

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN ANALİZLERİ ve BESLENME BİLİM DALI

**ANKARA'DA TÜKETİME SUNULAN BAZI GIDA MADDELERİNDE BENZOİK ASİT
MİKTARLARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ECZ.GÜLDEREN GÜZEL

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Aysel BAYHAN ÖKTEM

ANKARA
Mart 2013

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi:05/03/2013



**Prof. Dr. Gülderem YENTÜR
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**



**Prof. Dr. Aysel ÖKTEM
Gazi Üniversitesi**



**Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR
Ankara Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller	vi
Tablolar	v
Semboller, Kısaltmalar	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Koruyucu Gıda Katkı Maddeleri	4
2.2. Koruyucu Gıda Katkı Maddelerinin Özellikleri ve Etki Mekanizması	5
2.3. Koruyucu Gıda Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması	7
2.4. Organik Asitler	8
2.4.1. Benzoik Asit ve Tuzları	9
2.4.2. Benzoik Asit Kaynakları	10
2.4.3. Benzoik Asit ve Tuzlarının Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	10
2.4.4. Benzoik Asit ve Tuzlarının Kullanım Alanları	12
2.4.5. Benzoik Asit ve Toksik Etkileri	15
2.4.6. Benzoik Asit ile İlgili Yasal Düzenlemeler	19
2.4.7. Benzoik Asitin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Materyal ve Kimyasallar	23
3.1.1. Materyal	23
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
3.1.3. Kullanılan Alet ve Ekipman	24

3.2. Yöntem	24
3.2.1. Benzoik Asit Tayini	24
3.2.2. Benzoik Asit Standart Eğrisinin Oluşturulması	27
3.2.3. Gıda Örneklerinin Analize Hazırlanması ve Yöntemin Uygulanması	29
3.2.4. Benzoik Asit Metodunun Tekrarlanabilirliği	29
3.2.5. Yöntemin Doğruluğu ve Verimin Hesaplanması	30
3.2.6. İstatistiksel Analizler	31
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ	49
7. ÖZET	50
8. SUMMARY	52
9. KAYNAKLAR	54
10. TEŞEKKÜR	65
11. ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1: Benzoik Asidin Kimyasal Yapısı	11
Şekil 2: Sodyum Benzoatın Kimyasal Yapısı	11
Şekil 3: Laboratuvar Şartlarına Uygun Benzoik Asit Ölçümü İçin 1.Minimum Dalga Boyu Tarama	25
Şekil 4: Laboratuvar Şartlarına Uygun Benzoik Asit Ölçümü İçin 2. Minimum Dalga Boyu Tarama	26
Şekil 5: Laboratuvar Şartlarına Uygun Benzoik Asit Ölçümü İçin Maksimum Dalga Boyu Tarama	26
Şekil 6: Benzoik Asit Standart Eğrisi	28
Şekil 7: Ketçap Örneklerinde Saptanan Benzoik Asit Miktarlarının Firmalara Göre Dağılımı	37
Şekil 8: Sos Örneklerinde Saptanan Benzoik Asit Miktarlarının Firmalara Göre Dağılımı	38
Şekil 9: Reçel Örneklerinde Saptanan Benzoik Asit Miktarları	39
Şekil 10: A,B,C,D Firmalarına Ait Örneklerde Saptanan Ortalama Benzoik Asit Değerlerinin Standart Değer (1000mg/kg) İle Karşılaştırılması	40

TABLoların LİSTESİ

Tablo 1: Bazı Antimikrobiyal Maddelerin Etki Spektrumları	7
Tablo 2: Benzoik Asidin Kimyasal Özellikleri	11
Tablo 3: Benzoik Asit ve Benzoatların Tehlike Dereceleri	17
Tablo 4: Benzoik Asit Metodunun Tekrarlanabilirliği	30
Tablo 5: Standart İlave Edilen Reçel Örneklerine Ait Benzoik Asit Konsantrasyonları ve % Verim Değerleri	30
Tablo 6: A ve B Firmasına Ait Ketçap Örneklerinde Saptanan Benzoik Asit Değerleri (mg/kg)	32
Tablo 7: C ve D Firmasına Ait Sos Örneklerinde Saptanan Benzoik Asit Değerleri(mg/kg)	33
Tablo 8: E Firmasına Ait Reçel Örneklerinde Saptanan Benzoik Asit Değerleri (mg/kg)	33
Tablo 9: A ve B Firmalarına Ait Ketçap, C ve D Firmalarına Ait Sos ve E Firmasına Ait Reçel Örneklerindeki, Benzoik Asit Değerleri (mg/kg)	34
Tablo 10: İki Ayrı Firmadan Sağlanan (A,B) Ketçap Örneklerinde Benzoik Asit Değerlerinin Karşılaştırılması (mg/kg)	35
Tablo 11: İki Ayrı Firmadan Sağlanan (C , D) Sos Örneklerinde Benzoik Asit Değerlerinin Karşılaştırılması (mg/kg)	35
Tablo 12: A ve B firmalarına Ait Ketçap, C ve D Firmalarına Ait Sos Örneklerindeki Benzoik Asit Ortalama Değerlerinin Standart Değerler İle Karşılaştırılması (mg/kg)	35

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

ADI	Günlük Kabul Edilebilir Alım Değeri
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BA	267.6 nm Dalga Boyundaki Değer
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
CA	272.6 nm Dalga Boyundaki Değer
CAC	Uluslararası Gıda Kodeksi Komisyonu
CE	Kapiller Elektforez
DA	276.6 nm Dalga Boyundaki Değer
EC	Avrupa Birliği Kodu
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
GC	Gaz Kromatografi
GC-MS	Gaz Kromatografi Kütle Spektrofotometri
GRAS	Genel Olarak Güvenli Olduğu Kabul Edilen
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
JECFA	Gıda Katkıları Uzman Komitesi
PVC	Polivinil Klorür
SBSE	Stir-Bar Sorptive Ekstrasyonu
SCF	Avrupa Bilimsel Gıda Komisyonu
SPE	Katı-Faz Ekstrasyonu
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
FEV	Forced Expiratory Volüme

1.GİRİŞ

Gıda güvenliği günümüzün en önemli konularının başında gelmektedir. Güvenli gıda sağlanmasında gıda üretiminin artırılması, gıda kayıplarının önlenmesi ve kalitesini koruyarak saklanması ile raf ömrünün uzatılması önem kazanmaktadır. Bu nedenlerle gıda katkı maddelerinin kullanımı gerekli olmuştur¹.

Gıda katkı maddeleri; gıdaların üretimi, işlenmesi, iyileştirilmesi, paketlenmesi, dağıtımı ya da depolanması gibi aşamaların herhangi birinde gıdalara katılan maddelerdir. Dünyada sentetik veya doğal olmak üzere binlerce katkı maddesi kullanılmaktadır². Gıda katkı maddelerinin 1900'lü yıllarda dünyadaki pazarı 10 milyar dolara ulaşmış olup, günümüzde ise çok daha arttığı bilinmektedir³. Tüm dünyada 2.000–20.000 arasında katkı maddesinin gıda endüstrisinde kullanıldığı tahmin edilmektedir^{4,5}. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (U.S Food and Drug Administration, FDA) tarafından kimyasal yönden uygun olan 3000'den fazla gıda katkı maddesi bildirilmektedir².

Gıda katkı maddeleri, tüketime sunulan veya sunulacak olan gıdaların görünüm ve lezzetlerini tüketicinin arzu ettiği duruma getirmek, gıdaların bozulmalarını önleyerek raf ömrünü uzatmak ve gıdaların besleyici değerini korumak amacıyla gıdalara bilinçli ve amaçlı olarak ilave edilmektedir^{6,7}. Ancak gıdalara hile amacıyla katılan maddeler bu gruba girmezler⁸. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation, FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) katkı maddelerini “tek başına besin değeri taşımayan gıda ürününe doğrudan veya dolaylı katılan maddelerdir” şeklinde tanımlamaktadır⁹.

Antimikrobiyal özelliklere sahip koruyucuların, gıdaların bozulmasını önlemek amacıyla katkı maddeleri olarak kullanılmalarına izin verilmiştir¹⁰. Bu koruyuculardan olan benzoik asit ve tuzları; asidik ortamda çeşitli bakteri, maya ve fungusların gelişimini inhibe etmek için yıllardır gıda endüstrisinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca bu koruyucular farmasötik ve kozmetik alanlarda da kullanılmaktadır. Benzoik asit her yıl yaklaşık olarak 638000 ton üretilmektedir^{11,12}.

Gıdalarda kullanımı oldukça yaygın olan benzoik asit genellikle güvenli kabul edilen (GRAS) maddeler listesinde olmasına rağmen duyarlı kişilerde düşük dozlarda bile astım, ürtiker, metabolik asidozis ve konvülsiyonlar gibi yan etkilere yol açabileceği belirtilmektedir¹³.

Gıdalarda kullanılan katkı maddeleri teknolojik ve ekonomik açıdan kullanıma uygun ve sağlığa zarar vermeyecek nitelikte olmalıdır⁶. Aynı zamanda bu katkı maddelerinin kullanımının yasalarla belirlenmesi gerekmektedir¹. Benzoik asit ve tuzlarının gıdalarda kullanımı ve sınır değerleri Türk Gıda Kodeksinde belirtilmektedir. Kodeks’de benzoik asidin kullanımına izin verilen en yüksek değerler farklı gıda maddeleri için 50–2000 mg/kg aralığında belirtilmektedir. Emülsifiye edilmemiş soslarda sorbik asitle birlikte 1000 mg/kg, düşük şekerli reçeller de benzoik asitin tek başına bulunabilecek en yüksek değeri 500 mg/kg, sorbik asit ile birlikte ise 1000 mg/kg kullanılabileceği belirtilmiştir. Geleneksel reçellerde ise benzoik asit kullanılmasına izin verilmemektedir¹⁴.

Bu alışmada Ankara piyasasından sağlanan ve yaygın olarak tüketlen ketçap, sos ve reçel örneklerinde benzoik asit miktarlarının araştırılması ve yasal sınırlarda kullanılıp kullanılmadığının saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Koruyucu Gıda Katkı Maddeleri

Gıda kalitesini olumsuz etkileyen birçok faktör vardır. Ancak gıdalarda istenmeyen ve özellikle insan sağlığı açısından önem taşıyan olumsuz değişimlerin çoğu mikrobiyal bozulmaların sonucu oluşmaktadır¹⁵. Taze gıdalar yüzeylerinde ve içlerinde mikroorganizmalar barındırmaktadır. Bu mikroorganizmalar yok edilmediğinde gıdayı bozabilmektedirler. Mikroorganizmaların inhibe edilmesi ya da yok edilmesi gıda korunmasının temelini oluşturmaktadır. Gıda bozulmasının önlenmesi için kimyasallarla muamele, dondurma, tuzlama, dehidratasyon veya ısı işlemi uygulanabilmektedir. Bozulmayı önlemek için kullanılan kimyasallar, kullanım koşullarına göre bazı antiseptik özelliklere sahiptir ve “koruyucular” olarak bilinmektedir¹⁶.

Koruyucu maddeler, gıdalarda istenmeyen ancak herhangi bir nedenle bulunabilen bakteri, küf ve mayaları, patojen olan veya olmayan her türlü mikroorganizmayı ortamdan yok etmek, çoğalmasını veya faaliyetlerini önlemek için gıdalara katılırlar^{3,15,16}. Bu maddeler gıdanın işlenmesinden önce yapılan depolamadan itibaren üretim sonrası tüketiciye ulaşana kadar geçen aşamalarda oluşabilecek değişimleri azaltmak ya da ortadan kaldırmak amacıyla kullanılmaktadırlar⁶.

Modern gıda teknolojisinde işlenmiş ve kullanıma hazır gıdaların üretiminin artmasıyla, kimyasal koruma önemi gittikçe artan bir uygulama halini almıştır. Kimyasal koruyucular; mikrobiyolojik, enzimatik ve kimyasal değişikliklerden dolayı besin değerindeki kaybın önlenmesi, raf ömrünün uzatılması ve gıda kalitesinin sürdürülebilmesi amacıyla gıdalara katılmaktadır^{17,18,19}. Koruyucular özellikle marmelatlar, jeller, reçeller, tatlılar, diyet ürünleri, ekmekler, hamurlar, marine etler, balıklar

ve sebzeler olmak üzere birçok gıda türünde, alkolsüz veya fermente içeceklerde kullanılmaktadır²⁰.

Kimyasal koruyucular genellikle üretilen gıdaların bir içeriği gibi direk olarak uygulanabilmektedir. Aynı zamanda içine batırma, püskürtme ve toz halinde uygulamada yapılabilmektedir. Bazı koruyucular ise gıdaya paketlenmiş bir materyal içinde yerleştirilebilmektedir¹⁶.

2.2 Koruyucu Gıda Katkı Maddelerinin Özellikleri ve Etki Mekanizması

Koruyucu maddelerin antimikrobiyal özellikleri; maddenin antimikrobiyal spektrumu, kimyasal ve fiziksel özellikleri, konsantrasyonu, etki şekli, gıdanın bileşimi, işlem şartları, pH ve depolama sıcaklığı gibi faktörlere bağlıdır^{3,9}. Sıcaklık, pH gibi faktörlerin yanı sıra lipitler, proteinler, mineraller ve diğer gıda bileşenleri antimikrobiyal etkinliği büyük oranda değiştirebilmekte ve gıdalarda uygulanabilirliği olumsuz etkileyebilmektedir²¹. Koruyucuların uygulanması sırasında gıdaların içeriği, mikroorganizma tipleri ve miktarları, gıdanın özellikleri, iyi üretim ve hijyen koşullarının dikkate alınması gereken diğer önemli noktalardır²².

Gıda koruyucularının kullanımı gıdanın bileşimi, mikroorganizma tipi ve raf ömrü dikkate alınarak belirlenmelidir¹⁶. Antimikrobiyal maddenin etkinliği asidik gıdalarda artmaktadır. Genellikle gıdanın sıcaklığının artması, koruyucularla temas süresinin uzaması ve gıdanın sıvı halde olması da koruyucunun etkinliğini artırmaktadır³.

Koruyucu katkı maddelerinin mikroorganizmalar üzerindeki etkisi genellikle genetik mekanizma, hücre çeperi veya sitoplazmik membran üzerindeki değişiklikler, hücrenin metabolizma faaliyetlerinde rolü olan önemli protein ve enzimlerin inhibisyonu ya da hücre duvarı sentezinin önlenmesi ile olmaktadır²³.

Antimikrobiyal maddeler mikroorganizmaların büyümelerini durdurucu (bakteriyostatik, fungistatik) ya da öldürücü (bakteriyosidal, fungisidal, sporisidal) etki gösterebilmektedirler^{24,25}. Bazı kimyasal maddelerin çok düşük miktarları bazı mikroorganizmalar tarafından besin maddesi olarak kullanılabilirken aynı miktarlar diğer bazı mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etki gösterebilmekte veya daha yüksek düzeyleri bazı mikroorganizmaları öldürebilmektedir³. Kimyasal maddenin etkisinin öldürücü veya önleyici olarak ayrılması imkânsızdır. Çünkü bu etki, kullanılan konsantrasyona göre değişmektedir²⁶.

Koruyucu katkı maddelerine karşı en dirençli mikrobiyal form bakteri sporlardır. Spor formu, kimyasal maddelere diğer vegetatif formlardan daha dirençlidir^{3,23}. Birçok durumda ise küfler inhibitörlere karşı mayalardan daha hassastır. Kimyasallara dayanıklılık açısından mikroorganizma türleri ve alt türler arasında farklılıklar bulunmaktadır³. Her bakterinin antimikrobiyale olan tepkisi yani savunma mekanizması farklılık göstermekle beraber genelde bakterinin yapısına bağlıdır²³. Genellikle küf ve mayalara daha fazla etki gösteren antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaların hücre zarlarını etkileyerek, hücre zarının seçici geçirgenliğini arttırarak, hücre unsurlarının zarar görmesini sağlayarak, mikroorganizma hücresindeki enzimleri inaktive ederek ya da genetik maddelerin fonksiyonlarını etkileyerek etkilerini gösterirler. Tablo 1’de bazı antimikrobiyal maddelerin etki spektrumları verilmiştir^{22,26}.

Tablo 1: Bazı Antimikrobiyal Maddelerin Etki Spektrumları^{22,26}

Antimikrobiyel maddeler	Bakteriler	Mayalar	Küfler
Nitrit	++	-	-
Sülfid	++	+	+
Formik asit	+	++	++
Propiyonik asit	+	++	++
Sorbik asit	+	+++	+++
Benzoik asit	++	+++	+++
Hidroksi benzoik asit esteri	++	+++	+++
Difenil	-	++	++

(-) etkisiz, (+) az etkili, (++) etkili, (+++) tam etkili

Koruyucuların hiçbirisi gıdaların bozulmasına neden olan bütün mikroorganizmalara karşı tam etkin bir spektruma sahip değildir. Birçok koruyucu predominant olarak mayalara ve küflere karşı etki göstermektedir. Genellikle organik asitlerin çoğu antimikrobiyal etkiye karşı geniş bir spektruma sahiptir ve birçok bakteri, küf ve mayaya karşı kullanışlıdır¹⁶. Önemli antimikrobiyal etkiye sahip olan benzoik asit bakterilere, mayalara ve küflere karşı etki göstermektedir^{27,28,29}.

2.3 Koruyucu Gıda Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması

Koruyucu katkı maddeleri; geleneksel (doğal) koruyucular, antibiyotikler ve sentetik koruyucuları içermektedir^{2,16}.

Geleneksel Koruyucular: Yıllardır gıdaların korunması için kullanılan şeker, tuz, sirke, organik meyve asitleri, tütsü, alkol ve çeşitli baharatlar gibi bileşikler geleneksel koruyucular olarak adlandırılmaktadır. Tuz ve şeker; tuzlama ve konserve işlemlerinde güçlü solüsyonlar oluşturmak için gıdanın yapısındaki suda çözünürler. Şeker; reçel, jelâtin, meyve

şekerlemesi, tatlandırılmış ve yoğunlaştırılmış sütlerde koruyucu olarak kullanılır. Tütsü, gıda yüzeyindeki bakterileri öldürmektedir.

Antibiyotikler: Mikroorganizmalar tarafından üretilen, diğer mikroorganizmaların gelişimini önleyen ya da onları öldüren kimyasallardır¹⁶. Gıdalarda koruyucu olarak kullanılan antibiyotiklerin hastalık tedavisinde kullanılmayan ve sindirim sırasında yıkıma uğrayan nitelikte olması gerekmektedir³. Nisin ve natamisin; krema, süt, peynir ve birçok konserve gıdada spor oluşumunu önlemek için koruyucu olarak kullanılan antibiyotiklerdir¹⁶.

Sentetik Koruyucular: Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan koruyucular; organik asitler (benzoik asit ve tuzları, sorbik asit ve tuzları, propiyonik asit ve tuzları, asetik asit ve parabenler), nitrit ve nitrat bileşikler, kükürtdioksit ve çeşitli sülfidler, karbondioksit, fosfatlar ve hidrojen peroksittir^{15,16}.

2.4 Organik Asitler

Organik asitler (asetik, laktik, malik, sitrik, benzoik, sorbik ve propiyonik vb.) birçok gıdanın doğal bileşenidir. Aynı zamanda gıdaların korunmasında katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır^{21,30}. Bu asitler ve esterleri doğada özellikle meyvelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Birçoğu fermente et, süt ve sebze ürünlerinde mikrobiyal bozulmanın ara ya da son ürünü olarak oluşmakta ve proteolitik bozulmayı geciktirici ve engelleyici etkisiyle de ürünün raf ömrünü uzatmaktadır^{3,29}. Organik asitler (asetik, benzoik, laktik, sorbik ve propiyonik) aynı mekanizmalara ve uygulamalara sahiptir²⁵. Gıdalarda daha çok kullanılabilmeleri için kimyasal olarak üretilmektedirler³⁰.

Gıdalarda bulunan organik asitlerin antimikrobiyal etkisi; ortamın pH'sına, asidin dissosiyeye olmasına bağlıdır³. Düşük pH seviyesinde daha etkilidirler³¹. Bu asitler pH değerleri 4,0'den düşük olduğunda bakteriyel gelişimi engellerken, maya ve küfler pH 5'in altındaki değerlerde bakterilere karşı rekabet edebilmektedir²¹. Aynı zamanda asitlerin etkili olabilmesi için hücre membranını geçmesi ve sitoplâzmaya girmesi gerekmektedir³⁰.

Zayıf organik asit koruyucular düşük pH'da maksimum inhibitör etkiye sahiptir. Bu yüksüz, dissosiyeye olmamış durumdaki molekül plazma membranından serbestçe karşıya geçer ve böylece hücre içine girer. Molekülün hücre içine girdiğinde karşılaştığı daha yüksek pH'da dissosiyeye olduğu, sonuç olarak anyon ve protonlarına ayrılan molekülün plazma membranından geri geçemediği inanılan klasik inhibitör etki görüşüdür. Sonuçta anyon ve katyonlar hücre içinde birikir. Bu durumda, çeşitli anahtar metabolik reaksiyonlar engellendiğinden mikrobiyal hücrenin inhibisyonu gerçekleşir²³.

Fermantasyon ya da organik asitlerin eklenmesiyle pH' nın düşürülmesi, genellikle tuzlama, konserveleme ya da kurutma ile birlikte gıda korumasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıdalarda en yaygın olarak kullanılan koruyucular, benzoik asit ve tuzlarıdır¹⁵.

2.4.1 Benzoik Asit ve Tuzları

Benzoik asit ve benzoatlar gıdalar ile içeceklerde antimikotik ajanlar ve antibakteriyel koruyucular olarak yaygın bir şekilde kullanılırken, P-hidroksibenzoik asidin metil, n-propil, n-bütil ve n-heptil esterlerinin (parabenler) kullanımı ise sınırlıdır. Benzoik asit, sodyum benzoat, metil paraben, propil paraben ve heptil paraben, FDA tarafından direk gıda katkı

maddeleri olarak kabul görmüş ve genel olarak güvenilir (GRAS) maddeler şeklinde tanımlanmışlardır^{32,33}.

Benzoik asit ve tuzları, yiyeceklerin bozulmalarını önleyerek gıda zehirlenmesine neden olan çeşitli bakteri, maya ve küflerin mikrobiyolojik risklerinden tüketicileri korumak için kullanılan önemli bir katkı maddesi grubudur³⁴.

2.4.2 Benzoik Asit Kaynakları

Benzoik asit; Asya kökenli olan çeşitli ağaçların salgıladığı bir reçinedir. Aynı zamanda “benzoin çiçekleri” olarak bilinen doğal antimikrobik bir maddedir³⁵. Yaban mersini, kuru erik, kıvılcık, karanfil, tarçın ve yoğurt gibi bazı gıdalarda doğal olarak da bulunan benzoik asit genellikle sodyum tuzu formunda gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılmaktadır^{3,34}. Özellikle kırmızı yaban mersininde benzoik asit konsantrasyonu yüksek ve pH düşüktür. Benzoik asit konsantrasyonu, meyve suyu daha sıcak koşullarda saklanırsa artmaktadır³⁶. Bazı bitkisel dokularda doğal olarak bulunmasına rağmen bu organik asitler, kimyasal sentez ile ticari olarak kullanılmak üzere üretilmektedir²¹.

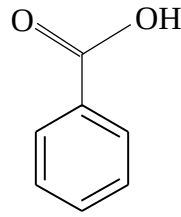
2.4.3 Benzoik Asit ve Tuzlarının Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Benzoik asit gıdalarda kullanılması için yasal olarak izin verilen ilk kimyasal koruyucular arasındadır. Koruyucu olarak tanımlanması, diğer özellikleri arasında düşük toksisitesi ve renksiz oluşundan dolayıdır³⁷. Benzoik asit; asidik pH'ya sahip, beyaz renkte kristal yapıda katı bir maddedir ve suda çözünürlüğü sınırlıdır³². Serbest asidin düşük çözünürlüğü, sodyum tuzunun tercih edilmesine yol açmaktadır³.

Benzoik aside ait bazı özellikler Tablo 2’de ve benzoik asidin kimyasal yapısı Şekil1’de gösterilmektedir³⁸.

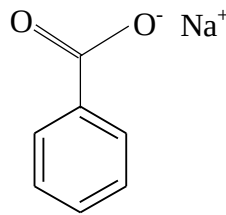
Tablo 2: Benzoik Asidin Kimyasal Özellikleri³⁸

Molekül formülü	C ₆ H ₅ COOH
Molekül Ağırlığı	122,12
Fiziksel Görünüş	Beyaz, kristal toz
Erime Noktası	122,4 °C
Kaynama Noktası	249,2 °C
Suda Çözünürlüğü (20 °C)	2.9 g/l



Şekil 1: Benzoik Asidin Kimyasal Yapısı³⁸

Sodyum benzoat; ticari olarak beyaz toz veya pulcuklar halinde bulunup, sıvılara toz olarak karıştırılmakta ve çabuk çözünmektedir³. Suda çözünürlüğü; 20°C de 556 g/l’ dir. Kimyasal yapısı Şekil 2’de gösterilmektedir³⁸.



Şekil 2: Sodyum Benzoatın Kimyasal Yapısı³⁸

Sodyum benzoat suda çözünebilir forma geçtiği alkali pH'da, beyaz kristal bir toz haline gelmektedir. Sodyum benzoat asidik solüsyonlarda çözündüğünde, kısmen serbest aside dönüşmektedir. Benzoatların asidik pH'da, antimikrobiyal ajanlar olarak çok etkili olduğu görülmektedir³².

2.4.4 Benzoik Asit ve Tuzlarının Kullanım Alanları

Benzoik asit; gıda ve farmasötik ürünlerde antimikrobiyal koruyucu, antiseptik, antifungal, tatlandırıcı ajan, tampon olarak, gargaralarda ve diş macunlarında hafif bir antiseptik olarak, merhemlerde de antifungal madde olarak kullanılmaktadır^{3,13,29,39,40}. Ayrıca kauçuk ve latekslerde sertleştirici, deterjanlar için kimyasal bir inhibitör, tekstilde boya sabitleyici, PVC için sıcaklık sabitleyici, diş macunu, kozmetikte koruyucu, aroma verici olarak da kullanılmaktadır¹².

Benzoik asit ve tuzları antimikrobiyal özelliklerinden dolayı koruyucu katkı maddesi olarak alkolsüz içecekler, çikolata, soslar, katı ve sıvı yağlar, mayonez, süt tozu, kuru maya, fırın mamulleri, sakız, yumuşak seker, ketçap, salata, reçel, turşu, çerez, sofralık zeytin, margarin, çeşitli soslar, meyve salataları, bisküvi, gofret, kek kremaları, jöle ve marmelatlarda kullanılmaktadırlar^{2,15,17,41,42,43}.

Benzoik asit ve tuzları antimikotik ajan olarak kullanılmakta olup, çoğu maya ve küflere karşı etkilidir¹⁵. Aynı zamanda geniş bir bakteri grubuna karşıda etkin özellik taşımaktadır. Bu bileşikler; düşük pH' lı gıdalarda daha aktif olmakla birlikte, nötral pH değerlerinde bu özelliklerini yitirmektedir^{27,44}. Gıda zehirlenmesi yapan ve spor oluşturan bakteriler ise bu koruyuculara karşı dirençlidir³.

Benzoik asidin tuz formu asit formuna göre daha fazla kullanılır. Çünkü tuzların sudaki çözünürlüğü yüksektir. Bu koruyucuların asidik gıdalar için kullanılması idealdir^{2,15,17,42}.

Benzoik asit yaklaşık 40 mg/kg konsantrasyonlarında birçok bitkisel ve hayvansal (örn; süt) gıdada bulunmaktadır, hâlbuki koruyucular olarak maksimum benzoik asit ve sodyum benzoat konsantrasyonları 2000 mg/kg'a kadar yükselebilmektedir²⁰.

Ülkeler arası beslenme şekline göre benzoik asit ve tuzlarının alım kaynakları değişebilmektedir. Çin'de benzoik asit ve tuzlarının temel kaynağını soslar oluşturmaktadır¹³.

Reçel, en az %60–65 çözünür katı madde içermesi ve bunun çoğunun şeker olması nedeniyle önemli bir kalori kaynağıdır. Ortalama %70.1 şeker içeren 100 g reçel 368 kcal vermektedir. Bu nedenle fazla enerjiye ihtiyacı olan ağır işte çalışanlar ile çocuklar için ideal bir gıda maddesidir ve özellikle kış aylarında kahvaltı sofralarında bulunması önem taşır. Yapıldığı meyveye göre farklı miktar ve çeşitte mineral madde içermeleri, besleyici değerlerini daha da arttırmaktadır⁴⁵. Reçel üretiminde meyvede bulunan kuru maddeye ek olarak şeker eklenmek suretiyle kuru madde içeriği %68'lere yükseltilebilmektedir⁴⁵. Ayrıca şeker ürünün rengi ve aromasını koruma ve geliştirmede önemli rol oynar. Diğer taraftan ürün mikrobiyolojik yolla bozulmaya karşı büyük bir direnç kazanır. Çünkü %68 ve üzerinde kuru madde içeren ürünler mikrobiyolojik yolla bozulmamaktadır⁴⁶. Bu tip ürünler sadece bazı osmofilik mayalar veya küfler tarafından bozulabilir⁴⁷. Bozulmaya neden olan küfler; acı tat, kötü koku oluşumu ve renk değişimi gibi bozulmalara neden olur⁴⁸.

Diyabetikler için de özel tatlandırıcı ve düşük şeker içerikli reçeller üretilmektedir⁴⁵. Bu tip tatlandırıcı kullanılmış reçel ve marmelatlar da maya ve küf üremesi ile karşılaşılacağından pastörizasyon ya da koruyucu kullanılması önerilmektedir³. Reçel, jöle, marmelat ve tatlandırılmış kestane püresi tebliğinde gıda katkı maddesi kullanım şartları belirtilmiştir⁴⁹. Türk Gıda Kodeksinde düşük kalorili reçellerde kullanılması gereken koruyuculardan biri benzoik asit olarak gösterilmiştir¹⁴.

Türkiye iklim ve toprak koşulları bakımından domates üretimine çok uygun olan bir ülkedir. Üretiminde ABD ve Çin gibi ülkeleri takiben üçüncü sırada yer almaktadır. Gerek üretim hacmi, gerekse beslenmedeki ayrıntılı katkısı dolayısıyla dünyadaki en önemli tarımsal ürünlerden biri olan domates, taze veya işlenmiş olarak kullanılmaktadır. Üretilen domateslerin %80'i domates salçasına işlenmektedir. Domatesin diğer işleme şekillerinin başlıcaları ise konserve domates, domates püresi, ketçap ve diğer soslardır^{50,51}.

Ketçaplar içerdiği asetik asit ve baharat nedeniyle bozulmaya karşı oldukça dirençli ürünlerdir. Ancak sıcak dolum yapılmamış ambalajlarda mutlaka bir koruyucu kullanmak gerekmektedir. Hatta açıldıktan sonra tüketilene kadar geçen sürede bozulmayı önlemek için, sıcak dolum yapılmış olanlarda da koruyucu bir madde kullanılmaktadır. Bu amaçla genellikle %0.1 oranında Na-benzoat kullanılmaktadır⁴⁶. Kılıçkaya⁵², yaptığı bir çalışmada ketçapların mikrobiyal tehlike sınırına ulaşmadan önce kimyasal olarak bozulduğunu bildirmiştir.

2.4.5 Benzoik Asitin Toksik Etkileri

Gıda katkı maddelerinin sağlığa zarar vermeyecek dozlarda kullanıldıklarında dahi bir süre sonra vücutta birikerek insan sağlığını tehdit edebilecek miktarlara ulaşabileceği ve insan için mutajenik, karsinojenik etkileri olabileceği göz ardı edilmemelidir^{53,54}. Gıda katkı maddelerinin gıdalarda kullanımlarının güvenilirliği ile ilgili değerlendirmeler Gıda Katkıları Uzman Komitesi (JECFA) tarafından ele alınmaktadır. Burada bir grup uzman tarafından katkı maddesinin kimyasal ve toksikolojik özellikleri değerlendirilmektedir³.

Gıda katkı maddelerinin kabul edilebilir günlük alım miktarı (ADI değeri) aşıldığında; hiperaktivite, allerjiler, intolerans, gastrik irritasyon, anoreksia, baş ağrısı, kusma, letarji, zayıflık, titreme, baş dönmesi ve hatta hemoglobin yıkımı, merkezi sinir sisteminde geri dönüşü olmayan hasarlar, deri egzaması, gastrik hasar, DNA lezyonu, üreme sisteminde olumsuz etkiler, teratojenik ve mutajenik etkiler gibi yan etkilere neden olmaktadır⁵⁵.

Sasaki ve ark.'ları⁵⁶, benzoik asit ve tuzlarının genotoksik etkilerini fare organlarında (mide, idrar kesesi, beyin, karaciğer, böbrek, akciğer, kolon, kemik iliği) comet test yöntemi ile araştırmışlardır. Araştırmacılar benzoik asit ve tuzlarının çalışılan fare organlarında DNA hasarına neden olduğunu belirlemişlerdir.

Kaboğlu ve Aktaş⁵⁷, benzoik asitin fare karaciğerinde nekrotik değişikliklere neden olduğunu belirlemişlerdir.

Sarıkaya ve Solak⁵³, *Drosophila melanogaster*'de benzoik asitin genotoksik etkisini incelemişlerdir. Benzoik asitin 50, 75 ve 100 mM.

konsantrasyonlarında *Drosophila melanogaster*'de mutasyonlarda artışa neden olduğunu ve yaşam süresini kısalttığını belirtmişlerdir.

Özdemir⁵⁸, benzoik asitin mutajenik etkisini incelemiştir. Benzoik asitin her iki dozunun (0.1 mg/ml; 0.3 mg/ml) kontrolden farkı görülmediğini, ancak bu iki doz kendi içinde değerlendirildiğinde anlamlı bir fark gözlemlendiğini bildirmiştir.

Yılmaz⁵⁹, kültüre alınmış insan periferik lenfositlerinde benzoik asitin etkisini incelemiştir. Sonuç olarak benzoik asitin 50, 100, 200 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarında; kromozomal anormallik, kardeş kromatid değişimi ve primer DNA hasarını hemen hemen tüm dozlarda kontrole göre anlamlı oranda arttırdığını saptamıştır.

Benzoik asit ve sodyum benzoat vücuda ağız yolu ile alımından sonra gastrointestinal sistemden hızlıca absorbe olarak karaciğerde metabolize olmakta ve idrar yolu ile atılmaktadır. Hızlı metabolizma ve atılım nedeniyle benzoatlar ve metabolitleri dokuda birikim yapmamaktadır⁶⁰.

Gıda Katkıları Uzman Komitesi JECFA tarafından benzoik asit ve benzoatların kabul edilebilir günlük alım miktarları 0–5 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlenmiştir^{17,55}. Tablo 3'de kabul edilebilir günlük alım miktarı aşıldığında tüketicinin sağlığı üzerinde oluşturabileceği potansiyel etki derecesi belirtilmektedir²⁷.

!-potansiyel olarak tehlikeli

!!-tehlikeli

!!!-çok tehlikeli

*- Etiketlerin dikkatli okunması önerilmektedir.

Tablo 3: Benzoik Asit ve Benzoatların Tehlike Dereceleri²⁷

	E Kodu	Tehlike Derecesi	ADI (mg/va kg)
E	210	!!	5
E	211	!!!	5
E	212	!!	5
E	213	!!	5

Tüketiciler 5 mg/kg va/gün olan kabul edilebilir günlük alım miktarı ile toksikolojik risklerden korunabilmektedir. İnsanlarda benzoik asit ve sodyum benzoatın akut toksisitesi düşüktür. Benzoik asit genellikle güvenilir olarak tanımlanmasına rağmen, duyarlılığı olan kişilerde 5 mg/kg va/gün'den daha düşük dozlar bile, immünolojik olmayan temasa dayalı reaksiyonlara neden olabilmektedir^{30,34,60}. Bununla birlikte ağız yolu, deri teması ile ya da soluma ile alınmalarının ardından ürtiker, astım, rinit ya da anafilaktik şokun görüldüğü durumlar da rapor edilmiştir³⁴.

Benzoik aside kısa dönemli maruz kalmanın gözleri, deriyi ve solunum sistemini tahriş ettiği gözlenmiştir. Uzun dönem ya da aralıklı olarak arka arkaya maruz kalınması deri hassasiyetine neden olabilmektedir³⁰.

Yapılan çalışmalarda, gıda katkı maddeleri ve atopik dermatit arasında bir bağlantı olduğu rapor edilmiştir³².

Yapılan bir çalışmada benzoatların bazı hastalarda bronkospazma neden oldukları bildirilmiştir. Kronik astımı olan 28 hastaya uygulanan uyarım testinde, sadece bir hastada FEV1'de %20'den daha fazla bir düşüş gözlenmiştir².

Tarlo ve Brader⁶¹, kronik astımı olan 28 hastadan sadece birinin sodyum benzoata aşırı duyarlılığı olduğunu bildirmişlerdir.

İnsanlarda ise benzoik asit; tat hücrelerinin trigeminal innervasyonunu uyarmakta ve ağız bölgesinde karıncalanmaya ve deri ile temasında geçici bir irritasyona ve kaşıntıya neden olabilmektedir³⁵. Ayrıca bunların direk olarak çocukluktaki hiperaktivite ile bağlantılı oldukları da gözlenmiştir¹⁷.

McCann ve ark'ları⁶², yaptıkları bir çalışmada, sodyum benzoat ve 4 sentetik renklendiricinin hiperaktiviteyi arttırmadaki etkisini 3 yaş ve 8–9 yaş çocukların diyetlerine bu katkıları ilave edilerek araştırmışlardır. Çocukların durumu öğretmenler, veliler, sınıf ve oda gözlemcileri tarafından izlenmiştir. Sonuç olarak, sentetik boyalar ve sodyum benzoatın çocuklar üzerinde azda olsa hiperaktiviteyi artırıcı olduğu ve zararlı etki meydana getirdiği gözlenmiştir.

Diğer bir çalışmada ise 3 yaşındaki çocukların diyetlerine katılan ticari gıda boyalarının ve benzoatların hiperaktif davranışa neden olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada çocuklara 1 hafta süresince katkı maddesi içermeyen gıda verilmiş, sonraki 3 hafta süresince günlük 20 mg renklendirici ve 45 mg benzoat içeren gıdalar verilmiştir. Çalışmada gıda boyalarının ve koruyucunun hiperaktif davranışların artmasında etkisi bulunduğu belirtilmiştir⁶³.

Kronik ürtikere neden olan ajanlar üzerinde yapılan araştırmalarda gıda katkı maddeleri üzerinde durulmuştur. Gıda koruyuculardan sodyum benzoat, benzoik asit ve parabenlerin kronik ürtiker oluşumunda aktif rol aldığı belirtilmiştir⁶⁴.

Yapılan bir çalışmada, sodyum benzoat ile temas eden 27 çocuktan 4'ünde ürtiker görüldüğü rapor edilmiştir. Yine yapılan çeşitli çalışmalarda benzoatların ürtiker, angioderma, şiddetli hipotansiyon ve

nadirde olsa anafilaktik reaksiyonlara neden olduğu ayrıca doğuştan kronik ürtikerli hastalarda da benzoatların önemli reaksiyon oranına sahip oldukları rapor edilmiştir³².

2.4.6 Benzoik Asit ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Gıda katkı maddelerinin kullanımı yasalarla düzenlenmektedir^{8,27}. Gıda sanayi; ürettiği gıdada katkı maddelerini kullanırken teknik gerekliliğin yanı sıra yasal düzenlemelerde izin verilen miktarda kullanmak zorundadır⁶⁵. Bu düzenlemelerin amacı, gıdalarda kullanılan katkı maddesinin kötü kullanımını ve sağlık üzerinde oluşabilecek kötü etkilerini önlemektir⁸.

Gıda katkı maddelerinin kullanılmasına ilişkin koşullar farklı ülkelerde özel yasalarla sınırlandırılmaktadır⁴⁴. Avrupa ve Romanya yasalarında; gıda katkı maddelerinin kullanımı ile ilgili olarak; üretici, bunların gıda kompozisyonu içinde kullanımının tüketicinin yararına olduğunu ve özelleştirilmiş maddelerin kullanılmasıyla doğru bir gıda elde edildiğini gösterebilirse tescil edilmektedir⁵⁵. Brezilya ise; birçok ülkede olduğu gibi, gıda katkı maddelerinin güvenli düzeylerde kullanımıyla ilgili Gıda Katkıları Uzmanlar Komitesi (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives = JECFA)'nin direktiflerini uygulamaktadır⁴⁴.

Gıdalarda kullanılan renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki katkı maddelerinin saflık kriterleri, aynı adlı 2008/84/EC sayılı Avrupa Birliği komisyon direktifine uygun olarak 2012/33 No. tebliğ ile düzenlenmiştir. Bu tebliğ'de gıdalarda kullanılabilecek benzoik asit ve benzoatlara ait bilgiler verilmiştir⁶⁶.

Ülkemizde gıdalara katılacak katkı maddelerinin miktarı 29.12.2011 tarihli ve 28157 (3 üncü mükerrer) sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine uygun olmalıdır.

Benzoik asit ve tuzları bu yönetmelikte kullanımı şartlı izin verilen koruyucu maddeler sınıfındadır¹⁴. Benzoik asit ve tuzlarının gıdalarda kullanımı ve en yüksek değerleri Türk Gıda Kodeksinde belirtilmiştir. Düşük şekerli reçeller, jöle, marmelatlar ve benzeri düşük kalorili veya şekersiz ürünler, diğer meyve bazlı sürülebilir ürünler, marmelatlar için benzoik asitin tek başına bulunabilecek en yüksek değeri 500 mg/kg, sorbik asit ile birlikte ise 1000 mg/kg'dır. %60 veya daha fazla yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar için tek başına bulunabileceği değer 500 mg/kg ve sorbik asit ile birlikte 1000 mg/kg, %60'dan az yağ içeren emülsifiye edilmiş soslarda tek başına 1000 mg/kg ve sorbik asit ile birlikte 2000 mg/kg, emülsifiye edilmemiş soslarda ise sorbik asitle birlikte 1000 mg/kg kullanılabilirliği belirtilmiştir.

2.4.7. Benzoik Asidin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

Çeşitli gıdalarda antimikrobiyallerin kullanılmaması durumunda gıda zehirlenmesine yol açan mikrobiyolojik faaliyetler oluşabilir⁶⁷. Benzoik asit ve tuzlarının birçok gıda türünde gıda koruyucuları olarak kullanılmalarına izin verilmiştir. Bu koruyucu maddeler güvenilir düzeylerden daha yüksek oranda kullanıldıklarında zararlı olabilmektedirler^{68,69}. Bu nedenle gıdalardaki koruyucu konsantrasyonları öncelikle önemlidir⁷⁰. Bu koruyucuların miktarlarının belirlenmesi de rutin gıda analizlerinde zorunlu bir aşamadır^{33,68,69}.

Gıdalardaki benzoik asitlerin analizi için birçok yöntem bulunmaktadır ve belirlenecek metot analiz edilen gıda matriksine bağlı olarak seçilmektedir. Yöntemlerin büyük bir kısmı örneğin, alkolsüz içecekler, soslar ve yoğurtlar vb gibi sıvılar içindir ve daha ileri düzeylerde yöntem geliştirmek için bütün matrikslere uygulanabilecek şekilde adapte olması gerekmektedir¹².

Koruyucuları test etmek için hızlı ve kesin yöntemler gereklidir⁷¹. Kısa analiz süresi içinde, benzoik asit ve parabenlerin seçici, basit ve eş zamanlı olarak belirlenmesi analitik olarak önemlidir. Bu bileşikler ince tabaka (Thin Layer Chromatography,TLC), gaz (Gas Chromatography,GC) ve sıvı kromatografisi (Liquid Chromatography, LC) kullanılarak gıdalarda belirlenebilmektedir. UV dedektörlü yüksek performans sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography,HPLC) ve C-18 kolon bu amaç için sıklıkla kullanılmaktadır^{72,73,74,75}. Koyuncu⁷⁶ ve Çakır⁷⁷ yaptıkları çalışmalarda örneklerdeki benzoik asit ve sorbik asit miktarlarının tespiti için HPLC yöntemini kullanmışlardır.

Aynı zamanda koruyucuların belirlenmesi için spektrofotometrik yöntemler ve kapiller elektroforez (CE) gibi tekniklerde kullanılmaktadır^{68,73,78}.Yüksek performans sıvı kromatografisi ve gaz kromatografisi yöntemlerin çoklu ekstrasyon, buharlaştırma ve türevlendirme gibi kompleks örnek hazırlama aşamaları bulunmaktadır^{68,73,74}. Yentür ve arkadaşları⁷⁹, yaptıkları çalışmada örneklerdeki benzoik asit ve sorbik asit miktarlarının saptanması için gaz-sıvı kromatografisi (GLC) yöntemini uygulamışlardır.

Spektroskopik yöntemler genellikle bu bileşiklerin tek başlarına belirlenebilmesine imkân vermektedir. Bunun yanı sıra kromatografik yöntemler tek başlarına ya da kombinasyon halindeki katkı maddelerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır^{10,69,80}. Yentür ve Bayhan⁸¹, çeşitli ürünlerdeki benzoik asit ve sorbik asit miktarlarının tespiti için spektrofotometrik yöntemi uygulamışlardır. Eker⁸², de yaptığı çalışmada örneklerdeki benzoik asit miktarlarının tespiti için spektrofotometrik yöntemi uygulamıştır. Gıdalarda benzoik asidin belirlenmesi için birçok AOAC (Association of Official Analytical Chemists)

yöntemi geliştirilmiştir. Spektrofotometrik yöntemlerle benzoik asit tayininde geri kazanım oranı %92'den yüksek olmasına rağmen, yöntem ayrıntılı ve zaman açısından dezavantajlıdır^{18,33}.

Son yıllarda HPLC, GC ya da GC-MS kullanılarak yapılan analizlerde katı-faz ekstrasyonu (SPE) ve stir-bar sorptive ekstrasyonu (SBSE) yöntemleri yeni örnek ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Gıda koruyucularının direk analizi için küçük çözünürlük ve pik sapmaları durumunda türevlendirme iyi sonuç veren bir uygulamadır⁶⁸. Tatlandırıcılar, koruyucular ve renklendiricilerin içeceklerde eş zamanlı olarak belirlenebilmesi için ise UV taramalı HPLC kullanılmaktadır²⁷.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal ve Kimyasallar

3.1.1. Materyal

Araştırmada, Ankara piyasasından sağlanan iki ayrı firmaya ait (A, B) 10'ar adet olmak üzere 20 adet ketçap, iki ayrı firmaya ait (C,D) 10'ar adet olmak üzere 20 adet sos, E firmasına ait 10 adet ve F, G, H, I, J, K firmalarına ait 5'er adet olmak üzere toplam 40 adet geleneksel reçel örneği kullanıldı.

Çalışmada kullanılan toplam 80 adet geleneksel reçel, ketçap ve sos örnekleri süpermarketlerden temin edildi. Örneklerin her birinin seri numarası ve üretim tarihlerinin farklı olmasına dikkat edildi. Analize alınacak örnekler oda sıcaklığında muhafaza edildi. Örneklerin ambalajları analize alınmadan hemen önce açıldı.

Ketçap ve soslara ait olan örneklerin etiket bilgilerinde kullanılan koruyucu katkı maddesinin tek başına Na-benzoat olduğu belirtilmiştir. Reçel örneklerinin etiket bilgilerinde ise koruyucu katkı maddesi bilgisi belirtilmemiştir.

Seçilen örnekler Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı, Besin Analizleri Bilim Dalı Araştırma Laboratuvarında analiz edildi.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

-Benzoik Asit	(Merck K No:1.00136)
-Sodyum Klorür	(Merck K No:1.06404)
-Dietil Eter	(Merck K No:1.00926)
-Hidroklorik Asit	(Merck K No:1.00314)

3.1.3. Kullanılan Alet ve Ekipman

-Hassas Terazı	(Shimadzu AW320)
-Vortex	(Firlabo)
-Karıştırıcı	(IKA RH Basic2)
-Spektrofotometre	(Shimadzu UV160A)
-Buzdolabı	(Arçelik)
-Ayırma Hunisi 100'lük	(İldam)
-pH Kağıdı	(Merck)
-Genel Laboratuar Malzemeleri	

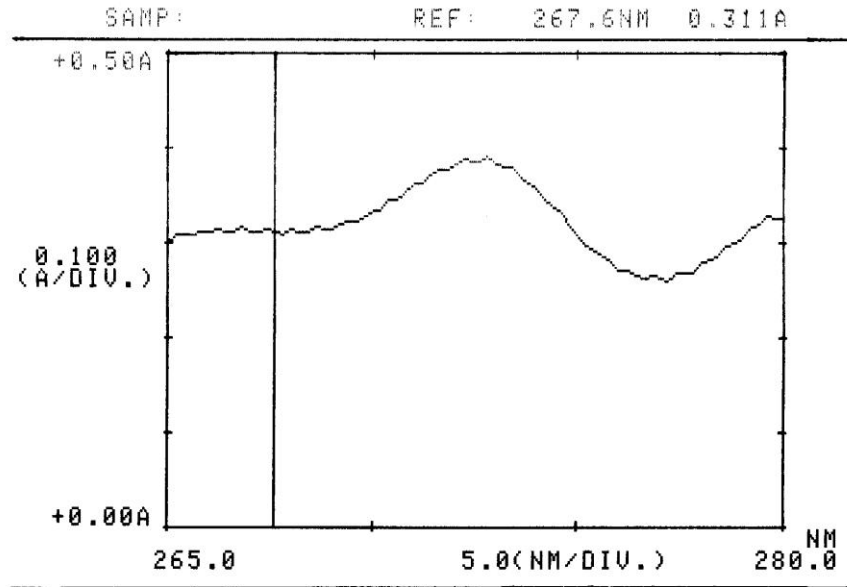
3.2 Yöntem

3.2.1 Benzoik Asit Tayini

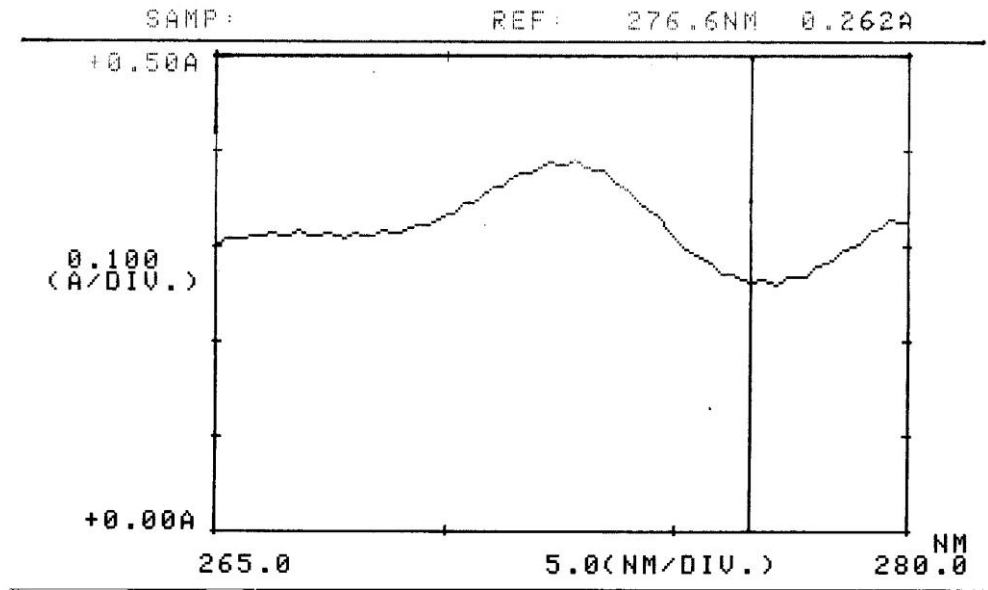
Ketçap, sos ve reçel örneklerinde benzoik asit tayini için Association of Official Analytical Chemists (AOAC)'nin gıda ve içeceklerde benzoik asit tayin yöntemi kullanıldı⁸³.

Bu yöntem, benzoik asidin organik çözücülerle ekstraksiyonundan sonra spektrofometrede ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır.

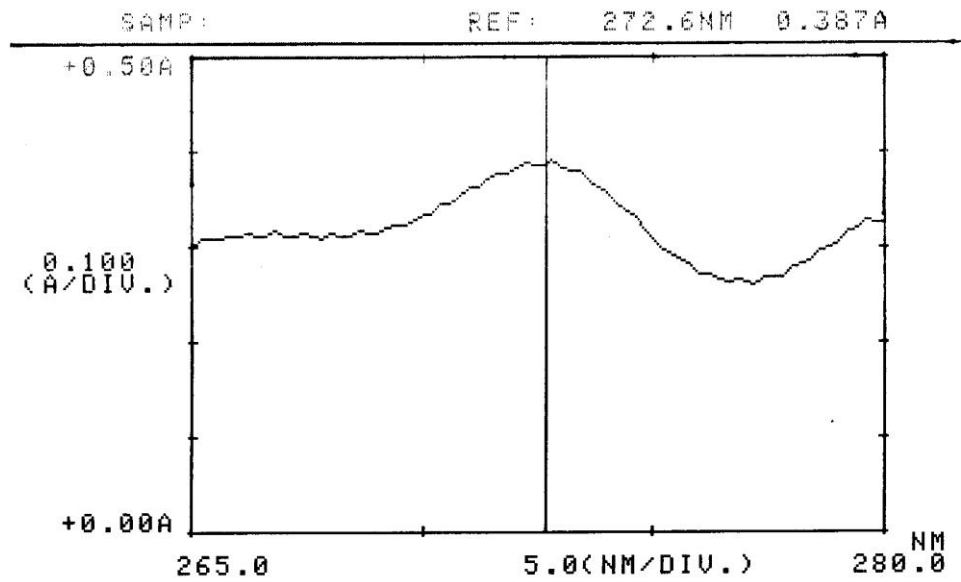
Yöntem gereğince aşağıda belirtilen çözelti ve reaktifler hazırlandı. 50 mg/L konsantrasyonda benzoik asit çözeltisi dietileterde hazırlandı ve spektrofotometrede 265 ve 280 nm dalga boyları arasında tarama yapılarak laboratuvar ölçüm koşullarına göre uygun ölçüm absorbansları A (minimum), B (diğer minimum), C (maksimum) noktaları için sırasıyla 267.6, 276.6 ve 272.6 nm olarak belirlendi. Benzoik asit standartları 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 120 µg /ml konsantrasyonlarında hazırlanarak ölçüldü, standart eğri oluşturuldu ve daha sonra örneklerin analizlerin yapıldı.



Şekil 3: Laboratuvar şartlarına uygun benzoik asit ölçümü için 1. Minimum dalga boyu tarama



Şekil 4: Laboratuvar şartlarına uygun benzoik asit ölçümü için 2. Minimum dalga boyu tarama



Şekil 5: Laboratuvar şartlarına uygun benzoik asit ölçümü için maksimum dalga boyu tarama

Çözelti ve Reaktifler

Benzoik Asit Standart Çözeltisi: 100 mg benzoik asit tartılarak 100 ml'lik balonjojede bir miktar dietil eterde çözüldü ve hacmi dietil eter ile 100 ml'ye tamamlandı. Bu çözelti günlük hazırlandı.

HCl (1+1000):

1 ml HCl 250 ml suya ilave edildi ve 1000 ml'ye tamamlandı.

3.2.2 Benzoik Asit Standart Eğrisinin Oluşturulması

Konsantrasyonu 1 mg/ml olan benzoik asit çalışma çözeltisinden 50 ml'lik balon jojelere 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 ml konuldu. Bu çözeltiler dietileter ile 50 ml'ye tamamlandı. Standart çözeltiler spektrofotometrede 267.6, 276.6 ve 272.6 nm dalga boyunda kör'e (0) karşı okundu. Absorbansın gerçek değeri aşağıdaki formülde yerine konularak hesaplamalar yapıldı.

$$A = \frac{CA - (BA + DA)}{2}$$

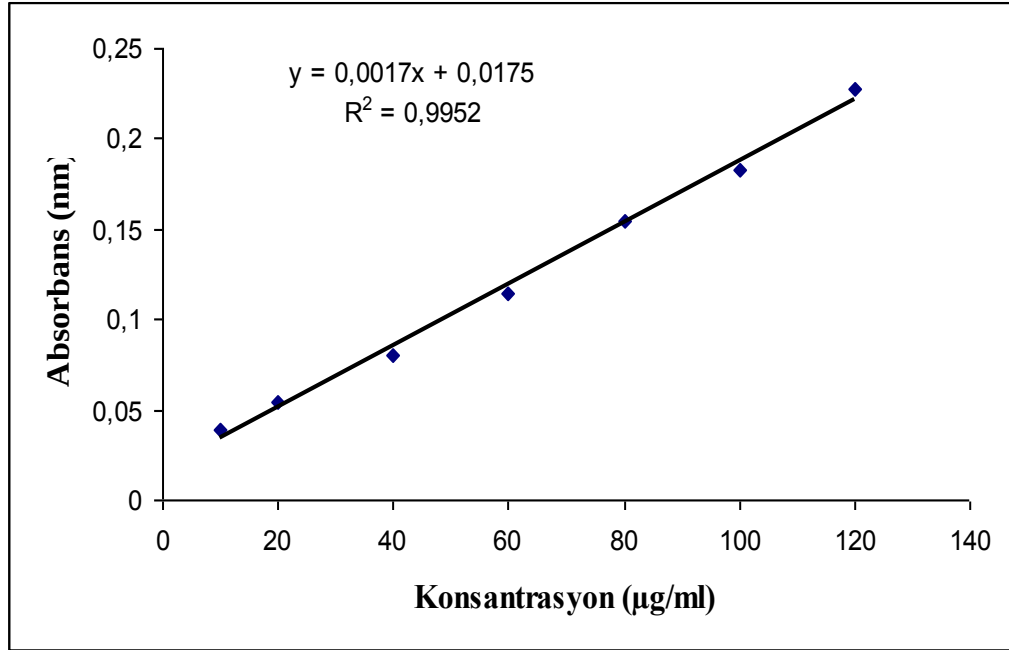
BA: 267.6 nm dalga boyundaki değer

CA: 272.6 nm dalga boyundaki değer

DA: 276.6 nm dalga boyundaki değer

Elde ettiğimiz absorbans değerleri ve hesaplanan konsantrasyon değerlerinden yararlanılarak standart eğri çizildi (Şekil 6).

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans (nm)
10	0.039
20	0.054
40	0.081
60	0.115
80	0.155
100	0.183
120	0.228



Şekil 6: Benzoik asit standart eğrisi

3.2.3.Gıda Örneklerinin Analize Hazırlanması ve Yöntemin Uygulanması

Ketçap, sos ve reçel örneklerinin her birinden 3'er gram tartıldı ve 50 ml doygun NaCl çözeltisi ile 100 ml'lik ayırma hunisine aktarıldı. Daha sonra örnekler sırasıyla 20, 17.5 ve 10 ml dietileter ile ekstrakte edildi. Bu üç ekstraksiyon aşamasında alt faz ayırma hunisine tekrar alınarak ekstraksiyona devam edildi. Üst faz ise kapaklı bir erlene alınarak toplandı. Toplanan dietileter ekstraktları üç kez 15 ml (1+1000) HCl ile yıkandı. Asitli sulu kısım atıldıktan sonra kalan ekstrakt dietileter ile 50 ml'ye tamamlandı. Ekstraksiyonu yapılan örneklerin absorbansı spektrofotometrede 267.6, 276.6 ve 272.6 nm dalga boyunda köre karşı okundu.

Örneklerden elde edilen absorbans değerlerinin, standart eğrideki karşılığından benzoik asit miktarları $\mu\text{g/ml}$ olarak bulundu. Daha sonra sodyum benzoat cinsinden mg/kg olarak hesaplandı.

Sodyum Benzoat= $1.18 \times \text{Benzoik Asit}$

3.2.4. Benzoik Asit Metodunun Tekrarlanabilirliği

Kullanılan yöntemin tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla aynı gün içerisinde çok kısa aralıklarla ketçap, sos ve reçel örnekleri üzerinde çalışıldı. Kullanılan yöntem benzoik asit yönteminin aynısı olup sonuçlar Tablo 4'de verildi.

Tablo 4: Benzoik Asit Metodunun Tekrarlanabilirliği

Analiz	A Firması(Ketçap) Benzoik Asit Miktarı (mg/kg)	C Firması (Sos) Benzoik Asit Miktarı (mg/kg)	E Firması (Reçel) Benzoik Asit Miktarı (mg/kg)
1. Analiz	387.55	888.25	890.78
2. Analiz	399.12	877.45	885.00

3.2.5 Yöntemin Doğruluğu ve Verimin Hesaplanması

Örneklerin analizinde kullanılan yöntemin doğruluğunu ispatlamak için benzoik asit içermeyen reçel örneklerine 20, 40, 60 µg/ml miktarlarında standart benzoik asit ilave edilerek ölçüm yapıldı. Bu analizde kullanılan yöntem benzoik asit yönteminin aynısıdır. Üç örnekte çalışma yapıldı. Reçel örneklerine ait sonuçlar Tablo 5’de verildi.

Tablo 5: Standart İlave Edilen Reçel Örneklerine Ait Benzoik Asit Konsantrasyonları ve % Verim Değerleri

İlave Edilen Benzoik Asit Miktarı (mg/kg)	Ölçülen Benzoik Asit Miktarı (mg/kg)	% Verim
20	20.24	101.2
40	39.47	98.67
60	57.71	96.18
Ortalama: 98.68		

3.2.6 İstatistiksel Analizler

Ankara piyasasından temin edilen ketçap, sos ve reçel örneklerinin analizinde her deney için alınan örnek ve standartlarda çift ölçüm yapılarak çalışıldı. Örneklerdeki benzoik asit miktarları sodyum benzoat cinsinden mg/kg cinsinden hesaplandı.

İstatistiksel değerlendirmeler bilgisayarda SPSS 15 versiyon istatistik programında yapıldı. Firmalar arası kontroller Student-t testi ile yapıldı. A ve B firmalarına ait ketçap örneklerindeki benzoik asit miktarları ortalamaları ile C ve D firmalarına ait sos örneklerindeki benzoik asit miktarları ortalamalarının, standart değerle karşılaştırılmasında One Sample-t testi uygulandı⁸⁴.

Örneklerin analiz sonuçlarının firmalara göre dağılımı ve diğer grafikler Excel–5 bilgisayar paket programında hazırlandı.

4. BULGULAR

Araştırmada, Ankara piyasasından sağlanan iki ayrı firmaya ait (A,B) 10'ar adet olmak üzere 20 adet ketçap, iki ayrı firmaya ait (C,D) 10'ar adet olmak üzere 20 adet sos ve bir firmaya ait (E) toplam 10 adet reçel örneklerinin benzoik asit miktarları Tablo 6, 7 ve 8'de, örneklerde saptanmış olan benzoik asit miktarlarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 9'da, benzoik asit için firmalar arası önem düzeyi Tablo 10 ve 11'de gösterilmiştir. Altı ayrı firmaya ait (F, G, H, I, J, K) toplam 30 adet reçel örneğinde benzoik asit saptanamamıştır. Firmalara ait ketçap ve sos örneklerindeki benzoik asit değerlerinin(mg/kg) Türk Gıda Kodeksi standart değerleri ile karşılaştırılması Tablo 12'de, firmalara ait ketçap, sos, reçel örneklerinde saptanan benzoik asit değerlerinin dağılım grafikleri Şekil 7, 8 ve 9' da, ayrıca ketçap ve sos örneklerindeki benzoik asit değerlerinin (mg/kg) Türk Gıda Kodeksi standart değeri ile karşılaştırma grafiği Şekil 10'da verilmiştir.

Tablo 6: A ve B firmasına ait ketçap örneklerinde saptanan benzoik asit değerleri (mg/kg)

Örnek No	A(mg/kg)	B(mg/kg)
1	69.41	1075.88
2	98.33	1139.51
3	231.37	879.22
4	152.32	1000.69
5	179.31	989.12
6	248.73	954.41
7	185.10	1093.24
8	121.47	948.63
9	109.90	1127.94
10	127.25	873.43

Tablo 7: C ve D firmasına ait sos örneklerinde saptanan benzoik asit değerleri(mg/kg)

Örnek No	C(mg/kg)	D(mg/kg)
1	989.12	815.59
2	1145.29	1197.35
3	977.55	1087.45
4	1000.69	1081.67
5	1064.31	1237.84
6	989.12	1191.57
7	850.29	1266.76
8	1006.47	1307.25
9	885.00	1127.94
10	1000.69	1168.43

Tablo 8: E firmasına ait reçel örneklerinde saptanan benzoik asit değerleri (mg/kg)

Örnek No	Benzoik asit (mg/kg)
1	520.59
2	387.55
3	537.94
4	375.98
5	433.82
6	335.49
7	399.12
8	491.67
9	-
10	-

Tablo 9: A ve B firmalarına ait ketçap, C ve D firmalarına ait sos ve E firmasına ait reçel örneklerdeki, benzoik asit değerleri (mg/kg)

	n	X±S.H	Min.	Maks.
A	10	152.32±18.41	69.41	248.73
B	10	1008.21±30.74	873.43	1139.51
C	10	990.85±26.00	850.29	1145.29
D	10	1148.19±43.62	815.59	1307.25
E	10	435.27±26.07	-	537.94

Ketçap, sos, reçel örneklerinde saptanmış olan benzoik asit miktarlarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 9’ da verilmiştir.

Tablo 9 incelendiğinde A ve B firmalarının ketçap örneklerine ait en düşük ve en yüksek benzoik asit değerlerinin sırasıyla 69.41-248.73 mg/kg ve 873.43-1139.51 mg/kg sınırları içerisinde, C ve D firmalarının sos örneklerine ait en düşük ve en yüksek benzoik asit değerlerinin sırasıyla 850.29-1145.29 mg/kg ve 815.59-1307.25 mg/kg sınırları içerisinde ve E firmasının reçel örneklerinin en düşük ve en yüksek benzoik asit değerlerinin ise tespit edilemeyen değer ile 537.94 mg/kg sınırları içerisinde değiştiği görülmüştür.

A ve B firmalarının ketçap örneklerine, C ve D firmalarının sos örneklerine ve E firmasının reçel örneklerine ait ortalama benzoik asit değerleri ise sırasıyla 152.32 ± 18.41 mg/kg, 1008.21 ± 30.74 mg/kg, 990.85 ± 26.00 mg/kg, 1148.19 ± 43.62 mg/kg ve 435.27 ± 26.07 mg/kg olarak bulunmuştur.

Tablo 10: İki ayrı firmadan sağlanan (A,B) ketçap örneklerinde benzoik asit değerlerinin karşılaştırılması (mg/kg)

Firma	N	X±S.H	Min.	Maks.
A	10	152.32±18.41	69.41	248.73
B	10	1008.21±30.74	873.43	1139.51
t***				

***p<0.001

Tablo 10 incelendiğinde benzoik asit açısından A ile B firmaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur (***p<0.001).

Tablo 11: İki ayrı firmadan sağlanan (C,D) sos örneklerinde benzoik asit değerlerinin karşılaştırılması (mg/kg)

Firma	n	X±S.H	Min.	Maks.
C	10	990.85±26.00	850.29	1145.29
D	10	1148.19±43.62	815.59	1307.25
t**				

**p<0.01

Tablo 11 incelendiğinde benzoik asit açısından C ile D firmaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (**p<0.01).

Tablo 12: A ve B firmalarına ait ketçap, C ve D firmalarına ait sos örneklerindeki benzoik asit ortalama değerlerinin standart değerler ile karşılaştırılması (mg/kg)

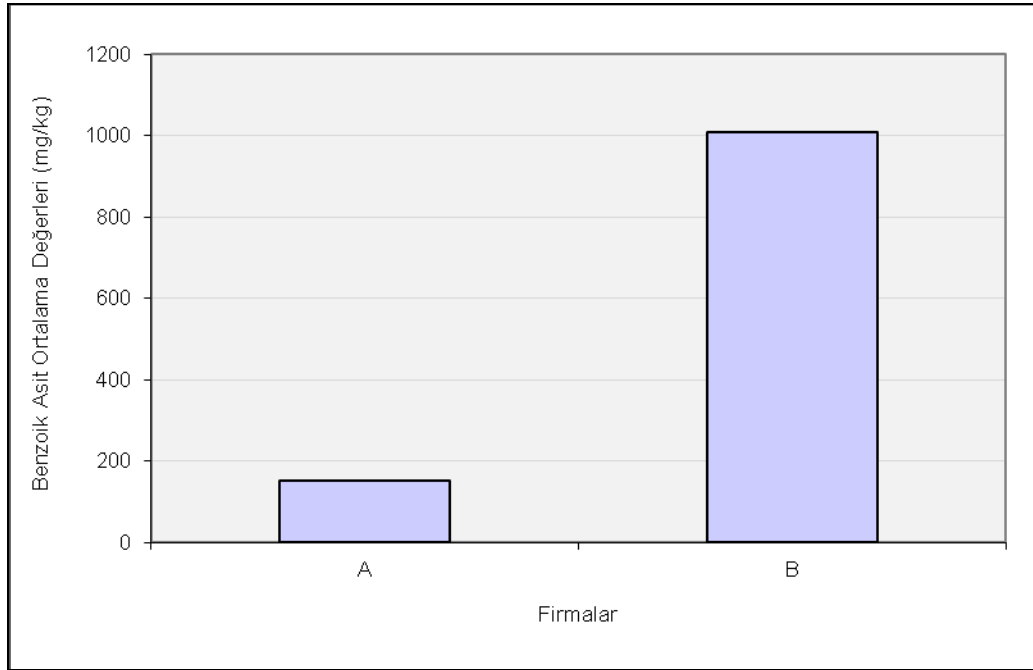
	n	X±S.H	Min.	Maks.	t
A	10	152.32±18.41	69.41	248.73	t***
B	10	1008.21±30.74	873.43	1139.51	t ⁻
C	10	990.85±26.00	850.29	1145.29	t ⁻
D	10	1148.19±43.62	815.59	1307.25	t**

-p>0.05, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

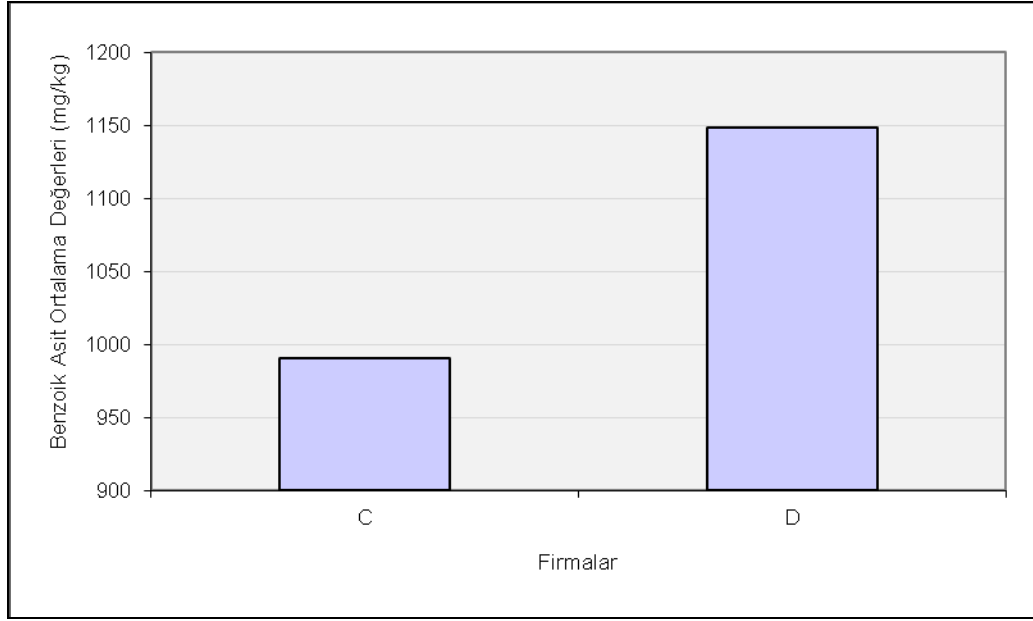
Tablo 12 incelendiğinde, A ve B firmalarına ait ketçap örneklerindeki, C ve D firmalarına ait sos örneklerindeki ortalama benzoik asit değerlerinin sırasıyla A firması için 152.32 ± 18.41 mg/kg, B firması için 1008.21 ± 30.74 mg/kg, C firması için 990.85 ± 26.00 mg/kg ve D firmasına ait sos örnekleri için 1148.19 ± 43.62 mg/kg olduğu görülmektedir.

A firmasına ait ketçap örneklerindeki ortalama benzoik asit değerleri, Türk Gıda Kodeks'ine¹⁴ göre maksimum değer olarak belirtilen 1000mg/kg'dan düşüktür ve fark istatistiksel olarak önemli ($***p<0.001$) bulunmuştur. Fakat B firmalarına ait ketçap örneklerindeki ortalama benzoik asit değerleri, maksimum değer olarak belirtilen 1000mg/kg'dan yüksektir ve fark istatistiksel olarak önemli ($-p> 0.05$) bulunmamıştır.

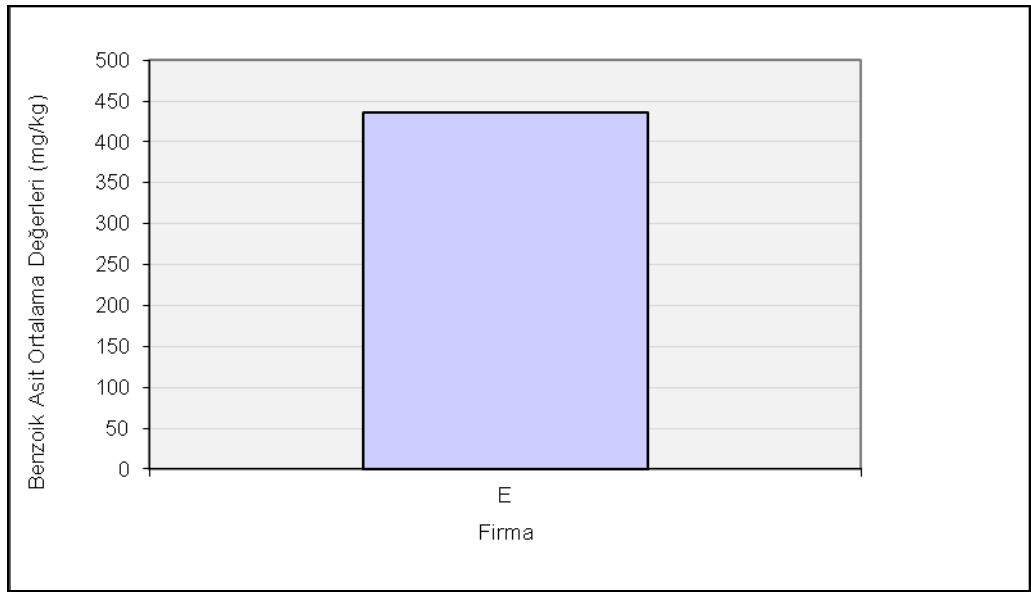
C ve D firmalarına ait sos örneklerindeki ortalama benzoik asit değerleri Türk Gıda Kodeks'ine¹⁴ göre, maksimum değer ile karşılaştırıldığında C firmasına ait örneklerin ortalama benzoik asit değerleri maksimum değer olarak belirtilen 1000 mg/kg'dan düşüktür ve fark istatistiksel olarak önemli ($-p> 0.05$) bulunmamıştır. D firmasına ait örneklerin ortalama benzoik asit değerlerinin ise maksimum değer olarak belirtilen 1000 mg/kg'dan yüksek olduğu ve farkın istatistiksel olarak önemli ($**p> 0.01$) olduğu görülmüştür



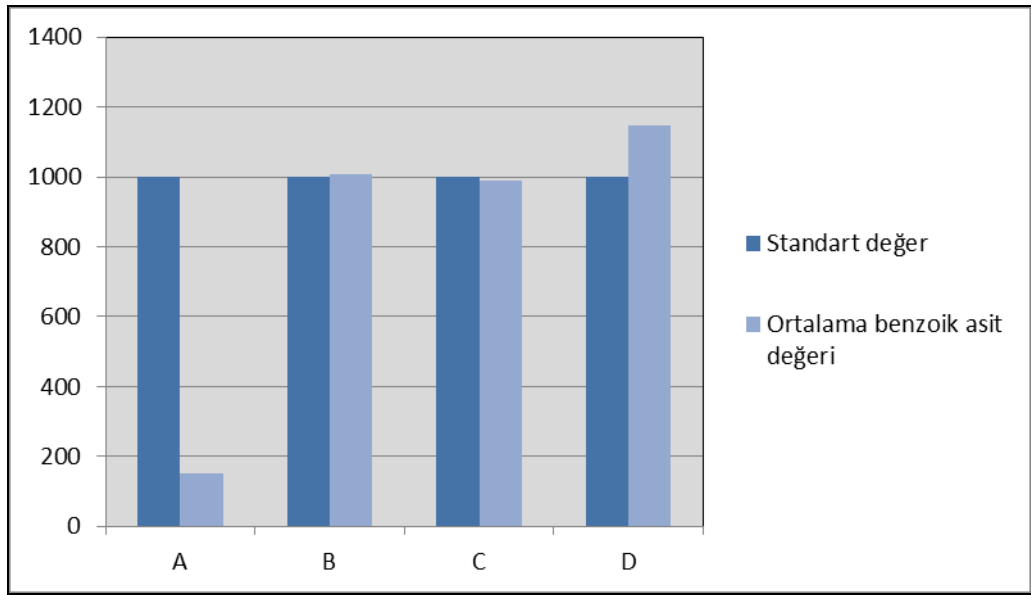
Şekil 7: Ketçap örneklerinde saptanan benzoik asit miktarlarının firmalara göre dağılımı



Şekil 8: Sos örneklerinde saptanan benzoik asit miktarlarının firmalara göre dağılımı



Şekil 9: Reçel örneklerinde saptanan benzoik asit miktarları



Şekil 10: A,B,C,D firmalarına ait örneklerde saptanan ortalama benzoik asit değerlerinin standart değer (1000mg/kg) ile karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Araştırmada, Ankara piyasasından sağlanan iki ayrı firmaya ait, her firmadan 10'ar adet olmak üzere 20 adet ketçap ve 20 adet sos ile yedi ayrı firmaya ait bir firmadan 10 adet reçel, diğer altı firmadan 5'er adet reçel olmak üzere toplam 80 adet gıda örneğinde benzoik asit miktarları saptanmıştır. Altı ayrı firmadan alınan toplam 30 adet reçel örneğinde benzoik asit saptanmamıştır.

Analizi yapılan ketçap örneklerinin benzoik asit miktarları Tablo 6'da sos örneklerinin benzoik miktarları Tablo 7'de ve bir firmaya ait reçel örneklerinde saptanan benzoik asit miktarları Tablo 8'de verilmiştir. Ketçap, sos ve reçel örneklerinde saptanmış olan benzoik asit miktarlarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 9'da verilmiştir.

Belirli konsantrasyonlarda standartların örneklerle ilavesiyle yapılan geri elde etme denemeleri olumlu sonuç vermiştir. Çalışmada reçel örneklerine katılan 20, 40 ve 60 µg /L konsantrasyonlardaki standart benzoik asit ilave edilerek hesaplanan geri kazanım ortalama değeri %98.68 olarak bulunmuştur.

Ankara piyasasından temin edilen ketçap, sos ve reçellerde benzoik asit varlığının ve miktarlarının belirlenmesi amacıyla spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır.

Türk Gıda Kodeksinde, düşük şekerli reçeller, jöle, benzeri düşük kalorili veya şekersiz ürünler, diğer meyve bazlı sürülebilir ürünler ve marmelatlar için benzoik asitin tek başına bulunabilecek en yüksek değeri 500 mg/kg, sorbik asit ile birlikte ise 1000 mg/kg olarak, %60 veya

daha fazla yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar için tek başına bulunabileceği değer 500 mg/kg ve sorbik asit ile birlikte 1000 mg/kg, %60'dan az yağ içeren emülsifiye edilmiş soslarda tek başına 1000 mg/kg ve sorbik asit ile birlikte 2000 mg/kg, emülsifiye edilmemiş soslarda ise sorbik asitle birlikte 1000 mg/kg kullanılabileceği belirtilmiştir¹⁴.

Araştırma sonuçları firmalara göre incelendiğinde; A firmasına ait ketçap örnekleri minimum 69.41 mg/kg, maksimum 248.73 mg/kg ve ortalama 152.32 ± 18.41 mg/kg benzoik asit içermektedir. (Tablo 9). Bu firmaya ait ketçap örneklerindeki ortalama benzoik asit miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo 12) istatistiksel olarak fark önemli (* $p < 0.001$) bulunmuştur.

B firmasına ait ketçap örnekleri minimum 873.43 mg/kg, maksimum 1139.51 mg/kg ve ortalama 1008.21 ± 30.74 mg/kg benzoik asit içermektedir (Tablo 9). Bu firmaya ait ketçap örneklerindeki ortalama benzoik asit miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo12) istatistiksel olarak fark önemli ($-p > 0.05$) bulunmamıştır.

C firmasına ait sos örnekleri minimum 850.29 mg/kg, maksimum 1145.29 mg/kg ve ortalama 990.85 ± 26.00 mg/kg benzoik asit içermektedir (Tablo 9). Bu firmaya ait sos örneklerindeki ortalama benzoik asit miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo 12) istatistiksel olarak farkın önemli olmadığı ($-p > 0.05$) görülmüştür.

D firmasına ait sos örnekleri minimum 815.59 mg/kg, maksimum 1307.25 mg/kg ve ortalama 1148.19 ± 43.62 mg/kg benzoik asit içermektedir (Tablo 9). Bu firmaya ait sos örneklerindeki ortalama benzoik asit miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo12) fark istatistiksel olarak önemli (** $p > 0.01$) bulunmuştur.

E firmasına ait reçel örnekleri tespit edilemeyen değer ile maksimum 537.94 mg/kg ve ortalama 435.27 ± 26.07 mg/kg benzoik asit içermektedir (Tablo 9). Türk Gıda Kodeksi Reçel, Jöle, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliğinde yer alan ürünlerin Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nin Gıda Katkı Maddeleri Bölümüne uygun olması gerektiği belirtilmektedir⁴⁹.

A firmasına ait ketçap örneğinde ortalama benzoik asit değeri 152.32 ± 18.41 mg/kg olarak (Tablo 10). B firmasına ait ketçap örneğinde ortalama benzoik asit değeri 1008.21 ± 30.74 mg/kg olarak (Tablo 10) saptanmıştır. A ve B firmalarına ait ketçap örneklerindeki benzoik asit miktarları arasındaki fark önemli ($***p<0.001$) bulunmuştur.

C firmasına ait sos örneğinde ortalama benzoik asit değeri 990.85 ± 26.00 mg/kg olarak (Tablo 11). D firmasına ait sos örneğinde ortalama benzoik asit değeri 1148.19 ± 43.62 mg/kg olarak (Tablo 11) saptanmıştır. C ve D firmalarına ait sos örneklerindeki benzoik asit miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($**p<0.01$) bulunmuştur.

Firmalara ait sonuçlar incelendiğinde (Tablo 10); ketçap örneklerinin temin edildiği A ile B firması arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($***p<0.001$) bulunmuştur. Aynı şekilde sos örneklerinin temin edildiği C ve D firmaları arasındaki farkta önemli ($**p<0.01$) bulunmuştur. Firmalar arası karşılaştırmalar sonunda istatistiksel olarak önemli bulunan fark, firmaların üretimlerindeki teknolojik farklılıklardan kaynaklanabilir. E firmasına ait reçel örneklerinde (2 örnek hariç) ortalama 435.27 ± 26.07 mg/kg miktarında benzoik asit saptanmıştır. İki örnek istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır.

Bu çalışmada etiketlerinde belirtilmemesi ve kullanımına izin verilmemesine rağmen bazı firmalara ait reçellerde benzoik asit varlığı saptanmıştır. Reçel örneklerinde benzoik asit saptanması Türk Gıda Kodeksinde¹⁴ belirtilmediği halde bilinçsiz kullanımdan kaynaklanabilir.

Yentür ve Bayhan⁸¹, yaptıkları çalışmada sos, ketçap, reçel, meyve suyu ve eritme peynirler olmak üzere toplam 80 adet örnekte benzoik asit ve sorbik asit miktarlarını araştırmışlardır. Ketçap ve reçel örneklerinde ortalama benzoik asit miktarlarını sırasıyla 0.516 ± 0.065 g/kg ve 0.479 ± 0.046 g/kg olarak saptadıklarını ve sonuçların izin verilen standart değerin altında olduğunu bildirmişlerdir. Yentür ve Bayhan'ın sos, reçel ve ketçap örnekleriyle yaptığı çalışmada reçel örneklerinde saptadığı benzoik asit miktarları bulgularımızdan daha yüksektir. Yentür ve Bayhan analiz ettikleri örneklerde benzoik asit miktarlarını yasal sınır değerinden düşük bulmuşlardır. Bulgularımıza göre birer firmaya ait reçel, ketçap, sos örneklerindeki ortalama benzoik asit miktarlarının yasal sınır değerini aştığı bulunmuştur.

Eker⁸², 1995 yılında Ankara'da yaptığı çalışmada 40 adet reçel örneğinde benzoik asit miktarlarını araştırmıştır. Analiz edilen reçel örneklerinin 8'inin miktarlarının izin verilen yasal değerlerin üst sınırında olduğu ya da aştığı belirtilmiştir.

Yentür ve ark.'ları⁷⁹, 1996 yılında Ankara piyasasından temin ettikleri toplam 80 adet reçel, ketçap ve meyveli gazoz örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarlarını araştırmışlardır. A ve B firmalarına ait reçellerde saptanan ortalama benzoik asit miktarını sırasıyla 303.4 ± 20.9 ve 320.1 ± 26.9 ppm, C firmasına ait reçel örneklerinde ise (3 örnek hariç) benzoik aside rastlanmadığını ve sonuçların Türk Gıda Kodeksinde bahsedilen standart değerin altında olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada A ve B firmalarına ait ketçap örneklerinde saptanan

ortalama benzoik asit miktarının sırasıyla 858.8 ± 49.7 ppm ve 730.9 ± 87.6 ppm olduğunu bildirmişlerdir. Ketçap örneklerine ait bulguların değerlendirmesinde ise benzoik asit ve sorbik asitin toplamında standart değeri aştığını belirtmişlerdir. Yentür ve ark.'larının reçel örneklerinde saptadığı benzoik asit miktarları çalışmamızda elde ettiğimiz miktarlardan oldukça düşüktür. Ketçap örneklerinde ise çalışmamızda analiz edilen A firmasına ait örneklerin daha düşük benzoik asit miktarına, B firmasına ait örneklerin ise daha yüksek benzoik asit miktarına sahip olduğu bulunmuştur.

Koyuncu⁷⁶, 2005 yılında Bursa piyasasından sağladığı gazlı içecek, margarin, yoğurt, beyaz ve kaşar peyniri, ayran, ketçap, mayonez, kestane şekeri, reçel, yeşil ve siyah zeytin, turşu, beyaz ve kepekli ekmek olmak üzere toplam 75 adet gıda örneğinde benzoik asit ve sorbik asit miktarlarını araştırmıştır. Ketçap ve reçel örneklerinde ortalama benzoik asit miktarını sırasıyla 0-866 mg/kg ve 0-375 mg/kg arasında bulunduğunu belirtmiştir. Koyuncu'nun Bursa piyasasından sağladığı ketçap ve reçel örneklerindeki benzoik asit miktarlarının çalışmamızda analiz edilen ketçap ve reçel örneklerine ait bulgulardan düşük olduğu görülmüştür.

Çakır⁷⁷, 2011 yılında yaptığı çalışmada Türkiye'de satışa sunulan toplam 108 gıda ürünüde (salça, yoğurt, meyve suyu, çikolata, toz çorba, cips) benzoik ve sorbik asit varlığını araştırmıştır. Araştırmacı Benzoik asit miktarlarını salçada 0-1933.56 mg/kg; meyve suyunda 0-197.67 mg/kg; yoğurtta 0-174.22 mg/kg; çikolatada 0-91.97 mg/kg; toz çorbada 0-66.40 mg/kg arasında bulunduğunu bildirmiştir. Ayrıca cipslerde benzoik asit bulunmadığını belirtmiştir.

Yurt içinde yapılan çalışmaların sonuçlarının farklılığı her çalışmada uygulanan farklı yöntem ve çalışma koşullarına bağlı olabilir.

Gıdalarda benzoik asit ve tuzlarının kullanımı ve miktarları ile ilgili farklı ülkelerde yapılmış birçok çalışma mevcuttur (Mihiyar ve ark. 1999, Ferreira ve ark. 2000, Tfouni ve Toledo 2002, Mota ve ark. 2003, Saad ve ark. 2005, Lino ve Pena 2010).

Mihiyar ve ark.'ları³³, 1999 yılında Ürdün'de yaptıkları çalışmada 14 ticari süzme yoğurt (konsantre edilmiş yoğurt) numunesindeki benzoik asit miktarlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada sekiz süzme yoğurt numunesinin 33-2000 mg/kg miktarlarında benzoik asit içerdiğini ve altı süzme yoğurt numunesinin de düşük düzeyde (<32 mg/kg) benzoik asit içerdiğini belirtmişlerdir.

Ferreira ve ark.'ları⁶⁷, 2000 yılında Portekiz'de marketlerden sağladıkları 11 adet ayva reçelinde benzoik asit ve sorbik asit miktarlarını araştırmışlardır. Reçel örneklerinde ortalama benzoik asit miktarını 413 ± 10.4 mg/kg ile 1501 ± 4.2 mg/kg olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Tfouni ve Toledo⁴⁴, 2002 yılında Brezilya marketlerinden sağladıkları alkolsüz içecek, meyve suyu, margarin, yoğurt ve meyvelerde benzoik ve sorbik asit miktarlarını araştırmışlardır. Benzoik asit düzeylerini sırasıyla belirlenemeyen değer ile 804 mg/L olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar sadece bir örnekte koruyucu düzeyinin izin verilen miktardan yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Mota ve ark.'ları¹⁹, 2003 yılında Portekiz'de yaptıkları bir çalışmada piyasadan temin ettikleri toplam 87 adet reçel, jelibon, yağlı gıda, sos, meyve suyu ve şarap örneklerinde benzoik asit ve sorbik asit miktarlarını araştırmışlardır. Reçel örneklerinde benzoik asit miktarının tespit edilemeyen miktar ve 639 ± 16 mg/kg arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Saad ve ark.'ları¹⁸, 2005 yılında Malezya'da yaptıkları bir çalışmada alkolsüz içecekler, reçeller, soslar, konserve sebze ve meyveler, kurutulmuş sebze ve meyveler gibi bazı gıda maddelerini kapsayan toplam 67 örnekte benzoik asit, sorbik asit, metil paraben ve propil paraben miktarlarını araştırmışlardır. Bu gıdalardaki benzoik asit miktarlarını tespit edilemeyen değer ve 1260 mg/kg arasında bulduklarını belirtmişlerdir. Reçellerdeki benzoik asit değerinin, Malezya'da yasal limit değer olan 450 mg/kg'ı geçmediğini bildirmişlerdir. Bir sos örneğinde saptadıkları benzoik asit miktarının 1260 mg/kg olduğunu ve yasal sınırları aştığını bildirmişlerdir.

Lino ve Pena⁵⁴, 2010 yılında Portekiz'de yaptıkları çalışmada 11 geleneksel alkolsüz içecek ve 8 mineralli suyu kapsayan 19 alkolsüz içekte benzoik asit miktarlarını sırasıyla 158 ve 148 mg/L konsantrasyonlarda bulduklarını bildirmişlerdir. 10 adet alkolsüz içekteki benzoik asit miktarlarının Avrupa Birliği ve Portekiz yasalarına göre izin verilen maksimum miktardan (MPL) fazla olduğunu saptamışlardır.

Çalışmada elde ettiğimiz bulguları, önceki yıllarda yapılan çalışmalarda saptanmış benzoik asit miktarları ile karşılaştırdığımızda saptadığımız miktarların genelde daha yüksek miktarlar olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar teknik farklılıklar ve üretim aşamasında benzoik asit'in bilinçsizce kullanımından kaynaklanabilir. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğine göre, emülsifiye edilmemiş soslarda sorbik asitle birlikte 1000 mg/kg kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu yönetmelikte geleneksel reçellerde benzoik asit kullanımına izin verilmemektedir¹⁴.

Standartlarda izin verilen miktarlarda koruyucu kullanımı, ürünün raf ömrünün sağlanması için gerekse de yüksek miktarlarda bilinçsizce kullanımın halk sağlığını tehlikeye atacağı göz ardı edilmemelidir. Benzoik asidin gıdalarla alınmasından sonra ürtiker, astım, rinit ya da anafilaktik şok ve hiperaktiviteye yol açabileceği belirtilmektedir^{34,62}.

6.SONUÇ

Gıda endüstrisinde işlenmiş ve kullanıma hazır gıdaların üretiminin artması ile birlikte gıda koruyucuları modern gıda teknolojisinde büyük oranda önemli bir uygulama halini almıştır. Benzoik asit ve benzoatlar gıdalarda uzun yıllardır koruyucular olarak kullanılmaktadır. Bunlar dünya genelinde yıllık tüketimi önemli düzeylerde olan ve yaygın olarak kullanılan katkı maddeleridir.

Benzoatlar geniş antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler ve üretimi de nispeten ucuzdur. Bu koruyucular besin değerine yönelik kayıpları geciktirerek ya da önleyerek gıdaların raf ömürlerini uzatmaktadır. Böylece gıda kalitesinin devamını sağlamaktadırlar fakat izin verilen güvenilir düzeylerden daha yüksek oranda bu koruyucuların kullanılması insan sağlığı açısından zararlı olabilmektedir. Farklı gıdalar için koruyucuların izin verilen en yüksek miktarları yasal düzenlemelerle kontrol edilmektedir. Bu durum sağlık ve güvenlik açısından önem taşımaktadır. Benzoik asit veya benzoatların gıdalardaki düzeylerini bilmek ve bunların izin verilen seviyelerde olup olmadığının kontrolü gerekmektedir.

Sonuç olarak, benzoik asidin analize alınan bazı ketçap ve sos örneklerinin etiket bilgisinde verildiği şekilde benzoik asit içerdiği fakat benzoik asit miktarlarının yasal olarak izin verilen en yüksek değerleri aştığı bulunmuştur. Bazı geleneksel reçel örneklerinin ise Türk Gıda Kodeksinde¹⁴ belirtilmediği halde benzoik asit içerdiği belirlenmiştir. Bu değerlerin özellikle çocukları ve hassas kişileri etkileme olasılığı bulunmaktadır. Bu nedenle tüketimi yaygın olan gıdalarda üretimden tüketime kadar benzoik asit düzeylerinin analitik olarak izlenerek kontrol altında tutulması gerektiği görülmektedir.

ANKARA BÖLGESİNDE TÜKETİME SUNULAN BAZI GIDA MADDELERİNDE BENZOİK ASİT MİKTARLARININ ARAŞTIRILMASI

7.ÖZET

Bu çalışmada Ankara bölgesinde tüketime sunulan ketçap, sos ve reçel örneklerinden oluşan toplam 80 adet gıda maddesinin benzoik asit miktarlarının saptanması ve bulunan sonuçların Türk Gıda Kodeksi'ne (TGK) uygunluğunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmada ketçap, sos ve reçel örneklerindeki benzoik asit miktarlarının kantitatif olarak saptanmasında spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır.

A ve B firmasına ait ketçap örneklerinde benzoik asit ortalama miktarları ($\bar{X} \pm S.H$) sırasıyla 152.32 ± 18.41 mg/kg ve 1008.21 ± 30.74 mg/kg olarak saptanmıştır. C ve D firmasına ait sos örneklerinde benzoik asit ortalama miktarları ($\bar{X} \pm S.H$) sırasıyla 990.85 ± 26.00 mg/kg ve 1148.19 ± 43.62 mg/kg olarak saptanmıştır. E firmasına ait reçel örneklerinde ise benzoik asit ortalama miktarları ($\bar{X} \pm S.H$) 435.27 ± 26.07 mg/kg olarak saptanmıştır. Analize alınan diğer reçel örneklerinde ise benzoik asit varlığı saptanamamıştır.

Araştırmada elde edilen sonuçlara göre, B firmasına ait ketçap ve D firmasına ait sos örneklerindeki ortalama benzoik asit miktarları Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen değerden (1000 mg/kg) yüksektir. A firmasına ait ketçap ve C firmasına ait sos örneklerinin ortalama benzoik asit miktarlarının ise Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen değeri (1000 mg/kg) aşmadığı görülmüştür. E firmasına ait bazı reçel örneklerinde ise Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilmediği halde benzoik asit içerdiği tespit edilmiştir.

Bu nedenle tüketimi yaygın olan gıdalarda üretimden tüketime kadar benzoik asit düzeylerinin analitik olarak izlenerek kontrol altında tutulması gerektiği görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Benzoik asit, gıda katkı maddeleri, spektrofotometrik yöntem

THE INVESTIGATION OF BENZOIC ACID AMOUNTS IN SOME FOODSTUFFS CONSUMED IN ANKARA REGION

8.SUMMARY

Our aim was to determine amounts benzoic acids in the 80 foodstuffs which were ketchup, sauce and jam samples consumed in Ankara Region to evaluate whether these levels were within the Turkish Food Codex (TFC) values or not. In this research, spectrophotometric method was used for the quantitative determination of benzoic acid in ketchup, sauce and jam samples.

Mean amounts ($\bar{X} \pm \text{S.E}$) of benzoic acid in ketchup samples of A and B firms were found as 152.32 ± 18.41 mg/kg and 1008.21 ± 30.74 mg/kg, respectively. Mean amounts ($\bar{X} \pm \text{S.E}$) of benzoic acid in sauce samples of C and D firms were determined as 990.85 ± 26.00 mg/kg and 1148.19 ± 43.62 mg/kg, respectively. Also, mean amounts ($\bar{X} \pm \text{S.E}$) of benzoic acid were found as 435.27 ± 26.07 mg/kg in jam samples of E firm. Benzoic acid was not found in other jam samples.

Our data revealed that benzoic acid amounts of ketchup samples of B firm and sauce samples of D firm were higher than the Turkish Food Codex (1000 mg/kg). However, benzoic acid amounts of ketchup samples of A firm and sauce samples of C firm were within Turkish Food Codex values (1000 mg/kg).

Some of the traditional jam samples of E firm contain benzoic acid eventhough it is not specified in Turkish Food Codex. Therefore, protection of foods which is commonly consumed, the following analytical benzoic acid levels are to be kept under the control from production to consumption.

Keywords: Benzoic acid, food additives, spectrophotometric method.

9.KAYNAKLAR

- 1- Yurttagül M, Ayaz A. Katkı Maddeleri: Yanlışlar ve Doğrular. 1.baskı
Ankara: Klasmat Matbacılık; 2008; 8-19.
- 2- Randhawa S, Bahna S.L. Hypersensitivity reactions to food additives.
Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology 2009; 9: 278-283.
- 3- Altuğ T. Gıda Katkı Maddeleri. 3. İzmir: Sidaş Medya Ltd. Şti.; 2009.
s.4-7,108-109, 112-113, 217-218.
- 4- Yılmaz Ö, Türkteş İ. Besin katkı madde reaksiyonları. T Klin J Allerji-
Astım 2003; 5: 91-95.
- 5- Öztürk S, Erel F, Çalışkaner Z, Karaayvaz M, Güleç M, Kartal Ö. Kronik
idiopatik ürtiker'de katkı maddeli gıdalar ile doğal gıdalarda bulunan
vazoaktif maddelerin rolü. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni 2007; 6 (5).
- 6- Sarkaya R, Çakır Ş, Solak K. Gıdalardaki koruyucu maddelerin
Drosophila Melanogaster'de ömür uzunluğuna etkisi. Kastamonu
Eğitim Dergisi 2006; 14 (1): 173-184.
- 7- Angiş S, Oğuzhan P. Su ürünlerinde kullanılan katkı maddeleri. Türkiye
10. Gıda Kongresi, Erzurum: 21-23 Mayıs 2008.
- 8- Erkan T. Gıdalardaki katkı maddeleri. Türk Ped Arş 2010; 45: 315-318.
- 9- Saldamlı İ. Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler. Ankara: Hacettepe
Üniversitesi Yayınları; 1985.

- 10- Dong C, Wang W. Headspace solid-phase microextraction applied to the simultaneous determination of sorbic and benzoic acids in beverages. *Analytica Chimica Acta* 2006; 562: 23–29.
- 11- World Health Organization.: Concise International Chemical Assessment Document 26, Geneva, 2000.
- 12- Wood R, Foster L, Andrew D, Key P. *Analytical Methods for Food Additives*. New York: CRC Press; 2004. p.54-69.
- 13- Qi P, Hong H, Liang X, Liu D. Assesment of benzoic acid levels in milk in China. *Food Control* 2009; 20: 414-418.
- 14- Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, T.C.Resmi Gazete Sayı: 28157, 2011.
- 15- Küçüköner E. Yeni ürün geliştirmede gıda katkı maddelerinin fonksiyonları ve önemi. *Gıda* 2006; 31(3): 175-181.
- 16- Surekha M, Reddy S.M. Preservatives Classification and Properties. İn: Batt C, Patel P.D, Robinson R.K, editors. *Encyclopedia of food microbiology* 2.cilt. India: Academic Pres; 2000. p. 1710-1717.
- 17- Zengin N, Yüzbaşıoğlu D, Ünal F, Yılmaz S, Aksoy H. The Evaluation of the genotoxicity of two food preservatives:Sodium benzoate and potassium benzoate. *Food and Chemical Toxicology* 2011; 49: 763-769

- 18- Saad B, Bari M.F, Saleh M.I, Ammad K, Talib M.K. Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 2005;1073; 393-397.
- 19- Mota J.M.F, Ferreira I, Cunha S.C, Beatriz M, Oliveira P.P. Optimisation of extraction procedures for analysis of benzoic and sorbic acids foodstuffs. *Food Chemistry* 2003; 82: 469-473.
- 20- Rangan C, Barceloux D.G. Food additives and sensitivities. *Medical Toxicology* 2009; 55: 292-311.
- 21- Samelis J. Organic acids. In: Roller S, editör. *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods*. Cambridge England: CRC Press LLC; 2003.
- 22- Yıldırım İ, Duranoğlu S, Koyuncu İ. Peynir muhafazasında kullanılan bazı antimikrobiyal katkı maddeleri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum: 21-23 Mayıs 2008.
- 23- Brul S, Coote P. Preservative agents in foods. *International Journal of Food Microbiology* 1999; 50: 1-17.
- 24- Banerjee M, Sarkar P.K. Antibiotic resistance and susceptibility to some food preservative measures of spoilage and pathogenic micro-organisms from spices. *Food Microbiology* 2004; 21: 335-342
- 25- Sattigeri V.D, Gowda L.R, Ramasarma P.R. Food Additives. In: Cooke M, Poole C.F, editors. *Encyclopedia of separation science*. India: Academic Press; 2000. p.2829-2830.

- 26- Güven M. Antimikrobiyal maddeler ve süt teknolojisinde kullanım olanakları. Gıda Dergisi 1998; 23(5): 365-369.
- 27- Gonzalez M, Gallego M, Valcarcel M, et al. Simultaneous gas chromatographic determination of food preservatives Following solid-phase extraction. Journal of Chromatography A 1998; 823: 321-329.
- 28- Lopez F.N.A, Gallego J.G, Quintana M.C.D, Fernandez A.G. Modelling the inhibition of Sorbic and Benzoic Acids on a native yeast cocktail from table olives. Food Microbiology 2008; 25: 566-574.
- 29- Wei R, Li W, Yang L, Jiang Y, Xie T. Online preconcentration in capillary electrophoresis with contactless conductivity detection for sensitive determination of sorbic and benzoic acids in soy sauce. Talanta 2011; 83: 1487-1490.
- 30- Montville T.J, Matthews K.R. Food Microbiology an Introduction. Washington,D.C: Arm press; 2005. p.303.
- 31- Çelikyurt G, Arıcı M. Gıda koruyucusu olarak mikrobiyel kaynaklı organik asitler ve önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum: 21-23 Mayıs 2008.
- 32- Fahrenholz J.M, Smith K.M. Adverse Reactions to Benzoates and Parabens. In: Metcalfe D.D, Sampson H.A, Simon R.A, editörs. Food Allergy Adverse Reactions to Foods and Food Additives. 4 th ed. USA: Blackwell Publishing; 2008. p. 394-400.

- 33- Mihyar G.F, Yousif A.K, Yamani M.I. Determination of benzoic and sorbic acids in Labaneh by high-performance liquid chromatography. *Journal of food composition and analysis* 1999; 12: 53-61.
- 34- Bilau M, Matthys C, Vinkx C, Henauw S.D. Intake assesment for benzoates in different subgroups of the flemish population. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46: 717-723
- 35- Otero-Loseda M.E. Differential changes in perception induced by benzoic acid prickling. *Physiology& Behavior* 2003; 78: 415-425.
- 36- Visti A, Viljakainen S, Laakso S. Preparation of fermentable Lingonberry Juice through removal of benzoic acid by *Saccharomyces Cerevisiae* Yeast *Food Research International* 2003; 36: 597-602.
- 37- Ogbadu L.J. Permitted Preservatives – Benzoic Acid. in: Robinson R, Batt C.A, Patel P, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. USA: Academic Press; 1999. p. 1754-1757
- 38- OECD-SIDS [online]. 2001 [cited 29 Sep 2012]. Available from : URL : <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/40abci02.htm>
- 39- Xu J, He J, Zhang W, Yang T, Jiao S, Hu X. Development on the technique of recovery of benzoic acid residue. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 2009; 17(4): 608-612.
- 40- Ash I, Ash M. *Handbook of Preservatives*. USA: Synapse Information Resources; 2004. p.289, p.524.

- 41- Marsili N.R, Sobrero M.S, Goicoechea H.C. Spectrophometric determination of sorbic and benzoic acids in fruit juices by a net analyte signal-based method with selection of wavelength range to avoid non-modelled interferences. Anal Bioanal Chem 2003; 376: 126-133.
- 42- Çalışır E.Z, Çalışkan D. Gıda katkı maddeleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. Ankara Ecz. Fak. Derg 2003; 32: 206-207.
- 43- Erkmen O. Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2010; 53: 220-235.
- 44- Tfouni S.A.V, Toledo M.C.F. Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. Food Control 2002; 13: 117-123.
- 45- Üstün N.Ş, Tosun İ. Çeşitli reçellerin bileşimi üzerine bir araştırma. Gıda 1998; 23(2): 125-131.
- 46- Cemeroğlu B.S. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 2.cilt. 1.basım. Ankara: Nobel yayın; 2011. 432-436, 455.
- 47- Şahin İ, Korukluoğlu M, Uylaşer V. Taze çileklerde bozulma etkeni küfler. Gıda 1994; 19(6): 359-365.
- 48- Var I, Kabak B, Peçen E, Yalçın E, Ektirici M. Geleneksel, Ekstra Geleneksel ve Ev Tipi Reçellerin Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü. II.Geleneksel Gıdalar Sempozyum Kitabı, 2009 Van. 27-29 Mayıs; 1-4.
- 49- Türk Gıda Kodeksi Reçel, Jöle, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği. 26392 (No:2006/55), Resmi gazete, 2006.

- 50- Kadakal Ç, Artık N, Nas S. Domates doku ve küf karakteristikleri, domates ürünlerinde küf sayımı ve küfü azaltma olanakları. Mühendislik Bilimleri Dergisi 2001; 7(2): 251-260.
- 51- Artık N, Domates Salçasında Ergosterol Düzeyi ve İşleme Sırasında Değişimi. Ankara Üniv. Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu 2003; Ankara.
- 52- Kılıçkaya Z. Ketçapta Mikrobiyolojik Raf Ömrü. Yüksek Lisans. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2006.
- 53- Sarıkaya R, Solak K. Benzoik asit'in Drosophila Melanogaster'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile genotoksitesinin araştırılması. GÜ, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi 2003; 23 (3): 19-32.
- 54- Lino C.M, Pena A. Occurence of caffeine, saccharin, benzoic acid and sorbic acid in soft drinks and nectars in Portugal and subsequent exposure assessment. Food Chemistry 2010; 121: 503-508.
- 55- Edu F.V, Gaceu. Food Additives and Consumer Information. Proceeding of the International Conference Bioatlas 2010; Transilvania University of Brasov, Romania.
- 56- Sasaki Y.F, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, et al. The Comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. Mutat Res 2002; 519 (1-2): 103-119.
- 57- Kaboğlu A, Aktaş T. A study of the effects of sodium benzoate on the Mouse Liver. Biologia 2002; 57(3): 373-380.

- 58- Özdemir, H. Potasyum Sorbat, Sodyum Benzoat, Sitrik Asit, Benzoik Asit ve Sodyum Nitrit'in Mutajenik Etkilerinin In Vitro'da Mikronükleus Tekniği Kullanılarak İncelenmesi. Yüksek Lisans. Konya: Selçuk Üniversitesi; 2006.
- 59- Yılmaz S. Bazı Gıda Katkı Maddelerinin Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2008.
- 60- World Health Organization (WHO), Toxicological evaluation of certain food additives, Prepared by the 46th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, World Health Organization (WHO Food Additives Series 37),1996.
- 61- Tarlo S.M, Broder I. Tartrazine and benzoate challenge and dietary avoidance in chronic asthma. Clinical Allergy 1982; 12: 303.
- 62- McCann D, Barrett A, Cooper A, Crumpler D, Dalen L, Grimshaw K, et al. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. Lancet 2007; 370: 1560-1567.
- 63- Bateman B, Warner O.J, Hutchinson E, Dean T, Rowlandson P, Gant C, et al. The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. Arch Dis Child 2004; 89: 506-511.
- 64- Helferich W, Winter C.K, editörs. Food Toxicology. New York: CRC Pres; 2001. p. 17-27.

- 65- Türker S. Gıda Katkı Maddelerinin Gıdalardaki Kullanım Miktarları. 1.Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, Ankara: 19-20 Kasım 2011.
- 66- Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Katkı Maddelerinin Sağlık Kriterleri Tebliği, Türk Gıda Kodeksi, (No: 2012/33), 2012.
- 67- Ferreira I.M.P.L.V.O, Mendes E, Brito P, Ferreira M.A. Simultaneous determination of benzoic and sorbic acids in Quince jam by HPLC. Food Research International 2000; 33: 113-117.
- 68- Pan Z, Wang L, Mo W, Wang C, Hu W, Zhang J. Determination of benzoic acid in soft drinks by gas chromatography with on-line pyrolytic methylation technique. Analytica Chimica Acta 2005; 545: 218-223.
- 69- Dong C, Mei Y, Chen L. Simultaneous determination of sorbic and benzoic acids in food dressing by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. Journal of Chromatography A 2006; 1117: 109–114.
- 70- Loginova L, Kulikov A.U, Yakovleva E.Y, Boichenko A.P. MLC Determination of preservatives in cranberry foodstuffs. Chromatographia 2008; 67: 615-620.
- 71- Pylypiw Jr.H.M, Grether M.T. Rapid high-performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate and potassium sorbate in Foods. Journal of Chromatography A 2000; 883: 299-304

- 72- Memon N, Bhanger M.I, Khuhawer M.Y. Determination of preservatives in cosmetics and food samples by micellar liquid chromatography. J.Sep Sci 2005; 28: 635-638.
- 73- Techakriengkrai I, Surakarnkul R. Analysis of benzoic acid and sorbic acid in Thai Rice Wines and distillates by solid-phase sorbent extraction and high-performance liquid chromatography. Journal of Food Composition and Analysis 2007; 20: 220-225.
- 74- Morales M.D, Morante S, Escarpa A, Gonzales M.C, Reviejo A.J, Pingarron J.M. Design of a composite amperometric enzyme electrode for the benzoic acid content in food. Talanta 2002; 57: 1189-1198.
- 75- Onishi A.Y, Yomota C, Sugimoto N, Kubota H, Tanamoto K. Determination of benzoyl peroxide and benzoic acid in wheat flour by high-performance liquid chromatography and its identification by high-performance liquid chromatography-mass Spectrometry. Journal of Chromatography A 2004; 1040: 209-214
- 76- Koyuncu N. Bursa'da Tüketime Sunulan Bazı Ürünlerin Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarlarının Araştırılması. Yüksek Lisans. Bursa: Uludağ Üniversitesi; 2006.
- 77- Çakır R. Bazı Gıda Ürünlerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Varlığının Tespiti. Yüksek Lisans. Sakarya: Sakarya Üniversitesi; 2011.
- 78- Han F, He Y.Z, Li L, Fu G.N, Xie H.Y, Gan W.E. Determination of benzoic acid and sorbic acid in food products using electrokinetic flow analysis-ion pair solid phase extarction-capillary zone electrophoresis. Analytica Chimica Acta 2008; 618: 79-85.

- 79- Yentür G, Gürel H, Orman M, Bayhan A. Ankara piyasasından sağlanan bazı gıda maddelerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının gaz kromatografisi yöntemi ile araştırılması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1995; 42: 451-455.
- 80- Wang L, Zhang X, Wang Y, Wang W. Simultaneous determination of preservatives in soft drinks, yogurts and sauces by a novel solid-phase extraction element and thermal desorption-gas chromatography. Analytica Chimica Acta 2006; 577: 62-67.
- 81- Yentür G, Bayhan A. Bazı gıda maddelerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının araştırılması. Gıda 1990; 15(2): 79-82.
- 82- Eker Ü.Ö. Reçellere Katılan Benzoik Asit Miktarlarının Spektroskopik Yöntemlerle Tayini Üzerine Bir Çalışma. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 1995.
- 83- Horwitz W, Latimer G.W, editors. Official Methods of Analysis of AOAC international: Benzoic Acid In Nonsolid Food and Beverages Spectrophotometric Method 960.38, 47, 24, 2005.
- 84- Daniel, N.W. Bioistatistic: A foundation for analysis in the health sciences, 5th Edition, NewYork: Wiley; 1991.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasından sonuçlanmasına kadar ki süreçte yardımlarını esirgemeyen Sayın Danışman Hocam Prof.Dr.Aysel BAYHAN ÖKTEM 'e, öğrenimim süresince bilgilerinden faydalandığım Sayın Hocam Prof.Dr. Gülderen YENTÜR'e, çalışmalarımın her aşamasında daima desteklerini, bilgilerini ve sonsuz hoşgörülerini benden esirgemeyen, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim Uzm.Dr. Buket ER ve Ar.Gör.Dr. Burak DEMİRHAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan, maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olduklarını bildiğim ve yüksek lisans eğitimimi almam için beni her zaman teşvik eden başta babam İbrahim ÇAKICI ve annem Gülseren ÇAKICI'ya, tüm sıkıntı ve üzüntülerimi benimle yürekten paylaşan kardeşlerim Hasret KAYDI ve Gülşah ÖZGÖZ'e, tanıdığım günden itibaren yaşamımın hiçbir anında beni yalnız bırakmayan eşim Rahmi Erkan GÜZEL'e ve yaşama sebebim oğlum Onat OSKAY'a sonsuz sevgi ve sabırlarından dolayı içtenlikle teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Gülderen

Soyadı: Güzel

Doğum Yeri ve Tarihi: Balıkesir, 26.08.1973

Eğitimi: Lisans- Ege üniversitesi Eczacılık Fakültesi İZMİR, 1995.

Lise- Tuğlacılar Lisesi TEKİRDAĞ, 1991.

Yabancı Dili: İngilizce

Medeni Hali: Evli, 1 çocuk sahibi.

Çalıştığı Kurumlar ve Yılı:

Sosyal Güvenlik Kurumu Kavaklıdere SSGM ANKARA, 2005

Servier İlaç ve Araştırma A.Ş. İZMİR, 2001-2005

Deren Eczanesi TEKİRDAĞ, 1995-2001