T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYARBAKIR'DA SATIŞA SUNULAN BAZI GIDA ÜRÜNLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT TAYİNİ

AYDIN YILDIZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ.DR.SAİT ERDOĞAN

(KİMYA ANABİLİM DALI)

DİYARBAKIR
HAZİRAN 2010

ÖZET

DİYARBAKIR'DA SATIŞA SUNULAN BAZI GIDA ÜRÜNLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT TAYİNİ

Bu araştırmada Diyarbakır'da satışa sunulan çeşitli ürünlerde (yoğurt, meyveli yoğurt, beyaz peynir, kaşar peyniri, örüklü peynir, ketçap, mayonez, ayran, meyve suyu, bitkisel margarin, gazlı içecek, ekmek ve reçel) koruyucu katkı maddesi olarak kullanılan benzoik asit ve sorbik asit içerik miktarları, HPLC cihazı kullanılarak tespit edilmiş ve elde edilen sonuçlar Türk Gıda Kodeksindeki, 'Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde öngörülen maksimum değerlerle karşılaştırılmıştır.HPLC cihazı ile birlikte dedektör olarak UV-DAD dedektörü kullanılmış olup, dedektörde spektrum alınması sonucu benzoik asit için 226 nm, sorbik asit için ise 258 nm'de ölçüm yapılmıştır.Analiz için 250 x 4,6 mm 5µM tanecik çapında ters fazlı C18 kolon kullanılmıştır.Taşıyıcı faz olarak asetat tampon/Metanol karışımı(65:35) kullanılmıştır. Çalışma sonunda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Benzoik asit miktarları;

Yoğurtta;	8,94-28,30 mg/kg
Meyveli Yoğurtta;	8,96-9,79 mg/kg
Ayranda;	1,54-16,57 mg/L
Beyaz peynirde;	4,69-56,77 mg/kg
Kaşar ve çeşitli tür peynirlerde;	4,61-15,52 mg/kg
Ketçapta;	0,00-874,44 mg/kg
Mayonez;	0,00-788,81 mg/kg
Meyve Suyu;	0,00-0,00 mg/L
Bitkisel Margarin;	0,00-0,00 mg/kg
Gazlı İçecek;	0,00-76,54 mg/L
Ekmek;	0,00-0,00 mg/kg
Reçel ;	0,00-692,38 mg/kg

Sorbik asit miktarları;

Yoğurtta;	0,00-0,00 mg/kg
Meyveli Yoğurtta;	0,00-0,00 mg/kg
Ayranda;	0,00-0,00 mg/L
Beyaz peynirde;	0,00-33,48 mg/kg
Kaşar ve çeşitli tür peynirlerde;	0,00-19,46 mg/kg
Ketçapta;	0,00-460,57 mg/kg
Mayonez;	0,00-756,07 mg/kg
Meyve Suyu;	0,00-0,00 mg/L
Bitkisel Margarin;	253,03-960,77- mg/kg
Gazlı İçecek;	0,00-212,00 mg/L
Ekmek;	0,00-8,91 mg/kg
Reçel ;	0,00-755,52 mg/kg

Anahtar kelimeler: Sorbik Asit, Benzoik Asit, HPLC, UV-DAD, Gıda Katkı Maddesi

ABSTRACT

DETERMINATION OF BENZOIC AND SORBIC ACIDS IN SOME FOOD PRODUCTS OFFERED FOR SELLİNG İN DİYARBAKIR

In this study, benzoic acid and sorbic acid contens, which are used as protective additives were detected in various for sale products (yoghurt, yoghurt with fruit, white cheese, kashar cheese, molten cheese, ketchup, mayonnaise, airan, fruit juice and vegetative margarine) using HPLC technique and the results were compared with food additives regulations in Turkish Food Codex. DAD (Diode Array Detector) was used together with the HPLC device at 226 nm for Benzoic acid and at 258 nm for Sorbic acid. Reverse-phase C18 column at particle diameter of 250x4.6 mm 5µM was used for the analysis. An acetate buffer-methanol mixture (65:35) was used as the mobile phase. The following results were obtained at the end of the investigation.

Amount of Benzoik Acid;

In Yoghurt ;	8,94-28,30 mg/kg
In Yoghurt with fruit;	8,96-9,79 mg/kg
In Airan;	1,54-16,57 mg/L
In White Cheese;	4,69-56,77 mg/kg
Kashar Cheese and various kind of Cheese;	4,61-15,52 mg/kg
In Ketchup;	0,00-874,44 mg/kg
In Mayonnaise;	0,00-788,81 mg/kg
In Fruit Juice;	0,00-0,00 mg/L
In Vegetative margarine;	0,00-0,00 mg/kg
In Fizzy Drink;	0,00-76,54 mg/L
In Bread;	0,00-0,00 mg/kg
In Jam ;	0,00-692,38 mg/kg

Amount of Sorbic Acid;

In Yoghurt;	0,00-0,00 mg/kg
In With Yoghurt;	0,00-0,00 mg/kg
In Airan;	0,00-0,00 mg/L
In White Cheese;	0,00-33,48 mg/kg
Kashar Cheese and Various Kind of Cheese;	0,00-19,46 mg/kg
In Ketchup;	0,00-460,57 mg/kg
In Mayonnaise;	0,00-756,07 mg/kg
In Fruit Juice;	0,00-0,00 mg/L
In Vegetative margarine;	253,03-960,77- mg/kg
In Fizzy Drink;	0,00-212,00 mg/L
In Bread;	0,00-8,91 mg/kg
In Jam ;	0,00-755,52 mg/kg

Key words: Sorbic acid, Benzoic acid, HPLC, UV-DAD, Food Additives

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim ve tez çalışmam sırasında bilgi ve desteğiyle beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukların aşılmasında yardımlarını ve anlayışını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Sait ERDOĞAN'a, beni Yüksek Lisans yapmaya teşvik eden ve desteklerini benden esirgemeyen sevgili arkadaşım Dr. Hüseyin ALKAN' a, anlayışından ve desteklerinden dolayı TKB Diyarbakır İl Kontrol Laboratuar Müdürü Sayın Duriye ERKEK'e, deneysel çalışmalarım sırasında benimle özverili bir şekilde çalışan değerli arkadaşım Nesrin FIRAT KORKUTATA'ya ve emeği geçen diğer mesai arkadaşlarıma, araştırmalarım sırasında bana hertürlü desteği veren, çalışmalarım sırasasında göstermiş oldukları sabır ve manevi destek için ailemin tüm bireylerine bütün içtenliğimle teşekkür ederim. Ayrıca, finansal desteklerinden dolayı Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne (DÜBAP 10-FF-37 nolu proje) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i

TEŞEKKÜR v

İÇİNDEKİLER vi

1. GİRİŞ 1

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 4

2.1.GIDA KATKI MADDELERİ 4

2.2. GIDA KATKI MADDELERİNİN SINIFLANDIRILMASI 4

2.2.1. Bozulmayı Önleyenler (Koruyucular) 5

2.2.2. Görünüm, Lezzet, Yapı ve Kaliteyi geliştirenler 5

2.2.3. Renklendiriciler 5

2.2.4. Lezzetlendiriciler 5

2.2.5. Koruyucular 5

2.2.6. Yapı ve Görünüşü Etkileyenler 5

2.2.7. Biyolojik Değeri Arttırıcılar 6

2.3. ANTİMİKROBİYAL KATKI MADDELERİ 7

2.3.1. Uygun Antimikrobiyalin belirlenmesi 8

2.3.1.1. Gıdanın pH Değeri 8

2.3.1.2. Kimyasal Maddenin Çözünürlüğü 9

2.3.1.3. Spesifik Antibakteriyal Etki 9

2.3.1.4. Gıdanın Etkilenme Durumu 9

2.3.1.5 Antimikrobiyalin Etkili Dozu 10

2.4. GIDALARA KATILACAK GIDA KATKI MADDELERİNİN BELİRLENMESİ 10

2.5. BENZOİK ASİT 14

2.6. SORBİK ASİT 15

2.7. KROMATOGRAFİ TARİHİ VE HPLC 17
2.8. GIDA KATKI MADDELERİNİN KODLANMASI 24
2.9. GIDA KATKI MADDELERİNİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİSİ 24
3. MATERYAL VE YÖNTEM 28
3.1. MATERYAL 28
3.2. YÖNTEM 30
3.2.2. Çözeltiler, Kimyasallar ve Standart Maddeler 31
3.2.3. Kromatografik Koşullar 31
3.2.4. Örneklerin Ekstraksiyonu 31
3.2.5. Diode-Array Dedektör ile Tespit 32
3.2.6. SRM ile Doğrulama Çalışması 36
3.2.7. Hesaplama 36
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 37
4.1. YOĞURT ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 37
4.2. MEYVELİ YOĞURT ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 38
4.3. AYRAN ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 39
4.4. BEYAZ PEYNİR ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 41
4.5. DİĞER PEYNİR ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 43
4.6. KETÇAP ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 45
4.7. MAYONEZ ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 46
4.8. MEYVE SUYU ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 48

4.9. BİTKİSEL MARGARİN ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI 49

4.10. GAZLI İÇECEK ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI..... 51

4.11. EKMEK ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI..... 52

4.12. REÇEL ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI..... 54

5. SONUÇ..... 56

6. KAYNAKLAR 58

ÖZGEÇMİŞ..... 61

1. GİRİŞ

İnsanlar grup halinde yaşamaya başladıklarından beri yiyeceklerin korunması ve saklanması bir sorun olmuştur. Yıllar önce insanlar taze yiyeceği bulmanın zor olduğu kış aylarında gıdalarda bozulmaya karşı hassasiyeti azaltacak yöntemler keşfetmiştir. Dünya nüfusunun hızla artması, kentler ve metropollerde yerleşme eğilimi gösteren bu nüfusun beslenme ile ilgili problemlerinin artması sonucu genel kullanıma yönelik her biri birbirine oldukça benzeyen tuz, şeker, sirke ve fermantasyon ile ortaya çıkan asitler gibi birçok kimyasal koruyucu geliştirilmiştir. Bu liste gittikçe genişleyerek kimyasal sentezli birçok bileşik bulunmuştur. Bu yöntemin tercih nedeni, birçok gıda için muhafaza tekniğinin zorunlu bulunması ve özellikle ara ürün muhafazası için diğer yöntemlerden daha ekonomik olmasıdır. Bu yöntem için kullanılan kimyasallar sadece ürünlerin güvenliğini, depolama süresini ve raf ömrünü değil aynı zamanda birçoğu gıdaların kalite ile ilgili özelliklerinin dayanıklılık sürelerini uzatmaktadırlar. Ancak mikroorganizmaların olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için kullanılan katkı maddelerinin basit yapıda, ucuz ve bu maddelerin tüketiminden doğabilecek sağlık sorunlarının en düşük seviyede olması en önemli koşullardandır (Yentür, G. ve ark., Ank.Üni. Vet. Fak. Der. 42:451-455, 1995).

Günümüzde tükeciye sunulan gıdalar pek çok kimyasal madde içermektedirler. Bu kimyasal maddelerden çoğu gıdanın doğal bileşenleri olup karbonhidratlar, yağlar, proteinler, vitaminler ve mineraller olarak sınıflandırılmaktadır. Bu doğal bileşenlerin dışında gıdaya istenilerek katılan bazı maddeler de bulunmaktadır. Gıdalara istenilerek kimyasal madde katılımı ile ilgili tarihsel gelişmeler incelendiğinde, tuz ve odun tütsüsünün bilinen en eski katkı maddesi olduğu anlaşılmaktadır (Altuğ, T., 2001). FAO/WHO Katkı Maddesi Birleşik Kurulu'nun tanımına göre; 'Tek başına besin değeri taşımayan, gıda ürününe bilinçli olarak doğrudan veya dolaylı katılan, ürünün görünüş ve yapısını düzeltmek ya da muhafaza imkanını arttırmak için sınırlı miktarda ilave edilen madde, gıda katkı maddesidir (Çakmakçı, S.;Çelik, İ. GKM,2000).

Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde kararname/KHK/560 (Anonim1995) ise gıda katkı maddelerini 'normal şartlarda tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıda ham yada yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereği kullanılan, işlem veya imalat sırasında kalıntı veya türevleri mamül maddede bulunabilen, gıdanın üretilmesi, tasnifi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak ve düzeltmek amacıyla kullanılan maddelerdir' şeklinde tanımlamaktadır (Çakmakçı, S.;Çelik, İ. GKM,2000).

Günümüzde hızlı kentleşme ile birlikte katkı maddelerinin kullanımları, gıdaları bozulmalara karşı korumak amacıyla yaygınlaşmış olup, bu maddeler gıda teknolojisinin vazgeçilmez bir parçasını oluşturmuşlardır.

Son yıllarda gelişmiş ülkeler başta olmak üzere, gıda maddelerinde kullanılan katkı maddelerini kullanımında tüm Dünya'da bir artış yaşanmıştır. Bu katkı maddeleri belirlenenden fazla kullanıldığı zaman, halk sağlığı açısından zararlı olabilmektedir. Kullanımına izin verilen gıda katkı maddelerinin tüketimi arttıkça ve dolayısıyla sürekli olarak vücuda alınmaları durumunda toksik etkiler gösterdiklerine ve bazı rahatsızlıklara neden olduklarına yönelik bulgular bulunmaktadır. Bunların içinde en sıkça görülenleri egzema, astım, baş ağrısı, alerjik kaşıntılar, gastrik rahatsızlıklar, ishal, hiperaktiflik ve aşırı duyarlılıktır. Kullanılan gıda katkı maddeleri sağlığa zarar vermeyecek dozlarda kullanılsalar dahi, bu maddelerin bir süre sonra vücutta birikerek insan sağlığını tehtid edebilecek miktarlara ulaşabileceği, dokularda hasar meydana getirebileceği göz ardı edilmemelidir (Brigs,D.R. 1997, Sarıkaya, R.; Solak, K.,2003).

Katkı maddeleri içerisinde, katı ve sıvı gıdalara ve çeşitli içeceklere katılabilen antimikrobiyel maddeler; gıdalarda istenmeyen ancak herhangi bir nedenle bulunma olasılığı olan küf, maya ve her çeşit mikroorganizmayı ortamdan yok etmek veya onların çoğalmasını önlemek amacıyla kullanılırlar.Bu maddelerin kendilerinden beklenen görevleri yapabilmeleri; kullanılan maddenin bileşimi ve

miktarına bağlı olduğu gibi ortamın pH'sına da bağlıdır.

Bu amaçla kullanılan başlıca bileşikler; Benzoik Asit, Sorbik Asit, p-Hidroksi Benzoik Asit, Formik Asit, Propiyonik Asit, Salisilik Asit, Nitrat, Nitrit ve Difenil ve Orta-fenil fenoldur (Koyuncu, N. 2006).

Gıdalarda kullanılan katkı maddeleri ile ilgili düzenlemeler, bütün dünyada, BM'ye bağlı Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ve Dünya Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) liderliğinde yürütülmektedir. Katkı maddelerinin insan sağlığına hiçbir zarar vermeden hangilerinin hangi miktar kullanılacağı bu kuruluşlar tarafından tespit edilmektedir. Ancak, önceden kullanılabileceği deklare edilen pek çok madde sonradan zararları tespit edildiği için aynı kuruluşlar tarafından kullanımı iptal edilebilmektedir. Ayrıca yürürlükte olduğu halde, ülkeler tek taraflı olarak pek çok katkı maddesinin kullanılmasını kendi ülkelerinde yasaklamaktadır.(Anonim 1998).

Bu çalışma ile Diyarbakır'da satışa sunulan bazı gıdalarda kullanılan katkı maddelerinin (Sorbik Asit ve Benzoik Asit) saptanması, bu maddelerin yürürlükte olan Gıda Katkı Maddeleri yönetlemliğinde öngörülen limitler içerisinde olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.GIDA KATKI MADDELERİ

Gıda katkı maddeleri gıda ürünlerinin mikrobiyolojik, enzimatik ve kimyasal bozulmasını durdurmak veya raf ömrünü uzatmak için kullanılır (Davidson, 1997). Gıda katkı maddelerinin bilinen gereklerine rağmen toksikolojik güvenlikleri araştırılmaya devam edilmektedir. Son yıllarda az sayıda yeni katkı maddesi düzenlenme ajansları tarafından onaylanmıştır ve daha birçoğunun gelecekte onaylanacağı şüphelidir. Bir katkı maddesinin riskinin minimum olması konusunda sorun yoksa da, böyle bir riskin katkı maddesinin kullanım faydalarını dengelemesi gerektiği açıktır. Örneğin gıda zehirlenmesi olaylarının azaltılması ve bozulma nedeniyle oluşacak kaybın azaltılması antimikrobiyel katkı maddelerinin faydalarındandır. Faydalara karşı riskleri değerlendirmek kolay değildir ve katkı maddelerinin yararlılığı ve toksikolojik güvenliği hakkında geniş araştırmalar yapılması gerekmektedir. Nadiren katkı maddeleri risk içermediğinden kabul edilebilir. Belli bir katkı maddesi için risklerin faydaları aştığını belirleme sorumluluğu bilim adamları, yasa koyucular, işleyiciler ve tüketicilere aittir. Karar verme süresine dahil olan herkesin tüm katkı maddelerinin risklerinin ve yararlarının farkında olmaları şarttır (Koyuncu, N. 2006)

Gıda katkı maddelerinden benzoik asit ve sorbik asit ile bunların tuzlarının bir çok gıda maddesinde ve içecekte koruyucu madde olarak kullanmasına izin verilmektedir (Pollard, 1991). FDA (Food and Drug Administration : ABD Gıda ve İlaç İdaresi), bu asitleri ve bunların sodyum ve potasyum tuzlarını gras (generally recognized as safe) listesine almıştır (Boer ve Nielsen, 1995).

2.2. GIDA KATKI MADDELERİNİN SINIFLANDIRILMASI

Gıda katkı maddeleri, çeşitli açılardan sınıflandırılabilir; bileşik sınıfı, kullanım amacı, hedef gıda vb. Çok sayıdaki bu sınıflandırma şekillerinden bazı örnekler aşağıda verilmiştir (Çakmakçı, S.;Çelik, İ. GKM,2000).

2.2.1. Bozulmayı Önleyenler (Koruyucular)

1- Küflenmeyi önleyenler

2- Bakteri üremesini önleyenler

3- Antioksidanlar

4- Enzimatik bozulmayı önleyenler

2.2.2. Görünüm, Lezzet, Yapı ve Kaliteyi geliştirenler

1- Renklendiriciler

2- Lezzet vericiler ve arttırıcılar

3- Asit ya da baz yapıcılar ve nötralize ediciler

4- Yapı geliştiriciler, emülgatörler

2.2.3. Renklendiriciler

1- Renk vericiler

2- Renk koruyucular

3- Renk kuvvetlendiriciler

2.2.4. Lezzetlendiriciler

1- Tat vericiler

2- Tuz tadı verenler

3- Baharatlar ve çeşniler

4- Asitler ve bazlar

5- Aroma vericiler

2.2.5. Koruyucular

1- Antimikrobiyaller

2- Antioksidanlar

3- Tütsü maddeleri

4- Kaplama maddeleri

2.2.6. Yapı ve Görünüşü Etkileyenler

1- Stabilizatörler

2- Emülgatörler

3- Tamponlar
4- Yüzey aktif maddeleri
5- Topaklaşma önleyiciler
6- Olgunlaştırıcı tuzlar
7- Kıvam arttırıcılar
8- Köpük yapıcı tutucular
9- Tutucu ve birleştirici maddeler
10- Yumuşatıcılar ve plastic yapı kazandırıcılar
11- Kristalleşme önleyiciler
12- Nemlendiriciler
13- Berraklaştırıcılar ve durultma maddeleri

2.2.7. Biyolojik Değeri Arttırıcılar

1- Vitaminler
2- Mineraller
3- Amino asitler

Ayrıca Türk Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği kullanım amacına göre gıda katkı maddelerini şu şekilde sınıflandırmıştır;

1- Asitliği Düzenleyiciler
2- Topaklanmayı Önleyiciler
3- Antioksidanlar ve Antioksidan Sinerjistleri
4- Tat ve Koku (Aroma) Maddeleri
5- Tatlandırıcılar
    a- Yapay Tatlandırıcılar
    b- Doğal Tatlandırıcılar
6- Renklendiriciler-Boyalar
7- Emülgatörler
8- Emülsifiye Edici Tuzlar
9- Enzimler
10- Starterler
11- Aroma Arttırıcılar

12- Modifiye Nişastalar
13- Antimikrobiyal maddeler
14- Stabilizörler
15- Jelleştiriciler
16- Çözücü ve Taşıyıcı Solventler
17- Yapışkanlığı Azaltıcı ve Kaplama Maddeleri
18- Diğerleri

2.3. ANTİMİKROBİYAL KATKI MADDELERİ

FDA (Food and Drug Administration : ABD Gıda ve İlaç İdaresi), tuz, şeker, sirke, baharat gibi doğal maddeler ile herbisit ve intektisitler dışında bozulmayı ve diğer kayıpları önlemek için koruyucu amaçlarla gıdaya katılan bütün kimyasal maddeleri 'kimyasal koruyucu' olarak bildirmiştir.Bunlardan benzoik asit ve sorbik asit genellikle küf , maya ve bakterilere karşı etkilidir (M.S, Ali., J.Assoc off. Anal. Chem. 68 (1985) 488). P-hidroksibenzoik ve esterleri (parabenleri) 70 yıldan uzun süredir gıda koruyucusu olarak kullanılmaktadır (R, Hajkova. ve Ark. Anal. Chim. Acta 467 (2002) 91). Metil-paraben (MP) ve propilparaben (PP) sinerjik etkilerinin keşfedilmesinden beri en çok kullanılan parabenlerdir (P.E, Mahuzier. ve Ark. Chrom. A 924, 2001). Kimyasal madde uygulaması uzun yıllardan beri bilinmektedir. Sağlık açısından duyulan endişe nedeniyle bu uygulamanın 1900 yılında Paris'te yapılan 'Hijyen Kongresi'nde yasaklanmıştır. Ancak, kullanılacak katkı maddelerinin, gıdaların ve bu katkı maddelerinin en yüksek sınır değerlerinin belirlenmesi şartıyla, bu uygulamaya 1932 yılında yeniden başlanmıştır. Bu geriye dönüşün nedeni, birçok gıda için bu muhafaza tekniğinin zorunlu görülmesi ve özellikle ara ürün korumada diğer yöntemlerden daha ekonomik olmasıdır.

Antimikrobiyal maddeler, gıdalarda istenmeyen, ancak herhangi bir nedenle bulunabilen bakteri, küf ve mayaları, patojen olan veya olmayan her türlü mikroorganizmayı ortamdan yok etmek, çoğalma ve faaliyetlerini önlemek için gıdalara katılmaktadır. Bu maddelerin etkili olabilmesi için ortamın pH'sı, kullanılan maddenin bileşimi, su aktivitesi ve kullanma miktarı önemlidir. Bu maddenin seçimi

kadar önemli olan diğer özellikler ise, bu maddelerin belli bir saflıkta, basit yapıda, geniş bir spektrumda etkili ve ucuz olmasıdır.

2.3.1. Uygun Antimikrobiyalin belirlenmesi

Uygulamanın etkili olabilmesi için, öncelikle 'hangi gıda için hangi katkı maddesi' daha sonra da 'hangi katkı maddesi için hangi doz' sorusuna doğru cevap verilmesi gereklidir. Bunda çok sayıda faktör dikkate alınmalıdır. Faktörler genellikle, gıdanın pH değeri, kimyasal maddenin çözünürlüğü ve etki spektrumu, gıdanın etkilenme durumu ve kimyasal bileşiklerin karşılıklı etkileşimi başlıkları altında toplanmaktadır (Çakmakçı, S.;Çelik, İ. Gıda Katkı Maddeleri).

2.3.1.1. Gıdanın pH Değeri

Gıda muhafazası için kullanılan kimyasal maddeler genellikle asit veya tuzdur. Bu bileşikler, sulu ortamda az veya çok iyonize olmaktadırlar. Disosiyasyon (çözüşme) denilen bu olay ile, kimyasal maddenin antimikrobiyal etkisi arasında bir ilişki vardır.Antimikrobiyal etkiyi gösteren, kimyasal maddenin disosiye olmayan kısmıdır. İyonize olduğu oranda etkisi azalmaktadır.

pH, hidrojen iyonu konsantrasyonunun negative logaritmasıdır. Buna göre gıdanın pH değeri ne kadar düşükse, antimikrobiyal etkisinin o kadar artacağı sonucu ortaya çıkmaktadır. Ancak, kükürtdioksit gibi bazı bileşikler bu kuralın dışında kalmaktadır. Ayrıca, p-hidroksibenzoik asidin (p-HBA) esterleri (etil-metil-propil) de yüksek pH değerinde serbest asit veya tuzuna göre daha çok etkilidir. Bunun nedeni, asit grubunun esterleşme yoluyla bloke edilmiş olmasıdır.

Kısacası, her kimyasal madde ancak belirli bir pH değerinde etkili olmaktadır.Koruyucu maddenin belirlenmesinde öncelikle gıdanın pH değerinin gözönünde bulundurulması gereklidir.

Disosiyasyon davranışı açısından serbest asitle onun tuzu arasında da fark vardır. Bunun nedeni, asit katılması durumunda gıdanın pH değerinin az da olsa

düşmesidir (antimikrobiyal etki artar). Tuz katılması durumunda disasyon azalır (antimikrobiyal etki artar)

2.3.1.2. Kimyasal Maddenin Çözünürlüğü

Gıda katkı maddeleri ancak, gerçek anlamda çözünürse etkilidir. Genel olarak asitlerin molekül ağırlıkları arttıkça çözünürlük azalmaktadır. Formik asidin suda her oranda çözünmesine karşılık, benzoik asidin güç çözünmesinin nedeni budur. Benzoik asidin Na ve K tuzu, kendisinden daha kolay çözünmektedir ve çoğu kez asidin kendisi yerine tuzunun kullanılmasını daha uygundur.

Bazı kimyasal bileşiklerin (p-HBA gibi) çözünürlüğü ise, mikrobiyal bozulmayı tek başına önleyecek konsantrasyonun altında kalmaktadır. Böyle maddelerin kolay çözünen diğer bileşiklerle kombinasyon halinde olması gereklidir.

2.3.1.3. Spesifik Antibakteriyal Etki

Bir koruyucunun antibakteriyal etkisi, her mikroorganizmaya karşı aynı değildir. Bazılarının etkisi daha fazladır. Bu özelliğe 'Antibakteriyal Etki Spesifikliği' denir.

Gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizma popülasyonu genellikle tek tip olmasa bile, gıdanın bileşimine ve özellikle pH değerine bağlı olarak bazı tiplerin bozulma açısından öncelikli olduğu bilinmektedir. Yani bozulmaya neden olan mikroorganizmaya karşı en etkili madde, diğer özellikler açısından (pH ve çözünürlük) da elverişliyse en uygun antimikrobiyal maddedir.

2.3.1.4. Gıdanın Etkilenme Durumu

Bazı koruyucu bileşikler, gıdaların bileşimi ve duyusal özelliklerine olumsuz etki yapmaktadır. Bu nedenle, gıda tipine göre koruyucu madde seçimi önemlidir. Örneğin SO_2, vişne gibi koyu renkli meyvelerden elde edilen içecek ve ürünlerinde rengin açılmasına yol açtığından dolayı bu tür ürünlerde koruyucu olarak

kullanılmamaktadır. Bazı vitaminler, koruyucu maddenin etkisiyle parçalanmaktadır. Örneğin, D1 vitamininin SO_2, A ve C vitaminlerinin de H_2O_2'den etkilendiği bildirilmektedir.

Ayrıca, koruyucu maddenin çeşit ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişmekle birlikte, gıdaların duyusal özelliklerinde ve özellikle tadında değişiklik meydana gelebilmektedir. Örneğin, benzoik asit, çok düşük bir konsantrasyonda bile damakta yakıcı bir etki bırakmaktadır. Bu durumda, sodium benzoate ve p-hidroksibenzoik asit esterlerinin kullanılması daha uygundur. Sorbik asidin tada etkisi en azdır. Kükürtdioksit ve sülfit ise gıdanın tadını maskelemektedir.

2.3.1.5 Antimikrobiyalin Etkili Dozu

Koruyucu maddenin çeşidinin yanısıra, kullanılacak miktarının doğru belirlenmesi gerekir. Bu amaçla daha çok mikroorganizmanın öldürülmesi veya gelişmesinin engellenmesi hedef alınmaktadır. Belirlenecek miktar çok sayıda faktöre bağlı olduğu gibi, yasal sınırlamalar da dikkate alınmalıdır.

2.4. GIDALARA KATILACAK GIDA KATKI MADDELERİNİN BELİRLENMESİ

Gıdalara katılacak katkı maddesinin maksimum miktarlarının belirlenmesi için katkı maddesinin; günlük alınabilecek miktarının ADI (Acceptable Daily Intake) bilinmesi gereklidir ki bu değer, toksikolojik testlerle saptanır (Benford 2000). Bu amaçla deney hayvanlarında öldürücü dozda (lethal doz = LD50: deney hayvanlarının % 50'sinin ölümüne neden olan doz) katkı maddesi verilir. Daha sonra doz kademeli olarak azaltılarak, doz-cevap ilişkisi araştırılır. Her dozda; katkı maddesinin emilimi, metabolizması ve atımı incelenir. Deney hayvanlarının hücre, doku ve organları incelenerek, karsinojenik, mutajenik, teratojenik ve allerjik etkileri araştırılır. Çalışmalar sonunda katkı maddesinin hiçbir etkisinin bulunmadığı bir doz elde edilemezse katkı maddesinin besinlere katılmasına izin verilmez. Eğer deney hayvanına hiçbir olumsuz etki göstermeyen bir doz elde edilirse, bu doz "etkisiz doz" veya NOAEL (No

Observed Adverse Effect Level) olarak tanımlanır. NOAEL dozu ile deney hayvanlarının yaşam süresinin %85'ini kapsayacak sürede deneye devam edilir. Ancak bu doz deney hayvanının vücut ağırlığının kilogramı başına mg olarak saptanmış bir dozdur ve insandaki etkileri bilinmemektedir.
Deney insanlar üzerinde ahlaki nedenlerden ötürü uygulanamayacağından, güvenlik faktörü kullanılır. Güvenlik faktörü genellikle 100'dür.Yani deney hayvanında hiçbir etki göstermeyen dozun 1/100'ü insan için kabul edilir. (ADI = NOAEL /100). Böylece günlük alınabilecek miktar (ADI) insanın vücut ağırlığının kilogramı başına mg olarak belirlenir.

"Günlük maksimum alım = ADI x Vücut ağırlığı" şeklinde saptanır.

Gıdaya katılacak katkı maddesinin maksimum miktarının saptanmasında 2. aşama besinin üretim teknolojisinin gerektirdiği miktarın (Good Manufacturer Practice = GMP = Uygun Üretim Teknolojisi) ADI çerçevesinde belirlenmesidir. Eğer GMP miktarı ile ADI değeri aşılıyorsa katkı maddesinin kullanılmasına izin verilmez. ADI değeri GMP ile aşılmıyor ise, bilinmesi gereken 2 veri daha vardır. Bunlardan biri katkı maddesinin kaç çeşit besine katılacağı, ikincisi ise bu besinlerin tüketim düzeyidir.

Özetle besine katılacak katkı maddesinin maksimum miktarının belirlenmesi için:
a. ADI (mg / kg) değeri
b. Besinin üretim teknolojisinin gerektirdiği miktar (GMP)
c. Katkı maddesinin kaç besine katılacağı
d. Besinlerin ortalama günlük tüketim miktarının bilinmesi gerekir. (Benford,D. 2000; Altuğ,T. 2001)

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)nün katkı maddeleri üzerine çalışan ortak uzmanlar komitesi (JECFA), dünyada, her çeşit katkı maddesi ile ilgili yapılan toksikolojik çalışmaları değerlendirir ve uluslararası Gıda Kodeksi Komisyonuna (Codex Alimentarius Commission) öneriler sunar. JECFA, GKM' nin spesifikasyonlarını belirler, analiz yöntemlerini

standartlaştırır. GKM ile ilgili A, B, C listelerini hazırlar. A listesi pozitif listedir, GKM'nin ADI değerleri saptanmıştır. B listesinde değerlendirilmesi tamamlanmamış katkılar yer alır. C listesi ise negatif listedir. Bu listede yer alan GKM' lerinin besine katılmasına izin verilmez. FDA tarafından da GKM ile ilgili GRAS (Generally Recognized As Safe) listeleri hazırlanır. ADI değeri kapsamlı toksikolojik çalışmalar sonucu bulunmuş olmakla birlikte değişmez değildir. Yeni araştırma verilerine göre azaltılıp arttırılabilir. GKM ile ilgili çalışmalar süreklilik özelliği taşır (Benford,D. 2000; Altuğ,T. 2001)

Çizelge 2.1. Çeşitli Antimikrobiyal maddeler ve optimum aktif oldukları koşullar ile etkili oldukları mikroorganizmalar belirtilmiştir (Çakmakçı, S.;Çelik, İ. GKM,2000) .

Antimikrobiyal Madde	Formülü	Aktif Formu	Etkili olduğu pH	Hedef Alınan Mikroorganizma
Asetik Asit Sodyum asetat Kalsiyum asetat	CH_3COOH CH_3COONa $(CH_3COO)_2Ca$	pH düştükçe aktive artar	≤ pH 4.5	Tuzlar, ekmekte ve fırın küflerinde küflerin gelişmesini ve 'rope' hastalığını önler. Laktik asit bakterileri ve mayaları inhibe etmek için % 3.6 gibi yüksek bir konsantrasyon gereklidir.
Propiyonik asit ve Na ve Ca tuzları	CH_3CH_2COOH	iyonize olmamış	≤ pH 5	Küflere, ekmekte 'rope' etmeni *Bacillus mesentericus*'a etkilidir. Ağırlık olarak % 0.3 kullanılır.
Parabenler, metal ve propel esterleri ABD'de heptil,etil ve butyl esterleri diğer ülkelerde kullanılır.	$C_8H_8O_3$	Zincir uzunluğu arttıkça aktive artar	≥ pH 7	Küfler ve mayalara karşı çok etkili (ağırlık olarak % 0.05-0.1) Bakterilere karşı özellikle gram negatiflere etkili değildir.
Kükürtdioksit ve sülfitler	SO_2, SO_3 HSO_3, S_2O_5	iyonize olmamış, Sülfüroz asit	≤ pH 4.5	Sülfüroz asit maya,küf ve bakterileri inhibe eder.Yüksek PH'da HSO3- bakterilere etkili ancak mayalara etkili değildir.
Nitrit ve Nitrat	$NaNO_2$ KNO_2 $NaNO_3$ KNO_3	Nitrit	≥ pH 5	*Clostridium botulinum sporları*
Epoksitler Etilen oksit Propilen oksit	C_2O, C_3O	Etilen Oksit Propilen Oksitten daha etkili	–	Gaz fazı, bütün mikroorganizma, spor ve virüsleri imha eder.
Dietilpirokarbonat (DEPC)	$C_6H_{10}O_5$	–	≤ pH 4	Mayalar
Difenol	C6H5C6H5	–	Yüksek pH (opt.11.7)	Küfler
O-fenilfenol	$C_6H_5C_6H_4OH$	–		
Benzoik Asit (Sodyum Tuzu Asit formuna göre suda daha fazla çözünür)	C6H5COOH	iyonize olmamış	pH aralığı 2.5 - 4	En çok maya ve bakterilere, en az da küflere etkilidir.Sorbik Asit ile combine kullanımında miktar ağırlık olarak % 0.05-0.1'dir.
Sorbik Asit	C6H8O2	iyonize olmamış	pH düştükçe aktivite artar. pH 6.5'e kadar etkilidir.	Küf ve Mayalar

2.5. BENZOİK ASİT

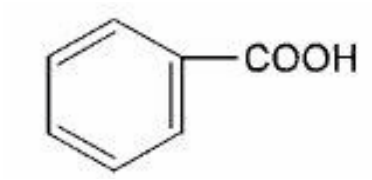
Benzoik asit benzoin çiçeği, phenlycarboxylic acid, carboxybenzene olarak da bilinir. Benzen halkası içeren bir bileşiktir. Doğal olarak ahududu, frenküzümü, kuru erik, karanfil, tarçın ve anaconda az miktarda bulunur.. Asya'da bulunan 'Benzoin' ağacından sızan reçineden elde edilir. Koruyucu olarak kullanılan başlıca tuzları Na, K ve Ca benzoatlardır.

Gıda sanayinde benzoik asidin daha çok sodyum tuzu kullanılmaktadır. Sodyum benzoatın yaygın olarak kullanılması, suda çözünme özelliğinin benzoik aside göre daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır (Koyuncu, N. 2006)

Benzoatlar, maya ve bakterilere etkili, küflere daha az etkilidir. Benzoik asit katı bir maddedir ve granül halinde satılmaktadır. Sodyum benzoat beyaz toz veya yaprak benzeri şekillerde bulunur, çözünürlüğü 25 °C'de 100 ml suda 50 g'dır. Sodyumun zararlı etkisinin olduğu durumlarda, potasyum benzoat kullanılmalıdır. Ancak potasyum benzoatın çözünürlüğü sodyum benzoattan daha düşüktür. Benzoatlar, antimikrobiyel katkı olarak çözünebilme, kokusuz ve renksiz olma avantajlarına, tatlımsı ve ağız buruşturucu lezzete sahiptirler. FDA'ya göre, antimikrobiyal ve lezzet katkısı olarak kullanılan sodyum benzoat GRAS (generally recognized as safe) listesindedir. Sodyum Benzoatın gıdalarda en yüksek kullanım miktarı % 0.1'dir.

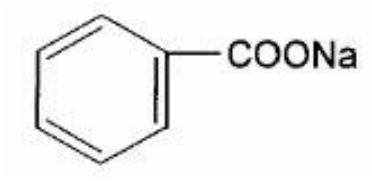
Benzoik asit ve tuzları, turşular, ketçap ve çeşitli soslar, sofralık zeytin, margarine, reçel, jöle ve marmelatlar, kakaolu ürünler, bisküvi, gofret ve kek kremaları, alkolsüz içecekler, meyve kokteylleri, meyve suları ve çeşitli şuruplarda koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ekmek ve pastada da küflenmeye karşı kalsiyum benzoat kullanılabilmektedir.

Çizelge 2.2. Benzoik asit'e ait özellikler



Molekül formülü	C_6H_5COOH
CAS No	65-85-0
Fiziksel görünüm	Beyaz kristal veya toz
Erime noktası	122 ^oC
Kaynama noktası	249 ^oC

Çizelge 2.3. Sodyum benzoat'a ait özellikler



Molekül formülü	C_6H_5COONa
CAS No	532-32-1
Fiziksel görünüm	Beyaz toz

2.6. SORBİK ASİT

Sorbik asit ($C_6H_8O_2$) ve tuzları doğal olarak üvez meyvesinde lakton formunda bulunur, sentetik olarak da ketenden elde edilir. Beyaz renkte, kokusuz, kristal toz halinde ve hafif asidik tattadır. Suda çözünürlüğünün çok az olması nedeniyle (20^oC'de 0.16g/100ml), onun yerine daha çok potasyum, kalsiyum ve sodyum tuzları kullanılmaktadır. Antimikrobiyal etkisi daha çok maya ve küflere yöneliktir.Bakterilere karşı etkisi kısıtlıdır. Suda daha iyi çözündüklerinden dolayı uygulamada daha çok, sodyum, potasyum ve kalsiyum tuzları kullanılmaktadır. Kokusu ve lezzeti yoktur. (Ekşi,A., 1988, Kıvanç,M.)

Sorbik Asidin antimikrobiyal özelliği 1945 yılında tespit edilmiştir. Doymamış organik asit olarak, gıdalarda antimikrobiyal olarak kullanılmasına izin verilen tek asit sorbik asittir. Piyasada serbest asit yada sodyum, potasyum ve kalsiyum tuzları şeklinde toz, granül ve çözelti formlarında bulunmakta ve bu tuzlar sorbat olarak isimlendirilmektedir. Potasyum yada sodyum sorbatın, sorbik asidin inhibisyon kuvvetinin %75'ini gösterdiği belirtilmektedir (Güven, M., 1998).

Potasyum sorbat, $CH_3–CH=CHCH=CHCOOK$ yapısında olup, beyaz çok hafif toz şeklinde, molekül ağırlığı 150.2 g'dır. Gıda sistemlerindeki çözünürlüğü %50'nin üzerindedir. 20°C'de 100ml suda 132.2g potasyum sorbat çözünmektedir. Bu nedenle salamuraya potasyum sorbat olarak katılması diğer tuzlara oranla daha uygun olmaktadır (Lueck, E., 1980, Kıvanç, M., 1989).

Sofos ve arkadaşları (1979), sorbatların NaCl veya fosfatlarla kullanıldığında, orta asitli gıdalarda çoğalan ve toksin üreten Clostridium botulinum'u önlediğini, halen kullanılan nitrit'in yerini belirli bir ölçüde alabileceğini belirtmişlerdir

Sorbik asit, mikroorganizmaların hücre içi enzimlerini inaktive ederek etki göstermektedir. pH aralığı 3-6 arasında olan asitli ve orta asitli gıda maddelerinde koruyucu etkisi vardır. Sorbatlar, gıda sanayiinde, çeşitli peynirler ve peynirli ürünler, hububat ürünleri, şaraplar, reçel, jöle ve marmelatlar, sos, ketçap, hazır salata, meyve kokteylleri, margarine, kurutulmuş meyve, et ve balık ürünlerinde kullanılmaktadır.

Sodyum sorbatın gösterdiği antimikrobiyal aktivite geniş alan kaplamaktadır. Küf ve mayalara karşı çok etkili olan maddenin bakterilere karşı etkinliği zayıftır. Benzoik asit ve bunun tuzlarına oranla daha az toksik etkisi vardır. Bunun nedeni, insan ve hayvan vücudunda bütirik ve kaproik asit gibi yağ asitlerinin metabolize oldukları şekilde bir tepkimeye uğramasıdır. Yapılan toksisite denemelerinde sodyum benzoatın sodyum sorbata oranla yaklaşık iki misli fazla toksik etkisi bulunduğu saptanmıştır (Saldamlı, İ., 1985).

Çizelge 2.4. Sorbik asit'e ait özellikler

Molekül formülü	$C_6H_8O_2$
CAS No	110-44-1
Fiziksel görünüm	Beyaz kristal veya toz
Erime noktası	134 ^oC
Kaynama noktası	228 ^oC

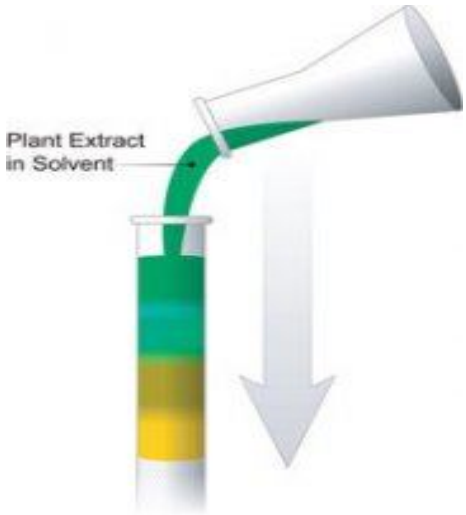
Çizelge 2.5. Potasyum sorbat'a ait özellikler

Molekül formülü	$CH_3CH:CHCH:CHCOOK$
CAS No	24634-61-5
Fiziksel görünüm	Beyaz kristal veya toz
Erime noktası	270 ^oC

2.7. KROMATOGRAFİ TARİHİ VE HPLC

İlk kez rus botanikçi Mikhail Tswett (1903) tarafından geliştirilen yöntem,toz halinde alumina gibi bir madde kolonunun çözeltideki maddeleri (hareketli faz) adsorblaması temeline dayanır. Bir çözeltideki farklı maddeler genellikle katı faz tarafından farklı kuvvetlerle tutulur. Katı fazın kuvvetle tuttuğu bileşikler katı faz üzerinde, zayıf tutulan maddelere göre daha yavaş hareket ederler. Böylece, ortama birlikte konulan çeşitli bileşenler sabit faz üzerinde ayrılmaya başlarlar. Tswett bu yöntemi bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini ayırmakta kullanılmıştır. Kullandığı kolonda renkli bandlar oluştuğundan, bu ayırma yöntemine kromatografi adını vermiştir. Bir rastlantı olarak, kromatografi yunanca 'renkli yazma', tswett rusça 'renkli'demektir.(http://www.facebook.com/note.php?note_id=263847405789-05.06.2010)

Önceleri düzlemsel yapıda sabit fazlar kullanılmış ve bu teknikler daha sonra kağıt kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi olarak isimlendirilmiştir. Modern sıvı kolon kromatografisi ise 1969 yılından itibaren gelişme göstermeye başlamıştır.



Şekil 3.1. Bitki Pigmentlerinin Ayrımı

2.7.1.Kromatografinin İlkeleri;

Kromatografi, bir örnek karışımındaki çözünmüş yapıların iki fazda (sabit ve hareketli faz) farklı dağılımlarına dayanan fiziksel bir ayırma yöntemidir. Çözünmüş yapılar, laboratuvarda ölçülen analitlerdir. Kromatografik ayrım yönteminde hareketli faz, örneği sabit (hareketsiz) fazı içeren yatak, düzlem veya kolon boyunca taşımaktadır. Hareketli faz, sabit fazın içinden geçtikçe çözünmüş moleküller iki faz arasında dağılırlar. Sabit faza daha az ilgisi olan çözünmüş yapılar, daha çok ilgisi olanlara oranla, hareketli fazda daha uzun süre kalırlar. Düşük sabit faza düşük ilgili çözünmüş moleküller daha hızlı göç ederek, sabit faza daha çok ilgisi olan çözünmüş moleküllerden ayrılırlar. Daha sonra, hareketli fazın fiziksel veya kimyasal özelliklerinin değiştirilmesi ile, sabit faza kuvvetli bir şekilde bağlanmış olan çözünmüş moleküller de yerlerinden ayrılırlar.

Kromatografinin iki temel formu düzlem ve kolon kromatografisidir. Düzlem kromatografisinde sabit faz bir kağıt tabaka üzerinde yada cam veya plastik bir tabaka üzerine bağlıdır. Kağıt kromatografisinde sabit faz, bir su tabakası veya kağıt liflerine kaplanmış polar bir çözgendir. İnce tabaka kromatografisinde (TLC), silika jel gibi bir materyalin ufak partikülleri cam veya plastik bir plaka

üzerine ince bir tabaka halinde düzgün bir şekilde yayılır, ince tabaka, küçük çaplı partiküllerden oluşursa bu teknik yüksek performanslı ince-tabaka kromatografisi (high-performance thin-layer chromotography-HPTLC) olarak bilinir.

Kolon kromatografisinde**,** üzeri sabit fazla kaplanmış veya kimyasal olarak bağlanmış olan destek partikülleri bir tüp içinde paketlemiştir veya sabit faz kolonun / tüpün iç yüzeyine kaplanmıştır. Teknik, hareketli fazın gaz veya sıvı oluşuna göre gaz kromatografisi (GC) ve sıvı kromatografisi (LC) olarak adlandırılır. LC'deki sabit faz küçük çaplı partiküllerden oluştuğunda, teknik yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) olarak adlandırılır**.** Gaz veya sıvı kromatografisi kütle spektro-metresine bağlı ise bu teknikler, sırasıyla, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC/MS) ve sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC/MS) olarak adlandırılır.

Analitik GC ve LC'de hareketli faz veya eluent, kolondan çıkarak bir detektörden veya bir seri detektörden geçerek; zamana, kat ettikleri yola veya hacme göre grafiğe çevrilen bir dizi elektronik sinyal oluştururlar. Sonuçta elde edilen grafik görüntüye kromatogram adı verilir. Çözünmüş molekülün kolondan çıkması ve detektörden geçmesi için gereken zaman veya hacim, "tutulma süresi" veya "hacmi"dir. Kromatogram tarafından gösterilen veriler, çözünmüş molekülleri belirlemek ve ölçmek için kullanılır. Çıkan çözünmüş moleküller bir dizi tepe olarak grafikte göründüğünden, bu tepeler kromatografik tepeler olarak adlandırılır. Bu tepeler tepe genişliği, tepe boyu, tepe alanı olarak açıklanır

2.7.2. Sıvı Kromatografisi

LC ile ayırma, çözünmüş moleküllerin hareketli sıvı faz ile durgun faz arasında dağılması ilkesine dayanır. Durgun faz olarak küçük partiküller kullanıldığında, teknik yüksek performanslı sıvı kromatografisidir (HPLC). Kolon verimi kolon dolgu maddesinin boyutuyla ters orantılı; basınç düşüşü ise partikül çapının karesi ile ilişkili olduğundan, yüksek verimli HPLC kolonlarından sıvıların pompalanması için göreceli olarak yüksek basınçlar gerekir. Sonuç olarak teknik yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) olarak adlandırılır.

Klinik laboratuvarda, HPLC; sıvı kromatografisinin en yaygın olarak kullanılan şeklidir. Amino asitler, peptidler, proteinler, karbonhidratlar, lipitler, nükleik asitler ve ilişkili bileşikler, vitaminler, hormonlar, metabolitler, ve anti-aritmik, antibiyotik, antiepileptik, analjezik, bronş düz kası gevşeticileri, trisiklik antidepresanlar gibi ilaçların saptanması ve izlenmesinde kullanılmaktadır.(www.kimyageriz.biz)

Temel bir sıvı kromatografisi şu elemanlardan oluşmaktadır:

1. Çözünmüş moleküllerin ayrılması için kromatografik kolon
2. Hareketli fazın saklandığı çözücü tankı
3. Hareketli sıvı fazı sisteme vermek için bir veya daha fazla pompa
4. Örneğin bir miktarım kolona vermek için enjektör
5. Kolondan çıkışları esnasında, ayrılmış analitleri saptamak için sistem üzerinde detektör
6. Sistemi kontrol eden, verileri işleyen bilgisayar

Bu elemanlarla çeşitli tiplerde HPLC sistemleri oluşturulur. Tek pompalı, tek çözücülü ünitelerden, esnek otomatik sistemlere kadar değişebilen sistemler bulunmaktadır.

Çizelge 2.6. Gıda maddelerinde şartlı izin verilen koruyucu maddeler (TGK-Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddeleri Maximum Limitleri)

EK–3
Şartlı İzin Verilen Koruyucular ve Antioksidanlar

BÖLÜM A
Sorbatlar, benzoatlar ve p-hidroksibenzoatlar

1- Bazı fermente ürünlerde İyi Üretim Uygulamalarına/GMP uygun olarak yapılan fermantasyon nedeniyle ***benzoik asit*** bulunabilir.
2- Aşağıdaki maddelerin seviyeleri serbest asit cinsinden ifade edilmiştir.
3- Maksimum miktarlar, üretici tarafından verilen kullanım talimatına göre hazırlanmış tüketime hazır gıdalar için verilmiştir.

	Gıda Maddesi	**En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)**					
		Sa[(1)]	**Ba[(2)]**	**PHB[(3)]**	**Sa+Ba[(4)]**	**Sa+PHB[(5)]**	**Sa+Ba+PHB[(6)]**
1	Aromatize şarap bazlı içkiler	200					
2	Alkolsüz içecekler (Süt bazlı içecekler hariç)	300	150		250Sa+150Ba		
3	Sıvı çay konsantreleri, sıvı meyve ve bitki infüzyon konsantreleri				600		
4	Sakramental kullanımlar için fermente edilmemiş üzüm suyu				2000		
5	Şarap, alkolsüz şarap, meyve şarabı, alkolsüz meyve şarabı, Elma ve armut şarabı (alkolsüzler de dahil)	200					
6	Sød ..... Saft or sødet ..... Saft	500	200				
7	Alkolsüz fiçı birası		200				
8	Bal likörü	200					
9	Hacmen %15 den az alkol içeren distile alkollü içkiler	200	200		400		
10	Mantı, ravioli ve benzeri ürünlerde kullanılan dolgu maddeleri	1000					
11	Düşük şekerli reçeller, jöle, marmelatlar ve benzeri düşük kalorili veya şekersiz ürünler ve diğer meyve bazlı sürülebilir ürünler, Mermeladas		500		1000		
12	100 g ve altı ile 5 kg ve üzeri ağırlıklarda ısıl işlem yapılamayan ambalajlardaki tüm reçel, jöle ve marmelatlar			10			

Çizelge 2.6. (devam)

13	Üstü şeker ile kaplanmış, kristalize edilmiş ve parlatılmış meyve ve sebzeler				1000		
14	Kurutulmuş meyveler	1000					
15	Frugtgrød ve Rote Grütze	1000	500				
16	Meyve ve sebze preparatları (meyve bazlı soslar dahil) (teneke veya cam konservede püre, mousse/pudding, komposto, salata ve benzeri ürünler hariç)	1000					
17	Sirke, salamura veya yağ içindeki sebzeler (zeytin hariç)				2000		
18	Patates hamuru ve ön kızartma yapılmış patates dilimleri	2000					
19	Gnocchi	1000					
20	Polenta	200					
21	Zeytin ve zeytin bazlı ürünler	1000	500		1000		
22	Pişirilmiş, kürlenmiş veya kurutulmuş et ürünleri için jöle kaplamalar, pate					1000	
23	Kurutulmuş et ürünlerinin yüzey uygulamalarında kullanılan maddeler						QS
24	Balık yumurtası ürünleri de dâhil olmak üzere kısmen yarı korunmuş balık ürünleri				2000		
25	Tuzlanmış, kurutulmuş balık				200		
26	Pişirilmiş çalı karidesi (Crangon crangon ve Crangon vulgaris)				6000		
27	Ön paketlenmiş, dilimlenmiş peynir	1000					
28	Olgunlaştırılmamış peynir	1000					
29	İşlenmiş peynir	2000					
30	Dilimlenmiş peynir ve farklı gıdalar ilave edilmiş peynirler	1000					
31	Isıl işlem uygulanmamış süt bazlı tatlılar				300		
32	Teleme	1000					
33	Sıvı yumurta (beyaz, sarı veya bütün)				5000		
34	Kurutulmuş, konsantre edilmiş, dondurulmuş ve derin dondurulmuş yumurta ürünleri	1000					
35	Ön paketlenmiş dilimli ekmek ve çavdar ekmeği	2000					
36	Perakende olarak satılmak üzere, kısmen pişirilmiş, ön paketlenmiş fırıncılık ürünleri ve enerjisi azaltılmış ekmek	2000					
37	Su aktivitesi 0,65'den fazla olan hafif fırıncılık ürünleri	2000					
38	Tahıl veya patates bazlı çerezler ve kaplanmış sert kabuklu meyveler					1000 (maksimum 300 PHB)	
39	Sütlü, yumurtalı hamurlar	2000					
40	Şekerlemeler (çikolata hariç)						1500 (maksimum 300 PHB)
41	Sakız				1500		

Çizelge 2.6. (devam)

42	Süsleme ve kaplama maddeleri (krep şurupları, milkşeyk ve dondurma için aromalandırılmış şuruplar ve benzeri ürünler)	1000					
43	% 60 veya daha fazla yağ içeren yağ emülsiyonları (tereyağı hariç)	1000					
44	% 60 dan az yağ içeren yağ emülsiyonları	2000					
45	% 60 veya daha fazla yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar	1000	500		1000		
46	% 60'dan az yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar	2000	1000		2000		
47	Emülsifiye edilmemiş soslar				1000		
48	Hazır salatalar				1500		
49	Hardal				1000		
50	Çeşni verici maddeler				1000		
51	Sıvı çorba ve et/tavuk/balık suları (konserveler hariç)				500		
52	Aspic	1000	500				
53	Bebek ve küçük çocuk gıdaları hariç olmak üzere "TGK – Özel Tıbbi Amaçlı Diyet Gıdalar Tebliği" ve "TGK – Kilo Verme Amaçlı Enerjisi Kısıtlanmış Gıdalar Tebliği" kapsamında yer alan ürünler				1500		
54	.... Mehu ve Makeuettu .... Mehu	500	200				
55	Et, balık, kabuklular ve kafadan bacaklıların analogları ile protein bazlı peynirler	2000					
56	Dulce de membrillo		1000				
57	Marmelada				1500		
58	Ostkaka	2000					
59	Pahsa	1000					
60	Semmelknödelteig	2000					
61	Peynir ve peynir analogları (sadece yüzey uygulamaları)	QS					
62	Pişmiş kırmızı pancar		2000				
63	Su aktivitesi 0,60'dan fazla olan kolajen bazlı kılıflar	QS					
64	Aromalar				1500		
65	Pişirilmiş kabuklular ve yumuşakçalar		1000		2000		
66	Sıvı formdaki gıda takviyeleri				2000		
67	Şalgam Suyu		200				

Not; 1- E 200 Sorbik asit, E 202 Potasyum sorbat ve E 203 Kalsiyum sorbat "Sa" olarak kısaltılmıştır.

2- E 210 Benzoik asit, E 211 Sodyum benzoat, E 212 Potasyum benzoat ve E 213 Kalsiyum benzoat "Ba" olarak kısaltılmıştır.

3- E 214 Etil p-hidroksibenzoat, E 215 Sodyum etil p-hidroksibenzoat, E 218 Metil p-hidroksibenzoat ve 219 Sodyum metil p-hidroksibenzoat "PHB" olarak kısaltılmıştır.

4- Sa + Ba: Sa ve Ba tek veya birlikte kullanılabilir anlamındadır.

5- Sa + PHB: Sa ve PHB tek veya birlikte kullanılabilir anlamındadır.

6- Sa + Ba + PHB: Sa, Ba ve PHB tek veya birlikte kullanılabilir anlamındadır.

7-QS; Herhangi bir en yüksek düzeyin belirtilmediği, ancak istenilen etkinin sağlanılabildiği en küçük miktar, belirlenmemiş miktar. (www.kkgm.gov.tr)

2.8. GIDA KATKI MADDELERİNİN KODLANMASI

Gıda maddelerinin hangi katkı maddelerini içerdiğinin bilinmesi ve insan sağlığına zarar verecek kural dışı uygulamaları önlemek için, bu maddelerin ambalaj üzerinde bildirilmesi uluslar arası düzenlemelerin getirdiği bir kuraldır.
E kodu, her bir gıda katkı maddesini tanımlamak ve bir karmaşaya yer vermemek için kullanılan ve Avrupa Birliği (EC) simgesi olarak E harfi ve 3 veya 4 basamaklı sayıdan oluşan bir kodlama sistemidir. Bu sistemde Nitrit ve nitratlar (E250, E251), Sorbik asit (E200), Benzoik Asit (E 210), Sodyum benzoat (E211), Potasyum benzoate (E212), kalsiyum benzoate (E213), Etilhidroksi benzoat (E214), Propylhidroksi benzoat (E216), Metilhidroksi benzoat (E218) ve Askorbik asit (E300) olarak gösterilmektedir (Anonim 1997a).

2.9. GIDA KATKI MADDELERİNİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİSİ

Bazı gıda katkı maddelerinin sebep olduğu düşünülen sağlık problemleri arasında dikkat eksikliği bozukluğu, hiperaktivite sendromu bulunduğu belirtilmektedir. Bu teori 1970'li yıllarda popüler olmasına rağmen, genetik farklılık ve yatkınlıklar dikkate alınmadan yapılan kontrollü çalışmalar sonunda gıda renklendiricilerinin çocuklarda hiperaktiviteye veya öğrenme bozukluklarına sebep olduğuna dair bir kanıt bulunamamıştır. Ancak alerji, astım, davranış bozuklukları, baş ağrısı, migren, cilt problemleri, uyku problemleri bazı gıda katkı maddelerinin neden olduğu sağlık problemleri arasında gösterilmektedir.

Bilindiği gibi gıda katkı maddesi olarak kullanılan nitrit ve nitratlar (E250, E251), kansere sebep olan nitrozaminleri oluşturmaktadır. Ayrıca bunlar kanın oksijen taşıma kapasitesini de azaltmaktadır. Bu olumsuzluklara karşılık olarak ürünlerde bu katkıların kullanılmaması (yasaklanması) yönünde görüşler ortaya çıkmıştır. Ancak bazı araştırmacılar, sucuk ve salam gibi işlenmiş et ürünlerinde nitrit kullanılması yasaklanırsa, pek çok et ürününün piyasadan kalkacağını, dolayısıyla hayvan üreticisinin, et teknolojisinin, insan beslenmesinin ve genel

ekonominin önemli ölçüde zarara uğrayacağını iddia etmektedir. Nitritsiz üretilecek et ürünlerinin kötü renkte ve lezzetsiz olacağı, dayanma sürelerinin azalacağı ve dolayısıyla gıda zehirlenmeleri yoluyla sağlık problemlerinin ortaya çıkacağı endişesi dile getirilmektedir. Bu durumda belirtilen olumsuzluğu gidermek için nitrit kalıntısını ve nitrozamin oluşmasını azaltacak yöntemlerin araştırılmasına başlanmıştır. Araştırmalar sonucunda tokoferoller, askorbik asit ve lâktik asit ile bazı bakterilerin nitrozamin oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Ülkemizde 1970'li yıllarda yapılan çalışmalarda, işlenmiş et ürünlerinde izin verilenin çok üzerinde nitrit kullanıldığı tespit edilirken, son çalışmalarda daha iyi sonuçlar alınmıştır. Nitrat ve nitritler bazı bünyelerde baş ağrısı ve kurdeşene sebep olabileceği belirtilmektedir. Astım, deri döküntüsü ve hiperaktiviteye sebep olabilen bir diğer koruyucu katkı maddesi benzoik asittir. Türkiye'de üretilen bazı meyve sularında benzoik asit miktarının izin verilen değeri aştığı tespit edilmiştir.

Gıda katkı maddesi olarak kullanılan sülfitler; çeşitli alerjik reaksiyonlara, ayrıca kurdeşen, göğüste sıkışma, karında kramp, ishal, kan basıncı düşmesi, halsizlik gibi durumlara yol açtığı belirtilmektedir. Birçok lokantanın salata soslarında yüksek miktarda sülfit bulunduğu ifade edilmektedir. Sık kullanılan bir suni tatlandırıcı olan aspartam; hassas kişilerin göz kapaklarında, dudak, el veya ayaklarında şişmeye sebep olabilir. Ancak, bunların görülme sıklığı azdır. Monosodyum glutamat, özellikle Uzak Doğu ve Türk mutfaklarında değişik gıdalarda lezzet artırıcı olarak kullanılmaktadır. Vücudunda fazla miktarda monosodyum glutamat alınmasıyla oluşan reaksiyona "Çin Restorantı Sendromu"denir. Bu, baş ağrısı, bulantı, ishal, terleme, göğüste sıkışma ve boyun arkasında yanmaya sebep olur. Renklendiriciler hassas kişilerde deri döküntüleri ve astım gibi alerjik reaksiyonlara yol açabilir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada incelenen 25 şekerleme örneğinin 11'inde izin verilmeyen renklendiricilere rastlanmıştır (İhsanoğlu, İ.H., 2004).

Mikroorganizmalar doğada yaygın olarak bulunduklarından dolayı mikroorganizmaların gıdalara bulaşmasını önlemek imkânsızdır (Hobbs ve

Roberts, 1987). Bu nedenle kimyasal koruyucular gıda ürünlerinin mikrobiyal bozulmalara getirdikleri sınırlamalar ve raf ömrünü uzatma yönündeki etkileri ile ön plana çıkmaktadır (Han, J.; Floros,1998).

Koruyucu maddelerle muhafaza gıdalara işleme, depolama ve paketleme aşamalarında katkı maddeleri ilave edilerek mikroorganizma gelişmesi sınırlandırılır. Bu katkı maddelerinin kullanımı çeşit ve doz açısından ülkelere göre değişen belli hükümlere bağlanmıştır. Sorbik asit ve sorbatlar, benzoik asit ve benzoatlar, asetik asit ve asetatlar, laktik asit ve asetatlar, nitrit ve nitratlar, antibiyotikler, bakteriyosinler bu grubun yaygın örnekleridir (Delves-Broughton,J., 1990, Mıhyar, G.H. ve ark. 1999, Tfouni ve Toledo 2002).

Gıda katkı maddesi kullanımında sınırlamaların söz konusu olduğu ürün gruplarının başında fermente ürünler gelmektedir. Özellikle beslenmedeki önemi, insan sağlığını koruyucu ve tedavi edici özellikleri nedeniyle tüketimi hızla artan fermente sütlerin üretiminin disiplin altına alınması için, bilimsel gerçekler ile Kodeks Alimentarius Komisyonu'nun kararları göz önüne alınarak Avrupa Birliği direktiflerine uygun olarak hazırlanan tebliğe göre; yoğurt ve ayran ürünlerinde herhangi bir katkı maddesi kullanımı yasaklanmıştır. Bu tebliğ ile fermente süt ürünleri üreten ve satan işyerlerinin, bir yıl içerisinde tebliğ hükümlerine uymaları mecburiyeti getirilmektedir (Anonim, 2005b).

Avrupa Birliği'ne (AB) uyum çerçevesinde Tarım Bakanlığının gıda katkı maddeleri ve etiketleme işlemlerini AB standartlarına uyumlu hale getirme çalışmaları kapsamında tatlandırıcılar ve renklendiriciler için kullanılan katkı maddeleri artık AB standardında üretilecektir. Halkın gıda güvenliğini garanti altına almayı hedefleyen bu karar ile katkı maddelerinin gıdalarda kullanımına yeni kriterler getirilmiş olmaktadır. Özel tıbbi amaçlı bebek ve çocuk gıdalarındaki katkı maddelerinin kullanımı da bir kurala bağlanarak ayrıca un ağartıcısı ve yoğurtlarda kullanılan sorbat ve benzoat maddelerinin kullanımı da yasaklanmaktadır. Uygulama aynı zamanda gıdaların üretim ve son kullanma tarihlerini de kesin bir denetime bağlanmakta, buna ek olarak etiketleme ve

işaretleme kuralları ile tüketicinin yanlış yönlendirmesine veya bilgilenmesine neden olabilecek ifadeler için yeni düzenlemeler getirmektedir (Anonim, 2005a).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Bu araştırmada materyal olarak Diyarbakır'da satışa sunulan gıda ürünleri (yoğurt, beyaz peynir, kaşar peyniri, örüklü peynir, ketçap, mayonez, ayran, meyve suyu, bitkisel margarin, gazlı içecek, ekmek ve reçel) kullanılmıştır. Ele alınan 12 gıda örneğinden meyveli yoğurt için farklı 2 firmadan diğer ürünler için farklı 5 firmadan alınan toplam 57 üründe benzoik ve sorbik asit tayini yapılmıştır. Ele alınan gıda ürünlerinin üretim tarihleri ve kullanım süreleri ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Gıda ürünlerinin kullanım süreleri ve Üretim Yerleri

Ürün Adı	Üretim Yeri	Üretim Tarihi	Son Kullanma Tarihi
Yoğurt			
1. örnek	Lüleburgaz/Kırklareli	-	15.01.2010
2. örnek	Pınarbaşı/İzmir	-	15.01.2010
3. örnek	İstanbul	-	18.01.2010
4. örnek	Bursa	-	19.01.2010
5. örnek	Lüleburgaz/Kırklareli	-	31.12.2009
Meyveli Yoğurt			
1. örnek	Lüleburgaz/Kırklareli	-	22.01.2010
2. örnek	İstanbul	-	17.02.2010
Beyaz Peynir			
1. örnek	Adana	18.09.2009	18.09.2010
2. örnek	Konya	24.10.2009	24.10.2010
3. örnek	Yozgat	10.10.2009	10.04.2010
4. örnek	İstanbul	-	Eylül 2010
5. örnek	Uşak	13.10.2009	13.04.2010
Diğer Peynir (kaşar,örgü,tel)			
1. örnek	Konya	01.11.2009	01.07.2010
2. örnek	Osmaniye	15.11.2009	15.11.2010
3. örnek	Tekirdağ	-	06.05.2010
4. örnek	Karlıdağ	-	16.05.2010
5. örnek	Lüleburgaz	29.09.2009	29.03.2010

Çizelge 3.1. (Devam)

Ketçap			
1. örnek	İstanbul	11.08.2009	11.02.2011
2. örnek	Çorlu/Tekirdağ	-	07.07.2010
3. örnek	Turgutlu/Manisa	-	20.07.2010
4. örnek	Pınarbaşı/İzmir	-	03.03.2010
5. örnek	Sakarya	-	15.07.2010
Mayonez			
1. örnek	Bursa	30.05.2009	30.05.2010
2. örnek	Çorlu/Tekirdağ	-	16.09.2010
3. örnek	Turgutlu/Manisa	-	27.07.2010
4. örnek	Pınarbaşı/İzmir	-	30.09.2010
5. örnek	Sakarya	-	16.07.2010
Ayran			
1. örnek	Istanbul	-	10.02.2010
2. örnek	Bursa	-	11.02.2010
3. örnek	İzmir	-	10.02.2010
4. örnek	İstanbul	-	10.02.2010
5. örnek	Lüleburgaz	-	12.02.2010
Meyve Suyu			
1. örnek	Sakarya	-	
2. örnek	Tokat	-	
3. örnek	İstanbul	25.10.2009	25.10.2010
4. örnek	Eskişehir	Mayıs 2009	Mayıs 2010
5. örnek	Bursa	23.09.2009	23.10.2010
Bitkisel Margarin			
1. örnek	Çorlu/Tekirdağ	-	06.05.2010
2. örnek	Adana	-	18.02.2010
3. örnek	Adana	-	02.02.2010
4. örnek	Istanbul	-	26.03.2010
5. örnek	Adana	-	20.04.2010
Gazlı İçecek			
1. örnek	Levent/İstanbul	-	12.09.2010
2. örnek	Ümraniye/İstanbul	05.03.2010	05.09.2010
3. örnek	Ümraniye/İstanbul	15.03.2010	15.09.2010
4. örnek	Akyazı/Sakarya	28.01.2010	28.07.2010
5. örnek	Yakapınar/Adana	13.03.2010	13.07.2010
Ekmek			
1. örnek	Ümraniye/İstanbul	13.03.2010	13.07.2010
2. örnek	Ümraniye/İstanbul	-	08.04.2010
3. örnek	Aksaray	-	-
4. örnek	Diyarbakır	-	08.04.2010
5. örnek	Diyarbakır	02.04.2010	-
Reçel			
1. örnek	Karaman/Türkiye	-	-
2. örnek	Bolu/Türkiye	-	-
3. örnek	Gaziantep	Kasım 2009	Kasım 2010
4. örnek	Sincan/Ankara	-	04.05.2010
5. örnek	Bayrampaşa/istanbul	13.11.2009	13.11.2010

3.2. YÖNTEM

Gıdalarda kullanılan Benzoik Asit, Sorbik Asit ve bunların tuzlarının tespitine yönelik spektroskopik metodları da (Association of Offical Analytical Chemists (AOAC), 1995) içeren birçok metod vardır. Bunlar arasında gaz kromatografisi, sıvı kromatografisi ve elektrokinetik kapilar kromatografisi de vardır (Pant ve Trenerry,1995). Günümüzde yukarıda sayılanlar arasında gıdalarda ve içeceklerde en çok kullanılan metod ise HPLC ile tayin metodudur. (Mihyar ve ark., 1999; ferreira ve ark., 2000; Tfouni ve Toledo, 2002; Mota ve ark., 2003; Saad ve ark., 2005)

Bu çalışmaya konu olan benzoik asit ve sorbik asitin kantitatif tayininde HPLC cihazı kullanılmıştır. Ektraksiyon (örnek hazırlama) için NMKL, 1997 Metod No: 124 kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Analizlerin yapıldığı HPLC cihazı

Analizler yukarıda resmi görülen Agilent 1200 model HPLC cihazı ve yine aynı model diode-array dedektörde (HP 1200) gerçekleştirilmiştir. Dalga boyu tespiti için spectrum alınmış olup, spectrum aralığı 190-440 nm arası seçilmiştir. Daha sonra 3 boyutlu spectrumdan benzoik asit için maksimum absorbans

değerinin 226 nm, sorbik asit için ise 258 nm dalga boyu olduğu tespit edilmiştir. Kolon fırın (HP 1200) sıcaklığı 25^0C' ye ayarlanmış ve otomatik enjeksiyon (otosampler) (HP 1200) sistemi kullanılmıştır. Örneklerin enjeksiyonu 20 µl olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Çözeltiler, Kimyasallar ve Standart Maddeler

Analiz sırasında, aşağıda belirtilen analitik saflıktaki kimyasallar ve ultra saf su (direnç: 18.2 mΩ) kullanılmıştır.

- MeOH; (CAS NO : 67-56-1)-Merck
- Glasiyel Asetik Asit, d= 1,05 (CAS NO: 64-19-7)-Merck
- Sodyum Hidroksit, granül (CAS NO: 1310-73-2)-Merck
- Benzoik Asit % 99,9 saflıkta (CAS NO: 65-85-0)-Merck
- Sorbik Asit % 99 saflıkta (CAS NO: 110-44-1)-Fluka

Örnekler cihaza enjekte edilmeden önce 0.45 µm membran filtreden geçirilmiştir.

3.2.3. Kromatografik Koşullar

Benzoik asit ve sorbik asitin kromatografik ayrımı için ters fazlı C18 kolon (ACE,250 mm uzunluğunda, 4,6 mm dış çapında, 5 µm iç çapında) kullanılmıştır. Mobil faz olarak asetat tampon (pH=4.74) ve metanol karışımı (65:35) kullanılmıştır. gradient sistemde dakikada 0,8 ml akış hızında çalışmalar yürütülmüştür.

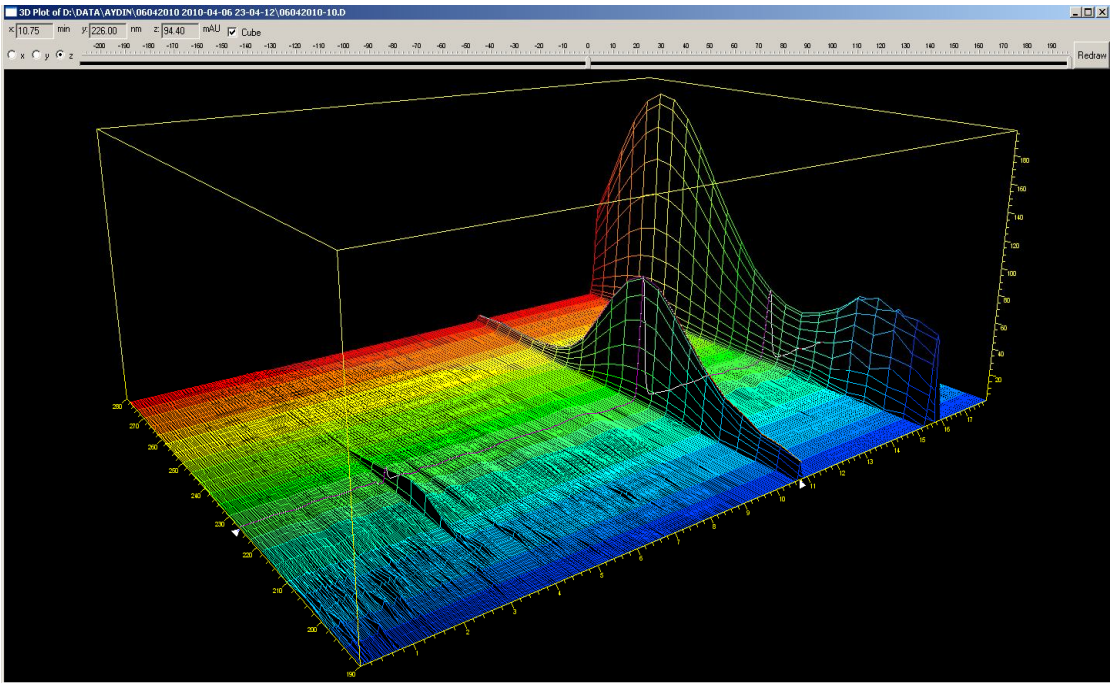
3.2.4. Örneklerin Ekstraksiyonu

Homojen hale getirilen örneklerin sıvı olanlarından 5 mL, katı olanlarından ise 5 g alınmış üzerine daha önce hazırlanmış olan MeOH:Su (35:65) karışımından 15-20 mL ilave edilmiş ve yaklaşık 1 dakika boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 100 mL'lik balon jojeye alınarak çizgisine MeOH:Su (35:65) ile tamamlanmıştır. Örneklerin 20-30 mL'si kaba filtre kâğıdından süzülmüş ve süzülen ilk 10 mL atılmış (olası safsızlıkları bertaraf etmek için) ve kalan kısım daha

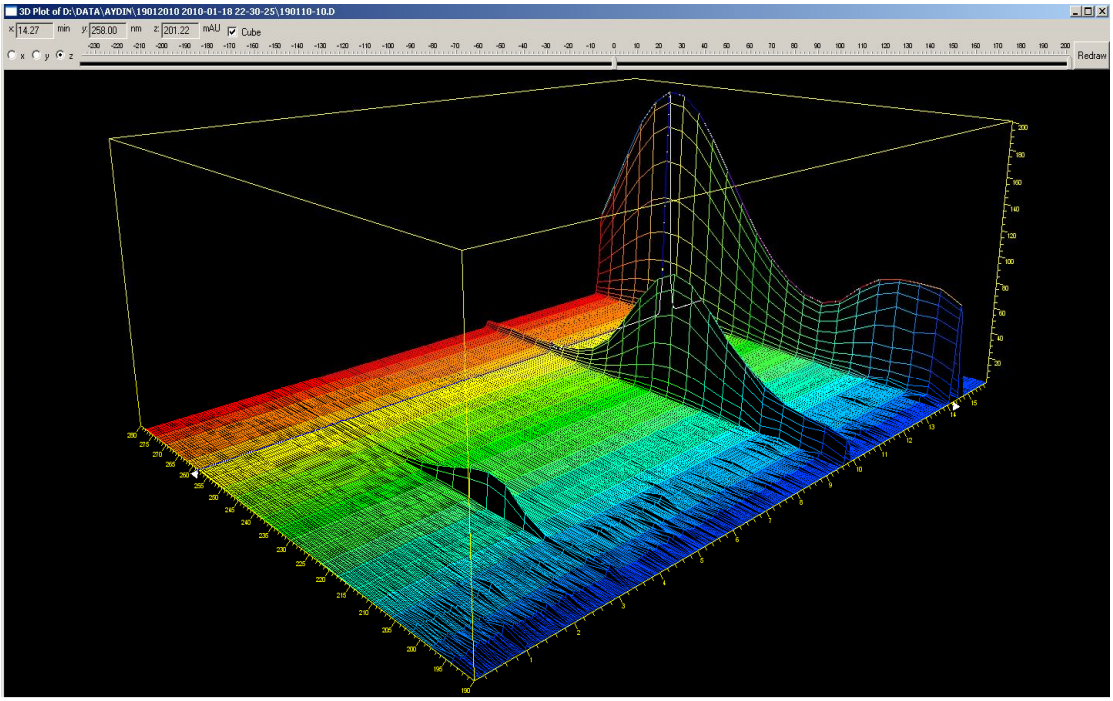
sonra 0.45 µm'lik membran filtreden geçirilmiş ve cihaza enjekte edilmişitir.

3.2.5. Diode-Array Dedektör ile Tespit

Benzoik asit ve sorbik asitin varlığı diode array dedektör ile tayin edilmiştir. Bu amaçla her iki standarttan 100'er mg alınarak, 35/65 metanol-su karışımında çözülerek standart stok çözelti (1000 mg/L) hazırlanmıştır. Stok çözeltiden seyreltmek usuluyle 0.1, 1, 5 ,10, 25, 50, 100 mg/L'lik standart kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Kantitasyon için öncelikle standartlar 20 µl hacimde enjekte edilerek standartların kolondan çıkış zamanları (RT) tespit edilmiştir. Çıkış zamanı Benzoik asit için 9,750. dakika, Sorbik asit için de 14,277. dakika olarak bulunmuştur.

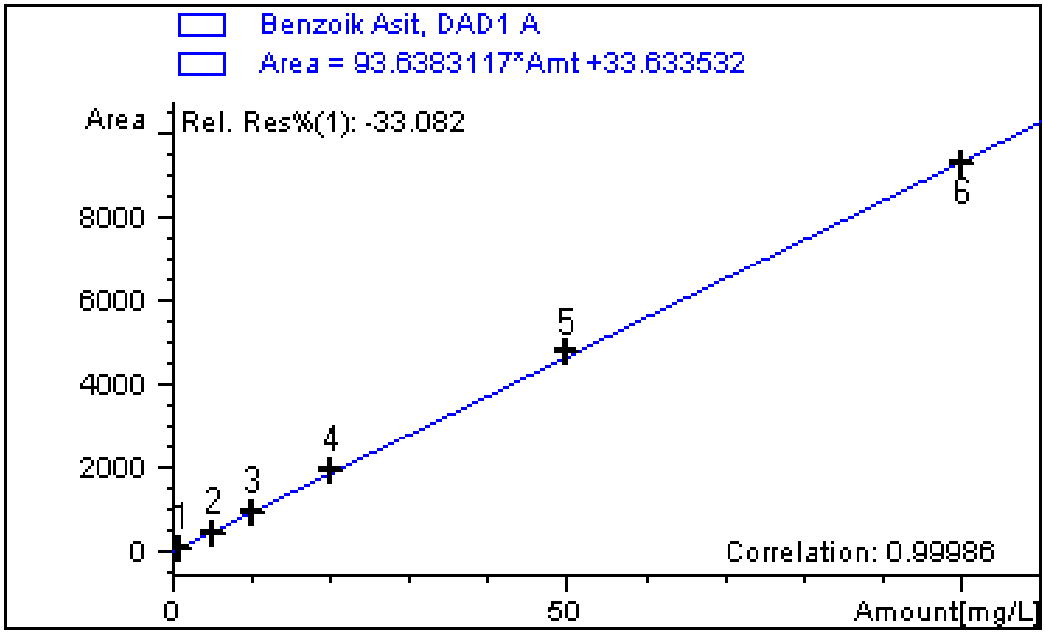


Şekil 3.3. Benzoik Asit için 3 boyutlu kromatogram

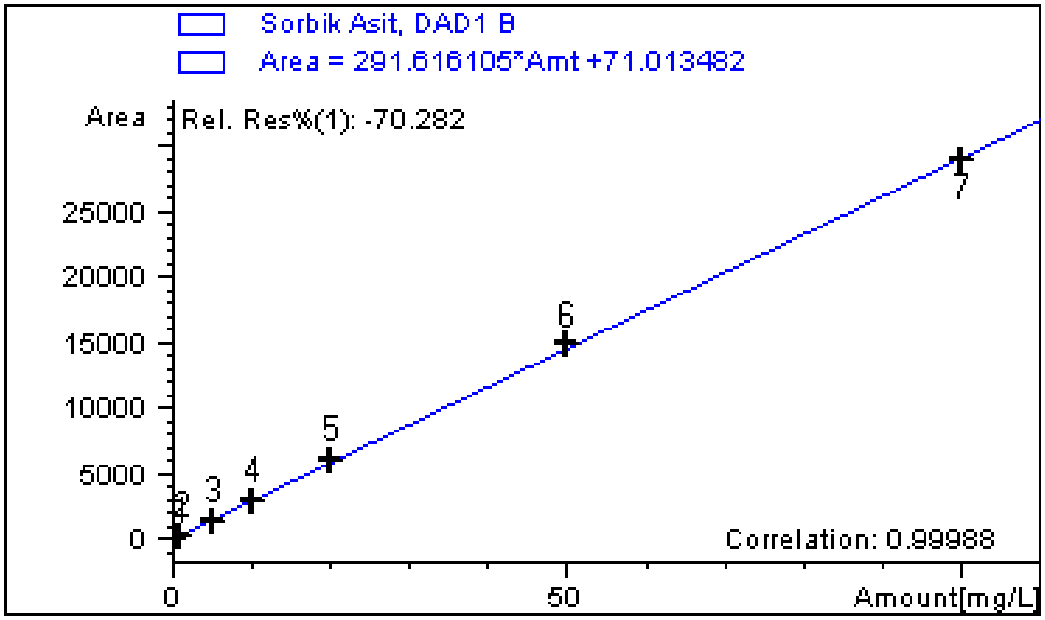


Şekil 3.4. Sorbik asit için 3 boyutlu kromatogram

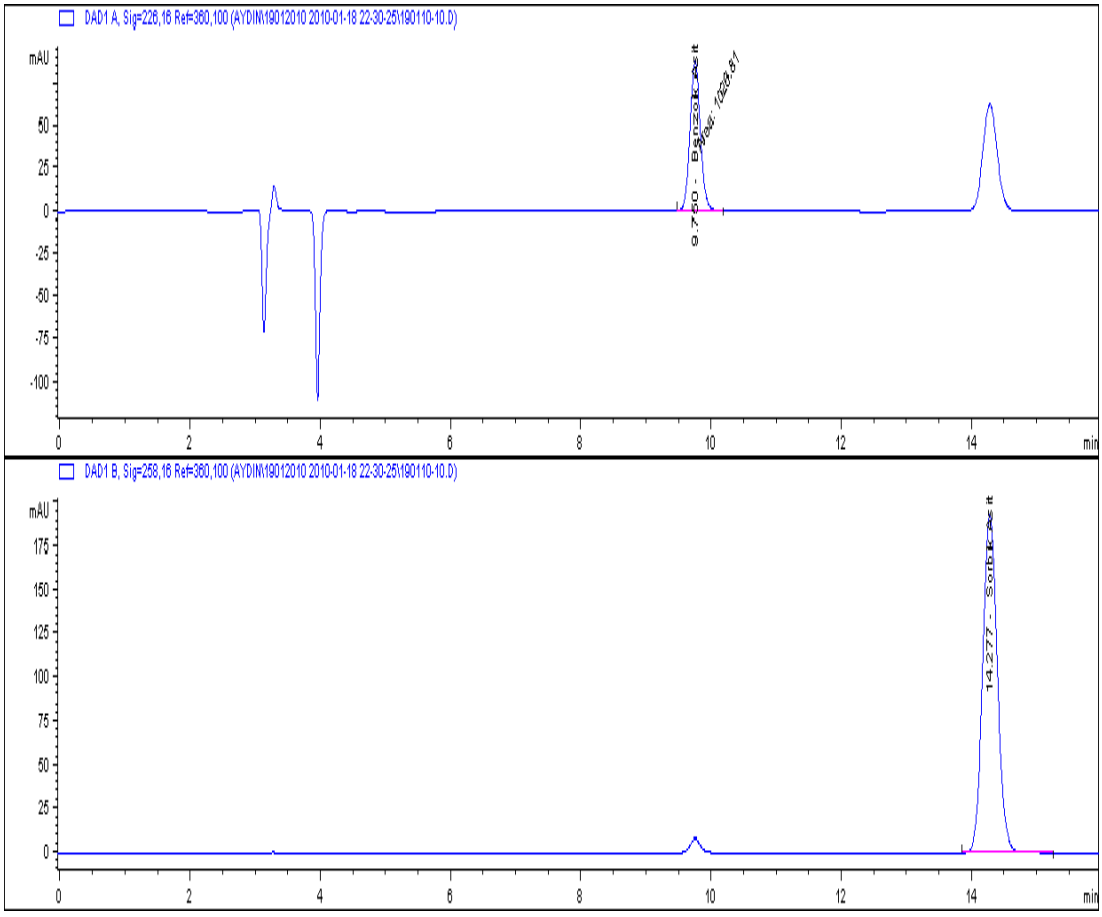
Benzoik asit için 1, 5, 10, 25, 50, 100 mg/L'lik standartlar ile kalibrasyon eğrisi çizilmiştir ve şekil 3.5.'te gösterilmektedir. Sorbik asit için ise 0.1, 1, 5, 10, 25, 50, 100 mg/L'lik standartlar ile kalibrasyon eğrisi çizilmiştir ve şekil 3.6.'da gösterilmektedir. Buna göre benzoik asit ve sorbik asite ait R^2 değerleri sırasıyla 0.99986 ve 0.99988 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.5. Benzoik Asit için kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.6. Sorbik Asit için kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.7. Benzoik Asit ve Sorbik asit için kramotogram

3 boyutlu olarak UV spektrumları alındıktan sonra örneklerin enjeksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bu bileşenlerin geliş zamanları ve spektrumları standartlar ile karşılaştırılmıştır. Çıkan piklerin saflıkları mevcut spektrumları ile kontrol edilmiş, böylelikle benzoik asit ve sorbik asitin tanımlanması gerek spektrumları gerekse geliş zamanları ile teyit edilmiştir.

3.2.6. SRM ile Doğrulama Çalışması

Metodun güvenilirliğinin teyidi için ayrıca, Tübitak-UME'den (Eylül 2009-Lab No:5) alınmış olan 'Ketçap Yeterlilik Test Numunesi' ile geri alma çalışması yapılmıştır. Bulunan değerler aşağıya çıkarılmıştır.

Çizelge 3.2. SRM (Yeterlilik Testi) Çalışması Sonuçları

SRM	Benzoik asit	Sorbik Asit
Gerçek Değer (ppm)	110.67	80.98
1.Analiz (ppm)	98.75	55.58
2.Analiz (ppm)	101.54	58.34
3.Analiz (ppm)	104.28	62.82
Ortalama değer	101.52	58,34
% Geri Kazanım	91.73	72.04
% Hata	8.27	27.96

3.2.7. Hesaplama

Kalibrasyon eğrisine göre örneklerin çözelti içindeki konsantrasyonları tespit edilip, seyreltme oranı, örnek miktarı ve geri kazanım oranı da dikkate alınarak hesaplama işlemi yapılmıştır.

Benzoik asit / Sorbik asit içeriği = mg/kg ya da mg/L

$$W = C \times \frac{V}{M} \times \frac{1}{R}$$

W = Örnekteki koruyucu madde içeriği (mg/kg yada mg/L)

C= Cihazdan okunan koruyucu madde içeriği (mg/L)

V = Örnek çözeltinin toplam hacmi (ml)

M= Örnek miktarı (gr yada ml)

R= Geri Kazanım

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. YOĞURT ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

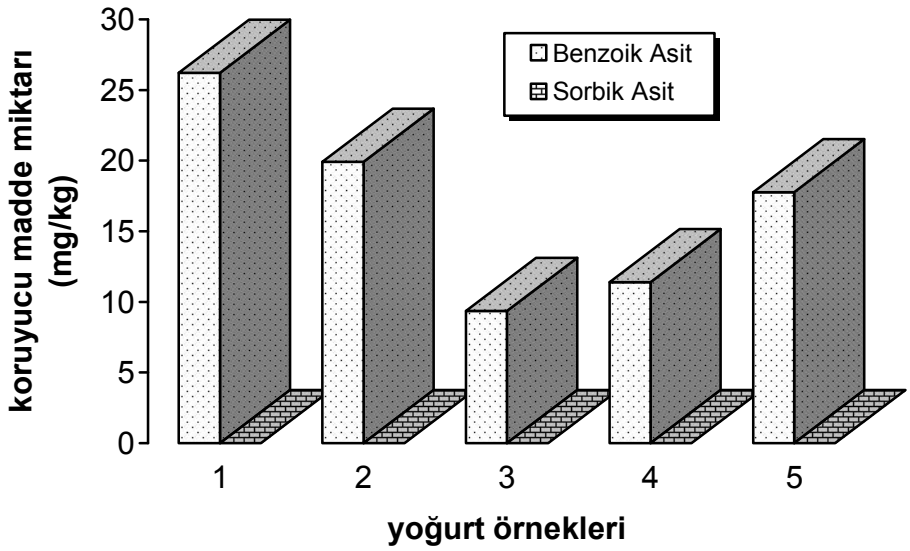
Çizelgede 4.2'de görüldüğü üzere analizi yapılan yoğurt numunelerinde sorbik asite hiç rastlanmazken, benzoik asit miktarıları 8.94-28.30 mg/kg arasında bulunmuştur. Yoğurt TGK'inde şartlı izin verilen koruyucular sınıfında bulunmamaktadır. Ancak çizelge 2.6'nın 1. maddesinde ***'Bazı fermente ürünlerde İyi Üretim Uygulamalarına/GMP uygun olarak yapılan fermantasyon nedeniyle benzoik asit bulunabilir'*** (www.kkgm.gov.tr) ifadesi, bulduğumuz benzoik asit miktarlarının nedenini açıklıyor olabilsede, benzoik asitin bu fermantasyon sonucundamı oluştuğu yoksa dışarıdan bilerek mi katıldığı belirsizdir. Ayrıca fermantasyon sonucunda ne kadar yoğurttan ne kadar benzoik asit oluşabildiği gibi bir bağıntıda söz konusu olmadığından, bulunan bu değerler üzerinden yorum yapmak zordur. Tfouni ve Toledo 2002'de yaptıkları bir çalışmada, yoğurt örneklerinde buldukları sorbik asit miktarı (126-213 mg/kg) kabul edilebilir sınır olarak belirttikleri 600 mg/kg'ın altında olmuştur.

Çizelge 4.1. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	**En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)**					
		Sa[1]	**Ba[2]**	**PHB[3]**	**Sa+Ba[4]**	**Sa+PHB[5]**	**Sa+Ba+PHB[6]**
!	Yoğurt TGK'sinde şartlı izin verilen koruyucular listesinde yer almamaktadır.						

Çizelge 4.2. Yoğurt örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	26.21	24.14	28.30	2.08
	2	3	19.92	18.55	21.41	1.43
Benzoik Asit	3	3	9.36	8.94	9.77	0.41
	4	3	11.40	10.75	11.92	0.60
	5	3	17.77	17.49	18.09	0.30
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Sorbik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.1. Yoğurt örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.2. MEYVELİ YOĞURT ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

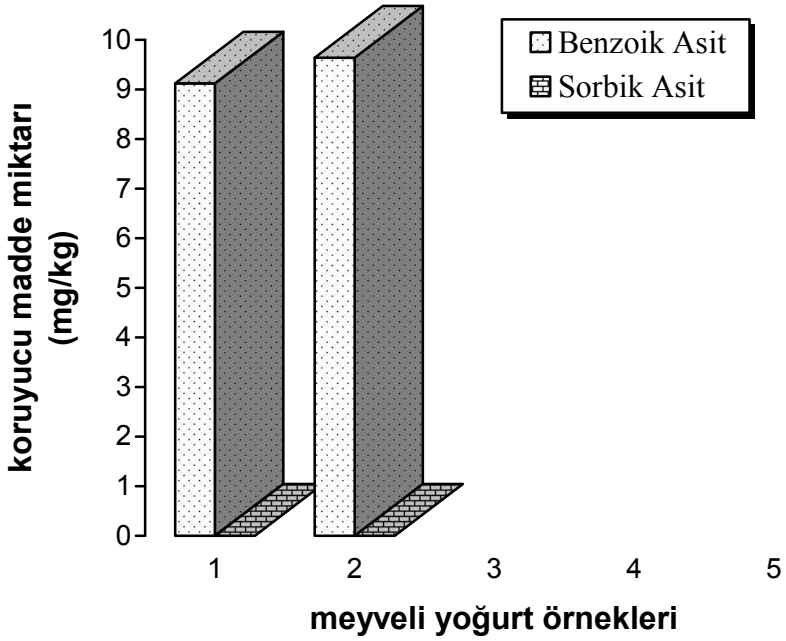
Çizelgede 4.4'te görüldüğü üzere analizi yapılan meyveli yoğurt numunelerinde sorbik asite hiç rastlanmazken, benzoik asit miktarıları 8.96- 9.79 mg/kg arasında bulunmuştur. Meyveli yoğurt TGK'ine göre şartlı izin verilen koruyucular sınıfında bulunmamaktadır. Ancak çizelge 2.6'nın 1.maddesinde ***'Bazı fermente ürünlerde İyi Üretim Uygulamalarına/GMP uygun olarak yapılan fermantasyon nedeniyle benzoik asit bulunabilir'*** (www.kkgm.gov.tr) ifadesi, bulduğumuz benzoik asit miktarlarının nedenini açıklıyor olabilsede, benzoik asitin bu fermantasyon sonucundamı oluştuğu yoksa dışarıdan bilerek mi katıldığı belirsizdir. Ayrıca fermantasyon sonucunda ne kadar meyveli yoğurttan ne kadar benzoik asit oluşabildiği gibi bir bağıntıda söz konusu olmadığından, bulunan bu değerler üzerinden yorum yapmak zordur.

Çizelge 4.3. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	**En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)**					
		Sa[1]	**Ba[2]**	**PHB[3]**	**Sa+Ba[4]**	**Sa+PHB[5]**	**Sa+Ba+PHB[6]**
!	Meyveli yoğurt TGK'sinde şartlı izin verilen koruyucular listesinde yer almamaktadır.						

Çizelge 4.4. Meyveli yoğurt örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	9.12	8.96	9.33	0.19
Benzoik Asit						
	2	3	9.79	9.49	9.79	0.15
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Sorbik Asit						
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.2. Meyveli yoğurt örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.3. AYRAN ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

Çizelgede 4.6'da görüldüğü üzere analizi yapılan ayran numunelerinde sorbik asite hiç rastlanmazken, benzoik asit miktarıları 1.54- 8.120 mg/kg arasında bulunmuştur. Ayran TGK'inde şartlı izin verilen koruyucular sınıfında bulunmamaktadır. Ancak çizelge 2.6'nın 1. maddesinde ***'Bazı fermente ürünlerde İyi Üretim Uygulamalarına/GMP uygun olarak yapılan fermantasyon nedeniyle benzoik asit bulunabilir'*** (www.kkgm.gov.tr) ifadesi,

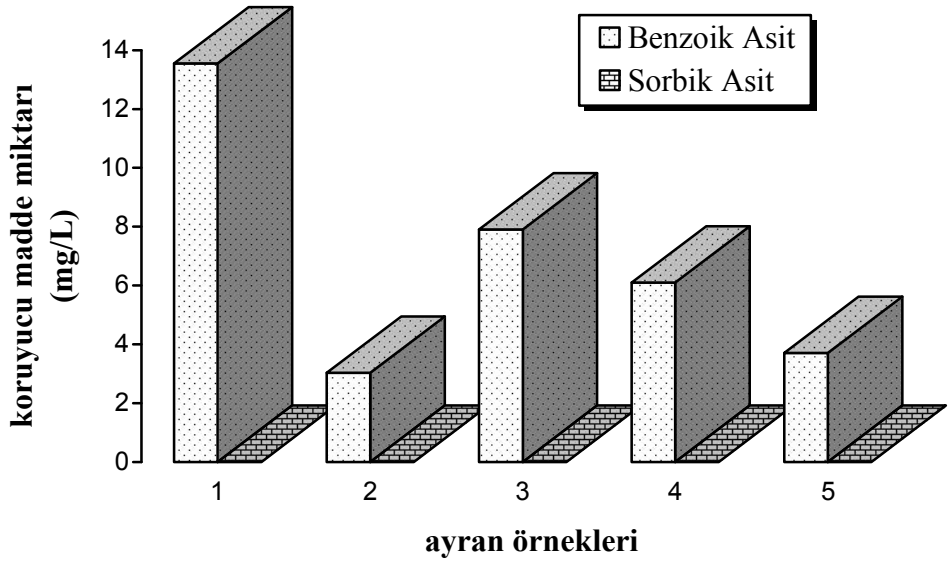
bulduğumuz benzoik asit miktarlarının nedenini açıklıyor olabilsede, benzoik asitin bu fermantasyon sonucundamı oluştuğu yoksa dışarıdan bilerek mi katıldığı belirsizdir. Ayrıca fermantasyon sonucunda ne kadar ayrandan ne kadar benzoik asit oluşabildiği gibi bir bağıntıda söz konusu olmadığından, bulunan bu değerler üzerinden yorum yapmak zordur.

Çizelge 4.5. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	**En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)**					
		Sa[1]	**Ba[2]**	**PHB[3]**	**Sa+Ba[4]**	**Sa+PHB[5]**	**Sa+Ba+PHB[6]**
!	Ayran TGK'sinde şartlı izin verilen koruyucular listesinde yer almamaktadır.						

Çizelge 4.6. Ayran örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	**Numune**	**N**	**Xort.**	**Min.**	**Max.**	**Std. Sapma**
	1	3	13.55	8.93	16.57	4.06
	2	3	3.03	2.40	3.36	0.54
Benzoik Asit	3	3	7.90	7.60	8.12	0.27
	4	3	6.10	3.34	7.68	2.40
	5	3	3.70	1.54	4.91	1.88
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Sorbik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.3. Ayran örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.4. BEYAZ PEYNİR ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

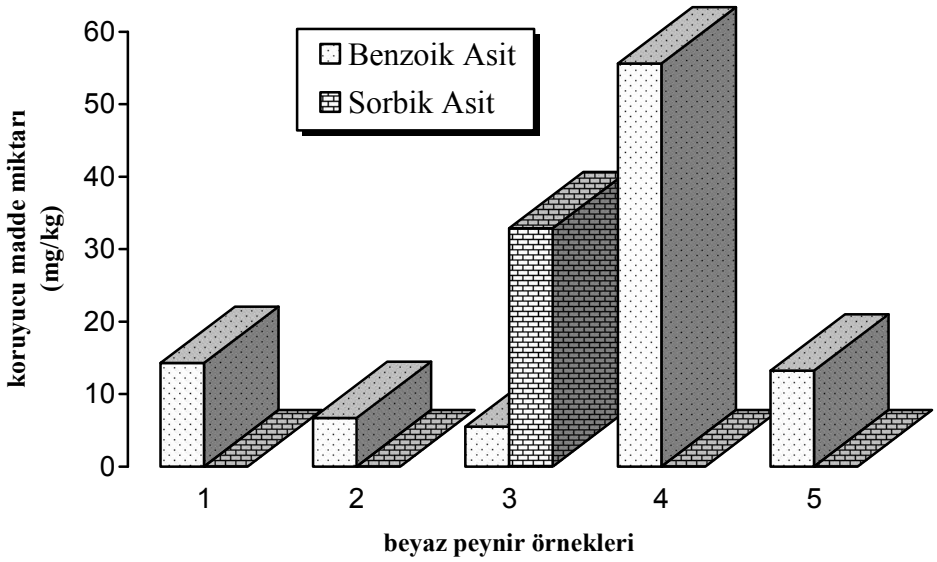
Çizelgede 4.8'de görüldüğü üzere analizi yapılan beyaz peynir numunelerinden birinde hem benzoik aside hem de sorbik aside rastlanırken, diğer 4 numunede sadece benzoik aside rastlanmıştır. Benzoik asit miktarı 4.69-56.77 mg/kg arasında bulunurken, sorbik asit miktarı 32.23-33.48 mg/kg bulunmuştur. TGK'ne göre peynirde izin verilen sorbik asit miktarı 1000 mg/kg iken Benzoik asitin bulunmaması gereklidir. Ancak çizelge 2.6'nın 1. maddesinde ***'Bazı fermente ürünlerde İyi Üretim Uygulamalarına/GMP uygun olarak yapılan fermantasyon nedeniyle benzoik asit bulunabilir'*** (www.kkgm.gov.tr) ifadesi, bulduğumuz benzoik asit miktarlarının nedenini açıklıyor olabilsede, benzoik asitin bu fermantasyon sonucundamı oluştuğu yoksa dışarıdan bilerek mi katıldığı belirsizdir. Ayrıca fermantasyon sonucunda ne kadar beyaz peynirden ne kadar benzoik asit oluşabildiği gibi bir bağıntıda söz konusu olmadığından, bulunan bu değerler üzerinden yorum yapmak zordur.

Çizelge 4.7. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)					
		Sa[1]	Ba[2]	PHB[3]	Sa+Ba[4]	Sa+PHB[5]	Sa+Ba+PHB[6]
27	Ön paketlenmiş,dilimlenmiş peynir	1000					
28	Olgunlaştırılmamış peynir	1000					
29	İşlenmiş peynir	2000					
30	Dilimlenmiş peynir ve farklı gıdalar ilave edilmiş peynir	1000					

Çizelge 4.8. Beyaz Peynir örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	14.29	12.81	15.74	1.47
	2	3	3.03	5.65	8.07	1.24
Benzoik Asit	3	3	5.49	4.69	6.10	0.73
	4	3	55.60	54.11	56.77	1.36
	5	3	13.21	8.75	15.78	3.87
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Sorbik Asit	3	3	32.87	32.23	32.90	0.63
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.4. Beyaz peynir örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.5. DİĞER PEYNİR ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

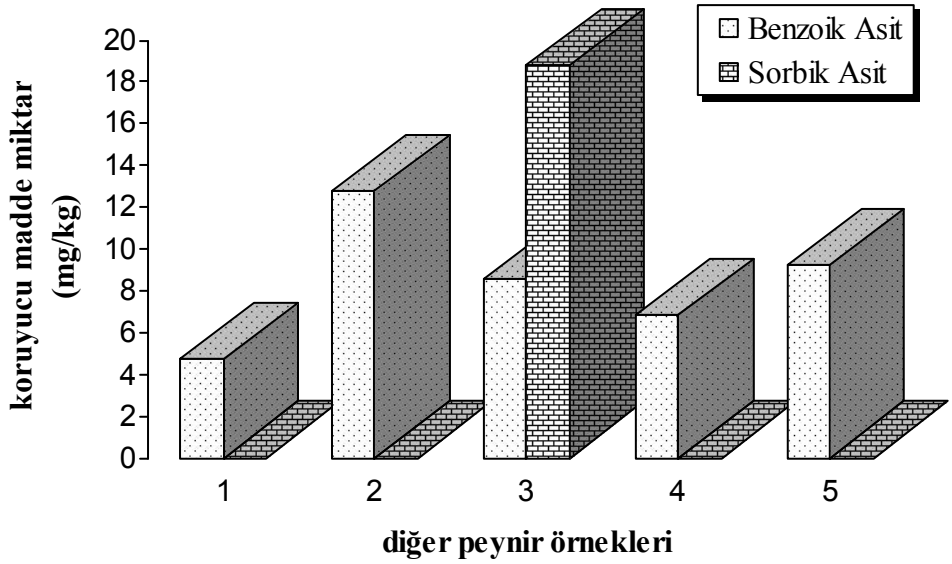
Çizelgede 4.10'da görüldüğü üzere analizi yapılan diğer peynir (kaşar,örgü,dil peyniri) numunelerinden birinde hem benzoik aside hem de sorbik aside rastlanırken, diğer 4 numunede sadece benzoik aside rastlanmıştır. Benzoik asit miktarı 3.46-15.52 mg/kg arasında bulunurken, sorbik asit miktarı 18.50-19.46 mg/kg bulunmuştur. TGK'ne göre peynirde izin verilen sorbik asit miktarı 1000 mg/kg iken Benzoik asitin bulunmaması gereklidir. Ancak çizelge 2.6'nın 1. maddesinde ***'Bazı fermente ürünlerde İyi Üretim Uygulamalarına/GMP uygun olarak yapılan fermantasyon nedeniyle benzoik asit bulunabilir'*** (www.kkgm.gov.tr) ifadesi, bulduğumuz benzoik asit miktarlarının nedenini açıklıyor olabilsede, benzoik asitin bu fermantasyon sonucundamı oluştuğu yoksa dışarıdan bilerek mi katıldığı belirsizdir. Ayrıca fermantasyon sonucunda ne kadar diğer peynir (kaşar,örgü,dil peyniri)'den ne kadar benzoik asit oluşabildiği gibi bir bağıntıda söz konusu olmadığından, bulunan bu değerler üzerinden yorum yapmak zordur. Dolayısıyla diğer peynir (kaşar,örgü,dil peyniri) numuneleri TGK'ne göre yasal sınırlar dışına çıkmış olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.9. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	**En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)**					
		Sa[1]	**Ba[2]**	**PHB[3]**	**Sa+Ba[4]**	**Sa+PHB[5]**	**Sa+Ba+PHB[6]**
27	Ön paketlenmiş,dilimlenmiş peynir	1000					
28	Olgunlaştırılmamış peynir	1000					
29	İşlenmiş peynir	2000					
30	Dilimlenmiş peynir ve farklı gıdalar ilave edilmiş peynir	1000					

Çizelge 4.10. Diğer Peynir (kaşar,örgü,dil peyniri) örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	4.74	4.61	4.93	0.15
	2	3	11.75	8.71	14.24	2.81
Benzoik Asit	3	3	7.88	5.08	9.68	2.46
	4	3	6.27	3.17	7.96	2.69
	5	3	8.44	6.22	10.84	2.31
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Sorbik Asit	3	3	18.85	18.50	19.46	0.53
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.5. Diğer peynir (kaşar,örgü,dil) örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.6. KETÇAP ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

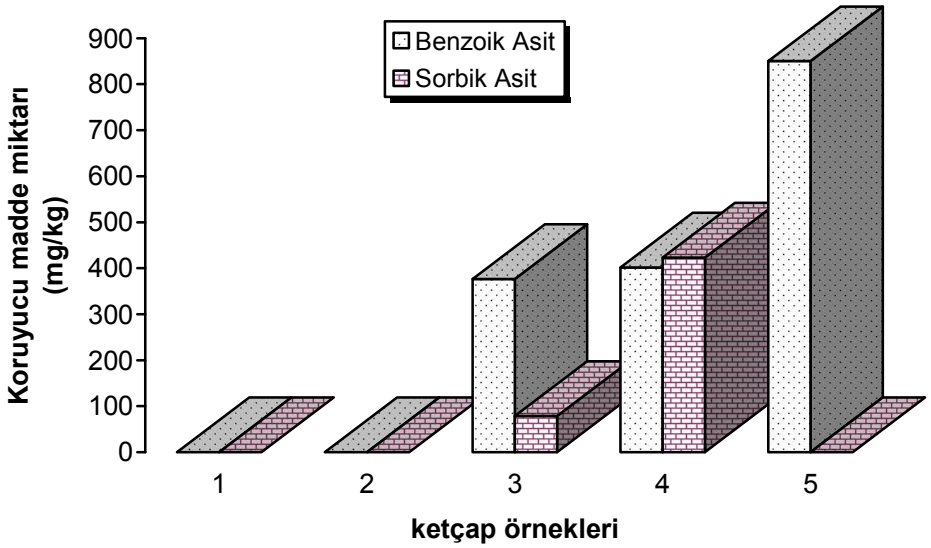
Çizelgede 4.12'de görüldüğü üzere analizi yapılan ketçap numunelerinden iki tanesi katkısız etiketli olup,yapılan çalışmalar sonucunda da bu numunelerde ne benzoik aside ne de sorbik aside rastlanmamıştır.Diğer 3 numuneden birinde sadece benzoik aside rastlanırken diğer ikisinde hem benzoik aside hem de sorbik aside rastlanmıştır.Bu numunelerde bulunan benzoik asit miktarı 365.77-874.44 mg/kg arasında bulunurken, sorbik asit miktarı 78.06-460.57 mg/kg arasında bulunmuştur.Bulunan bu değerler TGK'ne göre yasal sınırların (sorbik asit için 2000 mg/kg, benzoik asit için 1000 mg/kg) altında kalmaktadır.

Çizelge 4.11. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	**En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)**					
		Sa[(1)]	**Ba[(2)]**	**PHB[(3)]**	**Sa+Ba[(4)]**	**Sa+PHB[(5)]**	**Sa+Ba+PHB[(6)]**
46	% 60'dan az yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar	2000	1000		2000		

Çizelge 4.12. Ketçap örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	**Numune**	**N**	**Xort.**	**Min.**	**Max.**	**Std. Sapma**
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzoik Asit	3	3	376.84	365.77	397.11	17.58
	4	3	401.86	354.69	468.70	59.50
	5	3	850.12	809.96	874.44	35.04
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Sorbik Asit	3	3	78.63	78.06	78.68	0.50
	4	3	423.49	398.77	460.57	32.70
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.6. Ketçap örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.7. MAYONEZ ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

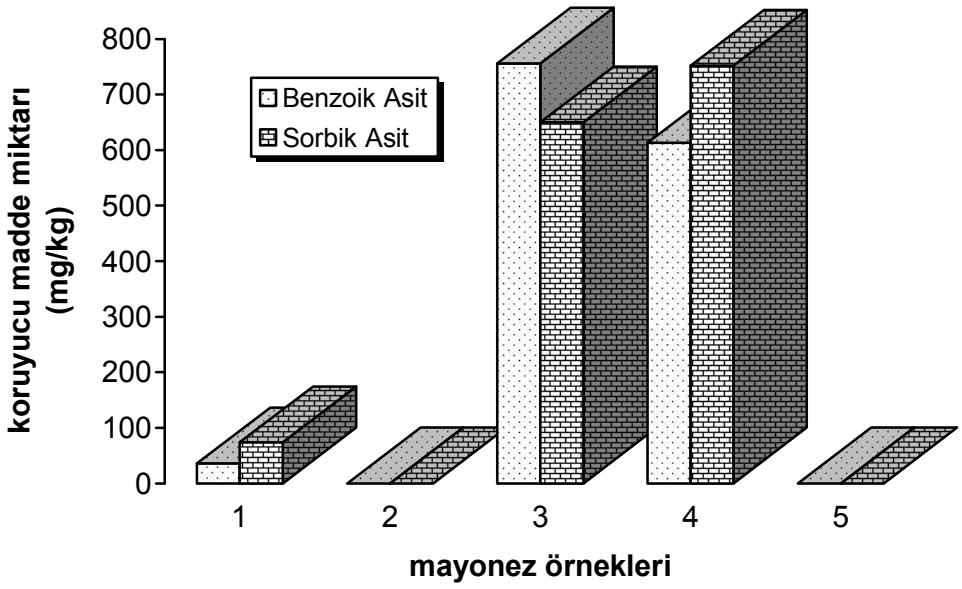
Çizelgede 4.14'te görüldüğü üzere analizi yapılan mayonez numunelerinden iki tanesi katkısız etiketli olup, yapılan çalışmalar sonucunda da bu numunelerden birinde ne benzoik aside ne de sorbik aside rastlanmazken, ***diğer katkısız etiketli numunede hem benzoik aside hem de sorbik aside rastlanmıştır***.Diğer 3 numuneden birinde ne benzoik aside ne de sorbik aside rastlanmazken, kalan 2 numunede hem benzoik aside hem de sorbik aside rastlanmıştır. Bu numunelerde bulunan benzoik asit miktarı 31.77-781.36 mg/kg arasında iken, sorbik asit miktarı 73.06-756.07 mg/kg arasında bulunmuştur. Çizelge 2.6'yı incelediğimizde mayonez (% 60 veya daha fazla yağ içeren emülsifiye edilmiş sos) için sorbik asit maximum limiti 1000 mg/kg iken benzoik asit için 500 mg/kg ve hem benzoik asit hem de sorbik asit kullanıldığında maximum limit 1000 mg/kg'dir. Bu çizelgeye göre, çalışmamızdaki 2 ürün TGK'ine göre yasal sınırlar dışına çıkmıştır.

Çizelge 4.13. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)					
		Sa[1]	Ba[2]	PHB[3]	Sa+Ba[4]	Sa+PHB[5]	Sa+Ba+PHB[6]
45	% 60 veya daha fazla yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar	1000	500		1000		

Çizelge 4.14. Mayonez örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	36.03	31.77	37.02	3.86
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzoik Asit	***3***	***3***	***755.73***	***697.02***	***781.36***	***50.98***
	4	***3***	***613.23***	***573.48***	***649.15***	***37.98***
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	1	3	74.03	73.06	75.81	1.55
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Sorbik Asit	***3***	***3***	***650***	***616.83***	***674.05***	***29.68***
	4	***3***	***752.06***	***746.09***	***756.07***	***5.27***
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.7. Mayonez örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.8. MEYVE SUYU ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

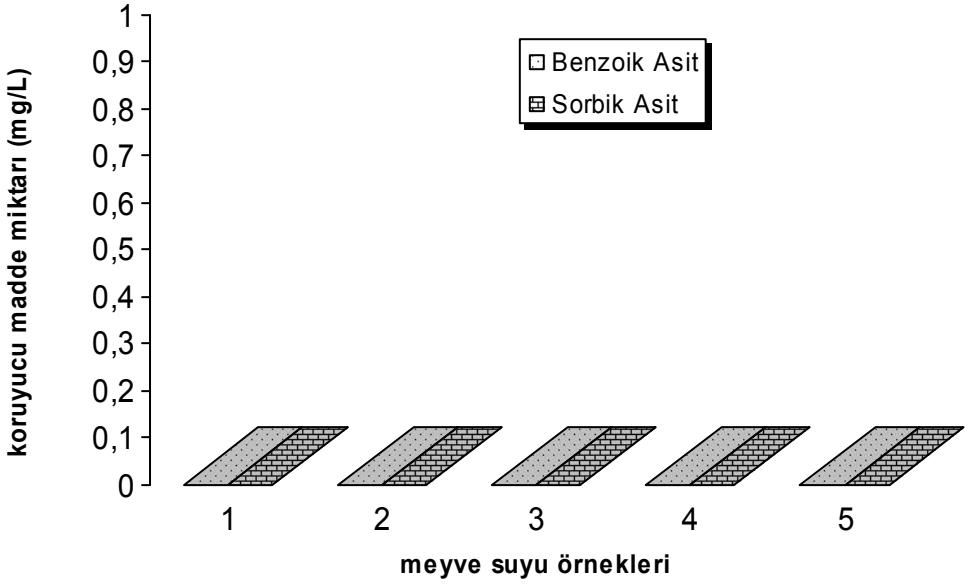
Çizelgede 4.16'da görüldüğü üzere analizi yapılan meyve suyu numunelerinden hiçbirinde ne benzoik aside ne de sorbik aside rastlanmamıştır. Bulunan bu değerler neticesinde meyve suyu örneklerinin TGK'ne uygun olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.15. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)					
		Sa[(1)]	Ba[(2)]	PHB[(3)]	Sa+Ba[(4)]	Sa+PHB[(5)]	Sa+Ba+PHB[(6)]
2	Alkolsüz içecekler (Süt bazlı içecekler hariç)	300	150		250Sa+150Ba		

Çizelge 4.16. Meyve Suyu örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzoik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Sorbik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.8. Meyve suyu örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.9. BİTKİSEL MARGARİN ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

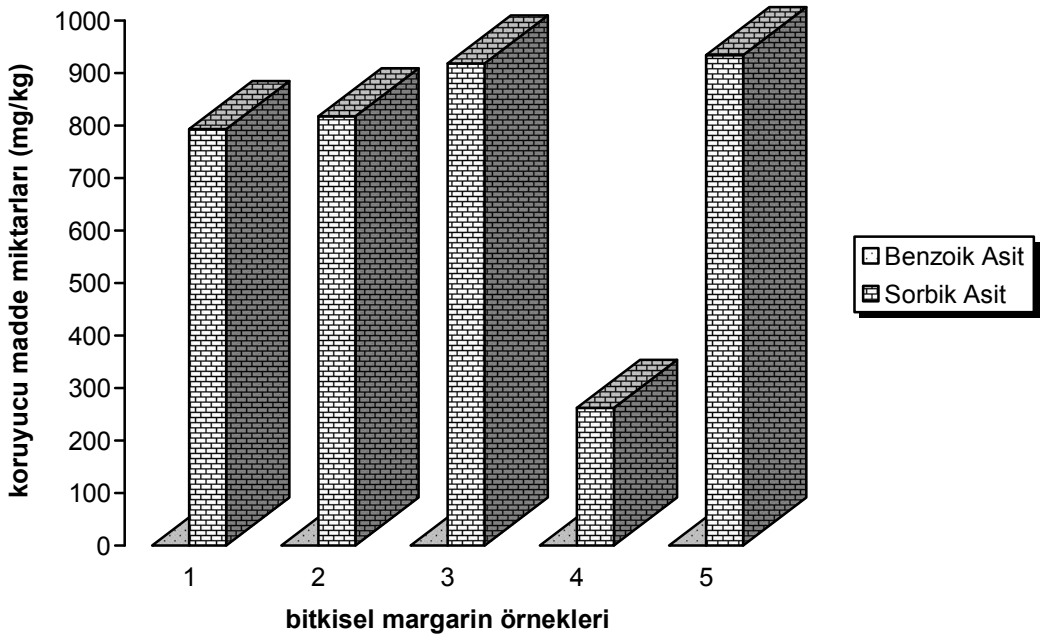
Çizelgede 4.18'de görüldüğü üzere analizi yapılan bitkisel margarin numunelerinden hiçbirinde benzoik aside rastlanmazken, sorbik asit miktarları 253.03-960.77 mg/kg arasında yer almıştır.Bulunan değerler TGK yasal sınırları (1000 mg/kg) içerisinde yer almıştır.Bursa'da yapılan benzer bir çalışmada (Nihan Koyuncu-2006) analizi yapılan margarin numunelerinde benzer şekilde benzoik aside rastlanmazken, sorbik asit miktarları 79.40-698.20 mg/kg olarak bulunmuştur. Kahvaltılık margarin örneklerinde yapılan başka bir çalışmada ise benzoik asit ve sorbik asit miktarları sırasıyla 506-1675 mg/kg ve 500-1190 mg/kg araştırma sonuçlarına göre oldukça yüksek bulunmuştur (Anonim 1996).

Çizelge 4.17. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)					
		Sa[1]	Ba[2]	PHB[3]	Sa+Ba[4]	Sa+PHB[5]	Sa+Ba+PHB[6]
43	% 60 ve daha fazla yağ içeren yağ emülsiyonları (tereyağı hariç)	1000					

Çizelge 4.18. Bitkisel Margarin örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzoik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	1	3	793.35	736.39	830.61	50.11
	2	3	817.66	764.40	853.51	47.04
Sorbik Asit	3	3	918.19	859.87	952.56	50.78
	4	3	262.11	253.03	273.16	10.21
	5	3	934.22	901.51	960.77	30.11



Şekil 4.9. Bitkisel margarin örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.10. GAZLI İÇECEK ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

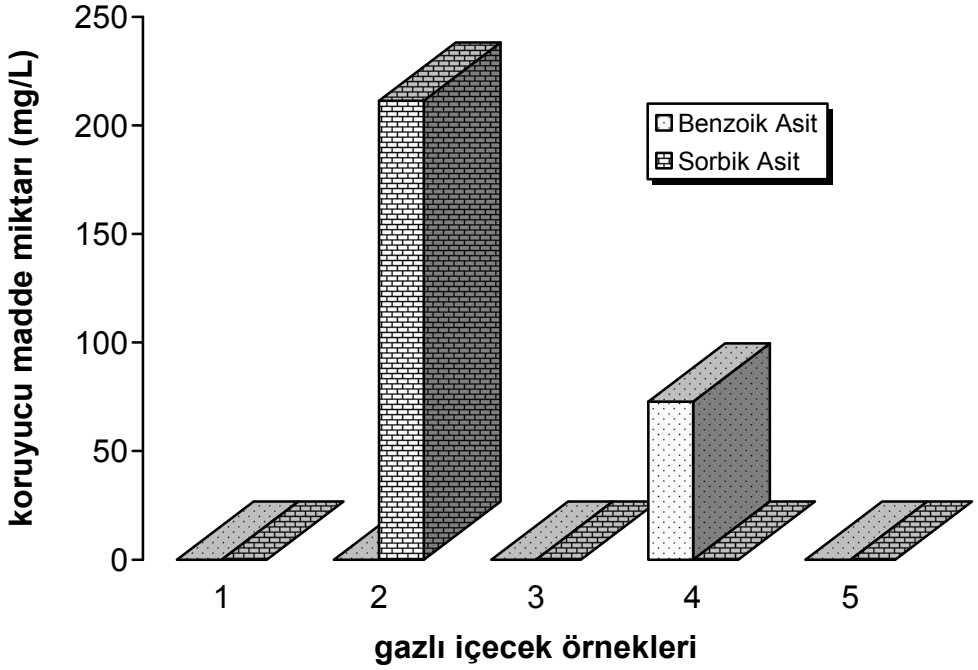
Çizelgede 4.20'de görüldüğü üzere analizi yapılan gazlı içecek örneklerinin 3'ünde ne benzoik aside ne de sorbik aside rastlanmazken, birinde benzoik aside diğerinde de sorbik aside rastlanmıştır.Benzoik asit miktarı 67.56-76.54 mg/kg, sorbik asit miktarı 210.86-211.99 mg/kg olarak bulunmuştur. Bulunan bu değerler TGK kabul edilebilir sınırların (Benzoik asit için 150 mg/L, sorbik asit için 300 mg/L) altında kalmaktadır.Bursa'da yapılan benzer bir çalışmada (Nihan Koyuncu-2006) anazlizi yapılan numunelerinden ikisinde benzoik aside, üçünde de sorbik aside rastlamamıştır.Geri kalan örneklerde benzoik asit miktarı 101.80-142.40 mg/L, sorbik asit miktarı 60.90-188.50 mg/L arasında bulunmuştur. Tfouni ve Toledo (2002), gazlı içeceklerdeki benzoik asit miktarını 0-338 mg/L, sorbik asit miktarını ise 0.00-47.1 mg/L olarak belirlemişlerdir.

Çizelge 4.19. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)					
		Sa[(1)]	Ba[(2)]	PHB[(3)]	Sa+Ba[(4)]	Sa+PHB[(5)]	Sa+Ba+PHB[(6)]
2	Alkolsüz içecekler (Süt bazlı içecekler hariç)	300	150		250Sa+150Ba		

Çizelge 4.20. Gazlı İçecek örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/L)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzoik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	72.78	67.56	76.54	4.67
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	211.47	210.86	211.99	0.57
Sorbik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.10. Gazlı içecek örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.11. EKMEK ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

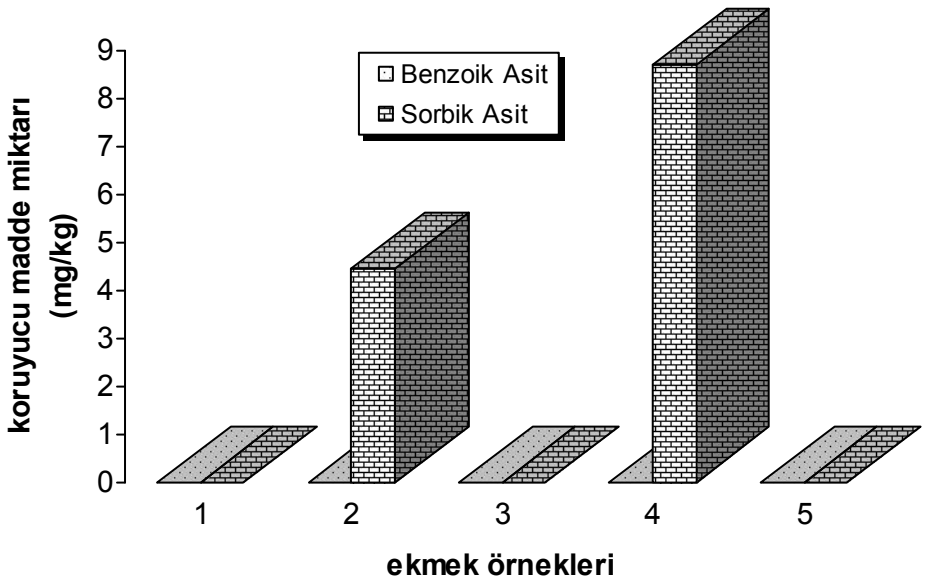
Çizelgede 4.22'de görüldüğü üzere analizi yapılan ekmek örneklerinin üçünde de ne benzoik aside ne de sorbik aside rastlanmazken, geri kalan ikisinde hem benzoik aside hem de sorbik aside rastlanmıştır.Benzoik asit miktarı 2.61-6.42 mg/kg olarak bulunmuş olup TGK'ne göre ekmek için şartlı izin verilen koruyucular listesinde bulunmadığı için 2 ekmek örneğinin yasal sınırlar dışına çıkmış olduğu görülmüştür. Sorbik asit miktarı 3.62-8.72 mg/kg olarak bulunmuş olup, TGK'ne göre yasal sınırın (2000 mg/kg) oldukça altındadır. Ancak aynı örneklerde yukarıda da bahsettiğimiz gibi TGK'ne göre benzoik aside rastlanmaması gerekirken rastlanmıştır, dolayısıyla sorbik asit miktarının yasal sınırların oldukça altında olması birşey ifade etmemektedir.

Çizelge 4.21. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)					
		Sa[(1)]	Ba[(2)]	PHB[(3)]	Sa+Ba[(4)]	Sa+PHB[(5)]	Sa+Ba+PHB[(6)]
35	Ön paketlenmiş dilimli ekmek ve çavdar ekmeği	2000					
36	Perakende olarak satılmak üzere, kısmen pişirilmiş, ön paketlenmiş fırıncılık ürünleri ve enerjisi azaltılmış ekmek	2000					

Çizelge 4.22. Ekmek örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	3.22	2.61	3.68	0.55
Benzoik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	6.28	6.19	6.42	0.12
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	4.47	3.62	5.11	0.76
Sorbik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	8.72	8.59	8.91	0.17
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.11. Ekmek örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

4.12. REÇEL ÖRNEKLERİNDE BENZOİK ASİT VE SORBİK ASİT MİKTARLARI

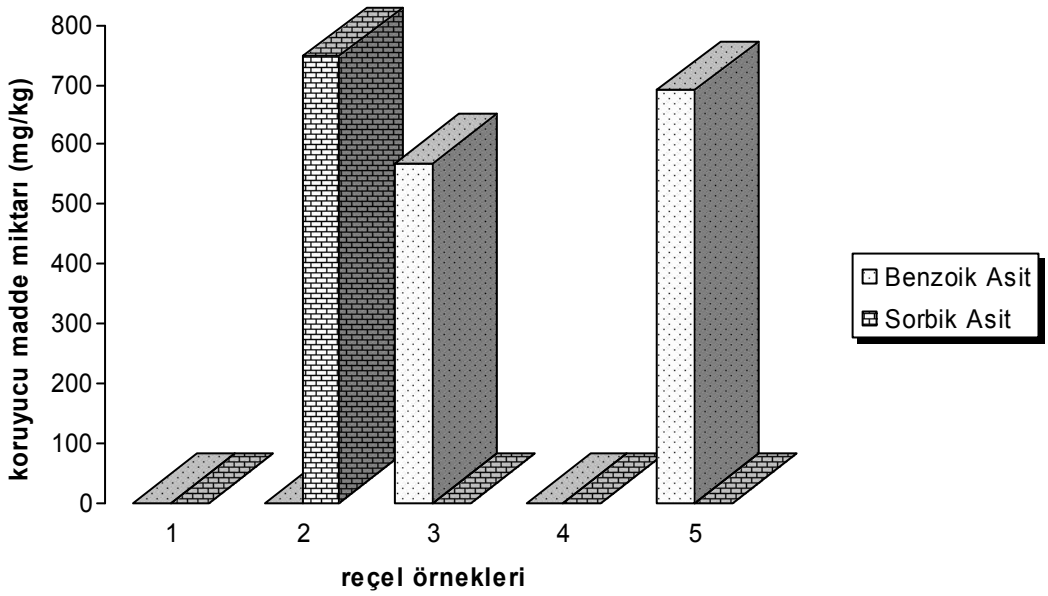
Çizelgede 4.24'te görüldüğü gibi ele alınan reçel örneklerinden sadece bir tanesinde sorbik aside rastlanırken, diğer iki üründe sadece benzoik aside rastlanmıştır. Benzoik asit miktarları 0,00-691,12 mg/kg arasında bulunurken, Sorbik asit miktarları 0,00-747,49 mg/kg arasında bulunmuştur. TGK'ne göre reçel için şartlı izin verilen koruyucular listesinde bulunmadığı için bu üç örneğin yasal sınırlar dışına çıkmış olduğu görülmüştür. Bulunan bu değerlerin yasal sınırlara uymadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.23. Gıda Maddelerinde Şartlı İzin Verilen Koruyucu Maddeler, EK-3, Bölüm A

	Gıda Maddesi	**En Yüksek Değer (mg/kg veya mg/L)**					
		Sa[(1)]	**Ba[(2)]**	**PHB[(3)]**	**Sa+Ba[(4)]**	**Sa+PHB[(5)]**	**Sa+Ba+PHB[(6)]**
!	Reçel TGK'sinde şartlı izin verilen koruyucular listesinde yer almamaktadır.						

Çizelge 4.24. Reçel örneklerinde benzoik ve sorbik asit miktarları (mg/kg)

Reaktif	Numune	N	Xort.	Min.	Max.	Std. Sapma
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Benzoik Asit	3	3	569.12	554.02	580.60	13.65
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	691.12	690.86	692.38	1.16
	1	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	3	747.49	736.00	755.52	10.21
Sorbik Asit	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	5	3	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.12. Reçel örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarları

5. SONUÇ

Farklı ürün gruplarını içeren 15 örnekte 5 farklı firmaya ait toplam 75 analizde yapılan bu çalışma sonucunda meyve suyu dışında hemen hemen tüm ürün gruplarında benzoik ve/veya sorbik aside rastlanılmıştır. Bazı örneklerde saptanan koruyucuların miktarı yasalarda belirtilen ve kullanımına izin verilen düzeylerde olmuştur. Bu yönüyle bakıldığında herhangi bir sorun görülmemekle birlikte, bunun yanında koruyucu madde kullanımına izin verilmeyen bazı ürününde bu maddelere rastlanmıştır. Bu yönüyle bakıldığında ise durum endişe vericidir.

Sonuçları yorumlama kısmında TGK'inin belirttiği limitler dikkate alınmış olup, çizelge 2.6'da belirtilen '***Bazı fermente ürünlerde İyi Üretim Uygulamalarına/GMP uygun olarak yapılan fermantasyon nedeniyle benzoik asit bulunabilir'*** (www.kkgm.gov.tr) maddesi nedeniyle, süt ve süt ürünlerinde bulunan değerlerin yorumlanmasında sıkıntı yaratmıştır. Çünkü yukarıda da bahsettiğimiz gibi bulduğumuz benzoik asit miktarı gerçekten fermantasyondan mı kaylanmaktadır yoksa dışarıdanmı katılmıştır. Eğer fermantasyondan kaynaklanıyorsa ne kadar üründen, ne kadar benzoik asit oluşabileceğini gösteren bir bağıntı mevcut olmadığından, bu ürünlerin sağlıklı bir şekilde yorumlanması yapılamamıştır. Bu konuda TGK'inin ilgili tebliğinin daha açıklayıcı bir şekilde düzenlenmesi gerektiği kanaatindeyim.

Bilindiği gibi gıda katkı maddeleri, bunları üreten sanayiciler için pek çok fayda sağlarken, tüketicileri kaygılandırabilmektedir.

Günümüzde gıda katkı maddelerinden kendimizi tamamen soyutlamamız mümkün değildir. Ancak bunlardan daha az zarar görülmesi için dikkat edilmesi gerken nokta, bu maddeleri yasaların belirlediği şekilde ve miktarda kullanarak tehlikeleri olduğunca minumuma indirmektir.

Her türlü Gıda Katkı Maddesinin üretim ve tüketiminde ilgili bakanlıkların tüzük ve yönetmeliklerine uyulmalıdır.

Gıda katkı maddesi içermeyen veya en az içeren ve bunu etiketinde belirten gıdalar tercih edilmelidir.

Birçok ülkede tüketicinin katkı maddesi bulundurmayan (veya daha az bulunduran) gıdaları tercih etmesi, üreticileri daha az katkı maddesi kullanmaya yöneltmiştir. Bazı ülkelerde hiç katkı maddesi içermeyen veya en az içeren gıdaları üreten firmalar kurulmuştur. Ülkemizde de zaman içerisinde katkı maddelerine karşı bilinçlenme olursa, bu durum, üretici firmalara ve tüketicilere olumlu yansıyacaktır.

Gıda katkı maddelerinin insan sağlığına en az zarar verecek şekilde üretilmesi ve tüketilmesi için üretici, tüketici ve devlet arasında işbirliği olmalıdır. Burda en önemli görev tüketicilere düşmektedir; Çünkü bilinçlenmiş tüketici, hem üreticiyi doğru gıda katkı maddesi kullanılması konusunda, hem de devleti bu şekilde kontrol hususunda daha duyarlı hâle getirecektir. Devlet de kontrol mekanizmalarını ve gıda katkı maddesi yapacak laboratuarları uluslararası standartlara uygun olarak düzenlemeli, yapılan analizlerin tek ve en etkili metodla yapılmasını sağlamalı ve bunları denetlemelidir.

Ayrıca konuyla ilgili yönetmelikler yeniden düzenlenmelidir. Çünkü yönetmelikte yer almayan gıda maddesinde koruyucu maddeler üreticiler tarafından bilinçsizce ve yanlış kullanılmaktadır. Üreticiler katkı maddelerini katsalar bile bunu kendileri değil, istihdam edecekleri bu işi bilen teknik personel (kimyager, gıda müh. vb.) aracılığıyla gerçekleştirmelidirler.

Tüketici besinlerde hangi katkı maddelerinin ne kadar kullanıldığını ve olumsuz sağlık tehlikelerini bilmek zorundadır. Tüm besinlerin içindeki katkı maddeleri besinlerin üzerinde bulunan etiketlerde açık olarak yazılmalı ve aşırı kullanım, ters etkiler hakkında tüketici aydınlatılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

ALTUĞ, T., 1999. Gıda Katkı Maddeleri. Hekim ve Yaşam Dergisi, 29:30-31.

ALTUĞ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri, İzmir, 286s.

ANONİM, 1995. European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on Food Additives Other Than Colours and Sweeteners, 53 pp.

ANONİM, 1996. Gıdalarda Katkı-Kalıntı ve Bulaşanların İzlenmesi. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Bursa, 196 s.

ANONİM, 1997a. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, T.C. Resmi Gazete Sayı:23172.

ANONİM, 1998. Directive No 98/72/CE of European Parliament and Council of 15 October.

ANONİM, 2005a. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı http://www.tarim.gov.tr

ANONİM, 2005b. http://www. gap-dogu-kalkinma.com/tarim/

BENFORD, D.,2000. The Acceptable Daily Intake. A Tool For Ensuring Food Safety. ILSI Europe Concise Monographs Series.ILSI Press. Belgium.

BOER VE NİELSEN, 1995

BRIGS, D.R., 1997. Food Additives. Wahlgvist ML (Ed). Food and Nutrition. Allen and Unwin Pty Ltd. Australia.

ÇAKMAKÇI, S., ÇELİK, İ. GKM, 2000

DELVES-BROUGHTON, J., 1990. Nisin and its Uses as a Food Preservative. Food Technology. 44 (11): 100-117.

DAVİDSON, 1997

EKŞİ, A., 1988. Gıda Muhafazası İçin Kimyasal Madde Uygulamaları, Gıda Sanayi, Sayı: 5, s: 25-31.

http://www.facebook.com/note.php?note_id=263847405789 05.06.2010

FERNANDO, J.M., I M.P.L.V.O., ISABEL FERREİRA, S. C. CUNHA, M. B.P.P. OLİVEİRA, 2003. Optimisation of Extraction Procedures for Analysis of Benzoic and Sorbic Acids in Foodstuffs. Food Chemistry 82 (2003) 469–473

GONZALEZ, M., M. GALLEGO and M. VALCARCEL, 1999. Gas Chromatographic Flow Method for the Precentration and Simultaneous Determination of Antioxidant and Preservative Additives in Fatty Foods. Journal of Chromatography A, 848; 529-536.

GÜVEN, M., 1998. Antimikrobiyel Maddeler ve Süt Teknolojisinde Kullanım Olanakları. Gıda. 23 (5): 365-369.

HAN. J.H. AND J.D., FLOROS, 1998. J. Food Sci. 63 (1): 12-14.

HOBBS VE ROBERTS, 1987

İHSANOĞLU, İ.H., 2004. Gıda Katkı Maddeleri. Sızıntı Dergisi.

KIVANÇ, M., 1989. Gıda Koruyucusu Olarak Sorbik Asit ve Tuzları, I- Genel Özellikler. Gıda, 14 (5): 315-320.

KOYUNCU, N., 2006 Bursa'da Tüketime Sunulan Bazı Ürünlerin Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarlarının Araştırılması

www.kimyegeriz.biz 04.06.2010

http://www.kkgm.gov.tr/TGK/Teblig/2008-22.html 02.06.2010

LUECK, E., 1980. Antimicrobial Food Additivies. Springer-Verlag Publishers, New York, USA.

M.S, Ali., J.Assoc off. Anal. Chem. 68 (1985) 488)

MIHYAR, G.H., A.K. YOUSIF and M.I. YAMANI, 1999. J. Food Comp., Analysis 12: 53-61.

POLLARD, 1991

P.E, MAHUZİER. ve ark. CHROM. A 924, 2001

R, HAJKOVA. Ve ARK. ANAL. CHİM. ACTA 467 (2002) 91

SALDAMLI, İ., 1985. Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler.Hacettepe Üniv. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl.,Ankara, 197 s.

SARIKAYA, R. Ve K. SOLAK, 2003. Benzoik Asitin Drosophila Melanogaster'de Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ile Genotoksisitesinin Araştırılması, GÜ, Gazi Eğitim Fak. Dergisi, Cilt 23 Sayı 3 (2003) 19-32.

SOFOS, N.J. AND F.F. BUSTA, 1981. Antimicrobial Activity of Sorbate. Journal of Food Protection 44, 614-622.

ŞAHAN, N. ve O. GÖLGE, 2005. The Effects of Potassium Sorbate on the Microbiological Quality of Yogurt. Archıv Fur Lebensmıttelhygıene 56 (3): 66-69.

TFOUNI S.A.V. AND M.C.F.,TOLEDO, 2002. Determination of Benzoic and Sorbic Acid in Brazilian Food.Food Control 13 (2002) 117-123.

YENTÜR, G. ve ark. Ank. Üni. Vet. Fak. Der. 42:451-455, 1995) Ankara Piyasasından Sağlanan Bazı Gıda Maddelerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarlarının Gaz Kromatografisi ile Araştırması.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Aydın YILDIZ

Doğum Yeri : Diyarbakır

Doğum Tarihi : 26 Ekim 1979

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Yunus Emre Lisesi (1994-1997)

Lisans : Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (1998-2002)

Yüksek Lisans: Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Kimya Öğretmenliği-Tezsiz Yüksek Lisans (2005-2007)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Diyarbakır İl Kontrol Laboratuar Müdürlüğü (2004-halen devam ediyor)