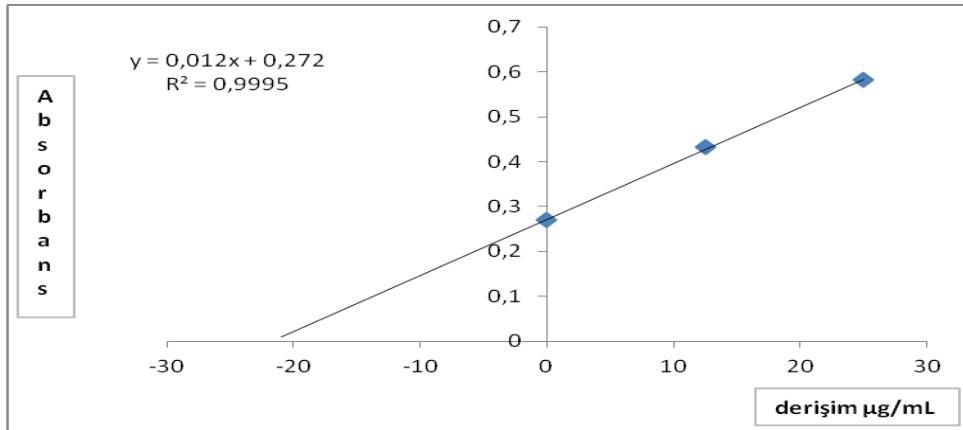
Şekil 5.39 Yöntem 1.a için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi



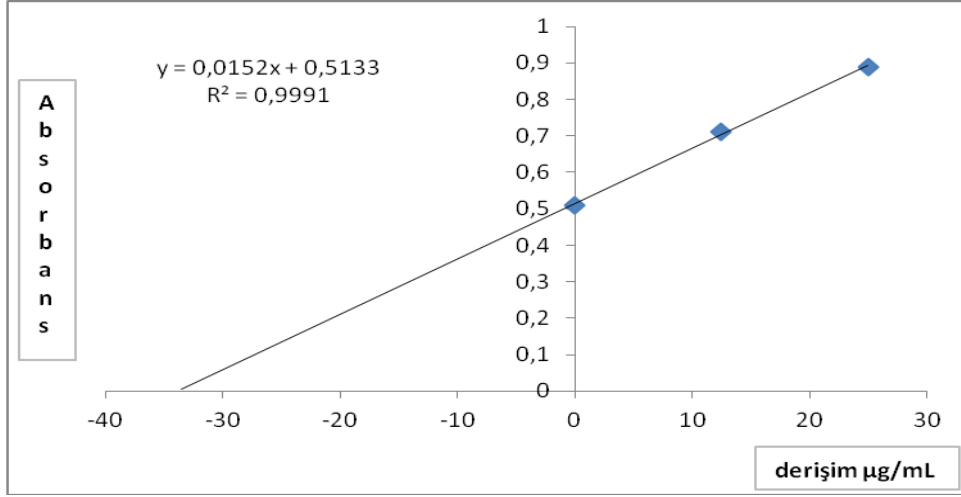
Şekil 5.40 Yöntem 1.b için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi



Şekil 5.41 Yöntem 2.a için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi



Şekil 5.42 Yöntem 2.b için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi



Şekil 5.43 Yöntem 3 için standart ekleme yönteminin kalibrasyon eğrisi

Çizelge 5.50 Standart ekleme yönteminin uygulanmasıyla 3 Yöntem için elde edilen % Verimler

Yöntemler	% Verim		
	2 mL gül ekstresi	2 mL gül ekstresi+1 mL stok antosiyanin çözeltisi	2 mL gül ekstresi+2 mL stok antosiyanin çözeltisi
Yöntem 1.a	95,00	99,16	97,38
Yöntem 1.b	90,75	96,50	92,00
Yöntem 2.a	95,00	96,00	93,00
Yöntem 2.b	96,40	95,00	92,50
Yöntem 3	95,16	95,00	93,00

Çizelge 5.51 Standart Ekleme Yönteminin uygulanmasıyla mg A/ 100 g gül yaprağında saptanan antosiyanin miktarları

Yöntemler	2 mL gül ekstresi	2 mL gül ekstresi+1 mL stok çözeltisi	2 mL gül ekstresi+2 mL stok çözeltisi
Yöntem 1.a	321,07	347,05	346,91
Yöntem 1.b	299,55	333,00	324,75
Yöntem 2.a	318,90	336,12	331,50
Yöntem 2.b	303,65	318,14	318,97
Yöntem 3	478,14	436,41	407,47

5.21 Gül Yapağı Ekstreleri İçin Uygulanan Validasyon İşlemleri

Çizelge 5.52 Yöntem 1.a için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	SD	RSD
33,91	33,70	33,90	33,84	0,12	0,34
33,80	33,66	33,46	33,64	0,18	0,52
33,65	33,76	33,56	33,66	0,10	0,30
34,00	33,56	33,76	33,77	0,22	0,67
33,86	33,80	34,00	33,89	0,10	0,31

*Gül yapağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.53 Yöntem 1.b için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	SD	RSD
37,23	37,47	37,37	37,36	0,12	0,31
37,47	37,43	37,60	37,50	0,09	0,24
37,33	37,40	37,43	37,39	0,05	0,14
37,60	37,63	37,23	37,49	0,22	0,60
37,30	37,37	37,33	37,33	0,03	0,09

*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.54 Yöntem 2.a için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	SD	RSD
37,44	37,02	37,20	37,22	0,20	0,54
37,49	37,14	37,14	37,26	0,20	0,54
37,38	36,91	37,73	37,34	0,41	1,10
37,26	37,08	37,02	37,12	0,12	0,34
37,14	36,79	36,91	36,95	0,18	0,54

*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.55 Yöntem 2.b için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	SD	RSD
47,40	47,24	46,96	47,19	0,22	0,46
47,53	47,60	47,46	47,53	0,07	0,15
47,74	47,46	47,24	47,48	0,25	0,53
47,46	47,90	47,40	47,60	0,27	0,57
47,31	47,100	47,10	47,17	0,12	0,26

*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.56 Yöntem 3 için İntra-day (Gün İçi) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Çalışma*	2.Çalışma*	3.Çalışma*	Ort	SD	RSD
39,58	39,35	39,52	39,48	0,12	0,31
39,64	39,77	39,41	39,60	0,18	0,46
39,70	39,64	39,58	39,64	0,06	0,15
39,58	39,64	39,70	39,64	0,06	0,15
39,82	39,76	39,41	39,66	0,22	0,005

*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.57 Yöntem 1.a için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	SD	RSD
33,66	33,20	33,90	33,59	0,36	1,06
33,90	32,60	33,10	33,20	0,66	1,97
33,80	33,60	33,00	33,47	0,42	1,24
34,00	33,06	33,90	33,66	0,52	1,55
33,76	34,00	34,00	33,92	0,14	0,42

*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.58 Yöntem 1.b için İnter-day (Günler arası) çalışmalara ait sonuçlar

1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	SD	RSD
37,43	37,40	37,33	37,39	0,05	0,14
37,37	37,53	37,50	37,47	0,09	0,24
37,27	37,47	37,43	37,39	0,11	0,30
37,47	37,50	37,37	37,44	0,07	0,20
37,33	37,47	37,47	37,42	0,08	0,21

*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.59 Yöntem 2.a için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	SD	RSD
37,49	36,91	37,26	37,22	0,30	0,80
37,40	37,14	37,26	37,26	0,12	0,31
37,73	36,73	37,73	37,40	0,60	1,54
37,20	36,55	37,02	36,93	0,33	0,90
37,14	36,91	36,96	37,00	0,12	0,33

*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.60 Yöntem 2.b için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	SD	RSD
47,67	47,74	46,96	47,46	0,43	0,91
47,53	47,60	47,46	47,53	0,07	0,15
47,60	46,67	47,24	47,17	0,47	1,00
47,40	46,67	47,40	47,15	0,41	0,88
47,40	47,40	47,46	47,41	0,04	0,09

*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.61 Yöntem 3 için İnter-day (Günler arası) çalışmalarına ait sonuçlar

1.Gün*	2.Gün*	3.Gün*	Ort	SD	RSD
39,58	39,90	39,52	39,66	0,19	0,48
39,70	39,41	39,52	39,54	0,15	0,37
39,76	39,90	40,05	39,90	0,15	0,37
39,90	39,64	39,90	39,80	0,14	0,34
39,70	39,76	39,76	39,74	0,04	0,09

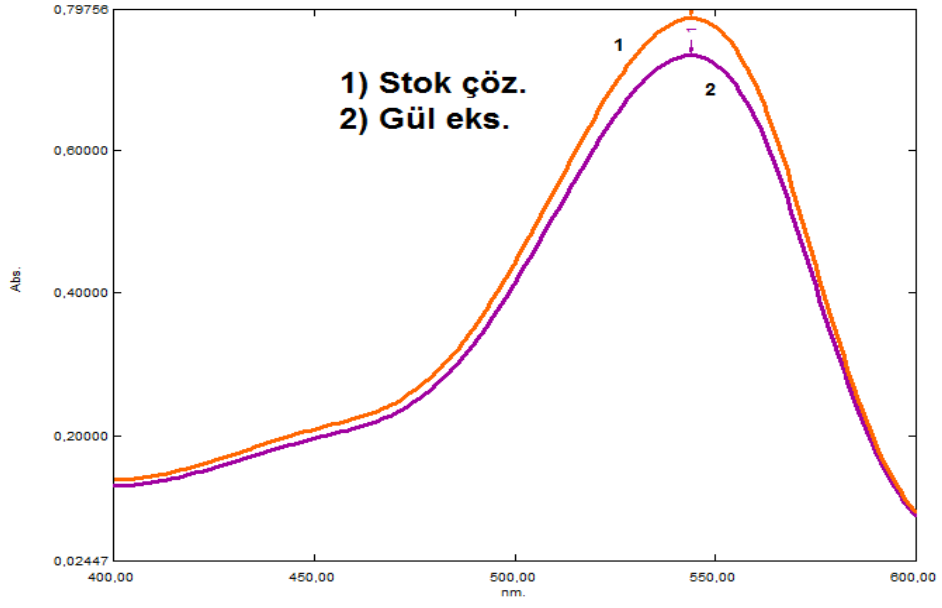
*Gül yaprağı ekstreleri için hesaplanmış µg/mL cinsinden konsantrasyon değerleri

Çizelge 5.62 Gül ekstresinden hazırlanan 5 ayrı çözeltinin gün içinde (İnter-day) arka arkaya 3 ayrı yöntem ile alınan ölçümleri sonucunda elde edilen, Ortalama konsantrasyon, SD, RSD, LOD ve LOQ değerlerinin karşılaştırılması

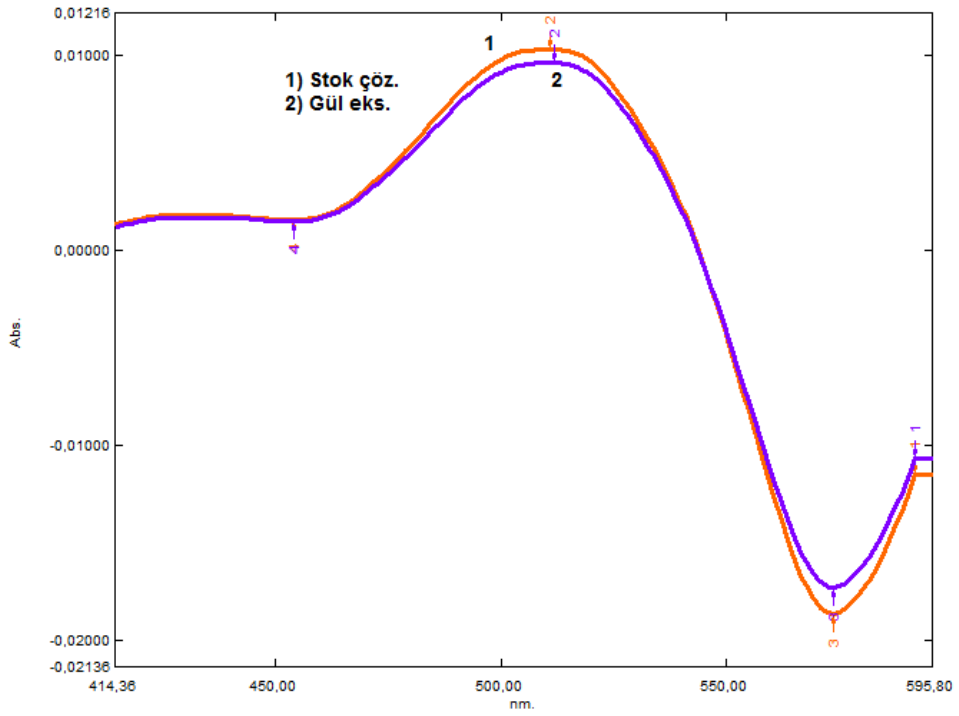
İstatistiksel veriler	Yöntemler				
	Yöntem 1.a	Yöntem 1.b	Yöntem 2.a	Yöntem 2.b	Yöntem 3
µg/mL					
	33,84	37,36	37,22	47,20	39,48
	33,64	37,50	37,26	47,53	39,60
	33,66	37,39	37,34	47,48	39,64
	33,77	37,49	37,12	47,60	39,64
	33,89	37,33	36,95	47,17	39,66
Ortalama	33,76	37,41	37,18	47,39	39,61
SD	0,11	0,08	0,15	0,19	0,07
% RSD	0,33	0,21	0,41	0,40	0,18
LOD	0,33	0,23	0,45	0,60	0,21
LOQ	1,10	0,77	1,51	1,92	0,71

Çizelge 5.63 Gül ekstresinden hazırlanan 5 ayrı çözeltinin 3 gün arka arkaya (İnter-day, gün aşırı) 3 ayrı yöntem ile alınan ölçümleri sonucunda elde edilen, Ortalama konsantrasyon, SD, RSD, LOD ve LOQ değerlerinin karşılaştırılması

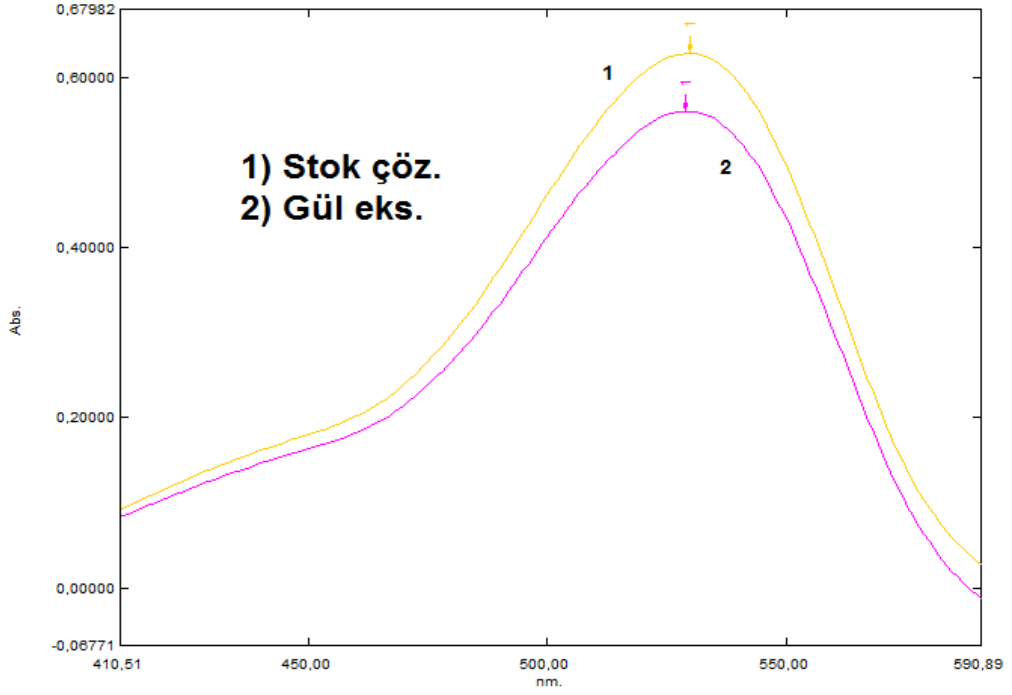
İstatistiksel veriler	Yöntemler				
	Yöntem 1.a	Yöntem 1.b	Yöntem 2.a	Yöntem 2.b	Yöntem 3
µg/mL	33,59	37,39	37,22	47,46	39,66
	33,20	37,47	37,26	47,53	39,54
	33,47	37,39	37,40	47,17	39,90
	33,66	37,44	36,93	47,15	39,80
	33,92	37,42	37,00	47,41	39,74
Ortalama	33,57	37,42	37,16	47,34	39,73
SD	0,26	0,03	0,19	0,17	0,13
% RSD	0,78	0,09	0,52	0,36	0,34
LOD	0,80	0,10	0,58	0,52	0,40
LOQ	2,62	0,33	1,93	1,73	1,34



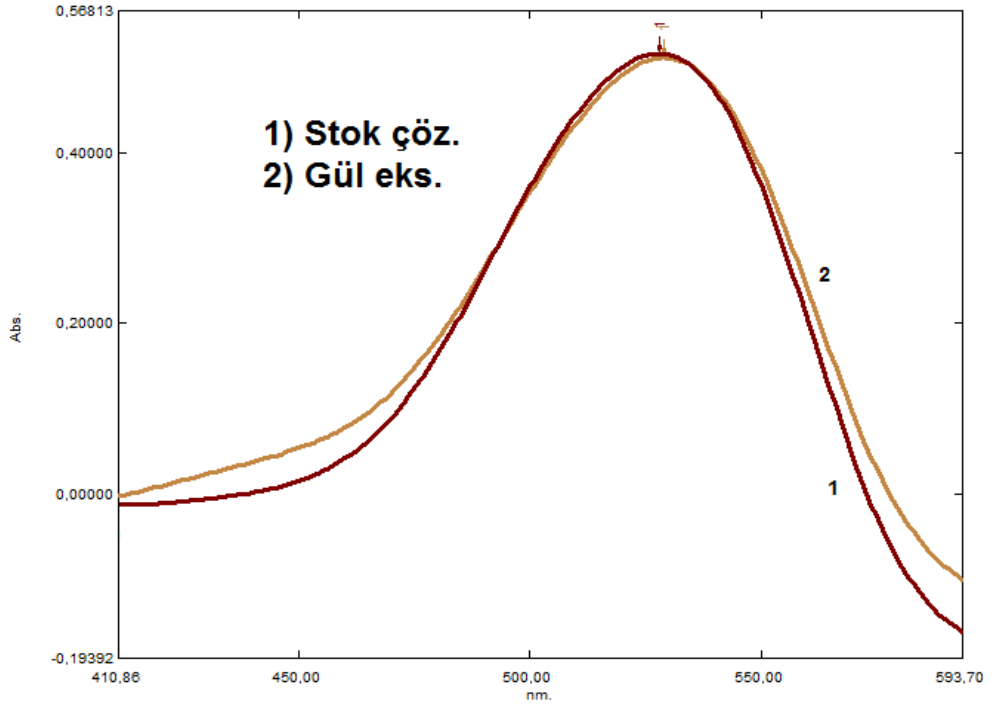
Şekil 5.44 (1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 µg/mL), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 1.a)



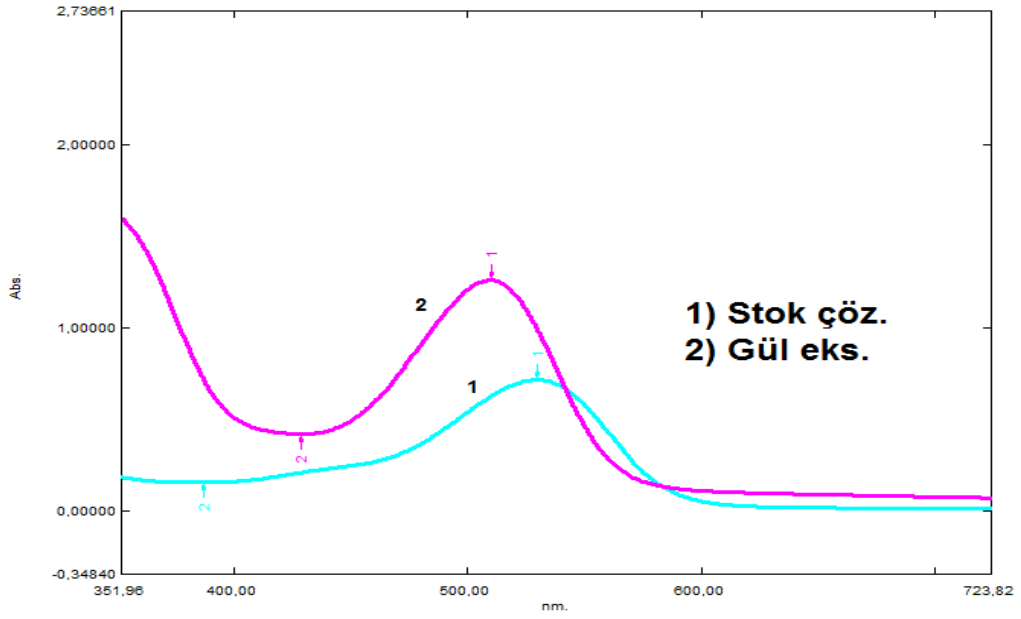
Şekil 5.45 (1): 3 ml standart antosiyanine (37,5 µg/mL), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait 1. türev absorpsiyon spektrumları (Yöntem 1.b)



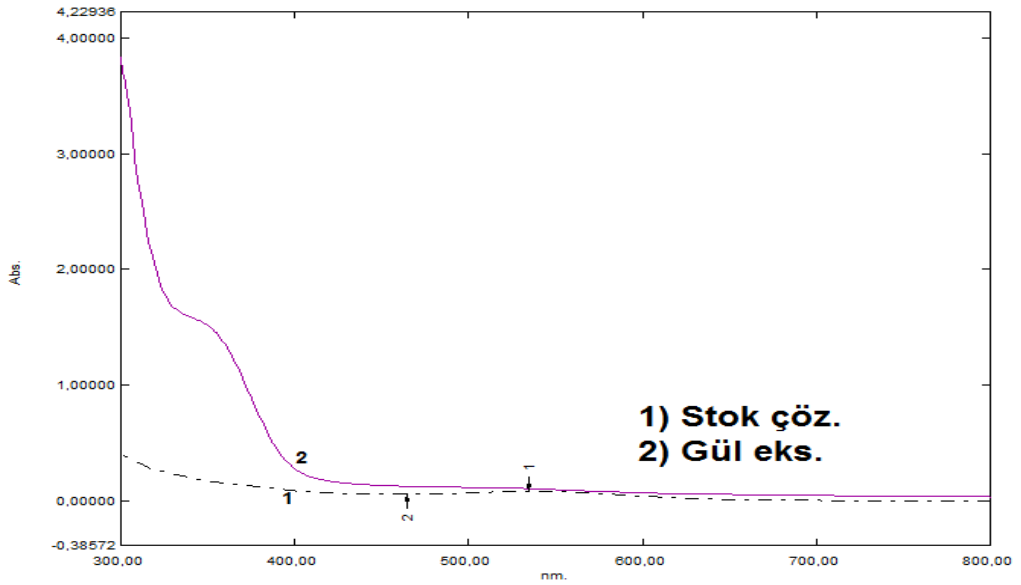
Şekil 5.46 (1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 µg/mL), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 2.a)



Şekil 5. 47 (1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 µg/mL), 2: 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 2.b)



Şekil 5.48 (1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 3, distile suya karşı pH: 1,0 ile hazırlanan çözeltinin spektrumu)



Şekil 5.49 (1): 3 mL standart antosiyanine (37,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), (2): 3 mL gül yaprağı ekstresine ait absorpsiyon spektrumları (Yöntem 3, distile suya karşı pH: 4,5 ile hazırlanan çözeltinin spektrumu)

Çizelge 5.64 pH: 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların renk kordinatları

pH 4,0										
D65/10	L*	a*	b*	C*	H	X	Y	Z	X	Y
K₂Cr₂O₇										
Yöntem 1	58,62	1,03	23,69	23,94	86,11	25,11	26,06	15,29	0,3778	0,3920
Yöntem 2	64,39	-0,03	18,52	18,82	89,78	31,10	32,67	23,00	0,3572	0,3757
Yöntem 3	48,43	3,60	26,32	82,41	82,08	16,54	16,71	8,21	0,3991	0,4037
Yöntem 4	47,22	3,82	26,90	27,94	82,13	16,49	16,67	7,87	0,4026	0,4063
Yöntem 5	55,40	-0,26	17,34	17,21	89,38	21,73	22,86	15,82	0,3583	0,3778
Yöntem 6	61,25	-0,88	15,21	15,04	93,28	28,12	29,83	22,87	0,3500	0,3711
Yöntem 7	45,27	4,57	25,04	25,45	79,74	14,80	14,78	7,16	0,4012	0,4017
Yöntem 8	65,31	2,71	25,00	24,31	84,07	33,58	34,54	21,17	0,3753	0,3862
Al(NO₃)₃· 9H₂O										
Yöntem 1	74,77	0,03	15,84	16,31	87,80	43,55	45,58	35,54	0,3489	0,3654
Yöntem 2	81,81	-1,06	16,15	17,03	90,90	55,01	58,13	46,30	0,3455	0,3641
Yöntem 3	65,57	3,26	17,16	17,30	77,47	33,93	34,70	25,73	0,3597	0,3680
Yöntem 4	68,35	1,83	16,56	16,82	82,73	36,77	38,05	28,77	0,3555	0,3679
Yöntem 5	74,24	0,52	18,63	18,63	87,03	45,50	47,58	35,22	0,3540	0,3703
Yöntem 6	76,89	-0,52	16,66	17,57	89,18	47,46	49,90	38,46	0,3505	0,3678
Yöntem 7	68,14	3,34	19,46	20,00	79,44	35,85	36,60	25,75	0,3649	0,3727
Yöntem 8	78,46	-1,31	15,83	16,44	92,65	50,25	53,23	41,93	0,3440	0,3644

pH 4,0										
D65/10	L*	a*	b*	C*	h	X	Y	Z	X	Y
KAl(SO₄)₂·12H₂O										
Yöntem 1	76,51	-0,13	13,90	13,82	89,20	46,28	48,57	40,41	0,3427	0,3598
Yöntem 2	80,70	-0,66	15,85	16,27	90,14	54,24	57,20	45,98	0,3465	0,3645
Yöntem 3	65,99	2,86	16,08	16,73	79,81	34,66	35,60	27,32	0,3565	0,3656
Yöntem 4	69,40	1,14	14,16	14,51	83,62	37,00	38,44	30,23	0,3499	0,3638
Yöntem 5	72,98	2,00	22,26	23,18	85,24	44,18	45,17	30,96	0,3617	0,3770
Yöntem 6	76,72	-1,37	18,07	17,97	89,04	47,10	49,50	37,20	0,3507	0,3684
Yöntem 7	70,96	2,18	16,11	16,23	80,64	39,83	41,07	31,95	0,3606	0,3639
Yöntem 8	80,80	-1,28	13,30	13,46	93,49	54,48	57,62	48,61	0,3393	0,3587
FeCl₃·6H₂O										
Yöntem 1	35,09	1,54	0,85	1,78	30,79	8,63	8,89	9,30	0,3210	0,3307
Yöntem 2	42,26	1,27	1,53	2,65	60,68	12,73	13,19	13,71	0,3232	0,3348
Yöntem 3	40,57	3,92	11,69	12,87	70,70	12,13	12,15	8,97	0,3631	0,3639
Yöntem 4	28,90	2,90	2,21	3,71	37,78	6,00	6,02	5,95	0,3329	0,3347
Yöntem 5	36,21	3,24	2,25	3,73	37,24	8,29	8,39	8,45	0,3300	0,3337
Yöntem 6	42,38	1,63	6,40	7,00	75,67	12,94	13,35	11,68	0,3405	0,3511
Yöntem 7	34,41	3,50	6,85	8,10	64,26	8,46	8,48	7,11	0,3494	0,3509
Yöntem 8	49,88	1,02	6,37	7,08	81,15	15,10	15,69	13,97	0,3347	0,3446

pH 4,0										
D65/10	L*	a*	b*	C*	H	X	Y	Z	X	Y
CuCl₂·2H₂O										
Yöntem 1	48,24	3,55	26,88	26,94	82,51	15,91	16,12	7,67	0,3996	0,4052
Yöntem 2	53,35	1,56	27,35	26,40	87,96	20,60	21,48	11,27	0,3874	0,4028
Yöntem 3	45,09	3,57	25,71	29,61	82,07	14,30	14,44	6,86	0,4014	0,4056
Yöntem 4	41,21	6,24	28,25	28,92	77,39	12,42	12,13	4,81	0,4229	0,4129
Yöntem 5	41,77	5,24	25,00	25,56	78,05	12,64	12,55	5,93	0,4088	0,4042
Yöntem 6	56,46	1,18	25,68	25,46	87,05	23,28	24,20	13,23	0,3824	0,3980
Yöntem 7	39,44	4,41	22,50	22,95	79,14	10,28	10,32	5,41	0,4023	0,4008
Yöntem 8	41,11	-0,30	17,90	18,75	91,17	11,38	12,04	7,20	0,3698	0,3912
AgNO₃										
Yöntem 1	28,12	12,08	16,10	20,96	52,97	6,55	5,72	3,02	0,4320	0,3734
Yöntem 2	32,46	14,59	22,92	26,43	56,82	8,61	7,41	3,09	0,4488	0,3879
Yöntem 3	36,81	16,73	30,69	35,12	62,04	11,86	10,16	3,16	0,4693	0,4027
Yöntem 4	28,90	14,41	20,24	26,47	55,39	7,10	6,04	2,66	0,4521	0,3811
Yöntem 5	51,22	13,35	31,82	34,64	67,19	20,54	18,80	7,71	0,4353	0,3987
Yöntem 6	55,06	13,19	33,81	36,58	68,64	25,59	23,88	9,97	0,4320	0,4023
Yöntem 7	32,43	11,02	16,66	21,06	56,18	8,02	7,24	4,03	0,4202	0,3767
Yöntem 8	30,77	14,62	22,66	26,57	56,07	7,22	6,16	2,86	0,4477	0,3813
pH 4,0										

D65/10	L*	a*	b*	C*	H	X	Y	Z	X	Y
MgCl₂.6H₂O										
Yöntem 1	65,81	5,26	14,46	15,30	69,95	35,20	35,47	28,19	0,3574	0,3600
Yöntem 2	72,86	4,61	16,41	16,99	74,36	42,91	43,52	33,42	0,3577	0,3631
Yöntem 3	70,59	3,80	16,92	17,44	77,37	41,95	42,83	32,64	0,3580	0,3650
Yöntem 4	70,84	3,46	17,38	18,55	78,95	41,23	42,22	31,75	0,3570	0,3656
Yöntem 5	65,61	5,72	15,30	16,00	69,13	34,52	34,58	26,61	0,3588	0,3602
Yöntem 6	75,34	3,35	15,58	15,59	79,81	47,37	48,63	38,91	0,3505	0,3601
Yöntem 7	63,54	2,92	21,31	21,04	82,40	31,60	32,31	21,30	0,3787	0,3784
Yöntem 8	73,81	4,24	15,46	16,25	74,28	44,52	45,24	35,73	0,3538	0,3600
FeSO₄.7H₂O										
Yöntem 1	35,95	1,75	0,63	2,00	28,91	5,96	9,21	9,67	0,3208	0,3297
Yöntem 2	30,93	2,06	-1,11	2,04	349,5	6,63	6,86	7,72	0,3154	0,3218
Yöntem 3	28,68	3,05	3,58	5,72	50,82	6,14	6,18	5,85	0,3315	0,3345
Yöntem 4	24,42	2,50	2,25	3,29	39,47	4,31	4,34	4,29	0,3260	0,3279
Yöntem 5	34,64	3,63	2,67	4,56	38,49	8,27	8,28	8,10	0,3371	0,3372
Yöntem 6	42,81	2,26	7,18	6,63	73,11	13,37	13,73	12,17	0,3408	0,3500
Yöntem 7	29,89	3,69	0,21	3,81	7,32	6,72	6,69	7,14	0,3251	0,3237
Yöntem 8	34,65	2,06	-0,44	2,06	15,40	8,54	8,75	9,30	0,3202	0,3277
Tannik asit→Boya										
	70,92	4,71	17,06	17,30	74,67	41,73	42,31	32,20	0,3582	0,3636

pH 4,0										
D65/10	L*	a*	b*	C*	H	X	Y	Z	X	Y
Sadece Boya										
	71,22	4,75	13,50	13,98	70,01	43,97	44,64	36,94	0,3501	0,3556

Çizelge 5.65 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların ışık haslıkları

Mordan Türleri ve	Işık Haslıkları									
	1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem	9.Yöntem	10.Yönte
$K_2Cr_2O_7$	4-5	4-5	4	4	5	4-5	4	4	4-5	4-5
$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	4	4-5	5	4	4-5	3-4	5	4		
$KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$	4	4-5	4-5	4	6	3-4	5-6	4-5		
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	4	4	5	4	5	3-4	5-6	5		
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	5-6	5-6	5	5	5-6	5	5-6	6		
$AgNO_3$	7-8	6	6-7	7	6	5-6	7	5-6		
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	5	6-7	5-6	6	5-6	4-5	4	5-6		
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	4	4-5	5	5	5-6	4	5	4		

Çizelge 5.66 pH: 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların sürtünme hasırları

Mordan Türleri ve Boyama Yöntemleri	Kuru sürtünme									
	1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem	9.Yöntem	10.Yöntem
$K_2Cr_2O_7$	4-5	5	5	5	4-5	4-5	5	4-5	5	5
$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	4-5	5	4-5	4-5	4-5	5	5	5		
$KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$	4-5	5	5	4-5	5	4-5	4-5	5		
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	3	4-5	3-4	3-4	4-5	4	3-4	4		
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	4	4-5	5	4-5	5	4-5	5	4		
$AgNO_3$	3-4	4	4-5	4-5	5	5	4	3-4		
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	4-5	5	5	5	5	5	5	5		
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	4	4	3	3-4	3-4	3-4	4	3-4		

Çizelge 5.66 pH: 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların sürtünme hasılları (Devam)

		Yaş Sürtünme									
Mordan Türleri ve Boyama Yöntemleri	1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem	9.Yöntem	10.Yöntem	
$K_2Cr_2O_7$	4-5	5	4-5	5	5	5	5	4-5	5	5	
$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	4-5	5	5	4-5	4-5	5	5	5			
$KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$	4-5	5	5	4-5	5	5	5	5			
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	3-4	4	4	3-4	4	4	4-5	4			
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	4	4-5	5	4-5	4-5	4-5	5	4			
$AgNO_3$	3-4	3-4	4-5	4	4-5	4-5	4	3-4			
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	4-5	5	5	4-5	5	5	5	4			
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	3-4	4-5	4	4	4	4	4-5	4			

Çizelge 5.67 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların ter hasılları

		$K_2Cr_2O_7$								$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$							
		Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 4	Yöntem 5	Yöntem 6	Yöntem 7	Yöntem 8	Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 4	Yöntem 5	Yöntem 6	Yöntem 7	Yöntem 8
Asit	Asetat	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Pamuk	4-5	4-5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5	5	5	4-5	5	5
	Poliamid	5	4-5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliester	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Akrilik	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Yün	5	4-5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Solma	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Baz	Asetat	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Pamuk	5	5	5	4-5	5	5	5	4-5	5	5	5	4-5	5	5	5	4-5
	Poliamid	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliester	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Akrilik	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Yün	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Solma	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Çizelge 5.67 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların ter hasılları (Devam)

		KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O								FeCl ₃ ·6H ₂ O							
		Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 4	Yöntem 5	Yöntem 6	Yöntem 7	Yöntem 8	Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 4	Yöntem 5	Yöntem 6	Yöntem 7	Yöntem 8
Asit	Asetat	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Pamuk	5	5	5	5	5	5	5	4-5	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5
	Poliamid	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliester	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Akrilik	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Yün	5	5	5	5	5	5	5	5	4-5	5	4-5	4-5	4-5	5	5	5
	Solma	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Baz	Asetat	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Pamuk	5	5	4-5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	5	5	4-5
	Poliamid	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliester	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Akrilik	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Yün	5	5	4-5	5	5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	5
	Solma	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Çizelge 5.67 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların ter hasılları (Devam)

		CuCl ₂ .2H ₂ O								AgNO ₃							
		Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 4	Yöntem 5	Yöntem 6	Yöntem 7	Yöntem 8	Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 4	Yöntem 5	Yöntem 6	Yöntem 7	Yöntem 8
Asit	Asetat	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Pamuk	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5	4-5	4-5	5	5	4-5	5	4-5	4-5
	Poliamid	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliester	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Akrilik	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Yün	5	4-5	5	5	5	5	5	5	4-5	4-5	5	5	4-5	5	4-5	5
	Solma	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Baz	Asetat	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Pamuk	5	5	5	5	5	5	5	4-5	4-5	5	4-5	4-5	5	5	5	4-5
	Poliamid	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliester	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Akrilik	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Yün	5	4-5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Solma	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Çizelge 5.67 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların ter hasılları (Devam)

		MgCl ₂ .6H ₂ O								FeSO ₄ .7H ₂ O							
		Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 4	Yöntem 5	Yöntem 6	Yöntem 7	Yöntem 8	Yöntem 1	Yöntem 2	Yöntem 3	Yöntem 4	Yöntem 5	Yöntem 6	Yöntem 7	Yöntem 8
Asit	Asetat	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Pamuk	5	4-5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliamid	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliester	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Akrilik	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Yün	5	4-5	5	5	5	5	5	5	5	4-5	4-5	5	5	5	4-5	5
	Solma	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Baz	Asetat	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Pamuk	5	5	5	4-5	4-5	5	4-5	4-5	5	5	5	5	5	5	5	4-5
	Poliamid	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Poliester	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Akrilik	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Yün	5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Solma	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Çizelge 5.68 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri

Boyama Yöntemleri	K ₂ Cr ₂ O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇	K ₂ Cr ₂ O ₇
	1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem	
380	0,0687	0,1036	0,0300	0,0292	0,0516	0,0898	0,0284	0,0944	
410	0,0925	0,1437	0,0443	0,0396	0,0848	0,1266	0,0381	0,1239	
440	0,1196	0,1889	0,0639	0,0544	0,1226	0,1677	0,0532	0,1658	
470	0,1597	0,2482	0,0892	0,0781	0,1694	0,2248	0,0759	0,2221	
500	0,2178	0,3105	0,1234	0,1113	0,2088	0,2832	0,1060	0,2838	
530	0,2530	0,3335	0,1557	0,1423	0,2217	0,2914	0,1331	0,3277	
560	0,2621	0,3246	0,1707	0,1605	0,2225	0,2726	0,1462	0,3497	
590	0,2816	0,3397	0,1876	0,1792	0,2357	0,2834	0,1628	0,3815	
620	0,3245	0,3948	0,2222	0,2101	0,2708	0,3339	0,1972	0,4368	
650	0,3953	0,4855	0,2796	0,2588	0,3278	0,423	0,2531	0,5126	
680	0,4764	0,5762	0,3486	0,3203	0,3857	0,5186	0,3207	0,5859	
710	0,5565	0,6597	0,4272	0,3866	0,4414	0,6127	0,3965	0,6514	

Çizelge 5.68 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri (Devam)

Boyama Yöntemleri	Al(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O							
	1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem
380	0,1648	0,2167	0,1011	0,1063	0,1273	0,1647	0,0925	0,1824
410	0,2317	0,2986	0,1549	0,1644	0,1938	0,2302	0,1436	0,2576
440	0,314	0,3884	0,2170	0,2342	0,2805	0,3099	0,2107	0,3411
470	0,3839	0,4636	0,2687	0,2907	0,3523	0,3832	0,2663	0,4259
500	0,4286	0,5151	0,3028	0,3267	0,3984	0,4352	0,3022	0,4794
530	0,4576	0,5555	0,3316	0,3533	0,4330	0,4720	0,3328	0,5085
560	0,4786	0,5864	0,3603	0,3762	0,4620	0,4976	0,3650	0,524
590	0,5034	0,6139	0,3955	0,4052	0,4945	0,5257	0,4031	0,5457
620	0,5358	0,6393	0,4368	0,4437	0,5300	0,5618	0,4470	0,582
650	0,5776	0,6683	0,4855	0,4919	0,5694	0,6100	0,4971	0,6356
680	0,6237	0,7014	0,5409	0,5485	0,6124	0,6616	0,5535	0,6912
710	0,6684	0,7315	0,5962	0,6002	0,6520	0,7021	0,6078	0,7343

Çizelge 5.68 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri (Devam)

Boyama Yöntemleri	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O 1.Yöntem	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O 2.Yöntem	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O 3.Yöntem	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O 4.Yöntem	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O 5.Yöntem	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O 6.Yöntem	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O 7.Yöntem	KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O 8.Yöntem
380	0,1852	0,2102	0,1135	0,1198	0,1130	0,1628	0,1232	0,2268
410	0,2606	0,2868	0,1605	0,1774	0,1799	0,2217	0,1884	0,3168
440	0,3459	0,3701	0,2225	0,2427	0,2500	0,2924	0,2673	0,4087
470	0,4118	0,4421	0,2719	0,2974	0,3156	0,3672	0,3253	0,4856
500	0,4507	0,4937	0,3025	0,3301	0,3699	0,4227	0,3577	0,5287
530	0,4752	0,5353	0,3276	0,3525	0,4190	0,4611	0,3831	0,5525
560	0,4925	0,5682	0,3524	0,3702	0,4612	0,4854	0,4095	0,5667
590	0,5163	0,5974	0,3834	0,3956	0,5007	0,5125	0,4435	0,5876
620	0,5498	0,6237	0,4207	0,4330	0,5375	0,5524	0,4831	0,6167
650	0,5928	0,6513	0,4659	0,4827	0,5750	0,6078	0,5298	0,6533
680	0,6388	0,6837	0,5189	0,5386	0,6108	0,6635	0,5835	0,6893
710	0,6850	0,7120	0,5726	0,5930	0,6397	0,7062	0,6354	0,7206

Çizelge 5.68 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri (Devam)

Boyama	FeCl ₃ ·6H ₂ O	FeCl ₃ ·6H ₂ O	FeCl ₃ ·6H ₂ O	FeCl ₃ ·6H ₂ O	FeCl ₃ ·6H ₂ O	FeCl ₃ ·6H ₂ O	FeCl ₃ ·6H ₂ O	FeCl ₃ ·6H ₂ O
	1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem
380	0,0579	0,0754	0,0467	0,0387	0,0507	0,0637	0,0393	0,0896
410	0,0786	0,0985	0,0600	0,0474	0,0659	0,0842	0,0481	0,1193
440	0,0945	0,1153	0,0753	0,0542	0,0766	0,1043	0,0574	0,1492
470	0,1000	0,1204	0,0879	0,0566	0,0801	0,1175	0,0637	0,1652
500	0,1000	0,1213	0,0969	0,0565	0,0792	0,1236	0,0672	0,1735
530	0,0995	0,1213	0,1083	0,0571	0,0796	0,1302	0,0723	0,1791
560	0,0997	0,1219	0,1201	0,0588	0,0814	0,1357	0,0779	0,1833
590	0,1032	0,1255	0,1341	0,0632	0,0865	0,1434	0,0858	0,1909
620	0,1104	0,1326	0,1500	0,0698	0,0947	0,1535	0,0961	0,2025
650	0,1221	0,1436	0,1693	0,0795	0,1063	0,1678	0,1097	0,2205
680	0,1386	0,1588	0,1927	0,0926	0,1215	0,1868	0,1269	0,2447
710	0,1604	0,1786	0,2211	0,1097	0,1403	0,2110	0,1485	0,2750

Çizelge 5.68 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri (Devam)

Boyama Yöntemleri	CuCl ₂ .2H ₂ O 1.Yöntem	CuCl ₂ .2H ₂ O 2.Yöntem	CuCl ₂ .2H ₂ O 3.Yöntem	CuCl ₂ .2H ₂ O 4.Yöntem	CuCl ₂ .2H ₂ O 5.Yöntem	CuCl ₂ .2H ₂ O 6.Yöntem	CuCl ₂ .2H ₂ O 7.Yöntem	CuCl ₂ .2H ₂ O 8.Yöntem
380	0,0341	0,0534	0,0312	0,0229	0,0248	0,0539	0,0249	0,0350
410	0,0396	0,0616	0,0346	0,0247	0,0325	0,0719	0,0309	0,0423
440	0,0571	0,0868	0,0491	0,0326	0,0443	0,1015	0,0419	0,0590
470	0,0865	0,1265	0,0729	0,0499	0,0589	0,1449	0,0591	0,0815
500	0,1163	0,1633	0,0983	0,0718	0,0792	0,1860	0,0763	0,1016
530	0,1453	0,1963	0,1237	0,0958	0,1057	0,2217	0,0936	0,1172
560	0,1714	0,2234	0,1475	0,1203	0,1323	0,2506	0,1107	0,1277
590	0,1955	0,2246	0,1696	0,1451	0,1565	0,2755	0,1275	0,1360
620	0,2186	0,2618	0,1888	0,1693	0,1766	0,2958	0,1432	0,1447
650	0,2427	0,2780	0,2067	0,1935	0,1934	0,3158	0,1583	0,1558
680	0,2683	0,2925	0,2246	0,2177	0,2062	0,3369	0,1736	0,1686
710	0,2952	0,3058	0,2438	0,2430	0,2142	0,3597	0,1894	0,1833

Çizelge 5.68 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri (Devam)

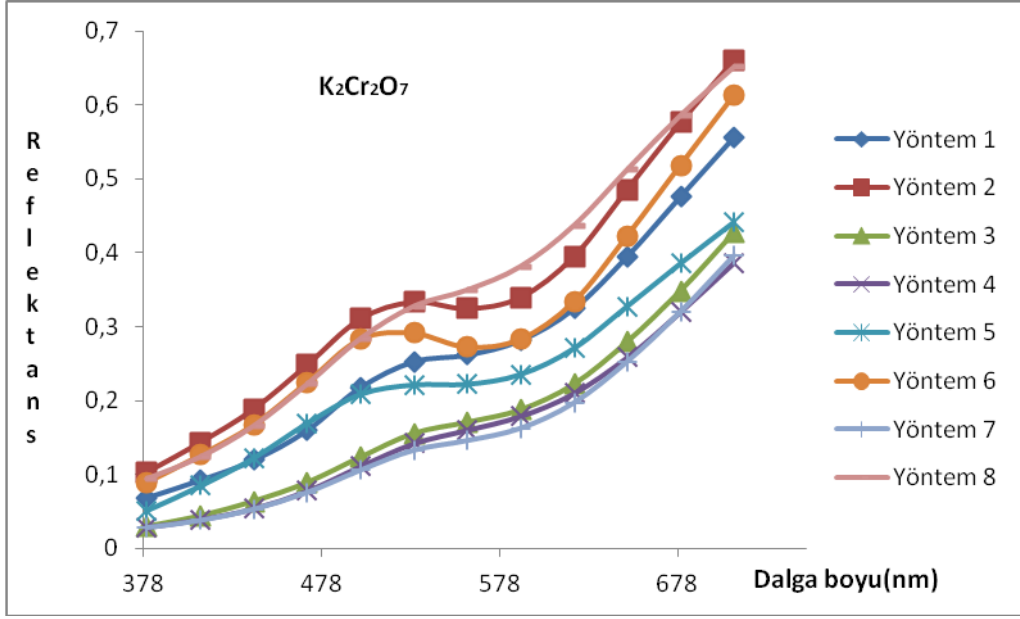
Boyama Yöntemleri	AgNO ₃ 1.Yöntem	AgNO ₃ 2.Yöntem	AgNO ₃ 3.Yöntem	AgNO ₃ 4.Yöntem	AgNO ₃ 5.Yöntem	AgNO ₃ 6.Yöntem	AgNO ₃ 7.Yöntem	AgNO ₃ 8.Yöntem
380	0,0245	0,0248	0,0223	0,0230	0,0294	0,0349	0,0276	0,0230
410	0,0243	0,0250	0,0231	0,0231	0,0414	0,0477	0,0306	0,0232
440	0,0243	0,0259	0,0244	0,0231	0,0587	0,0682	0,0350	0,0243
470	0,0250	0,0275	0,0269	0,0242	0,0810	0,0947	0,0391	0,0250
500	0,0283	0,0339	0,0361	0,0275	0,1086	0,1274	0,0444	0,0287
530	0,0381	0,0488	0,0552	0,0374	0,1425	0,1685	0,0547	0,0389
560	0,0546	0,0714	0,0837	0,0549	0,1838	0,2174	0,0712	0,0562
590	0,0757	0,0992	0,1205	0,0779	0,2366	0,2772	0,0938	0,0779
620	0,0992	0,1288	0,1613	0,1039	0,3000	0,3439	0,1188	0,1014
650	0,1243	0,1595	0,2040	0,1320	0,3716	0,4139	0,1448	0,1266
680	0,1506	0,1906	0,2479	0,1616	0,4467	0,4845	0,1716	0,1529
710	0,1777	0,2218	0,2925	0,1920	0,5184	0,5499	0,1989	0,1803

Çizelge 5.68 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri (Devam)

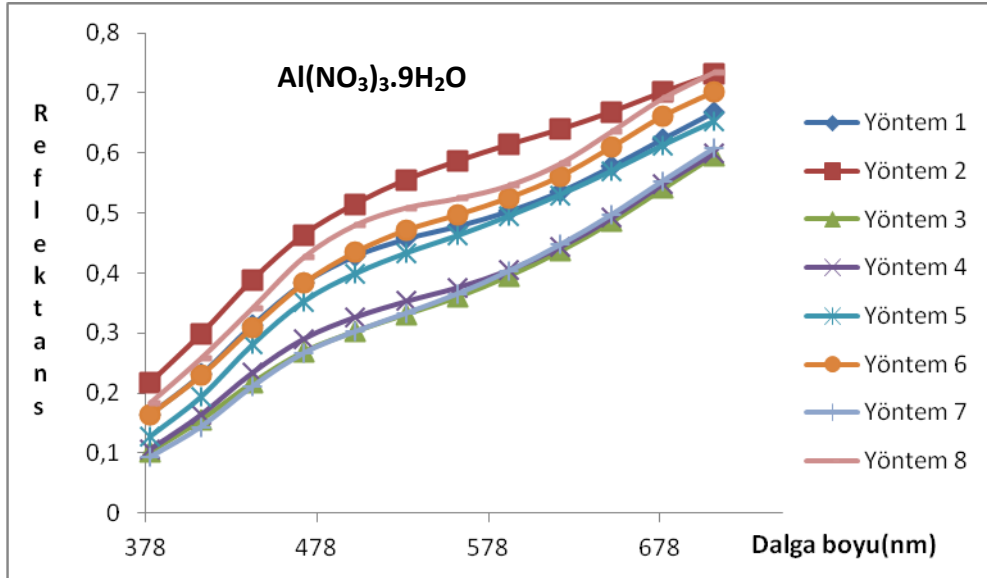
Boyama Yöntemleri	MgCl ₂ .6H ₂ O 1.Yöntem	MgCl ₂ .6H ₂ O 2.Yöntem	MgCl ₂ .6H ₂ O 3.Yöntem	MgCl ₂ .6H ₂ O 4.Yöntem	MgCl ₂ .6H ₂ O 5.Yöntem	MgCl ₂ .6H ₂ O 6.Yöntem	MgCl ₂ .6H ₂ O 7.Yöntem	MgCl ₂ .6H ₂ O 8.Yöntem
Dalga Boyu (nm)	380	0,1040	0,1161	0,1212	0,1190	0,0957	0,1526	0,0959
	410	0,1767	0,2072	0,1926	0,1839	0,1680	0,2446	0,1364
	440	0,2408	0,2894	0,2749	0,2681	0,2299	0,3303	0,1781
	470	0,2811	0,3428	0,3300	0,3259	0,2680	0,3867	0,2163
	500	0,3062	0,3766	0,3653	0,3604	0,2925	0,4243	0,2534
	530	0,3287	0,4055	0,3962	0,3897	0,3150	0,4553	0,2910
	560	0,3561	0,4392	0,4291	0,4205	0,3429	0,4875	0,3257
	590	0,3955	0,4850	0,4710	0,4600	0,3833	0,5292	0,3566
620	0,4448	0,5378	0,5189	0,5055	0,4340	0,5743	0,3815	
650	0,5007	0,5932	0,5708	0,5564	0,4927	0,6205	0,4016	0,6172
680	0,5648	0,6502	0,6263	0,6115	0,5568	0,6664	0,4158	0,6720
710	0,6243	0,6984	0,6757	0,6609	0,6176	0,7036	0,4208	0,7183

Çizelge 5.68 pH 4 tampon çözeltisi ile 8 farklı mordan kullanılarak yapılan boyamaların reflektans değerleri (Devam)

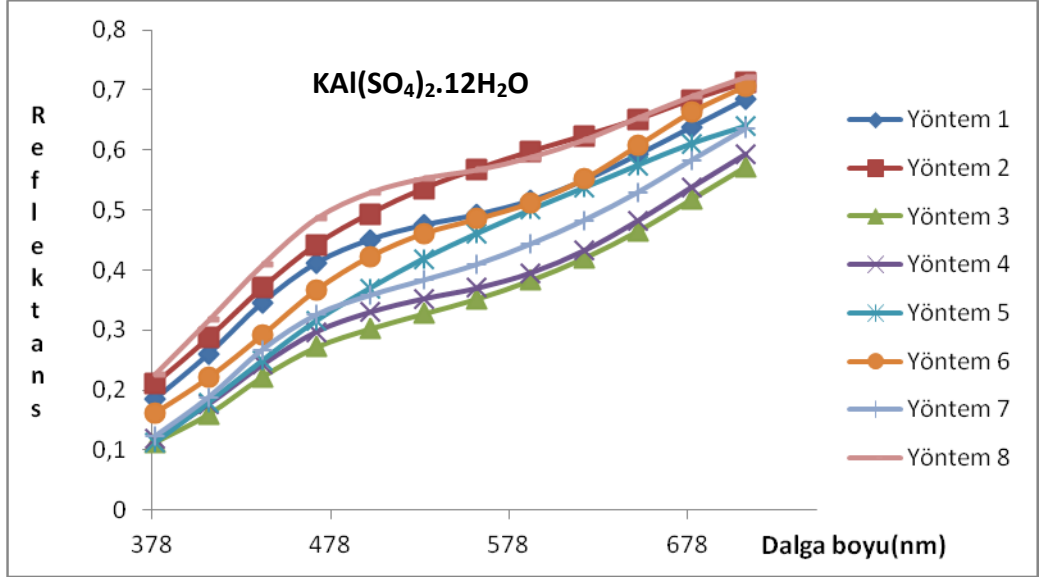
Boyama Yöntemleri	FeSO ₄ .7H ₂ O 1.Yöntem	FeSO ₄ .7H ₂ O 2.Yöntem	FeSO ₄ .7H ₂ O 3.Yöntem	FeSO ₄ .7H ₂ O 4.Yöntem	FeSO ₄ .7H ₂ O 5.Yöntem	FeSO ₄ .7H ₂ O 6.Yöntem	FeSO ₄ .7H ₂ O 7.Yöntem	FeSO ₄ .7H ₂ O 8.Yöntem
Dalga Boyu (nm)	380	0,0521	0,0503	0,0279	0,0486	0,0610	0,0504	0,0573
	410	0,0662	0,0627	0,0364	0,0612	0,0814	0,0631	0,0723
	440	0,0774	0,0699	0,0405	0,0724	0,0993	0,0685	0,0833
	470	0,0800	0,0692	0,0416	0,0761	0,1119	0,0682	0,0853
	500	0,0790	0,0665	0,0411	0,0755	0,1191	0,0656	0,0839
	530	0,0779	0,0646	0,0410	0,0762	0,1273	0,0646	0,0827
	560	0,0778	0,0640	0,0417	0,0788	0,1367	0,0661	0,0826
	590	0,0803	0,0660	0,0444	0,0849	0,1483	0,0710	0,0856
620	0,0858	0,0704	0,0488	0,0942	0,1594	0,0788	0,0916	
650	0,0947	0,0778	0,0558	0,1077	0,1734	0,0898	0,1014	
680	0,1073	0,0882	0,0654	0,1259	0,1912	0,1041	0,1151	
710	0,1240	0,1020	0,0785	0,1502	0,2138	0,1216	0,1328	



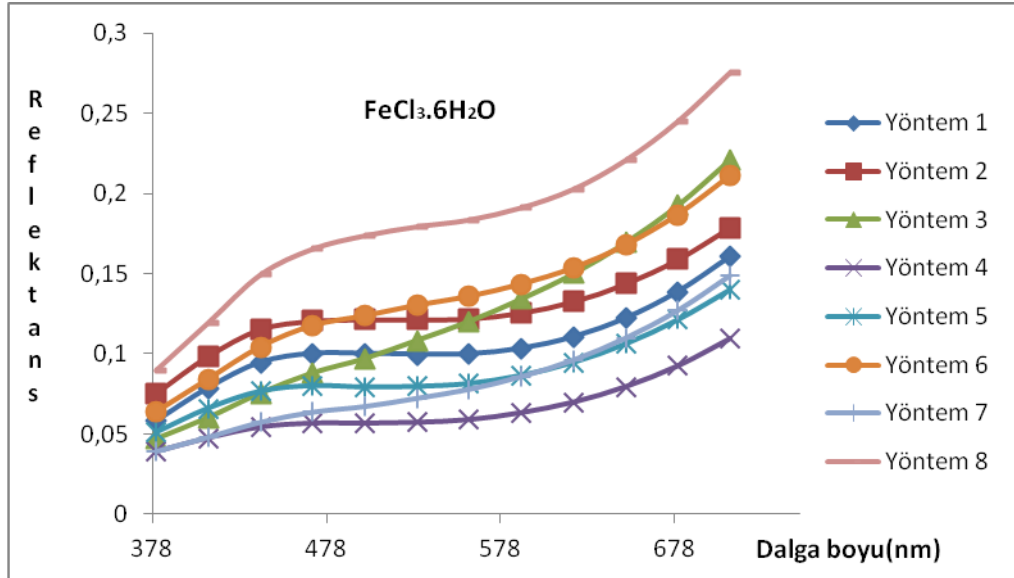
Şekil 5.50 pH: 4 tampon çözeltisi ile K₂Cr₂O₇ mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği



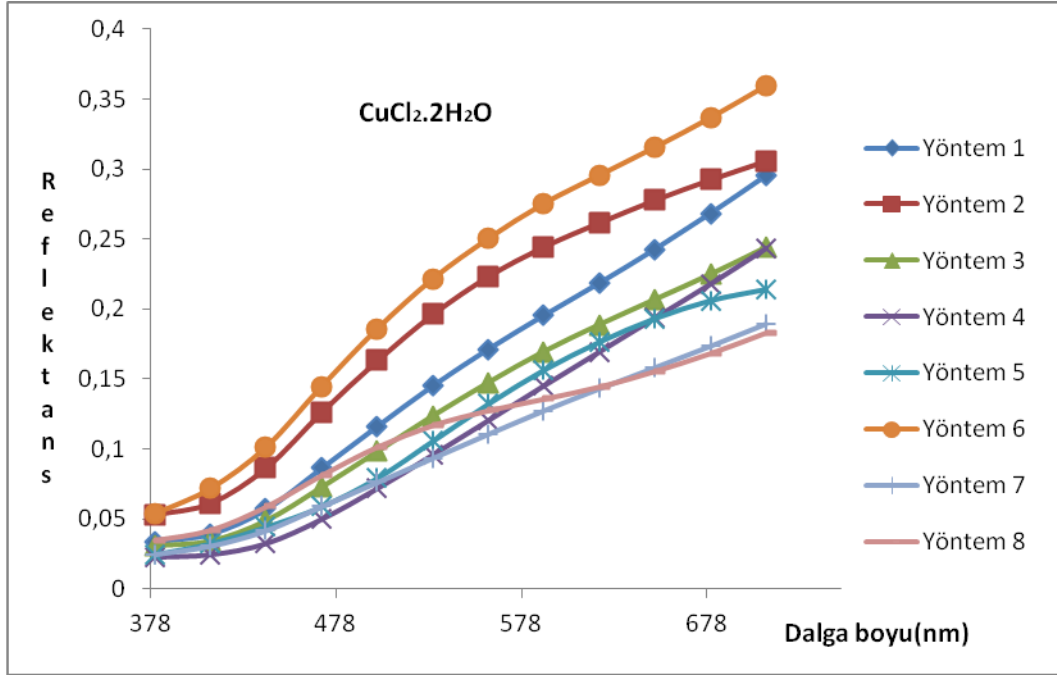
Şekil 5.51 pH: 4 tampon çözeltisi ile Al(NO₃)₃.9H₂O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği



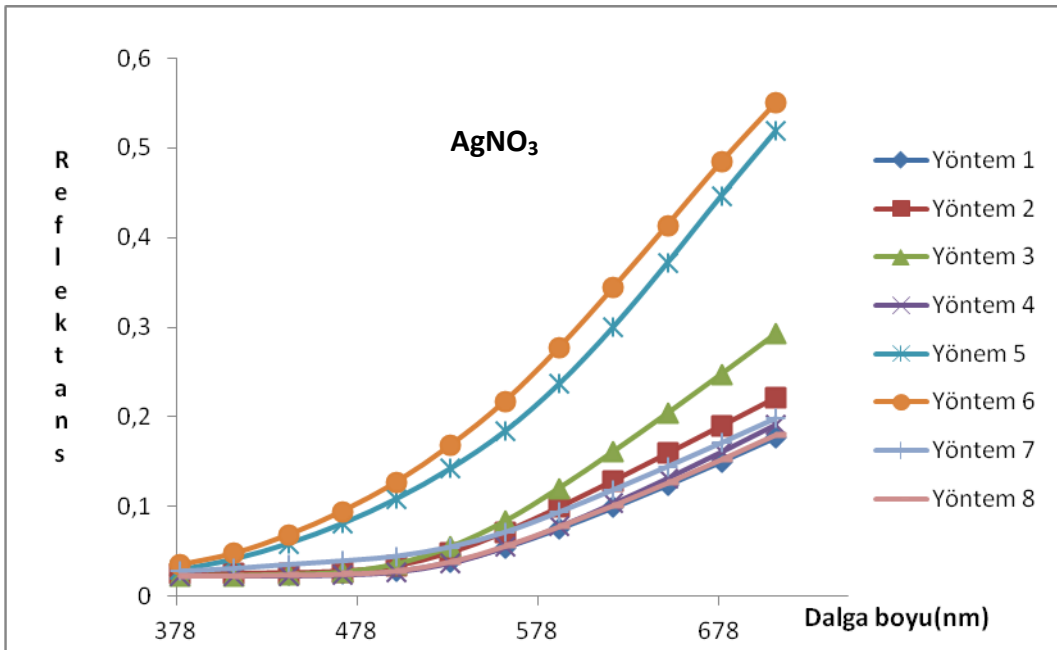
Şekil 5.52 pH: 4 tampon çözeltisi ile KAl(SO₄)₂.12H₂O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği



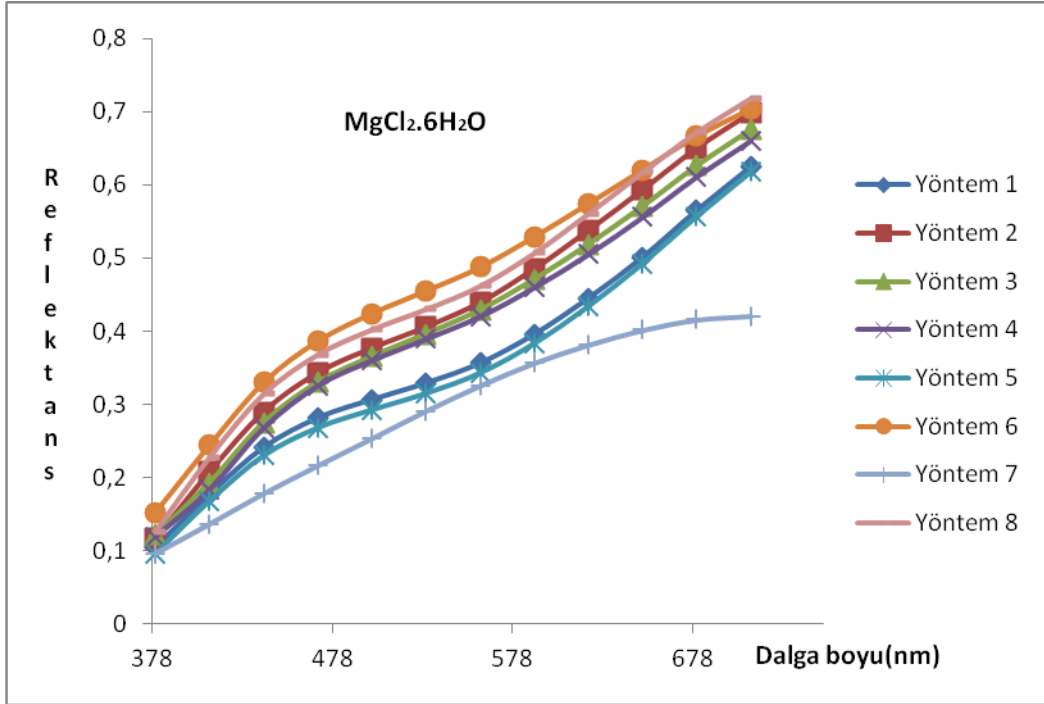
Şekil 5.53 pH: 4 tampon çözeltisi ile FeCl₃.6H₂O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği



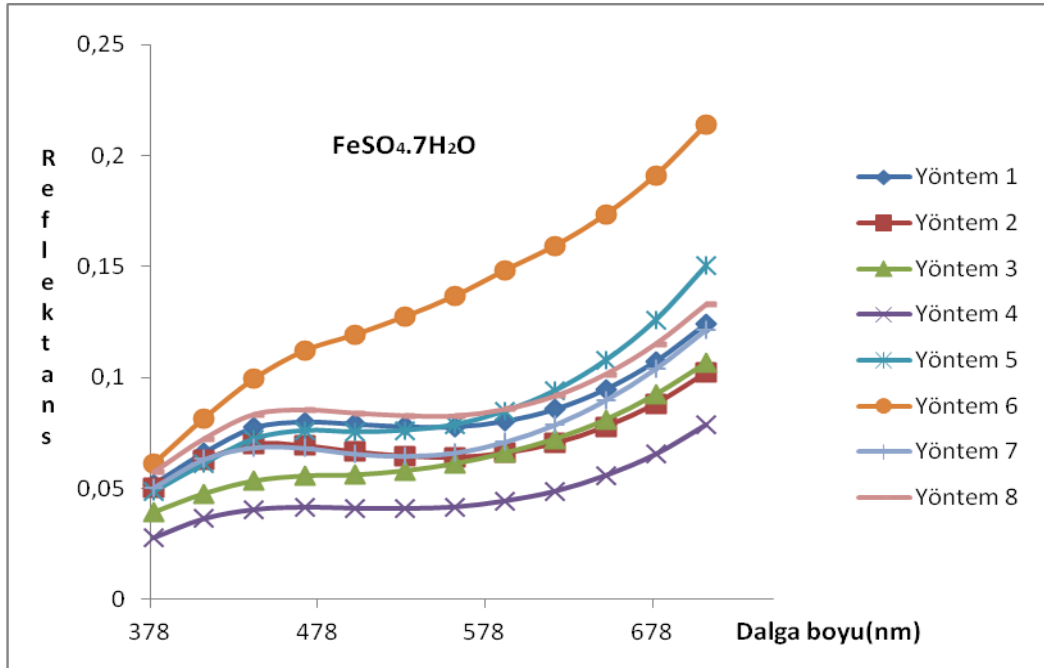
Şekil 5.54 pH: 4 tampon çözeltisi ile CuCl₂.2H₂O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği



Şekil 5.55 pH: 4 tampon çözeltisi ile AgNO₃ mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği



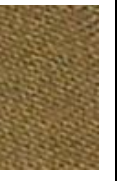





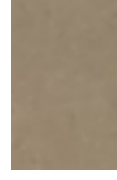

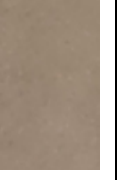














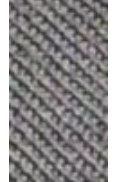
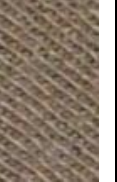







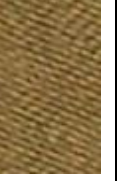

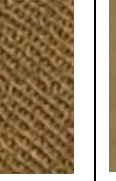

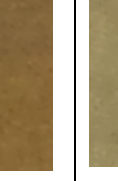
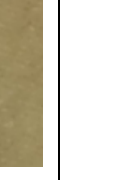

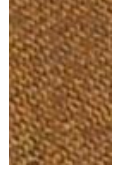












Şekil 5.56 pH: 4 tampon çözeltisi ile MgCl₂.6H₂O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği



Şekil 5.57 pH: 4 tampon çözeltisi ile FeSO₄.7H₂O mordan tuzu kullanılarak yapılan boyamaların reflektans grafiği

Çizelge 5.69 Değişik mordanlar kullanılarak 10 farklı yöntemle boyanmış yünlü kumaş parçacıkları

Mordan Türleri ve Boyama Yöntemleri	pH=4							
	1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem
$K_2Cr_2O_7$								
$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$								
$KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$								
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$								
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$								
$AgNO_3$								

Mordan Türleri ve Boyama Yöntemleri	pH=4							
	1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem
MgCl ₂ .6H ₂ O								
FeSO ₄ .7H ₂ O								

pH=4	
9.Yöntem	10.Yöntem
	

Çizelge 5.70 Değişik mordanlar kullanılarak 10 farklı yöneme göre boyanmış yünü kumaş parçacıklarının ΔE renk farklılığı değerleri

	Mordan Türleri ve Boyama Yöntemleri	ΔE Renk Farklılıkları							
		1.Yöntem	2.Yöntem	3.Yöntem	4.Yöntem	5.Yöntem	6.Yöntem	7.Yöntem	8.Yöntem
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$		39,02	43,12	44,28	48,42	39,01	29,68	44,39	39,86
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		5,91	2,23	1,41	1,00	5,47	4,58	8,30	3,60
AgNO_3		43,43	40,13	38,64	43,24	26,08	27,00	39,00	40,00
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		23,79	19,94	26,26	31,08	30,09	19,44	31,40	29,27
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		39,03	32,38	30,61	44,64	37,17	29,98	37,65	23,89
$\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$		8,24	10,95	5,47	4,35	5,74	7,68	2,23	11,18
$\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$		6,00	11,44	5,09	3,74	5,74	7,07	3,00	8,77
$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$		13,74	7,28	23,79	24,71	15,33	10,95	26,25	9,64

KAYNAKLAR

- [1] ALTUĞ T. ve ELMACI Y., (2001). Tatlandırıcılar 'T. ALTUĞ (Editör) Gıda Katkı Maddeleri' Meta Basım, Bornova, İzmir. 209-232.
- [2] Yaman, M., (1996). Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boyaların Miktarlarının Araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [3] Saldamlı, İ., (1998). Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Ankara, 489-495.
- [4] Chandrasekhar J., Madhusudhan M.C. ve Raghavarao K.S.M.S., (2012). "Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption". Food and Bioproducts Processing, 90: 615–623.
- [5] Araceli Castaneda-O., Ma. de Lourdes Pacheco-H., Ma. Elena Paez-H., Jose A. R. ve Carlos Andres Galan-V., (2009). "Chemical studies of anthocyanins: A review". Food Chemistry, 113: 859–871.
- [6] Rodrigo N. C., Diego T. S.ve Maria Angela A. M., (2011). "Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—Anoverview", 44: 499-509.
- [7] Durmuşkahya, C., (2006), "Doğadan Gelen Renkler",Tübitak, Bilim Teknik Dergisi, Temmuz-2006.
- [8] Lee, J., (2005). "Ideal Dyes Come Straight from Natura", Science of Natural Dyes, 19-2.
- [9] Gümrükçü, G., (2003). Kırmızı Soğan Kabuğundan Ekstrakte Edilen Antosiyanin ile Yünlü Kumaşların Boyanması, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [10] Jackman, R. L., ve Smith, J. L., (1992). "Anthocyanins and betalains". In G.A. F. Hendry & J. D. Houghton (Eds.), Natural food colorants (pp. 183–241). London: Blackie and Son Ltd.
- [11] Mazza, G. ve Brouillard, R., (1987). "Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products". Food Chem. 25: 207-225.

- [12] Mazza, G. ve Miniati, E., (1993). "Anthocyanins in fruits, vegetables and grains CRC Press Inc. p: 362", Boca Raton, Florida.
- [13] Kong, J-M., Chia, L-S., Goh, N-K., Chia, T-F. ve Brouillard, R., (2003). "Analysis and biological activities of anthocyanins". *Phytochem.* 64: 923-933.
- [14] GIUIUSTI, M.M. VE WROLSTAD, R.E., (2003). "Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems". *Biochem. Eng. J.* 14(3): 217-225.
- [15] Kırca, A., (2004). Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
- [16] Henry, B.S., (1992). "Natural food colours". In *Natural Food Colorants*, G.A.F. Hendry and J.D. Houghton (Eds.), Blackie and Son Ltd., pp: 39-78, New York.
- [17] Cemeroğlu, B., Yemencioğlu, A. ve Özkan, M., (2001). "Meyve ve Sebzelerin Bileşimi Soğukta Depolanmaları", Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 24, Ankara. 328 s.
- [18] Bridle, P. ve Timberlake, C.F., (1997). "Anthocyanins as natural food colours—selected aspects". *Food Chem.* 58: 103-109.
- [19] Espin, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J. ve Garcia-Viguera, C., (2000). "Anthocyanin based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff". *J.Agric. Food Chem.* 48: 1588-1592.
- [20] Palamidis, N. ve Markakis, P., (1975). "Stability of grape anthocyanin carbonate beverage". *J. Food Sci.* 40: 1047-1049.
- [21] Calvi, J.P. ve Francis, F.J., (1978). "Stability of Concord grape (*V. Labrusca*) anthocyanins in model systems". *J. Food Sci.* 43: 1448-1456.
- [22] Bassa, I.A. ve Francis, F.J., (1987). "Stability of anthocyanins from sweet potatoes in a model beverage". *J. Food Sci.* 52: 1753-1754.
- [23] Giusti, M.M. ve Wrolstad, R.E., (1996). "Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for Maraschino cherries". *J. Food Sci.* 61: 688-694.
- [24] Rodriguez-Saona, L.E., Giusti, M.M. ve Wrolstad, R.E., (1999). "Color and pigment stability of red radish and red-fleshed potato anthocyanins in juice model systems". *J.Food Sci.* 64: 451-456.
- [25] Shi, Z., Francis, F.J. ve Daun, H., (1992b). "Quantitative comparison of the stability of anthocyanins from Brassica oleracea and Tradescantia pallida in non-sugar drink model and protein model systems". *J. Food Sci.* 57: 768-770.
- [26] Dyrby, M., Westergaard, N. ve Stapelfeldt, H., (2001). "Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems". *Food Chem.* 72: 431-437.
- [27] Cevallos-Casals, B.A. ve Cisneros-Zevallos, L., (2004). "Stability of anthocyanin based aqueous extracts of andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants". *Food Chem.* 86: 69-77.

- [28] Plocharski, W. ve Zbroszczyk, J., (1992). "Aronia fruit (*Aronia melanocarpa, elliot*) as a natural source for anthocyanin colorants". *Fruit Processing*. 2: 85-89.
- [29] Garzon, G.A. ve Wrolstad, R.E., (2002). "Comparision of the stability of pelargonidinbased anthocyanins in strawberry juice and concentrate". *J. Food Sci.* 67: 1288- 1299.
- [30] Inami, O., Tamura, I., Kikuzaki, H. ve Nakatani, N., 1996. "Stability of anthocyanins of *Sambucus canadensis* and *Sambucus nigra*". *J. Agric. Food Chem.* 44: 3090- 3096.
- [31] Francis, F.J., (1985). "Blueberries as a colorant ingredient in food products". *J. Food Sci.* 50: 754-756.
- [32] Hendry, G.A.F. ve Houghton, J.D., (1996). "Natural Food Colorants", 2nd edn. Chapman & Hall, London.
- [33] Stintzing, F.C ve Carle, R., (2004). "Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition". *Trends Food Sci. Technol.* 15: 19-38.
- [34] Belitz, H. D. ve Grosch, W., (1999). *Food chemistry*. Springer-Verlag Heidelberg, 764-781s, Berlin.
- [35] J. P. Van Buren, J. J. Bertino, ve W. B. Robinson, (1968). "The Stability of Wine Anthocyanins on Exposure to Heat and Light Am". *J. Enol. Vitic.* 19: 147-154.
- [36] Adams, J.B., (1972). "Changes in The Polyphenols of Red Fruits During Processing-The Kinetics and Mechanism of Anthocyanin Degradation". *Campden Food Pres. Res. Assoc., Chipping Campden, Glos. Tech. Bull.* P.2
- [37] Havlikova, L. ve Mikova, K.Z.,(1985). *Lebensin. U. Forsch.*, 181: 427-432.
- [38] Rommel, A., Wrolstad, R.E. ve Heatherbell, D.A., (1992). *J. Food Sci.*, 57: 385-391.
- [39] Withy, L.M., Nguyen, T. T., Wrolstad, R.E. ve Heatherbell, D.A., (1993). "Storage changes in anthocyanin content of red raspberry juice concentrate". *J. Food Sci.* 58: 190-192.
- [40] Marti, N., Perez-Vicente, A. ve Garcia-Viguera, C., (2001). "Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice". *J. Sci. Food Agric.* 82: 217-221.
- [41] Chaovanalikit, A. ve Wrolstad, R.E., (2004). "Total anthocyanins and total phenolics of resh and processed cherries and their antioxidant properties". *J. Food Sci.* 69: 67-72.
- [42] Keith, E. S. ve Powers, J. J. (1965). *J. Agric. Food Chem.*, 13: 577-579.
- [43] Yoshida, K., Kondo, T., Kameda, K. ve Gioto, T., (1990). *Agric. Biol. Chem.*, 54: 1745-1751.

- [44] Furtado, P., Figueiredo, P., Chaves Des N., C. ve Pina, F., (1993). J. Photochem. Photobiol. A. Chem., 75: 113-118.
- [45] Macorone, E., Ferrigno, V., Longo, L. L. ve Rapisarda, P., (1987). Chim., 77: 499-508.
- [46] Siddiq, M., Arnold, J. F., Sinha, N. K. ve Cash, J. N., (1994). J. Food Process. Pres., 18: 75-84.
- [47] Wrolstad, R. E., Skrede, G., Lea, P. ve Enersen, G., (1990). J. Food Sci., 55: 1064-1065, 1072.
- [48] Bronnum-Hansen, K. ve Flink, J. M., (1985). J. Food Technol., 20: 725-733.
- [49] Calvi, J.P. ve Francis, F.J., (1978). J. Food Chem., 40: 1341-1345.
- [50] Jackman, R. L., ve Smith, J. L., (1992). "Anthocyanins and betalains. In G.A. F. Hendry & J. D. Houghton (Eds.), Natural food colorants (pp. 183-241)". London: Blackie and Son Ltd.
- [51] Timberlake, C.F. ve Bridle, F., (1980). "Developments of Food Colours". Applied Science Publishers London UK.
- [52] Jackman, R. L., Yada, R. Y., ve Tung, M. A., (1987). "A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis". Journal of Food Biochemistry, 11: 279-308.
- [53] Uysal, V., (2000). Kara havuçtaki renk maddelerinin (Antosiyanin) ekstraksiyonu ve özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir. Tez 71 s.
- [54] Takeoka, G.R., Dao, L.T., Full, G.H., Wong, R.Y., ve Harden, L.A., (2007). "Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins". J Agric Food Chem 45: 3395-3400.
- [55] Harborne, J. B., (1984). Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis, 2nd edn. Chapman & Hall, London.
- [56] Francis, F. J., (1982). In Anthocyanins as Food Colors (P. Markakis, ed.), Academic Press, New York Chapter 3.
- [57] Moore, A. B., Francis, F. J. ve Jason, M. E., (1982). J. Food Protect., 45: 590-593.
- [58] Lowry, J. B. ve Chew, L., (1974). Econ. Bot., 28: 61-62.
- [59] Artık Nevzat, Bilimsel araştırma projesi, (2007). "Türkiye'deki başlıca incir çeşitlerinin karotenoid ve antosiyanin içerikleri ve kurutma prosesinde değişimi", T.C. Ankara Üniversitesi, Ankara.
- [60] Davies, A. J. ve Mazza, G., (1992). J. Agric. Food Chem., 40: 1341-1345.
- [61] Kim, J. H., Nonaka, G. L., Fujieda, K. ve Uemoto, S., (1989). Phytochem., 28: 1503.
- [62] Oszmianski, J. ve Sapis, J. C., (1988). J. Food Sci., 53: 1241-1242.

- [63] Lasagabaster, A., Martin, C. ve Goni, M. M., (1994). *J. Chem. Tech. Biotech.*, 60: 397- 403.
- [64] Hong, V. Ve Wrolstad, R. E., (1990). *J. Agric. Food Chem.*, 38: 698-708.
- [65] Cemeroğlu, B., (2007). "Gıda Analizleri", Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları Ankara.
- [66] Ribereau-Gayon, P. R. ve Josien, M. L., (1960). *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 934-937.
- [67] Strack, D. ve Wray, V., (1989). In *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 1 (J. B. Harborne, ed.), Academic Press, London.
- [68] Hoshino, T., (1986). *Phytochem.*, 23: 829-832.
- [69] Takura, H., Kumaoka, Y. ve Sugisawa, H., (1989). *Agric. Biol. Chem.*, 53: 1969-1970.
- [70] Baublis, A. J. ve Berber-Jimenez, M. D., (1995). *J. Agric. Food Chem.*, 43: 640-646.
- [71] Pellegrino, F., Sekular, P. ve Alfano, R. R., (1981). *Photobiochem. Photobiophys.*, 2: 15-20.
- [72] Shewfelt, R. L. ve Ahmed, E. M., (1978). *J. Food Sci.*, 43: 435-438.
- [73] Wrolstad, R. E., (1976). "Color and Pigment Analysis in Fruit Products". *Bull. 624. Oregon Agric. Ep. St., Corvallis.*
- [74] Somers, T. C., (1971). *Phytochem.*, 10: 2175-2186.
- [75] Lin, M., Shi, Z. ve Francis, F. J., (1992). *J. Food Sci.*, 57: 766-767.
- [76] J. C. Rivas – G., J. C. Rivas-G., Y. Gutierrez, E. Hebrero ve C. Santos-Buelga (1992). "Comparisons of methods for the determination of anthocyanins in Red Wines". *Am. J. Enol. Vitic.* 43: 210-214.
- [77] Üstün Özgür, M., Şakar, D., Keser, G. ve Gümrükçü, G., (2008). "Determination of anthocyanins in some vegetables and fruits by derivative spectrophotometric method".
- [78] Ronald E. Wrolstad (2008). "Color and pigment analyses in fruit products".
- [79] Juming L., Christopher R., Ronald E. Wrolstad (2008). "Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods". *Food Chemistry*, 110: 782-786.
- [80] Pranathi P. P., (2011). "Rapid determination of Anthocyanins in Bilberries".
- [81] *J. Agric. (2006). Food Chem.*, 52.
- [82] Youngmok Kim-Daniel J., (2009). "Determination of anthocyanin content in purple corn cob and kernel and Development of efficient separation method".
- [83] Cristina G. G., Emilie D., Sandrine Z., Claire E., (2012). "Sweet cherries anthocyanins: An environmental friendly extraction and purification method". *Separation and Purification Technology* 100: 51–58.

- [84] Dias, A.L.S., Rozet, E., Chataigné, G., Oliveira, A.C., Rabelo, C.A.S., Hubert, Ph., Rogez, H. ve Quetin-Leclercq, J., (2012). "A rapid validated UHPLC–PDA method for anthocyanins quantification from *Euterpe oleracea* fruits". *Journal of Chromatography B*, 907: 108– 116.
- [85] Aybastier, O., Isık, E., Sahin, S. ve Demir, C., (2013). "Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from blackberry leaves using response surface methodology". *Industrial Crops and Products*, 44: 558– 565.
- [86] Jason, L. M., Raymond Y., J. Christopher Y., Judith N. S. ve Rong, T., (2007). "Improved high performance liquid chromatographic separation of anthocyanin compounds from grapes using a novel mixed-mode ion-exchange reversed-phase column". *Journal of Chromatography A*, 1148: 38–45.
- [87] Kerio, L.C., Wachira, F.N., Wanyoka, J.K. ve Rotich, M.K., (2012). "Characterization of anthocyanins in Kenyan teas: Extraction and identification". *Food Chemistry*, 131: 31-38.
- [88] Fa' tima, L. da S., Maria, T. E. B., Jose, J. P. A., Julian, Gonzalo, C. R., Celestino S. B., (2007). "Anthocyanin pigments in strawberry". *LWT*, 40: 374–382.
- [89] Giusti, M.M., Rodriguez-Saona, L.E. ve Wrolstad, R.E., (1999). "Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based a anthocyanins". *J. Agric. Food Chem.* 47: 4631-4637.
- [90] Paulo, H. M., Ronei, J. P., Ieda, S. S. ve Romà, T., (2011). "Investigation of the pH effect and UV radiation on kinetic degradation of anthocyanin mixtures extracted from *Hibiscus acetosella*". *Food Chemistry* 125, 1020–1027.
- [91] Jungmin L., Christopher, R., Ronald E. W., (2008). "Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods". *Food Chemistry* 110: 782–786.
- [92] Hongbin Z., Yuzhi, W., Yuxuan, L., Yalin, X. ve Tian, T., (2010). "Analysis of Flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV–Vis Spectrophotometry with Comparative Study on Different Extraction Technologies". *Food Anal. Methods* 3: 90–97.
- [93] Luigi, M., Antonella Cotroneo, Giacinto Errante, Giovanni Dugo ve Paola Dugo (2000). "Determination of anthocyanins in blood orange juices by HPLC analysis". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 23, 191–195.
- [94] Lin, P., Xiaopin, J., Yuzhi, W., Hongbin, Z. ve Qingmei, C., (2010). "Ultrasonically Assisted Extraction of Rutin from *Artemisia selengensis* Turcz: Comparison with Conventional Extraction Techniques". *Food Anal. Methods* 3: 261–268.
- [95] Uysal. P. C. ve Kirca, T. A., (2011). "Effect of UV-C light on anthocyanin content and other quality parameters of pomegranate juice". *Journal of Food Composition and Analysis* 24: 790–795.
- [96] Luigia, L., Anna, S. ve Giuseppe, V., (2007). "Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and

- Rubia peregrina L.". Innovative Food Science and Emerging Technologies 8: 360–364.
- [97] Luigia, L., Giuseppe, V. ve Leonardo, R., (2005). "Identification of Anthocyanins in Rhamnus alaternus L. Berries". J. Agric. Food Chem. 53: 1723-1727.
- [98] Luigia, L. ve Giuseppe, V., (2006). "Extraction and identification of anthocyanins from Smilax aspera L. Berries". Food Chemistry 94: 226–231.
- [99] Lucie, H., Vaclav, R., Barbora, P., Petr, B., Vladimir, H. ve Karel, L., (2010). "Fast profiling of anthocyanins in wine by desorption nano-electrospray ionization mass spectrometry". Journal of Chromatography A, 1217: 4223–4228.
- [100] Pappas, C.S., Takidelli, C., Tsantili, E., Tarantilis, P.A. ve Polissiou, M.G., (2011). "Quantitative determination of anthocyanins in three sweet cherry varieties using diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy". Journal of Food Composition and Analysis 24: 17–21.
- [101] Jin, H. L., Hyeon, J. L. ve Myoung, G. C., (2011). "Anthocyanin compositions and biological activities from the red petals of Korean edible rose (Rosa hybrida cv. Noblered)". Food Chemistry 129: 272–278.
- [102] Oancea, S., Stoia, M. ve Coman, D., (2012). "Effects of extraction conditions on bioactive anthocyanin content of *Vaccinium corymbosum* in the perspective of food applications". Procedia Engineering 42: 489 – 495.
- [103] Diego, T. S., Juliana, Q. A., Marisa, M. B. ve Maria, A. A. M., (2011). "Stabilization of anthocyanin extract from jabuticaba skins by encapsulation using supercritical CO₂ as solvent". Food Research International.
- [104] Memnune Ş., Tuba E., Mustafa Ş., ve Hilal Y., (2012). "The effect of adding sour cherry pulp into yoghurt on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activity during storage". International Journal of Dairy Technology, Vol 65, No 3.
- [105] Kirca, A., Ozkan, M. ve Cemeroglu, B., (2007). "Effect of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins". Food Chemistry, 101: 212–218.
- [106] Rodrigo N. C., Diego, T. S. ve Maria, A. A. M., (2011). "Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview". Food Research International 44: 499–509.
- [107] Melanie, H., Sabine, K., Reinhold, C. ve Dietmar, R. K., (2012). "Evaluation of the effects of different freezing and thawing methods on color, polyphenol and ascorbic acid retention in strawberries (Fragaria×ananassa Duch.)". Food Research International 48: 241–248.
- [108] Araceli, C. O., Ma. de Lourdes, P. H., Ma., Elena P. H., Jose, A. R. ve Carlos Andres, G. V., (2009). "Chemical studies of anthocyanins: A review". Food Chemistry, 113: 859–871.

- [109] Virachnee, L., George, S. ve John, C., (2004). "The Change of Total Anthocyanins in Blueberries and Their Antioxidant Effect After Drying and Freezing". *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5: 248–252.
- [110] Vollmannova, A., T. Toth, D. Urminska, Z. Polakova, M. Timoracka, and E. Margitanova, *Czech Journal of Food Sciences*, 2009. 27(Special Issue): p. S204-S206.
- [111] Jinsong, B., Yizhong, C., Meu, S., Guoyun, W. ve Harold, C., (2005). "Anthocyanins, Flavonols, and Free Radical Scavenging Activity of Chinese Bayberry (*Myrica rubra*) Extracts and Their Color Properties and Stability". *J. Agric. Food Chem.*, 53 : 2327-2332.
- [112] Vasil, S., Dietmar, R. K., Kiril, M., Plamen, M. ve Reinhold, C., (2012). "Antioxidant capacity and colour stability of texture-improved canned strawberries as affected by the addition of rose (*Rosa damascena* Mill.) petal extracts". *Food Research International* 46: 552–556.
- [113] Puspita, S., Christofora, H. W., Dondin, S. ve Unang, S., (2012). "Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins". *Food Chemistry* 132: 1908–1914.
- [114] Cemeroğlu, B., Velioglu, S. ve Işık, S. 1994. "Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate". *J. Food Sci.* 59; 1216-1217.
- [115] Harbourne, N., Jacquier, J. C., Morgan, D. J. ve Lyng, J. G., (2008). "Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods". *J. Food Chem.*, 3: 023.
- [116] Wang, W. D. ve Xu. S. Y. (2007). "Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate". *J. Food Eng.* 82: 271–275.
- [117] Iversen, C.K., (1999). "Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content". *J. Food Sci.* 64: 37-41.
- [118] Garzon, G.A. ve Wrolstad, R.E., (2002). "Comparision of the stability of pelargonidin based anthocyanins in strawberry juice and concentrate". *J. Food Sci.* 67: 1288- 1299.
- [119] Asafi, N. ve Cemeroğlu, B., (2000). "Vişne ve nar suyu, ve konsantratlarında antosiyaninlerin degradasyonu". *Gıda* 25: 407-411.
- [120] Kirca, A. ve Cemeroğlu, B., (2003). "Thermal degradation of blood orange anthocyanins". *Food Chem.* 81: 583-587.
- [121] Maccarone, E., Maccarone, A. ve Rapisarda, P., (1985). "Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice". *J. Food Sci.* 50: 901-904.
- [122] Withy, L.M., Nguyen, T.T., Wrolstad, R.E. ve Heatherbell, D.A., (1993). "Storage changes in anthocyanin content of red raspberry juice concentrate". *J. Food Sci.* 58: 190-192.

- [123] Marti, N., Perez-Vicente, A. ve Garcia-Viguera, C., (2001). "Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice". *J. Sci. Food Agric.* 82: 217-221.
- [124] Chaovanalikit, A. ve Wrolstad, R.E., (2004). "Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties". *J. Food Sci.* 69: 67-72.
- [125] Fossen, T., Cabrita, L. ve Veersen, O.M., (1998). "Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region". *Food Chem.* 63: 435-440.
- [126] Daravingas, G. ve Cain, R.F., (1968). "Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigments in model systems". *J. Food Sci.* 33: 138-142.
- [127] Tanchev, S.S. ve Joncheva, N., (1973). "Kinetics of the thermal degradation of cyanidin-3-rutinoside and peonidin-3-rutinoside". *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* 153: 37- 41.
- [128] Shi, Z., Lin, M. ve Francis, F.J., (1992a). "Stability of anthocyanins from *Tradescantia pallida*". *J. Food Sci.* 57: 758-760, 770.
- [129] Cevallos-Casals, B.A. ve Cisneros-Zevallos, L., (2004). "Stability of anthocyanin-base aqueous extracts of andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants". *Food Chem.* 86: 69-77.
- [130] Debicki-Pospisil, J., Lovric, T. ve Trinajstic, N., (1983). "Anthocyanin degradation in the presence of furfural and 5-hydroxymethylfurfural". *J. Food Sci.* 48: 411- 416.
- [131] Markakis, P., Livingstone, G.E. ve Fellers, C.R., (1957). "Quantitative aspects of strawberry pigment degradation". *Food Res.* 22: 117-130.
- [132] Krifi, B., Chouteau, F., Boudrant, J. ve Metche, M., (2000). "Degradation of anthocyanins from blood orange juices". *Int. J. Food Sci. Technol.* 35: 275-283.
- [133] Zafrilla, P., Valero, A. ve Garcia-Viguera, C., (1998). "Stabilization of strawberry jam colour with natural colourants". *Food Sci. Technol. Int.* 4: 99-105.
- [134] Çalımlı, Bilimsel araştırma projesi, (2003). Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara.
- [135] Öztan T., (2006). Mor havuç kosantresi, şalgam suyu, nar suyu ve nar ekşisi ürünlerinde antioksidan aktivitesi tayini ve fenolik madde profilinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen bilimleri enstitüsü, İstanbul.
- [136] Açıkgozoğlu B., (2008). Antioksidanca zengin nar ve vişne konsantreleri kullanılarak hazırlanan meyveli yoğurtların bazı özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, T.C Selçuk Üniversitesi, Konya.
- [137] Proteggente, A.R., Pannala, A.S., Paganga, G., Buren, L.V., Wagner, E., Wiseman, S. Van de Put, F., Dacombe, C. ve Rice-Evans, C., (2002). "The

- antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition". *Free Radicals Res.* 36: 217-233.
- [138] Horbowicz M., Kosson, R., Grzesiuk, A. ve Debski, H., (2008). "Anthocyanins of fruits and vegetables- their occurrence, analysis and role in human nutrition". *Vegetable Crops Research Bulletin* 68, vol. 68: 5-22.
- [139] Galvano, F., Fauci, L.L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N.C., Tavazzi, B. ve Galvano, G., (2004). "Cyanidins: metabolism and biological properties". *J. Nutr. Biochem.* 15; 2-11.
- [140] Tsuda, T., Ohshima, K., Kawakishi, S. ve Osawa, T., (1994). "Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L.". *J. Agric. Food Chem.* 42: 248-251.
- [141] Wang, H., Cao, G. ve Prior, R.L., (1997). "Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins". *J. Agric. Food Chem.* 45: 304-309.
- [142] Kalt, W., McDonald, J.E. ve Donner, H., (2000). "Anthocyanins, phenolics antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products". *J Food Sci.* 65: 390-393.
- [143] Priscilla C. V., Diego T. S., M. Angela A. M., (2011). "Anthocyanin extraction from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins by different techniques: economic evaluation". *Procedia – Food Science*, 1: 1725-1731.
- [144] Fera, A., Galih N. A., Arini, M., Alia N. F., Sisca U., ve Mimiek, M., (2013). "Extraction and Stability Test of Anthocyanin from Buni Fruits (*Antidesma Bunius* L) as an Alternative Natural and Safe Food Colorants". *J.Food Pharm. Sci.*, 1: 49-53.
- [145] Xianzhe Z., Xiangwen X., Chenghai L., Yu S., Zhen L. ve Haijun L., (2013). "Extraction characteristics and optimal parameters of anthocyanin from blueberry powder under microwave-assisted extraction conditions". *Separation and Purification Technology*, 104: 17–25.
- [146] Farid, C., Zill-e-H. ve Muhammed K. K., (2011). "Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction". *Ultrasonics Sonochemistry*, 18: 813–835.
- [147] Kamaljit, V., Raymond, M., Lloyd, S. ve Darren, B., (2008). "Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review". *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 161–169.
- [148] Carla Da, P., Erica, P. ve Deborha, D., (2013). "Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds". *Ultrasonics Sonochemistry*.
- [149] Oktav, B. M. ve Akar, E., (2012). "Ecological dyeing with some plant pulps on woole yarn and cationized cotton fabric. *Journal of Cleaner Production*", 32: 1-9.

- [150] Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P.J. ve O'Donnell, C.P., (2010). "Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice". *Ultrasonics Sonochemistry*, 17: 598–604.
- [151] Mataix, E. ve Luque de Castro, M.D., (2001). "Determination of anthocyanins in wine based on flow-injection, liquid–solid extraction, continuous evaporation and high-performance liquid chromatography–photometric detection". *Journal of Chromatography A*, 910: 255–263.
- [152] Buchweitz, M., Brauch, J., Carle, R. ve Kammerer, D.R., (2013). "Application of ferric anthocyanin chelates as natural blue food colorants in polysaccharide and gelatin based gels". *Food Research International* 51: 274–282.
- [153] Ashis, K. S. ve Priti, A., (2009). "Application of natural dyes on textiles". *Indian Journal of Fibre and Textile Research Vol. 34*: pp. 384-399.
- [154] Friedman, H., Agami, O., Vinokur, Y., Droby, S., Cohen, L., Refaeli, G., Resnick, N. ve Umiel, N., (2010). "Characterization of yield, sensitivity to *Botrytis cinerea* and antioxidant content of several rose species suitable for edible flowers". *Scientia Horticulturae* 123: 395–401.
- [155] Bochmann, R., (2006). "Tekstil Terbiyesinde Bitkisel Boyalar, Tekstil Maraton" Ocak – Şubat, 56-57.
- [156] Öztürk, İ., (1999). "Doğal Bitkisel Boyalarla Yün Boyama", Dokuz Eylül Yayınları, İzmir.
- [157] Enez, E., (1987). "Doğal Boyamacılık", Marmara Üniversitesi Yayınları, 449, İstanbul.
- [158] <http://tr.wikipedia.org/wiki/G%C3%BC>- 20 Mayıs 2013
- [159] <http://www.yagmurdergisi.com.tr/archives/konu/tanzimat-sonrasi-turk-siirinde-hazreti-peygamber-ve-gul---1-> 20 Mayıs 2013
- [160] Altıntaş, A., (2010). "Bitkilerle Tedavi Sempozyumu", Zeytinburnu Belediyesi, İstanbul.
- [161] Özcan, Y., (1984). *Tekstil Elyaf ve Boyama Tekniği*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 2537, İstanbul.
- [162] Başer, İ., (1992). *Elyaf Bilgisi*, Marmara Üniversitesi Yayınları, 524, İstanbul.
- [163] Tarakçıoğlu, İ., (1977). *Sümerbank Kursu Tekstil Terbiye Notları*, 62-64, İzmir.
- [164] Eyüpoğlu, Ü., (1983). *Doğal Boyalarla Yün Boyama*, Uygulamalı Eğitim Merkezi, İstanbul.
- [165] Önal, A. ve Kepez, M.,(1998). "Determination of Effect of Novel Mordant Mixture (Urea, Ammonia, Calcium Oxalate) on Wool Dyeing", *Application and Resarch Center*, 17/1: 43-52.
- [166] Slabbert, E. ve Biiss, J., (1989), "Antibacterial Activity of Tannic Acid", *Planta Med.*, 62(3):212-216.
- [167] Hernes, P. (1991). *Introduction to tannins and their geochemical potential*, John & Sons, Washington.

- [168] Silanikove, N., Shinder, D. ve Gilboa, N., (1996). "Tannins and Their Effects on Ruminant Degradation", *J. Agric. Food Chem*, 44(10): 3230-3234.
- [169] Zhang, J., Zhang B., Yao, X. ve Song, J., (1995). "Antiviral Activity of Tannin from The Pericarp of Punica Granatum L., Against Genital Herpes Virus in Vitro", *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 20(9):556-558, Ref. C.A. 124:249811v.
- [170] Wenxing, C., Toshiki, K., Kenji H. ve Hirofusa, S., (1995). *Seni Gakkaishi*, 51(4):176-180, Ref. C. A. 123, 201851k.
- [171] Nalankilli, G., (1997). *Text. Dyer Printer*, 30(3):13-15, Ref. C.A. 126, 158653v.
- [172] Chisato, H. Ve Takatoshi, N., (1993) "Dyeing Fibers with Pyoverdin Dyes in Yellow Shades", *Kokai Tokkyo Koho JP*, 93: 873-878, Ref. C.A. 122:242224f.
- [173] Chisato, H.ve Takatoshi, N., (1995). "Vat Dyeing of Textiles in High Color Depth", *Kokai Tokkyo Koho JP*, 34: 392-398, Ref. C.A. 122:242220b.
- [174] Yasushi, S., (1997). *Kokai Tokkyo Koho JP*, 9: 278-291, Ref. C. A. 127, 332745i.
- [175] Woodfolk, J. A., Hayden, M. L. ve Couture, N., (1995), *J. Allergy Clin. Immunol.*, 94(1): 19-26, Ref. C. A. 124: 78915a.
- [176] Bejseuov, K., Doskhozhaev, D. T. ve Ozdoeva, V. L., (1992). *Dzhambulskij Pishchevoj Promyshlennosti*, 16(4): 119-128, Ref. C.A. 119, 252546q.
- [177] Lopez, M., (1991). "Method for Leather Treatment", *Curr. Scie.*, 64(8): 575-579.
- [178] Chen, W., Koyama, T., Hanabusa, K.ve Shirai, H., (1995). "Preparation and Antibacterial Activity of Silk Fibroin Fiber Containing Metal Complexes", *Sen'i Gakkaishi*, 51(4): 176-180, Ref. C.A. 123:201851k.
- [179] Khristov, D. K., (1995). "Spectroscopic Study of The Chemical Mechanism of Black Weighting of Natural Silk", 87: 83-94, Ref C.A. 124: 119969s.
- [180] Miyamatsu, H., Kawai, O. ve Kubo, M., (1991). "Manufacture of Fabrics Dyed with Rehmannia Extracts", *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, 91: 336-340, Ref. C.A. 119: 227967v.
- [181] Miyamatsu, H. ve Kawai, O., (1992). "Manufacture of Antiallergic Antibacterial Fabrics with Sacred Grass Extracts", *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, 92: 358-368, Ref. C.A. 122: 257838n.
- [182] Kaimori, M. ve Sugimoto, T., (1997). "Dyed Wool Fabrics with Fade-out Look and Their Manufacture", *Kokai Tokkyo Koho JP*, 95: 194-220, Ref. C.A. 126: 187322s.
- [183] ALTINIŞIK, M., (2004). *Spektroskopik Analiz Yöntemleri Temel İlkeler*, ADÜTF Biyokimya AD, 2.
- [184] ŞENER, M., (2006). İçme Sularında Kalsiyum ve Magnezyumun Spektrofotometrik Metotla Simultane Tayini Ve Yapay Sınır Agları İle Kemometrik Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, 40 sayfa; Isparta.

- [185] TSUJİ, S., Nakanoi, M., Terada, H., Tamura, Y., & Tonogai, Y. (2005). "Determination and confirmation of five phenolic antioxidants in foods by LC/MS and GC/MS". *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 46(3), 63-71.
- [186] TALSKEY, G., MAYRING, L. ve KREUZER, H., (1978). "High-Resolution, Higher-Order UV/VIS Derivative Spectrophotometry", *Angewandte Chemie*, 17(11): 785- 799.
- [187] AKGÜN, M. K., (2001). Gıda Boyalarının Türev Spektrofotometrik Yöntem ile Tayini, 1Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü Anorganik Kimya Dalı, İstanbul.
- [188] TOPSOY, H., (1998). Ankara Piyasasında Satılan Bazı Şeker ve Şekerli Gıda maddelerine Katılan Gıda Boyalarının Türev Spektroskopik Yöntemi ile Kantitatif Tayini, Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Ankara.
- [189] CHADBURN, B.P., (1982). "Derivative Spectroscopy in the Laboratory – Advantages and Trading Rules", *Analytical Communications*, 42-43.
- [190] OJEDA, C.B., ROJAS, F.S., CANO PAVON, J.M., 1995, "Recent developments in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry (Review)", *Talanta*, 42, 1195-1214.
- [191] HUSSEIN G. ve Peter, A., (2005). "Simultaneous Determination of Sudan Dyes and Carotenoids in Red Pepper and Tomato Products by HPLC" *Journal of Chromatographic Science*, 43 (91): 461-465.
- [192] Özen, G., (2008). Siyah Havuç Suyu Konsantresinin Türk Lokumunda Renklendirici Olarak Kullanılması ve Depolama Stabilitésinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Konya Selçuk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Konya.
- [193] Jungmin Lee, Robert W. Durst ve Ronald E. Wrolstad (2005). "Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH-Differential Method: Collaborative Study", *JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 88: NO. 5*.
- [194] Lee, J., & Finn, C. E., (2007). "Anthocyanins and other polyphenolics in American elderberry (*Sambucus canadensis*) and European elderberry (*S. nigra*) cultivars". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 2665–2675.
- [195] Öner, E., (2001), *Tekstil Endüstrisinde Renk Ölçümü*, Marmara Üniversitesi Yayınları. 672, İstanbul.
- [196] Gültekin, C., (2003), "Terbiye İşletmelerinde İşlem Gören Tekstil Ürünleri ile İlgili Testler", 54-55, *Tekstil Terbiye İşletmeleri Boyama ve Kimya Laboratuvarları El Kitabı*.
- [197] <http://konfeksiyon.blogcu.com/hasliklar/1639286-20> Mayıs 2013
- [198] Akdağ İ., (2006). 'ISO 17025 Laboratuvar Akreditasyonu Teknik Kriterleri'
- [199] Renklendiriciler, www.kimyaevi.org, 20 Nisan 2012 .

- [200] ERTAŞ, Ö. ve Kayal, A., (2005). 'Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış' Ankara Ecz. Fak. Derg. 34 (1): 41-57.
- [201] DANIEL C. HARIS, W., H., FREEMAN (2006). Quantitative Chemical Analysis Seventh Edition(Michelson Laboratory, China Lake), 928: (4-7).
- [202] Öğütgen, Z., (2008). Nar kabuğu ile farklı mordanlar kullanarak yünlü kumaş boyama, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü Anorganik Kimya Dalı, İstanbul.
- [203] Vidinel, Y., (2004), Teknoloji Uygulamaları, Bitirme Tezi, Boya- Apre ve Terbiye Laboratuvarı, Marmara Üniversitesi, İstanbul.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Emrah ÇİMEN
Doğum Tarihi ve Yeri : 27.07.1988 Fatih/İSTANBUL
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : cimenemrah@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya	Y.T.Ü.	2013
Lisans	Kimya	Uludağ Üniversitesi	2011
Lise	Fen Bilimleri	Kadriye Moroğlu Y.D.A Lisesi	2006

YAYINLARI

Proje

1. Endüstriyel Atıklardan ve Meyve-Sebzelerden Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri ile

Doğal Boyarmadde Eldesi ve Gıda-Tekstil Alanında Uygulanabilirliği (Proje numarası: 2012-01-02- KAP13) Proje Türü: Kapsamlı Araştırma Projesi

2. Meyve ve Sebzelerden Toplam Antosiyanin Miktarının Spektrofotometrik Yöntemler ve HPLC ile Tayini (Proje numarası: 2012-01-02- GEP03) Proje Türü: Genç Araştırmacıları Destekleme Projesi