

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

**ALKOLSÜZ DİYET İÇECEKLERDE ASPARTAM MİKTARLARININ
SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEM İLE ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELİF ÇELİK

Tez Danışmanı
Prof.Dr. GÜLDEREN YENTÜR

ANKARA
Ocak 2014

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

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

Tez Savunma Tarihi : 23/01/2014



Prof. Dr. Gülderen YENTÜR
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR
Ankara Üniversitesi



Doç. Dr. Saime KÜÇÜKKÖMÜRLER
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller	IV
Tablolar	V
Resimler	VI
Kısaltmalar	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tatlandırıcılar	5
2.2. Türkiye’de Kullanımına İzin Verilen Tatlandırıcılar ve Tatlılık Şiddetleri	7
2.3. Aspartam	9
2.3.1. Aspartamın Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	9
2.3.2. Aspartamın Üretim Metodu	11
2.3.3. Aspartamın Gıda Sanayinde Kullanım Alanları	11
2.3.4. Aspartamın Diğer Yapay Tatlandırıcılara Göre Avantajları	12
2.3.5. Aspartamın Stabilitesi	13
2.3.6. Aspartamın Metabolizması ve Toksisitesi	15
2.3.7. Fenilalanin Toksisitesi	16
2.3.8. Fenilketonuri	18
2.3.9. Aspartat Toksisitesi	19
2.3.10. Metanol Toksisitesi	20
2.3.11. Diketopiperazin Toksisitesi	22
2.3.12. Aspartamın Toksisitesi ile İlgili Çalışmalar	22
2.3.13. Aspartam ile İlgili Yasal Düzenlemeler	24
2.3.14. Aspartamın Analiz Yöntemleri	27

3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Materyal ve Kimyasallar	29
3.1.1. Materyal	29
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar	29
3.1.3. Kullanılan Alet ve Ekipman	30
3.2. Yöntem	30
3.2.1. Aspartam Tayini	30
3.2.2. Aspartam Standart Eğrisinin Oluşturulması	33
3.2.3. Alkolsüz Diyet İçecek Örneklerinin Analize Hazırlanması ve Yöntemin Uygulanması	34
3.2.4. Aspartam Yönteminin Tekrarlanabilirliği	36
3.2.5. Yöntemin Doğruluğu ve Verimin Hesaplanması	36
3.2.6. İstatistiksel Analizler	37
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ	57
7. ÖZET	58
8. SUMMARY	59
9. KAYNAKLAR	60
10. TEŞEKKÜR	71
11. ÖZGEÇMİŞ	72

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1:	Aspartamın kimyasal yapısı	10
Şekil 2:	Aspartamın sudaki çözünürlüğü	11
Şekil 3:	Sabit sıcaklıkta pH değişimine bağlı olarak aspartamın stabilitesi (25°C)	14
Şekil 4:	Aspartamın metabolizma ürünleri	15
Şekil 5:	Aspartamın absorpsiyonu ve dağılımı	16
Şekil 6:	Aspartam standart eğrisi	33
Şekil 7:	Alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam miktarlarının dağılımı	45
Şekil 8:	Alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam miktarları	46
Şekil 9:	Alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam miktarları	47
Şekil 10:	A,B,C,D,E,F markalı alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam değerlerinin (mg/l) TGK sınır değeri (600 mg/l) ile karşılaştırılması	48

TABLULARIN LİSTESİ

Tablo 1:	Tatlandırıcıların sınıflandırılması	6
Tablo 2:	Çeşitli tatlandırıcıların tatlılık şiddetleri	7
Tablo 3:	Ülkemizde kullanımına izin verilen tatlandırıcılar	8
Tablo 4:	Aspartamın kimyasal özellikleri	10
Tablo 5:	Çeşitli ürünlerdeki metanol içeriği	21
Tablo 6:	Aspartamın kullanımına izin verildiği gıdalar ve kullanılabilir maksimum miktarlar	26
Tablo 7:	Aspartam yönteminin tekrarlanabilirliği	36
Tablo 8:	Standart ilave edilen alkolsüz diyet içecek örneklerine ait aspartam konsantrasyonları ve % verim değerleri	37
Tablo 9:	A ve B markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan aspartam değerleri (mg/l) ve etiket bilgileri	39
Tablo 10:	C ve D markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan aspartam değerleri (mg/l) ve etiket bilgileri	40
Tablo 11:	E ve F markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan aspartam değerleri (mg/l) ve etiket bilgileri	41
Tablo 12:	A, B, C, D, E, F markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerindeki aspartam değerleri (mg/l)	42
Tablo 13:	Aynı firmadan sağlanan farklı markalı (A,B) örneklerdeki aspartam değerlerinin (mg/l) karşılaştırılması	43
Tablo 14:	Aynı firmadan sağlanan farklı markalı (C,D) örneklerdeki aspartam değerlerinin (mg/l) karşılaştırılması	43
Tablo 15:	Farklı markalara ait (A,B,C,D) örneklerdeki aspartam değerlerinin (mg/l) karşılaştırılması	44
Tablo 16:	Farklı markalara ait (A,B,C,D,E,F) örneklerdeki aspartam değerlerinin (mg/l) TKG sınır değeri (600 mg/l) ile karşılaştırılması	44

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim 1:	Aspartamın ninhidrin reaktifi ile oluşturduğu mavi renk	31
Resim 2:	Aspartam tayini için spektrofotometrede 585 nm. dalga boyunda absorbands ölçümü	32
Resim 3:	Deney tüplerinin santrifüj işlemi	34
Resim 4:	Santrifüj sonrası fazların ayrılması	35
Resim 5:	Örneklerin absorbandsının spektrofotometrede ölçülmesi	35

KISALTMALAR

ADI	Acceptable Daily Intake
CAC	Codex Alimentarius Commission
DKP	Diketopiperazin
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
INS	International Numbering System
JECFA	The Joint Expert Committee on Food Additives
TGK	Türk Gıda Kodeksi
WHO	World Health Organization

1. GİRİŞ

Gıda sektöründe yeni ve ileri teknolojilerin gelişmesi değişik üretim tekniklerini kazandırmış ve buna bağlı olarak ürünlerde çeşitlilik sağlanmıştır. Ayrıca, tüketicilerin beğenilerinin farklılaşması ve tüketicilerin bilinçlenmesi, mevsimlik gıdaların yılın tüm dönemlerinde tüketilme isteğinin artması, ürünlerin raf ömrünün uzaması, kalitede standardizasyon zorunluluğu ve azalan gıda kaynaklarının rasyonel kullanımı gibi durumlar, gıda endüstrisinde kullanılan yöntemlerin yanı sıra gıda katkı maddelerinin kullanılmasını zorunlu hale getirmiştir¹.

Gıdalara kimyasal madde katılması ile ilgili tarihsel süreç incelendiğinde, odun tütsüsü ve tuzun bilinen en eski katkı kullanma yöntemleri olduğu anlaşılmaktadır. M.Ö. 3000 yıllarında et ürünlerini kürmek için tuzdan yararlanıldığı, M.Ö.900 yıllarında ise odun tütsüsü ve tuzun gıda muhafaza yöntemleri olarak kullanıldığı görülmektedir. Ortaçağlarda etlere koruyucu olarak odun tütsüsü ve tuzun yanı sıra uygulanan nitratin etin rengini olumlu yönde değiştirdiği ve botulizmi önlemek için kullanıldığı bilinmektedir. M.Ö. 50. yüzyılda tuz, odun tütsüsü ve baharatlardan lezzet verici olarak faydalanılmış, gıda boyaları ise günümüzden 3500 yıl kadar önce Mısırlılar tarafından gıdalara renk vermek amacıyla kullanılmışlardır. Anilin moru adlı renk maddesinin sentezi ile 1856' da yapay boya maddelerinin üretimi başlamıştır. Gıda katkı maddelerinin kullanılmasında, ondokuzuncu yüzyılda başlayan endüstrileşmeye paralel olarak artışlar başlamıştır. Bu zaman zarfında gıdalara katılmaya başlayan benzoik asit, sakarin, sodyum karbonat gibi kimyasallar, günümüzde de gıda katkısı olarak kullanılmaktadırlar. Yirminci yüzyılda gıda üretiminin artması ile gıda katkı maddelerinin kullanımında da önemli artışlar gözlenmiştir².

Gıda katkı maddeleri, tek başına gıda olarak tüketilemeyen veya gıda ham ya da yardımcı maddesi olarak kullanılamayan, besin değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereğince kullanılan, işlem veya üretim esnasında kalıntı veya türevleri mamul maddede bulunabilen, gıdanın üretilmesi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer özelliklerini korumak, düzeltmek ya da istenmeyen değişiklikleri önlemek amacıyla kullanılmasına izin verilen maddelerdir. Bu tanım kontaminantları yani gıdalara istenilmediği halde bulaşan kimyasal maddeleri içermemektedir³.

Gıda katkı maddeleri, gıdaların duysal özelliklerini geliştirmek, kalitelerini korumak, hazırlanmalarına yardımcı olmak, besin değerlerini korumak için katılırlar. Kalitesiz ve bozulmuş gıdaları maskeleyerek, taklit gıda yapmak, tüketiciyi aldatmak gibi sebeplerle kullanılamazlar⁴.

Gıda katkı maddelerinin ticari anlamda ve endüstriyel biçimde kullanılışı 1945-50'li yıllara rastlamaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) 1956 yılında 40 ülkeyi kapsayan ve 114 yapay renk maddesi ile 50 doğal renk maddesini içeren listelerini yayımlayarak katkı maddesi kullanımına izin vermiştir ve gıda sektöründe uygulamaya alınmasına yol açmıştır¹.

Gıda katkı maddeleri ile ilgili düzenlemeler uluslararası bir öneme sahiptir. Dünya Sağlık Örgütü ile Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (Food and Agriculture Organization, FAO) ortak çalışmalarıyla Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (Codex Alimentarius Commission, CAC) oluşturulmuştur. CAC' nin alt kuruluşu olan Gıda Katkı Maddeleri Ekspert Komitesi (Joint Expert Committee on Food Additives, JECFA) her

sene gıda katkı maddeleri ile ilgili yaptıkları toplantılarda, bütün ülkelere tavsiye niteliğinde standartlar hazırlamaktadırlar⁵.

Bir gıda katkı maddesinin kullanımına yasal olarak izin verilse bile o madde ancak belirtilen kriterlere uygun olarak kullanılabilir. Kullanımına izin verilen katkı maddesi, yalnızca izin verildiği gıdada, belirlenen en yüksek doz aşılmadan kullanılmalıdır. Gıdadaki herhangi bir hatayı örtmek veya tüketiciyi yanıltmak için kullanılmamalıdır⁶.

Gıda katkı maddeleri modern gıda endüstrisinde çok önemli bir yere sahip olmakla birlikte gıdanın güvenliğinin yanı sıra genellikle kalite ve karakteristik özelliklerini korumak amacıyla kullanılmaktadırlar. Bu gıda katkı maddelerinden biride, dünya çapında yaygın bir biçimde kullanılmakta olan tatlandırıcılardır^{7,8}.

Günümüzde şeker ve şeker içeren yiyecek ve içeceklerin tüketimindeki hızlı artış bazı sorunların ortaya çıkmasına yol açmıştır. Öncelikle çocuklarda diş çürümelerinde artışlar gözlenmiş, daha sonra tüketilen şekerlerin obezite (aşırı şişmanlık) ile olan ilişkisi ortaya konmuştur. Obez bireylerin diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon gibi kronik hastalıklara yakalanma riskinin çok yüksek olduğu tespit edilmiştir. Şeker tüketimi kısıtlanan bu tür hastaların gereksinim duyduğu, kalori sağlamaksızın şeker tadı veren maddelerin araştırılmasına yönelinmiş ve çalışmalara başlanmıştır. Karbonhidrat bileşiminde olmayan, enerji vermeyen ya da emilerek kan şekeri düzeyini yükseltmeyen birçok doğal ve yapay maddelerin şeker tadı verdiği saptanmış ve bu nitelikte pek çok bileşik sentezlenerek gıdalarda uygulama alanına alınmıştır^{9,10}.

Tatlandırıcılar, şeker tadı veren ama şekerin verdiği enerjiyi vermeyen (kalorisi olmayan veya çok az olan) maddelerdir. Yapay tatlandırıcılar kalorisiz veya düşük kalorili içecek, tatlılar, unlu mamüller, şekerlemeler, çikolatalar ve diyet gıdalarda kullanılmaktadır. Özellikle şeker hastaları, yapay tatlandırıcıları tablet formunda kullanmaktadırlar¹¹.

Burada dikkat edilmesi gereken en önemli konu, tatlandırıcıların insanların sağlığına olumsuz etki yapmayacak şekilde veya bu olumsuz etkileri en az seviyeye indirecek biçimde kullanılmalarıdır.

Günümüzde sıklıkla kullanılan yapay tatlandırıcılardan biri de aspartamdır. Fenilketonurili bireylerin aspartamın bileşenlerinden biri olan fenilalanine karşı hassasiyeti nedeniyle, aspartam içeren tüm ürünlerin etiketinde bu yönde bir uyarı bulunmalıdır. Aspartamın kullanımı, her ülkede gıda katkı maddelerinin kullanımını belirleyen ulusal mevzuata göre, resmi kuruluşlar tarafından denetlenmektedir^{4,8}.

Bu çalışma, Ankara piyasasında tüketime sunulan alkolsüz diyet içeceklerdeki aspartam miktarlarının saptanması ve Türk Gıda Kodeksi' ne (TGK) uygunluğunun değerlendirilmesi amacı ile yapılmıştır. Bununla birlikte çalışmada, aspartam miktarlarının halk sağlığını olumsuz yönde etkileyecek düzeylerde olup olmadığının araştırılması ve bu konuda bilimsel araştırma yapan kurum ve kişilerin gelecekteki çalışmalarına ışık tutması da amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tatlandırıcılar

Gıda katkı maddesi olarak kullanılan tatlandırıcılar başlıca iki gruba ayrılmaktadırlar. Yoğun tatlandırıcılar çok az miktarlarda kullanılsalarda şiddetli tatlılık oluşturma özelliğine sahip, kalorisiz maddelerdir. Hacim verici tatlandırıcılar ise şekere yakın tatlılığa sahip, enerji verici ve gıdaya hacim verme özelliği bulunan maddelerdir^{12,13}. Tablo 1’de tatlandırıcıların sınıflandırılması gösterilmiştir¹².

Gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılması önerilen bir tatlandırıcının sahip olması gereken özellikler şu şekildedir;

- Sukroza benzer tat ve fonksiyonel özelliklere sahip olmalıdır.
- Tatlılık eşdeğeri bazında düşük kalori vermelidir.
- Diş çürümelerine neden olmamalıdır.
- Vücutta normal olarak metabolize olmalı veya değişmeden atılmalıdır.
- Alerjik, mutajenik, kanserojenik veya diğer toksik etkileri bulunmamalıdır.
- Kimyasal ve termal stabilitesi olmalıdır.
- Gıdanın diğer ingrediyanları ile uyum sağlayabilmelidir.
- Kullanımına izin verilen diğer tatlandırıcılarla ekonomik açıdan rekabet edebilmelidir¹⁴.

Tablo 1: Tatlandırıcıların sınıflandırılması¹²

TATLANDIRICILAR	HACİM VERİCİ TATLANDIRICILAR (Besleyici nitelikte)	Kalorili	Sukroz Bal Melas			
			Nişasta bazlı tatlandırıcılar		Glukoz Fruktoz	
		Düşük kalorili	Tagatoz			
			Şeker Alkolleri	Monosakkaritler	Eritritol Sorbitol Mannitol Ksilitol	
				Disakkaritler	İsomalt Maltitol Laktitol	
				Hidrojenize Nişasta Hidrolizatları		
	YOĞUN TATLANDIRICILAR (Besleyici nitelikte olmayan)	Doğal	Steviozit Taumatin			
		Yarı sentetik	Neohesperidin dihidrokalkon			
		Sentetik (Yapay)	Asesülfam K Neotam Aspartam Sakkarin Siklamat Sukraloz			

Tatlandırıcılar birçok gıda ve içecekte yaygın olarak kullanılmaktadır. Tatlandırıcıların kullanıldığı ürün grupları; alkolsüz içecekler, meyve nektarları, tatlılar, dondurmalar, reçel ve marmelatlar, şekerleme ve çikletler, unlu mamuller, süt ürünleri, sofralık tatlandırıcılardır. Son yıllarda ağız gargaraları ve diş macunları gibi ürünlerde de tatlandırıcılar yaygın olarak kullanılmaktadır¹⁴.

2.2. Türkiye’ de Kullanımına İzin Verilen Tatlandırıcılar ve Tatlılık Şiddetleri

Bir tatlandırıcının tatlılaştırma düzeyi sukrozun tatlılığı bir kabul edilerek bağıl değer olarak ortaya konulur. Çeşitli tatlandırıcıların tatlılık şiddetleri Tablo 2’de ve ülkemizde kullanımına izin verilen tatlandırıcılar Tablo 3’te gösterilmektedir^{15,16}.

Tablo 2: Çeşitli tatlandırıcıların tatlılık şiddetleri¹⁵

Tatlandırıcı	Tatlılık şiddeti
Sukroz	1
İzomalt	0.45-0.65
Sorbitol	0.6
Ksilitol	1
Siklamat	30
Steviosit	300
Asesulfam K	200
Aspartam	180
Sakkarin	300
Neohesperidin dihidrokalkon	1800
Taumatın	2000-3000

Tablo 3: Ülkemizde kullanımına izin verilen tatlandırıcılar¹⁶

E 420	Sorbitol (Sorbitol ve Sorbitol şurubu)
E 421	Mannitol
E 950	Asesulfam K
E 951	Aspartam
E 952	Siklamik asit ve sodyum ve kalsiyum tuzları
E 953	İzomalt
E 954	Sakkarin ve sodyum, potasyum ve kalsiyum tuzları
E 955	Sukraloz
E 957	Taumatın
E 959	Neohesperidin DC
E 961	Neotam
E 962	Aspartam-asesulfam tuzu
E 965	Maltitol (Maltitol ve Maltitol şurubu)
E 966	Laktitol
E 967	Ksilitol
E 968	Eritritol

2.3. Aspartam

Aspartam, 1965 yılında James M. Schlatter adlı bir kimyager tarafından G.D.Searle araştırma laboratuvarlarında ülser tedavisi için araştırma yaparken kazara bulunmuş bir yapay tatlandırıcıdır^{17,18,19}.

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) 1974 yılında Amerika Bileşik Devletleri'nde aspartamın katı gıdalarda kullanımına izin vermiş, birkaç ay sonra ise aspartam ile ilgili toksikolojik çalışmalar yeterli görülmediğinden kullanım izni geri çekilmiştir²⁰. FDA tarafından 1981 yılında kuru gıdalarda, 1983 yılında alkolsüz içeceklerde ve 1996 yılında genel bir tatlandırıcı olarak tüm gıdalarda kullanımına izin verilmiştir. Avrupa Birliği ülkelerinde ise 1994 yılında kabul görmüştür^{21,22,23}.

2.3.1. Aspartamın Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Aspartam, L-fenilalanin ve L-aspartik asit amino asitlerinin metil ester bağıyla birleştirilmesiyle üretilen bir yapay tatlandırıcıdır²⁴.

Aspartam molekülünün yaklaşık %50'si fenilalanin, %40'ı aspartik asit ve %10'u metanolden oluşmaktadır²⁵.

Aspartamın α -formu ve β -formu olmak üzere iki çeşidi bulunmaktadır. Sadece α -formu tatlı olduğundan aspartam denildiğinde aspartamın α -formu kastedilmektedir²⁴.

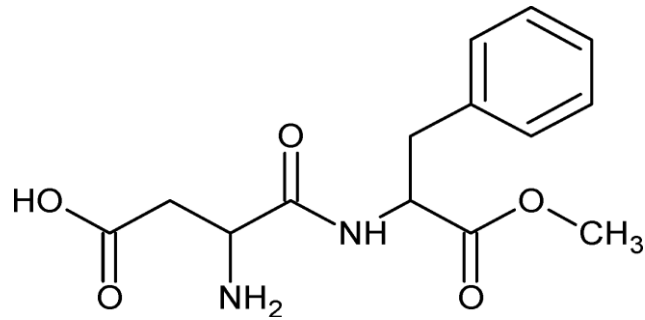
Aspartam beyaz renkli, kristal toz halinde, kokusuz fakat yoğun tatlı bir maddedir. Sukrozdan yaklaşık olarak 200 kat daha tatlıdır. Aspartam kütlece şekerle aynı kalori değeri vermesine karşın (4 kcal/g), şekere oranla yaklaşık 200 kat daha az seviyede eklenebilir ve böylelikle benzer tatlılığı daha az net kalori alımı ile sağlayabilmektedir. Bu özelliği

aspartamın dünya çapında yiyecek ve içeceklerde düşük kalorili ya da kalorisiz tatlandırıcı olarak kullanılmasına neden olmaktadır^{24,26}.

Aspartamın kimyasal zellikleri Tablo 4'te ve aspartamın kimyasal yapısı Şekil 1'de gsterilmektedir^{14,24,27}.

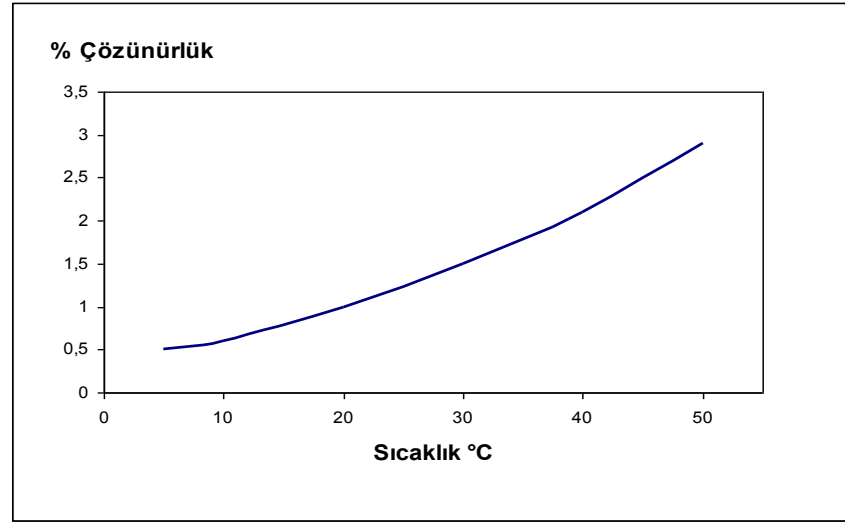
Tablo 4: Aspartamın kimyasal zellikleri^{14,24,27}

Kimyasal adı	N-L--aspartil-L-fenilalanin 1-metil ester
Kimyasal formülü	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅
Molekül ağırlığı	294.31
INS No	951
İzoelektrik nokta	pH 5.2
Erime noktası	246-247°C



Şekil 1: Aspartamın kimyasal yapısı (N-L--aspartil-L-fenilalanin 1-metil ester)²⁴

Aspartamın sudaki çözünürlüğü pH ve sıcaklığa bağlıdır. pH düştükçe çözünürlüğü artmakta olup, maksimum çözünürlüğe pH 2.2'de ulaşmaktadır. Aspartam suda ve alkolde çok az miktarda çözünürken, katı ve sıvı yağlarda çözünmemektedir^{14,24,28}. Şekil 2'de sıcaklığın aspartamın sudaki çözünürlüğüne etkisi gösterilmiştir²⁹.



Şekil 2: Aspartamın sudaki çözünürlüğü²⁹

2.3.2. Aspartamın Üretim Metodu

Aspartam L-fenilalanin (ya da L-fenilalanin metil ester) ve L-aspartik asidin kimyasal ya da enzimatik olarak birleştirilmesi sonucu üretilir. Kimyasal yöntemde tatlı α -aspartam ve tatsız β -aspartam birlikte oluştuğundan, α -aspartamın ayrılması ve saflaştırılması gerekmektedir. Enzimatik yöntemde ise sadece α -aspartam oluşmaktadır²⁷.

2.3.3. Aspartamın Gıda Sanayinde Kullanım Alanları

Aspartam sakızlar, naneli nefes açıcılar, gazlı içecekler, içecek tozları, puding ve jöle gibi toz karışımlar, aromalı sütler, fırıncılık ürünleri, kahvaltılık hububatlar, kurutulmuş ürünler, kahvaltılık tahıllar,

şekerlemeler, dondurulmuş tatlılar, sütlü tatlılar, reçel, yoğurt, tablet tipi tatlandırıcılar, vitaminler ve pastilleri içeren 6.000 kadar üründe yaklaşık 200 milyon tüketici tarafından 90'ı aşkın ülkede kullanılmaktadır. Tüketim amacıyla her yıl dünya çapında yaklaşık 16.000 ton aspartam üretilmektedir^{11,30,31,32}.

2.3.4. Aspartamın Diğer Yapay Tatlandırıcılara Göre Avantajları

Aspartamın diğer yapay tatlandırıcılara göre avantajları şu şekilde sıralanmaktadır:

- Şeker tadına sahiptir.
- Kullanım sonrasında oluşan acı tada sahip değildir.
- Amino asitlerden oluşmaktadır.
- Vücutta doğal yollardan metabolize olur.
- 100' den fazla ülkede kullanım izni vardır.
- Bütün düşük kalorili tatlandırıcılar arasında en güvenilir tatlandırıcıdır.
- Şekerden 200 kez daha tatlıdır.
- Düşük kalorili bir tatlandırıcıdır.
- Doğal ve yapay tatlandırıcılar ile birlikte kullanılabilir.
- Meşrubatlar, tablet tatlandırıcılar, şekerlemeler ve süt ürünleri gibi çeşitli gıdalarda kullanılabilir.
- Gıda bileşenleri ile reaksiyona girmemektedir.
- Diş çürümelerine sebep olmamaktadır.
- Laksatif etkili değildir^{11,29}.

Aspartamın tüm avantajları ile birlikte en önemli üstünlüğü kusursuz bir tat kalitesine sahip olması, sakkarozaya çok benzeyen bir tada sahip olması ve siklamat, asesülfam K, sakkarin gibi çoğu tatlandırıcının

kullanım sonrası ağızda bıraktığı bitter, metalik veya kimyasal tadı bırakmamasıdır³³.

Tatlandırıcılar genellikle belirli sinerjistik etki sağlamak amacı ile kombinasyonlar halinde kullanılabilmektedirler. Aspartam çoğunlukla asesulfam K, sakkarin, siklamat ve steviosit ile birlikte kullanılarak sinerjistik etki göstermektedir³⁴.

2.3.5. Aspartamın Stabilitesi

Aspartam kuru ortamlarda çok dayanıklıdır fakat sulu çözeltilerde uzun süreli ısı işlem sırasında bozunmaktadır²⁴.

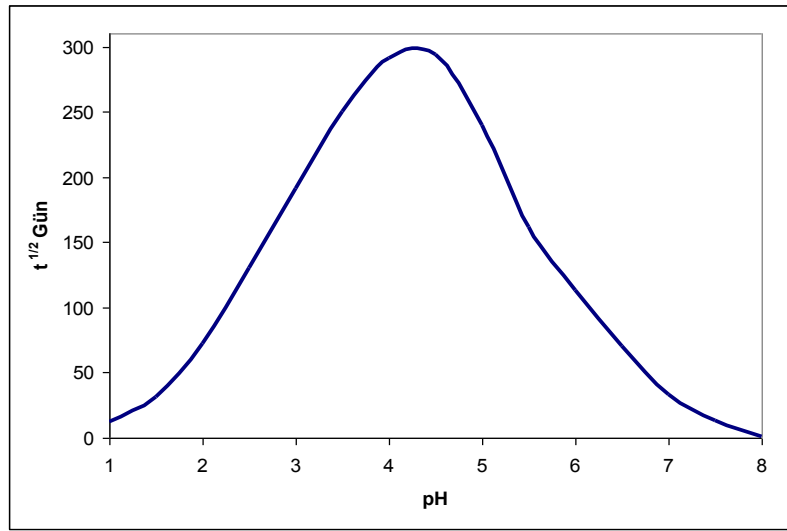
Sulu ortamlarda aspartamın stabilitesinde üç faktör rol oynamaktadır; süre, sıcaklık ve pH değeri. Sabit sıcaklıkta zaman geçtikçe değişmeden kalan aspartam miktarı azalmaktadır. Belirli bir sürede sıcaklık arttıkça değişmeden kalan aspartam miktarı azalmaktadır^{35,36,37}.

Çoğu nemli veya sıvı gıda ürünleri, aspartamın en stabil olduğu, pH 3.0 ile pH 5.0 arasındaki zayıf asit aralığında bulunmaktadır. 25°C'de maksimum stabilite pH 4.3'te gözlenmektedir^{35,38}. Aspartam, düşük pH' larda stabil bir tatlandırıcı olması nedeniyle, kola ve benzeri alkolsüz diyet içeceklerde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Zaman, sıcaklık ve pH'nın çözeltilerdeki aspartam stabilitesi üzerine etkisi Şekil 3'te gösterilmektedir³⁵.

Aspartamın asidik ortamda ve yüksek sıcaklıkta ester bağı hidrolize olarak aspartilfenilalanin ve metanol oluşmaktadır. Aspartamın diketopiperazin oluşturması sırasında da metanol uzaklaştırılmakta ve sonrasında diketopiperazin aspartilfenilalanine hidrolize olmaktadır. Aspartilfenilalanin ortam koşulları sebebiyle hidrolize olarak aspartat ve

fenilalanini oluşturmaktadır. Meydana gelen bu maddelerin tatlı tada sahip olmamaları ve gıdada tatlılık kaybına neden olmaları nedeniyle aspartamın yüksek sıcaklık gerektirmeyen ve uzun süre depolama gerektirmeyen ürünlerde kullanılması önerilmektedir. Kuru ürünlerde aspartamın stabilitesinin yüksek olduğu ve nem miktarı arttıkça stabilitenin azaldığı saptanmıştır¹⁴.

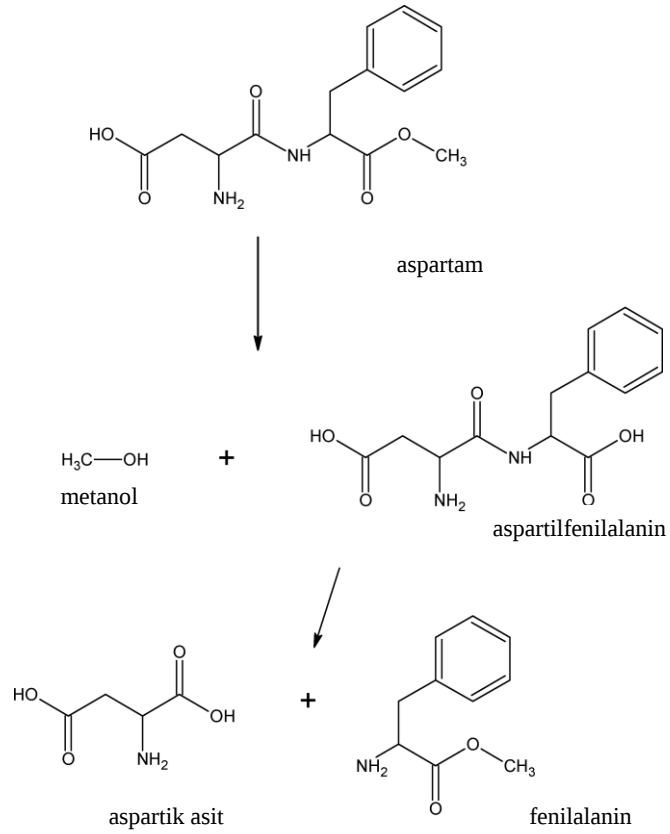


Şekil 3: Sabit sıcaklıkta pH değişimine bağlı olarak aspartamın stabilitesi (25°C)³⁵

Aspartamın yüksek sıcaklıklarda parçalanması nedeniyle fırınlanmış ve kızartılmış ürünlerde kullanımı tavsiye edilmemektedir³⁹. Aspartam veya aspartam/asesülfam K karışımlarıyla tatlandırılmış kolalarda 6 aydan uzun süren depolamada aspartamın parçalanması nedeniyle tatlılıkta belirgin bir azalma olmaktadır. Sukroz veya sukraloz kullanılan kolalarda ise çok az tatlılık farkı olmaktadır. Aspartam kuru halde yada asidik sulu çözeltilerde stabil bir gıda katkısı olmasına rağmen bazik gıdalarda ve yüksek sıcaklıklarda parçalanmaktadır²⁴.

2.3.6. Aspartamın Metabolizması ve Toksisitesi

Ağız yoluyla alınan aspartam hızla içerdiği amino asitlere (aspartat ve fenilalanin) ve metanole metabolize olmaktadır⁴⁰. Aspartamın metabolizma ürünleri Şekil 4'te gösterilmektedir²⁴.



Şekil 4: Aspartamın metabolizma ürünleri²⁴

Aspartamın absorbe ve metabolize olması iki şekilde gerçekleşebilir;

1) İntestinal lümende proteolitik ve hidrolitik enzimlerce aspartat, fenilalanin ve metanole hidrolize olur, bu bileşikler lümandan absorblanır ve portal dolaşıma girer.

2) Peptid transport mekanizmasıyla doğrudan mukoza hücrelerince absorbe edilir ve aspartat, fenilalanin ve metanole hidrolize olur ve portal dolaşıma girer⁴¹.

Aspartamın absorpsiyonu ve dağılımı Şekil 5'te gösterilmektedir⁴¹.

İntestinal Lümen	Mukoza Hücreleri	Portal Dolaşım
Aspartam $\Rightarrow$	Aspartam	
esteraz	esteraz	
peptidaz	peptidaz	
Aspartat $\Rightarrow$	Aspartat $\Rightarrow$	Aspartat
Fenilalanin $\Rightarrow$	Fenilalanin $\Rightarrow$	Fenilalanin
Metanol $\Rightarrow$	Metanol $\Rightarrow$	Metanol

Şekil 5: Aspartamın absorpsiyonu ve dağılımı⁴¹

Tek doz aspartam çalışmalarında aspartamın biriktiğini gösteren bir kanıt bulunamamıştır. Hızlı bir şekilde metabolize olmaktadır. İşaretli aspartam ile yapılan çalışmalarda özellikle protein yapım ve yıkımının hızlı olduğu organlar başta olmak üzere, aspartamın bütün vücuda dağıldığı gösterilmiştir⁴².

Aspartamın gıda katkı maddesi olarak kullanılması ile ilgili itirazların nedeni hiroliz ürünlerinin (aspartat, fenilalanin ve metanol) toksisitesi ile ilgilidir⁴³.

2.3.7. Fenilalanin Toksisitesi

Aspartam molekülünün yaklaşık yarısını oluşturan fenilalanin vücut proteinleri için elzem bir bileşik olmakla birlikte aynı zamanda normal

vücut fonksiyonları için gerekli birçok aromatik bileşik için önemli bir prekürsördür. Memeliler sentezleyemedikleri için fenilalanini gıdalardan almalıdırlar. Yetişkin bir insan için ortalama günlük fenilalanin gereksiniminin yaklaşık 12 mg/kg olduğu belirtilmektedir⁴⁴.

Fenilalanin mikrozomal enzim sistemi ile geri dönüşümsüz hidroksilasyonla tirozine dönüşmektedir. Fenilalaninin tirozine dönüşümünde ana enzim fenilalanin hidroksilazdır ve sadece karaciğerde bulunmaktadır; ancak böbrek ve pankreasda da az miktarlarda saptanmıştır⁴².

Aspartamın fenilalanin bileşeninin beyin fonksiyonlarını değiştirerek baş ağrısı, kognitif fonksiyon (zihinsel işlev) değişiklikleri, konvülsif nöbetler (havale), davranış ve ruhsal durum değişiklikleri yapabileceği iddia edilmiştir. Aspartamın fenilalanin/büyük nötral aminoasit oranını artırarak fenilalaninin beyne girişini selektif olarak arttıracak, bu artışın tirozin ve triptofan girişini azaltarak beyin nörotransmitter konsantrasyonlarında bozukluklar ile sonuçlanabileceği belirtilmiştir⁴⁵.

Ayrıca aşırı yüksek dozlarda fenilalanin tüketiminin özellikle çocuklarda davranış bozuklukları (depresyon, uykusuzluk vs.), görme değişiklikleri ve zeka geriliğine neden olabileceği bildirilmiştir⁴⁶.

Erişkin insan, bebek ve fenilketonüri heterozigotlarında yapılan metabolizma çalışmaları, aspartamın tipik tüketim düzeylerinden çok daha fazla tüketilmesinin güvenli plazma fenilalanin konsantrasyonları ile sonuçlandığını, beyin kimyasında herhangi bir etkiye neden olmadığını ve nörotransmitterlerin santral salınımı ve reseptör kinetiklerine hiçbir etkisi olmadığını göstermiştir⁴⁵.

2.3.8. Fenilketonuri

Fenilalanin hidroksilaz enzimi fenilalanini tirozine çeviren enzimdir. Bu enzimin yetersizliğinde veya yokluğunda kandaki fenilalanin miktarı artar. Fenilalanin ve keto türevlerinin kanda, dokularda ve idrarda birikmesiyle karakterize hastalığa fenilketonuri denir⁴⁷.

Fenilketonuri' de bulgular:

- Kan fenilalanin düzeyi yüksektir.
- İlk aylarda fark edilmez.
- 5. ve 6. aylarda zeka geriliği ortaya çıkar.
- Büyüme ve gelişmede gerilik,
- Yürümede, oturmada sorun,
- İdrarda ve terde küf kokusu,
- Mikrosefali (küçük kafa yapısı),
- Saç, deri ve gözlerde açık renk,
- Cilt sorunları ve deri döküntüleri,
- Aşırı hareket ve davranış bozuklukları,
- Havale, kusma şeklinde görülmektedir⁴⁸.

Fenilketonurili bebeklerde kandaki fenilalanin düzeyi doğumda normal seviyede iken, doğumdan sonraki ilk birkaç gün içerisinde çok hızlı bir şekilde artmaktadır⁴⁹.

Doğumdan sonra 24-48 saat arasında özel bir filtre kağıdına topuktan alınan bir damla kan ile tanı konur. Bebeğin ilk 24 saatlik beslenmesini izleyen saatlerde kanın alınması sağlıklı tanı konulabilmesi açısından önemlidir. Türkiye 1/2600 vaka oranı ile fenilketonurinin en çok görüldüğü ülkedir^{48,50}.

Normal kan fenilalanin seviyesi 2-6 mg/dl (120-360 μ mol/l) arasında olmalıdır. Yüksek fenilalanin seviyesi beyinde onarılamayan

hasara sebep olur. Günümüzde fenilketonurili hastalara uygulanan tek tedavi Tıbbi Beslenme Tedavisi'dir. Diyet tedavisine yaşamın ilk 21 gününde başlanmalı ve tedavi yaşam boyu sürdürülmelidir⁴⁸.

Fenilketonurili çocukların yetişkinliklerinde IQ değerleri genellikle 30 ile 50 arasında olmaktadır. Ayrıca öğrenme güçlükleri ve epilepsi de bu bireylerde yaygın olarak gözlenmektedir⁴⁹.

Fenilketonurili bireylerin fenilalanine karşı hassasiyetleri nedeniyle aspartam kullanmaları önerilmemektedir. Bu nedenle, aspartam kullanılarak tatlandırılmış ürünlerin etiketlerinde "Fenilalanin ihtiva eder" uyarısı yer almak zorundadır⁸.

2.3.9. Aspartat Toksisitesi

Aspartam molekülünün yaklaşık %40' ını bir amino asit olan aspartik asit oluşturmaktadır. Aspartat ve glutamat dikarboksilik amino asitlerdir ve çeşitli vücut dokularında, özellikle mitokondride nispeten yüksek düzeyde bulunarak nitrojen ve enerji metabolizmasında önemli rol oynamaktadırlar. Hücrenin fonksiyonel enerji üreten komponenti olan trikarboksilik asit siklusunun ana girişinde yer alırlar.

Süt proteinleri %20-25 oranında aspartat ve glutamat amino asitlerini içerirler. Aspartat ve glutamatın intestinal lümeninden absorpsiyonları serbest ya da bağlı formda olmalarına bağlıdır. Serbest olarak alındıklarında intestinal lümeninden aktif transport sistemi ile absorblanırlar. Proteine bağlı olarak alındıklarında ise spesifik intraselüler peptidazlarla mukozal hücrelerde amino asit içeriklerine hidrolize olurlar. Bu nedenle serbest veya bağlı formda diyetel alımlarına göre bu amino asitlerin plazma konsantrasyonları değişmektedir⁵¹.

Aspartamın monosodyum glutamat içeren gıdalarla birlikte tüketilmesi durumunda aspartat ve glutamatın birleşerek plazma konsantrasyonunu yükselteceği ve beyin lezyonları açısından tehlike oluşturabileceği düşünülmekteydi. Yapılan çalışmaların sonucunda, neonatal farelerde beyin lezyonları ancak aşırı yüksek glutamat veya aspartat dozları ile oluşturulabilmiş, insanlar üzerinde yapılan metabolizma çalışmaları, bir insanın sürekli olarak aspartam içeren ürünleri tüketmesi, hatta bunu monosodyum glutamat ile birlikte alması halinde bile plazma aspartat, glutamat ve aspartat + glutamat konsantrasyonunun neonatal farelerdeki toksisite gözlenen konsantrasyona kadar ulaştırabilmesinin imkansız olduğunu göstermiştir⁴⁵. Ayrıca aspartik asit plasentaya önemli ölçüde geçmediğinden beklenmedik bir teratojenik etkiye neden olmadığı tespit edilmiştir⁵².

2.3.10. Metanol Toksisitesi

Metanol aspartam molekülünün yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Aspartamın metabolizması sırasında metil grubu metanole dönüşür. Metanol formaldehit, formik asit ve CO₂'e metabolize olmaktadır²⁷. Formaldehit ve formik asit insanlarda akut metanol zehirlenmesine neden olan ana metabolitlerdir⁵³.

Süt, et, meyve ve sebzeler, aspartamdan çok daha fazla miktarda metanol içermektedirler. Metanol miktarı aspartamla tatlandırılmış alkolsüz diyet içeceklerde 60 mg/l iken, meyve sularında 140 mg/l'dir⁵⁴. Tablo 5'te çeşitli ürünlerdeki metanol miktarları gösterilmiştir⁵⁵.

İnsanda metanol toksisitesi 12-24 saatlik latent periyodu takiben oluşan formik asit nedeniyle metabolik asidoz, şiddetli optik hasar ve kalıcı körlük ile karakterizedir. Endojen nedenlerle oluşan metanolün normal kan konsantrasyonu yaklaşık olarak 0.05 mg/dl dir. Bu düzey

toksik kabul edilmemektedir. Kan metanol konsantrasyonu 20 mg/dl olan kişilerde zehirlenme belirtisi görülme bile belirti ve semptomlar dikkatle izlenmelidir. Kan metanol konsantrasyonu 50 mg/dl olduğunda ağır asidoz ve 100 mg/dl'nin üzerinde kalıcı körlük gözlenmektedir⁴².

Tablo 5: Çeşitli ürünlerdeki metanol içeriği⁵⁵

Ürün	Metanol konsantrasyonu (mg/l)
Domates suyu	180-218
Üzüm suyu	12-680
Beyaz şarap	20-36
Kırmızı şarap	99-271
Brendi	181-2425
Alkolsüz içecek (aspartamla tatlandırılmış)	55

Pektin içeren meyveler, meyve suları ve brendinin aspartam içeren içeceklerden daha fazla kandaki metanol seviyesini arttırdığı gösterilmiştir. Kan metanol konsantrasyonunda kontrol dışı bir artışın oluşturulabilmesi için en az 100 mg/kg aspartamın ağız yolu ile alınması gerekmektedir. Kilogram başına yarım kutu ya da 50 kg ağırlığında birinin 25 kutu diyet içecek tüketmesi ile 100 mg/kg aspartam alınabilmektedir⁵⁶.

Metanolün ADI değeri 5 mg/kg (vücut ağırlığı) olarak belirlenmiştir. Bunun ancak 100 katı toksik olabilmektedir. Aspartam sindirimini takiben metanol zehirlenmesinin gelişmesi imkansızdır. Bu nedenlerle, FDA yapılan araştırmalar sonucunda aspartamın sindirimi ile ortaya çıkan metanol miktarının sağlık açısından sorun oluşturmadığına karar vermiştir²⁹.

2.3.11. Diketopiperazin Toksisitesi

Aspartam belirli sıcaklık ve pH koşulları altında diketopiperazine (5-benzil-3,6-diokso-2-piperazin asetik asit, DKP) dönüşebilmektedir⁵⁷.

pH'nın 6'dan büyük olduğu ortamlarda aspartamın temel safsızlığı olan DKP oluşmaktadır³⁰. Ayrıca aspartam sıvı ortamlarda aşırı ısıya maruz kaldığında da DKP'e parçalanmakta ve tatlılık kaybı oluşmaktadır^{29,58}.

Aspartam genellikle yaklaşık %1 oranında dekompozisyon ürünü olarak DKP içermektedir⁵⁹. Diketopiperazin toksisitesi laboratuvar hayvanları üzerinde çalışılmıştır. Fareler üzerinde yapılan uzun dönem çalışması ile diketopiperazinin insanlar için ADI değeri 7,5 mg/kg (vücut ağırlığı) olarak belirlenmiştir²⁹.

2.3.12. Aspartamın Toksisitesi ile İlgili Çalışmalar

Aspartam piyasaya sunulmadan önce tatlandırıcı olarak kullanımıyla ilgili hayvanlarda ve insanlarda yapılan 100'e yakın bilimsel çalışma ile güvenilirliği ispatlanmıştır⁶⁰.

Aspartam ve metabolitlerinin güvenilirliği, insanların tüketebileceğinden çok daha yüksek dozlarda aspartamla laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan toksikolojik çalışmalar ile ortaya konulmuştur⁶¹.

Akut, subkronik ve uzun dönemde toksisite, genetik ve reproduktif toksisite, karsinojenik ve teratojenik etki değerlendirmesi için hayvanlar üzerinde bir dizi toksikolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar aspartamın toksik, karsinojenik, mutajenik veya teratojenik

etkilerinin ve üreme ile gelişme üzerine etkisinin olmadığını göstermiştir. Diğer çalışmalar da santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem, endokrin ve üreme sistemleri ve yeni doğan primatların postnatal (doğum sonrası) gelişimine etkisinin olmadığını göstermiştir.

Bunların yanı sıra insanlarda sağlıklı bireyler, bebekler, çocuklar, adolesanlar, fenilketonüri heterozigotları, obez bireyler ve diabetiklerde metabolizma ve tolerans çalışmaları yapılmıştır. Aspartamın güvenilirliğini destekleyen bu geniş veri tabanı dünya çapında resmi kurumlar, uzman komiteleri tarafından değerlendirilerek tatlandırıcı olarak kullanılmasının güvenilirliği kesinleşmiştir. Resmi olarak onaylanmasından sonra da aspartam yüz milyonlarca kişi tarafından güvenle kullanılmıştır.

Aspartamın piyasaya sürülmesiyle bazı bilimsel itirazlar yapılmış ve bu itirazlar nedeniyle hayvan ve insanlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Onaylanmadan önce olduğu gibi bu itirazlar büyük ölçüde metabolik bileşenlerinin aşırı yüksek dozlarda verilmesiyle oluşabilecek hipotetik (varsayımsal) toksisite üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu konular aspartamın onaylanmasından önce dünya genelinde resmi kuruluşlar tarafından tatmin edici bir şekilde çözümlenmiş olmasına rağmen onaylandıktan sonra yapılan ek çalışmalarla da prelinik güvenlik değerleri ile ilgili veriler yeniden gözden geçirilmiş; aspartam tüketiminin kabul edilebilir günlük tüketim düzeyine oranı, metabolizması, aspartat ve eksitotoksisite, fenilalanin ve nörokimya, metanol toksisitesi, aspartamla ilgili diğer istenmeyen etkiler, ağırlık kontrolündeki etkileri, duyarlı populasyonlarda kullanımı incelenmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen veriler daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarını kesinleştirmiş ve aspartamın güvenilirliği üzerine oluşan veri tabanını genişletmiştir⁶².

Ablisah ve ark.'ları⁶³, 2011 yılında aspartam tüketiminin karaciğer üzerindeki etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmada aspartam toksisitesinin doza bağımlı olduğunu bildirmişlerdir.

Aspartam, tüm yapay tatlandırıcılar arasında tüm ayrıntılarıyla en çok araştırılan tatlandırıcıdır. Güvenilirliği JECFA, FAO, WHO, FDA gibi pek çok bilimsel kuruluş ve dünya çapında 100 den fazla ülkenin düzenleme kurulu tarafından doğrulanmıştır⁶⁴.

FDA' ya göre Amerika Birleşik Devletlerinde aspartamın ADI değeri 50mg/kg (vücut ağırlığı) iken, WHO/FAO aspartamın ADI değerini 40 mg/kg (vücut ağırlığı) olarak sınırlandırmıştır^{65,66}.

2.3.13. Aspartam ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Avrupa Birliği'nde gıda katkı maddelerinin kullanımı ile ilgili izinler, gıda katkı maddeleri ile ilgili 89/107/EEC numaralı direktif esaslarına dayanmaktadır⁶⁷.

Gıdalarda kullanılmasına müsaade edilen tatlandırıcılar ile ilgili düzenlemeler 10 Eylül 1994 tarihinde AB resmi gazetesinde yayımlanan ve 1996 yılında 96/83/EC numaralı direktif ile son halini alan 94/35/EC numaralı Avrupa Parlamentosu ve Konseyi Direktifi ile yapılmıştır. Bu direktifin ekinde tüketiciye satılmasına ve gıdaların üretiminde kullanımına müsaade edilen 19 adet tatlandırıcının listesi bulunmaktadır. Bu listede tatlandırıcıların kullanım alanları ve maksimum miktarları da verilmiştir⁶⁸.

Ülkemizde ise 94/35/EC sayılı “Gıdalarda Kullanılan Tatlandırıcılar” Konsey Direktifi dikkate alınarak Avrupa Birliği'ne uyum çerçevesinde “Gıdalarda Kullanılan Tatlandırıcılar Tebliği” hazırlanmış ve

son olarak yapılan değişikliklerle 21.09.2006 tarihinde 2006/45 tebliğ numarasıyla yayımlanmıştır^{16,68}.

Bu tebliğin amacı, gıda maddelerini tatlandırmak amacıyla kullanılan ve tüketiciye doğrudan sunulan tatlandırıcıların gıda maddelerindeki kullanımını, ambalajlama ve etiketleme ile ilgili özelliklerini belirlemektir.

Tatlandırıcı içeren gıda maddelerinin etiketlerinde, tatlandırıcı içerdiğine dair ifade ürünün adı ile aynı yüzeyde, farklı ve dikkat çekici renk ve büyüklükte belirgin bir biçimde yer almalıdır.

Poliol veya şeker alkolü ve/veya aspartam ve/veya aspartam-asesulfam tuzu içeren ve tüketiciye doğrudan sunulan tatlandırıcıların etiketinde şu uyarılar yer almalıdır:

- Polioller: aşırı tüketimi laksatif etkiye neden olabilir.
- Aspartam: fenilalanin ihtiva eder.
- Aspartam-asesülfam tuzu: fenilalanin ihtiva eder.

Türk Gıda Kodeksinde, alkolsüz diyet içeceklerde aspartamın tek başına veya diğer tatlandırıcılarla birlikte kullanımına izin verilen en yüksek değer 600 mg/l olarak belirtilmiştir¹⁶. Tablo 6'da ülkemizde aspartamın kullanımına izin verildiği gıdalar ve kullanılabilir maksimum miktarlar görölmektedir¹⁶.

Bu araştırmanın tamamlandığı tarihten sonra 1333/2008/EC sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konseyi Tüzüğüne paralel olarak "Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği" hazırlanarak 30.06.2013 tarihli ve 28693 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanmıştır⁶⁹. Çalışmamızda 21.09.2006 tarihinde yayımlanan 2006/45 numaralı tebliğ esas alınmıştır.

Tablo 6: Aspartamın kullanımına izin verildiği gıdalar ve kullanılabilir maksimum miktarlar¹⁶

EC KODU VE ADI	GIDA MADDESİ	MAKSİMUM MİKTAR
E 951 Aspartam	Enerjisi azaltılmış veya şeker ilavesiz alkolsüz içecekler	
	Su bazlı aromalandırılmış içecekler	600 mg/l
	Süt ve süt türevleri veya meyve suyu bazlı içecekler	600 mg/l
	Enerjisi azaltılmış veya şeker ilavesiz tatlılar ve benzeri ürünler	
	Su bazlı aromalandırılmış tatlılar	1000 mg/kg
	Süt ve süt türevi bazlı karışımlar	1000 mg/kg
	Meyve ve sebze bazlı tatlılar	1000 mg/kg
	Yumurta bazlı tatlılar	1000 mg/kg
	Tahıl bazlı tatlılar	1000 mg/kg
	Yağ bazlı tatlılar	1000 mg/kg
	Şekerlemeler ve diğerleri	
	Şeker ilavesiz şekerlemeler	1000 mg/kg
	Şeker ilavesiz nefes ferahlatıcı şekerlemeler	6000 mg/kg
	Aromalandırılmış şeker ilavesiz boğaz pastilleri	2000 mg/kg
	Şeker ilavesiz sakız	5500 mg/kg
	Enerjisi azaltılmış veya şeker ilavesiz nişasta bazlı şekerlemeler	2000 mg/kg
	Enerjisi azaltılmış veya şeker ilavesiz kakao veya kuru meyve bazlı şekerlemeler	2000 mg/kg
	Enerjisi azaltılmış veya şeker ilavesiz kakao, süt, kuru meyve veya yağ bazlı sürülebilir ürünler	1000 mg/kg
	Çerezler: tüketime hazır aromalandırılmış, ambalajlanmış, kuru, çeşnili nişasta ürünleri ve kaplanmış sert kabuklu meyveler	500 mg/kg
	Enerjisi azaltılmış veya şeker ilavesiz yenilebilir buzlar ve dondurma	800 mg/kg
	Soslar	350 mg/kg
	Hardal	350 mg/kg
	Enerjisi azaltılmış çorbalar	110 mg/l
	Balıklar, marine edilmiş balıklar, kabuklular ve yumuşakçaların tatlı-ekşi korunmuş veya yarı korunmuş olanları	300 mg/kg
	Tatlı-ekşi korunmuş meyve ve sebzeler	300 mg/kg
	Enerjisi azaltılmış reçel, jöle, marmelatlar, geleneksel reçel ve geleneksel marmelat	1000 mg/kg
	Enerjisi azaltılmış veya şeker ilavesiz meyve konserveleri	1000 mg/kg
	Enerjisi azaltılmış meyve sebze karışımları	1000 mg/kg
	En az % 15 lif ve % 20 kepek içeren enerjisi azaltılmış veya şeker ilavesiz kahvaltılık tahıllar	1000 mg/kg
	Özel beslenme amaçlı hafif fırıncılık ürünleri	1700 mg/kg
	“TGK – Kilo verme amaçlı Enerjisi Kısıtlanmış Gıdalar Tebliği” kapsamındaki gıdalar	800 mg/kg

Tablo 6 (devam): Aspartamın kullanımına izin verildiği gıdalar ve kullanılabilir maksimum miktarlar¹⁶

EC KODU VE ADI	GIDA MADDESİ	MAKSİMUM MİKTAR
E 951 Aspartam	"TGK – Özel Tıbbi Amaçlı Diyet Gıdalar Tebliği" kapsamındaki gıdalar	1000 mg/kg
	Sıvı formdaki gıda takviyeleri	600 mg/kg
	Katı formdaki gıda takviyeleri	2000 mg/kg
	Vitamin ve/veya mineral bazlı şurup şeklinde veya çiğnenebilir formdaki gıda takviyeleri	5500 mg/kg
	Elma ve armut şarabı	600 mg/l
	Enerjisi azaltılmış bira	25 mg/l
	Alkolsüz veya alkol miktarı %1,2' yi geçmeyen biralar	600 mg/l
	Hafif üst fermentasyon birası dışında orijinal şıra ekstraktı %6'dan az olan sofrası	600 mg/l
	Asitliği NaOH cinsinden minimum 30 mili eşdeğere eşit olan biralar	600 mg/l
	"oud bruin" tipi kahverengi biralar	600 mg/l
	Alkolsüz içeceklerle bira, elma ve armut şarapları, distile alkollü içkiler veya şarap karışımından oluşan içecekler	600 mg/l
	Hacmen %15'den az alkol içeren distile alkollü içecekler	600 mg/l

2.3.14. Aspartamın Analiz Yöntemleri

Aspartam gıdalarda, içeceklerde ve diyet ürünlerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Gıda endüstrisindeki uygulamalarının artması, aspartamın tespit edilmesinde hızlı ve etkili yöntemlerin geliştirilmesine neden olmaktadır⁷⁰.

Gıdalarda bulunan aspartam miktarlarının belirtilen değerlere uygunluğunu tespit etmek ya da üretim ve depolama sırasında meydana gelen parçalanma seviyesini ölçmek amacıyla birçok analiz yöntemi kullanılmaktadır⁶⁴.

Son yıllarda hızlı ve basit bir yöntem olması, aynı zamanda nitel ve nicel anlamda iyi sonuçlar vermesi nedeniyle aspartam tayinlerinde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High-Performance

Liquid Chromatography, HPLC) yaygın olarak tercih edilen bir yöntemdir^{71,72}. Ancak HPLC, örneklerin analizinden önce uzun süreli ön işleme ihtiyaç duyulan pahalı bir yöntemdir⁷³. UV dedektörlü HPLC aspartam analizlerinde sıklıkla kullanılmaktadır^{57,74}. Lino ve ark.'ları⁷⁵, yaptıkları çalışmada alkolsüz diyet içecek örneklerindeki aspartam ve asesülfam K miktarlarının saptanması için HPLC yöntemini uygulamışlardır.

Yapay tatlandırıcıların tespit edilmesinde kapiler elektroforez, iyon kromatografisi, enzimatik yöntemler, titrimetrik yöntemler, ince tabaka kromatografisi, spektrofotometrik yöntemler ve elektrokimyasal yöntemler de sıklıkla kullanılmaktadır^{64,76,77,78,79,80}.

Elektrokimyasal yöntemler basit, ucuz ve hızlı olmaları sebebiyle tercih edilmektedirler²⁶. Enzime dayalı biyosensörlerin, yaklaşık 250 analiz sonrasında elektrot stabilitesi azalmaktadır³¹. Kapiler elektroforez sadelik, yüksek ayırım gücü, kısa analiz süresi ve az malzeme tüketimi ile cazip bir seçenek olmaktadır⁸¹. Bergamo ve ark.'ları⁷⁷, yaptıkları çalışmalarda alkolsüz içeceklerdeki tatlandırıcı miktarlarının tespiti için kapiler elektroforez yöntemini kullanmışlardır. Zhu ve ark.'ları⁸, ise yaptıkları çalışmalarında örneklerindeki tatlandırıcı miktarlarını iyon kromatografisi yöntemi ile tespit etmişlerdir.

Spektroskopik yöntemler genellikle bileşiklerin tek başlarına tespit edilmesinde kullanılmaktadırlar. Kromatografik yöntemler ise kombinasyon halinde kullanılan katkı maddelerinin saptanmasında daha uygundur⁸². Bayhan ve ark.'ları⁸³, alkolsüz gazlı diyet içecek örneklerindeki aspartam miktarlarını araştırırken spektrofotometrik yöntem kullanmışlardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal ve Kimyasallar

3.1.1. Materyal

Çalışmada, Ankara piyasasından sağlanan dört ayrı firmaya ait altı markanın (A, B, C, D, E, F) alkolsüz diyet içeceklerinden 15'er adet olmak üzere toplam 90 adet örnek kullanıldı.

Analize alınan alkolsüz diyet içecek örnekleri Türkiye'deki firmalara ait olup marka isimleri belirtilmeden kod numarası ile verildi.

Bu araştırmada kullanılan alkolsüz diyet içecek örnekleri farklı semtlerdeki süpermarketlerden temin edildi. Örneklerin seri numaralarının ve üretim tarihlerinin farklı olmasına dikkat edildi. Örnekler oda sıcaklığında kapalı şekilde muhafaza edildi ve kapakları analize alınmadan hemen önce açıldı.

Alkolsüz diyet içecek örnekleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı, Besin Analizleri Bilim Dalı Araştırma Laboratuvarında analiz edildi.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

-Asetik asit	(Merck K No:1.00056)
-Aspartam	(Supelco K No:4-7135)
-Etil Alkol	(Merck K No:1.00983)
-Ninhidrin	(Merck K No:1.06762)
-Propilen Karbonat	(Merck K No:8.07051)
-Sodyum Asetat Trihidrat	(J.T.Baker K No:0006120011)
-Susuz Sodyum Sülfat	(Merck K No:1.06645)

3.1.3. Kullanılan Alet ve Ekipman

-Hassas Terazı	(Shimadzu AW 320)
-Vortex	(Firlabo)
-Karıştırıcı	(IKA RH Basic 2)
-pH Metre	(Hanna pH 211)
-Kaynar su banyosu	(Memmert WB 10)
-Ultrasonik banyo	(Dijital 4LT UYM)
-Santrifüj Cihazı	(Nüve NF 415)
-Spektrofotometre	(Shimadzu UV160A)
-Buzdolabı	(Arçelik)
-Genel Laboratuvar Malzemeleri	

3.2. Yöntem

3.2.1. Aspartam Tayini

Alkolsüz diyet içecek örneklerinde aspartam tayini için Lau ve ark.'ları⁸⁴ tarafından önerilen spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

Bu yöntem, alkolsüz diyet içeceklerde aspartamın ninhidrin reaktifi ile oluşturduğu mavi rengin ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır.



Resim 1: Aspartamın ninhidrin reaktifi ile oluşturduğu mavi renk

Çözelti ve Reaktifler:

Çalışmada kullanılacak çözelti ve reaktifler yöntemde belirtildiği şekilde hazırlandı. Analitik saflıkta kimyasal maddeler kullanıldı.

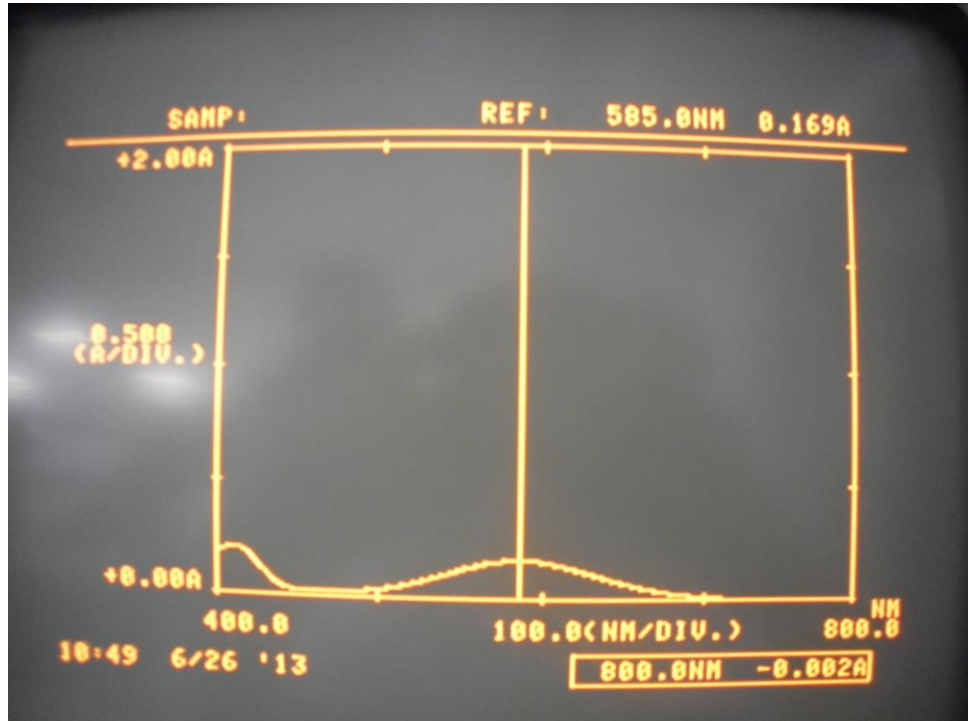
Asetat Tampon (pH: 3.5) : 19.35 g. sodyum asetat trihidratın 1 litre 2.5 M asetik asit içinde çözülmesiyle hazırlandı.

Ninhidrin Çözeltisi (0.4 %m/v): 0.4 g ninhidrinin 100 ml saf etanolde çözülmesiyle hazırlandı.

Aspartam standartları aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanarak kalibrasyon eğrisi çizildi.

Aspartam stok çözeltisi 1000 mg/l konsantrasyonda olacak şekilde 25 mg aspartamın 25 ml propilen karbonat çözeltisi içinde çözündürülmesi ile hazırlandı. Bu çözelti günlük hazırlandı.

Aspartam standartları 3.7, 6.2, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30 µg/ml konsantrasyonlarında propilen karbonat ile hazırlandı. Bu standartların her birinden 3'er ml alınarak üzerine 2 ml %4'lük ninhidrin çözeltisi eklendi, kaynar su banyosunda 20 dakika kaynatıldı, soğutuldu ve etil alkol ile 10 ml'ye seyreltildi. Hazırlanan standart çözeltiler spektrofotometrede 585 nm. dalga boyunda kör'e (0) karşı okundu. Standartların ölçüm sonuçları değerlendirilerek standart eğri oluşturuldu ve daha sonra örneklerin analizleri yapıldı.

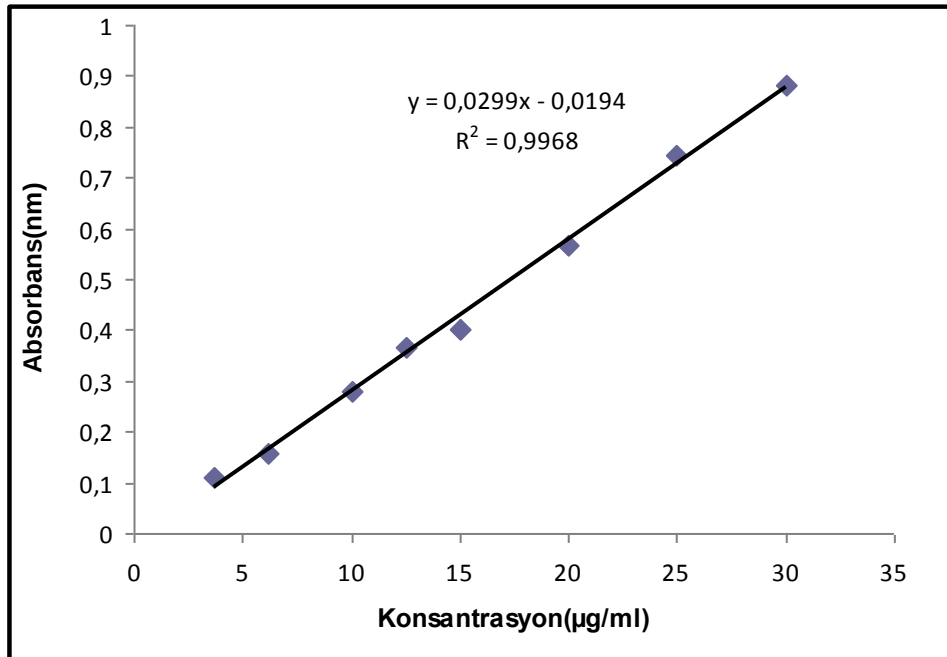


Resim 2: Aspartam tayini için spektrofotometrede 585 nm. dalga boyunda absorbans ölçümü

3.2.2. Aspartam Standart Eğrisinin Oluşturulması

Konsantrasyonu 1000 mg/l olan aspartam stok çözeltisinden 3.7, 6.2, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30 µg/ml hazırlanan standart çözeltiler spektrofotometrede 585 nm dalga boyunda kör'e (0) karşı okundu. Elde edilen absorbans değerleri ve hesaplanan konsantrasyon değerlerinden yararlanılarak standart eğri çizildi (Şekil 6).

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans (nm)
3.7	0.109
6.2	0.156
10	0.280
12.5	0.364
15	0.401
20	0.567
25	0.743
30	0.881



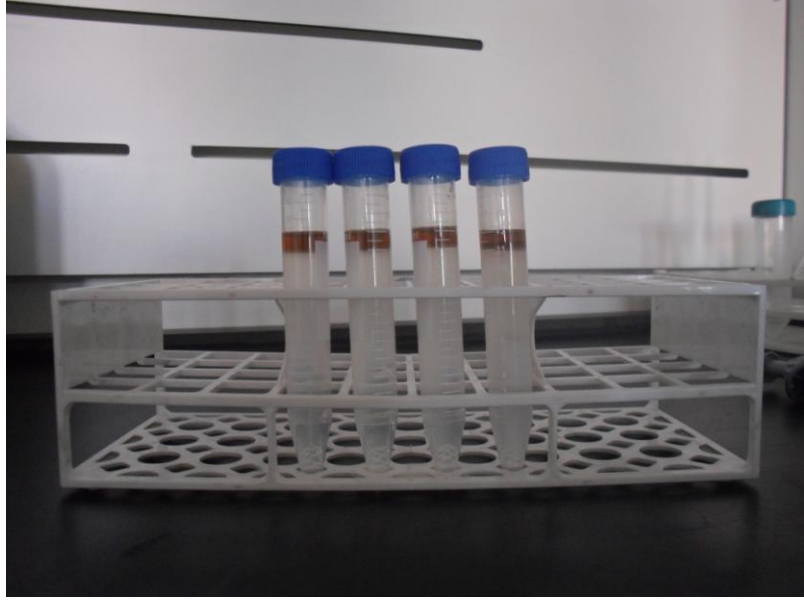
Şekil 6: Aspartam standart eğrisi

3.2.3. Alkolsüz Diyet İçecek rneklerinin Analize Hazırlanması ve Yöntemin Uygulanması

Alkolsüz diyet içecek örneklerinin her birinden 1.5 ml santrifüj tüplerine alındı ve üzerine 0.5 ml asetat tampon (pH:3.5) zltisi eklendi. Daha sonra örnekler 10 ml propilen karbonat eklendi ve 5 dakika ultrasonik karıştırıcıda karıştırıldı. Bu işlemden sonra 5 dakika santrifüj edildi. Alt fazdan 7 ml alınarak susuz sodyum sülfat ile kurutuldu. Kurutulan zltiden 3 ml alınarak üzerine 2 ml % 0.4'lk ninhidrin zltisi eklendi, kaynar su banyosunda 20 dakika kaynatıldı, soğutuldu ve etil alkol ile 10 ml'ye seyreltildi. Ekstraksiyonu yapılan örneklerin absorbanısı spektrofotometrede 585 nm dalga boyunda kr'e (0) karşı okundu. Örneklerden elde edilen absorban değerlerinin, standart eğrideki karşılığından aspartam miktarları ppm olarak hesaplandı.



Resim 3: Deney tüplerinin santrifüj işlemi



Resim 4: Santrifüj sonrası fazların ayrılması



Resim 5: Örneklerin absorbasının spektrofotometrede ölçülmesi

3.2.4. Aspartam Yönteminin Tekrarlanabilirliği

Örneklerin analizinde kullanılan yöntemin tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla aynı gün içerisinde çok kısa aralıklarla alkolsüz diyet içecek örnekleri üzerinde çalışıldı. Kullanılan yöntem aspartam yönteminin aynısı olup sonuçlar Tablo 7’de verildi.

Tablo 7: Aspartam yönteminin tekrarlanabilirliği

Analiz	A Markası Aspartam Miktarı (mg/l)	E Markası Aspartam Miktarı (mg/l)	F Markası Aspartam Miktarı (mg/l)
1. Analiz	198.35	230.46	302.70
2. Analiz	211.73	229.57	293.77

3.2.5. Yöntemin Doğruluğu ve Verimin Hesaplanması

Alkolsüz diyet içecek örneklerinin analizinde kullanılan yöntemin doğruluğunu ispatlamak için bilinen miktarda aspartam içeren alkolsüz diyet içecek örneklerine 6.2, 10, 15 mg/l miktarlarında standart aspartam ilave edilerek ölçüm yapıldı. Bu analizde kullanılan yöntem aspartam yönteminin aynısıdır. Üç örnekte çalışma yapıldı. Alkolsüz diyet içecek örneklerine ait sonuçlar Tablo 8’ de verildi.

Tablo 8: Standart ilave edilen alkolsüz diyet içecek örneklerine ait aspartam konsantrasyonları ve % verim değerleri

İlave Edilen Aspartam Miktarı (mg/l)	Ölçülen Aspartam Miktarı (mg/l)	% Verim
6.2	6.41	103.38
10	9.97	99.70
15	15.42	102.80
Ortalama: 101.96		

3.2.6. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada, Ankara piyasasından temin edilen alkolsüz diyet içecek örneklerinin analizinde, her deney için alınan örnekte ve standartlarda çift ölçüm yapılarak çalışıldı. Örneklerdeki aspartam miktarları mg/l(ppm) cinsinden hesaplandı.

İstatistiksel değerlendirmeler bilgisayarda SPSS 14 versiyon istatistik programında yapıldı. Markalar arası kontroller Student-t testi ile yapıldı. A, B, C, D markalarına ait örneklerdeki ortalama aspartam miktarlarının kendi aralarında karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Markalara ait alkolsüz diyet içecek örneklerindeki ortalama aspartam miktarlarının, standart değerle karşılaştırılmasında One Sample-t testi uygulandı⁸⁵.

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

4. BULGULAR

Çalışmada, Ankara ilindeki farklı süpermarketlerden sağlanan dört ayrı firmaya ait altı markanın (A, B, C, D, E, F) alkolsüz diyet içecek örneklerindeki aspartam miktarları saptanmıştır. Alkolsüz diyet içecek örneklerinin aspartam miktarları Tablo 9, 10 ve 11’de, örneklerde saptanmış olan aspartam miktarlarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 12’de, aspartam için markalar arası önem düzeyi Tablo 13 ve 14’te gösterilmiştir. Dört ayrı markaya ait (A, B, C, D) alkolsüz diyet içecek örneklerindeki aspartam miktarlarının kendi aralarında karşılaştırılması Tablo 15’te, markalara ait alkolsüz diyet içecek örneklerindeki aspartam değerlerinin (mg/l) Türk Gıda Kodeksi sınır değeri (600 mg/l) ile karşılaştırılması Tablo 16’da gösterilmiştir. A, B, C, D, E, F markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan aspartam değerlerinin dağılım grafikleri Şekil 7, 8 ve 9’da, alkolsüz diyet içecek örneklerindeki aspartam değerlerinin (mg/l) Türk Gıda Kodeksi sınır değeri ile karşılaştırma grafiği Şekil 10’da verilmiştir.

Tablo 9: A ve B markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan aspartam değerleri (mg/l) ve etiket bilgileri

rnek No	A (mg/l)	Etiket Bilgisi	B (mg/l)	Etiket Bilgisi
1	150.19	Aspartam: 0.2 g/l Asesulfam K: 0.2 g/l Sukraloz: 0.05 g/l	164.91	Aspartam: 0.2 g/l Asesulfam K: 0.2 g/l
2	168.92		201.02	
3	174.27		155.99	
4	137.70		221.09	
5	183.63		166.24	
6	136.81		257.66	
7	175.16		227.78	
8	138.60		244.28	
9	142.16		215.29	
10	205.04		177.84	
11	135.03		232.69	
12	189.69		201.03	
13	129.68		193.44	
14	183.19		273.27	
15	102.03		197.46	

Tablo 10: C ve D markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan aspartam değerleri (mg/l) ve etiket bilgileri

Örnek No	C (mg/l)	Etiket Bilgisi	D (mg/l)	Etiket Bilgisi
1	370.48	Aspartam Asesulfam K Miktar belirtilmemiş	350.85	Aspartam Asesulfam K Miktar belirtilmemiş
2	289.32		180.51	
3	336.14		193.89	
4	315.18		191.21	
5	240.71		180.51	
6	197.45		219.75	
7	149.74		181.40	
8	164.45		356.65	
9	178.73		366.91	
10	221.53		388.76	
11	236.70		392.78	
12	161.33		422.65	
13	265.68		457.43	
14	161.33		356.21	
15	259.88		253.64	

Tablo 11: E ve F markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan aspartam değerleri (mg/l) ve etiket bilgileri

Örnek No	E (mg/l)	Etiket Bilgisi	F (mg/l)	Etiket Bilgisi
1	180.07	Aspartam: 0.220 g/l Asesulfam K: 0.072 g/l	269.69	Aspartam Asesulfam K Sukraloz Miktar belirtilmemiş
2	225.10		156.88	
3	174.72		183.19	
4	184.08		174.71	
5	201.47		217.08	
6	236.70		156.88	
7	225.99		303.59	
8	207.71		298.23	
9	179.18		268.80	
10	246.06		254.54	
11	198.80		206.82	
12	241.16		192.89	
13	230.02		160.89	
14	160.89		301.36	
15	143.95		203.70	

Tablo 12: A, B, C, D, E, F markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerindeki aspartam değerleri (mg/l)

	N	X±S.H	Min.	Max.
A	15	156.81±7.29	102.03	205.04
B	15	208.67±8.97	155.99	273.27
C	15	236.58±17.91	149.74	370.48
D	15	299.54±26.19	180.51	457.43
E	15	202.39±8.08	143.95	246.06
F	15	223.28±14.08	156.88	303.59

Alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanmış olan aspartam miktarlarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12 incelendiğinde, A, B, C, D, E, F markalı örneklerle ait en düşük ve en yüksek aspartam değerlerinin sırasıyla 102.03-205.04 mg/l, 155.99-273.27 mg/l, 149.74-370.48 mg/l, 180.51-457.43 mg/l, 143.95-246.06 mg/l ve 156.88-303.59 mg/l sınırları içerisinde değiştiği görülmüştür.

A, B, C, D, E, F markalı örneklerle ait ortalama aspartam değerleri ise sırasıyla 156.81±7.29 mg/l, 208.67±8.97 mg/l, 236.58±17.91 mg/l, 299.54±26.19 mg/l, 202.39±8.08 mg/l ve 223.28±14.08 mg/l olarak bulunmuştur.

Tablo 13: Aynı firmadan sağlanan farklı markalı (A,B) örneklerdeki aspartam değerlerinin (mg/l) karşılaştırılması

	N	X±S.H	Min.	Max.
A	15	156.81±7.29	102.03	205.04
B	15	208.67±8.97	155.99	273.27
t*				

*p<0.001

Tablo 13 incelendiğinde, aspartam açısından A ile B markaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur (p<0.001).

Tablo 14: Aynı firmadan sağlanan farklı markalı (C,D) örneklerdeki aspartam değerlerinin (mg/l) karşılaştırılması

	N	X±S.H	Min.	Max.
C	15	236.58±17.91	149.74	370.48
D	15	299.54±26.19	180.51	457.43
t				

p>0.05

Tablo 14 incelendiğinde, aspartam açısından C ile D markaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (p >0.05).

Tablo 15: Farklı markalara ait (A,B,C,D) örneklerdeki aspartam değerlerinin (mg/l) karşılaştırılması

	N	X±S.H	Min.	Max.
A	15	156.81±7.29	102.03	205.04
B	15	208.67±8.97	155.99	273.27
C	15	236.58±17.91	149.74	370.48
D	15	299.54±26.19	180.51	457.43
*F				

*p<0.001

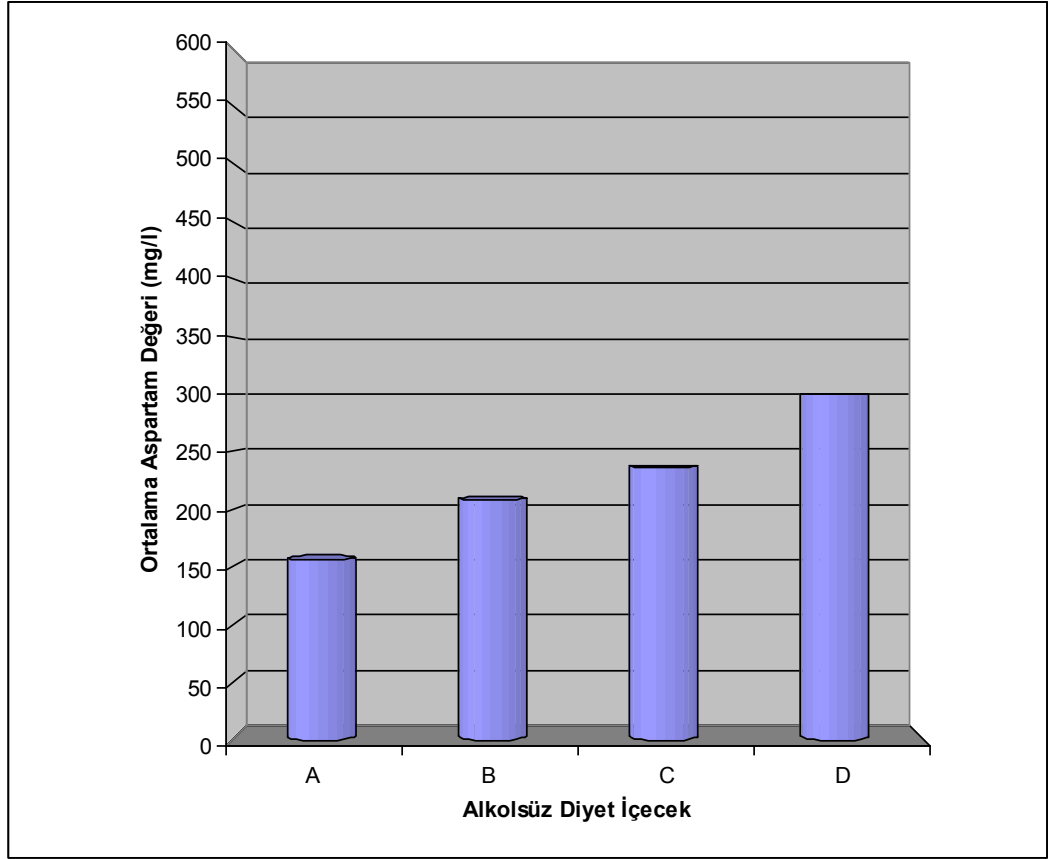
Tablo 15 incelendiğinde, aspartam açısından A, B, C, D markaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur (p<0.001).

Tablo 16: Farklı markalara ait (A,B,C,D,E,F) örneklerdeki aspartam değerlerinin (mg/l) TGK sınır değeri (600 mg/l) ile karşılaştırılması

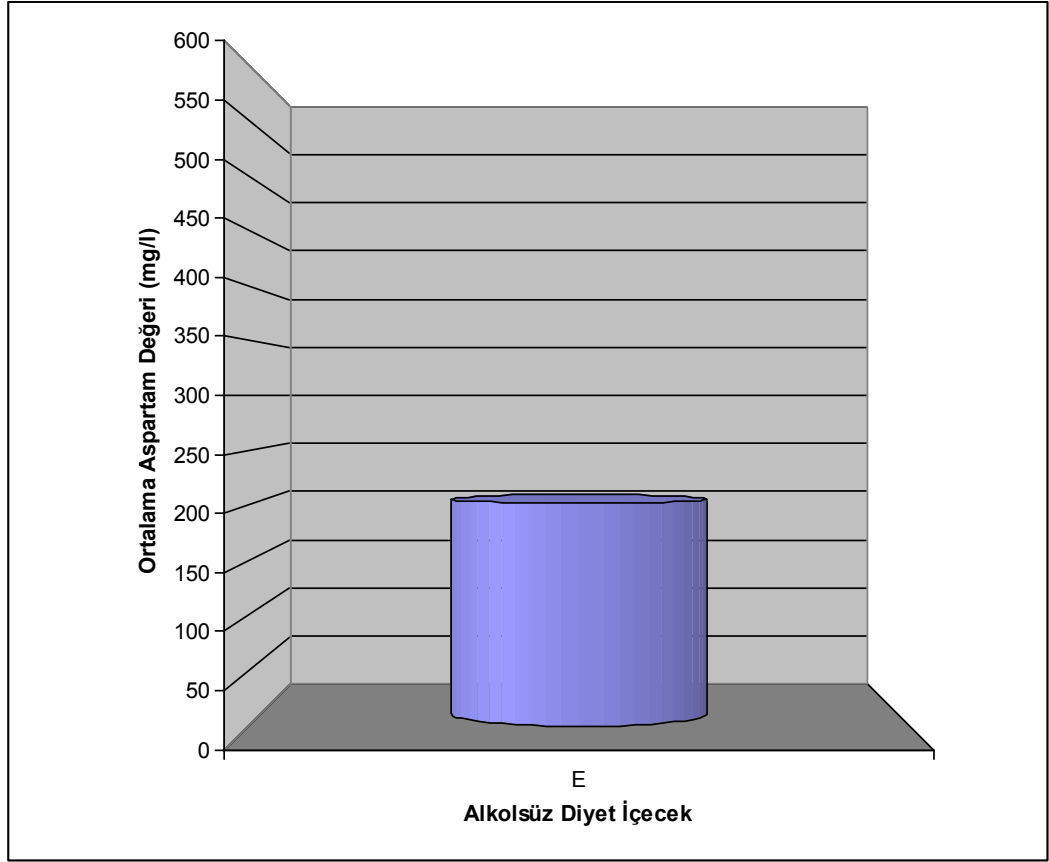
	N	X±S.H	Min.	Max.
A	15	156.81±7.29	102.03	205.04
B	15	208.67±8.97	155.99	273.27
C	15	236.58±17.91	149.74	370.48
D	15	299.54±26.19	180.51	457.43
E	15	202.39±8.08	143.95	246.06
F	15	223.28±14.08	156.88	303.59
t*				

*p<0.001

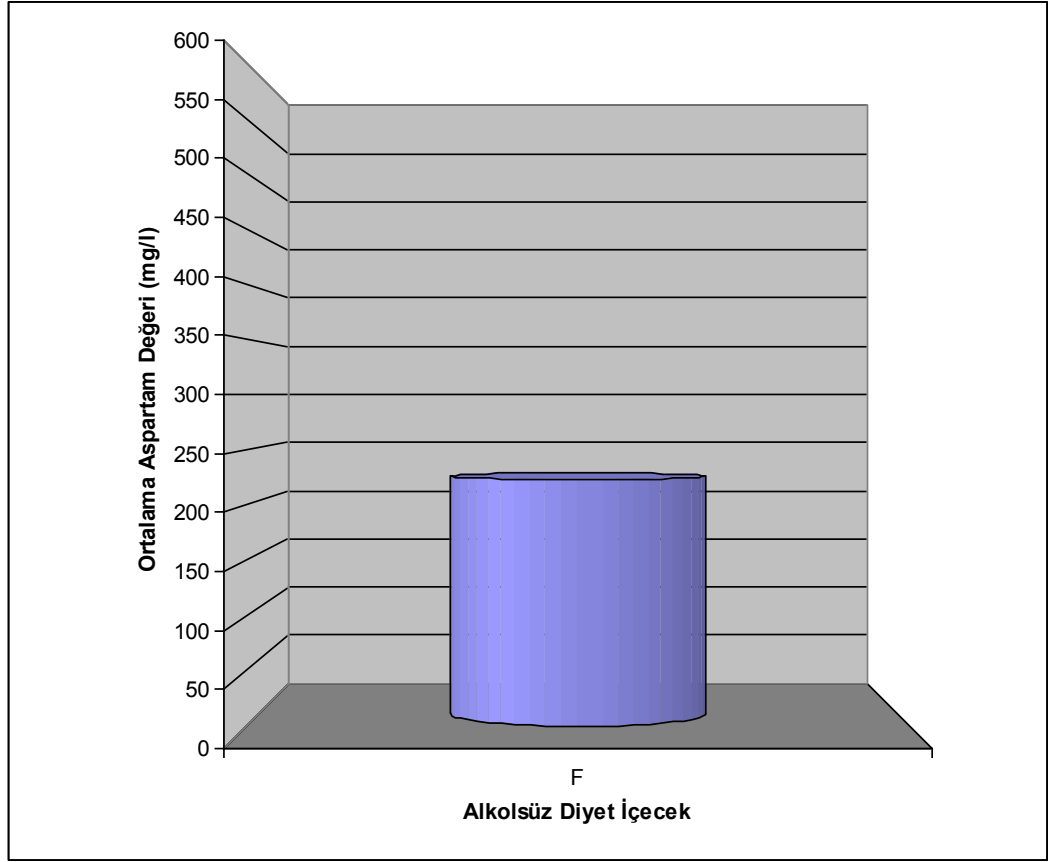
Tablo 16 incelendiğinde, bütün markalara ait (A, B, C, D, E, F) alkolsüz diyet içecek örneklerindeki ortalama aspartam değerleri, maksimum değer olarak belirtilen 600 mg/l'den düşüktür ve fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.001).



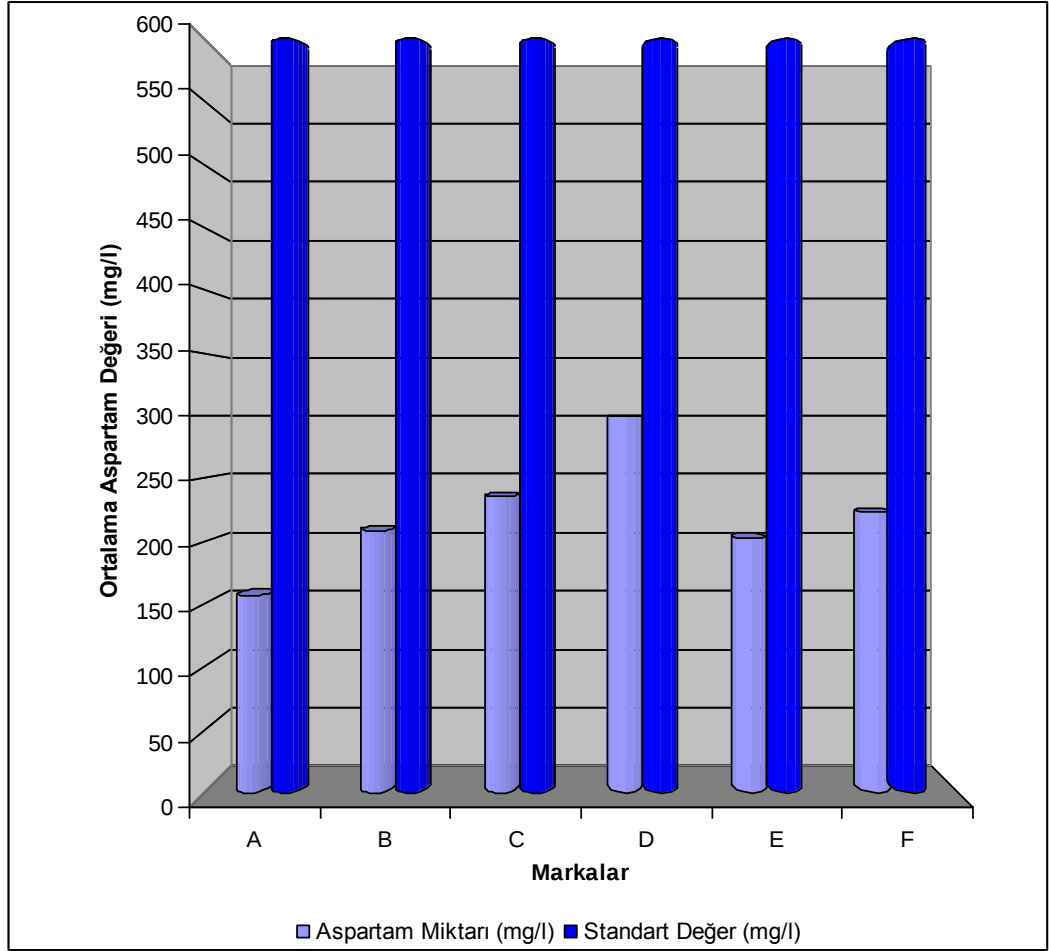
Şekil 7: Alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam miktarlarının dağılımı



Şekil 8: Alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam miktarları



Şekil 9: Alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam miktarları



Şekil 10: A,B,C,D,E,F markalı alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam değerlerinin (mg/l) TGK sınır değeri (600mg/l) ile karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Çalışmada, Ankara piyasasından temin edilen dört ayrı firmaya ait altı markanın (A, B, C, D, E, F) alkolsüz diyet içeceklerinden 15'er adet olmak üzere toplam 90 adet örneğin aspartam miktarları saptanmıştır.

Ankara piyasasından sağlanan alkolsüz diyet içecek örneklerinde aspartam varlığının ve miktarlarının belirlenmesi amacıyla spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır.

Analizi yapılan alkolsüz diyet içecek örneklerinin aspartam miktarları Tablo 9, 10, 11'de verilmiştir. Alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanmış olan aspartam miktarlarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 12'de verilmiştir.

Belirli konsantrasyonlarda standartların örneklerle ilavesiyle yapılan geri elde etme denemeleri başarılı sonuç vermiştir. Çalışmada alkolsüz diyet içecek örneklerine 6.2, 10 ve 15 mg/l konsantrasyonlarında standart aspartam ilave edilerek hesaplanan geri kazanım ortalama değeri %101.96 olarak bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksinde, alkolsüz diyet içeceklerde aspartamın tek başına veya diğer tatlandırıcılarla birlikte kullanımına izin verilen en yüksek değer 600 mg/l olarak belirtilmiştir¹⁶.

Araştırma sonuçları markalara göre incelendiğinde; A markasına ait örnekler minimum 102.03 mg/l, maksimum 205.04 mg/l ve ortalama 156.81 ± 7.29 mg/l aspartam içermektedir (Tablo 12). Bu markaya ait örneklerdeki ortalama aspartam miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo 16) düşük ve istatistiksel olarak fark önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

B markasına ait örnekler minimum 155.99 mg/l, maksimum 273.27 mg/l ve ortalama 208.67 ± 8.97 mg/l aspartam içermektedir (Tablo 12). Bu markaya ait örneklerdeki ortalama aspartam miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo 16) düşük ve istatistiksel olarak fark önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

C markasına ait örnekler minimum 149.74 mg/l, maksimum 370.48 mg/l ve ortalama 236.58 ± 17.91 mg/l aspartam içermektedir (Tablo 12). Bu markaya ait örneklerdeki ortalama aspartam miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo 16) düşük ve istatistiksel olarak fark önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

D markasına ait örnekler minimum 180.51 mg/l, maksimum 457.43 mg/l ve ortalama 299.54 ± 26.19 mg/l aspartam içermektedir (Tablo 12). Bu markaya ait örneklerdeki ortalama aspartam miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo 16) düşük ve fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

E markasına ait örnekler minimum 143.95 mg/l, maksimum 246.06 mg/l ve ortalama 202.39 ± 8.08 mg/l aspartam içermektedir (Tablo 12). Bu markaya ait örneklerdeki ortalama aspartam miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo 16) düşük ve fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

F markasına ait örnekler minimum 143.95 mg/l, maksimum 246.06 mg/l ve ortalama 202.39 ± 8.08 mg/l aspartam içermektedir (Tablo 12). Bu markaya ait örneklerdeki ortalama aspartam miktarı standart değer ile karşılaştırıldığında (Tablo 16) düşük ve fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

A markasına ait örneklerde ortalama aspartam değeri 156.81 ± 7.29 mg/l, B markasına ait örneklerde ortalama aspartam değeri 208.67 ± 8.97 mg/l (Tablo 13) olarak saptanmıştır. A ve B markalarına ait örneklerdeki aspartam miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

C markasına ait örneklerde ortalama aspartam değeri 236.58 ± 17.91 mg/l, D markasına ait örneklerde ortalama aspartam değeri 299.54 ± 26.19 mg/l (Tablo 14) olarak saptanmıştır. C ve D markalarına ait örneklerdeki aspartam miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$).

A, B, C, D markalarına ait örneklerdeki aspartam miktarları (Tablo 15) kendi aralarında incelendiğinde ise, aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

Markalara ait sonuçlar incelendiğinde (Tablo 13 ve 14); A ile B markaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuş, C ile D markaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$). Farklı markaların örneklerine ait sonuçlar incelendiğinde (Tablo 15), A, B, C ve D markaları arasındaki fark önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur.

Markalar arası karşılaştırmalar sonunda istatistiksel olarak önemli bulunan fark, markaların üretimlerindeki teknolojik farklılıklardan, kullandıkları tatlandırıcıların çeşitliliğinden, üretimde çalışan personelin yeterince bilinçlendirilmemesinden kaynaklanabilir.

Bu çalışmada etiketlerinde belirtilen miktardan daha fazla aspartam içeren alkolsüz diyet içecek (B ve E markalarına ait) tespit edildiği halde, Türk Gıda Kodeksinde belirtilen sınır değerden (600 mg/l) fazla aspartam içeren alkolsüz diyet içecek varlığı gözlenmemiştir.

Etiket bilgilerindeki farklılıklar firmaların üretim teknolojilerinden, personel bilinçsizliğinden, üretim sırasında aspartamın homojen dağılmamasından, ayrıca araştırmada uygulanan yöntem ve ekipman farklılığından kaynaklanabilir.

Gıdalara katılan aspartam miktarlarının tespiti ile ilgili ülkemizde ve yurtdışında yapılmış birçok çalışma mevcuttur.

Bayhan ve ark.'ları⁸³, 1997 yılında yaptıkları çalışmada alkolsüz gazlı diyet içecekler ve alkolsüz gazlı içecekler olmak üzere toplam 100 adet örnekte aspartam miktarlarını araştırmışlardır. Alkolsüz gazlı diyet içecek örneklerinde ortalama aspartam miktarlarını sırasıyla 560.16 ± 8.53 , 519.85 ± 13.73 , 261.47 ± 6.04 ve 219.97 ± 7.07 mg/l olarak saptadıklarını ve sonuçların etiketlerinde değer belirtilen iki marka üründe, belirtilen değerden fazla olduğunu ancak tüm çeşitlerde izin verilen sınır değerinin altında olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada alkolsüz gazlı içeceklerde saptanan ortalama aspartam miktarının 41.76 ± 3.58 mg/l olduğunu, etikette bilgisi olmadığı halde aspartam tespit edildiğini ve standartlara uygun olmadığını belirtmişlerdir. Bayhan ve ark.'larının alkolsüz gazlı diyet içecek örnekleriyle yaptıkları çalışmada saptadıkları aspartam miktarları çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden daha yüksektir. Bulgularımıza göre alkolsüz diyet içecek örneklerindeki ortalama aspartam miktarlarının yasal sınır değerini aşmadığı tespit edilmiştir.

Odacı ve ark.'ları⁷⁰, 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada diyet kola örneklerinde aspartam miktarlarını araştırmışlardır. Analiz edilen diyet kola örneklerinin etiketlerinde belirtilen değerlerin üstünde, izin verilen yasal değerinin altında aspartam içerdiği görülmüştür. Çalışmamızda da analiz edilen bazı örneklerdeki aspartam miktarlarının etiketlerinde belirtilen değerlerin üstünde fakat yasal değerinin altında olduğu tespit edilmiştir.

Yurt içinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, örneklerde saptanan aspartam miktarlarının standart değer ile uyumlu olduğu ancak bazılarının etiket bilgilerine uygun olmadığı belirlenmiştir. Bu bulgular araştırmamızda elde edilen sonuçları desteklemektedir.

Pesek ve ark.'ları⁷¹, 1997 yılında A.B.D.' de yaptıkları çalışmada diyet kola, diyet zencefilli gazoz, diyet buzlu çay örneklerinde aspartam miktarlarını araştırmışlardır. Diyet kola örneğinde 521 mg/l olarak belirtilen aspartam miktarını 507 mg/l, diyet zencefilli gazoz ve diyet buzlu çay örneklerinde ise aspartam miktarlarını sırasıyla 207 mg/l ve 143 mg/l olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Pesek ve ark.'larının diyet kola örneklerinde saptadığı aspartam miktarları çalışmamızda elde ettiğimiz miktarlardan oldukça yüksektir. Diyet buzlu çay ve diyet gazoz örneklerinin ise çalışmamızda analiz edilen bazı örneklerden daha düşük miktarlarda aspartam içerdiği bulunmuştur.

Kazimierz Wróbel ve Katarzyna Wróbel⁷⁸, 1997 yılında Meksika'da yaptıkları çalışmada, üç ayrı markaya ait 15 adet alkolsüz diyet içecek örneğinde ortalama aspartam miktarlarını 492.5 ± 5.4 mg/l, 494.1 ± 6.7 mg/l ve 529.3 ± 6.3 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacıların alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptadığı aspartam miktarlarının, çalışmamızda analiz edilen örneklere ait değerlerden yüksek olduğu görülmüştür.

Zhu ve ark.'ları⁸, 2005 yılında Çin'de iki ayrı markaya ait kola, meyve suyu ve konserve meyve örneklerinde yapay tatlandırıcıların tespiti için yaptıkları çalışmada aspartam miktarlarını sırasıyla 7234.66 mg/l, 2826.33 mg/l, 317.20 mg/l ve 729.70 mg/g olarak bildirmişlerdir.

Alghamdi ve ark.'ları⁷, 2005 yılında Riyad' da marketlerden sağladıkları 29 adet kola, limonata ve çilekli içecekte aspartam, kafein ve sodyum benzoat miktarlarını araştırmışlardır. Aspartam düzeylerini ortalama 246.7 mg/l olarak saptamışlardır. Araştırmacılar tüm örneklerin izin verilen yasal değerin altında aspartam içerdiğini bildirmişlerdir.

Lino ve ark.'ları⁷⁵, 2008 yılında Portekiz'de yaptıkları çalışmada 25 adet alkolsüz içecek, 13 adet mineral sulu alkolsüz içecek ve 10 adet nektarı kapsayan 48 içecekte ortalama aspartam miktarlarını sırasıyla 89 mg/l, 82 mg/l ve 73 mg/l konsantrasyonlarında bulduklarını bildirmişlerdir. 39 adet içecekteki aspartam miktarlarının Portekiz yasalarına göre izin verilen maksimum miktarı aşmadığı ve 9 adet içecekte aspartam tespit edilmediğini saptamışlardır.

Serdar ve Knežević⁷⁶, 2011 yılında Zagreb' de yaptıkları bir çalışmada marketlerden temin ettikleri toplam 104 adet bitki özlü alkolsüz içecek, meyve suyu, aromalı alkolsüz diyet içecek ve özel beslenme amaçlı ürün örneklerinde aspartam düzeylerinin 80.29 mg/l ile 876.42 mg/l arasında olduğunu saptamışlardır. Meyve suları ve özel beslenme amaçlı ürün örneklerinde aspartam miktarlarının izin verilen yasal sınırı aşmadığını bildirmişlerdir.

Bergamo ve ark.'ları⁷⁷, 2011 yılında Brezilya' da yaptıkları bir çalışmada marketlerden temin ettikleri kola örneklerinde 120 mg/l olarak belirtilen aspartam miktarını 94 ± 5 mg/l olarak bildirmişlerdir.

Hajjaj ve ark.'ları³⁰, 2012 yılında Danimarka'da yaptıkları bir çalışmada kolalarda aspartam miktarlarını araştırmışlardır. Kola örneklerinde ortalama aspartam miktarının 166.74 mg/l ile 589.47 mg/l arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Zhao ve ark.'ları⁸², 2013 yılında Çin'de yaptıkları bir çalışmada dört farklı markaya ait kırmızı şarap örneklerinde aspartam miktarlarını 1.68mg/l ile 5.36 mg/l arasında bulduklarını ancak, kırmızı şaraplarda aspartam kullanımının Çin'de yasaklanmış olduğunu bildirmişlerdir.

Stojkovic ve ark.'ları⁸¹, 2013 yılında İsviçre' de yapay tatlandırıcıların tespiti için yaptıkları bir çalışmada temin ettikleri iki ayrı markaya ait şekerleme örneklerinde ortalama aspartam miktarının belirlenemeyen değer ile 0.69 ± 0.02 mg/g arasında, üç ayrı markaya ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde ise belirlenemeyen değer ile 178 ± 4 mg/l arasında olduğunu belirtmişlerdir. Stojkovic ve ark.'larının alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptadıkları aspartam miktarları çalışmamızda elde ettiğimiz miktarlardan daha düşüktür.

Yapılan çalışmaların sonuçlarının farklılığı her çalışmada uygulanan farklı yöntem, çalışma koşullarına, üretim teknolojilerine, kullanılan materyallere, bölge farklılıklarına, depolama koşullarına ve ülkelerdeki farklı yasal limitlere bağlı olabilmektedir.

Çalışmada elde ettiğimiz sonuçları, daha önce yapılmış olan çalışmalarda saptanan aspartam miktarları ile karşılaştırdığımızda, saptadığımız miktarların daha düşük olduğu görülmektedir.

Etiket bilgisinde aspartam miktarı belirtilmiş olan örneklerde tespit ettiğimiz ortalama aspartam miktarları belirtilen değere yakın olmakla birlikte, bazı örneklerde daha yüksek miktarlarda aspartam olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar araştırma koşullarındaki teknik farklılıklar, depolama koşulları ve üretim sürecinde aspartamın bilinçsizce kullanımından kaynaklanabilmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği' ne göre, alkolsüz diyet içeceklerde aspartamın tek başına veya diğer tatlandırıcılarla birlikte kullanımına izin verilen limit değer 600 mg/l olarak belirtilmiştir¹⁶. Çalışılan tüm örneklerde tespit edilen aspartam miktarının limit değerden az olduğu görülmektedir.

Standartlara göre izin verilen miktarda aspartam kullanımı, ürünün duyusal kalitesinin raf ömrü boyunca korunması, diyetetik ürünlerin insan sağlığına olan katkısı için gereklidir. Yüksek miktarlarda ve bilinçsizce aspartam kullanımının özellikle fenilketonurili hastaların sağlığını tehlikeye atacağı göz ardı edilmemeli ve ürünlerin etiket bilgilerinde "Fenilalanin ihtiva eder." uyarısı belirtilmelidir.

6. SONUÇ

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sağlıklı ve dengeli beslenmeye verilen önemin artması, obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıkların artması insanların beslenmelerine ve almaları gereken günlük enerji miktarına daha çok dikkat etmesine neden olmuştur. Bu sebeple yapay tatlandırıcıların kullanımı büyük önem kazanmaya başlamıştır.

Yapılan çalışmalar, gıda endüstrisinde çok yaygın olarak kullanılan ve diğer yapay tatlandırıcılara göre birçok üstünlüğü bulunan aspartamın tüketim miktarının, insanlar için önerilen ADI değerini aşmaması durumunda insan sağlığı üzerinde kalıcı ve ciddi bir hasar oluşturmadığını göstermektedir. Aspartamın yapısını oluşturan bileşenler tüketilen birçok gıdada çok daha fazla miktarda bulunmakta olup bu bileşenler kana karışarak vücudun normal işleyişinde kullanılmakta, vücutta birikim yapmamaktadır. Fakat kimyasal katkı maddelerin kullanılan miktarlarına bağlı olarak toksik birer maddeye dönüşebileceğini unutmamak gerekmektedir.

Sonuç olarak, analize alınan bazı alkolsüz diyet içecek örneklerinin etiket bilgisinde verilen miktarlardan daha fazla aspartam içerdiği fakat hiçbir örneğin aspartam içeriğinin yasal sınırı aşmadığı tespit edilmiştir. Bu sebeple aspartamın güvenilir bir tatlandırıcı olarak kullanılabilmesi için kullanılan miktarlara dikkat edilmeli, bilinçsizce kullanımının önüne geçilmeli, insanlar bu konuda bilgilendirilmeli, aspartam içeren gıda maddelerinin etiketlerinin üzerinde tüketicilerin dikkatini çekecek boyutta bilgilerin ve uyarıların yazılması gerekmektedir.

7.ÖZET

ALKOLSÜZ DİYET İÇECEKLERDE ASPARTAM MİKTARLARININ SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEM İLE ARAŞTIRILMASI

Bu çalışma, Ankara piyasasında tüketime sunulan alkolsüz diyet içeceklerdeki aspartam miktarlarının saptanması ve Türk Gıda Kodeksi' ne (TGK) uygunluğunun değerlendirilmesi amacı ile yapılmıştır. Araştırmada Ankara piyasasından sağlanan dört ayrı firmaya ait altı farklı markalı olmak üzere toplam 90 adet alkolsüz diyet içecek örneği analiz edilmiştir. Alkolsüz diyet içecek örneklerindeki aspartam miktarlarının saptanmasında spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır.

A, B, C, D, E, F markalarına ait alkolsüz diyet içecek örneklerinin ortalama aspartam miktarları sırasıyla 156.81 ± 7.29 mg/l, 208.67 ± 8.97 mg/l, 236.58 ± 17.91 mg/l, 299.54 ± 26.19 mg/l, 202.39 ± 8.08 mg/l ve 223.28 ± 14.08 mg/l olarak saptanmıştır.

Araştırmada elde edilen sonuçlara göre, tüm markalara ait alkolsüz diyet içecek örneklerinde saptanan ortalama aspartam miktarları Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen sınır değerden (600 mg/l) düşüktür.

Aspartamın güvenilir bir tatlandırıcı olarak kullanılabilmesi için üretimden tüketime kadar gerekli önlemlerin alınması ve rutin kontrollerin yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Aspartam, tatlandırıcılar, spektrofotometrik yöntem, gıda katkı maddeleri.

8.SUMMARY

THE DETERMINATION OF ASPARTAME AMOUNTS IN SOFT DRINKS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

This study is made with the purpose of determining amounts of aspartame in soft drinks which consumed in Ankara market and evaluating whether these levels were within the Turkish Food Codex values or not. In this research, totally 90 soft drink samples from six different brands belonging to four separate firms were analyzed provided by Ankara market. Spectrophotometric method for the determination of aspartame in soft drink samples was used.

Mean amounts of aspartame in soft drink samples of A, B, C, D, E and F brands were found as 156.81 ± 7.29 mg/l, 208.67 ± 8.97 mg/l, 236.58 ± 17.91 mg/l, 299.54 ± 26.19 mg/l, 202.39 ± 8.08 mg/l and 223.28 ± 14.08 mg/l, respectively.

Our data showed that mean amounts of aspartame in soft drinks of all brands were lower than the Turkish Food Codex limit value (600 mg/l).

From production to consumption essential precautions must be taken and usual controls must be carried out, to use aspartame as a reliable sweetener.

Keywords: Aspartame, sweeteners, spectrophotometric method, food additives.

9. KAYNAKLAR

1. Saldamlı İ, Uygun Ü. Gıda katkı maddeleri. İçinde: Saldamlı İ, editör. Gıda Kimyası. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Basımevi; 1998. s.487-522.
2. Altuğ T. Gıda katkı maddeleri. İçinde: Altuğ T, editör. Gıda Katkı Maddeleri. 3.Baskı. İzmir: Sidas Medya Ltd. Şti.; 2009. s.1-16.
3. Boğa A, Binokay S. Gıda katkı maddeleri ve sağlığımıza etkileri. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 2010; 19: 141-154.
4. Türker S. Gıda katkı maddelerinin gıdalardaki kullanım miktarları. 1. Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, Ankara:19-20 Kasım 2011; 145-152.
5. Erden Çalışır Z, Çalışkan D. Gıda katkı maddeleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. Ankara Ecz Fak Derg 2003; 32 (3) : 193-206.
6. Erdoğan Ş. Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Bazı Gıdalarda Sentetik Boya Miktarlarının Araştırılması. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007.
7. Alghamdi AH, Alghamdi AF, Alwarthan AA. Determination of content levels of some food additives in beverages consumed in Riyadh City. J King Saud Univ 2005; 18(2): 99-109.
8. Zhu Y, Guo Y, Ye M, James FS. Separation and simultaneous determination of four artificial sweeteners in food and beverages by ion chromatography. J Chromatogr A 2005; 1085: 143-146.

9. Özbek(Özüdoğru) N, Yentür G. Gıdalarda aspartamın katkı maddesi olarak kullanılması. Gıda 1993; 18 (1): 67-71.
10. Gliemmo MF, Schelegueda LI, Gerschenson LN, Campos CA. Effect of aspartame and other additives on the growth and thermal inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in acidified aqueous systems. Food Res Int 2013; 53: 209-217.
11. Şimşek H. Gıda Katkı Maddeleri Rehberi. 1.Baskı. İstanbul: Fazilet Neşriyat ve Tic. A.Ş.; 2010. s.150-164.
12. Yebra-Biurrun MC. Sweeteners. In: Worsfold P, Townshend A, Poole C, editors. Encyclopedia of Analytical Science. 2 nd ed. Exeter: Academic Press; 2005. p.562-572.
13. Bassoli A, Merlini L. Sweeteners. In: Caballero B, Finglas P, Trugo L, editors. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2 nd ed. Baltimore: Academic Press; 2003. p.5688-5695.
14. Altuğ T, Elmacı Y. Tatlandırıcılar. İçinde : Altuğ T, editör. Gıda Katkı Maddeleri. 3.Baskı. İzmir : Sidas Medya Ltd. Şti.; 2009. s.201-223.
15. Nabors LO. Alternative Sweeteners: An Overview. In: Nabors LO, editor. Alternative Sweeteners. 3 rd ed. USA: Marcel Dekker, Inc.; 2001. s.1-12.
16. Gıda Maddelerinde Kullanılan Tatlandırıcılar Tebliği, Türk Gıda Kodeksi, (No: 2006/45), 2006.
17. Sardesai VM, Waldshan TH. Natural and synthetic intense sweeteners. J Nutr Biochem 1991; 2: 236-244.

18. Kashanian S, Khodaei MM, Kheirdoosh F. In vitro DNA binding studies of aspartame, an artificial sweetener. *J Photoch Photobio B: Biology* 2013; 120: 104-110.
19. Avenoz A, París M, Peregrina JM, Alías M, López MP, García JI, Cativiela C. Aspartame analogues containing 1-amino-2-phenylcyclohexanecarboxylic acids (C₆Phe). *Tetrahedron* 2002; 58: 4899-4905.
20. Fisher RS. Aspartame, neurotoxicity, and seizures: a review. *J Epilepsy* 1989; 2: 55-64.
21. Soffritti M, Belpoggi F, Manservigi M, Tibaldi E, Lauriola M, Falcioni L, Bua L. Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, induces cancers of the liver and lung in male Swiss mice. *Am J Ind Med* 2010; 53: 1197-1206.
22. Karikas GA, Schulpis KH, Reclos G, Kokotos G. Measurement of molecular interaction of aspartame and its metabolites with DNA. *Clin Biochem* 1998; 31(5): 405-407.
23. Allea R, Borghi B, Santarelli L, Strafella E, Carbonari D, Bracci M, Tomasetti M. In vitro effect of aspartame in angiogenesis induction. *Toxicol in Vitro* 2011; 25: 286-293.
24. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J, Kroes RM, Marsh GM, Pariza MW, et al. Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Crit Rev Toxicol* 2007; 37: 629-727.

25. Iyyaswamy A, Rathinasamy S. Effect of chronic exposure to aspartame on oxidative stress in the brain of albino rats. *J. Biosci.* 2012; 37(4): 679-688.
26. Medeiros RA, Carvalho AE, Rocha-Filho RC, Fatibello-Filho O. Simultaneous square-wave voltammetric determination of aspartame and cyclamate using a boron-doped diamond electrode. *Talanta* 2008; 76: 685-689.
27. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editors. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. UK and USA: Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association; 2009.
28. Wafwoyo W, Hansen PMT, Chism GW. Interaction of aspartame with selected hydrocolloids: solubility of aspartame. *Food Hydrocolloid* 1999; 13: 299-302.
29. Yakıcı T. Portakal aromalı içeceklerde sıcaklık, pH ve depolama süresinin aspartam stabilitesi üzerine etkisi. Yüksek Lisans. Edirne: Trakya Üniversitesi; 2006.
30. Hajjaj MA, Poulsen MG, Nielsen MHL, Dominguez JV. Determination of Aspartame in Soft Drinks Using HPLC [online]. 2012 [cited 2013 Feb 5]. Available from: URL: <http://zaguan.unizar.es/TAZ/EINA/2012/8587/TAZ-PFC-2012-430.pdf>
31. Peña RM, Lima JLFC, Saraiva MLMFS. Sequential injection analysis-based flow system for the enzymatic determination of aspartame. *Anal Chim Acta* 2004; 514: 37-43.

32. Rashidian M, Fattahi A. Comparison of thermochemistry of aspartame (artificial sweetener) and glucose. *Carbohydrate Research* 2009; 344: 127-133.
33. Rocha-Selmi GA, Bozza FT, Thomazini M, Bolini HMA, Fávaro-Trindade CS. Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. *Food Chem* 2013; 139: 72-78.
34. Schiffman SS, Booth BJ, Carr BT, Losee ML, Sattely-Miller EA, Graham BG. Investigation of synergism in binary mixtures of sweeteners. *Brain Res Bull* 1995; 38(2): 105-120.
35. Homler BE. Properties and stability of aspartame. *Food Technol-Chicago* 1984; 38: 50-55.
36. Gliemmo MF, Calvino AM, Tamasi O, Gerschenson LN, Campos CA. Interactions between aspartame, glucose and xylitol in aqueous systems containing potassium sorbate. *LWT* 2008; 41: 611-619.
37. Kim SK, Jung MY, Kim SY. Photodecomposition of aspartame in aqueous solutions. *Food Chem* 1997; 59(2): 273-278.
38. Wetzel CR, Bell LN. Chemical stability of encapsulated aspartame in cakes without added sugar. *Food Chem* 1998; 63(1): 33-37.
39. Gibbs BF, Alli I, Mulligan CN. Simple and rapid high-performance liquid chromatographic method for the determination of aspartame and its metabolites in foods. *J Chromatogr A* 1996; 725: 372-377.

40. Janssen PJCM, Heijden CA. Aspartame: review of recent experimental and observational data. *Toxicology* 1988; 50: 1-26.
41. Stegink LD. Aspartame metabolism in humans: acute dosing studies. In: Stegink LD, Filer LJ, editors. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker, Inc; 1984. s:509-553.
42. Baydar T, Şahin G. Aspartam metabolizması ve toksisitesi. *T Klin Tıp Bilimleri* 1997; 17: 141-152.
43. Stegink LD. The aspartame story: a model for the clinical testing of a food additive. *Am J Clin Nutr* 1987; 46: 204-215.
44. Harper AE. Phenylalanine metabolism. In: Stegink LD, Filer LJ, editors. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc; 1984. s:77-109.
45. Öz ŞG. Aspartam: güvenilirliği üzerine yapılan tartışma. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2003; 56(2): 113-120.
46. Conceição MM, Fernandes Jr. VJ, Souza AG, Nascimento TG, Aragão CFS, Macedo RO. Study of thermal degradation of aspartame and its products of conversion in sweetener using isothermal thermogravimetry and HPLC. *Thermochim Acta* 2005; 433: 163-169.
47. Humphries P, Pretorius E, Naudé H. Direct and indirect cellular effects of aspartame on the brain. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 451–462.
48. Köksal G, Özel HG. *Metabolik Hastalıklarda Beslenme*. 1. Basım. Ankara: Klasmat Matbaacılık; 2008.

49. Hendriksz CJ, Walter JH. Update on phenylketonuria. *Current paediatrics* 2004; 14: 400-406.
50. Cleary MA. Phenylketonuria. *Paediatrics and Child Health* 2010; 21(2): 61-64.
51. Stegink LD. Aspartate and glutamate metabolism. In: Stegink LD, Filer LJ, editors. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc; 1984. s:47-76.
52. Sperber EF, Moshé SL, Dow-Edwards DL. Prenatal exposure to aspartame and seizure susceptibility. *J Epilepsy* 1995; 8: 51-56.
53. Trocho C, Pardo R, Rafecas I, Virgili J, Remesar X, Fernández-López JA, Alemany M. Formaldehyde derived from dietary aspartame binds to tissue components in vivo. *Life Sci* 1998; 63(5): 337-349.
54. Gilli G, Schilirò T, Traversi D, Pignata C, Cordara S, Carraro E. Formaldehyde adduct to human serum albumin with reference to aspartame intake. *Environ Toxicol Phar* 2008; 25: 89-93.
55. Filer LJ, Stegink LD. Aspartame metabolism in normal adults, phenylketonuric heterozygotes, and diabetic subjects. *Diabetes Care* 1989; 12(1): 67-74.
56. Tephly TR. Comments on the purported generation of formaldehyde and adduct formation from the sweetener aspartame. *Life Sci* 1999; 65(13): 157-160.

57. Galletti GC, Bocchini P. High-performance liquid chromatography with electrochemical detection of aspartame with a post-column photochemical reactor. *J Chromatogr A* 1996; 729: 393-398.
58. Duffy VB, Sigman-Grant M. Position of the American Dietetic Association: Use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 255-275.
59. Ishii H, Koshimizu T, Usami S, Fujimoto T. Toxicity of aspartame and its diketopiperazine for wistar rats by dietary administration for 104 weeks. *Toxicology* 1981; 21: 91-94.
60. Butchko HH, Stargel WW. Aspartame: scientific evaluation in the postmarketing period. *Regul Toxicol Pharm* 2001; 34: 221-233.
61. Cantarelli MA, Pellerano RG, Marchevsky EJ, Camiña JM. Simultaneous determination of aspartame and acesulfame-K by molecular absorption spectrophotometry using multivariate calibration and validation by high performance liquid chromatography. *Food Chem* 2009; 115: 1128-1132.
62. Butchko HH, Stargel WW, Comer CP, Mayhew DA, Benninger C, Blackburn GL, et al. Aspartame: review of safety. *Regul Toxicol Pharm* 2002; 35: 1-93.
63. Abhilash M, Paul MVS, Varghese MV, Nair RH. Effect of long term intake of aspartame on antioxidant defense status in liver. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 1203-1207.
64. Glória MBA. Aspartame. In: Caballero B, Finglas P, Trugo L, editors. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. 2 nd ed. Baltimore: Academic Pres; 2003. p. 332-338.

65. Idris M, Varshney KM, Sudhakar P, Shukla SK, Baggi TR. HPLC determination of aspartame in tabletop sweeteners by precolumn derivatization using 2,4-dinitrofluorobenzene. *Int J Pharm Pharm Sci* 2012; 4(1): 522-527.
66. Nantachit K, Putiyanan S, Phoowiang P. Identification and determination methods of aspartame. *Thai Pharm Health Sci J* 2008; 3(2): 214-218.
67. Anonymous. Council Directive of 21 December 1988 on the approximation of the laws of the Member States concerning food additives authorized for use in foodstuffs intended for human consumption [online]. 1994 [cited 2013 Feb 1]. Available from: URL: <http://www.fsai.ie/uploadedfiles/dir89.107.pdf>
68. Yılmaz N. Yapay Tatlandırıcılar ve Gıda Sanayiinde Kullanımları. Yüksek Lisans. Bursa: Uludağ Üniversitesi; 2007.
69. Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, Türk Gıda Kodeksi, Resmi Gazete Sayı: 28693, 2013.
70. Odacı D, Timur S, Telefoncu A. Carboxyl esterase-alcohol oxidase based biosensor for the aspartame determination. *Food Chem* 2004; 84: 493-496.
71. Pesek JJ, Matyska MT. Determination of aspartame by high-performance capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 1997; 781: 423-428.
72. Mazurek S, Szostak R. Quantification of aspartame in commercial sweeteners by FT-Raman spectroscopy. *Food Chem* 2011; 125: 1051-1057.

73. Medeiros RA, Carvalho AE, Rocha-Filho RC, Fatibello-Filho O. Simultaneous square-wave voltammetric determination of aspartame and cyclamate using a boron-doped diamond electrode. *Talanta* 2008; 76: 685-689.
74. Qu F, Qi Z, Liu K, Mou S. Determination of aspartame by ion chromatography with electrochemical integrated amperometric detection. *J Chromatogr A* 1999; 850: 277-281.
75. Lino CM, Costa IM, Pena A, Ferreira R, Cardoso SM. Estimated intake of the sweeteners, acesulfame-K and aspartame, from soft drinks, soft drinks based on mineral waters and nectars for a group of Portuguese teenage students. *Food Addit Contam* 2008; 25(11): 1291-1296.
76. Serdar M, Knežević Z. Determination of artificial sweeteners in beverages and special nutritional products using high performance liquid chromatography. *Arh Hig Rada Toksikol* 2011; 62: 169-173.
77. Bergamo AB, Silva JAF, Jesus DP. Simultaneous determination of aspartame, cyclamate, saccharin and acesulfame-K in soft drinks and tabletop sweetener formulations by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. *Food Chem* 2011; 124: 1714-1717.
78. Wróbel K, Wróbel K. Determination of aspartame and phenylalanine in diet soft drinks by high-performance liquid chromatography with direct spectrofluorimetric detection. *J Chromatogr A* 1997; 773: 163-168.

79. Zyglar A, Wasik A, Namiesnik J. Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in foodstuffs. *Trend Anal Chem* 2009; 28(9): 1082-1102.
80. Sabah S, Scriba GKE. Determination of aspartame and its degradation and epimerization products by capillary electrophoresis. *J Pharmaceut Biomed* 1998; 16: 1089-1096.
81. Stojkovic M, Mai TD, Hauser PC. Determination of artificial sweeteners by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection optimized by hydrodynamic pumping. *Anal Chim Acta* 2013; 787: 254-259.
82. Zhao YG, Cai MQ, Chen XH, Pan SD, Yao SS, Jin MC. Analysis of nine food additives in wine by dispersive solid-phase extraction and reversed-phase high performance liquid chromatography. *Food Res Int* 2013; 52: 350-358.
83. Bayhan A, Küçükkömürler S, Yentür G. Bazı gıda maddelerine katılan yapay tatlandırıcılar üzerinde araştırmalar. *Gıda* 1997; 22(3): 187-191.
84. Lau OW, Luk SF, Chan WM. Spectrophotometric determination of aspartame in soft drinks with ninhydrin as reagent. *Analyst* 1988; 113: 765-768.
85. Daniel NW. *Bioistatistic: A foundation for analysis in the health sciences*, 5th ed, New York: Wiley; 1991.

10. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimi almaya karar vermemden tez çalışmamın sonuçlanmasına kadar ki süreçte yardımlarını esirgemeyen Sayın Danışman Hocam Prof.Dr. Gülderen YENTÜR' e, öğrenimim süresince engin bilgilerinden faydalandığım Sayın Hocam Prof.Dr. Aysel BAYHAN ÖKTEM' e, laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında daima desteklerini, bilgilerini, yardımlarını ve sonsuz hoşgörülerini benden esirgemeyen Uzm. Dr. Buket ER ve Ar. Gör. Dr. Burak DEMİRHAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi desteğiyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, tezimi tamamlayabilmem için her türlü fedakarlığı yaparak anneliğin ne demek olduğunu bana bir kez daha öğreten ve beni her zaman teşvik eden başta annem Nazime DAL'a, bugünlere gelmemde ve okumayı sevmemde büyük pay sahibi olan babam Mehmet Salih DAL'a, tüm aksiliklere rağmen inancımı kaybetmemem gerektiğini bana öğreten ve en zor zamanlarımda hep yanımda olan eşim Gökhan ÇELİK'e ve hayatımıza beklenmedik bir şekilde renk katan en değerli varlığım oğlum Atila Uras ÇELİK'e sonsuz sevgi ve sabırlarından dolayı teşekkür ederim.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Elif

Soyadı: Çelik

Doğum Yeri ve Tarihi: Kdz. Ereğli, 30.08.1984

Eğitimi: Lisans- Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği, 2006

Lise- Kdz. Ereğli Anadolu Lisesi, 2002

Yabancı Dili: İngilizce

Medeni Hali: Evli, 1 çocuk sahibi

Çalıştığı Kurumlar ve Yılı:

PTT Genel Müdürlüğü ANKARA, 2009

Saray Bisküvi ve Gıda Sanayi A.Ş. KARAMAN, 2007-2008