

A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Kontrolü ve Hijyen Kürsüsü

Prof. Dr. Lâtif Berkmen

SUDA ERİYEN SENTETİK GIDA BOYALARININ İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ İLE SEPARASYON VE İDANTİFİKASYONU ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Mehmet Aziz Demirer*

Giriş

Son on yıl içinde sentetik organik gıda boyalarının, gıdaları boyamak maksadiyle kullanılmalarının geniş ölçüde artmasına karşılık, zararlı tesirler yapabilecek olanların kontrolü de o nispette önem kazanmıştır.

Bu kontrolün günlük rutin muayenelerimiz arasında sık sık karşımıza çıkması ve bu konu üzerinde memleketimizde yapılmış araştırmaların bulunmaması, bizi bu konuya sevkeden amiller olmuşlardır. Yaptığımız literatür tetkiklerince göre gıda boyaları üzerinde, Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsünde kâğıt kromatografisi ile yapılan tek bir araştırmadan başka, bu metodla yapılmış diğer bir çalışma bulunmadığı gibi, ince tabaka kromatografisiyle yapılmış hiç bir araştırmaya da raslayamadık. İşte bu sebepler dolayısıyla, ince tabaka kromatografisi ile bir çalışma yapmayı uygun bulduk.

Literatür Bilgisi

Gıda boyalarının ince tabaka kromatografisi ile separasyon ve idantifikasyonları sahasında bize temel bilgileri Stahl (9) vermiş bulunuyor. 1953-1956 yılları arasında Mottier ve Potterat (3,4,6), alumin plaklarda gıda boyalarını separe ve idantifiye etmeye çalışıyorlar.

* A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Kontrolü ve Hijyen Kürsüsü Dr. Asistanı.

1962 de Wollenweber (10), Cellulose Pulver MN 300 den elde ettiği ince tabakalarda, Batı Almanya'da müsaade edilen gıda boyalarının teşhisini 3 solvent sistemi (çözücü sistem) kullanarak yapmaya çalışıyor ve R_f değerlerini veriyor.

1963 te Barrett ve Ryam (1), silica gel de 5 solvent kullanarak 15 çeşit gıda boyasının methyl orange'a kıyasla R_{mo} değerlerini tayin ediyor.

Yine 1963 te Ruiz ve Laroche (7), sentetik boya ların kromatografisi için, çeşitli ince tabakalarda, mukayeseli olarak çalışıyorlar ve bu tekniğin kıymeti hakkında fikirlerini beyan ediyorlar.

Randraht (5), kitabındaki geniş bilgilerle bizi, boya ların ince tabaka kromatografisi hakkında aydınlatıyor.

1965'te Dickes (2), iki solvent sistemi kullanarak müsaade edilen 28 ve müsaade edilmeyen 12 boya maddesinin idantifikasyonu için, ince tabaka kromatografisini kullanıyor ve silica gel de tesbit ettiği R_f değerlerini bir cetvel halinde bildiriyor.

1966 da Ruiz (8), kompleks gıdalara karıştırılan sentetik boya ları izole etmeği sağlayan yeni bir tekniği veriyor ve bu boya ların separasyonu için kullanılan ince tabaka kromatografisi hakkında gerekli bilgileri kaydediyor.

Ö z e l B ö l ü m

Çalışmalarımızda başlıca şu üç maksat güdülmüştür:

1- Üzerinde çalışma imkânını bulduğumuz gıda boya larının ve renk gruplarının, silica-gel-G ince tabakalarında en iyi separasyonunu yapabilecek solvent sisteminin (çözücü sistemin) araştırılması;

2- Tecrübeler neticesi tesbit edilecek solvent sistemlerinde, nümune gıda boya larının R_f değerlerinin tesbiti;

3- Nümune boya larının bir takım fiziksel ve kimyasal metotlarla idantifikasyonları,

Materyal ve Metod

Metod olarak ince tabaka kromatografisini kullandık.

Boya nünunelerimizi Ariavit, İcı, Casella Fabbwerk mainkur, Montecatini, Saint clair du Rhone, Acna, Paul Entrop fabrikalarından temin ettik. Bu vesile ile huzurlarımızda bu fabrikalara ve benden hiç bir yardımı esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Lâtif Berkmen

ile Prof. Dr. Zeki Tolgay'a, literatür tetkiklerinde yardımlarını gördüğüm mesai arkadaşlarım Dr. İrfan Tezcan ve Dr. Ahmet Yurtyeri'ye teşekkürlerimi arz etmeyi zevkli bir vazife telakki ederim.

Üzerinde çalıştığımız boya nünuneleri:

Sarı boyalar: Tartrazine, quinoline yellow, fast yellow, chrysoine.

Turuncu boyalar: Orange GGN, sunset yellow FCF.

Kırmızı boyalar: Ponceau 4R, scarlet GN, carmoisine, amaranth, erythrosine, ponceau 6R, ponceau SX, rhodamine B, fast red E, red 2G, ponceau 2R.

Mavi boyalar: Patent bleu V, indigotine, brilliant blue FCF.

Siyah boya: Brillant black.

Kahverengi boya: Brown FK.

Yeşil boya: Green S.

Plakların Hazırlanması

Yayma levhası üzerine, önceden çok temiz ve kuru olarak hazırladığımız 200 × 200 × 4 ebadındaki cam plaklardan 5 adet ve iki ucuna da 50 × 200 × 4 ebadındaki plaklardan birer adet yerleştirdik. Yayıcı aleti (Etaleur, Spraeder Desaga 600) 250 microns ayarladık ve cam plakların bir ucu üzerine koyduk. Adsorbant olarak kullandığımız Silica-Gel G den beş plak için 25 gr tarttık. Bunu 300cm³ lık bir elenmayere koyduk. Üzerine 50 cm³ distile su ilâve edip ağzını bir lâstik tapa ile kapadık. 45 saniye şiddetle çalkaladıktan sonra, cam plakların başlangıcı üzerine koyduğumuz yayıcı aletin içine aktardık. Bunu, cam plakların üzerine yayıcı aletle yaydık ve kurumması için bir gece öylece bıraktık.

Plakların İşlenmesi

Ertesi sabah plakları özel cetveli vasıtasıyla 1 cm aralıklarla çizerek şeritlere ayırdık. Tatbik ve front noktalarını (solventin ulaştığı son nokta) işaretledik. Boya numaralarını, plak numaralarını ve hangi solvent için kullanılacağını kaydederek plakları işledik.

Plakların Aktive Edilmesi

Bu işlediğimiz plakları madeni özel taşıyıcısına yerleştirerek kurutma dolabına koyduk. 110°C de 30 dakika müddetle tutarak aktive ettik. Aktivasyonu müteakip özel desikatöre alarak, aktivasyonlarını

kaybetmeden soğumalarını ve saklanmalarını temin ettik. Aktive plakları aynı gün içinde kullandık.

Boya Nümunelerinin Hazırlanması

Her bir boya nümunesinden 50 mg tarttık. Bunu 5 cm³ distile suda eriterek 1 mm³ ünde 10 gamma boya ihtiva edecek şekilde boyaların sudaki solusyonlarını hazırladık.

Boya Nümunelerinin Tatbik Edilmesi

Bizzat yapmış olduğumuz özel elektrikli ısıtıcı kutu üzerine yerleştirdiğimiz plaklara, boya nümunelerini, plağın alt kenarından 2 cm uzaklıkta önceden işaret ettiğimiz tatbik noktalarına, 2 mm çaplı cam borudan çok ince çkılarak yapılmış pastör pipetleri vasıtasıyla tahminen 5-10 gamma miktarlarında tatbik ettik. Tatbik ettiğimiz yerdeki boya lekesinin çapının 2 mm yi geçmemesine titizlikle dikkat ettik. Bu tatbikati müteakip plakları tekrar özel taşıyıcısına yerleştirerek desikatörde soğumalarını temin ettik.

Solvent Sistemlerinin Hazırlanması

Çözücü sistemlerinin hazırlanması için kullandığımız solventleri distile ederek saflaştırdık. Saf su ihtiyacımız için de bidistile su kullandık.

Denediğimiz Solvent Sistemleri

- 1- Ethyl methyl ketone-pyridine-Acide acétique glacial-Su (70:15:2:15) V/V
- 2- Alcool n-butylique-Alcool n-propylique-0,1 N HCl (1:2:1) V/V
- 3- Alcool éthylique % 77 lik
- 4- Suda % 2,5 citrate de sodium - % 25 NH₃ sol. (80:20) V/V
- 5- Ethyl methyl ketone-acétone-su-NH₃ 0,880 (350:150:150:1) V/V
- 6- Ethyl acétate-Alcool méthylique-5N NH₃ (60:30:10) V/V
- 7- Alcool éthylique % 50 lik ve içinde % 2 NaCl

- 8- Alcool n-butylique-alcool éthylique %95-su (40:30:30) V/V
 9- " " " " " " (1:1:1) V/V
 10- " " " " " " (2:1:1) V/V
 11- " " " " " " NH₃ sol. 0,880-su
 (4:4:1:3) V/V
 12- Acide Phenique-su (75:25) W/W
 13- Alcool éthylique -NH₃ sol. 0,925 (1:1) V/V
 14- Acéton-Alcool n-butylique-N/10-HCl-SU (1: 1: 1: 1) V/V
 15- Su -NH₃ sol. 0,880 (99:1) V/V
 16- Alcool n-butylique -Acide acétique glacial-su (60:20:20)
 W/W
 17- Suda % 2,5 NaCl
 18- Alcool éthylique -1/10 N HCl (1:1) V/V
 19- Alcool éthylique-NH₃ sol. 0,800-su (7:1:1:2) V/V
 20- Suda % 2,5 citrate de sodium
 21- Pyridine-Acide acétique glacial-su (30:10:7) V/V
 22- % 10 NH₃ solüsyonu
 23- Iso-proponol-NH₃ sol. 0,880-su (10:1:1)
 24- Alcool méthylique-su (1:1).

Tecrübeler neticesinde bu 24 adet çözücü sistemler arasından 2,6,10,12 numaralı sistemlerin Silica-Gel-G ince tabakaları üzerinde, bahis mevzuu boyaların en iyi separasyonlarını yaptığını tesbit ederek bunları seçtik ve bu sistemlerde boya nünunelerimizin R_f değerlerini tesbit ettik.

Kromatografi Tankının Doyurulması

Kromatografi tankına 100 cm³ taze hazırlanmış çözücü sistemden koyduk. Kromatografi tankının arka yüzüne tam, ön yüzüne yarım olmak üzere süzgeç kâğıdı koyup bu çözücü sistemle ıslatarak tankın çözücü sistem buharlarıyla iyice doyurulmasını temin ettik.

Developmanın Yapılması (İnkişaf Ettirme)

Nünuneleri tatbik ettiğimiz plakları tanka yerleştirerek kapağını sıkıca örttük ve 25-28°C lik laboratuvarında ascendant (çıkıcı) metotla kromatografiye yaptık.

Tanka koyduğumuz çözücü sistem tatbik noktasından itibaren 10 cm. lik bir mesafeyi katettiği an developmana nihayet verdik ve plakları tanktan çıkardık. Plakları çıkarır çıkarmaz hemen plaklar üzerinde çözücünün front'unu (en son gittiği noktayı) işaretledik ve kurumaları için çeker ocak içine yerleştirdik.

R_f-Değerlerinin Tayini

Bilindiği gibi bir maddenin R_f değeri şöyle ifade edilmektedir:

$$R_f = \frac{\text{Maddenin hareket noktasından itibaren katettiği mesafe}}{\text{Çözücünün hareket noktasından itibaren katettiği mesafe}}$$

Boyalar kromatografiye edildiklerinde; türlerine, çeşitli çözücü ve çözücü sistemlerine ve saflık derecelerine göre, muhtelif şekil ve vaziyette ve muhtelif mevkiilerde bir veya birkaç renkli leke (spot) meydana getirmektedirler. Fot. 1,2,3,4.

Bu lekeler:

- a) Yuvarlak veya oval kompakt lekeler
- b) Yuvarlak veya oval yaygın lekeler
- c) Yarım benzeri lekeler
- d) Huni şeklinde lekeler
- e) Uzun bomba benzeri lekeler
- f) Kuyruklu lekeler
- g) Şerit benzeri lekeler
- h) Tayf benzeri birçok renkte lekeler, şeklinde tezahür etmektedirler.

Lekelerin ölçülmesini şöyle yaptık: Lekenin en kesif noktası ile tatbik noktası arasını ölçerek kaydettik. Şerit benzeri lekelerde ise lekenin başlangıç ve son noktalarını ölçtük. Daha sonra da frontlarını (çözücünün hareket noktasından itibaren katettiği mesafeyi) ölçerek R_f değerlerini hesapladık. Böylece sayısız tecrübeler yaparak hepsinin ortalamasını aldık ve neticeleri R_f × 100 olarak verdik.

Fiziksel ve Kimyasal Muayeneler

Meydana gelen bir lekenin güneş ışığı altında tetkikinden sonra ultra violet ışınları altında fluorescence durumunu kontrol ettik. R_f tayini için ölçüm yaptıktan sonra lekeleri kesif hidroklorik asit, kesif sülfürik asit, % 10 NaOH, % 20 lik SbCl₃, % 0,5 lik FeCl₃, % 10

luk sodyum hipo sülfid, glasial asetik asit ve 0,925 lik amonyak ile muamele ederek husule gelen değışiklikleri tesbit ettik.

Neticeler ve Tartışma

Ruiz ve Laroche (7) bu tekniğin kâğıt ve kolon kromatografilerinin avantajlarını bir araya topladığını, çok hassas olduğunu, her şekilde tatbik edilebildiğini, az bir nümune miktarı ile çalışılabildiğini, developman zamanının kısalığı sebebiyle süratli neticeler elde edilebildiğini; Dickes (2) ise kâğıt kromatografisinin yerine ince tabaka kromatografisinin önem kazandığını daha hassas, daha çabuk ve daha uygun olduğunu, fakat gıda maddelerinde suda eriyen boya maddelerinin analizi üzerinde pek az çalışmalar yapıldığını bildiriyorlar. Biz de tecrübelerimiz neticesi aynı kaniya vararak metodun, separasyonları çok iyi yaptığını, çok daha hassas ve süratli bulunduğunu gördük.

Silica Gel-G ince tabakalarında, nünunelerimizin birbirlerinden separe edilmesi için denediğimiz 24 çözücü sistem arasında 2,6,10,12 numaralı çözücü sistemleri en iyi çözücü sistem olarak tesbit ettik. Fot. 1,2,3,4.

Kalınlığı 0,25 mm olan Silica-Gel-G tabakasında, 25-28°C lik laboratuvar hareketinde 10 cm lik bir front mesafesini 2 numaralı solvent 90 dakikada, 6 numaralı solvent 25 dakikada, 10 ve 12 numaralı solventler ise 80 dakikada katetmektedirler. Ancak bu zamanların laboratuvar hararetiyle çok yakın ilgilileri vardır. Laboratuvar hareketiyle ters orantılı olarak azalır veya çoğalır. Bu çözücü sistemleri kullanarak nümune boyalarımızın R_f değerlerinin tayinlerini yaptık. Bunlara ait elde ettiğimiz değer ile fluorescence analiz ve kimyasal muayene neticelerini aşağıda bildirdik.

Bilindiği gibi, R_f değerleri tayininde birçok faktörler rol oynamaktadır. Bu faktörlere titiz olarak dikkat edildiği hallerde dahi bilinmiyen bazı sebeplerle R_f değerlerinde önemsiz farklılıklar husule gelebilmektedir. Biz, bu farkın \pm % 5 kadar olduğu ve idantifikasyon bakımından fazla bir önemi haiz olmadığı kanısına vardık.

Sarı ve kırmızı boyalar en iyi şekilde 2 ve 10 numaralı solvent sistemlerinde, mavi boyalar da 12 numaralıda separe olmaktadır.

Yaptığımız muayenelere göre 24,26,38,57,13,37,39,62 numaralı boyaların üç, 21 in beş; 64,27,42 nin altı; 35 ve 36 nin on ve diğerlerinin birer komponentten teşkil edildiği neticesine vardık.

Birden fazla komponenti haiz bu boyalardan, chrysoine için 12 numaralı solvent sistemini, carmoisine için 12 ve 6 y1, erythrosine için 6 y1, Ponceau 2 R için 12 y1, patent bleu V, green S ve indigotine için 10 u, brilliant blue FCF için 10,6, ve 12 y1, brilliant black için 2 y1, brown FK için 12 ve 10 u muvafik bulmaktayız.

Fluorescence Analizler

Ultra violet ışınları altında yaptığımız tetkiklerde, carmoisine'nin vişne renkli lekesinde tatlı kırmızı hafif fluorescence, ponceau SX de turuncu fluorescence; rhodamine B de alev rengi çok kuvvetli fluorescence; ponceau 2 R'nin merkezinde hafif kırmızı fluorescence, indigotine'nin 10 numaralı solvent sistemine göre 50 R_f değerli çok açık sarı lekesinde sarı fluorescence ve 63 R_f değerli leke bulunmayan noktasında çok açık pembe fluorescence; brilliant blue FCF'nin 56 R_f değerli leke bulunmayan noktasında çok açık pembe fluorescence; brown FK'nin 58 R_f değerli turuncu renkli lekesinde kanarya sarısı fluorescence; green S'nin 51 R_f değerli noktasında mavi ve 54 R_f değerli sarı lekesinde sarı fluorescence ve erythrosine'de turuncu hafif fluorescence tesbit ettik.

Bundan başka, bütün solvent sistemlerinde birbirine çok yakın R_f değerleri vererek birbirinden tefrik edilemeyen orange GGN ile sunset yellow FCF nin 12 nolu solvent sisteminde kromatografiye edildiklerinde, orange GGN'nin ya hiç veya bazan çok hafif ve turuncu bir fluorescence vermesine mukabil sunset yellow FCF'nin çok daha kuvvetli turuncu bir fluorescence verdiğini müşahade ettik. İşte bu önemli özelliğten istifade ederek bu iki boyayı birbirinden ayırabildik.

Ayrıca tartazine'de koyu sarıya, scarlet GN'de koyu vişneye renk koyulaşması; fast yellow ve chrysoine'da nefsi yeşile, ponceau 4.R'de kahverengiye; carmoisine'nin eflatun renkli komponentinde ve red 2G'de mora; ponceau 2R'de eflatuna; brilliant blue FCF'nin mavi komponentinde pembeye renk değiştirmesi tesbit ettik. Bu renk değiştirmeleri ve renk koyulaştırmaları mat bir şekilde olup her hangi bir fluorescence özelliğe sahip değillerdi. Bunlara mukabil quinoline yellow, amaranth, ponceau 6R, fast red E, patent bleu V ve brilliant black'te hiç bir değişiklik tesbit edemedik.

Şimdi her boyaya ait elde ettiğimiz neticeleri aşağıda kendi bölümünde ayrıntılarıyla sunacağız. Her bölümde verdiğimiz rakamlar sırasıyla 2,6,10,12 numaralı çözücü sistemleriyle elde ettiğimiz R_f değerlerinin, $R_f \times 100$ kıymetleri olup, parantez dışındakiler esas

lekeleri, parantez içindekiler tâli lekeleri işaret etmektedirler. Fluorescence analiz ve kimyasal reaktiflerle muayene bölümlerinde bahsettiğimiz R_f değerleri ile lekeler 10 numaralı çözücü sisteme ait bulunmaktadırlar.

A - SARI BOYALAR

1- TARTRAZİNE (C.İ. 19140)

R_f değerleri: 18;5;34;5. Gün ışığında ilk üçü sarı, sonuncu koyu sarı görünür.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Kimyasal reaktiflerle hiç bir değişikliğe uğramaz.

Fluorescence analizde renk koyulaşması husule getirir.

2- QUİNOLİNE YELLOW (C.İ. 47005)

R_f değerleri: 30;25;43;25, (0 ve 55 çok açık sarı). Esas lekelerin hepsi de gün ışığında kanarya sarısı görülür.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Sülfürik asit ile koyu sarı; sodium hidroksit ile renk koyulaşması verir.

Fluorescence analizlerde hiç bir özellik göstermez.

3- FAST YELLOW (C.İ. 13015)

R_f değerleri: 42;25;47;18. Hepsisi de gün ışığında sarı görünür.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit, sülfürik asit ve nitrik asitle kırmızı; antimuan üç klorür ile vişne rengi renk verir; asetik asit ile evvela turuncu renk verir; zamanla bu renk tekrar sarı olur.

Fluorescence analizde nefsi yeşile renk değiştirmesi görülür.

4- CHRYSOİNE (C.İ. 14270)

R_f değerleri: 61 koyu sarı, (0;4;6 üçü de sarımsak, 22;43 her ikisi de çok açık sarı); 31 koyu sarı, (0 koyu sarı; 10 çok açık sarı; 26 sarı); 61 koyu sarı; (0;12;36;49 çok açık sarı); 36 koyu sarı; (0; 4;9;14;23 hepsi de sarı).

Kimyasal reaktiflerle muayene: Sülfürik asitle renk koyulaşması; sodium hidroksit ile önce kırmızı bir az zaman geçince tekrar koyu sarı olur; diğer reaktiflerle hiç bir değişikliğe uğramaz.

Fluorescence analizde nefsi yeşile renk değiştirmesi görülür.

B - TURUNCU BOYALAR

1- ORANGE GGN (C.İ. 15980)

R_f değerleri: 42;28;48;23. Gün ışığında turuncu renkte görünürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit ile önce kırmızı bir az zaman geçince tekrar turuncu; sülfürik asit ve nitrik asit ile kırmızı; antimuan üç klorür ile önce vişne rengi bir az zaman geçince kırmızı renk husule gelir.

Fluorescence analizde: 12 numaralı solvent sistemiyle kromatografiye edildiğinde yapılan fluorescence analizlerde boya lekeleri ya hiç fluorescence vermezler ve yahut da bazan çok hafif ve turuncu bir fluorescence özellik gösterirler.

2- SUNSET YELLOW FCF (C.I. 15985)

R_f değerleri: 40;26;46;23. Gün ışığı altında hepsi de turuncu renkte görünürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit ile önce kırmızı bir az zaman geçince tekrar turuncu; sülfürik asit ve nitrik asit ile kırmızı; antimuan üç klorür ile önce vişne rengi bir az zaman geçince bu defa kırmızı renk husule gelir.

Fluorescence analizlerde: 12 numaralı solvent sistemiyle kromatografiye edildiğinde yapılan fluorescence analizlerde boya lekeleri turuncu bir fluorescence vermektedirler.

C - KIRMIZI BOYALAR

1- PONCEAU 4R (C.I. 16255)

R_f değerleri: 28 kırmızı; 6 kırmızı; 41 koyu kırmızı; 8 kırmızı.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit ile önce vişne rengi bir az zaman geçince pembe; sülfürik asit ile önce mor bir az zaman geçince pembe; sodyum hidroksit ile renk koyulaşması; antimuan üç klorür, asetik asit ve nitrik asit ile vişne rengi husule getirir.

Fluorescence analizlerde kahverengine renk değişmesi olur.

2- SCARLET GN (C.I. 14815)

R_f değerleri: 50 turuncu; 31 turuncu; 55 sarımtrak vişne; 27 kırmızı.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit ile önce vişne rengi bir az zaman geçince turuncu; sülfürik asit ile önce mor bir az zaman geçince kırmızı; asetik asit ile önce vişne rengi bir az zaman geçince kırmızı; sodyum hidroksit ile sarımtrak kahverengi; antimuan üç klorür ile mor; demir üç klorür ile sarı, amonyak ve nitrik asit ile turuncu renk husule getirir.

Fluorescence analizlerde renk koyulaşması gösterir.

3- CARMOISİNE (C.İ. 14720)

R_f değerleri: 47 kırmızı; (64 eflatun; 85 çok açık pembe); 26 kırmızı, (69 eflatun; 98 çok açık pembe); 53 vişne rengi, (68 eflatun; 90 çok açık pembe); 23 kırmızı, (45 mor; 100 mor).

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit ile önce mor, bir müddet geçtikten sonra vişne rengi; sodium hidroksit, asetik asit, nitrik asit ile vişne rengi husule getirir.

Fluorescence analizlerde esas leke kırmızı fluorescence verir; 68 R_f değerli tali leke mor'a renk değişikliği gösterir.

4- AMARANTH (C.İ. 16185)

R_f değerleri: 0-24 eflatun; 0-10 vişne rengi; 34 eflatun; 9 mor.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Sülfürik asitle önce mor bir müddet geçtikten sonra vişne rengi husule getirir.

Fluorescence analizde hiç bir özellik göstermez.

5- ERYTHROSİNE (C.İ. 45430)

R_f değerleri: 64, (56); 50, (0;36); 67, (59); 38, (30). Esas lekeler gün ışığında pembe, tâli lekeler çok açık pembe gözüktürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit ve demir üç klorür ile turuncu; sülfürik asit ve antimuan üç klorür ile koyu sarı; asetik asit ile çok açık pembe; nitrik asit ile sarı renk verir.

Fluorescence analizde hiç bir özellik göstermez.

6- PONCEAU 6R (C.İ. 16290)

R_f değerleri: 6, (0 kahverengi; 4 kahverengimtrak kırmızı); 0 kırmızı, 1 kırmızı; 22 açık kahve rengi, (41 açık kahve rengi); 0 kahverengi, (6 çok açık pembe).

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit, sodium hipo sülfid ve nitrik asit ile vişne rengi; sülfürik asit ile önce mor zamanla pembe; sodium hidroksit ile kahverengi; demir üç klorür ile önce vişne rengi zamanla sarı renk verir.

Fluorescence analizde hiç bir özellik göstermez.

7- PONCEAU SX (C.İ. 14700)

R_f değerleri: 47 kırmızı; 27 kırmızı; 53 kırmızı; 23 kırmızımtrak turuncu.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Sülfürik asitle renk koyulaşması; sodium hidroksit ve amonyak ile turuncu; antimuan üç klorür ile önce vişne rengi zamanla pembe renk husule getirir.

Fluorescence analizde turuncu fluorescence verir.

8- RHODAMİNE B (C.İ. 45170)

R_f değerleri: 51;57, (0 pembe, 42 pembe); 56; 100. Lekeler gün ışığında parlak pembe renkte gözükürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit, antimuan üç klorür ile renk açılması; sülfürik asit ve nitrik asit ile renksizleşme; sodium hidroksit ile önce vişne rengi zamanla pembe; sodium hipo sülfid ile renk koyulaşması husule getirir.

Fluorescence analizde alev rengi çok kuvvetli fluorescence verir.

9- FAST RED E (C.İ. 16045)

R_f değerleri: 34;30;46;25. Lekeler gün ışığında kahverengimtrak kırmızı renkte gözükürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit ile önce vişne rengi zamanla kahverengi; sülfürik asit, antimuan üç klorür ile mor; asetik asit ile önce vişne rengi zamanla kırmızı; nitrik asit ile vişne rengi renk husule getirir.

Fluorescence analizde hiç bir özellik göstermez.

10- RED 2G (C.İ. 18050)

R_f değerleri: 40, (5;12);25;48;23. Lekeler gün ışığında vişne rengi görünürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Reaktiflerle hiç bir değişikliğe uğramaz.

Fluorescence analizde mor'a renk değişikliği gösterir.

11- PONCEAU 2R (C.İ. 16150)

R_f değerleri: 37, (12;65);14, (70 çok açık pembe); 49, (42;67 çok açık pembe); 20, (0 çok açık pembe, 50 çok açık pembe). Lekeler gün ışığında kırmızı renkte gözükürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Kimyasal reaktiflerle hiç bir değişikliğe uğramaz.

Fluorescence analizde, leke merkezinde kırmızı hafif fluorescence husule gelir ve leke eflatuna renk değişikliği gösterir.

D - MAVİ BOYALAR

1- PATENT BLEU V (C.İ. 42051)

R_f değerleri: 38 mavi, (3;27;55 her üçü de çok açık mavi); 5 koyu mavi, (14 ve kuyruk husule getirir); 43, (35;55 ikisi de çok açık mavi); 52 mavi, (0;30;34 üçü de çok açık mavi, 100 yeşil).

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit, antimuan üç klorür ve nitrik asit ile sarı; sülfürik asit ile renksizleşme; demir üç klorür ve asetik asitle yeşil renk verir.

Fluorescence analizde hiç bir özellik göstermez.

2- İNDİGOTİNE (C.İ. 73015)

R_f değerleri: 0 mavi; 38 mavi; 58 açık sarı, (5 sarı; 10 mavi); 27 mavi; 35 sarı, (0 lacivert; 2 mor); 48 mavi; 58 sarı, (0 çok açık mavi; 10-46 çok açık mavi; 37 çok açık sarı; 47 eflatun; 50 çok açık sarı); 2-19 mavi; 33 sarı, (0 gri; 3 mor).

Kimyasal reaktiflerle muayene: Mavi leke sülfürik asit ile renk koyulaşması; nitrik asit ile renksizleşme; sodium hidroksit ile sarı renk husule getirir.

Fluorescence analizlerde: 50 R_f değerli çok açık sarı lekede sarı fluorescence ve 63 R_f değerli leke bulunmayan bölgede çok açık pembe fluorescence verir.

3- BRILLIANT BLUE FCF (C.İ. 42090)

R_f değerleri: 32 mavi, (41;50;55 üçü de çok açık mavi); 13 koyu mavi, 0 çok açık mavi; 23 ve 29 mavi; 33 ve 36 çok açık mavi); 45 mavi, (36;51;55;57 dördü de çok açık mavi); 39 mavi, (0;23;28; 55;70 hepsi de çok açık mavi).

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit, antimuan üç klorür ve nitrik asit ile sarı; sülfürik asit ile renksizleşme meydana gelir.

Fluorescence analizde: 56 R_f değerli leke bulunmayan bölgede çok açık pembe fluorescence verir; esas mavi leke pembeye renk değişikliği husule getirir.

E - SİYAH BOYALAR

1- BRILLIANT BLACK (C.İ. 28440)

R_f değerleri: 0;5;15. 0;3;25;37. 6. Bütün lekeler gün ışığında mor renkte görünürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: Hidroklorik asit ile yeşil, nitrik asit ile önce mavi zamanla mor renk husule getirir.

Fluorescence analizlerde maviye renk değişikliği gösterir.

F - KAHVERENGİ BOYALAR

1- BROWN FK (C.İ. yok)

R_f değerleri: 48 açık kahverengi; 60 sarı, (0 ve 5 kahverengi; 27 sarı); 0 ve 28 kahverengi; 30 turuncu; 54 koyu sarı, (13 açık kah-

verengi; 24 sarı); 52 sarımtrak kahverengi; 58 turuncu, (0;38;46 üçü de açık kahverengi); 56 ve 66 koyu sarı, (0;7;19 üçü de kahverengi; 22;25 ikisi de sarımtrak kahverengi; 32;43;47 üçü de çok açık sarı).

Kimyasal reaktiflerle muayene: 52 R_f değerli sarımtrak kahverengileke sülfürik asit ile kırmızı, antimuan üç klorür ile kahverengi, 58 R_f değerli turuncu leke antimuan üç klorür ile kahverengi olur.

Fluorescence analizde birinci leke renk koyulaşması, ikinci leke kanarya sarısı fluorescence özellik gösterir.

G - YEŞİL BOYALAR

1- GREEN S (C.İ. 44090)

R_f değerleri: 25 mavi, (0 gri; 33 mavi; 35 sarı; 41 ve 51 mavi; 54 mor); 3 koyu mavi, (0;26;33 üçü de çok açık mavi); 40 koyu mavi, (0 ve 30 gri; 49 koyu mavi; 52 çok açık mavi; 54 sarı; 56 çok açık mavi; 58;60;62 üçü de eflatun); 49 koyu mavi, (0 gri; 17 çok açık sarı; 20 mor; 25 çok açık mavi; 30 mor; 34;39;100 üçü de çok açık mavi renkte görünürler.

Kimyasal reaktiflerle muayene: 40 R_f değerli koyumavi leke HCl, H_2SO_4 , ve $SbCl_3$ ile turuncu, HNO_3 ile önce kahverengi sonra mavi olur.

Fluorescence analizde: 51 R_f değerli leke bulunmayan noktasında mavi, 54 R_f değerli sarı lekesinde sarı fluorescence verir.

Ö z e t

Bu çalışmamızda ince tabaka kromatografisi kullanarak, memleketimizde gıdalara katılmasına müsaade edilen 6 adet, müsaade meyen 17 adet olmak üzere toplam olarak 23 adet gıda boya maddesinin separasyon ve idantifikasyonları üzerinde durduk.

İnce tabakaların hazırlanması için Silica-Gel-G kullandık.

Tetkik ettiğimiz boyalardan orange GGN ve sunset yellow FCF hariç hepsini separe ve idantifiye edebildik. Buna mukabil hiç bir çözücü sistem ile separe edilemeyen orange GGN ile sunset yellow FCF'yi özel bir fluorescence muayene metodu kullanarak idantifiye ettik.

Denediğimiz 24 çözücü sistem arasında 2,6,10,12 numaralı çözücü sistemleri en uygun olarak tesbit ettik ve bu çözücü sistemleriyle, tetkik ettiğimiz boya maddelerinin R_f değerlerini tesbit ettik. Ayrıca husule gelen lekelerin fluorescence analizlerini ve bir takım kimyevi reaktiflerle reaksiyonlarını tetkik ettik.

R é s u m é

Les Séparation et les Indentifications des Colorants Alimentaires par la Méthode de Chromatographie sur Couches Minces

Dans notre travail, on a particulièrement fait porter nos efforts sur les séparations et les identifications de 23 colorants alimentaires six sont autorisé et 17 défendus dans notre pays. Ces colorants sont étudiés par la méthode de chromatographie sur couches minces et celles-ci sont préparées du Kieselgel-G.

Nous avons pu séparer et identifier tous les colorants alimentaires que nous avons étudiés. Nous avons réussi à identifier l'Orange GGN et le Sunset Yellow FCF qui ne peuvent se séparer par aucun solvant, au moyen d'une méthode spécifique d'examen de fluorescence.

Parmi les 24 solvants que nous avons essayés, nous avons constaté que les solvants No. 2,6,10,12 sont les meilleurs pour la séparation des colorants alimentaires sur couches minces qui sont préparées du Kieselgel-G.

On a donné les R_f values qui sont obtenues par ces solvants et les résultats des examens physiques et chimiques à la fin de ce travail.

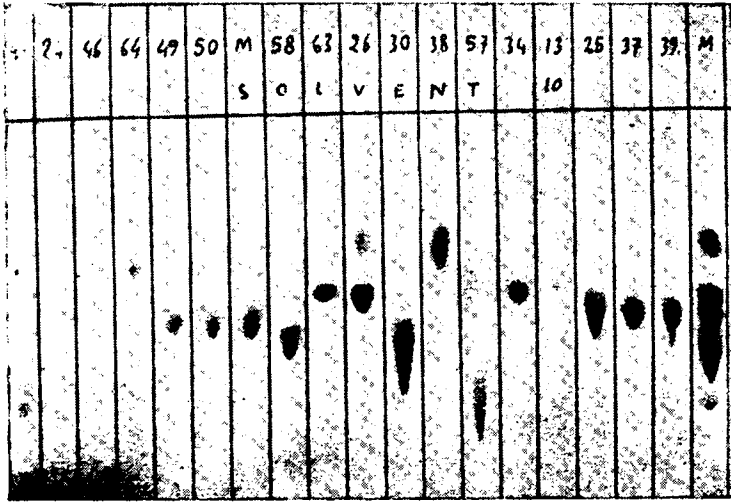
L i t e r a t ü r

- 1 - **Barrett, J. F., Ryan, A. J.** (1963): *Thin-Layer Chromatography of some Food Colours on Silica Gel*, Nature, 199, 372-373.
- 2 - **Dickes, G. J.** (1965): *The separation of Synthetic Water Soluble Colouring Matters by Thin-Layer Chromatography*, J. Assoc. Public Analysts, 3, 49-52.
- 3 - **Mottier, M., Potterat, M.** (1955): *De l'extraction des colorants pour denrées alimentaires et de leur identification par chromatographie sur plaque d'alumine*. Anal. chim. Acta., 13, 1, 46-56.
- 4 - **Mottier, M.** (1956): *Remarques sur l'extraction et la chromatographie sur alumine de divers colorants*. Travaux de Chimie Alimentaire et d'hygiène vol. 47, 372-386.
- 5 - **Randerah, K.** (traduit de l'Allemand) **par Ngeyên-Dâng Tãm** (1964): *Chromatographie sur couches minces*. Gauthier-Villars, Paris.

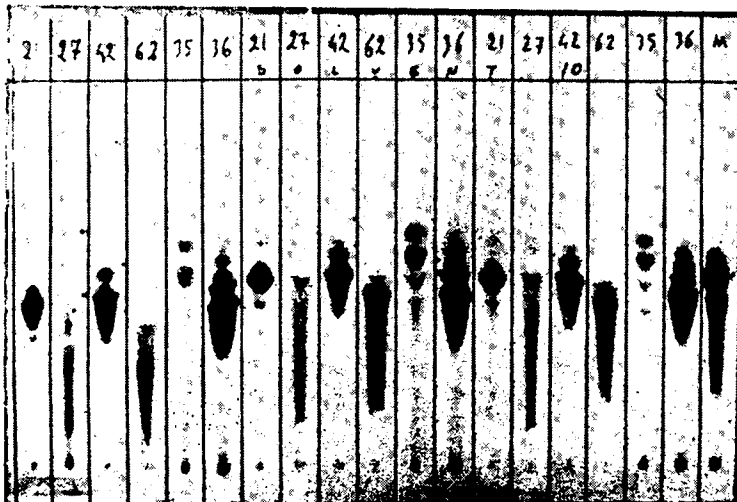
- 6 – **Potterat, M. et Mottier, M.** (1953): *Chromatographie des colorants sur plaques d'alumine*. Travaux de Chimie Alimentaire et d'Hygiène vol. 44, 192-200.
- 7 – **Ruiz, I. S., Laroche, C.** (1963): *La Chromatographie sur couches minces des Colorants Synthétiques*. Bull. Soc. Chim. France. 1594.
- 8 – **Ruiz, I. S. L.** (1966): *Nouvelle Technique permettant d'isoler les colorants synthétiques incorporés aux denrées alimentaires complexes*. Ann. Fals. Exp. chim. 123-144.
- 9 – **Stahl, E.** (1965): *Thin-Layer Chromatography*, Springer-Verlag, Berlin.
- 10 – **Wollenweber, P.** (1962): *Dünnschichtchromatographie Trennungen von Farbstoffen an Cellulose-Schichten*. J. Chromatogr. (amst.) 7, 557-560.

Yazı "Dergi Yazı kuruluna" 2. 11. 1967 günü gelmiştir.

Labo- tuar No	Gıda Boyasının Genel Adı	Labo- tuar No.	Gıda Boyasının Genel Adı
	(Sarılar)	13	Rhodamine B
45	Tartrazine	25	Fast Red E
24	Quinoline Yellow	37	Red 2 G
46	Fast Yellow	39	Ponceau 2 R
64	Chrysoine		(Maviler)
	(Turuncular)	21	Patent Bleu V
49	Orange GGN	27	İndigotine
50	Sunset Yellow FCF	42	Brillant Blue FCF
	(Kırmızılar)		(Siyah)
58	Ponceau 4 R	62	Brilliant Black
63	Scarlet GN		(Kahverengi)
26	Carmoisine	35	Brown FK
30	Amaranth		(Yeşil)
38	Erythrosine	36	Green S
57	Ponceau 6 R		M, M ₁ , M ₂ Tecrübe edilen
34	Ponceau SX		boyaların karışımları

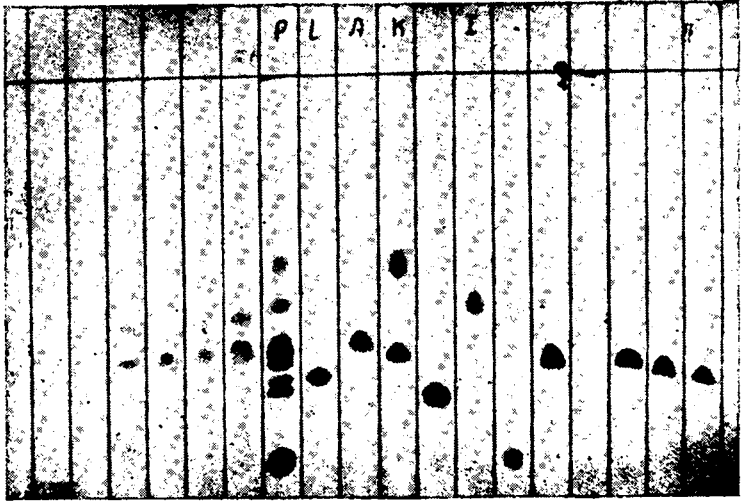


Fotoğraf: 1



Fotoğraf: 2

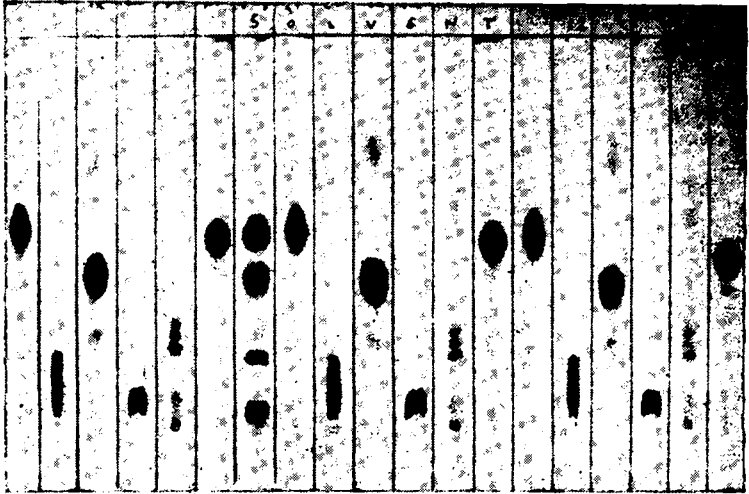
45 24 46 64 49 50 M₁ M₂ 58 63 26 30 38 57 34 13 25 37 39



Fotoğraf: 3

Solvent - 12

21 27 42 62 35 36 M 21 27 42 62 35 36 21 27 42 62 35 36



Fotoğraf: 4