

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI GIDA ÜRÜNLERİNDE SORBİK ASİT VE
BENZOİK ASİT VARLIĞININ TESPİTİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Müh. Ruziye ÇAKIR

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU

Ocak 2011

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


**BAZI GIDA ÜRÜNLERİNDE SORBİK ASİT VE
BENZOİK ASİT VARLIĞININ TESPİTİ**

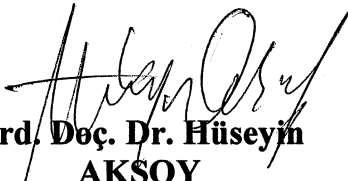
YÜKSEK LİSANS TEZİ

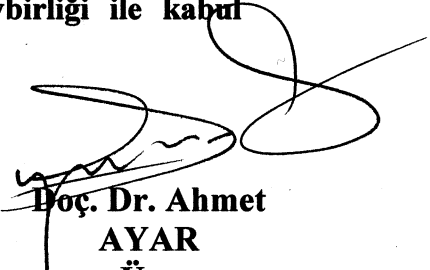
Gıda Müh. Ruziye ÇAKIR

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 10/01/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.


**Yrd. Doç. Dr. Arzu
ÇAĞRI MEHMETOĞLU
Jüri Başkanı**


**Yrd. Doç. Dr. Hüseyin
AKSOY
Üye**


**Doç. Dr. Ahmet
AYAR
Üye**

TEŞEKKÜR

Araştırma konumun belirlenmesi, planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU'na,

Araştırmam esnasında bana bu imkânları sağlayan Kocaeli İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü'ne, bana bu imkânları veren ve yardımlarını esirgemeyen Kocaeli İl Kontrol Laboratuvarı Müdürü Cuma DEMİRAL'a, laboratuvar çalışmalarım esnasında bana her türlü kolaylığı sağlayan Katkı ve Mineral Laboratuvarı Şefi Cengiz AY'a,

Eğitim ve öğretimim boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme,

Değerli katkılarından ve desteklerinden dolayı, yüksek lisans tez jürimde yer alan Sayın Doç. Dr. Ahmet AYAR ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Hüseyin AKSOY'a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	x
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Gıda Katkı Maddelerinin Kullanım Amaçları.....	4
2.2. Gıda Katkı Maddelerinin Kullanım Miktarlarının ve Güvenilirliğinin Belirlenmesi.....	5
2.3. Gıda Katkı Maddelerinin E Kodları.....	7
2.4. Gıda Katkı Maddelerinin Kullanımında Dikkat Edilecek Noktalar.	8
2.5. Gıda Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması.....	9
2.5.1. Kaliteyi koruyarak raf ömrünü uzatanlar (koruyucular).....	9
2.5.2. Yapıyı, hazırlama ve pişme özelliğini geliştirenler.....	9
2.5.3. Aromayı ve rengi geliştiriciler.....	10
2.5.4. Besin değerini koruyucu ve geliştiriciler (besin öğeleri).....	10
2.6. Gıda Katkı Maddelerinin Sağlık Üzerine Etkileri.....	11
2.7. Antimikrobiyal Koruyucu Maddeler.....	15
2.8. Koruyucu Maddelerin Özellikleri ve Etki Mekanizmaları.....	17

2.9. Gıdalarda Yaygın Olarak Kullanılan Koruyucu Katkı Maddeleri...	20
2.9.1. Organik asitler.....	20
2.9.1.1. Sorbik asit ve tuzları.....	21
2.9.1.1. Benzoik asit ve tuzları.....	24
2.10. Sorbat ve Benzoatların Gıdalarda Kullanım Miktarları.....	27
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1. Materyal ve Kimyasallar.....	32
3.1.1. Materyal.....	32
3.1.2. Kullanılan alet ve ekipman.....	37
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler.....	37
3.2. Yöntem.....	38
3.2.1. Kromatografik koşullar.....	39
3.2.2. Örneklerin ekstraksiyonu.....	39
3.2.3. Diode-array dedektör ile kantitasyon.....	40
3.2.4. Sonuçların ifade edilmesi.....	43
BÖLÜM 4.	
SONUÇLAR.....	45
4.1. Salça Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları.....	45
4.2. Yoğurt Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları.....	46
4.3. Meyve Suyu Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları.....	49
4.4. Çikolata Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları.....	49
4.5. Toz Çorba Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları...	50
4.6. Cips Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları.....	51
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	69

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

CAC	: Uluslararası Gıda Kodeksi Komisyonu
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
SCF	: Avrupa Bilimsel Gıda Komisyonu
JECFA	: Birleşik Gıda Katkıları Uzman Komitesi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
EC	: Avrupa Birliği Kodu
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
GMP	: İyi üretim uygulamalarının gerektirdiği miktarla sınırlı
QS	: İyi üretim uygulamalarının gerektirdiği miktarla sınırlı
ADI	: Günlük kabul edilebilir alım değeri
LD 50	: Deney hayvanlarının % 50'sinin ölümüne neden olan doz
NOAEL	: No Observed Adverse Effect Level=Etkisiz doz
GRAS	: Genel olarak güvenli olduğu kabul edilen
BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
MSG	: Mono sodyum glutamat
UV	: Ultraviyole
DAD	: Diode-Array Dedektör
HPLC	: High performance liquid chromatography
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
NaOH	: Sodyum hidroksit
MeOH	: Metanol
C ₇ H ₆ O ₂	: Benzoik asit
C ₆ H ₈ O ₂	: Sorbik asit
RT	: Retention time

LOD	: Teşhis limiti (The limit of dedection)
LOQ	: Tayin limiti (The limit of quantation)
pH	: Hidrojen konsantrasyonunun kologoritması
pKa	: Ayrışma sabitesi
L	: Litre
M	: Molar
Ω	: Ohm
cm	: Santimetre
mL	: Mililitre
g	: Gram
mm	: Milimetre
Nm	: Nanometre
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat Derece
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
ppb	: Bir karışımdaki toplam madde miktarının milyarda biri
a_w	: Su aktivitesi
μm	: Mikrometre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Sorbik asitin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.2.	Potasyum sorbatın kimyasal yapısı.....	23
Şekil 2.3.	Benzoik asitin kimyasal yapısı.....	25
Şekil 2.4.	Sodyum benzoatın kimyasal yapısı.....	26
Şekil 3.1.	HPLC cihazı.....	39
Şekil 3.2.	Benzoik asit ve sorbik asite ait HPLC kromatogramı.....	40
Şekil 3.3.	Benzoik asite ait spectrum.....	41
Şekil 3.4.	Sorbik asite ait spectrum.....	41
Şekil 3.5.	Gıda örneğine ait HPLC kromatogramı.....	42
Şekil 3.6.	Sorbik asite ait kalibrasyon eğrisi.....	42
Şekil 3.7.	Benzoik asite ait kalibrasyon eğrisi.....	43
Şekil 3.8.	Belirsizlik kaynakları.....	44
Şekil 4.1.	Salça örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları.....	46
Şekil 4.2.	Yoğurt örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları.....	48
Şekil 4.3.	Yoğurt örneklerinde benzoik asit dağılım grafiği.....	48
Şekil 4.4.	Meyve suyu örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları.....	49
Şekil 4.5.	Çikolata örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları.....	50
Şekil 4.6.	Toz çorba örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları.....	51

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Bazı katkı maddelerinin sağlık üzerine etkileri.....	12
Tablo 2.2.	Allerjik Kontakt Dermatite neden olan gıda katkıları.....	14
Tablo 2.3.	Sorbik asite ait bazı özellikler.....	21
Tablo 2.4.	Benzoik asite ait bazı özellikler.....	25
Tablo 2.5.	Benzoik asit ve sodyum benzoatın 100 ml suda çözünürlüğü.....	26
Tablo 2.6.	Gıdalarda şartlı olarak izin verilen koruyucu maddeler.....	28
Tablo 2.7.	Süt ürünlerinde doğal olarak bulunan benzoik asit miktarları.....	31
Tablo 3.1.	Analiz edilen salçaların kullanım süreleri.....	32
Tablo 3.2.	Analiz edilen yoğurtların kullanım süreleri.....	33
Tablo 3.3.	Analiz edilen meyve sularının kullanım süreleri.....	34
Tablo 3.4.	Analiz edilen çikolataların kullanım süreleri.....	35
Tablo 3.5.	Analiz edilen toz çorbaların kullanım süreleri.....	36
Tablo 3.6.	Analiz edilen cipslerin kullanım süreleri.....	36
Tablo 3.7.	Benzoik asit ve sorbik asite ait LOD, LOQ ve geri alma değerleri.....	43
Tablo 4.1.	Salça örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları.....	45
Tablo 4.2.	Yoğurt örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları.....	47
Tablo 4.5.	Toz çorba örneklerinde tespit edilen benzoik asit miktarları.....	51

ÖZET

Anahtar kelimeler: Sorbik asit, benzoik asit, HPLC

Benzoik asit ve sorbik asit gıdalarda yaygın olarak kullanılan koruyucu maddelerdir. Farklı gıdalardaki kullanım miktarları ulusal ve uluslar arası yasal kuruluşlar tarafından düzenlenir. Ancak bu maddelerin kullanımlarının yasak olduğu bazı gıdalarda üretim kusurlarını gidermek için kullanıldığından şüphelenilmektedir.

Bu araştırmanın amacı; salça, meyve suyu, hazır çorba, cips, çikolata ve yoğurt gibi katkısız gıdalara katılan sorbik asit ve benzoik asit miktar ve varlığının HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ile belirlenmesi ve Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği'ne göre uygunluğunun araştırılmasıdır. Farklı firmalara ait 20 adet domates salçası, 3 adet biber salçası, 23 adet meyve suyu, 21 adet yoğurt, 11 adet cips, 20 adet çikolata ve 11 adet toz çorba analiz edilmiştir.

Sorbik asit miktarı salçada 0,00-526,40 mg/kg ve yoğurtta 0,00-137,67 mg/kg arasında bulunmuştur. Cips, meyve suyunda, çikolatada ve toz çorbada sorbik aside rastlanmamıştır. Benzoik asit miktarı salçada 0,00-1933,56 mg/kg; meyve suyunda 0,00-197,67 mg/kg; yoğurtta 0,00-174,22 mg/kg; çikolatada 0,00-91,97 mg/kg; toz çorbada 0,00-66,40 mg/kg arasında bulunmuştur. Cipslerde benzoik asit bulunamamıştır.

DETERMINATION OF SORBIC ACID AND BENZOIC ACID IN SOME FOOD PRODUCTS

SUMMARY

Keywords: Sorbic Acid, Benzoic Acid, HPLC.

Benzoic acid and sorbic acid are extensively used preservatives in foods. Their legal using limits in different food products are regulated by national and international regulatory agencies. However, using of these substances forbidden in some foods is suspected to used to fix some flaws in the production of these foods.

The aim of this research was to determine the presence and amount of sorbic acid and benzoic acid added for preservation in some unadulterated food (tomato paste, fruit juice, ready-soups, chips, chocolate and yoghurt) by using HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) and explored the suitability Turkish Food Codex Colors and Sweeteners Other Than Food Additives Notification. In this study, 20 different brands of tomato paste, 3 different brands pepper sauce, 23 different brands of fruit juice, 21 different brands of yoghurt, 20 different brands of chocolate, 11 different brands of chips and 11 different brands of powder soup were analyzed. No sorbic acid or benzoic acid were found in any of the chips samples.

The amount of sorbic acid was found in tomato paste and pepper sauce samples in the range of 0,00-526,40 mg/kg; in yoghurt samples in the range of 0,00-137,67 mg/kg. Sorbic acid wasn't found in any of the chips, fruit juice, powder soup or chocolate samples. The amount of the benzoic acid was found in tomato paste and pepper sauce in the range of 0,00-1933,56 mg/kg; in fruit juice samples in the range of 0,00-197,67 mg/kg in yoghurt samples in the range of 0,00-174,22 mg/kg; in chocolate samples in the range of 0,00-91,97 mg/kg; in powder soup samples in the range of 0,00-66,40 mg/kg.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Yirminci yüzyıl, her konuda olduğu gibi, gıda sanayinde de çok önemli gelişmelerin yaşandığı bir dönemdir. Dünya nüfusunun hızlı artışı, insanların hayat standartlarını yükseltme eğilimi ve hızlı endüstrileşme hazır yiyeceklere talebi attırmış, özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan tüm ülkelerde gıda maddeleri üretiminin bir sanayi kolu haline gelmesine neden olmuştur (Çakmakçı ve Çelik, 2000). Besin güvencesinin sağlanmasında, besin üretiminin artırılması ve üretilen besinlerin kayıplarının önlenmesi, besinlerin bol bulunduğu dönemden daha az bulunduğu döneme kalitelerini koruyarak saklanması ve raf ömrünün uzatılması önem kazanmaktadır. Bu durumda da gıda katkı maddelerinin kullanımı kaçınılmaz olmuştur (Yurttagül ve Ayaz, 2008). Tüm dünyada 20.000 kadar katkı maddesinin besin endüstrisinde kullanıldığı tahmin edilmektedir (Yılmaz ve Türkteş, 2003).

Tüketime sunulan veya sunulacak olan gıdaların görünüm ve lezzetlerini tüketicinin arzu ettiği duruma getirmek, bozulmalarını önleyerek, gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla gıdalara tüketime sunulmadan önce bilinçli ve amaçlı olarak ilave edilen maddelere gıda katkı maddeleri denilmektedir (Ekici ve ark., 2008). Besinlerde kullanılan gıda katkı maddelerinin beslenme kalitesini sağlaması, kalite ve dayanıklılığı gerçekleştirerek artık madde oranında bir azalma sağlaması, işlenmeye yardımcı olması aranan özelliklerdir.

Uluslararası Gıda Kodeksi Komisyonu (Codex Alimentarius Commission-CAC)'na göre gıda katkı maddesi “tek başına gıda olarak kullanılmayan ve gıdanın tipik bileşeni olmayan, besleyici değeri olsun veya olmasın, imalat, işleme, hazırlama, uygulama, paketlenme, ambalajlama, taşıma, muhafaza ve depolama aşamalarında, gıdalara teknolojik (organoleptik dahil) amaçla katılan ya da bu gıdaların içinde veya yan ürünlerinde doğrudan ve dolaylı olarak bir bileşeni haline gelen veya bunların karakteristiklerini değiştiren maddeler” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 1995a).

Tarihsel süreç içerisinde katkı maddeleri her zaman yararlı amaçlar için kullanılmamışlardır. Un, çay, şarap ve biranın yaygın biçimde tağşiş edildikleri durumlar belirtilmiş ve bu nedenle de söz konusu dönemlerde katkıların zararlı veya ucuz dolgu maddeleri olarak kullanılmalarını önlemek amacıyla yasalar çıkarılmıştır (Anonim, 2004). Yine gıdalara boya katılımının oldukça karışık bir geçmişi bulunmakta olup, civa, arsenik ve kurşun bileşikleri gibi toksik etkili maddelerin gıdaları boyamada kullanıldıkları rapor edilmektedir (Vinas ve ark., 2001). Sütü korumak amacıyla formaldehitin, eti korumak amacıyla ise boraksın kullanımı, una beyaz renkte tozların katılımı gibi örnekler de katkı maddelerinin gıdalarda uygulamaları konusunda düzenlemeler yapılması gereğini ortaya çıkarmıştır (Altuğ, 2009).

Gıda katkı maddeleri gıdanın bileşiminde bulunmayan, ancak dışarıdan gıdaya belirli amaçlarla katılan kimyasal maddelerdir. Gıda katkı maddelerinin tavsiye edilen dozlardan yüksek miktarda kullanıldığında toksik etki gösterdiği görülmüştür (Shubik, 1975; Edu ve Gaceu, 2010). Günümüzde katkı maddelerinin toksikolojik değerlendirmeleri uluslar arası boyutta ele alınan bir konu olup, söz konusu değerlendirmelerde akut, genetik ve farmokinetik çalışmalara yer verilmekte, teratojenik etkileri ile ilgili subkronik denemeler, mutajenik ve kanserojenik etkileri ile ilgili kronik araştırmalar gerçekleştirilmektedir (Altuğ, 2009).

Farklı ülkelerde gıda katkılarının kullanımı özel düzenlemelerle sınırlandırılmıştır. Birleşik Gıda Katkıları Uzman Komitesi'ne (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives = JECFA) göre bir katkıının kullanımındaki güvenilirliğin ölçüsü onun kabul edilebilir günlük alım miktarı (ADI) ile ifade edilir, ADI yaşam boyu sağlık tehlikesi yaratamayacak şekilde günlük tüketilen gıda katkı maddesinin toplam miktarını temsil eder. ADI 1 kg vücut ağırlığındaki gıda katkı maddesinin mg olarak ifadesidir (Tfouni ve Toledo, 2002).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) ortaklaşa oluşturduğu, katkı maddeleri üzerinde çalışan ortak uzmanlar komitesi JECFA adlı kuruluş; Avrupa Birliği'nin Bilimsel Gıda Komisyonu (SCF); ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) gibi uluslararası kuruluşlarca onaylandıktan sonra

her bir katkı maddesinin hangi oranlarda hangi besinlere katılabileceğine karar verilir (Yurttagül ve Ayaz, 2008).

Gıda katkı maddelerine olan ihtiyacın bilinmesine rağmen, onların toksik açıdan güvenilirliğinin sürekli olarak değerlendirilip değerlendirilmediği sık sık sorgulanmaktadır. Son yıllarda düzenleyici kurumlar tarafından sadece birkaç katkı maddesi onaylanmıştır ve gelecekte de eklenenlerin pek çoğunun onaylanacağı şüpheli görülmektedir. Bir katkı maddesinden gelen riskin en az düzeyde olması gerektiğine hiç şüphe olmamasına rağmen, katkı maddesinden gelen risk onun kullanımının sağlayacağı yararlarla dengede olmalıdır. Örneğin antimikrobiyal katkı maddeleri tarafından sağlanan gıda bozulmalarının sayısında azalma ya da bozulmadan kaynaklanan gıda kayıplarında azalma yararlıdır. Risklere karşı yararları dengelemek kolay değildir ve söz konusu katkı maddesinin yararlılığı ve toksik açıdan güvenilirliği geniş kapsamlı araştırma gerektirir. Risk içermeyen gıda katkı maddesi nadir olduğundan, risk derecesinin değerlendirilmesi genellikle gereklidir. Herhangi bir katkı maddesi için risklerin yararlardan daha ağır bastığının belirlenmesinde bilim adamları, milletvekilleri, düzenleyici personel, gıda üreticileri ve tüketiciler birlikte sorumludur. Tüm katkıların risklerinin ve faydalarının net bir şekilde farkında olunabilmesi ilgili tüm karar aşamalarında önemlidir (Davidson ve ark., 2005).

Bu çalışma, Türkiye piyasasında yaygın olarak tüketimi söz konusu olan ve katkı maddesi kullanılmasına izin verilmeyen salça, yoğurt, meyve suyu, çikolata, toz çorba ve cips üretiminde sorbik asit ve benzoik asit varlığının tespiti, ayrıca etiketinde belirtilmediği ve kullanımı gerekli olmadığı halde bilinçli ya da bilinçsiz olarak kullanılması durumunu, vücutta birikmesi ile de insan sağlığını tehdit eden bazı gıda katkı maddeleri yönünden durumunu da ortaya koymak amacıyla planlanmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Gıda Katkı Maddelerinin Kullanım Amaçları

Gıda katkı maddelerinin kullanım amaçları aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir (Altuğ, 2009);

a) Gıdaların raf ömrünün uzatılması ve kayıpların azaltılması; ekmeğin küflenmesini önlemede kalsiyum propiyonat, kür edilmiş et ürünlerinde botilizmi engellemede nitrat ve nitrit, yağların acılaşmasına karşı bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA) gibi maddelerin kullanımı, bu amaca örnek olarak verilebilir.

b) Gıdaların duysal özelliklerinin düzeltilmesi ve geliştirilmesi; bu amaçla kullanılan katkı maddelerine örnek olarak renklendiriciler, lezzet vericiler, tatlandırıcılar verilebilir.

c) Gıda kalite karakteristiklerinin muhafaza edilmesi; salata soslarında yağ ayrılmasını önleme amacıyla katılan emilgatorler veya fırınlanmış ürünlerde kullanılan kabartma ajanları bu amaçla kullanılan katkı maddeleridir.

d) Gıda hazırlamada yardımcı olarak; hazır pudinglerin eldesin de fosfatlı katkı maddelerinden yararlanılması örnek olarak verilebilmektedir.

e) Besleyici değerin korunması; örneğin, gıdalarda bulunan C vitamini gibi kolay bozunabilen besleyici özellikteki maddeleri korumak amacıyla antioksidanlardan yararlanılmaktadır.

2.2. Gıda Katkı Maddeleri Kullanım Miktarlarının ve Güvenilirliğinin Belirlenmesi

Kullanımına izin verilen gıda katkı maddelerinin sürekli olarak alındığında toksik etkiler gösterdikleri bilinmektedir (Walker, 1990; Parke ve Lewis, 1992). Bu katkı maddeleri gelişigüzel miktarlarda ve tüzük dışı olarak gıdalarda kullanıldığı zaman halk sağlığı açısından zararlı olabilir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar gıdalar yoluyla kimyasal karsinojenlere maruz kaldığımızı kanıtlamaktadır (Anonim, 2007). Kullanılan gıda katkı maddeleri sağlığa zarar vermeyecek dozlarda kullanılsalar dahi, bu maddelerin bir süre sonra vücutta birikerek insan sağlığını tehdit edebilecek miktarlara ulaşabileceği, dokularda hasar meydana getirebileceği, kısaca insan için mutajenik ve karsinojenik olabileceği gibi konular göz ardı edilmemelidir (Sarıkaya ve Solak, 2003).

Gıda katkı maddelerinin gıdalarda kullanımlarının güvenilirliği ile ilgili değerlendirmeler uluslararası bir komisyon olan CAC bünyesindeki Birleşik Gıda Katkıları Uzman Komitesi (JECFA) tarafından ele alınmaktadır. JECFA, kullanımı öngörülen bir katkı maddesi ile ilgili değerlendirmesini söz konusu maddeye ait iki farklı özelliği esas alarak gerçekleştirmektedir. Bu amaçla bir grup uzman tarafından maddenin kimyasal özellikleri incelenirken, diğer grup ise toksikolojik özelliklerini değerlendirmektedir (Altuğ, 2009).

Gıda katkısı olarak kullanılması önerilen bir maddeye onay vermeden önce JECFA tarafından kimyasal özelliklerin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda;

- a) Maddenin tanımı,
- b) Maddenin ticari olarak eldesinde kullanılan hammaddelerin özellikleri,
- c) Maddenin üretim yöntemi,
- d) Teknik üründe bulunabilecek safsızlıklar,
- e) Maddenin hangi fonksiyonlar ve amaçlar için üretildiği,
- f) Maddenin gıdalarla birlikte günlük olarak vücuda alınabilecek düzeyinin tahmini,
- g) Maddenin gıdalarda bulunabilecek diğer maddelerle oluşabilecek reaksiyonları,
- h) Maddenin gıdalardaki besleyici öğelere olumlu ve olumsuz etkileri,

1) Maddenin yerini alabilecek diğerk katkı maddeleri, gibi faktörler ele alınmaktadır.

JECFA tarafından gerçekleştirilen toksikolojik çalışmalarda ise aşağıda belirtilen faktörler değerlendirilmektedir (Altuğ, 2009);

a) Maddenin biyokimyasal özellikleri; vücut tarafından absorbe edilmesi sonucu enzimler tarafından hangi maddelere dönüştürülüp metabolize edildiği ve vücuttan nasıl atıldığı araştırılır.

b) Deneme hayvanları üzerindeki toksikolojik çalışmalar; gıda katkı maddesinin etkileri öncelikle canlı hayvanlar üzerinde yapılan toksikolojik çalışmalarla belirlenir.

c) Toksikolojik değerlendirmeler kapsamında maddenin alerji veya tolerans yetersizliği gibi etkilerini araştırmak üzere insanlar üzerinde çalışmalar da gerçekleştirilebilmektedir.

Katkı maddeleri laboratuarlarda uzun süreli ve ayrıntılı güvenlik testlerinden geçirilir (Yurttagül ve Ayaz, 2008). Deney hayvanları üzerinde yapılan toksikolojik testlerle katkı maddelerinin ADI değerleri saptanır. Deney hayvanlarına öldürücü dozda (lethal doz = LD 50: deney hayvanlarının % 50'sinin ölümüne neden olan doz) katkı maddesi verilir. Daha sonra doz tedrici 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 alerjik etkileri araştırılır. Bu çalışmalarda, kimya, biyokimya, hematoloji, bakteriyoloji, veteriner patoloji, farmakoloji, immünoloji ve istatistik gibi pek çok disiplin görev alır. Çalışmalar sonunda katkı maddesinin hiçbir etkisinin bulunmadığı bir doz elde edilemezse katkı maddesinin besinlere katılmasına izin verilmez. Şayet deney hayvanına hiçbir zıt 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 de etik nedenlerle yapılamayacağından, elde edilen dozun 1/10'u alınır. İnsanlar arasındaki bireysel ayrıcalıklar düşünülerek yine bu değerin de 1/10'u daha alınarak NOAEL 100 olan güvenlik faktörüne bölünür. Yani deney hayvanında hiçbir etki göstermeyen dozun 1/100'ü insan için kabul edilir. ($ADI = NOAEL / 100$). Böylece günlük alınabilecek miktar insanın vücut ağırlığının kilogramı başına mg olarak belirlenir.

Günlük maksimum alım = $ADI \times Vücut\ ağırlığı(kg)$ şeklinde saptanır.

Tarım ve Köyişleri Bakanlığınca hazırlanmış olan ve 16 Kasım 1997 tarihinde yayınlanan Resmi Gazete ile yürürlüğe giren Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre ADI, “İnsan vücut ağırlığının kg’ı başına mg olarak bir ömür boyunca insan sağlığı üzerinde hiçbir olumsuz etki oluşturmadan gıdalarla günlük olarak alınabilecek en yüksek kalıntı miktarı” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 1997a). Söz konusu katkının katılabileceği değişik gıdalardaki maksimum miktarı (Maximum Level-ML) ise, bir yetişkinin bu gıdaları günlük olarak tüketebileceği miktar dikkate alınarak ve ADI değeri aşılmayacak şekilde hesaplanmaktadır. Toksikolojik değerlendirmeleri sonucunda ADI sınırlarına gerek görülmeyen katkı maddelerinin, gıdalarda bulunacak maksimum miktarlarına sınır getirilmeyip, söz konusu maddenin uygun teknolojinin gerektirdiği miktarda (Good Manufacturing Practice-GMP) kullanılmasına izin verilmektedir. Avrupa Birliği direktiflerinde ise bu amaçla GMP yerine QS (Quantum Statis) ifadesi kullanılmaktadır (Altuğ, 2009).

2.3. Gıda Katkı Maddeleri E Kodları

EC (European Community) kodu: Her bir gıda katkı maddesi için Avrupa Birliği tarafından belirlenen kod numaralarını ifade eder (Anonim, 1997a). Numaraların başında bulunan E harfi Europe (Avrupa) sözcüğünün ilk harfidir. Bir katkının E kodu taşıması, bu katkının üzerinde tüm güvenlik çalışmalarının tamamlandığını ve Avrupa Birliği'nin Bilimsel Gıda Komitesi tarafından kodlanarak onaylandığını gösterir (Yurttagül ve Ayaz, 2008).

Hazır gıdaların paketleri üzerinde, kullanım amaçlarına göre gıda katkı maddelerinin kategorileri, bunu izleyen özel adlar ve "E" numaraları ile belirtilir. "E" numaraları Avrupa Birliği ülkelerinde gıda katkı maddelerini pratik bir kodlama yöntemi olarak geliştirilmiştir. "E" numara sistemi ile gıda katkı maddesinin temel işlevlerine göre sınıflaması şöyledir (Çalışır ve Çalışkan, 2003):

1- Renklendiriciler	E100 - 180
2- Koruyucular	E200 - 297
3- Antioksidanlar	E300 - 321
4- Emülsifiyer ve Stabilizatörler	E322 - 500
5- Asit-baz sağlayıcılar	E500 - 578
6- Tatlandırıcılar, koku verenler	E620 - 637
7- Geniş amaçlı gıda katkı maddesi	E900 – 927

Tarım ve Köyişleri Bakanlığınca hazırlanmış olan ve 16 Kasım 1997 tarihinde yayınlanan Resmi Gazete ile yürürlüğe giren Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği ile gıda katkı maddelerinin kullanımları konusunda yeni düzenlemeler geliştirilmiştir (Anonim, 1997a). Kodekste gıda katkı maddeleri tanımlanmış ve bu maddelerin EC kodları, adları, kullanılacakları gıda grupları ve izin verilen maksimum miktarları listeler halinde açıklanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinde E numaraları ile belirtilmiş olan tüm katkılar, gerek CAC gerekse EC listelerinde yer alan ve belirtilen maksimum dozlarında kullanımları, değişik şartlarda ve değişik gıdalarda onaylanan maddelerdir (Altuğ, 2009).

2.4. Gıda Katkı Maddeleri Kullanımında Dikkat Edilecek Noktalar

Gıda katkı maddeleri hiçbir zaman gıdadaki bir kusuru örtmek ve tüketiciyi aldatmak için kullanılamazlar. Gıda katkı maddeleri gıdanın besin değerini muhafaza etmek veya iyileştirmek, gıda kalitesini yükseltmek, israfı azaltmak, tüketici tarafından kabul edilebilirliğini arttırmak gibi nedenlerle kullanılır. Ayrıca gıdanın raf ömrünü (dayanma süresini) uzatmak ve gıdanın hazırlanmasını kolaylaştırmak için kullanılırlar (Angiş ve Oğuzhan, 2008).

Bunların yanı sıra gıda katkı maddeleri insan sağlığına zararlı olmamalı ve kullanımı yasalarla belirlenmiş olmalıdır. Kullanımında teknolojik zorunluluk bulunmamalıdır. İzin verilen besinlerde izin verilen miktarlarda kullanılmalı ve ürünün besin değerini azaltmamalıdır (Yurttagül ve Ayaz, 2008).

2.5. Gıda Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması

Gıda katkı maddelerini kullanım amaçlarına göre 4 grupta toplayabiliriz (Yurttagül ve Ayaz, 2008).

2.5.1. Kaliteyi koruyarak raf ömrünü uzatanlar (koruyucular)

- a) Antimikrobiyaller (nitrit, nitrat, benzoik asit, propionik asit, sorbik asit, kükürt dioksit)
- b) Antioksidanlar (BHA, BHT, gallatlar)

2.5.2. Yapıyı, hazırlama ve pişme özelliğini geliştirenler

pH ayarlayıcılar; pH'yı (besinlerin asitliğini veya bazlığını) kontrol etmek, değiştirmek, istenilen düzeyi sağlamak amacıyla kullanılırlar. Bunlar pH'yı düşürerek besinde bakteriosidal ve bakteriostatik etki de gösterebilirler.

Topaklanmayı önleyenler (silikat, magnezyum oksit, magnezyum karbonat); Tuz, şeker, baharat, süt tozu ve diğer toz halindeki besinlerin, hazır çorbalıklar gibi kuru karışımların akıcılığına yardımcı olmak, bir araya toplanmayı önlemek amacıyla kullanılırlar.

Emülsifiyerler (lesitin, mono ve digliseritler); Bir sıvının diğeri içinde muntazam küçük partiküller halinde dağılmasına yardımcı olmak, sıvının yüzey gerilimini azaltmak, homojen bir dağılma ve emülsiyon sağlamak amacıyla kullanılırlar.

Stabilizörler, kıvam arttırıcılar, tatlandırıcılar; Ürüne istenen yapı özelliklerini kazandırmak amacıyla kullanılırlar.

Mayalanmayı sağlayıcı ajanlar; Mayalanmayı hızlandırmak, pişme ve ürün kalitesini geliştirmek amacıyla besinlere katılırlar.

Diğer yapıyı, hazırlama ve pişme özelliğini geliştiren katkı maddeleride nem ayarlayıcılar, olgunlaştırıcılar, ağartıcılar, dolgu maddeleri, köpük ayarlayıcılar ve parlaticılar diye sınıflandırılabilirler.

2.5.3. Aromayı ve rengi geliştiriciler

Çeşni arttırıcılar (MSG); Aromayı daha cazip hale getirmek, doğal aromayı düzeltmek veya korumak amacıyla besinlere katılırlar.

Çeşni vericiler (Aroma maddeleri); Tat ve kokuyu daha cazip hale getirmek, doğal lezzeti geliştirmek, işleme esnasında kaybolan tat ve kokuyu kazandırmak amacıyla besinlere katılan maddelerdir. Doğal, doğala özdeş ya da sentetik tat ve koku maddeleri olabilir.

Renklendiriciler; Tüketici beğenisi kazanmak, doğal rengi kuvvetlendirmek, işlem sırasında kaybolan rengi kazandırmak veya renksiz olan bir ürünü renklendirmek amacıyla kullanılırlar.

2.5.4. Besin değerini koruyucu ve geliştiriciler (besin öğeleri)

İşleme sırasında kaybolan besin öğelerini yerine koyma ve diyetle eksik olabilecek besin öğelerini ekleme amacıyla kullanılırlar.

2.6. Gıda Katkı Maddelerinin Sağlık Üzerine Etkileri

Hızlı endüstrileşme ve kentleşme hazır yiyeceklere olan talebi arttırmaktadır. Bu talebin sonucunda da gıdalara çok değişik kimyasal maddelerin katılması uygulamaları başlamıştır. Bu maddelerin özellikleri ve gıdalarda kullanım sınırları dünyada uluslararası düzeyde araştırmalarla ele alınan bir konudur. Bu amaçla WHO ve FAO'nun oluşturduğu gıdalarla ilgili komisyon (CAC) ve bu kuruluşun gıda katkı maddeleri alt komitesi olan JECFA katkı maddelerinin insan sağlığı açısından güvenilirliği konusunda çalışmalar yapmakta ve belirli dozlarda kullanımında sakınca olmadığı belirlenen maddelerle ilgili listeler hazırlanmaktadır (Angiş ve Oğuzhan, 2008).

Bazı katkı maddelerine duyarlı olan insanlar reaksiyon verebilirler. Avrupa'da nüfusun % 0,03-0,15'inin gıda katkı maddelerine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Anonim, 1981). Gıda katkı maddesi olarak kullanılan sülfidlerin astıma neden olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Mathison ve ark., 1985). Yine katkı maddesi olarak kullanılan mono sodyum glutamat doğal olarak bazı besinlerde de bulunabileceği gibi lezzet artırıcı olarak da besinlere eklenebilir (çorbalarda, hazır et ve tavuklarda). Mono sodyum glutamat "Çin lokantası sendromu" denen baş ağrısı, ensede yanma, göğüste baskı hissi, terleme ve ürtiker gibi belirti ve yakınmalara yol açan bir tabloya neden olabilir (Öztürk ve Besler, 2008).

Aspartam besleyici değeri olmayan tatlandırıcılardan birisidir. Bu nedenle yaygın olarak içecek ve yiyeceklere eklenmektedir. FDA tarafından bulantı, kusma, uyku düzensizlikleri, baş ağrısı, bulanık görme, davranış değişiklikleri gibi spesifik olmayan bulgulara neden olduğu raporlanmıştır (Anonim, 1995). Gariga ve ark. (1991) tarafından yapılan çalışmada aspartama bağlı ürtiker çift kör plasebo kontrollü besin provokasyonu ile iki hastada saptamışlardır .

Yine koruyucu gıda katkıları mikroorganizmaların gelişimini önlemek ve gıdayı korumak için yaygın olarak kullanılırken gıda renklendiricileri de gıdanın daha iyi görünmesi için kullanılır. Bu tür bileşiklerin zararsızlığı test edilmiştir ve genellikle güvenilir oldukları kabul edilir (Parke ve Lewis, 1992). Yine de sağlık üzerine,

özellikle bağışıklık sistemi üzerine, etkileri oldukça tartışmalıdır (Lizaso ve ark., 2000). Özellikle sentetik gıda boyalarının alerjik yanıtlar gibi bazı riskler taşıdığından genellikle şüphe edilir.

Koruyucu maddeler besinleri bakteri, küf ve mayalardan korumak, raf ömrünü uzatmak, doğal renk ve aromayı korumak amacıyla kullanılırlar. Bu maddelerden en çok sucuk, salam, pastırma gibi et ürünlerine konulan nitrit ve nitrat tartışılmaktadır. Nitrat ve nitrit kanserojen nitrozo bileşikleri oluşturmaktadır (Bogovski ve Bogovski, 1981). Nitratın ADI değeri 0-5mg/kg, nitritin ADI değeri 0-0,2mg/kg olarak belirlenmiştir. Günlük aldığımız nitrat ve nitritin % 80'i su, sebze ve diğer kaynaklardan, %20'si ise gıda katkı maddelerinden gelmektedir. Bazı katkı maddelerinin sağlık üzerine etkileri Tablo 2.1'de verilmiştir (Çalışır ve Çalışkan, 2003).

Tablo 2.1. Bazı katkı maddelerinin sağlık üzerine etkileri (Çalışır ve Çalışkan, 2003)

Katkı Maddesi	Sağlık Sorunu	Katılmasına izin verilen besinler
E250-251 Nitrit ve Nitrat	Kansere neden olan nitrozaminleri oluşturur, kanın oksijen taşıma ürünleri ve sucuk tipi et ürünleri yeteneğini azaltır	Salam, sosis vb. işlem görmüş et, ürünleri ve sucuk tipi et ürünleri
E223 Sodyum meta bi sülfid	Astımlı hastalarda astım atağı Bakterilerde mutasyona neden olur. Tiamini harap eder.	Bisküvi, gofret, kek, kurabiye, patates cipsi-püresi ve sirke
E210 Benzoik Asit	Astım, deri döküntüleri, migren	Margarin, zeytin ezmesi, alkolsüz içecekler, reçel, jöle, bisküvi, gofret, kek kremaları, soslar ve ketçaplar
E627 Sodyum guanilat E631 Sodyum inosinat	Gutu şiddetlendirir Düşük purinli gıdalarda Kullanılmamalıdır.	Et ürünleri, et suyu tabletleri, soyalı ürünler, hazır çorbalar
E621 Mono sodyum glutamat	Baş dönmesi, çarpıntı Deney hayvanlarında beyin lezyonu "Çin Restoranı Sendromu"	Hazır çorbalar, et ürünleri, çerezler, patates cipsi, soslar

Ürtiker, birkaç mm'den 30 cm'ye kadar değişen çapta olabilen, pembe-kırmızı renkte, kaşıntılı, deriden kabarık papül ve plaklarla karakterize bir hastalıktır.

Çocuklar üzerine gıda katkı maddelerinin etkileri üzerine yapılan bir çalışmada; gıda katkılarının bazı çocuklarda ürtiker ve anjiyo ödeme neden olduğu görülmüştür (Supramaniam ve Warner, 1986). Gıda katkı maddeleri doğal ve sentetik olarak iki grupta ele alınabilir. Sentetik olanlar arasında; azo boyaları, benzoik asit türevleri (benzoatlar), penisilin, sülfidler ve metabisülfidler sayılabilir. Doğal katkı maddeleri olarak; mayalar, salisilatlar, sitrik asit, yumurta ve balık albümini sayılabilir (Arıcan ve Kutluk, 2005).

Benzoatlar ve parabenler kronik ürtiker ve anjiyoödem olgularının bir kısmından sorumlu olabilirler, anafilaksi ve astım atağını tetiklemesi ise nadirdir (Simon ve ark., 1998). Yapılan bir araştırmada parabenlerin deri yoluyla temas durumunda kontakt dermatite neden olabildiği saptanmıştır (Carrodori ve ark., 1990).

Benzoik asit ve sorbik asit de diğer katkı maddeleri gibi fazla alındığında sağlık üzerine olumsuz etkileri olan katkı maddeleridir. WHO, 1997 raporuna göre yüksek dozda benzoik asit verilen deney hayvanları ve insanlarda metabolik asidosiz, konvülsiyon ve hyperpnoea gözlenmiş, birkaç çalışmada benzoatların insanlarda alerjik reaksiyonlara neden olduğu raporlanmıştır (Tfouni ve Toledo, 2002). Sorbat, hidrojen peroksit, benzoik asit ve sodyum benzoat gibi pek çok koruyucu madde yüksek dozlarda hayvansal toksisitelere neden olur; insan toksisiteleri başlıca nadir olarak raporlanan hafif aşırı hassas reaksiyonları (ürtiker, kaşıntı) içerir (Walker, 1990; Parke ve Lewis, 1992).

Yine yapılan araştırmalarda askorbik asit mevcudiyetinde benzoik asitin dekarboksilasyonu esnasında benzen oluştuğu gözlenmiştir (Gardner ve Lawrence, 1993; Lachenmeier ve ark., 2008). Benzoik asitten benzen oluşumu geçiş metalleri varlığından etkilenir ve pH, UV ışık ve sıcaklığa bağlıdır.

Bazı çalışmalarda insanlarda benzoatlara karşı ürtiker, immünolojik olmayan kontakt ürtiker ve astım gibi alerjik reaksiyonların geliştiği rapor edilmiştir (Nettis ve ark., 2004). Yapılan başka çalışmalarda sorbik asitin de düşük toksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir, diğer yağ asitleri gibi benzer yollarla hızlıca metabolize edildiği ifade edilmiştir (Anonim, 1974). İnsanlarda sorbik asite karşı bazı kişilerde

intoleransın olduğu birkaç durum (immünolojik olmayan ürtiker ve pseudo-alerji) rapor edilmiştir (Santini ve ark., 2009).

Alerjik kontakt dermatit önceden herhangi bir alerjen maddenin teması ile duyarlanmış deriye aynı maddenin tekrar temas etmesi ile ortaya çıkan immünolojik (bağışıklık sistemi tarafından başlatılan) bir reaksiyondur (Brancaccio ve Alvarez, 2004). Kontakt dermatit tanısı konan hastaların yaklaşık % 25-30 kadarını alerjik kontakt dermatit oluşturmaktadır.

Fırıncılar ve şekerleme imalatçıları alerjik kontakt dermatit gibi mesleki deri hastalıkları gelişimi açısından risk altındadırlar (Tacke ve arkadaşları, 1995). Mesleki deri hastalıkları üzerine İsveç'te tarafından yapılan bir çalışmada fırıncılarda işle ilişkili deri hastalıklarının normalden dört kat fazla olduğu ortaya çıkmıştır (Brisman ve ark., 1998). Alerjik kontakt dermatite neden olan gıda katkıları Tablo 2.2'de gösterilmiştir (Brancaccio ve Alvarez, 2004).

Tablo 2.2. Alerjik Kontakt Dermatite neden olan gıda katkıları (Brancaccio ve Alvarez, 2004)

Koruyucular	Kalsiyum propiyonat, parabenler ve sorbik asit
Antioksidanlar	Benzoin gum, bütillenmiş hidroksianisol(BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), sodyum bisüfit, lauril, propil, oktil ve dodesil gallat, tokoferol (vitamin E)
Ağartıcı ajanlar	Sorbik asit, benzoil peroksit, amonyum ve potasyum persülfat
Emülsifiyer ajanları	Propil Glikol
Gıda renklendiricileri ve boyaları	Citrus Red II, Kurkumin
Stabilizatörler	Karaya (gum)

Kültüre alınmış ve izole insan lenfositlerindeki potasyum sorbatın genotoksik potansiyelinin değerlendirildiği bir çalışmada sonuçlar potasyum sorbatın in vitro koşullardaki kan lenfositleri için genotoksik olduğunu göstermiştir (Mamur ve ark., 2010).

Egger ve ark. (1985) tarafından çocukluk hiperaktivitesi ile ilgili yapılan bir çalışmada benzoatların (E210-E219), çocukluk hiperaktivitesi ile doğrudan ilişkileri

olduğu görülmüştür, diğer yandan L-Glutamik asidin invitro ortamda sinir hücresi diferansiasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Egger ve ark., 1985).

Benzoik asit ve bileşiklerinin neden olabilecekleri olumsuzluklar beyin zedelenmesi, aşırı duyarlılık, kilo kaybı, astım veya sinirsel bozukluğun tetiklenmesi; çocuklarda hiperaktivite ve ürtiker, deride kızarıklık, şişlik, kaşıntı ve ağrı; östrojen hormonlarını artırarak hormon dengesinin bozulması ve tümörlerin oluşması şeklinde belirtilebilir (Erkmen, 2010).

2.7. Antimikrobiyal Koruyucu Maddeler

Çok eski yıllardan beri gıda muhafazasında mikroorganizmalara karşı kullanılan asitler, tuzlar, şeker ve odun islerinin yerini bugün antimikrobiyal maddeler almıştır. Bu grup maddelerin görevi gerçekte, gıdalarda istenmeyen ancak herhangi bir nedenle bulunma olasılığı olan küf, maya, patojen veya patojen olmayan her türlü mikroorganizmayı ortamdaki yok etmek veya onların çoğalmalarını ve çalışmalarını önlemektir (Saldamlı, 1985).

Koruyucu maddeler, gıdayı mikroorganizmaların neden olduğu bozulmalara karşı koruyarak, gıdanın raf ömrünü uzatan kimyasal maddeler olarak tanımlanmaktadır (Altuğ, 2009). Tuz, şeker ve sirke yüzyıllar boyunca gıdalardaki mikrobiyal bozulmaları önlemek amacıyla kullanılan maddeler olmakla birlikte, günümüzde katkı maddesi olarak nitelendirilmemektedir (FDA, 2010).

Dar anlamda koruyucu maddeler; gıda öğesi olmayan yani genellikle gıdaya yabancı olan bazı kimyasal bileşikler olup bunların kullanım miktarları daima sınırlıdır ve bu sınır % 0,5'ten küçüktür. Koruyucu maddeler denince genellikle, tanımlanan bu dar anlamdaki maddeler anlaşılır (Cemeroğlu, 1986).

FDA'nın tanımına göre gıdalara tuz, şeker, sirke, baharat gibi doğal maddelerle, herbisit ve insektisit maddeler dışında, gıdaların bozulma ve değer kaybını önlemek

için koruyucu amaçlarla katılan bütün kimyasal maddeler “prezervatif” veya “kimyasal koruyucu” olarak tanımlanmaktadır (Gökalp ve ark., 2002).

İşlenmiş ve pratik gıdaların üretimindeki artışla kimyasal koruma modern gıda teknolojisinde gittikçe artan bir uygulama haline gelmiştir. Koruyucular mikrobiyolojik, enzimatik ya da kimyasal değişikliklerden dolayı meydana gelen besin kayıplarını azaltmak ve durdurmak ve böylece raf ömrünü uzatmak için eklenir (Saad ve ark., 2005).

Gıda sanayinde antimikrobiyal katkı maddeleri ise şöyle tanımlanabilir; gıdalarda istenmeyen, ancak herhangi bir nedenle bulunma ihtimali olan bakteri, küf, maya, patojen veya patojen olmayan zararlı her türlü mikroorganizmayı yok etmek, çoğalma veya çalışmalarını önlemek için gıdalara katılan bileşenlerdir (Gökalp ve ark., 2002).

Koruyucu maddelerle muhafaza yönteminde gıdaya isleme, depolama ve paketleme aşamalarında katkı maddeleri ilave edilerek mikroorganizma gelişmesi sınırlandırılır. Sorbik asit ve sorbatlar, benzoik asit ve benzoatlar, laktik asit, asetik asit ve asetatlar, nitrit ve nitratlar, antibiyotikler, bakteriyosinler bu grubun yaygın örnekleridir (Angiş ve Oğuzhan, 2008).

Koruyucular gıda güvenliğini arttırmaları ve viral, bakteriyal ve fungal gelişimi sınırlayarak raf ömrünü uzatırlar. Koruyucular özellikle yüksek karbonhidrat içeren (örneğin içecekler, marmelatlar, jeller, reçeller, tatlılar, süt ürünleri, ekmekler, hamurlar, kür edilmiş et ve balık, fermente içecekler ve sebzeler) çok çeşitli besinlere eklenirler (Rangan ve Barceloux, 2009).

Koruyucuların miktarı izin verilen güvenli sınırın üzerindeyse insan sağlığına zararlı olabilir. Hayvanlarda ve insanlarda metabolik asidosiz, konvülsiyon, hiperpnöea, alerjik reaksiyonlar gibi bazı yan etkiler tanımlanmıştır (Lino ve Pena, 2010).

Gıda koruyucuların önemi tüketiciler için her zaman bir sağlık güvenliği sorunu olmuştur. GRAS (genel olarak güvenli olduğu kabul edilen) katkı maddeleri için alerjik durumlar gözlemlendiğinden beri, bu koruyucuların gerekliliği ve güvenilirliği hakkında tüketiciler ve bilim adamlarının soruları artmıştır. Kullanımı kolay ve işlenmiş gıdaların üretimindeki artışla koruyucuların rolü daha belirgin hale gelmiştir (Pylypiw ve Grether, 2000).

2.8. Koruyucu Maddelerin Özellikleri ve Etki Mekanizmaları

Özel bir gıda için uygun koruma sistemini seçmek kolay değildir. Öncelikle hedef patojen ya da bozulmaya neden olan mikroorganizma seçilmeli daha sonra olası koruma sistemleri; model çalışmalar ve söz konusu gıda ürünündeki çalışmalar üzerinden değerlendirilmelidir (Leistner, 2000). Genellikle kimyasal koruyucuların diğer koruma yöntemleriyle ortaklaşa kullanımına ihtiyaç vardır.

Uygun antimikrobiyalın belirlenmesi için öncelikle “hangi gıda için hangi gıda katkı maddesi” ve “hangi katkı maddesi için hangi doz” sorularına cevap verilmelidir (Çakmakçı ve Çelik, 2000). Burada çok sayıda faktör dikkate alınmalıdır. Bu faktörler; gıdanın pH’sı, kimyasal maddenin çözünürlüğü ve etki spektrumu, gıdanın etkilenme durumu ve kimyasalların karşılıklı etkileşimi olarak sıralanabilir.

Koruyucu maddenin ilk seçimi normalde söz konusu kimyasalın genel mikrobiyal yelpazesinin değerlendirilmesi temeline dayanır. Antimikrobiyal spektrum çeşitli mikroorganizma türlerine (örneğin bakteri, maya ve küfler) ve mikroorganizma formlarına (vejetatif hücreler, sporlar gibi) karşı bileşiğin değerlendirmesini içermelidir. Hatta türler, suş ve Gram reaksiyonu (pozitif ya da negatif) görünen aktivite üzerinde önemli etkilere sahip olabilir (Davidson ve ark., 2005). Bir koruyucunun antibakteriyel etkisi, mikroorganizmaya göre farklılık gösterir (Praphailong ve Fleet, 1997).

Gıdanın diğer bileşenleri ile antimikrobiyalın kimyasal reaksiyonu, antimikrobiyalın aktivitesini belirgin bir şekilde etkileyebilir. Lipidlerle, proteinlerle,

karbonhidratlarla ve diğer gıda katkılarıyla reaksiyonlar antimikrobiyal bileşimin aktivitesini tamamıyla azaltabilir. Antimikrobiyal aktivitenin azalmasına ilaveten kimyasal reaksiyonlar; istenmeyen aroma, koku ve renk oluşumuna neden olabilir (Davidson ve ark., 2005).

Koruyucular raf ömrü boyunca gıdalardaki mikrobiyolojik, enzimatik ya da kimyasal değişikliklerinden dolayı oluşan besin kayıplarını önlemek ya da geciktirmek için eklenir. Ayrıca koruyucular mikrobiyal toksinler ya da patojenik mikroorganizmaların oluşumundan kaynaklanan tüketim risklerini ve bozulmadan dolayı oluşan ekonomik kayıpları önler. Koruyucuların rolü işlenmiş ve kolay hazırlanan gıdaların artışıyla daha önemli hale gelmiştir (Mota ve ark., 2003).

Koruyucu maddeler mikroorganizmalar üzerine, genellikle hücre duvarı veya membranının yapısını bozarak veya hücrenin metabolizma faaliyetlerinde önemli rol oynayan önemli enzimlerin aktivitelerini önleyerek etki etmektedirler (Cemeroğlu, 1986).

Antimikrobiyal maddeler mikroorganizmaların büyümelerini durdurucu (bakteriyostatik, fungistatik) ya da onları öldürücü (bakteriyosidal, fungusidal, sporisidal) etki gösterebilmektedirler (Altuğ, 2009). Bazı kimyasal maddelerin çok düşük miktarları mikroorganizmalar tarafından metabolize edilebilmektedir. Oysa aynı miktarlar diğer mikroorganizmaları inhibe edebilmekte ya da daha yüksek miktarları bazı mikroorganizmaları öldürebilmektedir.

Kimyasal maddelere en dayanıklı mikrobiyal form bakteri sporlarıdır. Bakteri sporları diğer antimikrobiyal faktörlere olduğu gibi kimyasal maddelere de vejetatif formlardan çok daha yüksek bir dayanıklılık gösterirler (Russel, 1990). Birçok durumda ise küfler inhibitörlere karşı mayalardan daha hassastırlar. Mikroorganizma türleri ve alt türleri arasında kimyasallara dayanıklılık bakımından farklılıklar bulunmaktadır (Altuğ, 2009).

Antimikrobiyal bileşenin polaritesi önemli bir fiziksel özellik olarak görülmektedir. Suda çözünürlük veya hidrofilik özellikler kadar antimikrobiyalin hidrofobik hücre membranını etkileyebilmesi için bazı lipofilik özelliklere de sahip olması önem taşımaktadır (Altuğ, 2009).

Antimikrobiyal maddenin etkinliği gıda ürünlerinin özellikleri ile de yakından ilişkili olup, koruyucu maddelerin aktivitesi asidik gıdalarda artmaktadır (Praphailong ve Fleet, 1997). Sıvı gıdalarda koruyucu maddeler mikroorganizmalarla daha iyi temas edebilmektedir. Bu nedenle katı gıda parçalarının içinde bulunan mikroorganizmalar kimyasal maddelerin etkilerinden daha iyi korunurlar (Altuğ, 2009).

Gıda pH'sı antimikrobiyalin iyonizasyonuna ve aktivitede değişikliğe neden olabilir. Örneğin organik asitler sadece yüksek asitli gıdalarda (genellikle pH = 4,5-4,6) düşük konsantrasyonda da etkilidirler. Bu antimikrobiyal etkilerinin dissosiyeye olmamış formda, yani sadece bileşiğin pKa değerinin altındaki bir pH'da en fazla olmasındandır. Tüm yasal onaylı organik asitler yüksek asitli gıdalarda maksimum antimikrobiyal aktivite gösterirler (Davidson ve ark., 2005).

Sorbik asit ve benzoik asitler de genellikle düşük pH'da daha etkilidirler. Çünkü düşük pH'da dissosiyeye olmamış (ayrışmamış) formdadırlar ve böylelikle hücre zarlarından içeriye daha kolay nüfuz ederler (Hussain ve ark., 2010).

Genellikle gıdanın sıcaklığının artması, kimyasalın mikroorganizmalar üzerindeki etkisini de arttırmaktadır (Leistner, 2000). Sıcaklık mikroorganizmaların en uygun sıcaklığına yakın ise antimikrobiyal madde etkisini tam olarak gösterememekte, sıcaklık mikroorganizmanın optimum gelişme sıcaklığının üzerinde ise koruyucunun etkinliği de artmaktadır (Altuğ 2009).

Koruyucu maddenin çeşit ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişmekle birlikte, gıdaların duyuşal özelliklerinde ve özellikle tadında değişiklik meydana gelebilmektedir. Örneğin, benzoik asit, çok düşük konsantrasyonda bile damakta yakıcı bir etki bırakmaktadır (Otero, 2003). Bu durumda, sodyum benzoat ve p-hidroksibenzoik asit esterleri daha uygundur. Sorbik asitin tada etkisi en azdır.

Kükürtdioksit ve sülfite ise gıdanın tadını maskeleymektedir (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

2.9. Gıdalarda Yaygın Olarak Kullanılan Koruyucu Katkı Maddeleri

Koruyucu maddeler 6 grupta toplanabilirler. Bunlar organik asitler, kükürtdioksit ve sülfidler, nitrit ve nitratlar, dimetil dikarbonat, koruyucu gazlar ve antibiyotikler olarak sayılabilir.

2.9.1. Organik asitler

Organik asitler gıda bileşeni olarak mevcut olabildiği gibi sonradan doğrudan ya da dolaylı olarak gıda ürünlerine eklenebilirler (Gomis, 1992). Organik asitlerin saf ya da tamponlanmış olmak üzere iki temel şekli mevcuttur. Laktik, asetik, propiyonik, sitrik, sorbik ve benzoik asit gibi organik asitler saf haldeyken propiyonik, asetik, sitrik ve benzoik asitin kalsiyum ve sodyum tuzları tamponlanmış organik asitlerdir. Çoğu organik asit basit yapıları ve küçük molekül boyutları ve kütlelerinden dolayı onlara hücre içinde rahatça hareketlerini sağlayan bir avantaja sahiptir (Theron ve Lues, 2007).

Organik asit ve esterleri doğada özellikle meyvelerde yaygın olarak bulunur (Barbosa ve ark., 2003). Yine birçoğu fermente et, süt ve sebze ürünlerinde mikrobiyal metabolizmanın ara ya da son ürünü olarak oluşur. Bu ürünlerde organik asitlerin oluşturduğu aroma ürününün duyusal kalitesini belirlemede rol oynayabilir ayrıca proteolitik bozulmayı geciktirici ve engelleyici etkisiyle de ürünün raf ömrünü uzatmaktadır (Altuğ, 2009).

Organik asitlerin etkinliği ortamın pH'sına, asidin dissosiyasyonu olmasına ve antimikrobiyal maddenin özel etkisine bağlıdır. Asitlerin dissosiyasyonu olmamış formları antimikrobiyal özellik gösterir (Altuğ, 2009).

Zayıf organik asit koruyucular düşük pH'da maksimum inhibitör etkiye sahiptir. Bu yüksüz, dissosiyasyonu olmamış durumdaki molekül plazma membranından serbestçe

karşıya geçer ve böylece hücre içine girer. Molekülün hücre içine girdiğinde karşılaştığı daha yüksek pH'da disosiyeye 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 gerçekleşir (Brul ve Coote, 1999).

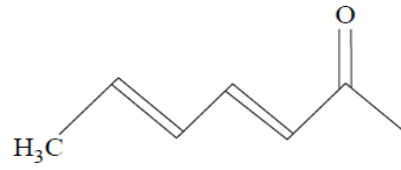
2.9.1.1. Sorbik asit ve tuzları

Sorbik asit doğada *Sorbus aucuparia L.* adı verilen üvez ağacı ve meyvelerinde bolca bulunmaktadır. Doğal olarak üvez meyvesinde lakton formunda bulunan sorbik asit α , β doymamış monokarboksilik asit zinciridir ve $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCOOH}$ yapısında 6 karbona sahip organik bir asittir (Kıvanç, 1989). Hafif asidik tatta, kokusuz, saf halde beyaz kristal bir tozdur. Saf ve seyreltilmiş halde ışığa ve sıcaklığa hassastırlar. Soğuk suda az, sıcak suda iyi, alkol-eterde kolay çözünmektedir. Sorbik asit oda sıcaklığında 100 ml suda 0,15 g çözünmektedir (Dinçoğlu, 2005; Alpözen, 2007).

Sorbik asidin suda çözünürlüğü çok düşüktür (Dinçoğlu, 2005). Genel olarak sorbatlar şeklinde nitelendirilen tuzlarının ve bunlar içinde özellikle potasyum tuzunun suda oldukça yüksek çözünürlük oranına sahip olması nedeniyle gıda maddelerine uygulamada potasyum sorbat tercih sebebi olmaktadır. Sorbik asite ait bazı özellikler Tablo 2.3'te ve sorbik asitin kimyasal yapısı Şekil 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.3. Sorbik asite ait bazı özellikler

Kimyasal Yapısı	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$
Molekül Ağırlığı	112,12
Fiziksel Görünüş	Kokusuz, beyaz, kristal toz
Erime Noktası	135-137 °C
Kaynama Noktası	228 °C



Şekil 2.1. Sorbik asitin kimyasal yapısı

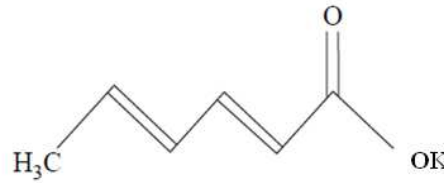
Düşük pH değerlerinde sorbatların antimikrobiyal aktivitesinin artmasına, etkili antimikrobiyal form olduğuna inanılan disosiyasyon olmamış asit miktarının artması katkıda bulunur (Skirdal ve Eklund, 1993). Sorbik asitin antimikrobiyal etkisi, ayrışma sabitesi olan (pKa) 4,75'e yaklaştığında artar. Bu pH değerinde, sorbik asitin % 50'si ayrışmayan formdadır. Sorbik asitin etkili olduğu üst pH limiti 6,0-6,5'dur (Davidson ve ark., 2001). Hem disosiyasyon olmamış ve hem de disosiyasyon formundaki sorbik asit antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Ancak disosiyasyon sorbik asitin antimikrobiyal etkisi disosiyasyon olmamış forma göre yaklaşık 10-600 kat daha azdır (Statham ve McMeekin, 1988).

Mikroorganizma gelişmesinin sorbik asit mekanizması yoluyla engellenmesinin nedenlerinden biri enzimler üzerindeki etkisi olabilir (Sofos, 1992). Yapılan araştırmalarda sorbik asitin yağ asidi oksidasyonunda dehidrojenaz enzimlerini inhibe ettiği görülmüştür. Sorbik asit eklenmesi mantarlar tarafından yağ asidi oksidasyonunda üretilen ara ürünlerden β -çoklu doymamış yağ asitlerinin kümelenmesiyle sonuçlanır. Bu durum dehidrojenazların fonksiyonlarını engeller ve metabolizma ve gelişmeyi inhibe eder. Sorbik asit ayrıca sülfidril enzimlerinin inhibitörü olarak gösterilmiştir. Bu enzimler mikroorganizmalar için çok önemlidir ve fumaraz, aspartaz, süksinik dehidrojenaz, maya alkol dehidrojenazları içerir (Davidson ve ark., 2001).

Genel olarak sorbatlara karşı katalaz (+) mikroorganizmaların katalaz (-)'lerden daha dirençli olduğunu tespit edilmiştir (Davidson ve ark., 2005). Diğer taraftan antimikrobiyal etki aeroblara karşı anaeroblardan daha fazladır (Aktan, 1999)

Sorbatların sulu çözeltileri stabil olmayıp oksidasyon yoluyla bozulmaktadır (Arya ve Thakur, 1988; Sofos, 1989). Tuz ve şeker gibi çözüner maddeler ortamın su aktivitesini düşürüp (mikroorganizmaların düşük su aktivitelerinde dirençleri azaldığından) sorbatların antimikrobiyal aktivitelerini arttırabilirler. Ancak bu maddeler mikroorganizmaların ısıyla inaktivasyonu esnasında (mikroorganizmaların sıcaklığa karşı olan direnci su aktivitesinin artmasıyla azalır) sorbatlarla ısının sinerjik etkisini azaltırlar (Altuğ, 2009).

Potasyum sorbat, moleköl ağırlığı 150,22 olan, beyaz, yumuşak bir tozudur. Çözünürlüğü en yüksek olan sorbat tuzudur. 20 °C' de suda ve alkoldeki çözünürlüğü sırasıyla, 139,2 g/100 ml ve 200g/100 ml'dir. Potasyum sorbatın kimyasal yapısı Şekil 2.2'de verilmiştir (Alpözen, 2007).



Şekil 2.2. Potasyum sorbatın kimyasal yapısı

Potasyum sorbat çoklu doymamış yağ asitlerinden doğal olarak oluşan bir tuzdur ve tamamıyla metabolize edilir. Düşük pH'lı ürünlerde ve yüksek asitlikte az miktardaki potasyum sorbat koruma için yeterlidir. pH 2,5-3'te sorbatlar maya ve küfler üzerinde benzoat ve propiyonatlardan daha etkilidir (Ashmawy, 2009).

Sorbik asit ve potasyum sorbat geniş bir antimikrobiyal spektruma sahiptir. Sorbik asit ve tuzları maya ve küflere karşı aktif, bakterilere karşı daha az aktif olmakla birlikte katalaz pozitif mikroorganizmalara karşı da etkin olabilmektedir (Statham ve McMeekin, 1988). Bu mikroorganizmalar genellikle % 0,01-0,03 asitle inhibe edilebilmektedir. Çoğu gıdada sorbatların etkin olduğu konsantrasyon % 0,05-0,3 arasında değişir (Sofos, 1989). Sorbik asit ve tuzlarının konsantrasyonu % 0,1'den fazla olduğunda istenmeyen tat oluşabilir (Boylston ve ark., 2003; Davidson ve ark., 2005). Öksüztepe ve ark., (2010) tarafından yapılan çalışmada, % 0,01, 0,05 ve %

0,1 oranında potasyum sorbatın $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ve $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen çökeleğin bazı mikrobiyolojik (toplam aerobik mezofilik bakteri, koliform bakteri, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus* ve maya-küf) parametreleri ile pH ve toplam asidite (laktik asit cinsinden) üzerine etkileri araştırılmıştır. Hem $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de hem de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen çökelek örneklerinde % 0,01, 0,05 ve % 0,1 oranında potasyum sorbat ilavesinin toplam aerobik mezofilik bakteri, koliform bakteri, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Staphylococcus* ve *Micrococcus* sayıları üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen çökelek örneklerinde % 0,05 ve % 0,1 oranında potasyum sorbat ilavesinin *Enterococcus* ve maya-küf sayıları üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Çökelek örneklerinin muhafaza süreleri boyunca, kontrol grubu ve potasyum sorbat ihtiva eden gruplar arasında pH ve asidite bakımından bir fark görülmemiştir.

Sodyum sorbatın suda çözünürlüğü % 28 civarındadır; benzoik asit ve tuzlarına oranla düşük toksik etkilidir. Gösterdiği bütün özellikler hemen hemen sorbik asitin aynısıdır (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

Çeşitli hayvan türleri; akut toksik etkilerinin yanı sıra metabolizma üzerine etkileri, karsinojenik ve teratojenik etkileri, uzun ya da kısa süreli kullanım etkilerinin belirlenmesi için bu bileşiklerle beslenmiştir. Diğer kimyasal maddelerle güvenlik yönünden sorbatlar karşılaştırıldığında sorbatların görece olarak üstün ve zararsız olduğunu görülmüştür (Davidson ve ark., 2005).

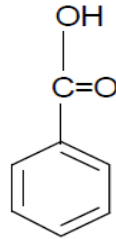
2.9.1.2. Benzoik asit ve tuzları

Ham karanfil, kuru erik, tarçın ve yoğurt gibi bazı gıdalarda doğal koruyucu olarak da bulunan benzoik asit ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$), genellikle sodyum tuzu formunda, gıdalarda koruyucu madde olarak kullanılmaktadır (Altuğ, 2009). Serbest asitin çözünürlüğü az olduğundan sodyum tuzu tercih edilmektedir (Davidson ve ark., 2005). Mikrobiyal inhibisyon için benzoik asit pH 4'ün altında en fazla etkinliğe sahiptir, genellikle düşük asitli gıdaları korumada kullanılır (Barbosa ve ark., 2003; Davidson ve ark.,

2005). Benzoik asite ait bazı özellikler Tablo 2.4'te ve benzoik asitin kimyasal yapısı Şekil 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.4. Benzoik asite ait bazı özellikler

Kimyasal Yapısı	C ₆ H ₅ COOH
Molekül Ağırlığı	122,12
Fiziksel Görünüşü	Renksiz, kristal toz
Erime Noktası	122,4 °C
Kaynama Noktası	249 °C

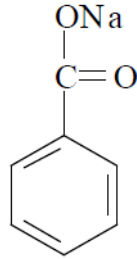


Şekil 2.3. Benzoik asitin kimyasal yapısı

Benzoik asit ve bileşikleri antimikrobiyal özelliklerinden dolayı içecekler, çikolata, soslar, katı ve sıvı yağlar, mayonez, süt tozu, kuru maya, fırın mamulleri, sakız, yumuşak şeker, ketçap, salata, çerez gibi gıdalarda kullanabilmektedir (Erkmen, 2010). Bazı kozmetik ürünlerde, ilaçlarda, diş macunlarında, öksürüğe karşı antiseptik ve merhem yapımında da kullanılırlar (Hewala, 1994).

Benzoik asidin sodyum tuzu (sodyum benzoat, C₆H₅CO₂Na) uzun süreden beri çeşitli gıdalarda antifungal katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Barbosa ve ark., 2003). Benzoik asidin sudaki çözünürlüğünün düşük olması (Tablo 2.5) nedeni ile genellikle sodyum tuzu tercih edilir. Sodyum benzoatın sudaki çözünürlüğü 25 °C'de 50 g/100 ml'dir. Benzoik asidin sudaki çözünürlüğü ise 0,34 g/100 ml'dir. Benzoik asidin antifungal etkisi asit özelliğinden değil çözünmemiş benzoik asit molekülünden kaynaklanır. Bu nedenle de antifungal etki asit gıdalarda daha yüksektir. Maksimum antifungal etki 2,5–4,0 pH aralığında görülür. Bu özelliği nedeni ile de sodyum benzoat daha çok karbonatlı içecekler, meyve suları, reçel, marmelat, meyve

kokteylleri ve turşular gibi asit veya kolayca asitlendirilebilen gıdalarda kullanılır. Bunların dışında tuzlu margarin ve pastalarda da kullanılabilir Sodyum benzoatın kimyasal yapısı Şekil 2.4'te verilmiştir (Kalyoncu, 2008).



Şekil 2.4. Sodyum benzoatın kimyasal yapısı

Tablo 2. 5. Benzoik asit ve sodyum benzoatın 100 ml suda çözünürlüğü (Aktan ve ark., 1999)

Sıcaklık (°C)	Çözünen Benzoik Asit (g)	Sıcaklık (°C)	Çözünen Sodyum Benzoat (g)
4°C	0,18	0°C	62,8
18°C	0,27	20°C	66,0
75°C	2,20	100°C	74,2

Benzoik asit ve tuzları öncelikle antimikotik ajan olarak kullanılmakta olup, çoğu maya ve küf % 0,05-0,1 dissosiyeye olmamış benzoik asit konsantrasyonunda inhibe olmaktadır (Baird-Parker, 1980). Gıda zehirlenmesi yapan ve spor oluşturan bakteriler ise % 0,01-0,02 dissosiyeye olmamış asit konsantrasyonunda inhibe edilmektedir. Ancak bozulmaya neden olan pek çok bakteri bu koruyucular karşı daha dirençlidir (Altuğ, 2009).

Benzoik asit vücutta hızlı bir metabolizma faaliyeti içerisinde işlem görmekte ve vücut tarafından atılmakta, dokularda herhangi bir birikme yapmamaktadır. Sodyum benzoat çok az miktarda gıdalara karıştırıldığında sağlığa hiçbir şekilde zarar vermemektedir. Ancak bu miktarın artması halinde hem gıdanın besleyici değeri düşmekte ve hem de sağlık sorunları ortaya çıkmaktadır (Saldamlı, 1985).

İnsanlarda, benzoik asit ve sodyum benzoatın akut toksisitesi düşüktür (Wibbertmann, 2005). Glisinle birleştikten sonra hippürik asit oluşturarak vücuttan kolaylıkla atılabilmektedir. Bu detoksifikasyon basamağı vücutta benzoik asit

birikmesini engeller (Anonim, 1996). Bazı çalışmalarda insanlarda benzoatlara karşı ürtiker, immünolojik olmayan kontakt ürtiker ve astım alerjik reaksiyonların geliştiği rapor edilmiştir (Nettis ve ark., 2004). McCann ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, sodyum benzoat ve 4 sentetik renklendiricinin hiperaktiviteyi arttırmadaki etkisi 3 yaşındaki ve 8-9 yaşındaki çocukların diyetlerine bu katkıları ilave edilerek araştırılmıştır. Aynı ekip tarafından daha önceden 3 yaşındaki çocuklar üzerine yapılan bir çalışmada da sentetik renklendiricilerin ve sodyum benzoatın hiperaktivite üzerindeki etkisi kanıtlanmıştır. Yapılan son çalışma 153 tane 3 yaşındaki ve 144 tane 8-9 yaşındaki çocuk üzerinde denenmiş. Çocuklar öğretmenler, veliler ve sınıf ve oda gözlemcileri tarafından izlenmiş. Sonuçta sentetik boyalar ve sodyum benzoatın çocuklar üzerinde küçükte olsa hiperaktiviteyi artırıcı bir etkisinin olduğunu göstermiştir (McCann ve ark., 2007).

Benzoik asit gıda endüstrileri için önemlidir. Sülfür ve sülfür dioksit, sorbik asit, asetik asit, propiyonik asit ve laktik asit gibi zayıf asitlerle birlikte benzoik asit gıdalarda ve içeceklerdeki mikrobiyal bozulmanın önlenmesinde, bir gıda koruyucusu olarak büyük ölçüde kullanılır. Bu tip koruyucular için optimum şart düşük pH'dır. Asidik ortamda benzoik asit genellikle disosiyasyon olmamış formda bulunur (Brul ve Coote, 1999). Böylelikle hücre membranlarına nüfuz edebilir. Yüksek hücre içi pH (6.4-7.5) nedeniyle hücreye giren disosiyasyon olmayan asit bir proton ayrılmasıyla anyon halinde disosiyasyon olacaktır. Bu metabolizma iç dengesini etkileyen hücre içi asitlik artışı ile sonuçlanır böylece asitliğin üstesinden gelmek ve protonların dışarıya aktif olarak pompalamak için yüksek bir enerji gerekir. Bu enerji tüketimi öncelikle biyokütle veriminde azalmaya yol açar. Benzoatın yüksek konsantrasyonları glikolizisi durdurarak gelişimin durmasına yol açar. Ayrıca benzoatın aerobik maya kültüründe oksidatif strese neden olduğu raporlanmıştır (Kresnowati ve ark., 2008).

2.10. Sorbat ve Benzoatların Gıdalardaki Kullanım Miktarları

Sorbik asit, benzoik asit ve onların tuzlarına çeşitli gıdalarda gıda koruyucusu olarak izin verilir. Bu koruyucular raf ömrü boyunca mikrobiyal, enzimatik ve kimyasal değişikliklerden dolayı gıdalarda oluşan besin kayıplarını önler ya da geciktirir, buna

rağmen izin verilen güvenli miktarlardan daha fazla kullanılmaları zararlıdır. Bu nedenle bu koruyucuların miktarlarının belirlenmesi rutin gıda analizlerinde zorunlu bir adımdır (Dong ve ark., 2006). Türkiye’de gıdalara katılacak katkı maddelerinin miktarı Türk Gıda Kodeksine uygun olmalıdır.

Avrupa Birliği ülkelerinde; sorbik asit (E200) ve benzoik asite (E210) aynı şekilde tuzlarına (E201-sodyum sorbat, E202-potasyum sorbat, E203-kalsiyum sorbat, E211-sodyum benzoat, E212-potasyum benzoat, E213-kalsiyum benzoat) Avrupa mevzuatı (Talimat no. 98/72/CE) tarafından izin verilir ve etikette koruyucu madde kullanıldığı belirtilmelidir (Anonim, 1998).

Gıdalarda kullanılan gıda katkı maddelerinin kullanımı Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği gıda katkı maddeleri başlıklı ikinci bölüme uygun olmalıdır. Gıda maddelerinde şartlı izin verilen koruyucu maddeler ve miktarları Tablo 2.6’da verilen TGK 2008/22 no’lu Renklendirici ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği’ne uygun olmalıdır.

Tablo 2.6. Gıdalarda şartlı olarak izin verilen koruyucu maddeler, mg/kg (Anonim,2008)

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

Tablo 2.6. (devam 1) Gıdalarda şartlı olarak izin verilen koruyucu maddeler, mg/kg (Anonim,2008)

Üstü şeker ile kaplanmış, kristalize edilmiş ve parlatılmış meyve ve sebzeler			1000
Kurutulmuş meyveler	1000		
Frugtgrød ve Rote Grütze	1000	500	
Meyve ve sebze preparatları (meyve bazlı soslar dahil) (teneke veya cam konservede püre, mousse/pudding, komposto, salata ve benzeri ürünler hariç)	1000		
Sirke, salamura veya yağ içindeki sebzeler (zeytin hariç)			2000
Patates hamuru ve ön kızartma yapılmış patates dilimleri	2000		
Gnocchi	1000		
Polenta	200		
Zeytin ve zeytin bazlı ürünler	1000	500	1000
Balık yumurtası ürünleri de dâhil olmak üzere kısmen yarı korunmuş balık ürünleri			2000
Tuzlanmış, kurutulmuş balık			200
Pişirilmiş çalı karidesi (<i>Crangon crangon</i> ve <i>Crangon vulgaris</i>)			6000
Ön paketlenmiş, dilimlenmiş peynir	1000		
Olgunlaştırılmamış peynir	1000		
İşlenmiş peynir	2000		
Dilimlenmiş peynir ve farklı gıdalar ilave edilmiş peynirler	1000		
Isıl işlem uygulanmamış süt bazlı tatlılar			300
Teleme	1000		
Sıvı yumurta (beyaz, sarı veya bütün)			5000
Kurutulmuş, konsantre edilmiş, dondurulmuş ve derin dondurulmuş yumurta ürünleri	1000		
Ön paketlenmiş dilimli ekmeğ ve çavdar ekmeği	2000		
Perakende olarak satılmak üzere, kısmen pişirilmiş, ön paketlenmiş fırıncılık ürünleri ve enerjisi azaltılmış ekmeğ	2000		
Su aktivitesi 0,65'den fazla olan hafif fırıncılık ürünleri	2000		
Sütlü, yumurtalı hamurlar	2000		
Şekerlemeler (çikolata hariç)			
Sakız			1500
Süsleme ve kaplama maddeleri (krep şurupları, milkşeyk ve dondurma için aromalandırılmış şuruplar ve benzeri ürünler)	1000		
% 60 veya daha fazla yağ içeren yağ emülsiyonları (tereyağı hariç)	1000		
% 60 dan az yağ içeren yağ emülsiyonları	2000		
% 60 veya daha fazla yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar	1000	500	1000
% 60'dan az yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar	2000	1000	2000

Tablo 2.6. (devam 2) Gıdalarda şartlı olarak izin verilen koruyucu maddeler, mg/kg (Anonim,2008)

Emülsifiye edilmemiş soslar			1000
Hazır salatalar			1500
Hardal			1000
Çeşni verici maddeler			1000
Sıvı çorba ve et/tavuk/balık suları (konserveler hariç)			500
Aspic	1000	500	
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
Et, balık, kabuklular ve kafadan bacaklıların analogları ile protein bazlı peynirler	2000		
Dulce de membrillo		1000	
Marmelada			1500
Ostkaka	2000		
Pahsa	1000		
Semmelknödelteig	2000		
Peynir ve peynir analogları (sadece yüzey uygulamaları)	QS		
Pişmiş kırmızı pancar		2000	
Su aktivitesi 0,60'dan fazla olan kolajen bazlı kılıflar	QS		
Aromalar			1500
Pişirilmiş kabuklular ve yumuşakçalar		1000	2000
Sıvı formdaki gıda takviyeleri			2000
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- Sa + Ba: Sa ve Ba tek veya birlikte kullanılabilir anlamındadır.

TGK yönetmeliği ikinci bölüme göre fermentasyonu durdurulmamış süt ürünlerinde gıda katkı maddesi kullanımı yasaktır. Ancak bazı fermente ürünlerde fermentasyon esnasında bir miktar benzoik asitte üretilebilir (Sieber ve ark., 1995). İlk defa Nishimito ve ark. (1969) tarafından yapılan çalışmada fermentasyon esnasında laktik asit bakterilerinin sütteki hippürik asiti benzoik asite dönüştürdüğünü kanıtlanmışlardır. Sieber ve ark. (1995), tarafından yapılan araştırma ve analizlerde pek çok çeşit süt ürünü ve peynirlerde doğal olarak benzoik asit olduğu görülmüştür (Tablo 2.7).

Tablo 2.7. Süt ürünlerinde doğal olarak bulunan benzoik asit miktarları (Sieber, 1995)

Ürün	Konsantrasyon Aralığı (mg/kg)
Yoğurt	9-56
Meyveli Yoğurt	5-39
Ekşi Krema	10-18
Ayran	10-19
Cottage Peyniri	2-18
Peynir	0-200
Olgunlaşmamış Peynir	0-41
Olgunlaşmış Peynir	0-622

Amerika Birleşik Devletleri'nde sorbatlar yağ asidi gibi metabolize edildiği için GRAS bir bileşik olarak ele alınmaktadır. WHO sorbatlar için günlük kabul edilebilir alım miktarını 25 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir (Davidson ve ark., 2005). Benzoik asit ve tuzları için önerilen günlük alım miktarı 0-5 mg/kg vücut ağırlığıdır (Pollard, 1990).

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal ve Kimyasallar

3.1.1. Materyal

Bu çalışmada araştırma materyalini Türkiye piyasasında satışa sunulan gıda ürünleri (salça, yoğurt, meyve suyu, çikolata, toz çorba, cips) oluşturmuştur. Farklı firmalara ait 23 adet salça, 21 adet yoğurt, 23 adet meyve suyu, 20 adet çikolata, 11 adet hazır çorba ve 11 adet cipten oluşan toplam 108 adet gıda ürünü benzoik ve sorbik asit varlığının tespiti için analiz edilmiştir. Çikolatalar farklı markalara ait dolgunsuz, sade ya da bitter olarak tercih edilmiştir. 20 adet çikolatadan 15 tanesi sütlü, 5 tanesi bitter çikolatadır. Farklı çorba markalarında çalışılmış ancak çorba çeşidi önemslenmemiştir. Toplam 11 adet çorbadan 5'i kremalı mantar çorbası, 3 tanesi işkembe çorbası, 3 tanesi de mercimek çorbasıdır. Çorbaların ambalajlarında koruyucu katkı maddesi içermez ibaresi bulunmaktadır. Yine farklı markalara ait meyve suları seçilmiş ancak bütün markalarda aynı meyve suyu çeşidi çalışılmamıştır. Meyve sularından 8 tanesi kayısı suyu, 9 tanesi vişne suyu, 3 tanesi portakal suyu, 2 tanesi üzüm suyu, 1 tanesi nar suyudur. Salçalardan 3 tanesi biber salçası, 20 tanesi domates salçasıdır. Salçalardan 2 tanesinin işleme yöntemi güneşte kurutma olup, ambalajında geleneksel salça ibaresi bulunmaktadır. Ele alınan gıda ürünlerinin üretim tarihleri ve kullanım süreleri ile ilgili bilgiler tablo 3.1-3.5'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Analiz edilen salçaların kullanım süreleri

SALÇA	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
1 ^d	-	03.07.2014

Tablo 3.1. (devam) Analiz edilen salçaların kullanım süreleri

SALÇA	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
2 ^d	30.07.2010	30.07.2012
3 ^d	25.07.2010	25.07.2012
4 ^d	19.08.2009	19.08.2011
5 ^d	08.2009	08.2012
6 ^d	-	09.2013
7 ^d	11.08.2009	11.08.2013
8 ^b	20.08.2009	20.08.2011
9 ^b	-	08.2013
10 ^b	15.08.2009	15.08.2012
11 ^d	05.09.2009	05.09.2011
12 ^d	10.08.2009	10.08.2012
13 ^d	23.08.2009	23.08.2011
14 ^d	22.08.2008	22.08.2011
15 ^d	03.09.2009	03.09.2012
16 ^d	08.08.2009	08.08.2011
17 ^d	09.08.2009	09.08.2012
18 ^d	-	15.08.2013
19 ^d	-	08.2012
20 ^d	-	
21 ^d	07.2010	07.2012
22 ^d	-	08.2011
23 ^d	-	01.09.2012

Not: b = Biber salçası, d = Domates salçası

Tablo 3.2. Analiz edilen yoğurtların kullanım süreleri

YOĞURT	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
1	-	08.08.2010
2	-	08.20.2010
3	-	09.09.2010
4	-	10.09.2010

Tablo 3.2. (devam) Analiz edilen yoğurtların kullanım süreleri

YOĞURT	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
5	29.08.2010	20.09.2010
6	25.08.2010	15.09.2010
7	-	12.08.2010
8	-	15.08.2010
9	-	23.08.2010
10	-	20.08.2010
11	-	20.08.2010
12	13.08.2010	03.09.2010
13	15.08.2010	05.09.2010
14	-	03.09.2010
15	-	22.08.2010
16	-	21.08.2010
17	10.08.2010	31.08.2010
18	05.08.2010	26.08.2010
19	-	26.08.2010
20	-	23.08.2010
21	-	27.08.2010

Tablo 3.3. Analiz edilen meyve sularının kullanım süreleri

MEYVE SUYU	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
1 ^k	-	12.09.2012
2 ^k	-	08.04.2012
3 ^k	-	23.07.2011
4 ^k	06.08.2010	06.08.2011
5 ^k	04.08.2010	04.08.2012
6 ^k	24.08.2010	24.02.2012
7 ^k	-	24.08.2012
8 ^k	15.08.2010	15.08.2011
9 ^v	-	08.09.2011
10 ^v	-	23.09.2011
11 ^v	-	20.08.2012

Tablo 3.3. (devam) Analiz edilen meyve sularının kullanım süreleri

MEYVE SUYU	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
12 ^v	17.07.2010	17.01.2012
13 ^v	15.05.2010	15.05.2011
14 ^v	-	06.08.2011
15 ^v	13.06.2010	13.06.2011
16 ^v	07.07.2010	07.07.2011
17 ^v	-	05.08.2011
18 ^p	-	09.07.2011
19 ^p	13.07.2010	13.10.2011
20 ^p	-	12.09.2011
21 ^ü	10.07.2010	10.07.2011
22 ^ü	10.02.2010	10.02.2011
23 ⁿ	13.07.2010	13.07.2011

Not: k = Kayısı suyu, v = Vişne suyu, p = Portakal suyu, ü = Üzüm Suyu, n = Nar suyu

Tablo 3.4. Analiz edilen çikolataların kullanım süreleri

ÇİKOLATA	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
1 ^s	-	19.08.2011
2 ^s	05.08.2010	07.03.2011
3 ^s	12.08.2010	08.06.2011
4 ^s	07.2010	07.2011
5 ^s	-	12.04.2011
6 ^s	16.07.2010	16.07.2011
7 ^s	-	04.2011
8 ^s	-	02.2011
9 ^s	-	05.03.2011
10 ^s	-	04.05.2011
11 ^s	-	25.12.2010
12 ^s	-	23.02.2011
13 ^s	13.02.2010	13.05.2011
14 ^s	10.12.2009	10.12.2010

Tablo 3.4. (devam) Analiz edilen çikolataların kullanım süreleri

IKOLATA	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
15 ^s	-	03.2011
16 ^b	-	05.2012
17 ^b	-	13.12.2010
18 ^b	-	04.11
19 ^b	11.03.2010	11.03.2011
20 ^b	08.03.2010	08.03.2011

Not: s = Sütlü ikolata, b = Bitter ikolata

Tablo 3.5. Analiz edilen toz çorbaların kullanım süreleri

TOZ ÇORBA	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
1 ^m	20.08.2010	20.08.2011
2 ^m	-	08.2012
3 ^m	-	08.2011
4 ^k	-	06.2011
5 ^k	07.2010	07.2012
6 ^k	-	07.2011
7 ^k	-	05.2012
8 ^k	-	04.2011
9 ⁱ	-	05.2011
10 ⁱ	-	23.06.2011
11 ⁱ	-	08.2012

Not: m = Mercimek orbası, k = Kremalı mantar orbası, i = İşkembe orbası

Tablo 3.6. Analiz edilen cipslerin kullanım süreleri

İPS	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
1 ^p	08.07.2010	08.11.2010
2 ^p	04.09.2010	04.01.2010
3 ^f	27.08.2010	27.12.2010
4 ^m	14.07.2010	14.01.2011

Tablo 3.6. (devam) Analiz edilen cipslerin kullanım süreleri

CİPS	ÜRETİM TARİHİ	SON KULLANIM TARİHİ
5 ^p	25.08.2010	24.11.2011
6 ^m	13.07.2010	13.01.2011
7 ^m	10.09.2010	10.03.2011
8 ^m	12.08.2010	12.12.2010
9 ^p	19.06.2010	19.12.2010
10 ^p	25.07.2010	25.11.2010
11 ^m	20.05.2010	20.11.2010

Not: p = Patetes cipsi, m = Mısır cipsi, f = Fıstıklı cips

3.1.2. Kullanılan alet ve ekipman

- Ultrasonik Banyo, Bandalin Sonorex
- Hassas Terazî, Sartorius
- HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi), Agilent 1100 Serisi
- UV-DAD dedektör, Agilent
- Pompa, pH metre, Sartorius ultra saf su cihazı
- HPLC C18 Kolon, ACE 5 µm, 4,6 x 250 mm
- 0,45 µm filtre, Sartorius
- Vial, Agilent, 2 ml
- Genel laboratuvar araç ve gereçleri.

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Analiz sırasında, aşağıda belirtilen analitik saflıktaki kimyasallar ve ultra saf su kullanılmıştır;

- Benzoik Asit (Dr. Ehrenstorfer GmbH; C₇H₆O₂; Saflık: % 99)
- Sorbik Asit (Dr. Ehrenstorfer GmbH; C₆H₈O₂; Saflık: %99,5)
- Metanol (Merck) Hplc saflıkta
- Asetik Asit (Merck; CH₃COOH; d: 1,05; Saflık: %99-100)
- Sodyum Hidroksit (Merck; NaOH; M: 40 g/mol; Saflık : %98-100,5)

- f) Su: Distile veya deiyonize, $\geq 18 \Omega\text{-cm}$.
- g) 5 M'lık NaOH Çözeltisi: 20 g NaOH 100 ml' lik balon jøjeye tartılır. Üzerine 70 ml distile su yavaşça eklenir. Ultrasonik su banyosunda çözündürülür. 100 ml ye distile su ile tamamlanır.
- h) Asetat Buffer: 5,7 ml asetik asit yaklaşık 900 ml su ile seyreltilir. 5 M'lık NaOH ile pH 4,74'e ayarlanır. Su ile litreye tamamlandıktan sonra süzme düzeneği ile 45 μm ' lik filtreden süzülür.
- i) Mobil Faz: Metanol (MeOH) + Asetat Buffer (35+65)

3.2. Yöntem

Koruyucuların analitik olarak tespit edilmesi sadece kalite güvencesi amacıyla değil aynı zamanda tüketici ilgisi ve korunması amacıyla da önemlidir. Benzoik asit ve sorbik asitin ya da parabenlerin tespiti için TLC (ince tabaka kromatografisi), kapılar elektroferesiz, ve gaz kromatografisi gibi diğer analitik metodlar raporlanmışsa da çoğunlukla kullanılan ortak analitik metod ters fazlı HPLC'dir (Saad ve ark., 2005).

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi bütün analitik ayırma teknikleri arasında, bir milyara yakın yıllık satışıyla, en yaygın kullanılanıdır. Yöntemin bu kadar yaygın olmasının sebepleri, duyarlılığı, doğru kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan türlerin veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen türlerin ayrılmasına uygun olması ve hepsinden de önemlisi sanayinin, birçok bilim dalının ve halkın birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliğidir. Bu gibi maddelere örnek olarak; amino asitler, proteinler, nükleik asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar, terpenoidler, pestisitler, antibiyotikler, steroidler, metal-organik türler ve çeşitli inorganik bileşikler sayılabilir (Skoog ve ark., 1998).

Bu çalışmada benzoik asit ve sorbik asit varlığının belirlenmesinde HPLC cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.1). Örnek hazırlama için, Nordic Committee on Food Analysis, Benzoic Acid, Sorbic Acid and p-Hydroxybenzoic Acid Esters, Liquid Chromatographic Determination in Foods yöntemi kullanılmıştır (Anonim, 1997).



Şekil 3.1. HPLC cihazı

3.2.1. Kromatografik koşullar

Benzoik asit ve sorbik asitin kromatografik ayrımı için C18 kolon (Agilent, 250 mm uzunluğunda, 4,6 mm dış çapında, 5 µm partiküllü silika içeren) kullanılmıştır. Mobil faz olarak asetat tampon (pH=4.74) ve metanol karışımı (65/35) kullanılmıştır. Analiz öncesi kolondan 1 ml/dk akış hızıyla yaklaşık 40 dk mobil faz (%35 Metanol - %65 Asetat Buffer) geçirilerek kolon şartlandırılmıştır. Kromatografik ayırım boyunca mobil faz akış hızı 1 ml/dk olarak çalışılmıştır. Benzoik asit ve sorbik asit için 250 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.

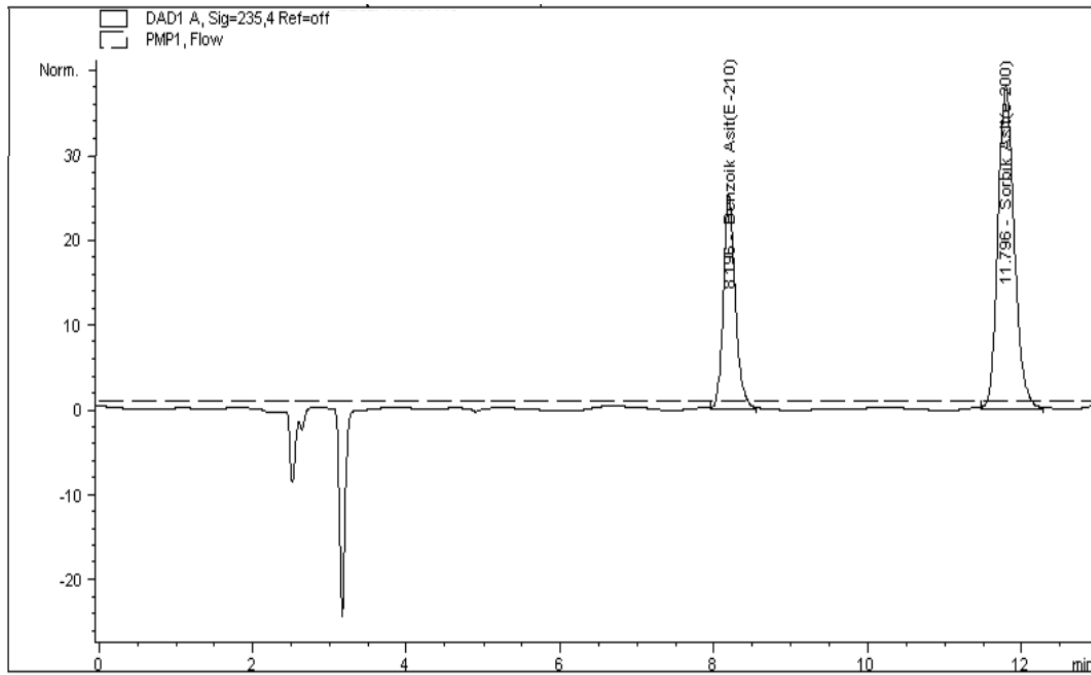
3.2.2. Örneklerin ekstraksiyonu

Cips ve çikolatalar öğütücüde öğütülerek, diğer ürünlerde iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. 100 ml'lik balon jöjeye sıvı olanlarından 5 mL ve katı olanlarında 5 gram alınmış ve üzerine 50 ml kadar metanol/su (35/65) karışımı ilave edilmiştir. Numune ultrasonik su banyosunda çözündürülmüştür. Daha sonra metanol/su karışımı ile 100 mL'lik balon jöje çizgisine tamamlanmıştır. Örnekler önce kaba filtre kâğıdından süzölmüş ve daha sonra 0,45 µm.'lik ince filtre

kâğıdından geçirilmiştir. Süzüntü HPLC vialine alınıp HPLC cihazında 20 µl enjeksiyon ile çalışılmıştır (Anonim 1997b).

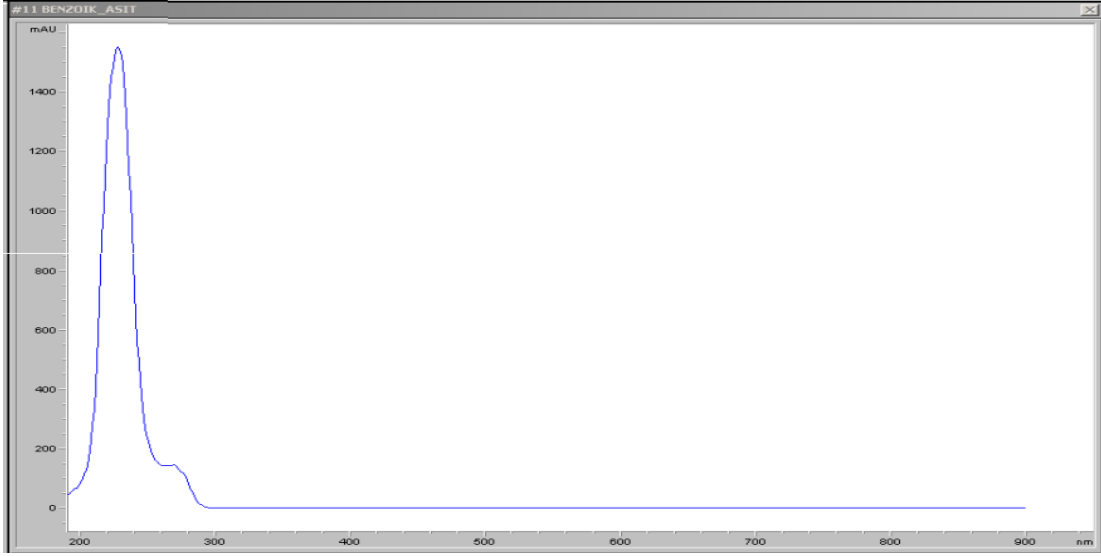
3.2.3. Diode-Array dedektör ile kantitasyon

Benzoik asit ve sorbik asitin varlığı diode array dedektör ile tayin edilmiştir. Bu amaçla her iki standarttan 100'er mg alınarak, metanol/su (35/65) karışımında çözülerek standart stok çözelti (1000 mg/L) hazırlanmıştır. Stok çözeltilerden seyreltme usulüyle 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 8,196 dakika, sorbik asit için 11,796 dakika olarak belirlenmiştir (Şekil 3.2).

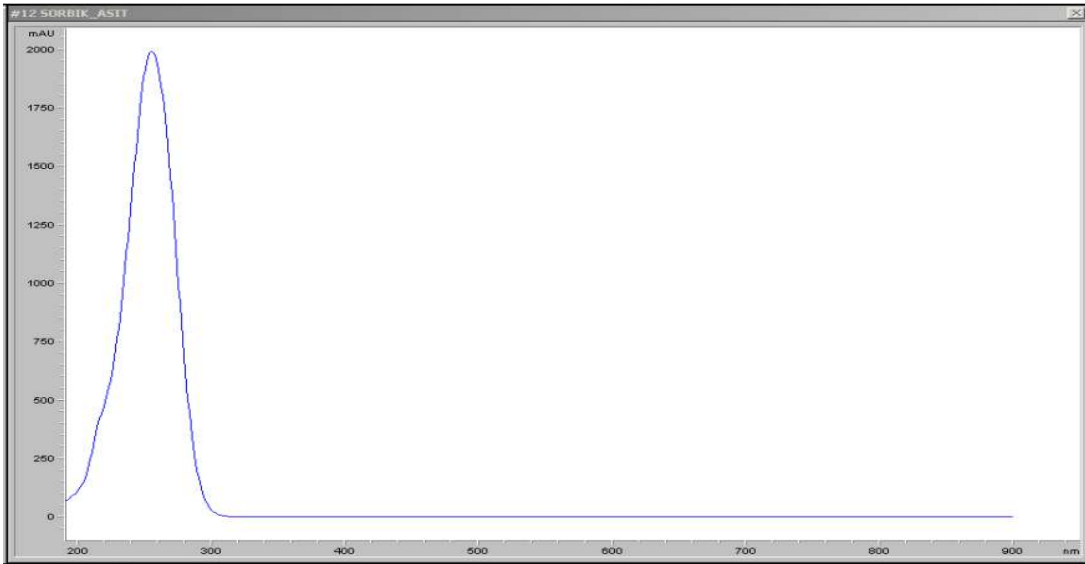


Şekil 3.2. Benzoik asit ve sorbik asite ait HPLC kromatogramı

Her iki bileşene ait ayırım gerçekleştirildikten sonra standartlara ait spektrum taraması yapılmıştır. Benzoik asite ait spektrum Şekil 3.3'de ve sorbik asite ait spektrum Şekil 3.4'de verilmiştir.

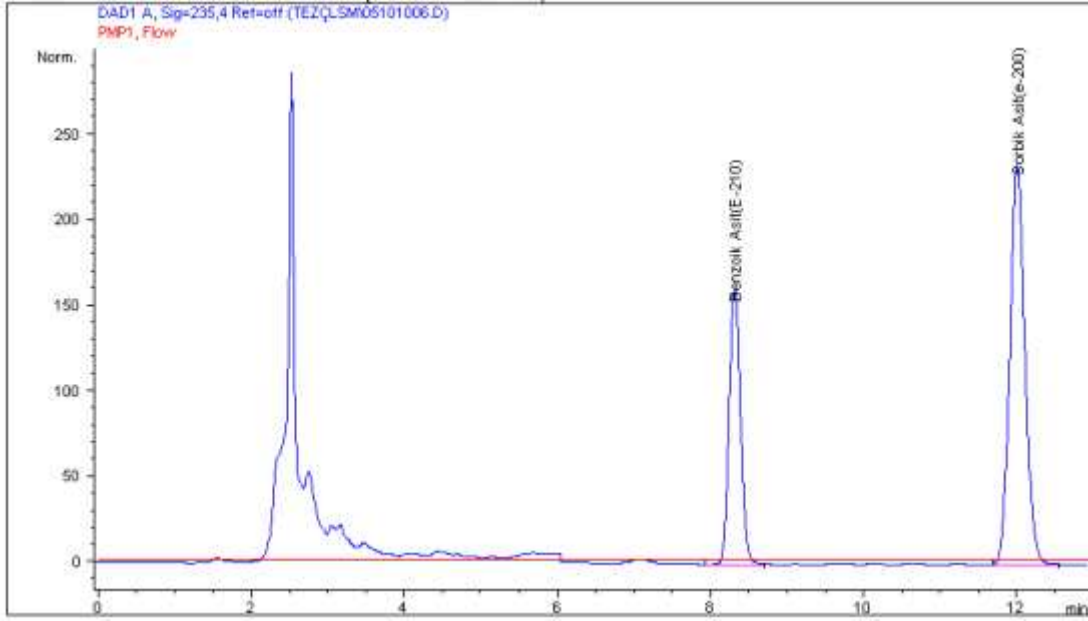


Şekil 3.3. Benzoik asite ait spektrum



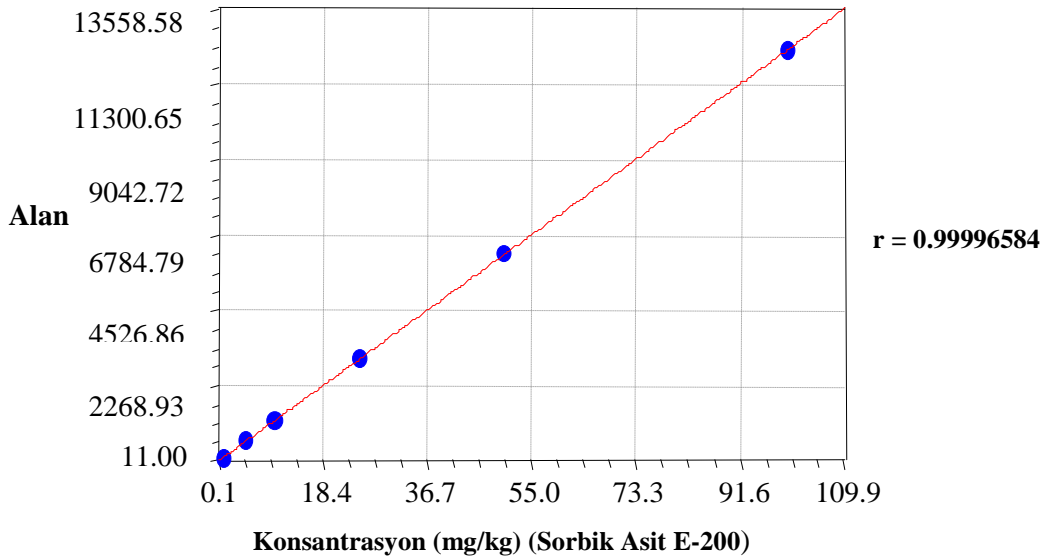
Şekil 3.4. Sorbik asite ait spektrum

UV spektrumları kaydedildikten sonra örneklerin enjeksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bu bileşenlerin geliş zamanları ve spektrumları standartlar ile karşılaştırılmıştır. Pik saflıkları mevcut spektrumları ile kontrol edilmiş, böylelikle benzoik asit ve sorbik asitin identifikasyonu gerek spektrumları gerekse geliş zamanları ile teyit edilmiştir (Şekil 3.5).

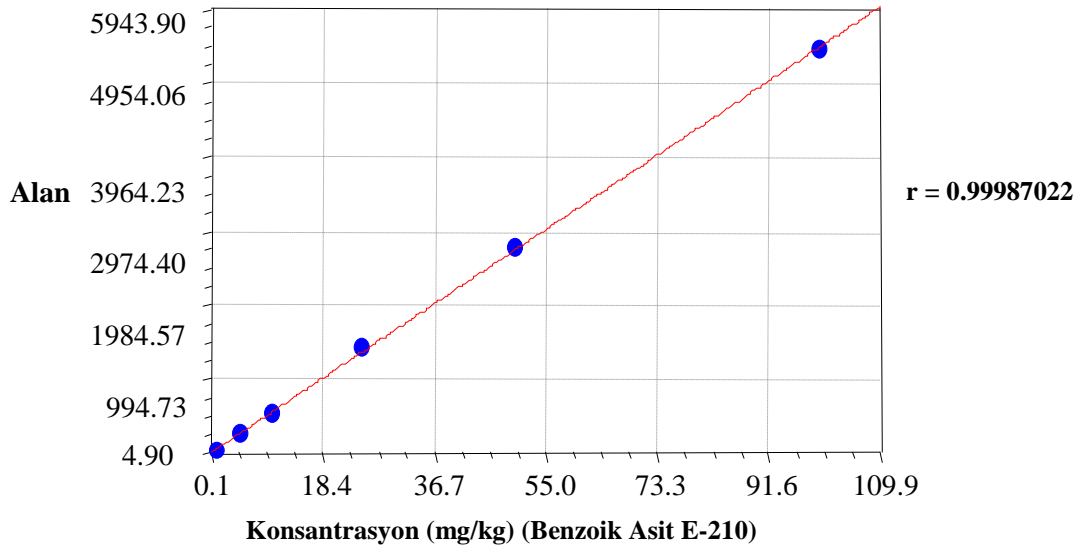


Şekil 3.5. Gıda örneğine ait HPLC kromatogramı

1, 5, 10, 25, 50, 100 mg/L'lik standart kalibrasyon çözeltileri ile Eksternal Standard metot kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizdirilmiştir. Sorbik asite ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.6'da gösterilmektedir. Benzoik asite ait kalibrasyon eğrisi ise Şekil 3.7'de gösterilmektedir. Buna göre benzoik asit ve sorbik asite ait r değerleri sırasıyla 0.9999 ve 0.9998 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.6. Sorbik asite ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.7. Benzoik asite ait kalibrasyon eğrisi

Sorbik asit ve benzoik asite ait dedeksiyon limitleri sırasıyla 0,017-0,025 mg/kg bulunurken kantitasyon limiti 0,058-0,086 mg/kg olarak belirlenmiştir (Tablo 3.7). Her iki koruyucuya ait geri alma değerleri % 94,00-97,28 arasında saptanmıştır.

Tablo 3.7. Benzoik asit ve sorbik asite ait LOD, LOQ ve geri alma değerleri

Koruyucu Madde	Dedeksiyon (Tayin) Limiti (LOD), mg/kg	Kantitasyon (Tespit) Limiti (LOQ), mg/kg	Geri Alma (%)
Sorbik Asit	0,017	0,058	97,28
Benzoik Asit	0,025	0,086	94,00

3.2.3.1. Sonuçların ifade edilmesi

Kalibrasyon sonuçları cihaza işlenmiş. Cihaz kalibrasyon eğrisine göre örneklerin çözelti içindeki konsantrasyonlarını tespit edip sonuç vermiştir. Seyreltme oranı ve örnek miktarı da dikkate alınarak hesaplama işlemi yapılmıştır. İşlem sırasında söz konusu belirsizlik kaynakları Şekil 3.8'de görülmektedir.

Aşağıdaki formül kullanılarak örnekteki koruyucu madde miktarı hesaplanır:

$$A = B \times V/m \times 1/R$$

Burada;

A= Örnekteki koruyucu maddenin konsantrasyonu (mg/kg ya da ml/L),

B = Cihazın okuduğu koruyucu madde miktarı (mg/kg),

V = Seyreltme Hacmi (ml)

m = Örnek miktarı (g veya ml)' dir.

R = Geri alma oranı

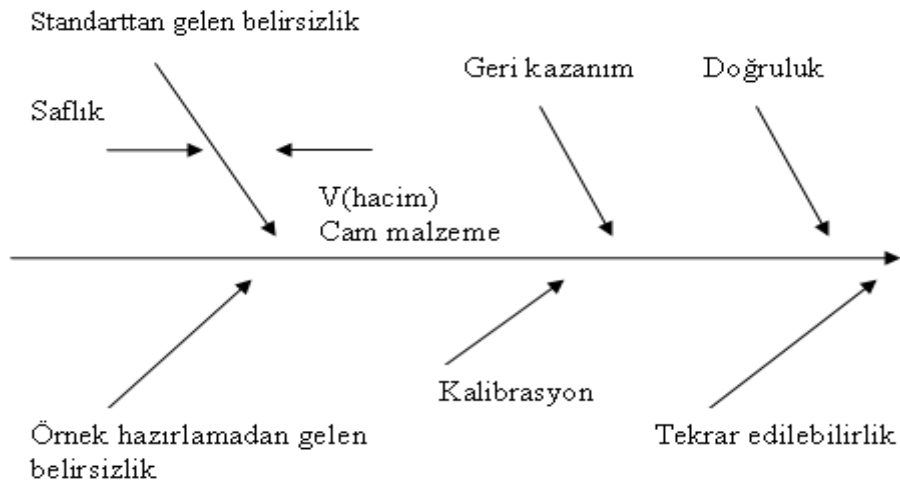
Bulunan sonuç geri alma oranıyla çarpılıp gerçek değer bulunur. Belirsizlik kaynaklarından gelen ölçme belirsizliği de sonuca etki ettiği miktar gösterilerek ifade edilir. Buna göre sonuç aşağıdaki gibi ifade edilir;

$$A \pm A * X$$

A = Test örneğindeki aranılan koruyucu maddenin konsantrasyonu (mg/kg)

X = Ölçme belirsizliği katsayısı

Ölçme belirsizliği değeri sorbik asit ve benzoik asit için sırasıyla X = 0,05421; X = 0,0897 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.8. Belirsizlik kaynakları

BÖLÜM 4. SONUÇLAR

4.1. Salça Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi analiz edilen 23 adet salça örneğinden 3’ünde sorbik asit ve 6’sında benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Sorbik asit miktarı 0,00-526,40 mg/kg arasında değişirken benzoik asit miktarı 0,00-1933,56 mg/kg arasında değişmiştir. Benzoik ve sorbik asit varlığı tespit edilen salçalardan 1’i biber salçası, 5’i domates salçasıdır. 3 salça örneğinde hem benzoik hem de sorbik asite rastlanırken, 3 salça örneğinde ise sadece benzoik asit varlığı tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği’ne göre salçalarda sorbik asit ve benzoik asit kullanılması yasaktır (Anonim, 2008).

Tablo 4.1. Salça örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları

Örnek	Sorbik Asit $A \pm A * X$	Minimum	Maksimum	Benzoik Asit $A \pm A * X$	Minimum	Maksimum
1 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
2 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
3 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
4 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	1774,40±159,16	1615,23	1933,56
5 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
6 ^d	248,40 ± 13,46	234,93	261,86	203,14 ± 18,22	184,91	221,36
7 ^d	499,34± 27,06	472,27	526,40	569,37±51,07	518,29	620,44
8 ^b	18,05±0,97	17,07	19,02	21,70± 1,94	19,75	23,64
9 ^b	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
10 ^b	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
11 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
12 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
13 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
14 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	858,20± 76,98	781,21	935,18

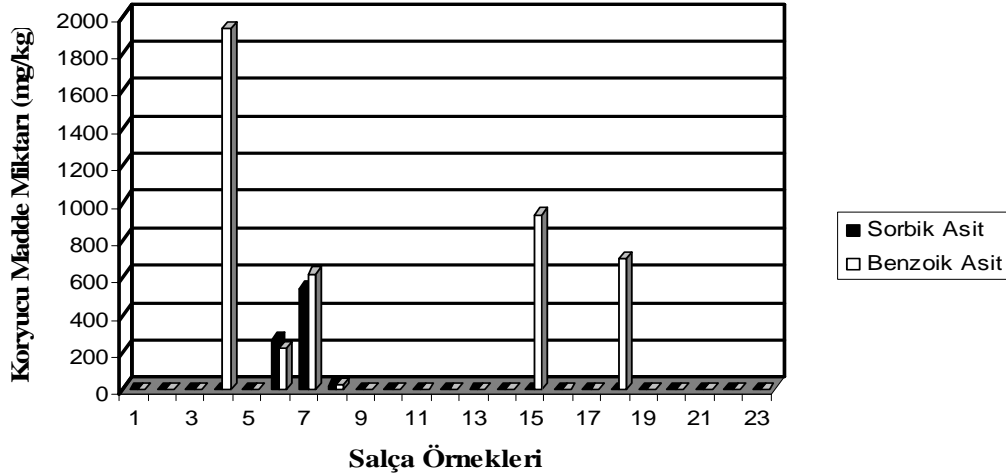
Tablo 4.1. (devam) Salça örneklerinde tespit edilen sorbik asit miktarları

Örnek	Sorbik Asit $A \pm A * X$	Minimum	Maksimum	Benzoik Asit $A \pm A * X$	Minimum	Maksimum
15 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
16 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
17 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
18 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	645,00±57,85	587,14	702,85
19 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
20 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
21 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
22 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
23 ^d	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00

Not: A = Test örneğindeki aranan koruyucu maddenin konsantrasyonu (mg/kg)

X = Ölçme belirsizliği katsayısı, ^d = Domates salçası, ^b = Biber salçası

Salça örneklerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının grafik üzerinde gösterimi Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Salça örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları

4.2. Yoğurt Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi analiz edilen 21 adet yoğurt örneğinden 2’sinde 112,80 mg/kg ve 137,67 mg/kg sorbik asit varlığı tespit edilmiştir. Yoğurt örneklerinin 1

tanesi hariç hepsinde benzoik asit bulunmuştur. Benzoik asit miktarı 0,00- 174,22 mg/kg arasında değişim göstermektedir.

Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği'ne göre yoğurtlarda sorbik asit ve benzoik asit kullanılması yasaktır (Anonim, 2008). Yine Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin 2. bölümüne göre aromalandırılmamış ve fermentasyonu durdurulmamış süt ürünlerinde gıda katkı maddesi kullanımına izin verilmez. Ancak yoğurt ve fermente süt ürünlerinde fermentasyon esnasında 50 mg/kg'a kadar benzoik asit oluşabilir (Sieber ve ark., 1994).

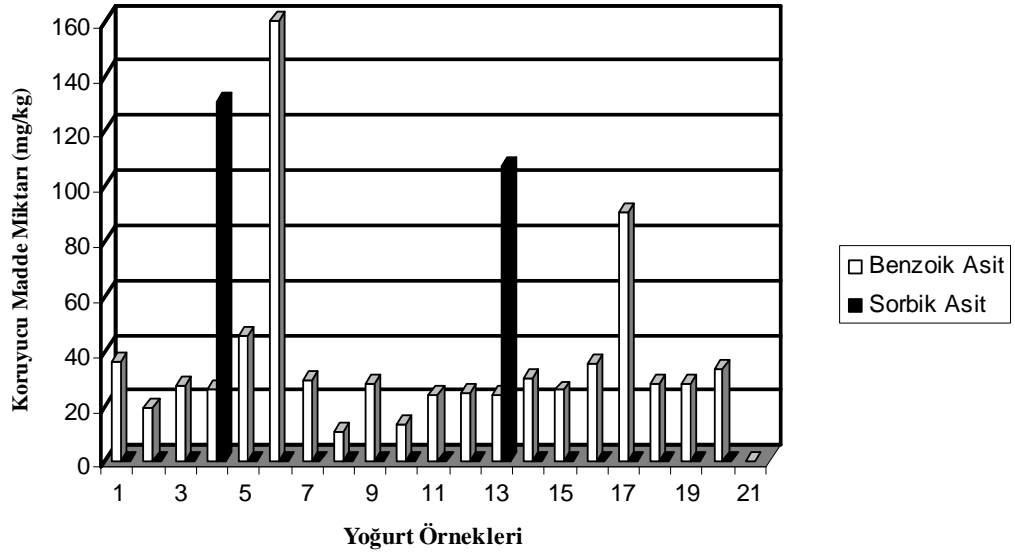
Tablo 4.2. Yoğurt örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları

Örnek	Sorbik Asit $A \pm A * X$	Minimum	Maksimum	Benzoik Asit $A \pm A * X$	Minimum	Maksimum
1	0,00±0,00	0,00	0,00	35,95±3,22	32,72	39,17
2	0,00±0,00	0,00	0,00	19,46±1,74	17,71	21,20
3	0,00±0,00	0,00	0,00	27,34±2,45	24,88	29,79
4	130,60±7,07	123,52	137,67	25,86±2,31	23,54	28,17
5	0,00±0,00	0,00	0,00	45,38±4,07	41,30	49,45
6	0,00±0,00	0,00	0,00	159,88 ± 14,34	145,53	174,22
7	0,00±0,00	0,00	0,00	29,70± 2,66	27,035	32,36
8	0,00±0,00	0,00	0,00	10,49±2,52	9,54	11,43
9	0,00±0,00	0,00	0,00	28,10±2,52	25,57	30,62
10	0,00±0,00	0,00	0,00	13,21±1,18	12,03	14,40
11	0,00±0,00	0,00	0,00	24,33±2,18	22,14	26,51
12	0,00±0,00	0,00	0,00	24,86±2,22	22,63	27,08
13	107,00±5,80	101,19	112,80	24,20±2,17	22,02	26,37
14	0,00±0,00	0,00	0,00	29,94±2,68	27,25	32,62
15	0,00±0,00	0,00	0,00	25,69±2,30	23,38	27,99
16	0,00±0,00	0,00	0,00	35,20±3,15	32,04	38,35
17	0,00±0,00	0,00	0,00	90,60±8,12	82,47	98,72
18	0,00±0,00	0,00	0,00	27,92±2,50	25,41	30,42
19	0,00±0,00	0,00	0,00	27,90±2,50	25,39	30,40
20	0,00±0,00	0,00	0,00	33,20±2,97	30,22	36,17

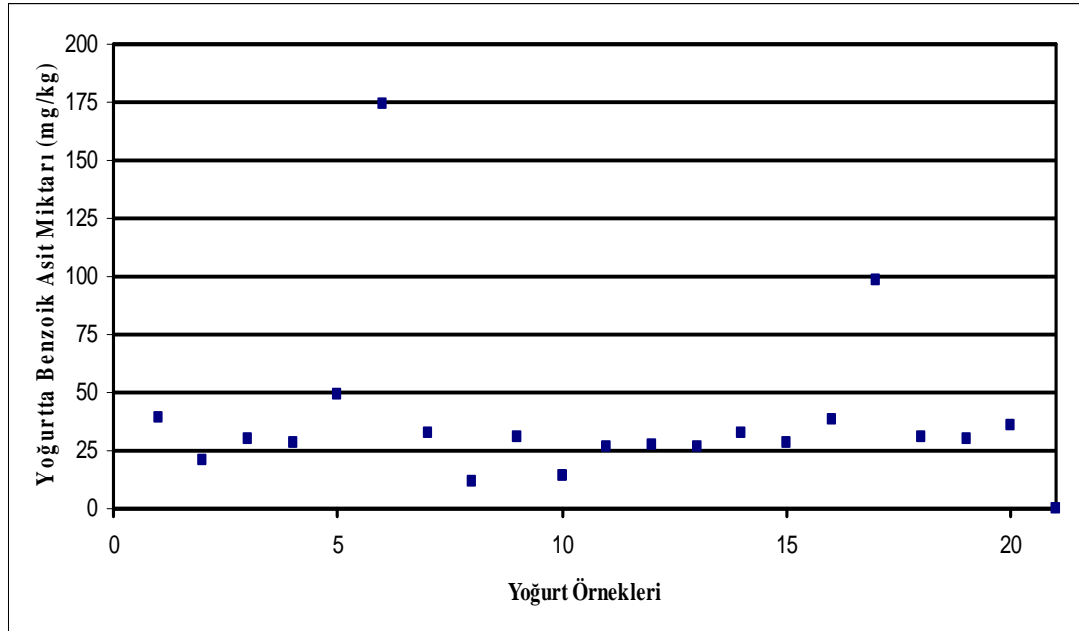
Not: A = Test örneğindeki aranan koruyucu maddenin konsantrasyonu (mg/kg)

X = Ölçme belirsizliği katsayısı

Yoğurt örneklerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının grafik üzerinde gösterimi Şekil 4.2’de verilmiştir. Yoğurt örneklerinde benzoik asit dağılımı Şekil 4.3’te gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Yoğurt örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları

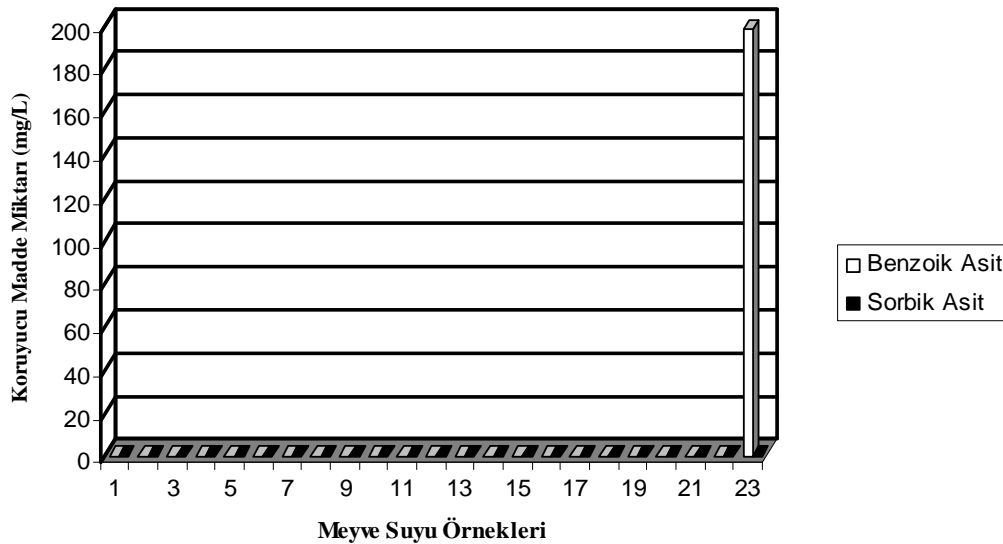


Şekil 4.3. Yoğurt örneklerinde benzoik asit dağılım grafiği

4.3. Meyve Suyu Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları

Şekil 4.4’de meyve suyu örneklerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarları grafiğinde görüldüğü gibi analiz edilen 23 adet meyve suyu örneğinden sadece birinde 197,67 mg/kg benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Meyve suyu örneklerinin hiçbirinde sorbik asite rastlanmamıştır. Benzoik asit varlığı tespit edilen meyve suyu, nar suyuudur.

Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği’ne göre meyve sularında sorbik asit ve benzoik asit kullanılması yasaktır (Anonim, 2008).

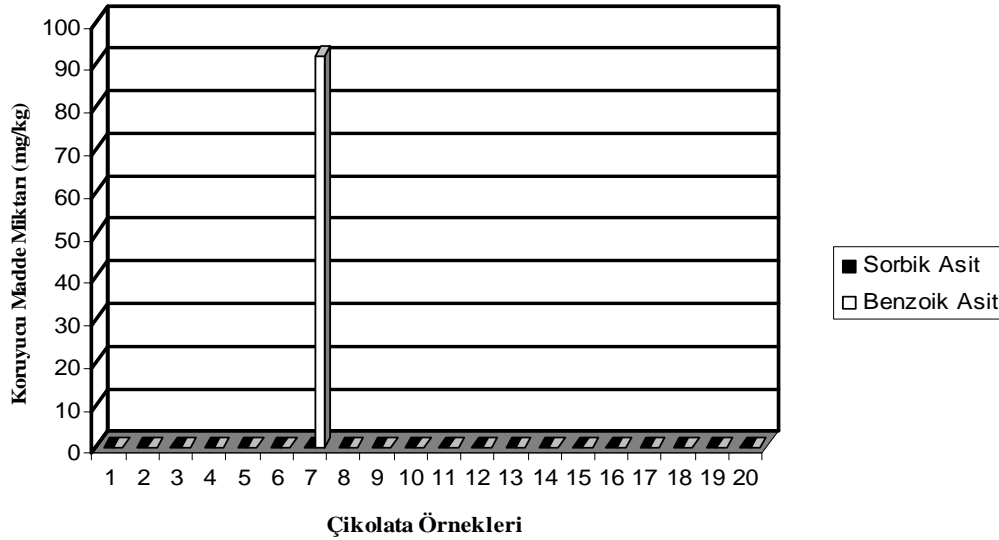


Şekil 4.4. Meyve suyu örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları

4.4. Çikolata Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları

Şekil 4.5’de çikolata örneklerinde sorbik asit ve benzoik asitin miktarları grafiğinde görüldüğü gibi analiz edilen 20 adet çikolata örneğinden sadece birinde (sütlü çikolata) 91,97 mg/kg benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Çikolata örneklerinin hiçbirinde sorbik asite rastlanmamıştır.

Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği'ne göre çikolatalarda sorbik asit ve benzoik asit kullanılması yasaktır (Anonim, 2008).



Şekil 4. 5. Çikolata örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları

4.5. Toz Çorba Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları

Tablo 4.3 ve Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi analiz edilen 11 adet toz çorba örneğinden sadece 3 tanesinde 23,10-66,40 mg/kg arasında değişen miktarlarda benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Benzoik asit varlığı tespit edilen çorbalardan 2'si kremalı mantar ve 1'i ise işkembe çorbasıdır. Toz çorba örneklerinin hiçbirinde sorbik asite rastlanmamıştır. Analizi yapılan çorbaların hepsinin ambalajında koruyucu madde içermez ibaresi yer almaktadır.

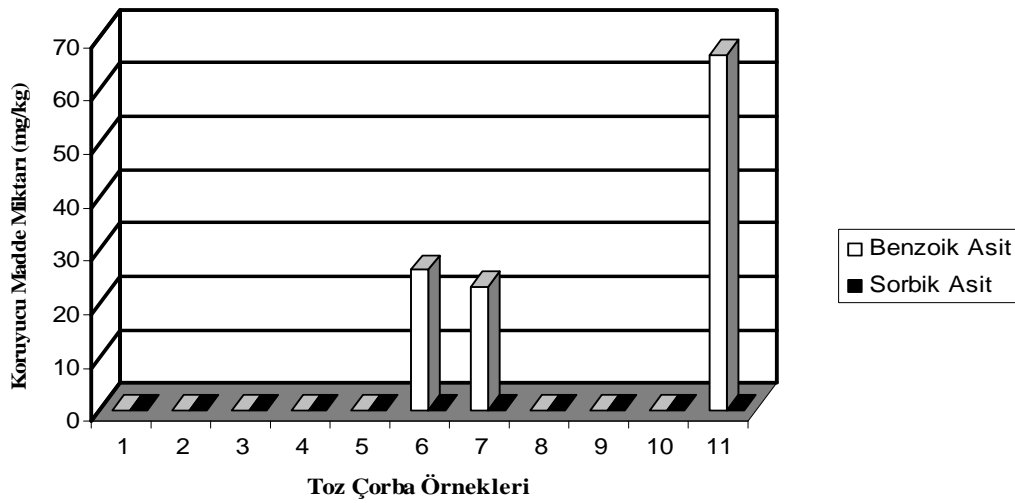
Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği'ne göre toz çorbalarda sorbik asit ve benzoik asit kullanılması yasaktır (Anonim, 2008).

Tablo 4.3. Toz çorba örneklerinde tespit edilen benzoik asit miktarları

Örnek	$A \pm A * X$	Minimum	Maksimum
1 ^m	0,00±0,00	0,00	0,00
2 ^m	0,00±0,00	0,00	0,00
3 ^m	0,00±0,00	0,00	0,00
4 ^k	0,00±0,00	0,00	0,00
5 ^k	0,00±0,00	0,00	0,00
6 ^k	24,06±2,15	21,90	26,21
7 ^k	21,20±1,90	19,29	23,10
8 ^k	0,00±0,00	0,00	0,00
9 ⁱ	0,00±0,00	0,00	0,00
10 ⁱ	0,00±0,00	0,00	0,00
11 ⁱ	60,94±5,46	55,47	66,40

Not: A = Test örneğindeki aranılan koruyucu maddenin konsantrasyonu (mg/kg)

X = Ölçme belirsizliği katsayısı, m = Mercimek çorbası, k = Kremalı mantar çorbası, i = İşkembe çorbası



Şekil 4.6. Toz çorba örneklerinde tespit edilen sorbik asit ve benzoik asit miktarları

4.6. Cips Örneklerinde Sorbik Asit ve Benzoik Asit Miktarları

Ambalajlarında katkısız ibaresi yer alan 11 adet cips örneği analiz edilmiş ve hiçbirinde sorbik asit ve benzoik asit varlığı tespit edilememiştir. Analizi yapılan cipslerin tamamının ambalajında koruyucu madde içermez ibaresi yer almaktadır.

Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği'ne göre cipslerde sorbik asit ve benzoik asit kullanılması yasaktır (Anonim, 2008).

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Günümüzde pek çok gıda ürününde sorbik asit ve benzoik asit koruyucu madde olarak kullanılmaktadır. Düşük maliyeti, ürünlerle birleşme kolaylığı, renksiz oluşu ve nispeten düşük toksik etki göstermesi gibi özellikler benzoik asidi dünyada en çok kullanılan katkılardan biri haline getirmiştir (Aktan ve ark., 1999). Ancak bu maddenin dar bir pH aralığında etkin olabilmesi ve bazı gıdalarda özellikle meyve sularında istenilmeyen lezzet oluşturması nedeni ile düşük düzeylerde ve sorbatlarla kombinasyon halinde kullanılmasının daha uygun olacağı belirtilmektedir. Sorbik asit ve tuzları ise nötral bir lezzete sahiptir ve benzoatlardan farklı olarak meyve suları ve içeceklerde lezzeti modifiye ederek geliştirdiği belirtilmektedir. Serbest asit formu ve özellikle potasyum tuzu iyi çözülebilirliği, stabilitesi ve işlemdeki kolaylığı nedenleri ile gıda sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Altuğ, 2009). Sorbik asit ve benzoik asit genellikle düşük asitli gıdalarda kullanılmaktadır. Düşük asitli gıdalarda bu iki koruyucunun yerini alabilecek daha etkin ve lezzete etkisi daha az olan koruyucu yoktur. Daha yüksek pH'larda parabenler, propiyonik asit ve tuzları gibi koruyucu maddeler kullanılabilir.

JECFA'ya göre günlük kabul edilebilir alım miktarı sorbik asit ve tuzları için 0-25 mg/kg; benzoik asit ve tuzları için 0-5 mg/kg vücut ağırlığıdır. Gıda katkı maddelerinin istenilen etkiyi oluşturacak teknik miktardan fazla kullanılma gibi amaçlarla gıdaya katılmaları ve katkının yerini tutabilecek veya eşit derecede kabul edilebilir işleme ve ambalajlama teknikleri varlığında kullanılmaları yasal olmayan uygulama biçimleridir (Altuğ, 2009).

Yapılan bu araştırmanın sonuçlarına göre analiz edilen 6 farklı ürün grubundaki toplam 109 gıdadan 5 farklı ürün grubunda sorbik asit veya benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksine göre analizi yapılan gıda ürünlerinde koruyucu madde kullanılması yasaktır (Anonim, 2008). Kodekse göre analiz edilen örneklerin

çoğu yasal sınırlara uygun bulunmuştur. Ancak koruyucu madde kullanımına izin verilmeyen 15 gıdada sorbik asit ya da benzoik asit varlığı tespit edilmiştir.

Ülkemizde koruyucu madde kullanımına izin verilmeyen gıda ürünlerinden biri de meyve sularıdır. Yapılan çalışmada analiz edilen 23 adet meyve suyu örneğinden sadece bir üründe benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Avrupa Parlamentosu Konseyi Direktifleri'ne göre meyve sularında sorbik asit ve benzoik asitin koruyucu madde olarak kullanılması yasaktır (Anonim, 1995c). Codex Alimentarius gıda katkı maddeleri için genel standartlarında; meyve suyu ve nektarları standardı (Anonim, 2005) düzenlemesine göre ve GSFA 2010 düzenlemesi 14.1.2.1.'e göre meyve sularında sorbik asit ve benzoik asit kullanımına 1000 mg/kg'a kadar izin vermektedir. Ancak ülkemizdeki gıda katkı maddeleri ile ilgili düzenlemeler Avrupa Birliğine uyumludur. Türkiye'de 1980'li yıllardan bu yana meyve sularında koruyucu madde kullanılmasına izin verilmemektedir (Ekşi, 2006). Uygulanan koruma teknolojisi koruyucu kullanılmasını gerektirmemektedir. Meyve sularının uzun ömürlü olmasını sağlayan; mikroorganizmaların ısı etkisiyle yok edilmesi ve mikroorganizma bulaşmasının ambalajlama ile engellenmesidir.

Meyve sularının pH değerleri çoğunlukla 3-4 arasındadır. Tamponlama güçleri de yüksektir. Bakterilerin büyük çoğunluğu nötral veya hafif alkali ortamda gelişebildiklerinden, meyve sularında düşük pH'da gelişen az sayıdaki bakteri sorun yaratmaktadır (Cemeroğlu ve Acar, 1986). Küf mantarları ve mayalar ise aside karşı dayanıklıdır. Bazı maya türlerinin ortamdaki pH değeri 1,5'in altında olsa dahi geliştikleri bilinmektedir. Fakat eğer ortamın şeker konsantrasyonu yüksek ise aside tolerans azalmakta, pH 3'te mikroorganizma gelişmesi engellenebilmektedir. Meyve suları fiziksel ve kimyasal yapıları gereği mikroorganizmalar için uygun bir gelişme ortamı değildir. Bu nedenle meyve sularında mikroorganizmalar önemli bozulmalara neden olmazlar.

Yüksek düzeyde askorbik asit içeren meyve sularında benzoik asit kullanımının sakıncalı olduğu rapor edilmiştir (Gardner ve Lawrence, 1993). 1990'ların başında yapılan araştırma sonucunda belirli koşullar altında içeceklerdeki askorbik asitin sodyum ya da potasyum benzoatla birleşmesinden tespit edilebilir düzeylerde benzen

oluşabildiği belirlenmiştir. Aynı zamanda, Gardner ve Lawrence (1993) geçiş metalleri, demir(III) ve bakır(II) varlığında, sodyum benzoat ve askorbik asitin sulu çözeltilerinde çok düşük seviyelerde (<1 ppb) benzen tespit edilebildiğini göstermiştir. Tespit edilen düzeylerinin çok düşük olmasına rağmen araştırmacılar gıdalarda ve içeceklerde askorbik asit ve sodyum benzoat birleşmesinin çok dikkatli değerlendirilmesi gerektiğini belirtmektedirler. Benzen araştırması için birkaç gıda ve meyve aromalı alkolsüz içecek McNeal ve ark. (1993) tarafından analiz edildiğinde benzer sonuçlar raporlanmıştır.

Pek çok ülkede sağlığa zararlı olmadığı için izin verilen koruyucuların listesinin, yiyecek ve içecek ambalajlarının üzerinde bulunması zorunludur. Meyve suyu içeceklerinde benzoik ve sorbik asitin sodyum ve potasyum tuzları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte pek çok ülkede saf meyve sularında artık koruyucu madde kullanılmasına izin verilmemektedir. Buna rağmen etiketlerinde “meyveli içecek” ibaresi yer alan aseptik ambalaja sahip olmayan ürünlerde kimyasal koruyuculara izin verilmektedir. Bazı ülkeler konsantre içeceklerde seyreltme sonucu izin verilen oranları aşmayacak şekilde yüksek seviyelerde koruyucu madde kullanılmasına izin verilir (Ashurst, 2007).

Benzoik ve sorbik asitin insan sağlığına etkilerinin yanı sıra meyve sularının tadına etkisi meyve sularında yasaklanmasının nedenlerinden bir tanesidir. Asitli içeceklerde, benzoik ve sorbik asit istenmeyen bir tat oluşturduğu gözlenmiştir (Ashurst, 2007). Ancak uygun olmayan ısıl işlemler ya da uygun olmayan ambalajlama ve depolama gibi yetersizlikleri olan işletmeler yasal olmasa da sorbik ve benzoik asit kullanımı yoluna gitmektedirler.

Meyve suları ve alkolsüz içeceklerde sorbat ve benzoatların varlığı üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Petkovic ve ark. (2009) tarafından Sırbistan’da 853 alkolsüz içecek üzerinde yapılan bir çalışmada, kullanılan koruyucu madde miktarlarının sağlık açısından güvenli olup olmadığı araştırılmış. Sodyum benzoat ve potasyum sorbat kullanım miktarları yönünden içeceklerin % 8,8’i sağlık açısından güvenilir bulunmamıştır. Lino ve Pena (2010) tarafından Portekiz’deki alkolsüz içecekler ve nektarlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 11’i geleneksel alkolsüz içecek, 8’i

mineralli olmak üzere 19 alkolsüz içecekte sırasıyla ortalama 158 mg/L ve 148 mg/L konsantrasyonda benzoik asit tespit edilmiştir. 7'si geleneksel ve 8'i mineralli olmak üzere 15 alkolsüz içecekte sırasıyla ortalama 172 mg/L ve 188 mg/L sorbik asit tespit edilmiştir. Saf meyve suları dışındaki alkolsüz içeceklerde sorbik asit ve benzoik asit kullanımına izin verilmektedir. Buna rağmen yapılan iki çalışmada görüldüğü gibi izin verilen limitlerin üzerine çıkan örnekler tespit edilmiştir. Bu iki çalışmayla karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda 23 meyve suyu örneğinden sadece bir tanesinde izin verilmeyen miktarda (197,67 mg/kg) benzoik asit tespit edilmiştir.

Benzoik ve sorbik asit kullanımının yasak olduğu bir başka ürün de salçadır. Analiz edilen salça örneklerinden 1'i biber salçası diğerleri domates salçası olmak üzere 6 salçada sorbik veya benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Ambalajlanmış salçaların pH'sı 3,5-4,7 arasında değişmektedir. Düşük pH mikroorganizmaların gelişmesinin engeller, bununla birlikte pastörizasyon sıcaklığında da çoğu mikroorganizmanın inhibe olmasını sağlar. Evaporasyon sonucu zaten su aktivitesi azalmış olan salçanın yüksek asitliği mikroorganizma gelişimini engeller. Böylelikle kutulanmış salçanın raf ömrü uzar (Pawsey, 2002). Ayrıca koruyucu madde kullanımına gerek yoktur. Yemeklerde sıkça kullanılan salçalarda sorbik asit ve benzoik asitin kullanılmaması, bu koruyucuların sağlığa zararlı etkilerinden uzak durmamızı sağlar. Bununla birlikte kötü hammadde seçimi, yetersiz ısı işlemler ve sorunlu ambalajlama nedeniyle yasak olmasına rağmen üreticiler salça üretiminde koruyucu madde kullanabilmektedirler.

Yapılan bu çalışmada sorbik ve benzoik asit varlığı tespit edilen 5 domates salçasından 2'sinin ambalajında geleneksel yolla, güneşte kurutma yöntemiyle, üretildiği ibaresi yer aldığı görülmüştür. Bu iki salçada da koruyucu varlığı tespit edilmiştir. Güneşte kurutulan salçalara genellikle pastörizasyon işlemi uygulanmamaktadır. Tüketiciler tarafından aslında doğal yollarla üretilen katkısız salça kullanıldığı düşünülürken, yeterince kurtulmamış ve su aktivitesi azalmamış salçanın mikroorganizma yükünü azaltmak için üreticiler tarafından sorbik asit eklenebilmektedir. Üstelik güneşte kurutma yöntemiyle açıkta kurutulan salçalar mikroorganizmalar tarafından bulaşmaya daha açık olabilir. Çalışmada kullanılan 3

biber salçasından sadece 1'inde koruyucu madde kullanımı tespit edilmiştir. Koruyucu madde kullanımının salçanın türüne göre değişmediği gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada analiz edilen hazır toz çorbalardan 3'ünde benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Hazır toz çorba karışımlarının kimyasal ve mikrobiyolojik kararlılığı; doldurma, paketlenme ve nem geçirmez ambalajlardaki depolanmaları esnasında % 7'nin altındaki nem içeriklerini ($a_w=0,1-0,35$ karşılık gelen) korumalarına bağlıdır. Çok düşük su aktivitelerine, düşük pH'ya yüksek tuz konsantrasyonuna sahip hazır toz çorbalardaki mikroorganizma sayısındaki artışa sadece işleme ortamından bulaşma neden olur (Roberts ve ark., 2005). Bu nedenle imalat koşulları iyi olan hazır toz çorbalarda sorbik asit ve benzoik asit gibi koruyucuların kullanılması gereksizdir.

Bu araştırmada yoğurt örnekleri üzerine yapılan incelemelerde ise biri hariç tüm örneklerde benzoik asit bulunmuştur. Ancak 2 üründeki benzoik asit miktarı kodekse aykırı bulunmuştur. Sütteki hippürik asitten benzoik asit oluşumu sonucu, yoğurtlar doğal seviyelerde benzoik asit içerebilirler (Stijve ve Hischenhuber, 1984; Teuber, 1995). Yoğurt, meyveli yoğurt, bifidobakterli ekşi süt ve kefir gibi kültürlü ya da fermente süt ürünleri genellikle 20 mg/kg civarında olmak üzere ortalama 50 mg/kg'a kadar benzoik asit içerirler (Sieber ve ark., 1994). Ancak bu çalışmada 21 yoğurt örneğinden bir tanesinde benzoik asit varlığı tespit edilememiştir. Bu durum bu örneğin fermantasyon koşullarıyla üretilmediğinin yani yoğurt dışında bir madde olabileceğinin kanıtı olabilir. Ya da fermantasyon sonucu oluşan benzoik asit miktarının çalışmanın yapıldığı HPLC cihazının tespit düzeyinin altında olduğunu gösterebilir.

Yoğurtlarda mikrobiyolojik bozulmanın nedeni düşük pH değerlerinde gelişebilen küf ve mayalardır. Bu sorun genellikle meyveli yoğurt yapımında kullanılan meyvelerin steril ve yeterli şeker içeriğinde olmamaları durumunda ortaya çıkabilmektedir. Antimikrobiyal maddenin yoğurda direkt olarak ilavesi yerine kullanılan meyvelerde mikrobiyal gelişmenin önlenmiş olması tercih edilmektedir (Altuğ, 2009). Yine de yoğurt gibi fermente süt ürünlerinde, fermantasyon sonrası

kötü ambalajlama ve depolama koşullarının olumsuzluklarını örtmek amacıyla yasal olmasa da koruyucu madde kullanılabilir.

Bizim çalışmamıza benzer olarak Küçükçetin ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada Türkiye’de ticari olarak mevcut olan süt ürünlerinin sodyum benzoat, potasyum sorbat, nitrat ve nitrit içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Süzme yoğurt örneklerinin % 74’ünün, kaşar peyniri örneklerinin % 70’inin, tulum peyniri örneklerinin % 85’inin ve ayran örneklerinin % 80’inin sodyum benzoat içerdiği görülmüştür. Bu çalışmada ise süt ürünü olarak sadece normal yoğurt kullanılmıştır. Süzme yoğurt örnekleri ile çalışmadaki yoğurt örnekleri karşılaştırıldığında süzme yoğurttan farklı olarak normal yoğurtların hepsinde benzoik asite rastlanmıştır. Sadece örneklerin % 9,8’i benzoik asit ve sorbik asit açısından kodekse uygun bulunmamıştır.

Yapılan bu çalışmada bir çikolata örneğinde 91,97 mg/kg benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Benzoik asit ve tuzları üzerine yapılan bazı çalışmalarda benzoik asit içeren gıdaların çocuklarda hiperaktiviteye neden olabildiği kanıtlanmıştır (Egger ve ark., 1985; McCann ve ark., 2007). Yine yapılan bazı çalışmalarda sorbik asit ve benzoik asitin insanlarda ürtiker ve kaşıntı gibi hafif aşırı reaksiyonlara sebep olduğu bilinmektedir (Walker, 1990; Parke ve Lewis, 1992). Çikolata ve cips gibi ürünler özellikle çocuklar tarafından tercih edilen gıda ürünleridir. Yapılan çalışmalarda piyasadaki cipslerin su aktivitesi 0,09-0,27 arasında bulunurken, çikolatalarda su aktivitesi 0,42-0,60 arasında değişmektedir (Barbosa ve ark., 2007). Çikolatanın düşük su aktivitesine sahip olması, dışarıdan bulaşan mikroorganizmaların gelişmesine izin vermez (Anonim, 1980). Yine cipsler düşük su aktiviteleri ile mikroorganizma gelişimine uygun olmayan gıdalardır. Bu nedenle doğru ambalaj materyali kullanımı ve uygun depolama koşulları ile benzoik asit ve sorbik asit gibi koruyuculara gerek kalmaz. Böylelikle çocuklarda bu koruyucu maddelerin etkilerinden uzak tutulabilir.

Pek çok çalışmada farklı gıdalardaki sorbik ve benzoik asitin varlığı araştırılmıştır. Yentür ve ark. (1990) tarafından yapılan bir çalışmada, Ankara piyasasından sağlanan sos, ketçap, mayonez, reçel, eritme peyniri ve meyve suyu örneklerinde

sorbik asit ve benzoik asit aranmıştır. Analizi yapılan sos, ketçap, mayonez ve eritme peynirlerinde sırasıyla ortalama sorbik asit miktarı 0,475, 0,470, 0,258 ve 0,299 g/kg olarak tespit edilmiştir. Diğer taraftan reçel, ketçap ve meyve suyu örneklerinde sırasıyla ortalama benzoik asit miktarı 0,516, 0,479 ve 0,405 g/kg olarak saptanmıştır. Sonuç olarak incelenen gıdalarda 10 farklı markaya ait meyve suyu hariç tespit edilen miktarlar izin verilen yasal sınırlar içinde bulunmuştur. 1990 yılında yapılan bu çalışmada meyve sularının hepsinde yasal olmamasına rağmen yüksek miktarda benzoik asit bulunmuş. Yirmi yıl sonra 2010 yılında yaptığımız bu çalışmada ise 23 farklı firmaya ait meyve sularından sadece bir tanesinde benzoik asit varlığı tespit edilmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında meyve sularında benzoik asit kullanımının azaldığı görülmektedir.

Yapılan bu araştırma sonucunda, etiketlerinde belirtilmemesi ve kullanımına izin verilmemesine rağmen gıdalarda yine de koruyucu madde varlığı tespit edilmiştir. Bu durumun üstesinden gelenebilmesi için öncelikle gıda denetimlerinin sıklaştırılması çok önemlidir. Ancak gıda denetimleri sıklaştırılırken üreticiler de gıda üretiminde kullandıkları katkı maddelerinin halk sağlığı üzerindeki etkileri konusunda eğitilmelidir.

Üreticiler otokontrolle ürettikleri gıdanın kalitesini, üretim aşamalarında ve satışa sunmadan önce kontrol etmeye önem vermelidir. Bunu kavrayan üreticiler kaliteli ve sağlıklı üretim yaparak hem halk sağlığına hizmet edecekler, hem de rekabette öncelik kazanacaklardır. Yapılan bu çalışmada sorbik asit ve benzoik asit kullanımı ile firma büyüklükleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde genellikle kodekse aykırı ürünlerin küçük firmalara ait olduğu ortaya çıkmıştır. Yine üreticiler dışında tüketiciler de gıda katkı maddeleri konusunda bilinçlendirilmelidir. Gıda sanayisi için tüketici istekleri son derece önemlidir. Bilinçli tüketici, doğru gıda katkı maddesi kullanımı konusunda, hem üreticiyi hem de devleti etkin kontrol yapma konusunda daha duyarlı hâle getirecektir.

Çoğu gıda katkı maddesinde olduğu gibi sorbik asit ve benzoik asit için de vücuda alınan miktarlarının değerlendirilmesi ve tüketici sağlığı açısından yarattığı

sonuçların belirlenmesi için tüketiciler, sanayici, üniversite ve ilgili kuruluşlar birlikte hareket ederek kapsamlı gıda kontrolünün ve kalitesinin izlenmesi sağlanmalıdır.

Yapılan çalışmalarda benzoik asit ve sorbik asidin canlılarda sağlık açısından yan etkileri olduğunun görülmesi kullanımlarını sınırlandırmaktadır (Anonim, 1996a). Bu nedenle gıdaların güvenliği için sorbik asit ve benzoik asidin varlığının tespitinde doğru ve güvenilir metotlar yaygın olarak kullanılmalıdır. Koruyucu maddelerin belirlenmesi ve ölçülmesi için tekrarlanabilir, hassas ve çok özel analiz tekniklerinin geliştirilmesi ve uygulamaların yaygınlaştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

AKTAN, N., KALKAN, H., YÜCEL, U., Turşu Teknolojisi, Ege Üniv. Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları, Ege Üniv. Basımevi, İZMİR, 26-34, 1999.

ALPÖZEN, E., Sorbik Asit ve Gıdalarda Kullanımı, Ordu'da Gıda Güvenliği Dergisi, 28-30, 2007.

ALTUĞ, T., Gıda Katkı Maddeleri, Sidaş Medya Ltd. Şti., 4-7, 108-109, 112-114, İzmir, 2009.

ANGİŞ, S., OĞUZHAN, P., Su Ürünlerinde Kullanılan Katkı Maddeleri, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, 603-606, 21-23 Mayıs, 2008.

ANONİM, Sorbic Acid and Its Calcium, Potassium And Sodium Salts, Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1974.

ANONİM, Sugar, Cocoa, Chocolate, and Confectioneries, ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications on Food), In Microbial Ecology of Foods, Food Commodities, New York: Academic Press, 2, 778-821, 1980.

ANONİM, Report of the Scientific Committee for food on the sensitivity of individuals to food components and food additives, Commission of the European Communities Reports of the Scientific Committee for Food (Twelfth Series), Brussels, (EUR 7823), 1981.

ANONİM, Codex General Standard For Food Additives, Codex Stan 192, 1995a.

ANONİM, Summary of Adverse Reactions Attributed to Aspartame Health Hazard Evaluation Board, FDA, Chief Epidemiology Branch Technical Information Specialist, 1995b.

ANONİM, European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on Food Additives Other Than Colours and Sweeteners, 23, 1995c.

ANONİM, 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), 1996a.

ANONİM, European Commission, Food Science and Techniques, Reports of Scientific Committee for Food (thirty-fifty series), 1996b.

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

ANONİM, Nordic Committee on Food Analysis. No: 124, Second Edition, 7, 1997b.

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

ANONİM, The Prevention of Food Adulteration Act & Rules (as on 1.10.2004), 2004.

ANONİM, Codex General Standard For Fruit Juices And Nectars, Codex Stan 247-2005, 2005.

ANONİM, Sixty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2007.

ANONİM, Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği, Türk Gıda Kodeksi (2008/22), 2008.

ANONİM, Food And Drug Administration Department of Health and Human Services, Subchapter B-Food For Human Consumption, 21CFR101.22, 2, 2010.

ARICAN, Ö., KUTLUK, R., Ürtikerde Etyopatogenez, Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, XVI (1), 46-52, 2005.

ARYA, S.S., THAKUR, B.R., Degradation Products of Sorbic Acid in Aqueous, Food Chemistry, 29, 41-49, 1988.

ASHURST, P.R., Fruit Juices, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 14, 2007.

ASHMAWY, M.M., IBRAHIM, J., Influence Of Potassium Sorbate On The Growth Of Yeasts And Moulds İn Yogurt, Society of Dairy Technology, 62, 224-227, 2009.

BAIRD-PARKER, A. C., Organic acids. In Microbial Ecology of Foods, Silliker, J. H., Ed., Academic Press, New York, 1, 126, 1980.

BARBOSA-CANOVAS, G.V., FONTANA, A.J., SCHMİDT, S.J., LABUZA, T.P., Water Activity in Foods, Blackwell Publishing, First Edition, 2007.

BARBOSA-CANOVAS, G.V., FERNANDEZ-MOLINA, J.J., ALZAMORA, S.M., TAPIA, M.S., LOPEZ-MALO, A., CHANES, J.W., General Considerations for Preservation of Fruits and Vegetables. In: Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas, Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003.

BOGOVSKI, P., BOGOVSKI, S., Animalspecies in Which N-Nitroso Compounds Induce Cancer. Intl J Cancer, 27, 471-474, 1981.

BOYLSTON, T.D., WANG, H, REITMEIER, C. A., GLATZ, B.A., Effects of Processing Treatment and Sorbate Addition on the Flavor Characteristics of Apple Cider, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1924-1931, 2003.

BRANCACCIO, R.R., ALVAREZ, M.M., Contact Allergy To Food, *Dermatologic Therapy*, 17, 302–313, 2004.

BRISMAN, J., MEDING, B., JÄRVHOLM, B., Occurrence of Self Reported Hand Eczema in Swedish Bakers, *Occup Environ Med*, 55, 750–754, 1998.

BRUL, S., COOTE, P., Preservative Agents in Foods. Mode of Action and Microbial Resistance Mechanisms, *Int. J. Food Microbiol.*, 50,1, 1999.

CARRADORI, S., PELUSO, A.M., FACCIOLO, M., Systemic Contact Dermatitis Due to Parabens, *Contact Dermatitis*, 22, 238-239, 1990.

CEMEROĞLU, B., ACAR, J., Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, *Gıda Teknolojisi Derneği*, Ankara, 79-87, 1986.

ÇAKMAKÇI, S., ÇELİK, İ., Gıda Katkı Maddeleri, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 1, 12-15, 55, 2000.

ÇALIŞIR, Z.E., ÇALIŞKAN, D., Gıda Katkı Maddeleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 32 (3), 207-206, 2003.

DAVIDSON, P.M., SALMINEN, S., BRANEN, L.A., *Food Additives*, CRC Press, 2-45, 2001.

DAVIDSON, M.P., SOFOS, J.N., BRANEN, A.L., *Antimicrobials in Food*, CRC Press, 2-73, 2005.

ÇALIŞIR, Z.E., ÇALIŞKAN, D., Gıda Katkı Maddeleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 32 (3), 207-206, 2003.

DİNÇOĞLU, A., Sorbik Asit Ve Tuzlarının Süt ve Süt Ürünlerinde Kullanımı, *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 77-83, 2005.

DONG, C., MELI, 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*, 1117, 109–114, 2006.

EDU, F. V., GACEU, L., Romania Food Additives And Consumer Information, *Proceeding of the International Conference BIOATLAS*, 2010.

EGGER, J., CARTER, C.M., GRAHAM, P.J., GUMLEY, D., SOOTHILL, J.F., Controlled Trial Of Oligoantigenic Treatment In The Hyperkinetic Syndrome. *The Lancet*, 540-545, March 9, 1985.

EKİCİ, H., YİPEL, M., PORTAKAL, P., YARSAN, E. Gıda Katkı Maddelerinin Toksikolojik Yönden İncelenmesi, Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi, 8(1-2), 60-66, 2008.

EKŞİ, A., Meyveli Ağaca Atılan Taşlar, Meyve Suyu Endüstrisi Derneği Bülteni, 4, 1, 2006.

ERKMEN, O., Gıda Kaynaklı Tehlikeler ve Güvenli Gıda Üretimi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 53, 220-235, 2010.

GARDNER, L.K., LAWRENCE, G.D., Benzene Production From Decarboxylation Of Benzoic Acid In The Presence Of Ascorbic Acid And A Transition-Metal Catalyst. J Agric Food Chem ,41,693-5, 1993.

GARRIGA, M.M., BERKEBILE, C., METCALFE, D.D., A Combined Single-Blind, Double-Blind, Placebo-Controlled Study To Determine The Reproducibility Of Hypersensitivity Reactions To Aspartame, Journal of Allergy and Clinical Immunology, 87, 4, 821-827, 1991.

GOMIS, D.B., HPLC Analysis Of Organic Acids, Food Analysis by HPLC, In: L.M.L. Nollet (Ed.), New York: Marcel Dekker, 371-385, 1992.

GÖKALP, H., KAYA, M., ZORBA, Ö., Et Ürünleri İşleme Mühendisliği, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 102, 2002.

HEWALA, I. I. Stability-indicating HPLC Assay For Paracetamol, Guaiphenesin, Sodium Benzoate and Oxomezanine in Cough Syrup. Anal. Lett., 27, 71-93, 1994.

HUSSAIN, I., ZEB, A., AYUB, M., Quality Attributes of Apple and Apricot Blend Juice Preserved with Potassium Sorbate during Storage at Low Temperature, Internet Journal of Food Safety, 12, 80-86, 2010.

KALYONCU, F., Gıda Sanayinde Sıklıkla Kullanılan Antifungal Katkı Maddeleri, e-Journal of New World Sciences Academy, 3, 465-473, 2008.

KARAMAN, M. R., BROHI, A. R., GÜNES, A., INAL, A. ALPASLAN, M., Yöresel Değişik Azotlu Gübre Uygulamalarının Tokat Bölgesinde Yetistirilen Bazı Kışlık Sebzelerin Nitrat Akümülyasyonuna Etkisi, Turk J Agric For 24, 1-9, 2000.

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

KRESNOWATI, M., WINDEN, W., GULIK, W., HEIJNEN, J., Energetic and Metabolic Transient Response Of Saccharomyces Cerevisiae to Benzoic Acid, The FEBS Journal, 275, 5527-5541, 2008.

KÜÇÜKÇETİN, A., ŞIK, B., DEMİR, M., Bazı Ticari Süt Ürünlerindeki Sodyum Benzoat, Potasyum Sorbat, Nitrat Ve Nitritin Belirlenmesi, GIDA, 33 (4), 159-164, 2008.

LACHENMEIER, D.W., REUSCH, H., SPROLL, C., SCHOEBERL, K., KUBALLA, T., Occurrence of Benzene as a Heat-Induced Contaminant of Carrot Juice For Babies in A General Survey Of Beverages, Food Additives and Contaminants, 25, 1216-1224, 2008.

LEISTNER, L., Basic Aspects of Food Preservation By Hurdle Technology, Intl. J. Food Microbiol., 55, 181-186, 2000.

LINO, C.M., PENA, A., Occurrence of Caffeine, Saccharin, Benzoic Acid And Sorbic Acid in Soft Drinks and Nectars in Portugal and Subsequent Exposure Assessment, Food Chemistry, 121, 503-508, 2010.

LIZASO, M.T., MONEO, I., GARCÍA, B.E., ACERO, S., QUIRCE, S., TABAR, A.I., Identification Of Allergens Involved in Occupational Asthma Due To Carmine Dye. Ann. Allergy Asthma Immunol., 84, 549-552, 2000.

MATHISON, D.A., STEVENSON, D.D., SIMON, A.D., Precipitating Factors in Asthma: Sulfites, and Other Drugs and Chemicals, Chest, 87, 50, 1985.

MCCANN, D., BARETT, A., COOPER, A., DALEN, L., 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, Nov. 3, 370, 2007.

MCNEAL, T. P., NYMAN, P. J., DIACHENKO, W. G., HOLLIFIELD, H. C., Survey of Benzene in Foods by Using Headspace Concentration Techniques and Capillary Gas Chromatography. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int., 76-1213, 1993.

MOTA, F., FERREIRA, I., CUNHA, S., BEATRIZ, M., OLIVEIRA, P., Optimisation Of Extraction Procedures For Analysis Of Benzoic And Sorbic Acids in Foodstuffs, Food Chemistry, 82, 467-473, 2003.

NETTIS, E., COLANARDI, M.C., FERRANNINI, A., TURSI, A., Sodium Benzoate-Induced Repeated Episodes of Acute Urticaria/Angio-Oedema: Randomized Controlled Trial, Br J Dermatol, 151(4), 898-902, 2004.

NISHIMOTO, T., UYETA, M., TAUAE, S., Precursor of Benzoic Acid in Fermented Milk, J. Food. Hyg. Soc. Japan, 10, 410-413, 1969.

OTERO-LOSADA, M.E., Differential Changes in Taste Perception Induced by Benzoic Acid Prickling, Physiology & Behavior, 78, 415-425, 2003.

ÖKSÜZTEPE, G., İLHAK, O., DİKİCİ, A., ÇALICIOĞLU, M., PATIR, B., Effect of Potassium Sorbate on Some Microbiological Properties of Cokelek Stored at Different Temperatures, Kafkas Üniv. Vet. Fak. Dergisi, 16, 99-105, 2010.

ÖZTÜRK, M., BESLER, T., Besin Alerjileri, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 20, Ankara, 2008.

PARKE, D.V., LEWIS, D.F., Safety aspects of food preservatives, Food Additives and Contaminants, 9(5):561-577 ,1992.

PAWSEY, R.K., Case Studies in Food Microbiology for Food Safety and Quality, The Royal Society of Chemistry, 155-162, 2002.

PETKOVIĆ V., NOVAKOVIC B., RUDIĆ-GRUJIC V., Health Safety Of Non-Alcoholic Drinks In Reference To Use Of Preservatives, HealthMED, 3, 442-447, 2009.

POLLARD, J. A., Legislative Aspects, In Food Preservatives, Russell, N. J. and Gould, G. W., Eds., Van Nostrand Reinhold, New York, 235, 1990.

PRAPHAILONG, W., FLEET, G.H., The Effect of pH, Sodium Chloride, Sucrose, Sorbate, and Benzoate on The Growth of Spoilage Yeasts, Food Microbiology, 14, 459, 1997.

PYLYPIW, H.M., GREYER, M.T., Rapid High-Performance Liquid Chromatography Method For The Analysis Of Sodium Benzoate And Potassium Sorbate in Foods, Journal of Chromatography A, 883, 299-304, 2000.

RANGAN, C., BARCELOUX, D.G., Food Additives and Sensitivities, Disease A Month, 55, 292-311, 2009.

RUSSELL, A. D., Bacterial Spores and Chemical Sporicidal Agents, Clinical Microbiology Reviews, 3, 2, 99-119, 1990.

SAAD, B., BARI, F., SALEH, M.I., AHMAD, 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, 1073, 393-397, 2005.

SALDAMLI, İ. Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 63-68, 1985.

SANTINI, A.O., PEZZA, H.R., FILHO, J.C., SEQUINEL, R., PEZZA, L., Potentiometric Sensor For Sorbic Acid Determination in Food Products, Food Chemistry, 115, 1563-1567, 2009.

SARIKAYA, R., SOLAK, K., Benzoik Asit'in *Drosophila melanogaster*' de Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ile Genotoksitesinin Araştırılması, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, Cilt 23, Sayı 3, 19-32, 2003.

SHUBIK, P., Potential Carcinogenicity of Food Additives and Contaminants', Cancer Research 35, 3475-3480, 1975.

SIEBER, R., BUTIKOFER, U., BOSSET, J.O., Benzoic Acid A Natural Compound in Cultered Dairy Products and Cheese, Int. Dairy Journal, 5, 227-246, 1995.

SIMON, A.R., STEVENSON, D.D., Adverse Reactions To Food And Drug Additives, Allergy Principles and Practice, St. Louis: Mosby, 1183-1198, 1998.

SKIRDAL, I. M., EKLUND, T., Microculture Model Studies on The Effect of Sorbic Acid on *Penicillium Chrysogenum*, *Cladosporium Cladosporioides* and *Ulocladium Atrum* at Different pH Levels, *J. Appl. Bacteriol*, 74, 191–195, 1993.

SKOOG, D.A., HOLLER, F.J., NIEMAN, T.A., Principles of Instrumental Analysis, Bilim Yayıncılık, 726, 1998.

SOFOS, J. N., Sorbate Food Preservatives, CRC Press, Boca Raton, FL, 1989.

SOFOS, J. N. Sorbic Acid, Mode of Action, In *Encyclopedia of Microbiology*, Volume 4, Lederberg, J., Ed., Academic Press, Inc., San Diego, CA, 43–52, 1992.

STATHAM, J. A., MCMEEKIN, T. A., The Effect of Potassium Sorbate on The Structural Integrity of *Alteromonas Putrefaciens*, *J. Appl. Bacteriol*, 65, 469–476, 1988.

STIJVE, T., HISCHEGUBER, C., High Performance Liquid Chromatographic Determination of Low Levels of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Yogurts. *Dtsch. Lebensm. Rundscha*, 80-81, 1984.

SUPRAMANIAM, G., WARNER, J.O., Artificial Food Additive Intolerance in Patients With Angio-Oedema and Urticaria, *The Lancet*, 328, 907-909, 1986.

TACKE, J., SCHMIDT, A., FARTASCH, M., Occupational Contact Dermatitis in Bakers, Confectioners and Cooks. A Population-Based Study. *Contact Dermatitis*, 33, 112–7. 1995.

TEUBER, M. The Influence of Fermentation on The Nutritional Quality Of Dairy Products. *Facts and fiction. World Ingre*, Jan./Feb., 43, 1995.

TFOUNI, S.A.V., TOLEDO, M.C.F., Estimates Of The Mean Per Capita Daily Intake of Benzoic And Sorbic Acids in Brazil, *Food Additives and Contaminants*, 19-7, 647-654, 2002.

THERON, M., LUES, J., Organic Acids and Meat Preservation: A Review, *Food Reviews International*, 23, 141-158, 2007.

VINAS, P., PARDO, M., LOPEZ, I., HERNANDEZ, M., Slurry atomisation for the determination of arsenic, cadmium and lead in food colourants using electrothermal atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, 16, 1202–1205, 2001.

WALKER, R., Toxicology Of Sorbic Acid And Sorbates, *Food Addit Contam.*, 7, 671 -676, 1990.

WIBBERTMANN, A., KIELHORN, J., KOENNECKER, G., MANGELSDORF, I., MELBER, C., Benzoic Acid And Sodium Benzoate, Fraunhofer Institute for Toxicology and Aerosol Research, CICAD, 2005.

WINKLER, C., FRICK, B., SCHROECKSNADEL, SCHENNACH, H., FUCHS, D., Food Preservatives Sodium Sulfite And Sorbic Acid Suppress Mitogen-Stimulated Peripheral Blood Mononuclear Cells, Food and Chemical Toxicology, 44, 2033-2007, 2006.

YENTÜR, G., BAYHAN, A., Bazı Gıda Maddelerinde Sorbik Asit Ve Benzoik Asit Miktarlarının Araştırılması, GIDA, 15(2), 79-82, 1990.

YILMAZ, Ö., TÜRKTAŞ, İ., Besin Katkı Madde Reaksiyonları, T Klin J Allerji-Astım, 5, 91-95, 2003.

YURTTAGÜL, M., AYZAZ, A., Katkı Maddeleri: Yanlışlar ve Doğrular, Hacettepe Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 8-19, Ankara, 2008.

ÖZGEÇMİŞ

Ruziye ÇAKIR, 1980 yılında Manisa'da doğdu. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Manisa'da tamamladı. 2004 yılında Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden mezun oldu. Halen Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Kocaeli İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü'nde Gıda Mühendisi olarak çalışmaktadır.