

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra eğer basılacak ise yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .

Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;

← Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

GIDA TAKVİYELERİNDE ETİL ALKOL TAYİNİ İÇİN
ANALİTİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE
VALİDASYONU

SEDAT SEL

DANIŞMAN
PROF. DR. SERAP SAĞLIK ASLAN

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI

İSTANBUL-2023

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŐEKKÖR

Çalıőmamın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, samimiyeti ile yanımda olan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Serap Sağlık Aslan'a ve desteğini hiç esirgemeyen değerli tez izleme komitesi üyelerim Sayın Prof. Dr. Duriőehvar Özer Ünal ve Doç. Dr. Gülcemal Yıldız'a, bu süreçte her zaman varlıklarını hissettirip yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

BEYAN	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xv
ÖZET.....	xvii
ABSTRACT	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Gıda Takviyeleri.....	4
2.1.1. Gıda Takviyelerinin Sınıflandırılması	4
2.1.1.1. Vitaminler	5
2.1.1.2. Mineraller	19
2.1.1.3. Bitkisel Gıda Takviyeleri.....	22
2.1.1.4. Fonksiyonel Gıda Takviyeleri	23
2.1.2. Gıda Takviyelerinin Kullanımı.....	24
2.1.3. Gıda Takviyeleri ve İlaç Etkileşimleri.....	26
2.1.4. Gıda Takviyeleri Mevzuatı.....	27
2.1.5. Gıda Takviyelerinin Pazarı.....	29
2.1.5.1. Dünyada Gıda Takviyelerinin Pazarı.....	29
2.1.5.2. Gıda Takviyeleri Pazarında Türkiye.....	31
2.1.6. Gıda Takviyelerinde Helal Uygulamalar.....	31
2.1.6.1. Gıda ve Gıda Takviyelerinde Alkol Kullanımı	33
2.1.6.2. Gıda Takviyelerinde Helal Gıda Sertifika Uygulamaları	37
2.2. Etken Maddelerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	40
2.2.1. Etil Alkol	40
2.2.2. Metil Alkol	46
2.3. Geliştirilmiş Analiz Yöntemleri ve Yapılan Çalışmalar	47

2.4. Gaz Kromatografisi (GC) Çalışma Prensibi.....	51
2.4.1. Alev İyonizasyon Detektörü (FID) Çalışma Prensibi.....	53
2.4.2. Headspace (Tepe Boşluğu) Gaz Kromatografisi (HS-GC) Çalışma Prensibi ..	54
3. GEREÇ VE YÖNTEM	58
3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler	58
3.2. Çözeltiler	58
3.2.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Stok ve Standart Çözeltilerin Hazırlanması	58
3.2.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Stok ve Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	59
3.3. Cihazlar ve Diğer Gereçler	59
3.4. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Çalışmalar	61
3.4.1. İç Standart Seçimi.....	62
3.4.2. Kolon Seçimi	62
3.4.3. Fırın Sıcaklık Programının Belirlenmesi.....	62
3.4.4. Enjektör Sıcaklığının Belirlenmesi.....	63
3.4.5. Detektör Sıcaklığının Belirlenmesi	63
3.4.6. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Koşullarının Belirlenmesi.....	63
3.4.7. Etil Alkol Safsızlık Çalışmaları.....	64
3.5. Yöntem Geliştirme Çalışmaları Sonucunda Elde Edilen Nihai Analitik Yöntem	65
3.5.1. Alev İyonizasyon Dedektörlü Gaz Kromatografisi ile Geliştirilen Yöntem	65
3.5.2. Headspace Alev İyonizasyon Dedektörlü Gaz Kromatografisi ile Geliştirilen Yöntem	65
3.6. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu	66
3.6.1. Seçicilik	66
3.6.1.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Seçicilik Çözeltilerinin Hazırlanması	66
3.6.1.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Seçicilik Çözeltilerinin Hazırlanması	67
3.6.2. Doğrusallık, Teşhis Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)	68
3.6.2.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Doğrusallık, Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı Çözeltilerinin Hazırlanması	68

3.6.2.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Doğrusallık, Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı Çözeltilerinin Hazırlanması.....	69
3.6.3. Doğruluk (Geri Kazanım).....	71
3.6.3.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Doğruluk Çözeltilerinin Hazırlanması.....	71
3.6.3.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Doğruluk Çözeltilerinin Hazırlanması.....	71
3.6.4. Kesinlik.....	72
3.6.5. Sağlamlık.....	72
3.7. Numune Çözeltilerinin Hazırlanması.....	73
3.7.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Numune Çözeltilerinin Hazırlanması.....	73
3.7.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Numune Çözeltilerinin Hazırlanması.....	74
4. BULGULAR.....	75
4.1. Metot Geliştirme.....	75
4.1.1. Fırın Sıcaklık Programının Belirlenmesi.....	75
4.1.1.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Fırın Sıcaklık Programının Belirlenmesi.....	75
4.1.1.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Fırın Sıcaklık Programının Belirlenmesi.....	79
4.1.2. Etil Alkol Safsızlık Çalışması.....	81
4.2. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu.....	82
4.2.1. Seçicilik.....	82
4.2.1.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Seçicilik Çalışması.....	82
4.2.1.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Seçicilik Çalışması.....	85
4.2.2. Doğrusallık, Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı.....	88
4.2.2.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Doğrusallık, Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı.....	88
4.2.2.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Doğrusallık, Teşhis Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ).....	92
4.2.3. Doğruluk Çalışmaları.....	97

4.2.3.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Doğruluk Çalışmaları	97
4.2.3.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Doğruluk Çalışmaları	98
4.2.4. Kesinlik Çalışmaları	99
4.2.4.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Kesinlik Çalışmaları	99
4.2.4.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Kesinlik Çalışmaları	100
4.2.5. Sağlamlık Çalışması	101
4.2.5.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Sağlamlık Çalışmaları	101
4.2.5.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Sağlamlık Çalışmaları	102
4.3. Numune Analizi	103
4.3.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Numune Analizi	103
4.3.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Numune Analizi	105
5. TARTIŞMA	108
KAYNAKLAR	112
HAM VERİLER	128
FORMLAR	129
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	130

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Bazı vitamin ve minerallerin ilaçlarla olan etkileşimleri.....	27
Tablo 2-2: Etil alkol miktarına göre bazı alkollü ürünlerin helallik durumu	35
Tablo 2-3: Pişirilme sonrası yemeklerde alkol oranları	37
Tablo 2-4: Tipik gaz kromatografisi detektörleri ve algılama limitleri (184).....	53
Tablo 4-1: 80°C'den 100°C'ye dakikada 5°C artan fırın sıcaklık programında metil alkol ve etil alkol piklerinin Rs ve Tf değerleri.....	79
Tablo 4-2: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında metil alkol ve etil alkol piklerinin Rs ve Tf değerleri.....	80
Tablo 4-3: Etil alkol safsızlıkları.....	82
Tablo 4-4: Metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımının alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi analizinden elde edilen alıkonma zamanı, alan ve alan oranı tablosu	89
Tablo 4-5: Metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımının alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi analizinden elde edilen alıkonma zamanı, alan ve alan oranı tablosu (Tablo 4-4 devamı)	90
Tablo 4-6: Metil alkol ve etil alkolün 9 farklı konsantrasyondaki çözelti karışımlarından elde edilen doğrusallık verileri	92
Tablo 4-7: Metil alkol ve etil alkolün 9 farklı konsantrasyondaki çözelti karışımlarının kalibrasyon grafiğinden hesaplanan etken madde / iç standart pik alanı oranları, standart sapma, eğim, LOD, LOQ, % RSD verileri.....	92
Tablo 4-8: Metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımının headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi analizinden elde edilen alıkonma zamanı, alan ve alan oranı tablosu	93
Tablo 4-9: Metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımının headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi analizinden elde edilen alıkonma zamanı, alan ve alan oranı tablosu (Tablo 4-8 devamı)	94
Tablo 4-10: Metil alkol ve etil alkolün 9 farklı konsantrasyondaki çözelti karışımlarından elde edilen doğrusallık verileri	96

Tablo 4-11: Metil alkol ve etil alkolün 9 farklı konsantrasyondaki çözelti karışımlarının kalibrasyon grafiğinden hesaplanan etken madde / iç standart pik alanı oranları, standart sapma, eğim, LOD, LOQ, % RSD verileri.....	96
Tablo 4-12: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltilerine ait doğruluk çalışması verileri ..	97
Tablo 4-13: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltilerine ait doğruluk çalışması verileri ..	98
Tablo 4-14: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltisinin oda sıcaklığında 24 saat içerisinde yapılan analizlere ait gün içi kesinlik verileri ..	99
Tablo 4-15: Metil alkol ve etil alkol çözeltisinin +4 °C sıcaklıkta 48 saat arayla günler arası kesinlik verileri ..	100
Tablo 4-16: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltisinin oda sıcaklığında 24 saat içerisinde yapılan analizlere ait gün içi kesinlik verileri ..	100
Tablo 4-17: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltisinin +4 °C sıcaklıkta 48 saat arayla günler arası kesinlik verileri ..	101
Tablo 4-18: Metil alkol ve etil alkol çözeltisine ait sağlamlık verileri (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL) ..	102
Tablo 4-19: Metil alkol ve etil alkol çözeltisine ait sağlamlık verileri (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL) ..	103
Tablo 4-20: Alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile elde edilen numune analizi verileri.....	105
Tablo 4-21: Headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile elde edilen numune analizi verileri.....	107

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Gıdalarda ve balık karaciğer yağlarında bulunan retinoidlerin yapıları. (a) A ₁ vitamini; (b) A ₂ vitamini; (c) 13-cis-retinol; (d) 9-cis-retinol; (e) 9,13-dicis-retinol (24).	6
Şekil 2-2: D Vitamininin yapısı.....	7
Şekil 2-3: E Vitamininin yapısı.....	8
Şekil 2-4: K Vitamininin yapısı,ç(a) K1 vitamini, (b) K2 vitamini	9
Şekil 2-5: C Vitamininin (L-askorbik Asit) yapısı.....	10
Şekil 2-6: B ₁ Vitamininin yapısı	11
Şekil 2-7: B ₂ Vitamininin yapısı	12
Şekil 2-8: B ₃ Vitamininin yapısı	13
Şekil 2-9: B ₅ Vitamininin yapısı, (Pantotenik asit)	14
Şekil 2-10: B ₆ Vitamininin yapısı	15
Şekil 2-11: B ₇ vitamininin yapısı	16
Şekil 2-12: B ₉ vitamini yapısı	18
Şekil 2-13: B ₁₂ Vitamini yapısı	19
Şekil 2-14: Gıda takviyeleri kullanımının gerekli görüldüğü bazı durumlar	25
Şekil 2-15: Katılımcıların pandemide kullandıkları vitaminler ve mineraller	26
Şekil 2-16: Etil alkolün kimyasal yapısı.....	41
Şekil 2-17: Asetal (1,1-dietoksietan).....	41
Şekil 2-18: Asetaldehit	41
Şekil 2-19: Propan-2-on (Aseton)	42
Şekil 2-20: Benzen	42
Şekil 2-21: Sikloheksan.....	42
Şekil 2-22: Metil alkol.....	42
Şekil 2-23: Bütan-2-onç (Metil etil keton)	42
Şekil 2-24: 4-metilpentan-2-on (Metil izobütil keton)	43
Şekil 2-25: Propan-1-ol (Propanol)	43
Şekil 2-26: Propan-2-ol(İzopropil alkol).....	43
Şekil 2-27: Bütan-1-ol	43
Şekil 2-28: Bütan-2-ol	43
Şekil 2-29: 2-metilpropan-1-ol (izobütanal).....	44
Şekil 2-30: Furan-2-karbaldehit (Furfural).....	44

Şekil 2-31: 2-metilpropan-2-ol (1,1-dimetiletil alkol)	44
Şekil 2-32: 2-metilbütan-2-ol	44
Şekil 2-33: Pentan-2-ol.....	45
Şekil 2-34: Pentan-1-ol (Pentanol).....	45
Şekil 2-35:Hekzan-1-ol (Hekzanol)	45
Şekil 2-36: Heptan-2-ol.....	45
Şekil 2-37: Hekzan-2-ol	45
Şekil 2-38: Hekzan-3-ol	45
Şekil 2-39: Metil alkolün kimyasal yapısı.....	47
Şekil 2-40: Gaz Kromatografisinin Şematik Diyagramı (184)	52
Şekil 2-41: Tipik bir alev iyonlaşma detektörünün şeması (184)	54
Şekil 2-42: Headspace gaz kromatografisi çalışma prensibi.....	55
Şekil 3-1: Thermo Scientific TRACE 1300, Gaz Kromatografisi Cihazı.....	59
Şekil 3-2: Shimadzu Model GC-14, Gaz Kromatografisi Cihazı.....	60
Şekil 3-3: Shimadzu GC2010 plus, Gaz Kromatografisi Cihazı.....	60
Şekil 4-1: 80 °C'deki izotermal çalışmada MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).....	75
Şekil 4-2: 90 °C'deki izotermal çalışmada MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).....	76
Şekil 4-3: 100 °C'deki izotermal çalışmada MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).....	76
Şekil 4-4: 70 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	77
Şekil 4-5: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	78
Şekil 4-6: 90 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	78
Şekil 4-7: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait HS-GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).....	80

Şekil 4-8: Etil alkol safsızlıklarına ait GC kromatogramı (1- Asetaldehit, 2- 2-bütanol, 3- 1-propanol, 4- izobütil alkol, 5- 1-bütanol, 6- izoamil alkol, 7- 1-hekzanol)	81
Şekil 4-9: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında çözücüye (su) ait GC kromatogramı	83
Şekil 4-10: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında metil alkol sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL).....	83
Şekil 4-11: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında etil alkol sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{EtOH} : 0,10 g/dL).....	84
Şekil 4-12: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında asetonitril sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{ACN} : 0,10 g/dL).	84
Şekil 4-13: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında metil alkol, etil alkol ve asetonitril karışımının sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).....	85
Şekil 4-14: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki çözücüye (su) ait gaz kromatografisi kromatogramı	86
Şekil 4-15: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki metil alkol sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL).....	86
Şekil 4-16: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki etil alkol sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{EtOH} : 0,10 g/dL).....	87
Şekil 4-17: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki asetonitril sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{ACN} : 0,10 g/dL).	87
Şekil 4-18: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki metil alkol, etil alkol, asetonitril sulu karışım çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).....	88
Şekil 4-19: Metil alkole ait doğrusallık grafiği	91
Şekil 4-20: Etil alkole ait doğrusallık grafiği	91
Şekil 4-21: Metil alkole ait doğrusallık grafiği	95
Şekil 4-22: Etil alkole ait doğrusallık grafiği	95
Şekil 4-23: <i>Pelargonium sidodites</i> kökü alkolsüz sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:10 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	104
Şekil 4-24: <i>Pelargonium sidodites</i> kökü alkollü sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:100 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	104

Şekil 4-25: <i>Passiflora incarnata</i> kökü alkollü sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:100 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	105
Şekil 4-26: <i>Pelargonium sidodites</i> kökü alkolsüz sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:10 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	106
Şekil 4-27: <i>Pelargonium sidodites</i> kökü alkollü sıvı sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:100 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	106
Şekil 4-28: <i>Passiflora incarnata</i> alkollü sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:100 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)	107



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- GC: Gaz kromatografisi
GC-FID: Alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi
HS GC-FID: Headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi
EtOH: Etil alkol
MeOH: Metil Alkol
ACN: Asetonitril
LOD: Teşhis sınırı
LOQ: Tayin sınırı
EFSA: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FDA: Amerika Birleşik Devletleri, Gıda ve İlaç İdaresine
TİTCK: Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
WHO: Dünya Sağlık Örgütü
FAO: Birleşmiş Milletler Tarım ve Gıda Örgütü
PAGB: Tescilli Büyük Britanya Derneği
BHMA: İngiliz Bitkisel Üreticiler Derneği
HFMA: İngiliz Sağlıklı Gıda Üreticileri Derneği
DSHEA: Amerika Birleşik Devletleri Gıda Takviyeleri Sağlık ve Eğitim Yasası
FSANZ: Gıda Standartları Avustralya-Yeni Zelanda
NAD: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADP: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
PLP: Piridoksal Fosfat
INH: İzonikotinic asit hidrazid
NTD: Nöral tüp defekti
USDA: Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
JAKIM: Malezya İslami Gelişim Dairesi
ASEAN: Güneydoğu Asya Uluslar Birliği
MABIMS: Brunei, Endonezya, Malezya ve Singapur Din Bakanlıklarının Gayri Resmi Toplantısı
LPPOM MUI : Endonezya, Gıda, İlaç ve Kozmetik Değerlendirme Enstitüsü
MUIS : Singapur İslami Dini Konseyi
MUIB : Brunei Dini Konseyi

THK: Türkiye Helal Gıda Kurumu

İİT: İslam İşbirliği Teşkilatı

TDV: Türkiye Diyanet Vakfı

USP: Birleşik Devletler Farmakopesi

% RSD: Bağlı standart sapma

SD: Standart sapma



ÖZET

Sel, S. (2023) Gıda Takviyelerinde Etil Alkol Tayini için Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyonu, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi. İstanbul.

Gıda takviyeleri, normal beslenme ile yeterli miktarda alınamayan vitamin, mineral, aminoasit, bitkisel bileşenler gibi besin öğelerini içeren ürünler olarak tanımlanmaktadır. Bazı gıda takviyelerinin üretim basamaklarında ve standardizasyonunda etil alkol kullanılmaktadır. Etil alkolde az miktarda bile metil alkol bulunması ciddi sağlık problemlerine yol açabilir. Helal ürün sertifikası veren yetkili kurumlar % 1'den fazla alkol içeren gıdaları haram kabul etmektedir. Bu çalışmada, gıda takviyelerinde bulunabilecek etil alkol ve metil alkol miktarının belirlenmesi için yeni, güvenilir, hassas ve hızlı GC-FID ve HS GC-FID yöntemleri geliştirildi, valide edildi ve kıyaslandı. Kromatografik ayırma, GC-FID yönteminde DB- WAX (30m x 0,32mm x 0,5µm), HS GC-FID yönteminde ise TC-WAX (30m x 0,32mm x 0,5µm) kolonla yapılmıştır. Her iki yöntemde de 40:1 splitli koşulda 80°C'den 100°C'ye dakikada 5°C artan fırın sıcaklık programı kullanılmıştır. Kalibrasyon aralığı 0,002 g/dL - 0,1 g/dL'dir. Teşhis ve tayin sınırları GC-FID ve HS GC-FID yöntemleri ile etil alkol için sırasıyla 0,00036 g/dL, 0,00050 g/dL ve 0,0011 g/dL, 0,0015 g/dL, metil alkol için ise sırasıyla 0,00050 g/dL, 0,00060 g/dL ve 0,0015 g/dL, 0,0019 g/dL olarak bulunmuştur. Geliştirilen ve valide edilen yöntemler piyasada ticari olarak satılan etiketinde alkol içerir ibaresi bulunan fakat alkol yüzdesi verilmeyen iki farklı gıda takviyesi ve etiketinde alkol içermez ibaresi bulunan bir adet gıda takviyesine uygulandı. Geliştirilen ve valide edilen GC-FID ve HS GC-FID yöntemleri gıda takviyelerinde etil alkol ve metil alkol tayininde kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Gıda takviyeleri, etil alkol, metil alkol, helal gıda, headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi.

ABSTRACT

Sel, S. (2023). Analytical Method Development and Validation for Determination of Ethyl Alcohol in Food Supplements. Istanbul University, Institute of Health Science, Analytical Chemistry Department Ph.D. Thesis. Istanbul.

Food supplements are defined as products containing nutritional elements such as vitamins, minerals, amino acids and herbal components cannot be taken in adequate amounts with normal nutrition. Ethyl alcohol (EtOH) is used in the production and standardization of some food supplements. Even a little MeOH can cause serious health problems in EtOH. Authorized institutions issuing halal product certificates consider foods containing more than % 1 alcohol to be haram. In this study, new, reliable, sensitive and fast GC-FID and HS GC-FID methods were developed, validated and compared to determine the amount of EtOH and MeOH can be found in food supplements. Chromatographic separation was performed with DB-WAX (30m x 0.32mm x 0.5 μ m) and TC-WAX (30m x 0.32mm x 0.5 μ m) in the GC-FID and HS GC-FID methods respectively. Oven temperature program that increased 5 $^{\circ}$ C per minute from 80 $^{\circ}$ C to 100 $^{\circ}$ C in 40:1 split condition was used. The calibration range is 0.002 g/dL - 0.1 g/dL. LOD and LOQ values are found as 0.00036 g/dL, 0.00050 g/dL and 0.0011 g/dL, 0.0015 g/dL for EtOH, 0.00050 g/dL, 0.00060 g/dL and 0.0015 g/dL, 0.0019 g/dL for MeOH by GC-FID and HS GC-FID methods, respectively. The developed and validated methods were applied to different food supplements commercially sold in the market with the label containing alcohol but not containing alcohol percentage, and one food supplement with the label alcohol-free. The developed and validated GC-FID and HS GC-FID methods can be used in the determination of EtOH and MeOH in food supplements.

Key Words: Food supplements, ethyl alcohol, methyl alcohol, halal food, headspace gas chromatography with flame ionization detector.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gıda, insanların normal yaşantılarına devam edebilmeleri için ihtiyaç duydukları bitkisel veya hayvansal tüketim ürünlerinin tamamıdır. Normal yaşamın sürdürülebilmesi, büyüme, gelişme, hücre yenilenmesi, üreme gibi hayati aktivitelerin gerçekleşmesi için gerekli enerji gıda ürünlerinden elde edilmektedir. Bu nedenle klasik tanımlamada “İnsanların yaşamlarını sürdürmeleri ve fizyolojik gereksinimlerini karşılamaları için ilaç hariç, yedikleri ve içtikleri her şey” gıda olarak adlandırılmaktadır. Gıda, vitaminler, mineraller, proteinler, karbonhidratlar ve yağlar gibi öğeler içerebilir ve bitkisel veya hayvansal kaynaklı olabilir. Bitkisel kaynaklı gıdalar, sebzeler, meyveler, tahıllar, baklagiller, yulaf gibi gıdalardır. Ayrıca bitkisel kaynaklı gıdalar arasında bitkisel yağlar, tuzlar, şekerler, çeşitli baharatlar ve bitkisel katkı maddeleri de bitkisel kaynaklı gıda maddelerinden sayılmaktadır. Hayvansal kaynaklı gıdalar ise et, süt, yumurta, balık ve süt ürünleri gibi gıdalardır. Ayrıca et ve kemik suyu ile sakatatlar da hayvansal gıdalar arasında yer alır (1,2).

Bireyin besin öğelerine gereksinimi, kişinin cinsiyeti, yaşı, günlük faaliyetlerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bazı durumlarda, bireylerin normal beslenme ile elde ettiği enerji harcadığı enerjiyi karşılayamamaktadır. Bu durumda normal yaşamın sürdürülebilmesi, enerji açığını kapatmak, büyüme, gelişme, hücre yenilenmesi ve üreme gibi hayati aktivitelerin devam edebilmesi için gerekli enerji gıda formlarının tüketilmesiyle sağlanır ve ayrıca gıda takviyelerinden destek alınmaktadır (3).

Gıda takviyeleri, bir insanın normal beslenme ile yeterli miktarda alamadığı; vitaminler, mineraller, aminoasitler, bitkisel bileşenler gibi besin öğelerini içeren ürünler olarak tanımlanmaktadır. Gıda takviyeleri, yeterli ve dengeli tüketilmeyen besin maddelerinin tablet, hap, kapsül ve sıvı formlarda ürünleridir. Gıda takviyeleri, genellikle günlük beslenmede eksik besinleri tamamlamak amacıyla kullanılır. Ancak hamilelik, yaşlılık ve bazı hastalıklarda daha yüksek miktarlarda besin alımının gerekli olduğu durumlarda doktor veya diyetisyen tarafından önerilir (4).

Günümüz dünyasında yaşam şartlarının hızla değişmesi insanların beslenme rutinlerinde önemli değişikliklere neden olmuştur. İş hayatının zorlukları, artan stres ve hızlı tempo sebebiyle dengeli ve yeterli beslenmek için gerekli zaman ve imkan sağlanamadığından, tüketilen gıdalardan yeterli etki elde edilememekte ve dolayısıyla gıda takviyeleri gibi pratik çözümlere başvurulmaktadır. Aynı zamanda iletişim ve

reklam olanaklarının artması da gıda takviyelerine olan ilgiyi arttırmaktadır. Gıda takviyelerinin doğal ve güvenilir olması ile yan etkisinin olmadığı inancı ve doktor tarafından reçete olmaksızın internet, market gibi yerlerden kolay temin edilebilirliği, gıda takviyelerine olan ilginin artmasına sebep olmaktadır (5,6).

Sağlıklı olma düşüncesi gıda takviyeleri gibi alternatif yollara olan ilgiyi her geçen gün arttırmaktadır. Fakat; gıda takviyelerinin ilaçlar ile olumsuz etkileşimleri ve üreticilerin de üretim ve depolama kurallarına uymaması sıkça görülmektedir. Bu olumsuz durumların takip edilememesi, gıda takviyelerinin tümüyle zararsız olduğuna dair yanlış bir inanç yaratmamalıdır. Bu amaçla, gıda ürünlerinin güvenilirliğini sağlamak için birçok yasal düzenleme ve standartlar bulunmaktadır. Bu düzenlemeler arasında gıda üretim, işleme, paketlenme, depolama, taşıma ve satış süreçlerinde uyulması gereken hijyen kuralları, ürün etiketleme ve işaretleme kuralları, mikrobiyolojik, kimyasal ve fiziksel analizler gibi kontroller yer alır. Bu düzenlemelere uyulması, gıda ürünlerinin insan sağlığına zararlı olmamasını sağlamak için oldukça önemlidir (7).

Gıda takviyeleri kullanımı artık bir gıda davranışı biçimi halini aldığından, tüketiciler, üreticiler, düzenleyici ve denetleyici yetkililer bu ürünlerin güvenliğini, etkinliğini ve kalitesini dikkate almalı, sorgulamalı ve değerlendirmelidir. Günümüze kadar birçok gıda takviyesinin etkinliği henüz kanıtlanmamıştır. Gıda takviyesi üreten firmalar müşterilerin güvenini kazanmak için geliştirdikleri ve ürettikleri gıda takviyelerinin doğru bir kalite kontrol sistemine sahip olduğundan emin olmalıdır. Her gıda takviyesinin dozu ve olası etkileşimleri, güvenliklerini ve etkinliklerini sağlamak için önemlidir. Takviyelerin kalitesi, güvenliği ve etkinliği, ilgili taraflar, yani tüketiciler, üreticiler, düzenleyici ve denetleyici yetkililer için ana konular olmaya devam etmektedir (8).

Gıda takviyelerinin sağlık açısından güvenilirliğinin yanısıra, ürün içeriğinin İslam Dünya'sında helal olup olmadığı da önemlidir. Helal gıda, İslam dininin yasakladığı hayvanların eti, alkol, hamur işlerinde kullanılan tuzlar, renklendiriciler, emülsifiyerler gibi kimyasallar veya bunların içerdiği malzemelerin kullanılmadığı gıdaları ifade eder. Helal gıda İslam'ın bir zorunluluğu iken, tayyib gıda ise hem İslam'ın ve hem de uluslararası güvenli gıda tanımının gereğini yerine getirmektedir. İslam inancına göre domuz eti ve ürünleri, İslami koşullara uygun kesilmeyen hayvanlar

ve alkol kesin olarak haram kılınmıştır. Helal gıda, İslam dininin kurallarına göre üretilmiş, işlenmiş ve paketlenmiştir. Helal gıda sertifikası almış ürünler, helal gıda standartlarına uygunluk kriterlerini karşılamaktadır. Bu sebeple gıda takviyelerinin güvenilirliğinin yanısıra İslam ülkeleri gıda ürünlerini helal ve tayyib gıda bakımından da denetlemektedir (9).

Bu tez çalışmasının amacı gıda güvenilirliği ve İslam inancı bakımından oldukça önemli olan helal gıda ve tayyib gıda kontrolü kapsamında bulunan etil alkol ve metil alkol miktarlarının gıda takviyelerinde tespit edilmesi amaçlanmıştır. Gıda takviyelerinin alkol içeriğinin tespiti ve miktarının tayin edilebilmesi amacıyla alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ve alev iyonizasyon detektörlü headspace gaz kromatografisi ile yeni, güvenilir, hızlı ve hassas analitik yöntemler geliştirmek ve valide etmektir. Ayrıca geliştirilen yöntemler birbiri ile kıyaslanarak gıda takviyelerindeki etil alkol ve metil alkol tayini için hassas ve güvenilir metot belirlenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gıda Takviyeleri

Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliği'ne göre gıda takviyeleri “Normal beslenmeyi takviye etmek amacıyla, vitamin, mineral, protein, karbonhidrat, lif, yağ asidi, amino asit gibi besin öğelerinin veya bunların dışında besleyici veya fizyolojik etkileri bulunan bitki, bitkisel ve hayvansal kaynaklı maddeler, biyoaktif maddeler ve benzeri maddelerin konsantre veya ekstraktlarının tek başına veya karışımlarının kapsül, tablet, pastil, tek kullanımlık toz paket, sıvı ampul, damlalıklı şişe ve diğer benzeri sıvı veya toz formlarda hazırlanarak günlük alım dozu belirlenmiş ürünler” olarak tanımlanmıştır (10-12)

Gıda takviyeleri için uluslararası çeşitli tanımlar mevcuttur. Birleşik Krallık'ta, Tescilli Büyük Britanya Derneği (PAGB), İngiliz Bitkisel Üreticiler Derneği (BHMA) ve Sağlıklı Gıda Üreticileri Derneği (HFMA) tarafından “Birim dozaj formundaki gıdalar, besinlere ek olarak alınan tabletler, kapsüller, şuruplar vb.” gıda takviyesi olarak tanımlanmaktadır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ise gıda takviyelerini “Amacı normal beslenmeyi desteklemek olan besinsel veya fizyolojik etkiye sahip, marketlerde kapsül, pastil, tablet, hap, saşe, sıvı ampul, damlalıklı şişe gibi ölçülü doz halinde tek başına veya kombinasyonlar olarak pazarlanan gıda ürünleri” olarak tanımlamıştır. Amerika Birleşik Devletleri, Gıda ve İlaç İdaresine (FDA) bağlı Gıda Takviyeleri Sağlık ve Eğitim Yasası (DSHEA), gıda takviyelerini, “Beslenmeyi desteklemek amacıyla bir veya birden fazla türde kullanılan vitaminler, mineraller, amino asitler, şifalı bitkiler, enzimler, salgı bezleri ve metabolitler” olarak tanımlamaktadır (13).

Gıda takviyeleri pazarı, bu ürünlerin ilaçlara alternatif olarak kullanımlarının artması sebebiyle tüm dünyada büyümektedir. Artışın en büyük sebebini tüketicilerin bu ürünlerin doğal, güvenilir ve hiçbir yan etkisinin olmadığına olan inancı oluşturmaktadır. Bu nedenle, gıda takviyelerinin kalitesinin kontrolü ve içerdiği bulaşanların saptanması oldukça önemlidir (14,15)

2.1.1. Gıda Takviyelerinin Sınıflandırılması

Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi'ne göre, gıda takviyelerini vitaminler, mineraller, aminoasitler, ekinezya ve zencefil gibi botanikler ve otlar, kafein ve kurkumin gibi

botanik bileşikler ve probiyotikler olarak sınıflandırır (16). Gıda Standartları Avustralya Yeni Zelanda (FSANZ)'a göre gıda takviyelerini vitamin ve mineral takviyeleri, yağ takviyeleri, bitkisel ve homeopatik takviyeler, lif takviyeleri ve diğer takviyeler olarak sınıflandırmıştır (17). Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK) ise gıda takviyeleri, vitamin, mineral, protein, karbonhidrat, lif, yağ asidi, amino asit, bitki, bitkisel ve hayvansal kaynaklı maddeler, biyoaktif maddeler olarak sınıflandırılmıştır (18).

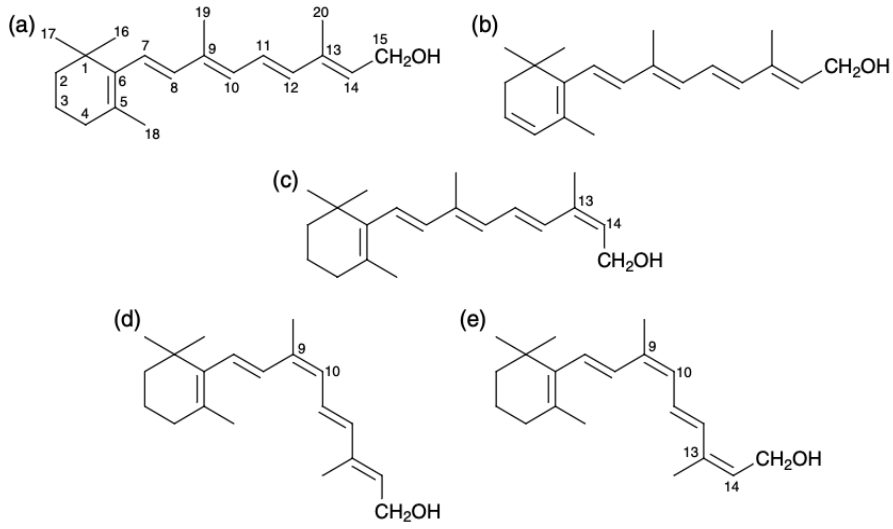
2.1.1.1. Vitaminler

Vitaminler, büyüme, gelişme, savunma gibi yaşamsal faaliyetlerin devamı için dışarıdan alınması gerekli olan bileşiklerdir. Vitaminler, canlı metabolizmasında yer alan biyolojik katalizörlerdir (19). Normal beslenmede yeteri kadar vitamin alınmadığında metabolizma hastalıkları ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca vitaminler, vücudun sağlıklı gelişimi, sindirim fonksiyonları ve enfeksiyonlara karşı bağışıklığında görev almasının yanı sıra vücutta bulunan karbonhidrat, yağ ve protein mekanizmalarında da aktif olarak rol oynamaktadır (20).

Yağda çözünen vitaminler yağ dokusunda depolanırken, suda çözünen ve depolanamayan vitaminler ise idrar yolu ile vücuttan atılmaktadır. Suda çözünen vitaminler B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12 ve C vitaminleridir. Yağda çözünen vitaminler ise A, D, E ve K vitaminleridir. Genel olarak sağlıklı bir bireyde her vitaminin yeterli miktarının kan dolaşımında sürekli bulunması gerekmektedir (21,22).

Yağda çözünen vitaminler

A Vitamini (Retinol): Retinol, hayvansal ürünlerden en yaygın olarak balık, karaciğer yağı, karaciğer, tereyağı, yumurta sarısı ve yağlı sütte bulunur. Bitkisel ürünlerde ise A vitamini ön maddesi olan karotenler bulunur. En iyi kaynakları yeşil yapraklı sebzeler ile sarı-turuncu sebzeler ve meyvelerdir (23). Gıdalarda ve balık karaciğer yağlarında bulunan retinoidlerin yapıları Şekil 2-1'de gösterilmektedir. A vitamini bileşiği olan retinol, ampirik $C_{20}H_{30}O$ formülüne ve 286,4 moleküler ağırlığına sahiptir. Molekül, dört çift bağı cis-trans izomerine yol açan bir polien yan zincirine, 6. karbon (C-6) konumunda bağlı β -siklohekzenil halkası içermektedir (24).

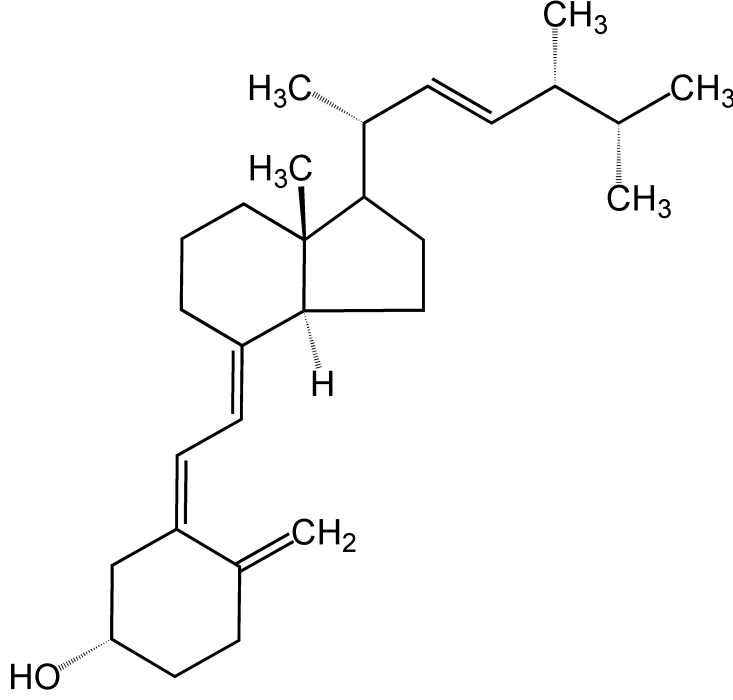


Şekil 2-1: Gıdalarda ve balık karaciğer yağlarında bulunan retinoidlerin yapıları. (a) A₁ vitamini; (b) A₂ vitamini; (c) 13-cis-retinol; (d) 9-cis-retinol; (e) 9,13-dicis-retinol (24).

Baskın izomer olan A₁ vitamini, % 100 A vitamini aktivitesine sahiptir ve doğal gıda maddelerinde sıklıkla 13-cis-retinol ile birlikte bulunur. Daha düşük potensli 9-cis-retinol ve 9,13-di-cis-retinol, balık karaciğeri yağlarında az miktarlarda bulunur. A₂ vitamini, tatlı su balıklarının karaciğerinde ve etinde bulunmaktadır. A vitamini için günlük alınması gereken miktar 700-900 µg retinol aktivite eşdeğeri (RAE) arasındadır. A vitaminin fazla miktarda alınmasıyla yorgunluk, anoreksi, ishal, baş ağrısı, sinirlilik gibi yan etkiler ile osteoporoz ve hiperkalsemiye bağlı iskelet bozuklukları ortaya çıkabilmektedir (25-27). Gıda maddelerinin A vitamini içeriğini desteklemek için ticari olarak sentetik retinil asetat (C₂₂H₃₂O₂, MA=328,5 g/mol) ve retinil palmitat (C₃₆H₆₀O₂, MA=524 g/mol) kullanılmaktadır. Vücutta A vitamini eksikliğinde cilt epitelinde ve mukozalarda bozukluklar oluşmaktadır. Ayrıca sonum sorunları, cilt ve ürogenital yollarda sertleşme, diş oluşumunda ve sinirsel hücrelerde bozukluklar, kornea kuruması ve gece körlüğüne de sebep olmaktadır (28-31). TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum retinol miktarı 4-10 yaş arası bireylerde 500 µg, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 1000 µg'dır (18).

D vitamini (Kolekalsiferol): D vitaminin provitamin D sterollerinin UV ışımından türetilen yapısal olarak benzer sekosteroidler olan kolekalsiferol (D₃ vitamini) ve ergokalsiferol (D₂ vitamini) olmak üzere iki kaynağı vardır. Normal koşullarda

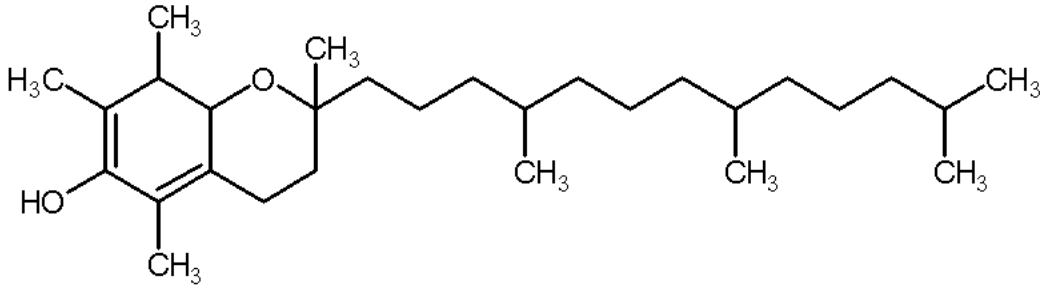
vücuttaki D vitamininin % 90 - 95'i güneş ışınlarının etkisi altında deride sentez edilir. Güneş ışığı D vitamini sentezinde temel kaynaktır ve yeterince faydalanılırsa ilave D vitamini alınması gerekmemektedir. D vitaminin yapısı Şekil 2-2'de gösterilmiştir (32).



Şekil 2-2: D Vitamininin yapısı

D vitamini de A vitamini gibi balık, karaciğer yağlarında fazlaca bulunmaktadır. Ancak doğal besinler çok az miktarda D vitamini içerir ve hayvansal ürünlerde oldukça sınırlıdır. Ringa balığı, sardalya, ton balığı gibi yağlı balıklar D vitamini bakımından zengin doğal besin kaynaklarıdır. Memeli karaciğerinde, yumurtalarda ve süt ürünlerinde daha az miktarlarda bulunmaktadır (33,34). D vitamini eksikliği vücutta özellikle kemik hastalıklarına yol açmaktadır. Çocuklarda D vitamini eksikliği, yetersiz kalsiyum ve fosfor birikimi nedeniyle kemiklerin düzgün gelişmediği ve deforme olduğu raşitizme neden olur. Yetişkinlerde, kemik matrisinin yeterince mineralleşmediği ve kemiklerin kırılğan hale gelmesine neden olan osteomalazi ortaya çıkmaktadır. Ayrıca kadınlarda ilerleyen yaşlarda menopoz sonrasında osteoporoz olarak adlandırılan kemik erimesine sebep olmaktadır (35). TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum D vitamini miktarı 4-10 yaş arası bireylerde 12,5 µg, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 25 µg'dır (18).

E vitamini (Tokoferol α,β,γ): E vitamini, değişen biyolojik potansiyele sahip dört tokoferol ve dört tokotrienol olmak üzere sekiz vitaminle temsil edilir. İnsan vücudunda aktivitesi en yüksek olan form α -tokoferol'dur. E vitaminin yapısı Şekil 2-3'te gösterilmiştir (36). Vitamin, hüresel ve hücre altı zarlardaki hayati fosfolipitleri peroksidatif dejenerasyondan koruyarak biyolojik bir antioksidan olarak işlev görür. Antioksidan özellikleriyle, hücrelerin yaşam süresini artırır ve hücre rejenerasyonunu sağlayıp anormal hücre üremesini durdurarak tümör oluşumunun önüne geçer. Demans ve Alzheimer hastalığının ilerlemesini yavaşlatır. Tohumlarda, tohum yağlarında, bitkisel yağlarda, koyu yeşil yapraklı sebzeler ve çeşitli hayvansal gıdalarda D vitamini fazlaca bulunur. Ayrıca, ceviz, fındık gibi sert kabuklu meyveler, tahıl ve kuru baklagiller E vitamini bakımından oldukça zengindir (37,38).

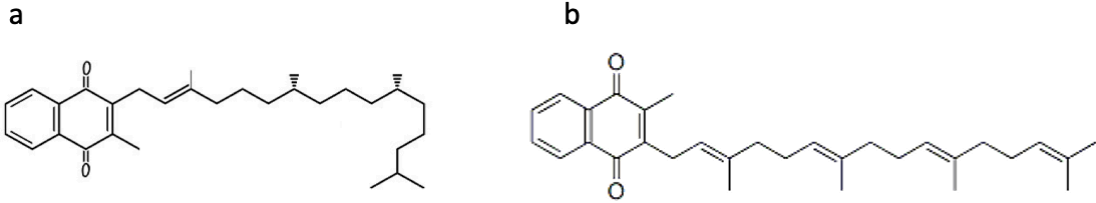


Şekil 2-3: E Vitamininin yapısı

E vitamini eksikliğine vücutta nadiren rastlanır. Eksikliğinde göz kaslarının felci, refleks kaybı gibi nörolojik etkiler görülür. Kas, kardiyovasküler, üreme ve merkezi sinir sistemlerinin yanı sıra karaciğer, böbrek ve kırmızı kan hücrelerini etkileyen çeşitli patolojik durumlara neden olur. E vitamini eksikliğinin prematüre doğan bebeklerde hemolitik anemiye sebep olduğu bilinmektedir. İnsan vücudundaki E vitamini havuzunun % 90'ından fazlası adipoz doku içindeki yağ damlacıklarında birikir, ancak vitamin bu dokudan kolaylıkla mobilize olmaz (39-41). Erkeklerde önerilen günlük α - tokoferol 10 mg, kadınlarda ise 8 mg'dır (400 – 600 IU) (40). TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum E vitamini miktarı 4-10 yaş arası bireylerde 125 μ g, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 270 μ g'dır (18).

K vitamini (Filokionin): K vitamini yağda çözünen ve yağ hücrelerinde depolanabilen vitaminlerdendir. K vitaminin yapısı Şekil 2-4'te gösterilmiştir. K vitamini, g-glutamilkarboksilaz için bir kofaktör rolüyle kanın pıhtılaşmasında ve kemik

mineralizasyonunda yer alan spesifik proteinlerin aktivasyonu için gereklidir. Bu enzim, proteinlerdeki seçilmiş glutamat kalıntılarının g-karboksiglutamat kalıntlarına benzersiz bir post-translasyonel dönüşümünü katalize ederek proteinlerin kalsiyumu bağlamasını ve böylece aktif olmasını sağlar (43).

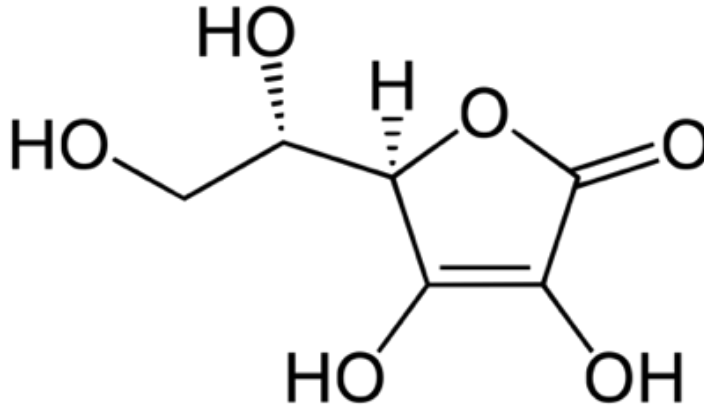


Şekil 2-4: K Vitamininin yapısı, (a) K₁ vitamini, (b) K₂ vitamini

Yetişkinlerde, kan pıhtılaşma süresinin uzaması, K vitamini eksikliğinin tek olmasa da baskın klinik belirtisidir. Aort kalsifikasyonu da K vitamini eksikliği ile ilişkilidir. Yetişkin bir bireyin günde K vitamini gereksinimi 1 µg/kg vücut ağırlığı veya ortalama 60-80 µg/gün'dür. K vitamini yetersizliğine nadiren rastlansa da, sıkça ve çok miktarda antibiyotik alan, safra kesesi tıkalı, karaciğer hastalığı bulunan, yağ emilim bozukluğu olan kişilerde eksiklik görülebilmektedir. Bu durumda ek gıdalar ile vücuda yeteri kadar vitamin K alınmadığından yetersizlik ortaya çıkabilir (44-47). Karaciğer iyi bir K vitamini kaynağıdır. En yüksek K vitamini konsantrasyonları lahanası, brokoli, brüksel lahanası, ıspanak ve karalahana gibi yeşil yapraklı sebzelerde bulunur. Bu tür sebzeler, beslenmede K vitamini alımına en çok katkıda bulunan gıdalardır (48-49). Hayvansal ürünler (et, balık, süt ürünleri ve yumurta) düşük konsantrasyonlarda K vitamini içerir (50).

Suda çözünen vitaminler

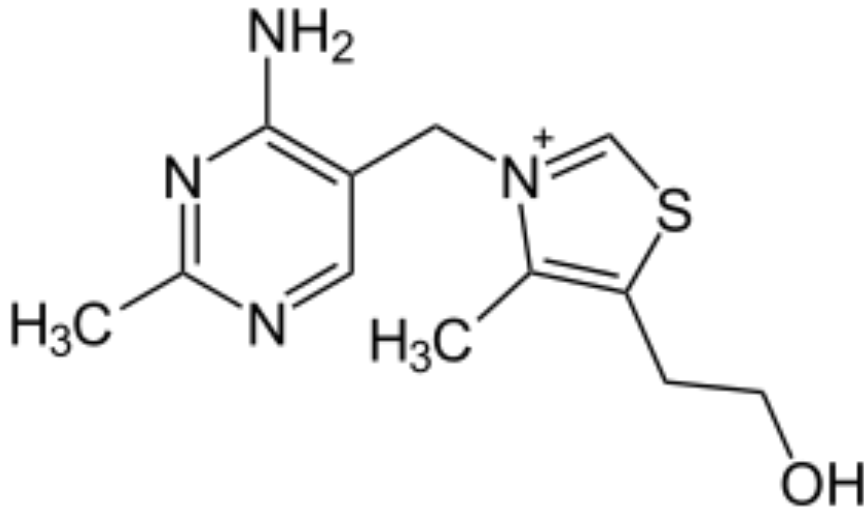
C Vitamini (Askorbik Asit): C vitamini vücut tarafından üretilmeyen ve beslenmeyle alınan bir antioksidan maddedir. Vücutta kolajen oluşumunu destekler, bağışıklık sistemini güçlendirir ve oksidatif stresi azaltır. Ayrıca demir emilimini arttırmakta ve kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatmaktadır. C vitaminin yapısı Şekil 2-5'te gösterilmiştir (51).



Şekil 2-5: C Vitamininin (L-askorbik Asit) yapısı

C vitamini oldukça hassas bir organik molekül olup, oksijen varlığında, yüksek sıcaklıkta ve ağır metallerle etkileşime girerek askorbik asidin parçalanmasına neden olmaktadır. Fazla miktarda alınan C vitamininin grip gibi enfeksiyonlara karşı koruyucu etkisi bilimsel olarak ispatlanmasa da savunma sistemini olumlu yönde etkilediği bilinmektedir. C vitamini tahıllar ve hayvansal gıdalarda bulunmamasıyla birlikte meyve ve sebzeler oldukça fazla miktarda bulunur (52). İnsan vücudunda sentezlenemediğinden besinlerle alınması gerekmektedir. C vitamini eksikliğinde eklem ağrıları ortaya çıkabilmektedir. Yara iyileşme süresinin uzaması, skorbüt gibi sorunların ortaya çıkmasına sebep olabilir. Ayrıca C vitamini eksikliğinde diş eti kanamaları ve enfeksiyonlara karşı direnç azalır. C vitamini, fazlalığında da ishal meydana gelir (53). Normal koşullarda yetişkin bir birey için gerekli olan C vitamini 30 ila 180 mg/gün dür. TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum C vitamini miktarı 4-10 yaş arası bireylerde 500 mg, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 1000 mg'dır (18).

B₁ Vitamini (Tiamin): Tiaminin stabilitesi askorbik asitten yüksek olmasına rağmen B₁ vitamini moleküllerinde meydana gelebilecek en küçük bir değişiklikte bile B₁ vitamini etkisiz bileşiklere dönüşebilmektedir (54). B₁ vitamininin yapısı Şekil 2-6'da gösterilmiştir (55).

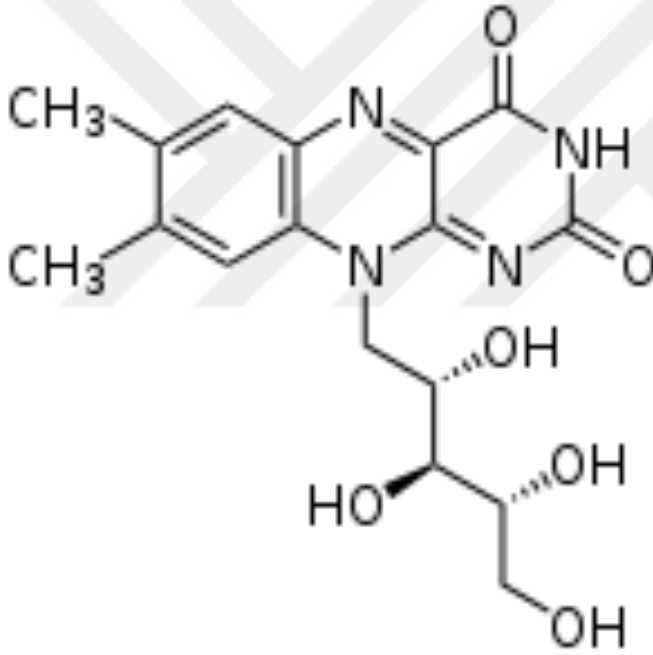


Şekil 2-6: B₁ Vitamininin yapısı

B₁ vitamini karbonhidrat parçalanmasında görev aldığından eksikliğinde karbonhidrat metabolizmasının bozulmasına neden olur. Karbonhidrat tüketimi ve enerji üretimine bağlı olarak gereksinimi artar. B₁ vitamini, tiamin difosfat olarak karbonhidrat ve amino asit metabolizmasında yer alan enzimler için bir koenzim görevi görür. Bu nedenle yüksek kas aktivitesi, hamilelik ve emzirme gibi metabolizmanın hızlandığı durumlarda ve ayrıca uzun süreli ateş ve hipertiroidizm sırasında B₁ vitamini gereksinimi artmaktadır. Ayrıca B₁ vitamini eksikliğinde nörolojik bozukluklara sebep olan beriberi hastalığı, nöritler, felçler, kalp fonksiyonunda bozukluklar ve ödem olmaktadır. Alkol bağımlılığında, B₁ vitamini yetersizliğinde Wernicke-Korsakoff sendromu olarak bilinen ve zihin karışıklığı, psikoz, hafıza bozuklukları ve koma ile karakterize olan nörolojik durum gelişir (56-62). B₁ vitamini bitkide tiamin hidroklorür, hayvansal dokuda tiamin pirofosfat olarak bulunmaktadır. Bira mayası, buğday, pirinç, arpa gibi tahılların kabukları, kuru baklagiller, sert kabuklu meyveler, yumurta, karaciğer ve sütte bulunmaktadır (62-67). Hem serbest hem de bileşik halde böbrek, karaciğer, kalp ve daha az miktarda beyinde ve iskelet kaslarında bulunur. Günlük alımı yetişkin erkeklerde 1,2 mg, yetişkin kadınlarda ise 1,1 mg olarak belirlenmiştir (18).

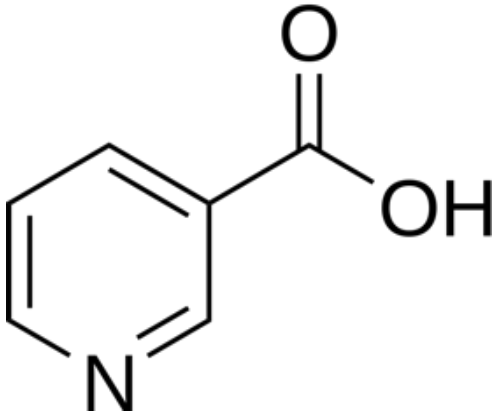
B₂ Vitamini (Riboflavin): B₂ vitamini hayvanlar tarafından sentez edilemez, bitkiler tarafından sentezlenmektedir. Hayvanlar ve insanlar, bitkileri tüketerek B₂ vitamini gereksinimlerini karşılamaktadır. B₂ vitamini, süt, yumurta, balık, karaciğer, yeşil

sebzeler, bira ve ekme  mayasında bulunmaktadır. Vücutta hücre solunumunda elektron taşıyıcı olarak görev alan maddelerin yapısında bulunduğundan enerji metabolizmasında büyük öneme sahiptir. Günlük önerilen alım miktarı 1,1 mg ile 1,3 mg arasında olmaktadır. Fakat enerji gereksinime karşı ihtiyaç duyulan B₂ vitamini miktarı değişebilmektedir. Yüksek enerjiye ihtiyaç duyulduğu, hamilelik ve laktasyonda, büyüme çağındaki çocuklar ve sporcularda B₂ vitamini ihtiyacı artmaktadır. B₂ vitaminin eksikliğinde dudak köşesi çatlakları, dil ve deri iltihaplanmaları, gözlerde damarlanma, katarakt, çocuklarda büyüme yavaşlaması ve ciltte yağlı döküntü meydana gelmektedir. B₂ vitamini yapısı Şekil 2-7’de gösterilmiştir (67-71).



Şekil 2-7: B₂ Vitamininin yapısı

B₃ Vitamini (Niasin): B₃ vitamini, niasin ve niasinamid olmak üzere iki farklı formda bulunur. Niasin, kimyasal olarak nikotinik asit olarak bilinir ve daha büyük dozlarda alındığında cilt kızarmasına neden olabilir. Niasinamid, kanda yaygın olarak bulunan niasin formudur ve kimyasal olarak nikotinamid olarak bilinir. Nikotinik asit vücutta kolayca nikotinamide dönüştürülebilir. B₃ vitamini yapısı Şekil 2-8’de gösterilmiştir (72).

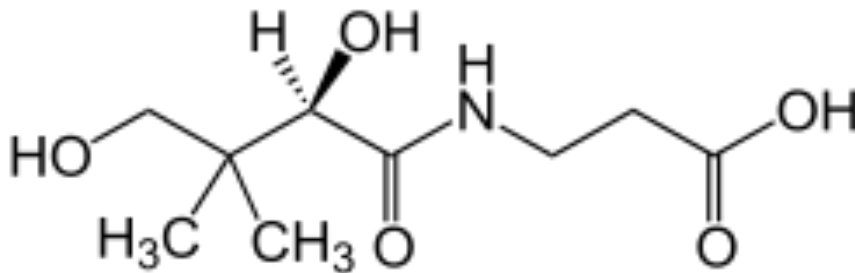


Şekil 2-8: B₃ Vitamininin yapısı

Niasin, Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NAD) ve Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADP) olmak üzere iki koenzim formunda kullanılır. Yüzlerce enzimin çalışması, niasin koenzimleri olan NAD ve NADP'e bağlıdır. Bu enzimler esas olarak enerji üretiminde elektron alışverişinde görev alır. NAD genellikle karbonhidratlardan, yağlardan, proteinlerden ve alkolden enerji salınımını içeren reaksiyonlarda işlev görür. NADP, yağ asitleri ve kolesterol sentezi gibi biyosentezde de görev alır. Niasin vücutta esansiyel amino asit olan triptofandan üretilir. Triptofan, protein ihtiyacının üzerinde tüketildiğinde, fazla triptofanın 1/60'ı niasine dönüştürülür. Gıdanın niasin eşdeğeri, mevcut niasin artı triptofandan üretilen niasin miktarının toplamı olmaktadır (72,73). Şiddetli bir niasin eksikliği meydana geldiğinde, pellagra hastalığı ortaya çıkabilir. Pellagranın, ishal, dermatit, bunama ve ölüm olan dört evresi bulunur. Bu hastalığın erken nörolojik semptomları, şiddetli ve kronik vakalarda bazen ortaya çıkan deliryum ve bunama ile birlikte titreme, sinirlilik, anksiyete ve depresyondur. Hızlı nikotinamid tedavisi yapılmayan pellagra hastası ölür. 100 mg / gün gibi düşük dozlarda oral olarak uygulanan nikotinik asit, ciltte kızarma görünümüyle birlikte periferik vazodilatasyona neden olur. Yüksek dozlarda nikotinik asit, atılım için ürik asitle rekabete girerek gut artriti insidansında artışa yol açar. En büyük endişe olası karaciğer hasarıdır. Nikotinamid vazodilatasyona neden olmaz, bunun dışında asitten iki ila üç kat daha toksiktir. Niasin yiyeceklerden alındığında toksik değildir. Niasinin niasinamid (nikotinamid) formunun günde 2000 mg'dan az miktarlarda alındığında rahatsız edici olmadığı bulunmuştur. Azalan insülin duyarlılığı ve karaciğer toksisitesi, günlük 2000 mg'ın üzerindeki miktarlardan kaynaklanabilir. Bununla birlikte, nikotinik asit formundaki niasin, 35 mg kadar düşük miktarlarda "niasin kızarmasına" neden

olabilir. Nikotik asit kılcal damarları genişleterek ciltte kısa bir karıncalanma ve kızarmaya neden olabilir. Niasin için günlük alımı erkekler için 16 mg ve kadınlar için 14 mg'dır (74-81). TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum B₃ vitamini miktarı 4-10 yaş arası bireylerde 250 µg, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 500 µg'dır (18). Niasinin nikotik asit formunun ciltte kızarma yapmaması için üst sınırı günde 35 mg'dır. Gıda takviyesi olarak kullanılan niasin genellikle kızartma etkisi olmayan nikotinamid (niasinamid) formundadır. Nikotik asit (niasin) de ek olarak mevcuttur, ancak kızartmayı önlemek için küçük dozlarda tutulur. Normal bir beslenmede yeterli miktarda niasin bulunur. Niasin vücutta depolanmaz ve fazla olan niasin vücuttan atılır. Pişirilmiş kepekli tahıllar, baklagiller ve tohumlar tercih edilen niasin kaynaklarıdır. Zenginleştirilmiş tahıllar, mantarlar, yeşil yapraklı sebzeler ve besleyici maya diğer iyi niasin kaynaklarıdır. Domuz eti, sığır eti, tavuk, balık ve süt ürünleri de niasin açısından çok yüksektir, fakat aynı zamanda kolesterol değerleri bakımından da yüksektir (81-86).

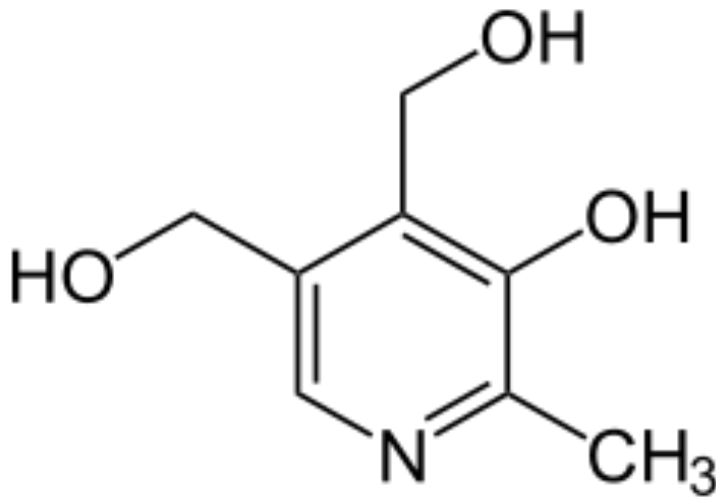
B₅ Vitamini (Pantotenik Asit): Pantotenik asit, adını "her yerde" anlamına gelen pantos kökünden alır. Bitki ve hayvan dokuları dahil olmak üzere her canlı hücrede ve ayrıca mikroorganizmalarda bulunmuştur. Pantotenik asit ilk olarak 1933'te Roger Williams'ın maya için bir büyüme faktörü olarak tespit etmesiyle tanımlanmıştır. Pantotenik asit, koenzim A molekülünün büyük bir bölümünü oluşturur. Koenzim A, karbonhidratlardan, yağlardan ve proteinlerden enerji üreten kimyasal reaksiyonlar için gereklidir. Koenzim A formundaki pantotenik asit, kolesterol sentezi ve melatonin gibi steroid hormonların sentezi için gereklidir. Koenzim A ayrıca bir nörotransmitter olan asetilkolinin sentezi için de gereklidir. Hemoglobinin bir bileşeni olan hem, koenzim A olmadan sentezlenemez. Ayrıca karaciğer, bir dizi ilacı ve toksini metabolize etmek için koenzim A'ya ihtiyaç duyar. B₅ vitamini yapısı Şekil 2-9'da gösterilmiştir (87).



Şekil 2-9: B₅ Vitamininin yapısı, (Pantotenik asit)

Pantotenik asit eksikliğinde savunma sistemi zayıflayıp, vücut enfeksiyonlara karşı dirençsiz hale gelmektedir. Ayrıca kaslarda kramplar, karın ağrısı da meydana gelebilmektedir. Pantojenik asit eksikliğinde kişilik bozukluğu ve depresyon hali gibi ruhsal sorunlar da ortaya çıkmaktadır. Ayrıca “yanan ayak sendromu denilen hastalıkta pantojenik asit eksikliğinde oluşmaktadır (88). Koenzim A formundaki pantotenik asit, sinir hücrelerinin miyelin kılıflarında kullanılan yağların sentezi ve hücre zarındaki fosfolipitlerin sentezinde görev alır. Pantotenik asit gıdalarda çok yaygın olduğu için pantotenik asit eksikliği insanlarda görülmemiştir (89).

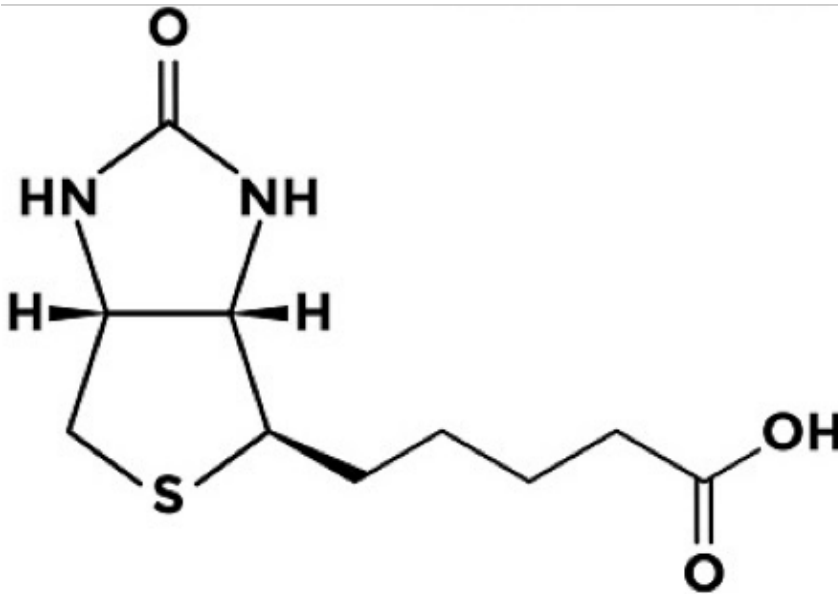
B₆ Vitamini: B₆ vitamini 1930'larda keşfedildi. B₆ vitamini, aktif koenzim formu olan Piridoksal Fosfat'a (PLP) dönüştürülebilen çeşitli formlarda bulunur. PLP, vücuttaki düzinelerce kimyasal reaksiyonu katalize etmede hayati bir role sahiptir. B₆ vitamini, kas dokusunda çok yoğun bir şekilde depolanır. PLP, glikojenden glikoz salınımını katalize eden glikojen fosforilaz enziminin bir koenzimidir. Ayrıca birçok önemli nörotransmitter ve PLP bağımlı enzimler kullanılarak sentezlenir. Serotonin beyinde triptofandan PLP yardımıyla sentezlenir. B₆ vitamini, proteinlerin şekere dönüştürülmesinde ve kanda bulunan şekerin üretilmesinde görev alır. Vücutta bağışıklık sisteminin oluşmasında ve sinir hücrelerinin gelişiminde B₆ vitamini yer alır. Beyinde serotonin hormonunun salgılanmasında etkili bir vitamindir. Kanda oksijenin vücutta dağılmasını sağlayan hemoglobin proteinlerinin oluşmasına yardımcı olur (91). B₆ vitamini yapısı Şekil 2-10'da gösterilmiştir (89).



Şekil 2-10: B₆ Vitamininin yapısı

B₆ vitamini alkol tüketimi ile azalır. Alkol vücutta asetaldehite parçalanır. Asetaldehit, PLP koenzimlerini enzimlerinden ayırır ve PLP kaybolur. İzonikotinic asit hidrazid (INH) gibi bazı ilaçlar da vücuttaki B₆ vitaminini tüketir. INH, tüberkülozu tedavi etmek için kullanılan bir ilaçtır ve tedavi sırasında ek B₆ vitamini verilmelidir. Yetişkinlerin günlük yaklaşık 1,3 mg ila 1,7 mg B₆ vitaminine ihtiyacı vardır. TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum B₆ vitamini miktarı 4-10 yaş arası bireylerde 5 mg, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 10 mg'dır (18). B₆ vitamini birçok gıdada bulunduğu ve rafine edilmiş tahıllarda takviye edildiğinden ciddi eksiklik nadir görülmektedir. Fazla alkol alan kişiler B₆ vitamini eksikliği ile karşı karşıyadır. Artan protein alımı da , B₆ vitamini ihtiyacını artırır. Muz, tahıl ürünleri, ıspanak, tavuk, somon ve patates B₆ vitamini bakımından yüksektir (92-94).

B₇ Vitamini (Biyotin): Biyotin adı, yaşam anlamına gelen Yunanca bios kelimesinden türetilmiştir. Sadece bakteri, alg, maya, küf ve birkaç bitki türü tarafından sentezlenir ve eksikliği nadiren görülür. B₇ vitamini, karboksilazlar (karbondioksit veren enzimler) olarak bilinen asetil-CoA karboksilaz, piruvat karboksilaz, metilkrotonil-CoA karboksilaz, propiyonil-CoA karboksilaz adı verilen dört enzimin çalışmasında görev alır. B₇ vitamininin yapısı Şekil 2-11'de gösterilmiştir (95,96).

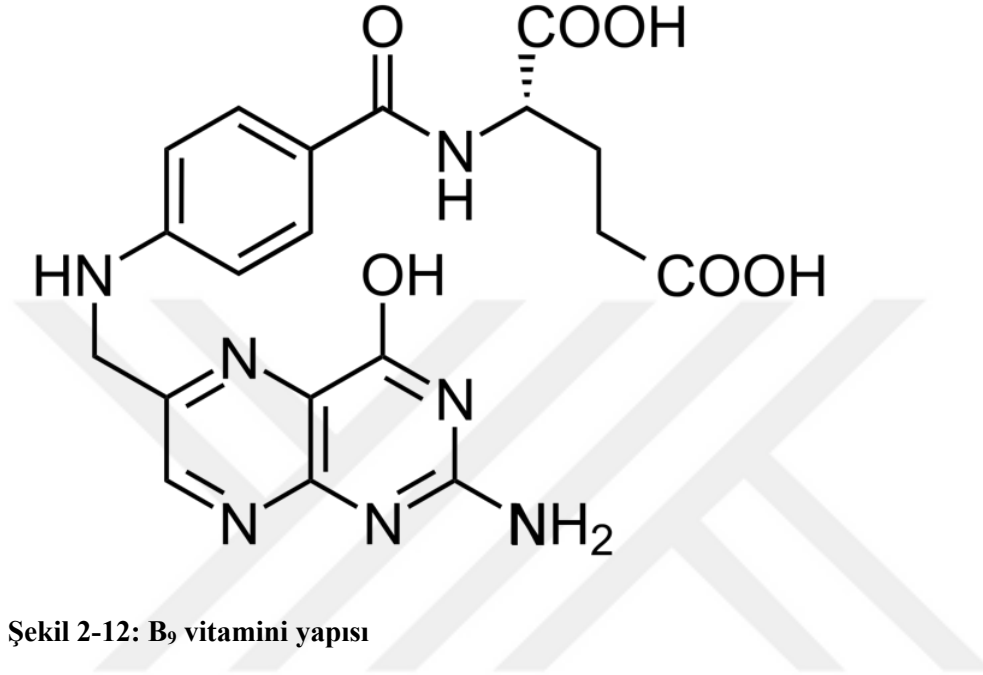


Şekil 2-11: B₇ vitamininin yapısı

B₇ vitamini eksikliği, alımının ihmal edildiği uzun süreli intravenöz beslenmede ortaya çıkmaktadır. Hamile kadınlarda B₇ vitamin eksikliği riskine karşı hamilelik süresince doktor kontrolü ile dışarıdan desteklenir. Sağlıklı yetişkinler için yeterli B₇ vitamini alımı günde 30 µg olarak tavsiye edilmiştir. Çeşitli gıdalarda B₇ vitamini bulunmasına rağmen antikonvülsan ilaçlar B₇ vitamini gereksimini arttırabilir. Ayrıca, bazı antibiyotikler kolondaki bakterileri öldürdüğü için B₇ vitamin üretimini azaltabilir. Toksik olmadığından TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum B₇ vitamin değeri belirtilmemiştir (97,98).

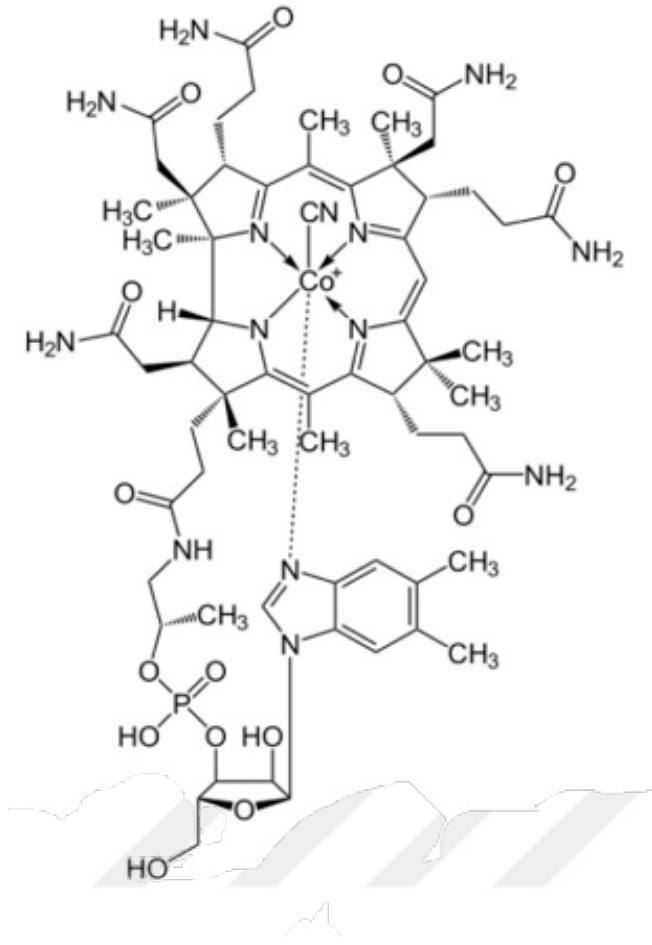
B₉ Vitamini (Folik Asit): Folik asit ismi Latince yaprak anlamına gelen “folium” kelimesinden gelmektedir. Karaciğer ve yeşil yapraklı sebzeler en iyi kaynakları olarak bilinmektedir. Folik asit ve folat birbirinden farklı yapılardır. Folat besinlerde ve dokularda doğal bir şekilde yer alırken folik asit vitamininin oksidasyonu ile oluşmaktadır. B₉ vitamini yapısı Şekil 2-12'de gösterilmiştir. Besin zenginleştirme ve gıda takviyeler içerisinde kullanılan sentetik formu da bulunmaktadır (99). Folik asit için karaciğer ve taze yeşil sebzeler önemli depo kaynağı olarak belirtilmektedir. Yanlış pişirme tekniklerinin kullanılması %90-95 gibi ciddi folik asit kaybına sebep olmaktadır. Özellikle sıcaklığa dayanıksız olması nedeniyle yüksek sıcaklıklarda kayıpların daha fazla olduğu belirtilmektedir. Sıcaklıktaki artış ve ısıtma süresinin uzaması kaybın artmasına neden olmaktadır. Pişirme suyu miktarındaki artış ve pişirme suyunun dökülmesi kaybın daha da fazla olmasının sebebidir. Dolayısıyla pişirme tekniklerine özen gösterilmesi gerekmektedir (100). Hamilelerde, çocuklarda ve aşırı alkol kullanan kişilerde yetersizlik daha sık görülür. Besinlerden yetersiz alımını ve emilim bozukluğu olması da yetersizliğe sebep olan faktörlerdir. Folik asit yetersizliği durumunda görülen en önemli sorunlar fetüste nöral tüp defekti (NTD) ve megaloblastik anemidir. NTD, Türkiye'de bin canlı doğum içerisinde 3 olarak belirtilmektedir (101-103). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından doğurganlık döneminde bulunan kadınlar için, hamilelikten en az bir ay öncesinden ve hamilelik döneminin üçüncü ayına kadar geçen zaman zarfında 400 µg/gün folik asit alınması tavsiye edilmektedir. T.C. Sağlık Bakanlığı Doğum Öncesi Bakım Yönetim Rehberinde hamilelik planlayan her kadının hamilelik döneminden en az bir ay öncesinde 400 - 800 µg/gün folik asit kullanması gerektiğini, NTD bakımından riskli gruplarda (nöral tüp defektli hamilelik öyküsü olanlar, anti epileptik ilaç kullananlar, diyabet ve obezite gibi) hamilelik döneminden 3 ay önce 4 mg / gün (yüksek doz) folik asit kullanımına başlanıp

hamilelik döneminin 12. haftasına kadar devam edilmesi gerektiğini bildirmiştir (102-104). TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum B₉ vitamini miktarı 4-10 yaş arası bireylerde 300 µg, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 600 µg'dır (18).



Şekil 2-12: B₉ vitamini yapısı

B₁₂ Vitamini (Kobalamin): Kobalamin adı, kobalt kelimesinden "kobal" ve vitamin (kobal-amin) kelimesinden "amin" kelimesinden türemiştir. Vücutta, B₁₂ vitamininin aktif koenzim formları metilkobalamin ve deoksiadenozil kobalamindir. B₁₂ vitamini, B vitaminlerinin en karmaşık olanıdır. B₁₂ vitamini yapısı Şekil 2-13'te gösterilmiştir. Hayvan hücrelerinde sentezlenmeyen B₁₂ vitamini dışarıdan alınır. Normalde yiyeceklerdeki proteine bağlıdır ve eksikliği genellikle alım eksikliğinden değil, emilim eksikliğinden kaynaklanır. Midede yetersiz hidroklorik asit, B₁₂ vitamininin proteinlerinden salınmasını engelleyerek kullanılamamasına neden olur. Pernisiyöz anemi, hasarlı mide hücrelerinin neden olduğu B₁₂ vitamininin yetersiz emiliminden kaynaklanır. Sıklıkla 60 yaş üstü kişilerde görülür. Hasarlı mide hücreleri yeterli hidroklorik asit ve/veya yeterli intrinsik faktör yapamaz. Pernisiyöz anemide, B₁₂ vitamini enjekte edilmeli veya burun spreyi yoluyla doğrudan emilimi sağlanmalıdır. B₁₂, vitaminin yetişkinlerde günlük 2,4 µg/gün, 50 yaş üstü bireylerde 2 µg/gün ve hamilelikte 2,6 µg/gün kullanımı önerilmektedir (105-108).



Şekil 2-13: B₁₂ Vitamini yapısı

2.1.1.2. Mineraller

Mineraller, belirli bir kimyasal bileşime sahip, homojen, inorganik kristalli bir katıdır. Mineraller, deneysel çalışmalarda gözlemlendiği gibi doğada veya belirli fizikokimyasal koşullar altında oluşur. Mineraller, yeni doğan bebeklerde vücut ağırlığının % 3, yetişkin bireylerde % 4'ünü oluşturur. Kemik, kan ve kaslarda yoğun olarak bulunur. Büyüme, gelişmede, yaşamının devamlılığı ve sağlığının korunmasında görev alır. Hücrelerin ozmotik basıncını dengede görev alır. Vücutta tuz, bileşik ya da iyonik halde bulunur (109-110).

Kalsiyum: Kalsiyum (Ca) atom numarası 20 olan bir kimyasal elementtir. Vücutta en çok bulunan mineral kalsiyum mineralidir. Kanın pıhtılaşmasında, kas ve sinir sisteminde görev almasının yanısıra kemik ve diş sağlığı için gereklidir. Süt, yoğurt, peynir, tahıllarda bol miktarda bulunur. Süt ve süt ürünleri tüketiminde sorun yaşayan

kişiler lahanaya, karnabahara, ıspanak vb. beyaz ve koyu yeşil renkli sebzelerden kalsiyum gereksinimlerini karşılayabilir. Günlük kalsiyum ihtiyacı yaşa ve cinsiyete göre değişir. 18 yaş üstü bireylerde günlük kalsiyum alım miktarının 800-1000 mg aralığında olması önerilmektedir. TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum kalsiyum minerali 4-10 yaş arası bireylerde 750 mg, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 1500 mg'dır (18). Yaşlılarda, büyüme dönemindeki çocuklarda, kadınlarda özellikle hamilelik, laktasyon ve menopoz döneminde kalsiyum gereksinimi artar (111). Kalsiyum eksikliği, kemiklerde güçsüzlük ve yumuşaklık yaratabilecek bir kemik erimesi olan osteoporoz gibi kemik hastalıklarına neden olabilir. Ayrıca sinir sistemi ve kas fonksiyonlarının bozulması da diğer olumsuzluklar arasındadır. Eksikliğine çocuklarda rastlandığında raşitizme neden olur. Yapılan çalışmalar kapsamında beş yılı geçen menopoz süresi ve beslenme ile yetersiz kalsiyum alan kadınlarda (< 400 mg/gün) kemik erimesinin nedenidir. Kalsiyumun fazla alınması ise böbrek taşı, doku kireçlenmeleri, damar sertliği, uzun kemiklerin anormal kemikleşmesine neden olmaktadır (112).

Magnezyum: Magnezyum metabolizma da birçok yerde görev aldığından organizmadaki bütün hücrelere yayılmış şekilde yer alır. Karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmaları için gereklidir. Ayrıca kas kontraksiyonunda da görev alır (113) Kabuklu meyveler, yeşil yapraklı sebzeler, baklagiller, tahıllar, kakao ve çikolatada bolca bulunur (100). Magnezyum desteği, gebelik zehirlenmesinin önlenmesinde, migren, depresyon, koroner arter hastalığı ve astım tedavisinde kullanılır (115). TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum magnezyum minerali 4-10 yaş arası bireylerde 125 mg, 11 yaş ve üzeri bireylerde maksimum 250 mg'dır (18). Magnezyum mineral eksikliğinde kalp rahatsızlıkları, kas güçsüzlüğü, uyku problemleri, duygusal instabilite, adet düzensizliği, osteoporoz ve hipertansiyon gibi sağlık sorunları ortaya çıkabilmektedir. Baş ağrısı, çarpıntı, halsizlik, iştahsızlık ve titreme magnezyum eksikliği belirtileridir (115).

Demir: İnsan vücudundaki toplam miktarı 2,5 - 4 g arasındadır. Yetişkinlerde demirin 2/3'ü eritrositlerde hemoglobinin yapısında, %25'i hemosiderin veya ferritin yapısında dalak, karaciğerde, kemik iliğinde, %15' i kas hücrelerinde miyoglobinin yapısına katılmış olarak bulunur (113). Demirin organizmadaki en önemli görevi oksijen taşınmasıdır. Bağışıklık sistemi ve bilişsel performans için de gerekli olduğu bilinir. Kırmızı ve beyaz et, balık, yumurta, yeşil yapraklı sebzeler, kuru meyveler ve

tahıllar demir kaynağıdır (100). TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum demir 4-10 yaş arası bireylerde 8,5 mg, 11 yaş ve üzeri bireylerde 17 mg'dır. Sağlıklı yetişkinlerde günlük ortalama 13 mg demir minerali alınması önerilir. Eksiliğinde, demir eksikliği anemisi olarak bilinen hastalığa yol açabilir. Bu hastalık, demir bakımından yetersiz beslenmede veya vücudun demiri absorbe edememesi gibi nedenlerle oluşur. Yorgunluk, halsizlik, nefes darlığı, halsizlik, uyku hali, mide bulantısı veya kusma, ciltte solukluk veya sarılık, saç dökülmesi, tüylerin zayıflaması demir eksikliği anemisi belirtileri arasındadır (100).

Çinko: Demirden sonra gram şeklinde vücutta en fazla bulunan mineraldir. Nerdeyse yüzden fazla enzimin katalizörlüğünü sağlar. Çocukların büyümesinde gecikme, koku ve tat değişimi, organların oksijensiz kalması, saç dökülmesi, erkekte ve cinsiyet hormonlarında azalma, yara iyileşmesinde gecikme çinko eksikliği belirtileridir. Deniz ürünleri, yumurta ve et, kuru baklagiller ve tahıllar da bolca bulunur. Çinko eksikliği, ağırlıklı olarak hamileler, emziren anneler, ergenler, çocuklar ve bebeklerde görülmektedir. Ayrıca fitat bulunduran baklagillere ve tahıllarla beslenen kişiler çinkonun emiliminin bozulmasından kaynaklı olarak çinko eksikliğiyle karşı karşıyadır (115). Hayvansal kaynaklar çinko bakımından zengin olduğundan veganlarda da çinko eksikliğine rastlanmaktadır (113). TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum 4-10 yaş arası 7,5 mg/gün, 11 yaş ve üzeri bireylerde 15 mg/gün çinko alımı önerilmektedir (18). Çinko mineralinin fazla alınması durumunda ise bulantı, kusma, ishal, ağızda metalik tadın oluşması gibi yan etkiler oluşabilir (115).

İyot: Yetişkin bir bireyin vücudunda ortalama olarak 20-30 mg iyot bulunur. İyodun %75'i tiroid bezinde, geriye kalan kısmı kan, süt salgılayan meme bezi, mide mukozası ve diğer dokulardadır. İyodun en önemli görevi tiroit hormonunun sentezidir. İyot, hem gebelikte hem de doğum sonrasında oldukça önemli bir mineral olup, eksikliğinde takviye edilmesi gerekir. Eksik olması durumunda bebeğin mental gelişim geriliğine neden olabilir. Ayrıca, su ve toprağın iyot bakımından fakir olduğu bölgelerde görülen guatr ve endemik kolloid guatr (iyot yetersizliğinde kaynaklanan guatr) hastalıklarının sebebidir. Mısır, bazı kuru baklagiller, karalahana ve turp gibi guatrojenik besinler iyot eksikliğine neden olabilir. TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum iyot 4-10 yaş arası bireylerde 75 µg olurken 11 yaş ve üzeri bireylerde 150 µg'dır (18). İyot ihtiyacı artan yaşla birlikte azalır, adolesan ve hamilelik dönemlerinde ise artış gösterir. Deniz

ürünleri en önemli iyot kaynağıdır. Gıdalarda bulunan iyot miktarı, gıdanın üretildiği bölgenin toprağı ve suyunun mineral içeriğine bağılı olarak değişir. Yeterli miktarda iyot en kolay iyotlu sofratuzlarından alınır (100,113).

Selenyum: Selenyum vücutta önemli bir rol oynayan bir mineraldir. Vücutun bazı enzim ve hormonlarının yapısında yer alır. Kalp sağılığını koruyan etkileri ile anti-inflamatuar özelliklere sahiptir ve bağışıklık sistemini güçlendirerek, vücutun kansere karşı daha dirençli hale gelmesine yardım eder. Et, tahıl, baklagiller ve yumurta gibi gıdalarda bulunur. Vücut için gerekli selenyum miktarı düşük olduğundan dolayı seksikliğı nadiren görülür. TİTCK'e göre günlük alınabilecek maksimum selenyum 4-10 yaş arası bireylerde 100 µg olurken 11 yaş ve üzeri bireylerde 200 µg'dır (18).

2.1.1.3. Bitkisel Gıda Takviyeleri

Bitkilerin yaprak, meyve, kök, gövede, tohum gibi bölümlerinden elde edilen maddelerdir. Bitkisel gıda takviyeleri, doğal olarak elde edilir ve genellikle yan etkileri azdır. Gıda sektöründe yaygın kullanılan bitkisel takviyeler, yeşil çay, papatya çayı, sarı kantaron, Ginkgo biloba v.b. bitkiler veya preparatlarıdır (116).

Yeşil Çay: *Camellia sinensis* adlı bitkiden üretilen, işlenmemiş veya az işlenmiş çaydır. Yeşil çay, özellikle Çin, Japonya ve Kore gibi Asya ülkelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çay yapraklarının siyah çay veya kahve gibi kavrulmaması nedeniyle, antioksidan bakımından zengindir. Bu antioksidanlar sayesinde vücutun serbest radikallerden korunmasına destek verir. Kalp sağılığı, diyabet, obezite, kanser gibi sağılık sorunlarına iyi gelen özellikleri vardır. Ayrıca, kilo vermeyi desteklediğı ve ödem atılmasını sağladığı bilinir (100,101). Yapılan çalışmalarla yeşil çay bazlı gıda takviyelerinin sağılıklı yetişkin bireylerde günde 300 mg alınmasının güvenli olduğu bildirilmiştir (104).

Papatya Çayı: Papatya bitkisinin yapraklarından ve çiçeklerinden üretilir. Papatya çayı, uyku bozukluklarına, rahatsız bağırsak sendromlarına, kas ağrılarına ve adet dönemi sancularına iyi gelen özelliklere sahiptir. Aynı zamanda içerdiği antioksidanlar nedeniyle cildin sağılığını koruyan etkileri vardır. Genellikle nemli ve sıcak iklimlerde yetişen bir bitki olduğu için çoğunlukla tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişir (117).

Sarı Kantaron (St.John's Wort): Genellikle çalıların ve ormanların içinde yetişir ve özellikle Türkiye, Gürcistan ve İran gibi bölgelerde bulunur. Sarı kantaron bitkisi, anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir ve ağrıları azaltmaya yardımcı olur. Antikanserojen etkisi ile kanserli hücrelerin çoğalmasına karşı destek olarak kullanılır. Bağışıklığı güçlendirerek vücudun viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı daha dirençli hale gelmesini sağlar. Ayrıca, yaraların iyileşmesini hızlandırarak cilt sağlığını korumaktadır ve saç uzamasını arttırmaktadır (118).

Ginkgo biloba (Japon Eriği): Çin ve Japonya gibi ülkelerde yaygın olarak yetiştirilen bir bitkidir. Bu bitkinin özellikle hafıza ve dikkat gibi zihinsel fonksiyonlar üzerinde olumlu etkileri olduğu düşünülmektedir. Hafıza kaybı, demans, depresyon veya anksiyete gibi durumlarda kullanılabilir. Ayrıca, ginkgo biloba ekstresi olarak satılan bitki özleri tansiyon, ateroskleroz ve bazı kalp rahatsızlıkları gibi sağlık sorunlarının önlenmesi veya tedavisinde kullanılmaktadır. Ginkgo biloba dünyada en çok satılan bitkisel gıda takviyelerindendir (119).

2.1.1.4. Fonksiyonel Gıda Takviyeleri

Fonksiyonel gıda takviyeleri, bireyin ihtiyaçlarına yönelik olarak formüle edilmiş ürünlerdir. Standart beslenmede eksik olan besin maddelerini tamamlamak, sağlık sorunlarını önlemek veya tedavi etmek amacıyla kullanılabilir. Fonksiyonel gıda takviyeleri, balık yağları (omega-3, omega-6), probiyotikler ve koenzim Q10 (Ubikinon) gibi ürünlerdir (120).

Balık Yağları (Omega-3, Omega-6): Gıda takviyesi olarak alınan balık yağları, özellikle omega - 3 yağ asitleri EPA (eikosapentaenoik asit) ve omega-6 yağ asitleri DHA (dokosaheksaenoik asit) içermektedir. Balık yağları, trigliserid seviyelerini azaltarak kalp rahatsızlıklarının riskini azalttığı için özellikle EPA ve DHA sağlıklı bir kalp için gereklidir. Ayrıca, beyin ve cilt sağlığının korunmasını destekler. EPA romatoid artrit ve diğer inflamatuvar hastalıkların belirtilerini azaltmaya ve kognitif fonksiyonların iyileştirilmesine yardımcı olur. Özellikle, balık yağlarının depresyon, kalp hastalıkları, kanser ve diğer sağlık sorunlarını önlemede potansiyel faydaları olduğunu bilinir (121,122).

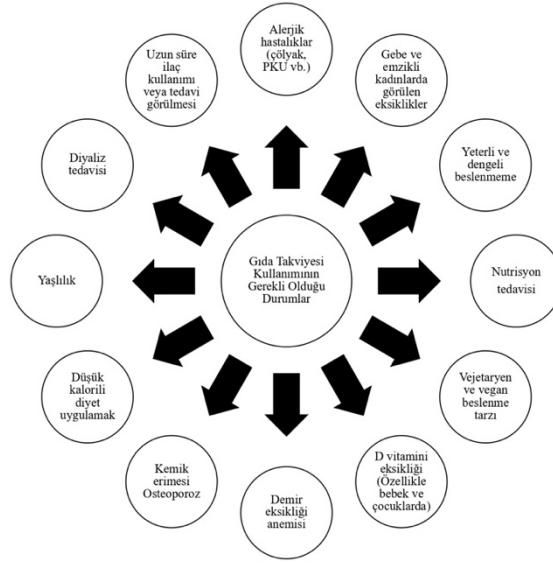
Probiyotikler: WHO ve Birleşmiş Milletler Tarım ve Gıda Örgütü'nce (FAO) "konakçıya sağlık yararı sağlayan mikroorganizma" olarak tanımlanmaktadır. Probiyotikler, özellikle bakteriler olarak bilinir ve genellikle süt ürünlerinde gıda

takviyeleri olarak bulunurlar. Sağlıklı bir mikroflora için hayati öneme sahip olan canlı mikroorganizmalardır. Vücudunuzda doğal olarak bulunan ve eksikliğinde takviye olarak alınan bu mikroorganizmalar, sindirim sisteminin düzgün çalışması için gereklidir. Bu mikroorganizmalar, mide ve bağırsakların içinde bulunan diğer bakterilerle rekabet ederek, sindirim sisteminin düzgün çalışmasına destek verir. Sindirim sistemi ile ilgili sorunların önlenmesine veya azaltılmasına yardımcı olmasının yanısıra immün sistemini güçlendirir ve psikolojik sağlığın iyileştirmesine katkıda bulunur (123,124).

Koenzim Q10 (Ubikinon): Koenzim Q10, vücutta sentezlenir ve mitokondri hücrelerinde bulunur. Mitokondride enerji üretiminde görev aldığından eksikliğinde enerji üretiminde azalma ve aktif oksijen türlerindeki artışa bağlı antioksidan sistemde bozulma olabilir. Ayrıca kardiyomiyopati gibi kalp hastalıkları, Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklar, kas hastalıkları, katarakt, diyabet ve diğer sağlık sorunları ortaya çıkabilir (125,126).

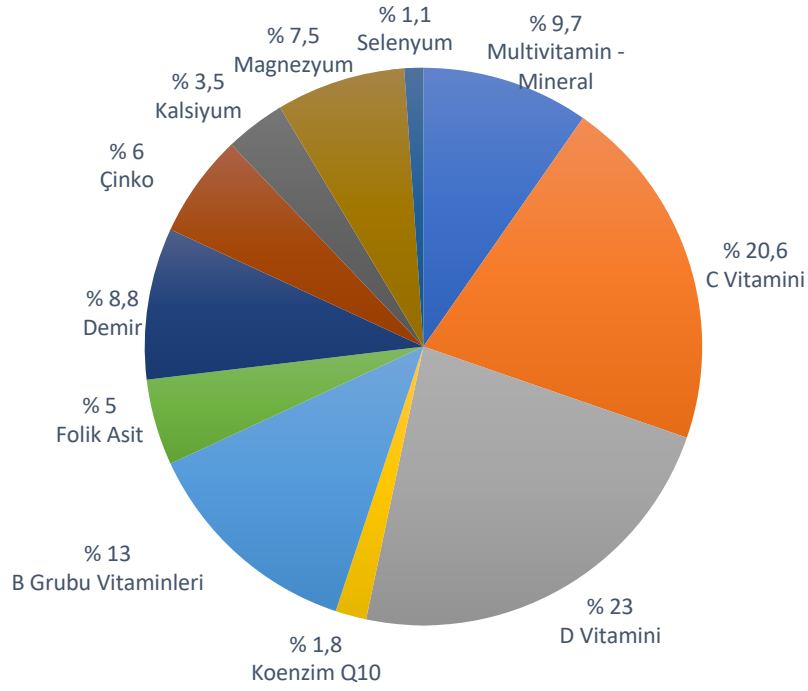
2.1.2. Gıda Takviyelerinin Kullanımı

Gıda takviyeleri, genellikle beslenme eksikliklerini gidermek, sağlıklı yaşlanmak, spor performansını arttırmak, sağlık sorunlarını önlemek veya azaltmak ve genel sağlığı korumak için kullanılır. Gıda takviyelerinin kullanımın gerekliliği olduğu bazı durumlar Şekil 2-14'te gösterilmiştir. Sağlıklı bir beslenme ile alınan besin maddelerinin eksikliğini tamamlamak için kullanılan gıda takviyeleri, ilaçlar gibi tedavi etmek veya önlemek amacıyla kullanılmaz. Bundan dolayı gıda takviyeleri ilaç olarak değerlendirilmemelidir. Gıda takviyeleri genellikle önceden belirlenmiş bir dozda ve belirli sürelerde kullanılmalıdır. Ayrıca ilaçlar gibi üretim ve pazarlama standartlarına sahip olmadığından gıda takviyelerinin içerdiği maddelerin doğruluğu veya güvenliği konusunda endişeler vardır (127).



Şekil 2-14: Gıda takviyeleri kullanımının gerekli görüldüğü bazı durumlar

Gıda takviyelerine olan ilgi özellikle COVID - 19 ile oldukça artmıştır. Türkiye’de COVID - 19’a karşı vücut direncini arttırmak amacıyla gıda takviyesi kullanımı, salgın başında % 29 iken bu oran COVID - 19 döneminde ise % 43’e kadar yükselmiştir. Türkiye’ye ilk COVID-19 vakasının karşılaşıldığı Mart 2022 tarihinde Google verilerine göre “vitamin” aramalarının son beş yılın en yüksek verileri olduğu ve pandemi süresince vitaminlere ilgi giderek arttığı belirlenmiştir. Google verilerine göre en çok aranan vitaminler ise C ve D vitaminidir. Pandemi süresince ülkemizde kullanılan vitamin ve mineraller Şekil 2-15’te gösterilmiştir (128).



Şekil 2-15: Katılımcıların pandemide kullandıkları vitaminler ve mineraller

2.1.3. Gıda Takviyeleri ve İlaç Etkileşimleri

İnsan sağlığı üzerine pozitif etkilerine karşı bilinçlenme arttığından, gıda takviyelerinin tüketim hızı da her geçen gün artmaktadır. Fakat gıda takviyelerinin bilinçsizce kullanılması ile birçok yan etki de ortaya çıkmaktadır. Gıda takviyesi ve ilaç arasındaki etkileşim ile ilacın etkisini azalabilir, artabilir ya da tahmin edilemeyen yan etkilere neden olabilir. Örneğin; E vitamini ve aspirin etkileşimi ile antitrombotik etki artabilmektedir. Kalsiyum ve digitoksin/digoksin içeren ilaçların etkileşimi ile de kardiyotoksit, ritim bozukluğu ve kardiyovasküler rahatsızlık gibi sorunların ortaya çıkabilir. Tablo 2-1' de gıda takviyesi olarak tüketilen vitamin ve minerallerin ilaçlarla etkileşimleri verilmiştir (129).

Tablo 2-1: Bazı vitamin ve minerallerin ilaçlarla olan etkileşimleri

Gıda Takviyesi	İlaç	Etkileşim
A Vitamini	Absiksimab, asenokumarol, dermatan sülfat, di-kumarol, heparin, varfarin vs.	Kanamayı arttırma riski
	Asitresin, karob, etretinat vs.	A vitamini toksisitesini arttırma
B12 Vitamini	Kolestipol	A vitamini etkisini azaltma
	Askorbik asit	Vücutta ve serumda siyanokobalaminin faydasını azaltır
Magnezyum	Aminosalisilik asit, simetidin vs.	Siyanokobalaminin emilimini azaltma
	Kalsitriol, dokserkalsiferol	Hipermagnezemi
	Amikasin, dibekasin, streptomisin, tobramisin vs.	Nöromusküler zayıflık
	Dikumarol	Kanamayı arttırma riski
Demir	Felodipin, isradipin	Tansiyon düşmesi
	Asetohidroksamik asit, sefdinir, sinoksasin, doksisiklin, ofloksin, minosiklin, tetrasiklin, penisilamin vs.	İlaç etkinliğinin azalması
	Asetohidroksamik asit, kalsiyum, alüminyum fosfat, kolestimamin, sodyum karbonat, doksisiklin, bikarbonat vs.	Demir etkinliğini azaltma
	Levotroksin	Tiroit yetmezliği

2.1.4. Gıda Takviyeleri Mevzuatı

“Ülkemizde gıda takviyelerine ait tebliğin amacı; takviye edici gıdaların tekniğine uygun ve hijyenik olarak üretim, hazırlama, işleme, muhafaza edilme, depolama, taşıma ve piyasaya arzını sağlamak üzere ürün özelliklerini belirlemektir. Takviye edici gıdalar 5996 sayılı Kanunu’nun 3. Maddesinin 1. fıkrasının 65. bendinde; “Normal beslenmeyi takviye etmek amacıyla, vitamin, mineral, protein, karbonhidrat, lif, yağ asidi, amino asit gibi besin öğelerinin veya bunların dışında besleyici veya

fizyolojik etkileri bulunan bitki, bitkisel ve hayvansal kaynaklı maddeler, biyoaktif maddeler ve benzeri maddelerin konsantre veya ekstraktlarının tek başına veya karışımlarının, kapsül, tablet, pastil, tek kullanımlık toz paket, sıvı ampul, damlalıklı şişe ve diğer benzeri sıvı veya toz formlarda hazırlanarak günlük alım dozu belirlenmiş ürünler” olarak tanımlanmıştır. Buna göre bir ürünün takviye edici gıda olarak tanımlanması için gıda, ilaç, bitkisel tıbbi ürüntanımına girmemesi gerekmektedir. 5996 sayılı Kanunu'nun 28'inci maddesi uyarınca, “Takviye edici gıdaların üretim, ithalat, ihracat ve kontrolüne ilişkin usul ve esaslar Bakanlıkça belirlenir.” İlgili hüküm uyarınca takviye edici gıdaların üretim, ithalat, ihracat ve kontrolüne ilişkin usul ve esaslar Tarım ve Orman Bakanlığı'na belirlenmektedir. Yine aynı maddede özel tıbbi amaçlı diyet gıdaların üretim, ithalat, ihracat ve kontrolüne ilişkin usul ve esasların Sağlık Bakanlığı'na belirleneceği hüküm altına alınmıştır (130,131).

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından 2 Mayıs 2013'te Resmi Gazete'de yayınlanan “Takviye Edici Gıdaların İthalatı, Üretimi, İşlenmesi ve Piyasaya Arzına İlişkin Yönetmelik ile takviye gıdaların ithalatı, üretimi, işlenmesi ve piyasaya arzına ilişkin usul ve esaslar belirlenmiştir.”

Yönetmeliğin

11. maddesinin 1. fıkrasında, “Takviye edici gıdaları ithal etmek, üretmek, işlemek ve piyasaya arz etmek isteyen kurumların işletme kayıt belgesi alması zorunludur.”

9. maddesinin 5. fıkrasında, “Bakanlıkça onaylanan takviye edici gıdaların listesi ile bu gıdaları üreten, işleyen ve ithal eden gıda işletmeleri, Bakanlığın resmi internet sitesinde güncellenerek yayınlanır.”

10.maddenin 5. fıkrasında, “Takviye edici gıdalar onay alınmadan üretilemez, işlenemez, ithalat yapılamaz ve piyasaya arz edilemez.”

15. maddenin 1. fıkrasında, “Bakanlık, ithal edilen, üretilen, işlenen ve piyasaya arz edilen herhangi bir takviye edici gıdanın insan sağlığı üzerinde zararlı bir etkisinin olması ihtimalinin belirmesinde, bilimsel belirsizliklerin devam etmesi ve mevcut tedbirlerin yetersiz kalması durumunda, kapsamlı bir risk değerlendirmesine imkân sağlayacak daha fazla bilimsel veri elde edilinceye kadar, geçici olarak üretimin veya ülkeye girişin durdurulması, piyasaya arzının ve kullanımının yasaklanması,

tüketiminin engellenmesi ve toplatılması gibi ihtiyati tedbirlere başvurulabilir gibi maddeler yer almaktadır (18).”

Gıda takviyelerinin düzenlenmesiyle ilgili en büyük zorluk, farklı ülkelerde gıda takviyeleri, doğal sağlık ürünleri, tamamlayıcı ilaçlar veya gıda takviyeleri olarak bilinen ürün kategorisinin nasıl tanımlandığı konusunda küresel bir fikir birliği olmamasıdır. Örneğin, gıda takviyesi olarak kabul edilen ve ABD'de gıda olarak düzenlenen bir ürün, başka bir ülkede gıda takviyesi, terapötik ürün (tamamlayıcı ilaç) veya reçeteli ilaç olarak kabul edilebilmektedir. Geleneksel veya alternatif tıp için mevcut bir düzenleyici çerçeveye sahip olmayan Çin veya Hindistan gibi ülkeler göz önüne alındığında durum daha da karmaşık hale gelmektedir (132).

2.1.5. Gıda Takviyelerinin Pazarı

2.1.5.1. Dünyada Gıda Takviyelerinin Pazarı

Gıda takviyeleri pazarı her geçen gün büyüyerek gelişmekte ve tüketicilerin bu ürünleri hayatlarının bir parçası olarak görmeleri giderek daha normal hale gelmektedir. Dünya genelinde, özellikle eğitim düzeyi ve sağlık bilinci yüksek tüketiciler bu pazarın büyük bir bölümünü oluşturmaktadırlar. 2017 yılı itibari ile dünyada gıda takviyeleri pazar büyüklüğünün toplamda 90 milyar dolar, spor gıdaları pazarının büyüklüğünün 11 milyar dolar olduğu ve kilo kontrollü gıda pazarının hacminin 15 milyar dolar civarında olduğu ortaya konmuştur. Satış rakamlarının bu derece yüksek olmasının sebebi son yıllarda uygulanan satış stratejilerinin, reklamların ve internetin oldukça fazla bir etkisi olduğu bilinmektedir (133). COVID-19 pandemisi boyunca yerel hükümetlerin uyguladığı kısıtlamalar sonucunda değişen yaşam ve beslenme şekli, yükselen bir grafiğe sahip gıda takviyeleri pazarının daha fazla ivmelenmesine destek olmuştur (17). Bilhassa COVID-19 hastalığını önleme ve bağışıklığı desteklemek için halk arasında gıda takviyeleri tüketiminin yükselmesi, gıda takviye pazarının son dönemde artan bir ivme ile büyümesinin diğer bir sebebi olarak düşünülmektedir (134).

2017 yılında yaklaşık 140 milyar dolar küresel piyasa değerine sahip olan gıda takviyeleri pazarının, sürekli genişleyen ürün portföyü ile 2024 yılında yaklaşık 247,8 milyar dolara ulaşacağı düşünülmektedir (17). Pazarın bu oranda gelişmesinin sen önemli sebepleri başarılı tanıtım ve satış stratejileri ve bu ürünlere ulaşım kolaylığıdır (135).

Türkiye ve AB ülkelerinde beslenmeyi düzenlemek ve desteklemek amacıyla tüketilen gıda takviyeleri ilaç olarak değerlendirilmemektedir. Gıda takviyelerinin kullanılması ile ilaca bağımlılık azaltıldığı gibi sağlık harcamalarını düşürme şansı yakalanmaktadır. 2007 ve 2017 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde gıda takviyelerinin kullanımı önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. ABD’de gıda takviyelerinin piyasa hacminin, bilhassa 2003 yılından itibaren devamlı arttığı ve sektörün yaklaşık 16.8 milyar dolar düzeyine ulaştığı belirtilmektedir (136). Ayrıca her 100 ABD’liden 77’sinin gıda takviyelerini kullandığı belirlenmiştir. Gerçekleştirilmiş birçok araştırmanın sonucunda kişinin eğitim düzeyi ve sağlıklı yaşam tarzına ilgisi arttıkça gıda takviyelerine olan taleplerinin de aynı derecede arttığı belirlenilmiş ve bu kişilerin pazarın tüketici anlamında büyük bir bölümünü oluşturduğu düşünülmektedir (135). Birçok farklı gıda takviye ürünlerinin olduğu küresel çaptaki pazarda, FDA konu ile ilgili bulunan raporunda 29000’den fazla gıda takviye ürününün bulunduğu ve her geçen sene bu ürün sayısına yaklaşık 1000 kadar yeni ürünün ilave olduğu bildirilmiştir (137,138).

Avrupa’da gıda takviyelerin satış oranı % 9,5 oranında büyüyerek 2021 yılı sonu itibariyle piyasa hacmi 0,7 milyar Euro artarak yaklaşık 7,9 milyar Euro’ya ulaşmıştır. Doğu Avrupa’daki gıda takviyeleri satış oranı bakımından ikinci en büyük ülkesi olan Polonya’da sektörün, yıllık ortalama % 5’lik bir büyümeyle 2018 yılında yaklaşık 1,46 milyar dolara ulaşmıştır (17). AB ülkeleri ve Amerika’da gıda takviyeleri günlük beslenmeye destek olarak düşünülmekte ve ilaç grubunda değerlendirilmediği için bu ürünler reçete edilmemektedir. Bu sayede devletlerin sağlık alanındaki harcamalarında önemli azalışlar olmuştur (135).

Gıda takviyelerinin bölgesel pazar payı incelendiğinde Asya, Pasifik, Avrupa, Kuzey Amerika dünyada en geniş pazara sahip bölgeler olmaktadır. Pazar incelendiğinde Çin, ABD ve Hindistan pazara hakim olan ülkelerdir. Özellikle Çin ve Hindistan’ın Pazar payının yüksek olması gıda takviye hammaddelerine kolay erişimden kaynaklanmaktadır. Gıda takviye pazarının en önde üreticileri; Amway, Integrated BioPharma, NBTY, Herbalife, Omega Protein Corporation, Nu Skin Enterprises, Bayer, Naturalife Asia, Nu Skin Enterprises, Blackmores, Epax, Surya Herbal, Bio-Botanica, Himalaya, Ricola, Pharmavite, Blackmores ve Axellus firmalarıdır (139).

2.1.5.2. Gıda Takviyeleri Pazarında Türkiye

Türkiye'de de gıda takviyeleri pazarı hızla büyümektedir. Pazarın büyümesi, artan sağlık bilinci, yaşlanan nüfus ve yükselen işletmelerin ürün yelpazesinin genişlemesi gibi faktörlerle açıklanmaktadır. Özellikle vitamin, mineral, probiyotik ve bitkisel takviyeler popülerdir. Aynı zamanda, online alışverişin yaygınlaşması ve Dünya genelindeki pandemi nedeniyle, Türkiye'deki gıda takviyeleri pazarı da online satışlar ile artmıştır. Türkiye 2016 yılında toplam gıda takviyesi pazarı 735 milyon TL, 2021 yılında bu pazarın 950 milyon TL'ye ulaştığı görülmüştür. Standart beslenmede oluşabilen eksiklikler ve yoğun yaşam tarzının getirdiği olumsuzluklar, insanların gıda takviyelerine ilgisini arttırmıştır. Türkiye'de sebze ve meyve tüketimi yüksek olmasına rağmen pişirme yöntemleri nedeniyle bu kaynaklardan elde edilen vitamin ve mineral miktarı çok düşük olmaktadır. Türkiye'de bireylerin yaygın bir şekilde D vitamini, B grubu vitaminler, çinko, fosfat, demir, magnezyum eksikliğinden şikayet ettiği, buna karşın A vitamini, sodyum ve şekerden zengin beslenildiğini vurgulamaktadır. Bu olumsuz durumlar da kişilerin gıda takviyeleri kullanma nedenlerinden biridir (140).

2.1.6. Gıda Takviyelerinde Helal Uygulamalar

İslam Hukukuna göre helal ve haram tanımlaması Kur'an-ı Kerim, sünnet ve icma gibi birincil ve ikincil hukuk kurallarına göre tanımlanmıştır (141). Genel olarak, insan kullanımı ve yararı için her şeye izin verilir. Bu nedenle, yukarıda belirtilen kaynaklara aykırı olduğu kanıtlanırsa, gıda veya tüketim ürününün İslam Hukuku tarafından haram olduğu anlaşılmaktadır. İslam hukukunun bu kuralları, insanlara haram olmadığı sürece diledikleri her şeyi yiyip içme özgürlüğü getirmektedir (142,143).

Gıda, çeşitli etnik, sosyal ve dini gruplar arasındaki etkileşim için en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilir. Bütün insanlar yedikleri yemekle ilgilenirler: Müslümanlar yediklerinin helal olmasını, Yahudilerin yiyeceklerinin koşer olmasını isterler. Hindular, Budistler ve diğer bazı grupların yiyecekleri vejetaryendir (142,144).

Müslümanların İslam Dinince yasak olan (haram) gıdaları tüketmeleri dini kurallara uygun değildir. Gıda tüketimi tercih hakkının tüketiciye bırakılması durumunda ürün üzerinde net bir şekilde alkol, domuz eti ve benzeri haram kılınan ürünlerin belirtilmesi gerekir. Ayrıca helal ürün olabilmesi için hayvanların kesim teknikleri de İslam'a uygun olmalıdır (145). Bu konu dahilinde de güvenilirlik olması

ve kesimlerin helal olması durumunun kontrol edilmesi aşamaları da sertifika veren kuruluşlar tarafından yapılmaktadır. Bütün bunların yanında hayvanların kesim tekniklerine ek olarak hayvanların beslenmiş oldukları yemlerin de dini açıdan uygun olmayan maddeler (hayvansal atık malzemesi, kan vb) bulundurmamasına dikkat edilmesi gerekir. Özellikle yüksek oranda protein bulundurması nedeniyle hayvan yemine ek olarak kan unu kullanılması hayvanların necis olmalarına neden olur. Bir süre temiz besinlerle beslenen hayvanların vücutlarından bu sakıncalı maddeler atılıp sakıncalı durumun yok olması söz konusu olsa da bu bekletmenin günümüz koşullarında müşteri talebi bakımından pek mümkün olmamaktadır. Dolayısıyla şüphe oluşturan gıdanın tüketilmemesi tercih edilmemelidir (146).

Gıda takviyelerinin helal uygulamaları, İslam hukukuna göre belli bir düzen içinde hazırlanması ve satılması anlamına gelir. Üretim sürecinden başlayarak, tasarımı, etiketlenmesine kadar birçok faktöre uygulanır. Gıda takviyelerinin İslam Hukuku'na göre helal olabilmesi için, içeriğinde haram maddeler bulunmaması gerekir. Helal ürünlerin, üretim sürecinde İslami standartlara uygun bir şekilde üretilmesi gerekir. Gıdaların helal olduğunun tüketiciler tarafından anlaşılabilmesi için ürünlerin üzerinde helal etiketi bulunması gerekir. Bu etiket, ürünün İslam hukuku kurallarına uygun olarak üretildiğini gösterir. Gıda takviyelerinin helal olduğunun doğrulanması için, ürünlerin helal sertifikası sahip kurumlarda, kurallara uygun olarak üretilmiş olması gerekir. Bu sertifika, ürünün İslam hukuku kurallarına uygun olarak üretildiğini ve satışa sunulduğunu doğrular (142).

İslam inancına göre şarap, bira, rakı, likör gibi alkol içeren içecekler kesinlikle haramdır. Alkollü içeceklerin ilave edildiği yiyecekler de haramdır çünkü bu tür yiyecekler tanım gereği necistir. Bir kişinin zihnini, sağlığını ve genel performansını etkileyen tıbbi olmayan ilaçlar ve diğer sarhoş edici maddeler de yasaktır. Şarap ve bira gibi alkollü içecekler diğer ürünlere tat vermek amacıyla veya pişirme sırasında eklenmemelidir. Helal bir ürüne eklenen az miktarda alkollü içecek bile onu haram kılar (147). Şarap, bira ve diğer alkollü içeceklerle yemek pişirmek Batı'da olduğu kadar Çin'de de oldukça yaygındır. Çin mutfağında, pirinç şarabı birçok tarifte ortak bir komponenttir. Ürün formülatörleri ve şefler, helal ürünleri hazırlarken alkol kullanmaktan kaçınmalıdır. Bunları doğrudan tüketmek veya gıdalara dahil etmek yasaktır (142).

2.1.6.1. Gıda ve Gıda Takviyelerinde Alkol Kullanımı

Alkol endüstriyel amaçlarla birçok alanda kullanılır. Saf endüstriyel etil alkol % 95'e kadar etanoldür. İslam inancına göre alkolün içeceklerde kullanılması yasak iken asetik asit (sirke) haline dönüştürülmesi sarhoş edici olmadığı için helaldir. Aslında sirke, İslam'da tavsiye edilen çeşnilerden biridir (142).

Alkol, içeceklerin tatlarını standart hale getirmek için de kullanılır. Kullanıldığında aynı etkiye sahip olabilmesi için aromanın standartlaştırılmasına izin vermenin yanı sıra homojenliğini de korur. Örneğin portakal aromalı bir gazlı içecek yapmak için suya portakal aroması eklenir. Portakal aroması, portakal kabuklarından elde edilen bir yağdır. Yağlar suda çözünmez ancak alkolde çözünür. Alkolde standardize edildiğinde portakal aroması suda çözülecek ve eşit şekilde dağılarak portakal aromalı gazlı içecek üretilecektir. Ayrıca alkol ile ürünün beklenen raf ömrü boyunca portakal aromasını korumasına katkı sağlayacaktır. Alkol aynı zamanda ilaç ve kozmetik ürünlerde de kullanılmaktadır. Etil alkol sıklıkla öksürük şuruplarında ve gargaralarda bulunur. Parfümlerde ise izopropil alkol kullanımı yaygındır (142).

İnsanlar gündelik hayat standartlarında yoğun bir şekilde alkol ile karşılaşır. Alkol tüketimi, sağlık ve sosyal bakımdan olumsuz yan etkileri olduğu gibi helal gıda konularını da ilgilendirir. Alkolün, gıda, eczacılık, kozmetik ve endüstriyel üretimde yaygın olarak kullanılması hem üreticileri hem de tüketicileri helallik bakımından oldukça meşgul etmektedir (148, 149).

Gıda üretiminde pek çok katkı maddesinin kullanıldığı bilinmektedir. Kullanılan katkı maddeleri, koku, tat, görüş bakımından gıdaların yapılarını korumak için hazırlama, işleme, ambalajlama gibi üretim proseslerinde, depolama ve dağıtım aşamasında gıdalarda kullanılan maddelerdir. Kullanılan katkı maddelerinin helallik bakımından değerlendirilebilmesi için gıda maddesinin kaynağının tam anlamıyla bilinmesi ve gıda üretim sürecinde nasıl kullanıldığına anlaşılması gerekir. Gıda katkı maddelerinin büyük bir kısmının yurt dışından gelmesinden ve kaynağı hakkında bilgiye ulaşımın zor olmasından dolayı helallik açısından değerlendirilmesi de bu duruma bağlı olarak zordur (145).

Üretilen gıda maddeleri, içerikleri enzim, hormon, jelatin ya da kullanılan bazı katkı maddelerinin kökenleri ve üretim aşamalarında kullanılan olan yöntemler hakkında net bir bilgiye sahip olunamadığından şüpheli bir durum oluşmaktadır. İslam

Hukuku'nca haram kabul edilen kesim yöntemleriyle kesilmiş hayvanlar ve etil alkol ile işlem görmüş katkı maddeleri de şüpheli ürünler olarak kabul edilir (147).

İslam Hukuku kurallarına göre helal olarak kabul edilen gıda takviyelerinde, alkol bulunmaması gerekir. Ancak, vitamin ve mineral gibi bazı gıda takviyelerinde yüksek miktarlarda alkol bulunur. Alkol miktarı, genellikle gıda takviyelerinin etiketlerinde belirtilir ve çoğu zaman, kullanıcıların vücuduna zarar vermeyecek düzeydedir. Gıda takviyelerinin içeriğinde alkol bulunup bulunmadığından emin olmak için, ürünlerin etiketlerini dikkatlice incelenmelidir. Ayrıca üreticinin internet sitesinden veya müşteri hizmetlerinden de destek alınabilir. İslam hukuku kurallarına göre helal olarak kabul edilen gıda takviyelerini seçmek alkol içeriğinin olup olmadığından emin olmak için iyi bir seçenektir (142).

İnsanlar, gıdalar ile istemeden de olsa alkole maruz kalabilir. Gıdalarda devam eden metabolik aktivite ve mikrobiyal flora istemsiz alkol üretimine sebep olur (151). Örnek vermek gerekirse; sağlam meyvelerde, oksijensiz koşullarda doğal olarak oluşan etilen gazı, hidrasyona mağruz kalarak metabolik alkol üretir. Meyve olgunlaştıkça oluşan alkol miktarı artar. Ayrıca uygun olmayan depolama koşullarında ve zamanla birlikte alkol miktarı artar. Nebiz, şıra, şerbet, meyve suları, hoşaf, komposto, sulu reçel gibi sulu içecek ve gıdalarda, özellikle sıcak ortamda daha fazla, alkol oluşur. Aerobik koşullarda sağlam meyvelerde oluşan alkol metabolik tabiatlıdır. Şekerli meyvelerde metabolik aktivitelerle alkol üretilir, aşırı olgunlaşma ile alkol seviyesi % 1 - 2 oranlarını bulabilir (152,153). Şeftali, armut, elma, kayısı, erik, ayva, avakado, muz, incir, kivi, mango, kavun, metabolik alkol üretebilir. Meyveler tarafından üretilen etilen gazı, hidrasyon yolu ile koruyucu özellikteki etil alkole dönüşür. Yaralanmış ve parçalanmış meyveler ile meyve sularında fermantasyon yoluyla alkol üretimi olur. Hava ile temas eden meyve sularında mikrobiyal bulaşma çeşidi ve derecesi ile ortam koşullarına göre alkol miktarı % 5 - 6' ya kadar çıkabilir. Şeker ihtiva eden soft içeceklerin bir çoğu doğal olarak oluşmuş eser miktarda miktarda alkol içerir (143).

Katkı maddesi amacıyla gıda maddelerinden kola ve gazoz gibi içeceklerde, çeşnileme, koruma ve çözücü amacıyla, soya veya diğer soslarda çeşnileme, koruma ve çözücü amacıyla, özellikle et ve deniz ürünlerinde ise çeşnileme amacıyla, alkol kullanılır (152). Özellikle bazı içeceklere ve gıda maddelerine, tat vermek ve koruyucu

olarak alkol ilave edilir. Alkolsüz içecek grubundan sade ve meyveli gazozlarda, aroma sağlayıcı, koruyucu ve çözücü olarak en az % 0,2 alkol kullanılır. İlaç endüstrisinde yine koruyucu ve çözücü göreviyle alkol kullanılmaktadır (143).

Gıda maddeleri ve içeceklerde oksijenli koşullarda oluşan % 1'den az alkol oranı İslam Hukuku tarafından helal kabul edilir. Tablo 2-2'de farklı miktar ve aralıklarda alkol içeriğine sahip alkollü ürünlerin, kaynağına göre fikihi bakımdan helallik durumları verilmiştir. Buna göre % 1'den az doğal, aerobik ve sentetik alkolün, içecekler dışında koruyucu olarak kullanımını helaldir (143).

Tablo 2-2: Etil alkol miktarına göre bazı alkollü ürünlerin helallik durumu

Etil alkol (%)	Kullanım Yeri	Alkol Kaynağı	Helallik Durumu
<1,0	İçecekler Hariç	AF, S	Helal (Koruyucu)
1,0-15,0	İçecekler Hariç	F	Helal Değil
1,0-15,0	İçecekler	F	Helal Değil
>15,0	İçecekler Hariç	S, D	Toksik (endüstriyel), Helal
>15,0	İçecekler Hariç	F & S, D	Helal Değil
0,1-100,0	İçecekler Hariç	S, D	Toksik (endüstriyel), Helal
0,1-100,0	İçecekler Hariç	F, S, D	Helal Değil

*AF: Aerobik doğal fermantasyon; F: Anaerobik fermantasyon.; S: Sentetik; D: Distilat

ABD'de hacimce % 7'den fazla alkol içeren ürünler FDA'ya bağlı, ATF'nin (Alkol, Tütün, Ateşli Silahlar ve Patlayıcılar Bürosu) yetkisi altındadır. FDA'ya göre, alkol gıda bileşiminin veya formülünün bir parçasıysa, etikette bir komponent olarak yer almalıdır. Bununla birlikte, eğer alkol formüldeki komponentlerden birinin bir parçasıysa içindekiler etiketinde ayrı olarak listelenmesi gerekmez (142).

EtOH, aşağıdakiler de dahil olmak üzere bir dizi uygulamada kullanılır:

1. İçecek olarak
2. Pişirmede aroma verici olarak

3. Endüstriyel bir kimyasal olarak

4. Diğer

Alkollü içecekler üzüm, hurma, çavdar, buğday ve arpa gibi çeşitli meyve ve tahıllardan üretilir. Yasal olarak hacimce % 0,5 ile % 80 arasında EtOH içerebilirken, saf endüstriyel alkol % 95 EtOH içerebilir.

Alkollü içeceklerin üç ana sınıfı vardır:

- Fermente içecekler, tahıl ve meyve dahil olmak üzere tarım ürünlerinden yapılır ve % 3 ile % 16 arasında alkol içerir.
- Damıtılmış veya ispirotolu içecekler, fermente edilmiş içeceklerin damıtılmasıyla yapılır. Damıtma ile ürünlerin alkol içeriğini % 80'e kadar çıkabilir.
- Bileşik veya güçlendirilmiş içecekler, fermente edilmiş veya ispirotolu içeceklerin tatlandırıcı maddelerle birleştirilmesiyle yapılır. Bu ürünlerin alkol içeriği de % 80'e kadar çıkabilir (142).

Alkollü içecekler doğrudan tüketilebilir ve formülasyon sırasında veya pişirme sırasında bir komponent olarak gıdalara eklenebilir. Likör aromalı çikolatalar, romlu kekler ve şarap soslu sığır straganofu gibi alkol içeren gıdalarda, alkol miktarı % 0,5'ten fazla ise nihai alkol miktarı ürünün etiketinde belirtilmelidir (142).

Alkollü içecekler, yiyecek maddesine ayırt edici bir tat vermek için pişirme sırasında yiyeceklere eklenir. Şarap, bira ve sert likörler yemek pişirmede kullanılan en yaygın alkollü içecektir. Pişirme sırasında eklenen alkolün tamamı buharlaşıyor veya yanyor gibi görünse de alkolün tamamı uzaklaşmaz. ABD Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından, alkolle pişirilen yiyeceklerde tutulan alkol miktarını listeleyen bir tablo hazırlanmıştır (150). Aşağıda farklı pişirme yöntemleriyle hazırlanan yiyeceklerin alkol içeriklerinden bazıları Tablo 2-3'da verilmiştir (142).

Tablo 2-3: Pişirilme sonrası yemeklerde alkol oranları

Piştirme Süreci	% Alkol Miktarı
Kaynayan sıvıya eklenir ve ısıdan uzaklaştırılır.	85
Ateşte pişmiş (Ocakta kapaksız pişirilmiş)	75
Isıtılmadan eklendi ve gece boyunca saklandı	70
25 dakika karıştırmadan pişirilir	45
Bir karışıma karıştırılır ve 15 dakika pişirilir veya kaynatılır	40
Karışıma karıştırılır ve 30 dakika pişirilir veya kaynatılır	35
Karışım karıştırılır ve 1 saat 25 pişirilir veya kaynatılır	25
Karışım karıştırılmış ve 2 saat fırınlanmış veya kaynatılmış	10
Karışım karıştırılmış ve 2,5 saat fırınlanmış veya kaynatılmış	5

2.1.6.2. Gıda Takviyelerinde Helal Gıda Sertifika Uygulamaları

Dini anlamda hassas olan Müslümanlar hem yaşadıkları İslam ülkesinde hem de azınlık olarak buldukları gayrimüslim ülkelerde tükettikleri mal ve hizmetlerin helal olup olmaması durumunu öğrenmek istemektedir. Bu durum en temel insan haklarından biridir. Sanayileşme ve küreselleşmeyle birlikte ithalat ve ihracat aracılığı ile malların sirkülasyonunun arttığı bilinmektedir. Bu nedenle İslam ülkesi dahi olsa pazardaki ürünün helal standartlarına uygun olma durumu belirsizdir. İslam inancı kapsamında kişinin kendi nefsinin, gelecek neslinin ve canını korumak amacıyla helal gıdanın önemli olduğu belirtilmiştir (147).

Müslümanların helal gıda ile ilgili hassas oldukları konular 4 başlık halinde belirtilmektedir;

- Helal kesim ve şoklama kesilen et,
- Jelatin kullanımı
- Alkol kullanımı
- Domuz eti ve çeşitlerinin kullanımı

Helal gıdanın, uluslararası ticarete konu olmasıyla iki ya da daha fazla ülke arasında ticaretin kolaylaştırılmasını amaçlayan ekonomik bütünleşme hareketlerinin

de içerisine girdiği belirtilmektedir. Söz konusu olan ticaretten tarafların en iyi şekilde fayda sağlaması için farklı alanlarda olduğu gibi helal gıda alanlarında da teknik düzenlemeler ve bu teknik düzenlemelere göre yapılan olan sertifikasyon daha da önemli bir hale gelmiştir (154).

Helal sertifikası İslam hukuku kurallarına uygun olarak hazırlanan gıda takviyelerine verilir. Helal sertifikası daha önceden belirlenen helal standartlarına bağlı olan firmaların üretim yaptığını göstermek üzere tarafsız, güvenilir, akredite ve bu alan dahilinde test ve analiz yapılması mümkün olan laboratuvarlara ve personele sahip bir belgelendirme kuruluşunca verilen ya da verilmesi gerekli olan bir belgedir. Helal gıda sertifikası ile ilgili en önemli sorun sertifikaya sahip kurumların yeterince denetlenmemesidir. Ayrıca sertifikayı veren kurum ve kuruluşların ortak standartlara sahip olmaması, yeterli teknik altyapıya sahip olmaması ve kalifiye personelinin olmaması en temel sorunlardandır. Her ülke kapsamında belge veren kuruluşta farklı bir uygulama ve standart yer almaktadır (142, 154).

Müslümanlar, gıdaların helal ürün ihtiyacına yönelik büyük talebi, helal sertifikası veren otoriteler tarafından helal sertifikası verilmesine neden olmuştur. Helal tüketime ilginin artması ile kümes hayvanlarının, büyük ve küçükbaş hayvanların, ilaç, kozmetik ve gıda takviyeleri gibi ürünlerin de helal olup olmamasına ilişkin çalışmalar önem kazanmıştır. Helal sertifika ile tüketiciler, gıda ve malzemelerinin özellikle de yurtdışından ithal edilen etin İslami yasalara göre kesilip kesilmediğini ve yurtdışından gelen bir ürünün domuz katkıları olup olmadığını veya belirli ürünlerin alkol gibi helal olmayan malzemeler ihtiva edip etmediği hakkında bilgi sahibi olabilir. Helal sertifikası özellikle yurtdışından ithal edilen veya gayrimüslimler tarafından üretilen işlenmiş gıdalar, işlenmiş gıdaların hammaddeleri, ilaçlar vb. için önemlidir. Ancak Malezya gibi ülkelerde ve Güneydoğu Asya'daki Brunei ve Endonezya gibi ülkelerde, Müslüman ülkelerden ithal edilen ürünler için de helal sertifikası istenmektedir (155,156).

Dünya çapında ilk defa Helal gıda sertifikası 1971 yılında Malezya'da verilmeye başlanmıştır. 1982 yılından beri Malezya İslami Gelişim Dairesi (JAKIM) tarafından Helal sertifikası verilemektedir (154). İslamiyet inancının hakim olduğu ülkeler diğer ülkelerden bağımsız olarak ülke içinde helal sertifikaları verdikleri gibi aynı zamanda helal gıda ve ürünlerle ilgili yeni ve gelişmekte olan konularda diğer İslam ülkeleriyle de birbirleriyle işbirliği yapmaktadır. Güneydoğu Asya Uluslar Birliği (ASEAN)

ülkeleri, Brunei, Endonezya, Malezya ve Singapur Din Bakanlıklarının Gayri Resmî Toplantısında (MABIMS), helal gıda sertifikasyonu için üye ülkeler işbirliği yapılmaktadır. Malezya'daki İslami Kalkınma Bakanlığı (JAKIM) tarafından temsil edilmektedir. Endonezya, Gıda, İlaç ve Kozmetik Değerlendirme Enstitüsü (LPPOM MUI), Singapur İslami Dini Konseyi (MUIS) ve Brunei Dini Konseyi (MUIB), MABIMS'te görev almaktadır. MABIM'in temel görevi helal sertifikasyon kurallarını belirlemek, düzenlemek ve takip etmektir (155,156).

JAKIM, LLPOM MUI, MUIS ve MUIB, Güneydoğu Asya'da helal sertifikasyonun yetkili makamlarıdır. Bu ülkeler aynı bölgede olup Sünnî mezhebinden olmalarına rağmen, helal belgelendirme ve standartlar konusunda farklılıklar bulunur. Ülkeler arasında kültürel çeşitlilik, helal sertifika standartlarını belirlemede farklılıklara yol açmaktadır (155,156). Bu ülkelerin helal gıda sertifikasyonu veren kurumlar arasındaki helal akreditasyon konusundaki en derin sorun, izin verilen etanol yüzdesindeki değişkenlikten kaynaklanmaktadır (157)

Helal gıda uygulamalarının yaygınlaştırılması için, Türkiye'de birçok kuruluş ve dernek bulunmaktadır. Bu kuruluşlar ve dernekler, helal gıda üretimine ilişkin standartları belirler ve bu standartlara uygun olarak üretilen gıdaların helal olduğunu belgeleyen sertifikalar verir. Bu sertifikalar, helal gıda üreticilerine ve tüketicilere, ürünlerin helal olduğunu gösterir ve helal gıda uygulamalarının yaygınlaştırılmasına yardımcı olur. Türkiye'de helal gıda sertifikası veren birçok kurum bulunmaktadır. Bu kurumlar arasında en yaygın olarak kullanılanlar şunlardır:

Türkiye Helal Gıda Kurumu (THK): Türkiye'de ilk helal gıda sertifikası veren kurumdur. THK, helal gıda üretimine ilişkin standartları belirler ve bu standartlara uygun olarak üretilen gıdaların helal olduğunu belgeleyen sertifikalar verir. THK, helal gıda sertifikalarını verirken, uluslararası helal gıda sertifikalarını da referans almaktadır. Helal gıda sertifikalarını verirken, İslam İşbirliği Teşkilatı (İİT) tarafından belirlenen helal gıda sertifikalarına uygun olarak hareket etmektedir. İİT, İslam ülkelerinin bir araya gelerek oluşturdukları bir kurumdur ve İslam ülkeleri arasında helal gıda üretimine ilişkin standartları belirler. İİT tarafından belirlenen helal gıda sertifikaları, dünya çapında geçerliliği olan sertifikalardır ve bu nedenle THK tarafından da referans alınmaktadır.

Ayrıca, THK, Türkiye'de helal gıda sertifikalarını verirken, İslam İşbirliği Teşkilatı dışında da birçok uluslararası kurum ve örgütü de referans almaktadır. Örneğin, THK, İslam İşbirliği Teşkilatı'nın yanı sıra, FAO, WHO ve Dünya Ticaret Örgütü (WTO) gibi kurumların da helal gıda üretimine ilişkin standartlarını ve yönergelerini de referans almaktadır.

Türkiye Diyanet Vakfı (TDV): Türkiye'de Diyanet İşleri Başkanlığı tarafından kurulmuş olan bir kurumdur. TDV, helal gıda üretimine ilişkin standartları belirler ve bu standartlara uygun olarak üretilen gıdaların helal olduğunu belgeleyen sertifikalar verir.

Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı: Türkiye'de resmi olarak gıda üretimine ilişkin standartları belirleyen kurumdur. Helal gıda üretimine ilişkin standartları da belirler ve bu standartlara uygun olarak üretilen gıdaların helal olduğunu belgeleyen sertifikalar verir.

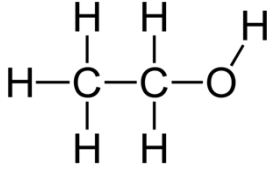
İslam İşbirliği Teşkilatı (İİT): İslam ülkelerinin bir araya gelerek oluşturdukları bir kurumdur. İİT, İslam ülkeleri arasında helal gıda üretimine ilişkin standartları belirler ve bu standartlara uygun olarak üretilen gıdaların helal olduğunu belgeleyen sertifikalar verir.

Bu kurumların dışında, Türkiye'de birçok dernek ve vakıf da helal gıda sertifikası vermektedir. Bu dernekler ve vakıflar arasında en yaygınları Türkiye İslami Gıda Derneği, Türkiye Helal Gıda Derneği ve Türkiye Helal Gıda Vakfıdır.

2.2. Etken Maddelerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

2.2.1. Etil Alkol

Etil alkol (etanol), C_2H_6OH formülüne sahip iki karbonlu bir mono alkoldür. Etil alkolün kimyasal yapısı Şekil 2-16'da gösterilmiştir. Renksiz, berrak, uçucu, alev alabilen, nem çekici bir sıvıdır. Su ve metil alkol ile kolayca karışır. CAS No'su 64-17-5 olan etil alkolün molekül ağırlığı 46,07 g/mol'dür. Normal koşullar altında kaynama noktası 78 °C olup, erime noktası -114 °C, özkütlesi 0,8 g/cm³'tür (158).



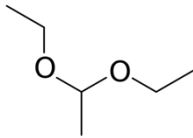
Şekil 2-16: Etil alkolün kimyasal yapısı

Türk Farmakopesi'ne göre 3 tip etanol vardır:

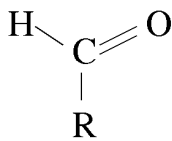
1. “Ethanolum, Etanol (TF): % 95 – 96,8 h/h ve % 92,5 - 95 a/a aralığında etil alkol içermelidir.”
2. “Ethanolum Absolutum, Absolü Etanol (TF) (% 99 a/a 'dan az etanol içermemelidir.)”
3. “Ethanolum Dilutum, Dilüe Etanol (TF) (% 69,1 - 71 h/h ve %61,5 - 63,5 a/a aralığında etil alkol içermelidir.)” (159).

Etil alkol, sülfirik asit R ve potasyum dikromat TS ile tanıma reaksiyonu verir. Tanıma reaksiyonu sonucunda oluşan çözeltilerin rengi yeşil olup asetaldehit kokusu çıkar (159).

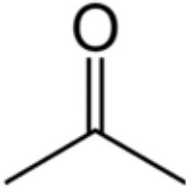
Asetal, asetaldehit, aseton, benzen, siklo hekzan, metil etil keton, metil izobütil keton, propanol, izopropil alkol, bütanol, bütan-2-ol, izobütanol, 1-1 dimetiletil alkol, 2-metilbütan-2-ol, pentan-2-ol, pentanol, heksanol, heptan-2-ol, heksan-2-ol, heksan-3-ol, furfural, metil alkol, yağlı ve reçineli maddeler etil alkolde bulunabilecek yabancı maddelerdir. Etil alkol safsızlıkları Şekil 2-17, Şekil 2-18, Şekil 2-19, Şekil 2-20’de gösterilmiştir. Etanolü, bünyesinde bulunan yabancı maddelerden kurtarmak için fraksiyonlu distilasyon uygulanır (159).



Şekil 2-17: Asetal (1,1-dietoksietan)



Şekil 2-18: Asetaldehit



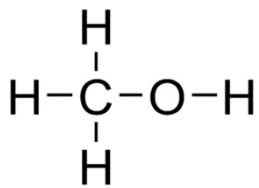
Şekil 2-19: Propan-2-on (Aseton)



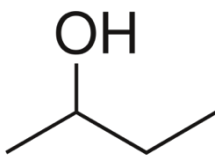
Şekil 2-20: Benzen



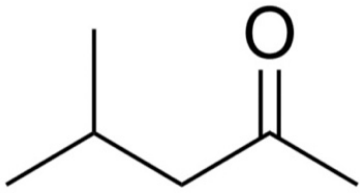
Şekil 2-21: Sikloheksan



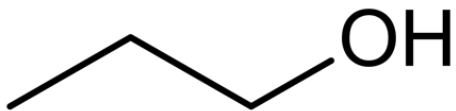
Şekil 2-22: Metil alkol



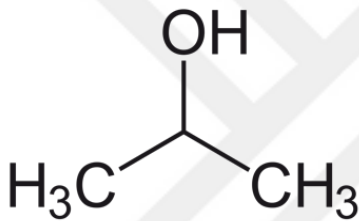
Şekil 2-23: Bütan-2-on (Metil etil keton)



Şekil 2-24: 4-metilpentan-2-on (Metil izobütil keton)



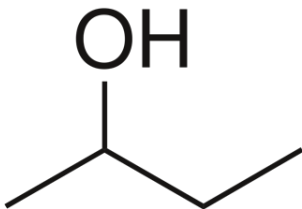
Şekil 2-25: Propan-1-ol (Propanol)



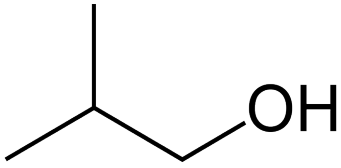
Şekil 2-26: Propan-2-ol(İzopropil alkol)



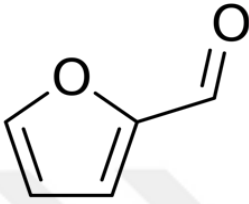
Şekil 2-27: Bütan-1-ol



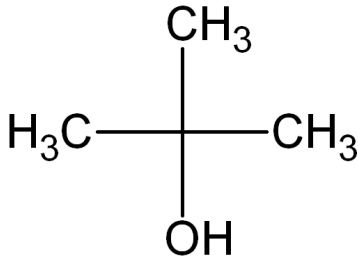
Şekil 2-28: Bütan-2-ol



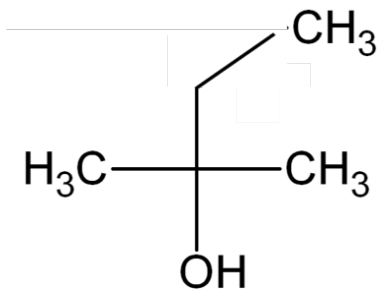
Şekil 2-29: 2-metilpropan-1-ol (izobütanal)



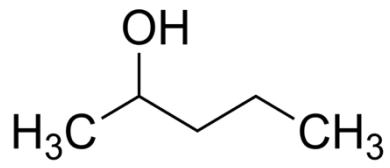
Şekil 2-30: Furan-2-karbaldehit (Furfural)



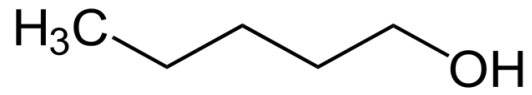
Şekil 2-31: 2-metilpropan-2-ol (1,1-dimetiletil alkol)



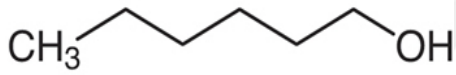
Şekil 2-32: 2-metilbütan-2-ol



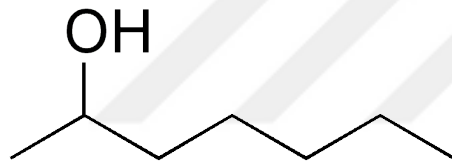
Şekil 2-33: Pentan-2-ol



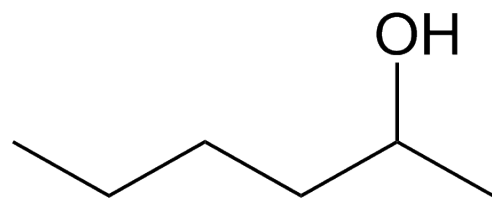
Şekil 2-34: Pentan-1-ol (Pentanol)



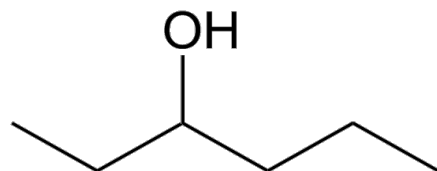
Şekil 2-35: Hekzan-1-ol (Hekzanol)



Şekil 2-36: Heptan-2-ol



Şekil 2-37: Hekzan-2-ol



Şekil 2-38: Hekzan-3-ol

Etil alkol aldehit aranmasında, potasyum permanganatla reaksiyona girerek çözelti pembe renk alır. Çözeltinin pembe renk alması aldehit varlığının kanıtıdır. Çözelti rengi pembeye dönüşmediğinde aldehit bulunmaktadır. Furfural aranması çalışmalarında, etil alkol, asetik asit R ve anilin ile reaksiyona girerek çözeltinin rengi kırmızıya döner. Kırmızıya dönen renk furfural varlığının kanıtıdır (159).

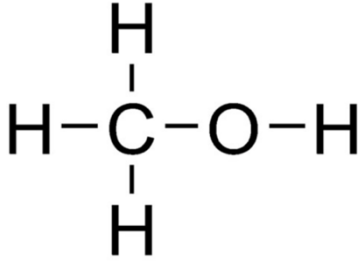
Etil alkol, şeker pancarı, mısır, buğday gibi şeker ve nişasta içeren bitkilerden üretilir. Üretim, şeker ve nişasta içeren materyallerin maya tarafından fermente edilmesi ile olur. Fermantasyon ile üretilen etil alkol damıtma işlemi ile saflaştırılır. Bu işlem, kontrollü sıcaklık ve nem koşullarında gerçekleştirilir (160).

Etil alkol birçok alanda yaygın olarak kullanılır. Farmasötik preparatlarda çözücü ve koruyucu olarak, alkollü içeceklerde temel bileşen, parfüm, tatlandırıcı, ilaçlarda çözücü olarak, boya sökücü ürünlerin imalatında çözücü olarak, yapıştırıcı ve dolgu maddesi üretiminde, sağlık sektöründe dezenfeksiyonda, mürekkep imalatında ana madde olarak, yüzey aktif maddelerin imalatında, gıda sektöründe çözücü ve kıvamlaştırıcı olarak kullanılır (159).

Etil alkol su ve yağda çözülebilen bir madde olduğundan, içildikten sonra hızlıca kana geçer, vücutta hızlı bir dağılıma uğrar. Gastrointestinal sistemin tüm kısımlarından büyük ölçüde kana basit difüzyon yolu ile absorbe edilir. İnce bağırsak, geniş yüzey alanı nedeniyle emilim için en etkili bölgedir. Absorpsiyon oranı, içeceğin çeşidine göre ve tüketen kişinin mide durumuna göre değişir. Aç bireylerde bir doz alkolün % 20 - 25'i mideden emilir, % 75 - 80'i ince bağırsaktan emilir (161).

2.2.2. Metil Alkol

Metil alkol (metanol) CH_3OH formülüne sahip tek karbonlu bir mono alkoldür. Metil alkolün kimyasal formülü Şekil 2-39'da gösterilmiştir. Renksiz, berrak, uçucu, alev alabilen, nem çekici bir sıvıdır. Su ve metilen klörür ile kolayca karışır. CAS No'su 64-56-1 olan metil alkol molekül ağırlığı 32,04 g/mol'dür. Normal koşullar altında kaynama noktası $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ olup, erime noktası $-98\text{ }^{\circ}\text{C}$, özkütlesi $0,79\text{ g/cm}^3$ 'tür (159).



Şekil 2-39: Metil alkolün kimyasal yapısı

Metil alkol odun talaşının distile edilmesi ile üretilir. Formaldehit üretiminde kullanılan ana hammaddedir ve büyük bir kullanım alanı vardır. Aynı zamanda asetik asit ve bazı hidrokarbonlar gibi farklı endüstriyel kimyasalların da öncüsüdür (159).

Metil alkol, etil alkolde bulunabilecek yabancı maddelerdendir. Bu sebeple etil alkol bulunan ürünlerde metil alkol kirliliği oldukça önemlidir çünkü metil alkol insanlar için çok zehirlidir. Metil alkol vücutta formaldehit ve formik aside dönüşür ve zehirlenmesi formik asit birikimine bağlı kanın pH değerinin düşerek gelişen asidoza bağlıdır. Asidoz gelişmesi retinada sinir tahribatı ve buna bağlı olarak körlük ve daha ciddi vakalarda ölümle sonuçlanmaktadır. Metil alkol kan düzeyi 20 mg/dL üstünde toksik kabul edilmektedir. 40 mg/dL üstü dozlarda çok ciddi etkiler görülebilmekteyken, 80-100 mg/dL düzeyi genellikle ölümcül sınır düzeyi olarak kabul edilmektedir. Diğer bir deyişle, 4-15 mL (1-3 tatlı kaşığı) metil alkol içilmesi sonucu körlük, 15-100 mL dozda ise ölüm meydana gelebilmektedir (162-164).

2.3. Geliştirilmiş Analiz Yöntemleri ve Yapılan Çalışmalar

Mornar ve arkadaşları statik headspace kapiler gaz kromatografisi tekniği ile gıda takviyelerinde etanol ve safsızlıklarının eş zamanlı tayini için yeni, hızlı ve oldukça hassas bir yöntem geliştirmişlerdir. Statik headspace yönteminde korelasyon katsayısının 0,988'den yüksek olduğu hesaplanmıştır. Yöntemin kesinlik çalışmalarıyla % RSD değeri 2,85 bulunmuştur. Geliştirilen yeni yöntem çeşitli miktarlarda etanol içeren 93 numunenin analizinde başarıyla uygulanmıştır. Ürünlerin üçte birinde üreticilerin belirttiği alkol miktarından çarpıcı farklılıklar bulunmuştur. Ayrıca çocuklar için özel olarak tasarlanan birçok alkolsüz etiketi bulunan üründe yüksek miktarda etil alkol tespit edilmiştir. Geliştirilen grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometresi tekniğiyle metal safsızlıkları da belirlenmiş olup, analiz edilen gıda takviyelerinde metal

safsızlıkları Birleşik Devletler Farmakopesi (USP) tarafından belirlenen limitlerin altında bulunmuştur (165).

Mansur ve arkadaşları, alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile birleştirilmiş manyetik karıştırma destekli sıvı ekstraksiyon yöntemi ile farklı yiyecek ve içeceklerde etil alkol miktarlarını belirlemişler. Yöntem ile tayin sınırı 0,006 mg/g ve teşhis sınırı 0,02 mg/g olarak hesaplanmıştır. Yöntemin doğrusallık çalışmaları sonucunda korelasyon katsayısı 0,999 olarak belirlenmiştir. Geri kazanım değeri %96 - % 105 aralığında, kesinlik ise % 5'ten küçük olmaktadır. Valide edilen yöntem, ticari olarak işlenmiş 108 gıda ve içekte etanol tayini için başarıyla uygulamıştır. Bu çalışma, helal sertifikalandırmada işlenmiş gıda ve içeceklerde etil alkol rutin kantitatif analizi için güvenilir bir yöntem sağlamıştır (166).

Qomariyah ve arkadaşları, Jakarta'daki eczanelerden veya mağazalardan alınan bitkisel olmayan ilaçlardaki alkol içeriğini analiz etmeyi amaçlamışlardır. Metot ile 2,8 mg/L teşhis sınırı hesaplanmıştır. Ayrıca yönteme ait doğru denklemi $y=24,2309x-2731,23$ olarak belirlenmiş olup, korelasyon katsayısı 0,9993 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada alkol içeriğinin belirlenmesi headspace gaz kromatografisi yöntemi kullanılarak yapılmıştır. 20 numuneden 13'ünün % 0,04 - 1,07 arasında değişen alkol içerdiğini belirlemişlerdir. Alkol tespit edilen numunelerin hiçbirinde "yüzde (%) alkol içerir" etiketi olmadığını tespit etmişlerdir (167).

Joanna ve arkadaşları, mercanköşk merheminde etil alkol içeriğinin belirlenmesi için yeni alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi yöntemi geliştirmiş ve valide etmişlerdir. Validasyon çalışmasında doğrusallık aralığı % 1×10^{-4} ile % 1×10^{-1} arasında, tespit limiti % 5×10^{-5} , kesinlik için bağıl standart sapma % RSD = 1,07 ve geri kazanım için bağıl standart sapma %RSD= 1,43 olarak belirlenmiştir. Validasyon sonrasında yöntemin farmasötik ürünlerde etanol kalıntısının belirlenmesi ve kalite tanımlaması için uygun olduğunu önermiştir (168).

Costa ve arkadaşları, radyofarmasötik numunelerdeki asetonitril ve etil alkol gibi organik çözücülerin analizi için alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile hızlı ve basitleştirilmiş bir yöntem geliştirmiş ve geliştirilen yöntemi valide etmişlerdir. Geliştirilen yöntem ile asetonitril % 0,003 - % 0,9 (a/h) ve etil alkol % 2,1 ila % 11,0 (v/v) konsantrasyon aralığında belirlenmiştir. Geliştirilen yöntemin seçici, hassas, doğru ve kesin olduğu kanıtlanmıştır. Bu yöntem ile % 11'e (v/v) kadar yüksek etanol

içeriğine sahip numunelerde kullanılabilirdiği bildirilmiştir. Ayrıca numune hazırlama olmaması, kısa analiz süresi ve minimum manuel işlemlerin olması yöntemin diğer avantajlarından (169).

Mihretu ve arkadaşları, kan örneklerindeki etil alkolün kantitatif tayini için basit ve güvenilir bir headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi yöntemi geliştirmiş ve yöntemi valide etmişlerdir. Yöntem, 0,1 ila 3,5 mg/mL etil alkol aralığında gözlenen korelasyon katsayısı $r^2 = 0,993$ ile doğrusallık göstermiştir. Yüzde geri kazanım değeri % 91,0 ile % 109,1 arasında kabul edilebilir bir değer olarak belirlenmiştir. Kesinlik % 27 olarak bildirilmiş ve yöntemin ara kesinliği iki analist için % 11 ve % 1 olarak bulunmuştur. Etil alkol tayin sınırı 0,099 mg/mL olarak hesaplanmış ve yöntemin metil alkol ve asetaldehit için seçiciliğini oldukça iyi olduğu görülmüştür. Genel olarak elde edilen sonuçlar, yöntemin nispeten hızlı, kesin, basit, sağlam olduğunu ve kandaki alkolün 0,13 mg/mL'den daha yüksek bir konsantrasyon analizlerinde kullanılabileceğini doğrulanmıştır (170).

Lin ve arkadaşları, aseton-bütanol-etanol (ABE), kombine fermantasyon/ayırma işlemleri ve fermantasyonu ürünlerini ölçmek için basit bir alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi yöntemi geliştirilmiştir. Numune başına analiz süresi, 20 dakikadan fazla süren geleneksel bir alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisine (GC-FID) kıyasla 10 dakikanın altına düşmüştür. Bileşiklerin sıcaklık programlı gaz kromatografik işlemlerdeki davranışı, izotermal işlemlerden türetilen termodinamik parametreler kullanılarak belirlenmiştir. Asetik asit haricinde, çeşitli ürünler için sunulan yöntemin tespit limitleri 10 mg/L olarak belirlenmiştir. Yöntemin tekrarlanabilirliği ve ara kesinliği % 10'dan az olarak tespit edilmiştir. Validasyon ve kantifikasyon sonuçları, bu yöntemin adsorpsiyonla birleştirilmiş ABE fermantasyon prosesinin geleneksel araştırması için hassas, güvenilir ve hızlı bir alternatif olduğunu göstermiştir (171).

Wang ve arkadaşları, doğrudan enjeksiyon gaz kromatografisi ile megapor polar kolon kullanarak alkollü içeceklerdeki etil alkol içeriğini belirlemek için basit ve hızlı bir yöntem geliştirmiştir. Numunedeki etil alkol, uygun miktarda iç standart, asetonitril çözeltisi eklendikten sonra analiz için doğrudan GC'ye enjekte edilmiştir. Bu yöntemi kullanarak, numune hazırlığından bu yana sonuç elde etmek için 8 dakikadan daha az bir süre gerekmiş ve miktar tayini limiti yaklaşık 0,5 µg/mL olarak bulunmuştur. Geri

kazanım çalışmaları 0,5 mL kırmızı şarap ve viski kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her birine sırasıyla 50 ve 100 mg etanol eklenmiş ve geri kazanımlar sırasıyla % 99 ~ 104 ve % 99 ~ 101 aralığında bulunmuştur. Varyasyon katsayıları % 3,4'ten az olarak hesaplanmıştır. AOAC yönteminin (AOAC 969,12 ve 920,57) mevcut yöntemle karşılaştırılması anlamlı bir fark göstermemiştir. Bu sonuçlar direkt enjeksiyonlu GC yönteminin hassasiyetinin AOAC yönteminden daha yüksek olduğunu göstermiştir. Damıtılmış ve damıtılmamış alkollü içkiler dahil olmak üzere çeşitli ticari alkollü içecekler, mevcut yöntemle analiz edilmiştir. Damıtılmış ve damıtılmamış ruhun etanol içeriği sırasıyla: $165,2 \pm 4,9$ ~ $415,7 \pm 17,6$ ve $28,2 \pm 0,8$ ~ $141,2 \pm 4,9$ mg/mL olarak bulunmuştur. Bu GC yöntemini kullanarak, (% w/v) = 0,814 (% v/v) denklemiyle gravimetrik yüzdede (% w/v) konsantrasyonu hacimsel yüzdeye (% v/v) değiştirebiliriz. Ayrıca doğrusal katsayı R^2 , 0,999'dan yüksek belirlemiştir (172).

Tiscione ve arkadaşları, headspace örnekleme ve gaz kromatografik ayırmadan sonra alev iyonizasyon detektörü (FID) ve kütle spektroskopisi (MS) tespiti ile etil alkolü aynı anda ölçmek ve doğrulamak için bir Dean's Switch kullanan yeni bir teknik sunmuşlardır. 100 µL numune kullanılarak teşhis ve tayin sınırları sırasıyla 0,005 ve 0,010 g/dL bulunmuştur. Doğrusal aralığın ($r^2 > 0,990$), 0,010 ila 1,000 g/dL konsantrasyonları kapsadığı belirlenmiştir. Tekrarlanan analizlerin varyasyon katsayısı %3,1'den küçük olarak hesaplamışlardır. Kantitatif doğruluk sırasıyla 0,010, 0,025, 0,080 ve 0,300 g/dL konsantrasyonlarda $\pm\%8$, $\pm\%6$, $\pm\%3$ ve $\pm\%1,5$ aralığındadır. Ek olarak, 1,1 difloroetan, bu yöntemle kalitatif tanımlama için doğrulanmıştır. Doğrulanmış FID-MS yöntemi, MS tarafından eş zamanlı olarak onaylanan FID ile kandaki etil alkol miktarının belirlenmesi için bir prosedür sağlamıştır ve ayrıca 1,1-difloroetan gibi inhalanlar için bir tanımlama yöntemi olarak kullanılabilir (173).

Gündüz ve arkadaşları, Türkiye marketlerinden toplanan sirke, sebze ve meyvelerin farklı içecek çeşitleri de bulunan etil alkol içerikleri headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi yöntemi kullanılarak incelemiştir. Meyve, sirke ve içeceklerin etanol içerikleri % $0,32 \times 10^{-4}$ - % 0,35 (w/w) arasında değişirken, elma sirkesi ve konsantre portakal şurubunun %0,44 ve %0,68 (w/w) etanol içerdiği belirlemiştir. İstanbul'da bir lokantadan temin edilen üzüm şırası ise % 2,11 etil alkol içermiştir ve 10 günde seviyesi % 5,60'a ulaşmıştır. Bu bulgular Müslüman tüketiciler

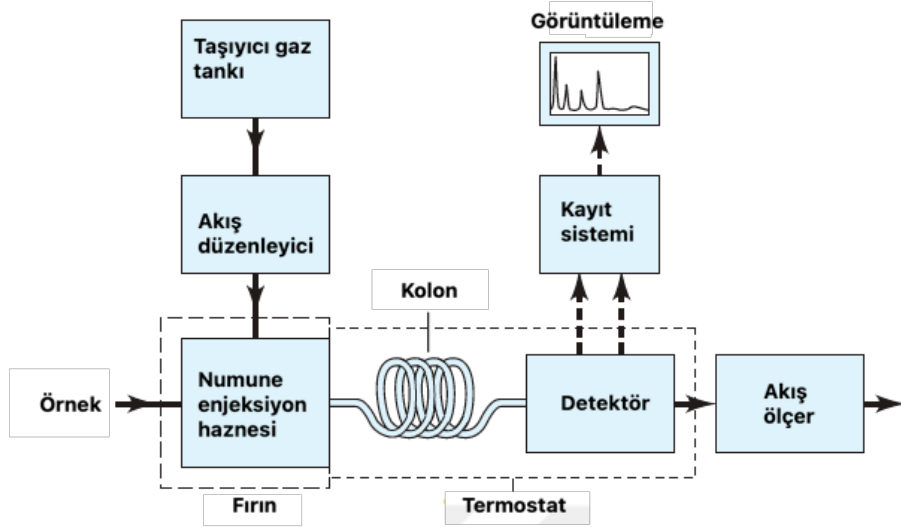
ve Helal Topluluğu için çok kritik olduğundan, bu tür ürünlerin pazarda acilen araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (174).

2.4. Gaz Kromatografisi (GC) Çalışma Prensibi

Gaz kromatografisi 1950'lerin başından beri kullanılsa da modern gaz kromatografisi 1952 yılında James ve Martin tarafından icat edildi. Cihaz, piyasaya sürüldüğünden beri birçok değişikliğe ve yeniliğe uğramıştır. 1970'lerde elektronik emülgatörler ve bilgisayar tabanlı veri işleme ekipmanları yaygın iken 1980'lerde kolon sıcaklığı, gaz akış hızları ve otomatik numune enjeksiyonu gibi çoğu enstrüman değişken için bilgisayar kullanılmıştır. Polar olmayan ve yarı polar kimyasalların birçok grubunun taranması, tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için kullanılan yöntemlerden biridir. Gaz veya uçucu haldeki maddeleri ayırmak, analiz etmek için yaygın olarak kullanılan analitik yöntemdir. Esans gibi koku madde analizleri, uçucu kimyasal maddeler, gıda katkı maddelerinde bulunan etil alkol, metil alkol gibi uçucu bileşenler, petrol ve diğer yakıtların kimyasal bileşimini belirlemek ve ölçmek için kullanılır. Gaz veya uçucu halde olmayan maddelerin analizleri gaz kromatografisi ile yapılamamaktadır. Uçucu olmayan maddelerin analiz edilebilmesi için türevlendirme işlemi yapılarak uçucu hale getirilmelidir. Analizi yapılacak madde uçucu değilse, trimetilsilil açil veya ester gibi türevleri hazırlanarak uçucu hale getirilir (175-177).

Hızlı ve yüksek bir hassasiyetle analiz yapılması sebebiyle, gaz kromatografisi çok sayıda uygulamada kullanılmaktadır. Hem kalitatif hem de kantitatif analiz yapılmaktadır. Teşhis ve tayin kolaylığı, analiz süresinin kısa olması, güvenilir, hassas ve verimli bir yöntem olması, μL hacimlerinde analiz yapabilmesi en önemli avantajlarıdır. Yalnızca uçucu olan veya uçucu hale getirilebilen bileşiklere uygulanabilmesi, bazı bileşikler çok yüksek sıcaklıkta kararlı olmaması ve bileşiklerin tayini için MS, FID gibi spektroskopik yöntemler gerekmesi en önemli dezavantajlarıdır (178-183).

Gaz Kromatografisinde cihaza enjekte edilen numune kolon olarak bilinen bir ayırma tüpüne taşıyan bir gaz akımına girer. Kolon içinde numunede bulunan komponentler poliritesine göre ayrılır. Kolondan çıkan komponentlerin miktarı detektör ile ölçülür. Şekil 2-40'da gaz kromatografisinin şematik gösterimi verilmiştir. (182-183)



Şekil 2-40: Gaz Kromatografisinin Şematik Diyagramı (184)

Gaz Kromatografisinin temel komponentleri taşıyıcı gaz, numune enjeksiyon sistemi, kolon, detektör ve veri kaydedicisidir. Taşıyıcı gaz olarak genellikle helyum, hidrojen, azot kullanılır. Gaz seçimi kullanılan detektör tipine göre seçilir. Yöntemin kesinliği kullanılan taşıyıcı gaz akış hızının ve basıncının ayarlanmasına göre değişebilir. Cihaza numune enjekte edilmesi çok önemli bir işlemdir. Sıvı numuneler mikro şırıngalar yardımıyla silisli kauçuktan yapılmış bir tıpadan buharlaştırma hücresine enjekte edilir. Hücre sıcak olduğundan sıvı buharlaşır ve taşıyıcı gazla ayırma kolonuna sürüklenir. Enjeksiyon, analizde hata olmaması için kısa sürede yapılmalıdır. Ayrılma paslanmaz çelik, teflon, saf bakır ve camdan üretilen kolonda başlar. Kolonlar termostatlı bir hücreye yerleştirilir. Kolon sıcaklığı çalışılan numuneye ve istenen ayırma derecesine göre değişir. Kaynama aralığı geniş olan numuneler için sıcaklık programlaması yapılır. Kolondan gelen numunenin tanımlanması detektörce olmaktadır. Detektör, kolonun sonunda yer alan ve karışımın taşıyıcı gazla birlikte elüte olan komponentlerinin kantitatif bir ölçümünü sağlayan parçadır. Modern cihazlarda, detektörlerin hassasiyetleri saniyede 10^{-8} ila 10^{-15} g aralığındadır. İdeal bir GC detektörü, yeterli duyarlılığa, güvenilirliğe, kullanım kolaylığına ve iyi bir kararlılığa ve tekrarlanabilirliğe sahip olmalı, her türden analite benzer cevaplar verebilmeli, geniş ve doğrusal çalışma aralığına sahip olup, $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye varan sıcaklıklarda bozulmadan

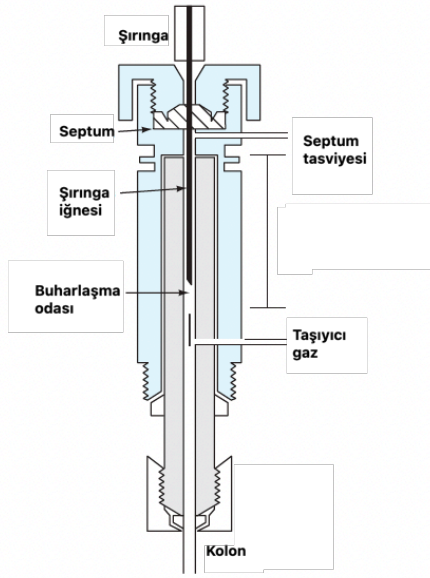
çalışabilmelidir. Kullanım amacına yönelik farklı türde detektörler bulunmaktadır. Bu detektörler ve kullanım amaçları Tablo 2-4'te gösterilmiştir (178-183).

Tablo 2-4: Tipik gaz kromatografisi detektörleri ve algılama limitleri (184)

Detektör Türü	Tespit limitleri
Alev İyonizasyon Detektörü (FID)	1 pg/s
Kütle Spektrometrik Detektör (MS)	0,25 ila 100 pg
Isı İletkenlik Detektörü (TCD)	500 pg/ml
Elektron Yakalama Detektörü (ECD)	5 fg/s
Atomik Emisyon Detektörü (AED)	1 pg
Kemilüminesans Detektörü (CS)	PMT'nin karanlık akımı
Fotoiyonizasyon Detektörü (PID)	0,002 ila 0,02 µg/L

2.4.1. Alev İyonizasyon Detektörü (FID) Çalışma Prensibi

Alev iyonizasyon detektörleri yaygın kullanılan detektörlerdendir. Geniş bir kullanım aralığına sahip olup, birçok farklı hidrokarbon analizinde kullanılır. Bir alev iyonizasyon detektöründe, numune kolondan çıktıktan sonra bir hava-hidrojen alevine yönlendirilir. Hava-hidrojen alevinin yüksek sıcaklığında, numune yoğun ısıtma yoluyla pirolize veya kimyasal bozunmaya uğrar. Pirolize hidrokarbonlar, akım taşıyan iyonları ve elektronları serbest bırakır. Yüksek empedanslı bir pikoammetre, numunenin elüsyonunu izlemek için bu akımı ölçer. Şekil 2-41'de FID detektörünün şeması gösterilmektedir (184).



Şekil 2-41: Tipik bir alev iyonlaşma detektörünün şeması (184)

Alev iyonizasyon detektörü, karbon çerikli organik bileşikleri iyonlaştırmak için tercih edilmektedir. Numunenin gaz kromatografi kolonunda ayrılmasının ardından karbon atomlarını iyonlaştıran hidrojen ve hava bulunan alevden geçer. İyonlar toplanır ve detektörün elektrotlarında akım oluştururken ölçülür. Akım daha sonra elektrik sinyaline dönüştürülür. Kullanılan gaz inert olmalı ve en düşük seviyede safsızlık içermelidir. Detektör akış hızından, yanıcı olmayan gazlardan ve sudan etkilenmediği için alev iyonizasyon detektörü kullanmak avantajlıdır. Bu özellikler, alev iyonizasyon detektörlerinin yüksek hassasiyet ve düşük gürültü sağlar. Ünite hem güvenilir hem de kullanımı nispeten kolaydır. Ancak bu teknik yanıcı gaz gerektirir ve numuneyi de yok eder (184).

2.4.2. Headspace (Tepe Boşluğu) Gaz Kromatografisi (HS-GC) Çalışma Prensibi

Headspace (HS) ilk olarak 1960'ların sonunda kandaki alkol içeriğini belirlemek için geliştirildi. Çevresel ve toksikolojik analizlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca meyve, sebze, et, süt ürünleri, içecekler vb. analizleri için gıda ve aroma endüstrilerinde kullanılan tekniklerden biridir (185-186).

Headspace ile yapılan analizler, numunenin üzerinde bulunan gaz fazındaki uçucuların doğrudan analizleridir. Ekstraksiyon, adsorpsiyon, çökeltme, damıtma vb. gibi daha geleneksel numune hazırlama tekniklerine göre doğası gereği basit bir teknik

olması sebebiyle çok sayıda avantajı bulunmaktadır. Kapiler gaz kromatografisi kullanıldığında headspace analizleri hız, basitlik, kolon bozunması ve uçucu olmayan kalıntıların kalması gibi istenmeyen durumların önüne geçmektedir. Numuneler katı, sıvı ve diğer katıların karmaşık karışımları olduğunda, uçucu maddeler geleneksel numune hazırlama teknikleri kullanılarak fakat büyük zorluklarla ekstrakte edilir (185-186). Belirli numune türleri için gaz kromatografisi analizi ile birlikte kullanılır. Sıvı ve katı numunelerdeki uçucu komponentlerin hızlı analizlerini yapmak amacıyla kullanılan bir metottur (187-192).

Headspace analizleri bir denge prensibine dayanır ve analitlerin sıvı ve gaz formu denge halinde bulunur. Analitin oluşturduğu dengeye partiyon katsayısı (K değeri) denir. Bu nedenle, ısıtma, çalkalama hızı ve numune hacminin veya ağırlığının headspace gaz hacmine oranı ile optimum, tekrarlanabilir sonuçlar için kritik önem taşır. Partiyon katsayısı (K değeri), headspace analizinin verimini doğrudan etkiler. K değeri ne kadar düşükse, analizin duyarlılığı o kadar yüksek olur. K değeri düşürmek için, numune sıcaklığı artırılması veya numune matrisine inorganik tuzların eklenebilir. K değeri aşağıdaki gibi ifade edilir.



Şekil 2-42: Headspace gaz kromatografisi çalışma prensibi

$$K = C_s / C_m$$

C_s = Sıvı fazda bulunan analitin miktarı

C_m = Gaz fazda bulunan analitin miktarı (185-186)

Headspace gazı ve sıvının dengeye ulaşması için optimum bir zaman gerekmektedir. Denge koşulu sağlandıktan sonra vialde bulunan gaz fazındaki numune

şırınga veya otomatik enjeksiyon cihazları yardımı ile çekilip kolona enjekte edilir (191-192). Enjekte edilen uçucu bileşenler, GC cihazının enjeksiyon kapasitesi, kolon hacmi ve numune enjekte edildiğinde enjeksiyon bölgesinde ortaya çıkacak akım ve basınç yükselmesinden dolayı sınırlı olmaktadır. Genelde, 0,1-2,0 mL arasında değişkenlik göstermektedir.

Headspace analizi, analit 290 °C'nin altındaki sıcaklıklarda uçucu olduğu durumlarda, numune matrisinin katı, sıvı veya cihaza enjekte edilmesi kolay olmayan macun kıvamında bir matris olduğu durumlarda, sıvı fazda numune hazırlamasının zor olduğu durumlarda kullanışlıdır. Ayrıca normal enjeksiyonlu yöntemlere göre, daha basit numune hazırlanabilmesi, sıvılar, katılar ve viskos yapılar gibi çok çeşitli numune matrislerini doğrudan analiz edebilmesi, kolonların daha az bakımla daha uzun süre kullanılabilmesi, yüksek hassasiyet sağlanması ve çözücü pikinin geleneksel gaz kromatografisi yöntemlerine kıyasla daha küçük olması en önemli avantajlarıdır (187-192).

Headspace analiz yöntemleri, atıksu ve kontamine arazi örneklerinde bulunan uçucu organik bileşiklerin analizinde, ambalaj malzemeleri, tekstil, plastik ürünler ve ilaçta kalıntı çözücü analizlerinde, kan alkolü ve toksikoloji taranmasında, yiyecek ve içeceklerde aroma komponentlerinin analizlerinde ve yağlarda tanısal gaz analizlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (188)

Headspace analizleri statik headspace (SHS) ve dinamik headspace (dHS) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Her iki teknik de sıvı veya katı numunedan elde edilen uçucu yapılar vialin üst kısmında toplanır ve bu boşlukta bulunan gaz karışımı GC enjekte edilmesi esasına dayanır (193).

Statik headspace analizleri, numunenin sabit bir sıcaklıkta belirli bir süre ısıtılmasıyla, sıvı ile gaz faz arasında bir denge durmunda gaz fazın konsantrasyonunun ölçümü ile gerçekleşir. Statik headspace analizleri sızdırmaz özelliği olan ve kontrollü şartlarda bulunan vialler içine katı veya sıvı numuneler konularak içinde bulunan uçucu yapıların dengeye gelinceye kadar vialdeki tepe boşluğunda birikmesi ve biriken gaz fazın kolona enjeksiyonu ile gerçekleşir. Vialin tepe boşluğunda biriken uçucu bileşen miktarı, sıvı numune içindeki konsantrasyonuna, numune uçuculuğuna, vialin maruz kaldığı sıcaklık ve çalkalama süresine göre değişir (185,186).

Statik headspace analizlerinin en büyük avantajı çözücü tüketmeksizin düşük molekül ağırlıklı uçucu yapıların analizine olanak sağlamasıdır. Ayrıca düşük maliyete sahip olması da diğer bir avantajı olarak görülmektedir. Hassasiyet özelliklerinin düşük olması en önemli dezavantajdır. Statik headspace analizleri çok düşük konsantrasyonlardaki uçucu bileşenlerin veya uçuculuğu az olan bileşenlerin analizlerinde yeterli hassas değildir. Sıcaklığın artırılması ile yapılar daha uçucu hale getirilebilir fakat headspace boşluğu için tasarlanan cihaz sınırlı ısı derecelerine (150 °C) kadar kullanımı uygundur. Ayrıca ısı şiddetinden kaynaklanan arzu edilmeyen veya yeni uçucu komponentlerin ortaya çıkmasına neden olacağından analiz çıktılarını negatif yönde etkileyebilmektedir (194).

Dinamik headspace tekniği, prensip olarak sürekli gaz ekstraksiyonu yöntemidir. Gaz ekstraksiyonunun sürekli uygulanması ile uçucu analitlerin dengeye ulaşması engellenir ve sıvı fazda bulunan uçucu bileşenlerin tamamının gaz fazına geçmesi sağlanır. Helyum, argon, azot gibi inert gazlar mobil faz olarak kullanılır. Sürekli devam eden gaz ekstraksiyonu ile numuneden ayrılan uçucu bileşenler inert gaz ile beraber absorbanda birikir. Biriken uçucu bileşenler sıcaklık veya çözücüyle geri alınarak kolona gönderilir. Absorbanda biriktirilen bileşenlerin geri alınması için uygulanan sıcaklık ne kadar yüksek ise bu bileşenlerin kolona doğru hareketi hızlı olur ve oldukça dik, dar ve belirgin pikler elde edilir. Purge and Trap (Taşı ve yakala) adıyla bilinen yöntem, uçucu bileşenlerin taşıyıcı gaz ile absorbanca yakalanması olarak bilinir (195).

Çözücü kullanmaya gerek olmaması, güvenilir ve hızlı analizler yapılması, otomasyona olanak sağlaması, numune ön işlemlerinin basit olması dinamik headspace yöntemlerinin avantajlarıdır. Karmaşık ve fiyatlarının yüksek olması, sıcaklığın bazı koşullarda olumsuzluk durumlar oluşturması, sızdırma va kontaminasyon tehlikesinin yüksek olması tekniğin dezavantajları olarak gösterilmektedir (195).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışması İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalında 2015-2022 yılları arasında yapılmıştır.

3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Metil alkol (ultra gradiyent grade) (Sigma-Aldrich, Almanya)

Etil alkol (ultra gradiyent grade) (Sigma-Aldrich, Almanya)

Asetonitril (ultra gradiyent grade) (Sigma-Aldrich, Almanya)

Yüksek Saflıkta He (%99.9999), (Habaş, Türkiye)

Yüksek Saflıkta H₂ (%99.9999), (Habaş, Türkiye)

Yüksek Saflıkta N₂ (%99.9999), (Habaş, Türkiye)

Yüksek Saflıkta kuru hava gazı (%99.9999), (Habaş, Türkiye)

Pelargonium sidodites kökü sıvı ekstresi (alkol içeren ticari gıda takviyesi) PS A+, Türkiye

Pelargonium sidodites kökü sıvı ekstresi (alkol içermeyen ticari gıda takviyesi) PS A-, Türkiye

Passiflora incarnata ekstresi (alkol içeren ticari gıda takviyesi) PI A+, Türkiye

3.2. Çözeltiler

3.2.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Stok ve Standart Çözeltilerin Hazırlanması

MeOH stok çözeltisinin hazırlanması: 5,1306 g MeOH 50 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{MeOH} : 10 g/dL).

EtOH stok çözeltisinin hazırlanması; 5,0742 g EtOH 50 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{EtOH} : 10 g/dL).

Asetonitril (ACN) iç standart stok çözeltisinin hazırlanması: 4,9987 g ACN 50 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{ACN} : 10 g/dL).

MeOH standart çözeltisinin hazırlanması: MeOH stok çözeltisinden 5 mL alınarak 50 ml'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{MeOH} : 1,0 g/dL).

EtOH standart çözeltilisinin hazırlanması: EtOH stok çözeltilisinden 5 mL alınarak 50 ml'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{EtOH} : 1,0 g/dL).

ACN standart çözeltilisinin hazırlanması: ACN stok çözeltilisinden 5 mL alınarak 50 ml'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{ACN} : 1,0 g/dL).

3.2.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Stok ve Standart Çözeltilerin Hazırlanması

MeOH stok çözeltilisinin hazırlanması: 5,063 g MeOH 50 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{MeOH} : 10 g/dL).

EtOH stok çözeltilisinin hazırlanması: 5,024 g EtOH 50 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{EtOH} : 10 g/dL).

ACN stok çözeltilisinin hazırlanması: 5,078 g ACN 50 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{ACN} : 10 g/dL).

MeOH standart çözeltilisinin hazırlanması: MeOH stok çözeltilisinden 10 mL alınarak 100 ml'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{MeOH} : 1,0 g/dL).

EtOH standart çözeltilisinin hazırlanması: EtOH stok çözeltilisinden 10 mL alınarak 100 ml'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{EtOH} : 1,0 g/dL).

ACN standart çözeltilisinin hazırlanması: ACN stok çözeltilisinden 10 m alınarak 100 ml'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{ACN} : 1,0 g/dL).

3.3. Cihazlar ve Diğer Gereçler

- 1- Thermo Scientific TRACE 1300, Gaz Kromatografi Cihazı (Şekil 3-1)



Şekil 3-1: Thermo Scientific TRACE 1300, Gaz Kromatografisi Cihazı

2- Shimadzu Model GC-14, Gaz Kromatografisi Cihazı (Şekil 3-2)



Şekil 3-2: Shimadzu Model GC-14, Gaz Kromatografisi Cihazı

3- Shimadzu GC2010 plus, Gaz Kromatografisi Cihazı (Şekil 3-3)



Şekil 3-3: Shimadzu GC2010 plus, Gaz Kromatografisi Cihazı

4- iConnect™ Flame Ionization Detector (FID) for TRACE™ 1300 and 1600 Series GC – Alev İyonizasyon Detektörü

- 5- Autosampler Triplus RSH
- 6- Shimadzu AOC-20I otosampler
- 7- DB-WAX 30m x 0.32mm x 0.5µm, GC kolon
- 8- TC-WAX 30m x 0,25mm x 0,5µm, GC kolon
- 9- FID-2010 Plus, – Alev İyonizasyon Detektörü
- 10- Shimadzu Headspace AOC5000
- 11- Kern ACJ 220-4 M, Hassas Terazi
- 12- Sartorius LA 200 Terazi, Hassas Terazi
- 13- Thermo Xcalibur yazılımı
- 14- Lab Solutions Yazılımı (Version 5.6 SP2)
- 15- Bilgisayar, Windows 7 Professional Edition
- 16- Otomatik Pipetler (Eppendorf 10-1000 µL)
- 17- Pipet Uçları (Eppendorf 10-1000 µL)
- 18- Vialler, Agilent Technologies
- 19- Vial Kapakları, Agilent Technologies
- 20- Balon Jojeler, Isolab 5mL, 50mL, 100 mL ve 250 mL
- 21- Vorteks, IKA
- 22- Su Saflaştırma Sistemi, Milli-Q HX Pure Water System
- 23- Millipore numune süzme filtresi 0,45 µm

3.4. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Çalışmalar

Bölüm 3.4.1.'den bölüm 3.4.7.'ye kadar olan analiz yöntemi geliştirme çalışmaları hem alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi hem de headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi için aynıdır. Analizler 40:1 split oranında ve 2,7 mL/dk gaz akış hızında gerçekleştirildi.

3.4.1. İç Standart Seçimi

İç standart, örnek içinde bulunan madde miktarını belirlemek için örneğe katılan referans maddedir. İç standart uygun seçilmişse hem sistematik hem de rastgele hatalar giderilebilir. İç standart olarak genelde çok az rastlanan ve numunede bulunmadığı bilinen maddeler seçilir. Analit ile aynı yerde sinyal vermemelidir ve kimyasal özellikleri ile analite benzemelidir.

Yapılan literatür taraması sonucunda iç standart olarak n-propanol, bütanol ve asetonitril kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. n-propanol ve bütanol kalıntı alkoller olduğu için tercih edilmemiş olup, asetonitrilin iç standart olarak kullanılmasına karar verilmiştir (173,196).

3.4.2. Kolon Seçimi

Literatür taraması sonrasında en uygun kolonlardan olan TC-WAX tercih edilmiştir. Kolon özellikleri 50m-0,320mm-0,5µm dir. Kolon seçimi için MeOH ve EtOH'e ait piklerin kuyruklanma faktörleri (TF) ve ayrılma faktörleri (Rs) hesaplanmıştır. Çalışmalara ait bulgular Bölüm 4-1-1 de verilmistir.

Kabul kriteri: Tf, 0,8-ve 1,5 değerleri arasında olmalıdır.

Kabul Kriteri: Rs, 2,0 den az olmamalıdır.

3.4.3. Fırın Sıcaklık Programının Belirlenmesi

Gaz kromatografisi kolon fırınının sıcaklığı, kolon içinde bulunan sıvı fazın sıcaklığına göre ayarlanır. Bu sıcaklık, genellikle kolonun özelliğine ve ayrılma amacına göre belirlenir. 0,1 g/dL konsantrasyonda MeOH, EtOH ve ACN sulu çözeltisi ile izotermal olarak 80 °C, 90 °C ve 100 °C'lerde çalışıldı. Sıcaklık programlamada 3 farklı çalışma uygulandı.

- 1- 70 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artacak şekilde çalışıldı.
- 2- 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artacak şekilde çalışıldı.
- 3- 90 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artacak şekilde çalışıldı.

Bu çalışmalar için MeOH ve EtOH'e ait piklerin kuyruklanma faktörleri (TF) ve ayrılma faktörleri (Rs) hesaplanmıştır. Çalışmalara ait bulgular Bölüm 4-1-1'de verilmistir.

Kabul kriteri: Tf 0,8 ve 1,5 değerleri arasında olmalıdır.

Kabul Kriteri: Rs 2,0 den az olmamalıdır.

3.4.4. Enjektör Sıcaklığının Belirlenmesi

Gaz kromatografisi etil alkol analizlerinde enjektör sıcaklığı, çözeltideki etil alkol bileşiğinin uçuculuğuna göre belirlenir. Etil alkol, sıcaklık arttıkça daha hızlı buharlaşır ve enjektör sıcaklığının da yüksek tutulması buharlaşma hızını artırır. Bu nedenle, etil alkol analizlerinde enjektör sıcaklığı genellikle yüksek tutulur.

Enjektör sıcaklığı, kromatografik kolonun sıcaklığına da uyumlu olmalıdır. Kromatografik kolonun sıcaklığı, çözeltideki bileşenlerin kolon üzerinde dağılımını etkiler. Kromatografik kolonun sıcaklığı yüksek ise, bileşenler daha hızlı hareket eder ve kromatografik ayırıştırma işlemi daha hızlı gerçekleşir. Ancak, yüksek sıcaklık, bileşenlerin stabiliteğini azaltabilir ve bileşenlerin parçalanma riskini artırabilir. Bu nedenle, kromatografik kolonun sıcaklığı da dikkatli bir şekilde seçilmelidir.

Gaz kromatografisi enjektör sıcaklığı literatür taraması ile birlikte analiz edilecek numunenin ve kolonun uygunluğuna sorun teşkil etmeyecek değer olarak 250 °C olarak belirlenmiştir.

3.4.5. Detektör Sıcaklığının Belirlenmesi

Detektör sıcaklığının seçimi, çözeltiden geçen gazın karakteristiklerine ve detektörün çalışma prensibine dayanmaktadır. Ayrıca, detektör sıcaklığı, enjektör sıcaklığına da uyumlu olmalıdır. Bu sayede, çözeltiden geçen gazın sıcaklık değişimleri düzenli bir şekilde takip edilebilir ve doğru sonuçlar elde edilebilir.

Gaz kromatografisi detektör sıcaklığı literatür taraması ile birlikte analiz edilecek numunenin ve enjektör uygunluğuna sorun teşkil etmeyecek değer olarak 250 °C'de olarak belirlenmiştir.

3.4.6. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Koşullarının Belirlenmesi

Headspace'deki vial çalkalama süresi, üst boşluk gazı çıkarılıp analiz edilmeden önce numune şişesinin çalkalandığı süreyi ifade eder.

Vial çalkalama süresi, ekstraksiyonun etkinliğini ve analizin genel performansını etkileyebileceğinden headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisinde önemli bir parametredir. Vial çalkalama süresi çok kısaysa, ekstraksiyon etkinliği

azalarak eksik veya yanlış sonuçlara yol açabilir. Öte yandan, vial çalkalama süresi çok uzunsa numune bozulabilir veya üst boşluk gazı doymuş hale gelebilir, bu da sonuçların doğruluğunu etkileyebilir.

Optimum vial çalkalama süresi, numunenin özelliklerine ve analiz edilen bileşiklere ve ayrıca ekstraksiyon işleminin özel koşullarına bağlı olacaktır. Genel olarak, ekstraksiyon verimliliğini en üst düzeye çıkarmak ile numune bozulması veya doygunluk potansiyelini en aza indirmek arasında bir denge bulmak önemlidir.

Headspace vial çalkalama hızı ve süresi literatür taraması ile birlikte analiz edilecek numunenin uygunluğuna göre belirlenmiştir. Vial çalkalama hızı 750 rpm ve vial çalkalama süresi ise 10 dakika olarak belirlenmiştir.

3.4.7. Etil Alkol Safsızlık Çalışmaları

Gıda takviyelerinde bulunan etil alkol safsızlıkları gıda güvenliği için oldukça önemlidir. Metil alkol gibi toksik etkisi yüksek alkollerin vücuda alınması durumunda ölümlerle sonuçlanabilecek kadar ciddi sorunlara neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca safsızlıklar etil alkol analizlerinin doğruluğunu da doğrudan etkilemektedir. Tüm bu sebeplerden gıda takviyelerinde bulunan etil alkol safsızlıklarının belirlenmesi oldukça önemlidir. Türk Farmakopesinde etil alkol safsızlık maddeleri olarak aşağıda bulunan çözeltiler hazırlanmıştır.

Asetaldehit çözeltisinin hazırlanması: % 10'luk asetaldehit stok çözeltisinden 1 mL'si 10 mL'lik balon jolye alınıp, üzerine su ile tamamlandı ($C_{\text{asetaldehit}}: \% 0,1$).

2-bütanol çözeltisinin hazırlanması: % 10'luk 2-bütanol stok çözeltisinden 1 mL'si 10 mL'lik balon jolye alınıp, üzerine su ile tamamlandı ($C_{2\text{-bütanol}}: \% 0,1$).

1-propanol çözeltisinin hazırlanması: % 10'luk 1-propanol stok çözeltisinden 1 mL'si 10 mL'lik balon jolye alınıp, üzerine su ile tamamlandı ($C_{1\text{-propanol}}: \% 0,1$).

İzobütil alkol çözeltisinin hazırlanması: % 10'luk izobütil alkol stok çözeltisinden 1 mL'si 10 mL'lik balon jolye alınıp, üzerine su ile tamamlandı ($C_{\text{izobütilalkol}}: \% 0,1$).

1-bütanol çözeltisinin hazırlanması: % 10'luk 1-bütanol stok çözeltisinden 1 mL'si 10 mL'lik balon jolye alınıp, üzerine su ile tamamlandı ($C_{1\text{-bütanol}}: \% 0,1$).

İzoamil alkol çözeltisinin hazırlanması: % 10'luk izoamil alkol stok çözeltisinden 1 mL'si 10 mL'lik balon jolye alınıp, üzerine su ile tamamlandı ($C_{\text{izoamilalkol}}: \% 0,1$).

1-hekzanol çözeltilisinin hazırlanması: % 10'luk 1-bütanol stok çözeltilisinden 1 mL'si 10 mL'lik balon jöjeye alınıp, üzerine su ile tamamlandı ($C_{1\text{-hekzanol}}$: % 0,1).

3.5. Yöntem Geliştirme Çalışmaları Sonucunda Elde Edilen Nihai Analitik Yöntem

3.5.1. Alev İyonizasyon Dedektörlü Gaz Kromatografisi ile Geliştirilen Yöntem

Cihaz : Thermo Scientific TRACE 1300

Autosampler : Triplus RSH

Kolon : TC-WAX 50m-0,320mm-0,5 μ m

Enjektör sıcaklığı : 250 °C

Fırın sıcaklık programı:

Başlangıç sıcaklığı : 80 °C (bekleme süresi 0 dk)

Sıcaklık artışı : 5 °C/dk

Final sıcaklığı : 100 °C (bekleme süresi 5 dk)

Analiz süresi : 9,00 dk

Enjeksiyon hacmi : 2,0 μ L

Split oranı : 40:1

Taşıyıcı gaz ve akış hızı : Azot, 2,7 mL/dk

Detektör sıcaklığı : 250 °C

Detektör gazları ve akış hızları : Hidrojen (40 mL/dk), Hava (450 mL/dk)

3.5.2. Headspace Alev İyonizasyon Dedektörlü Gaz Kromatografisi ile Geliştirilen Yöntem

Cihaz : Shimadzu GC2010 plus

Autosampler : Shimadzu Headspace AOC5000

Enjektör sıcaklığı : 250 °C

HS çalkalama sıcaklığı : 100 °C

HS çalkalama süresi : 10 dk

HS çalkalama hızı : 750 rpm

Fırın sıcaklık programı:

Başlangıç sıcaklığı	: 80 °C (bekleme süresi 0 dk)
Sıcaklık artışı	: 5 °C/dk
Final sıcaklığı	: 100 °C (bekleme süresi 5 dk)
Analiz süresi	: 19,00 dk
Enjeksiyon hacmi / Vial Hacmi	: 2,0 mL / 20 mL
Split oranı	: 40:1
Taşıyıcı gaz ve akış hızı	: Azot, 2,7 mL/dk
Detektör sıcaklığı	: 250 °C
Detektör gazları ve akış hızları	: Hidrojen (40 mL/dk), Hava (450 mL/dk)

3.6. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu

Yöntem geliştirme çalışmaları sonrasında yöntem validasyonu güncel ICH Kılavuzu Q2'ye göre yapılmıştır (197).

3.6.1. Seçicilik

Metot validasyon seçiciliği, bir analitik yöntemin, numunede bulunabilecek diğer bileşenlerin varlığında hedef analiti doğru ve kesin bir şekilde ölçebilme yeteneğini ifade eder. Diğer bir deyişle, yöntemin hedef analiti tespit etmede ne kadar seçici olduğunun bir ölçüsüdür. Numunedeki enterferansların veya diğer bileşiklerin varlığı ölçümün doğruluğunu ve kesinliğini etkileyebileceğinden, yöntemin seçici olduğundan emin olunması gerekmektedir.

3.6.1.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Seçicilik Çözeltilerinin Hazırlanması

MeOH çözeltisinin hazırlanması: MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL).

EtOH çözeltisinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 1000 μ L'si 10 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{EtOH} : 0,10 g/dL).

ACN çözeltisinin hazırlanması: ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L'si 10 mL'lik balo jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{ACN} : 0,10 g/dL).

Karışım çözeltisinin hazırlanması: MeOH, EtOH ve ACN standart çözeltilerinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL, C_{EtOH} : 1,0 g/dL, C_{ACN} : 1,0 g/dL) ayrı ayrı 1000 μ L alınarak, 10 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).

Seçicilik çalışmaları kapsamında yapılan çalışmalar Bölüm 4.2.1.1.'de gösterilmektedir.

Kabul kriteri: Numune matrisinde bulunan bileşenler ve ilgilenilen maddeler birbirleri ile girişim yapmamalıdır.

3.6.1.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Seçicilik Çözeltilerinin Hazırlanması

MeOH çözeltisinin hazırlanması: MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL).

EtOH çözeltisinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{EtOH} : 0,10 g/dL).

ACN çözeltisinin hazırlanması: ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{ACN} : 0,10 g/dL).

Karışım çözeltisinin hazırlanması: MeOH, EtOH ve ACN standart çözeltilerinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL, C_{EtOH} : 1,0 g/dL, C_{ACN} : 1,0 g/dL) ayrı ayrı 10 mL alınarak, 100 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).

Seçicilik çalışmaları kapsamında yapılan çalışmalar Bölüm 4.2.1.2.'de gösterilmektedir.

Kabul kriteri: Numune matrisinde bulunan bileşenler ve ilgilenilen maddeler birbirleri ile girişim yapmamalıdır.

3.6.2. Doğrusallık, Teşhis Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)

Analitik bir metodun doğrusallığı, çözeltilerdeki analizi yapılan maddenin konsantrasyonuna karşı bulunan deneme sonucunun belirli bir aralık dahilinde doğrusal olması olarak açıklanır (197).

Doğrusallık değerlerinin saptanması amacıyla 0,100 g/dL çözelti konsantrasyonundan 0,002 g/dL çözeltilisine konsantrasyonuna kadar 9 farklı konsantrasyonda çözelti hazırlandı ve her çözeltiliden altışar enjeksiyon yapılarak elde edilen kromatogram verilerine göre doğrusallık grafiği çizildi. Doğrusallık çalışmaları kapsamında elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.2.1. ve Bölüm 4.2.2.2.' de gösterilmektedir.

Doğrusallık için kabul kriteri; korelasyon katsayısı (r) 0,99 dan az olmamalıdır.

Bir metotta teşhis sınırı, metot ile gözlemlenebilen fakat tayin edilmesi şart olmayan en düşük konsantrasyondur. Tayin sınırı ise, uygun hassasiyet ve geri kazanımda tayin edilebilen en düşük konsantrasyondur.

LOD ve LOQ değerlerinin tespit edilebilmesi için düşükten yüksek konsantrasyona doğru, ard arda 6 kez enjekte edilen çözeltilere ait kromatogramlardaki A/Ais oranlarına karşı konsantrasyon grafikleri oluşturuldu. LOD ve LOQ çalışmaları kapsamında elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.2.1. ve Bölüm 4.2.2.2.' de gösterilmektedir.

Tayin sınırı için kabul kriteri; % RSD değeri 20,0 den az olmalıdır.

3.6.2.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Doğrusallık, Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı Çözeltilerinin Hazırlanması

1. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 1000 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 1000 μ L ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{1.seviye}$: 0,100 g/dL).

2. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 500 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 500 μ L ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{2.seviye}$: 0,050 g/dL).

3. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 200 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 200 μ L ve

ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{3.seviye}$: 0,020 g/dL).

4. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 120 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL), 120 μ L ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{4.seviye}$: 0,012 g/dL).

5. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 100 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 100 μ L ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{5.seviye}$: 0,010 g/dL).

6. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 80 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 80 μ L ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{6.seviye}$: 0,008 g/dL).

7. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 60 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 60 μ L ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{7.seviye}$: 0,006 g/dL).

8. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 40 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 40 μ L ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{8.seviye}$: 0,004 g/dL).

9. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 20 μ L, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 20 μ L ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 1000 μ L alınarak 10 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{9.seviye}$: 0,002 g/dL).

3.6.2.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Doğrusallık, Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı Çözeltilerinin Hazırlanması

1. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 10 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 10 mL ve

ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{1.seviye}$: 0,100 g/dL).

2. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 5 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 5 mL ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{2.seviye}$: 0,050 g/dL).

3. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 2 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 2 mL ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{3.seviye}$: 0,020 g/dL).

4. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 1,2 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 1,2 mL ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{4.seviye}$: 0,012 g/dL).

5. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 1 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 1 mL ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{5.seviye}$: 0,010 g/dL).

6. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 0,80 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 0,80 mL ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{6.seviye}$: 0,008 g/dL).

7. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 0,60 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 0,60 mL ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{7.seviye}$: 0,006 g/dL).

8. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 0,40 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 0,40 mL ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{8.seviye}$: 0,004 g/dL).

9. seviye konsantrasyondaki çözeltinin hazırlanması: EtOH standart çözeltisinden (C_{EtOH} : 1,0 g/dL) 0,20 mL, MeOH standart çözeltisinden (C_{MeOH} : 1,0 g/dL) 0,20 mL ve ACN standart çözeltisinden (C_{ACN} : 1,0 g/dL) 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı ($C_{9.\text{seviye}}$: 0,002 g/dL).

3.6.3. Doğruluk (Geri Kazanım)

Doğruluk, analitik metodun veya referans olarak kabul edilen bir değerin, deneysel olarak elde edilen değere yakınlığını ifade etmektedir (197). Doğruluk çalışmaları kapsamında elde edilen sonuçlar bölüm 4.2.3.1. ve 4.2.3.2.'de gösterilmektedir.

Doğruluk kabul kriteri: Geri kazanım sonuçları % 98,0 - % 102,0 arasında olmalıdır.

3.6.3.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Doğruluk Çözeltilerinin Hazırlanması

% 80 seviyesinde etken madde çözeltilerinin hazırlanması: 0,01 g/dL EtOH, 0,01 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN sulu karışım çözeltisinden 8,86 mL alınarak, 10 mL'lik balo jojeye aktarıldı ve üzerine 0,08 g/dL EtOH, 0,08 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN 1,14 mL sulu karışım çözeltisi ilave edilip, hacmine tamamlandı.

% 100 seviyesinde etken madde çözeltilerinin hazırlanması: 0,01 g/dL EtOH, 0,01 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN sulu karışım çözeltisinden 8,89 mL alınarak, 10 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve üzerine 0,10 g/dL EtOH, 0,10 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN 1,11 mL sulu karışım çözeltisi ilave edilip, hacmine tamamlandı.

% 120 seviyesinde etken madde çözeltilerinin hazırlanması: 0,01 g/dL EtOH, 0,01 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN sulu karışım çözeltisinden 8,91 mL alınarak, 10 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve üzerine 0,12 g/dL EtOH, 0,12 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN 1,09 mL sulu karışım çözeltisi ilave edilip, hacmine tamamlandı.

3.6.3.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Doğruluk Çözeltilerinin Hazırlanması

% 80 seviyesindeki etken madde çözeltilerinin hazırlanması: 0,01 g/dL EtOH, 0,01 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN sulu çözeltisinden 8,86 mL alınarak, 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve üzerine 0,08 g/dL EtOH, 0,08 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN 11,4 mL sulu çözeltisi ilave edilip, hacmine tamamlandı.

% 100 seviyesindeki etken madde çözeltilerinin hazırlanması: 0,01 g/dL EtOH, 0,01 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN sulu çözeltisinden 88,9 mL alınarak, 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve üzerine 0,10 g/dL EtOH, 0,10 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN 11,1 mL sulu çözeltisi ilave edilip, hacmine tamamlandı.

% 120 seviyesindeki etken madde çözeltilerinin hazırlanması: 0,01 g/dL EtOH, 0,01 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN sulu çözeltisinden 89,1 mL alınarak, 100 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve üzerine 0,12 g/dL EtOH, 0,12 g/dL MeOH ve 0,10 g/dL ACN 10,9 mL sulu çözeltisi ilave edilip, hacmine su ile tamamlandı.

3.6.4. Kesinlik

Kesinlik, aynı numuneden veya üretilen çok sayıdaki numuneden elde edilen aynı gün veya farklı günlerdeki sonuçların benzerliği olarak tanımlanmaktadır (197).

Gün içi kesinlik çalışmasında kesinlik çözeltileri oda sıcaklığında 24 saat bekletilip ard arda 6 enjeksiyon yapıldı. Günler arası kesinlik çalışmasında ise, kesinlik çözeltileri +4 °C sıcaklıkta 48 saat bekletilip ard arda 6 enjeksiyon yapıldı.

Kesinlik çalışmaları kapsamında alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi için Bölüm 3.6.2.1. ve headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi için de Bölüm 3.6.2.2.'de hazırlanan 1'inci,5'inci ve 9'uncü seviye konsantrasyondaki çözeltiler kullanıldı. Kesinlik çalışmaları kapsamında elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.4.1. ve Bölüm 4.2.4.2.'de gösterilmektedir.

Gün içi kesinlik kabul kriteri: A/A_{is} oranları arasındaki % RSD değeri % 2,0 dan az olmalıdır.

Gün arası kesinlik kabul kriteri: A/A_{is} oranları arasındaki % RSD değeri % 10,0 dan az olmalıdır (197).

3.6.5. Sağlamlık

Sağlamlık, bir metodun bir dizi çalışma koşulunda tutarlı ve güvenilir sonuçlar üretme yeteneğinin bir ölçüsüdür. Metodun çalışma koşullarındaki değişikliklere dirençli olduğunu ve test koşullarındaki değişikliklerden kolayca etkilenmediğini gösterdiğinden, yöntem validasyonunun önemli bir parametresidir (197).

Sağlamlık çalışmaları kapsamında alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi için Bölüm 3.6.2.1. ve headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz

kromatografisi için de Bölüm 3.6.2.2.'de hazırlanan 1'inci, 5'inci ve 9'uncü seviye konsantrasyondaki çözeltiler kullanıldı. Hazırlanan çözeltilerin ard arda 6 enjeksiyonu yapılarak aşağıda bulunan parametrelerin değıştirilmesi ile elde edilen veriler standart koşullardaki sonuçlarla kıyaslandı. Sağlamlık çalışmaları kapsamında elde edilen sunuğlar Bölüm 4.2.5.1. ve Bölüm 4.2.5.2.'de gösterilmektedir.

GC-FID sağlamlık parametreleri:

Enjeksiyon Hacmi - 2,2 µL,

Enjeksiyon Hacmi - 1,8 µL,

Dedektör Sıcaklığı - 245 °C

Dedektör Sıcaklığı - 255 °C

Enjektör Sıcaklığı - 245 °C

Enjektör Sıcaklığı - 255 °C

HS GC-FID sağlamlık parametreleri:

Enjeksiyon Hacmi - 2,2 mL

Enjeksiyon Hacmi - 1,8 mL

Dedektör Sıcaklığı - 245 °C

Dedektör Sıcaklığı - 255 °C

Enjektör Sıcaklığı - 245 °C

Enjektör Sıcaklığı - 255 °C

3.7. Numune Çözeltilerinin Hazırlanması

3.7.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Numune Çözeltilerinin Hazırlanması

***Pelargonium sidodies* kökü alkolsüz sıvı ekstresi çözeltisi:** 1 mL PS A- ekstresi ve 1 mL ACN standart çözeltisi 10 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı.

***Pelargonium sidodites* kökü alkollü sıvı ekstresi çözeltisi:** 1 mL PS A+ ekstresi ve 1 mL ACN standart çözeltisi 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı

***Passiflora incarnata* alkollü sıvı ekstresi çözeltisi:** 1 mL PI A+ ekstresi ve 1 mL ACN standart çözeltisi 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı

3.7.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Numune Çözeltilerinin Hazırlanması

***Pelargonium sidodites* kökü alkolsüz sıvı ekstresi (PS):** 10 mL PS A- ekstresi ve 10 mL ACN standart çözeltisi 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı.

***Pelargonium sidodites* kökü alkollü sıvı ekstresi (PS A+):** 10 mL PS A+ ekstresi ve 10 mL ACN standart çözeltisi 1000 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı.

***Passiflora incarnata* alkollü sıvı ekstresi (PI A+):** 10 mL PI A+ ekstresi ve 10 mL ACN standart çözeltisi 1000 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacmine su ile tamamlandı.

4. BULGULAR

4.1. Metot Geliştirme

Split çalışmaları kapsamında splitsiz ve 40:1 split oranında analizler yapıldı. Yapılan analizler sonrasında splitsiz yapılan analizin metot için uygun olmadığı belirlendi. 40:1 split oranıyla yapılan analiz, metot için uygun olduğu belirlendi ve çalışmalarda split oranı olarak kullanıldı.

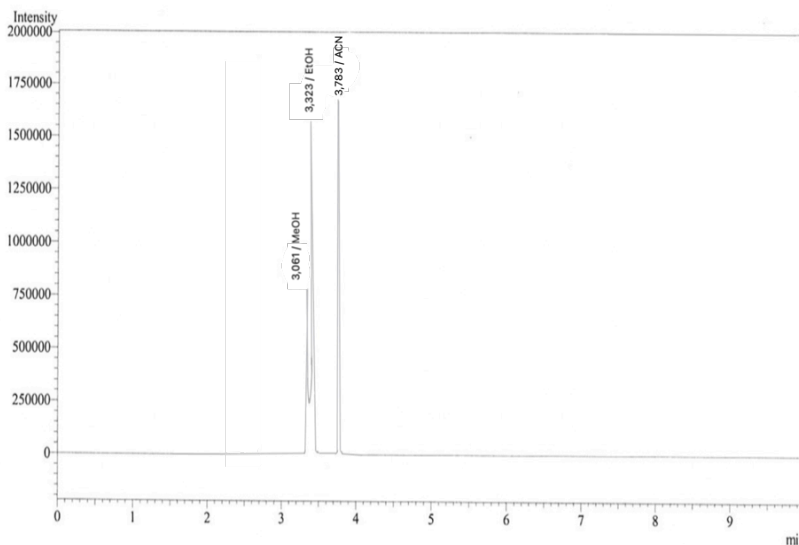
Gaz akış hızının belirlenmesi amacıyla 3,5 mL/dk ve 2,7 mL/dk akış hızlarında analizler yapıldı. 3,5 mL/dk gaz akış ile yapılan analizde GC kromatogramlarının pik çözümlenmesinin iyi olmadığı için metoda uygun olmadığı belirlendi. 2,7 mL/dk gaz akış hızı ile yapılan analiz sonucunda piklerde çözümlenin yeterli seviyede olması sebebiyle analizlerde akış hızı olarak kullanıldı.

4.1.1. Fırın Sıcaklık Programının Belirlenmesi

4.1.1.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Fırın Sıcaklık Programının Belirlenmesi

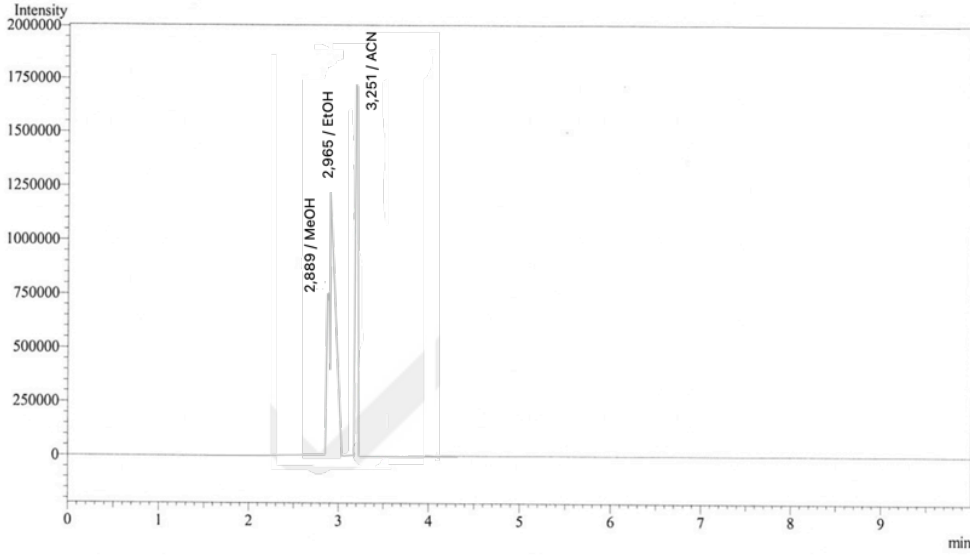
İzotermal Çalışma

Bölüm 3.4.4.'te belirtildiği gibi kolon sıcaklık programı denemeleri yapıldı. 0,1 g/dL konsantrasyonda MeOH, EtOH ve ACN sulu çözeltisi izotermal olarak sırasıyla 80 °C'de, 90 °C'de ve 100 °C'de fırın sıcaklık çalışmaları yapıldı. Çalışmalara ait GC kromatogramları Şekil 4-1, Şekil 4-2 ve Şekil 4-3'te gösterildi.



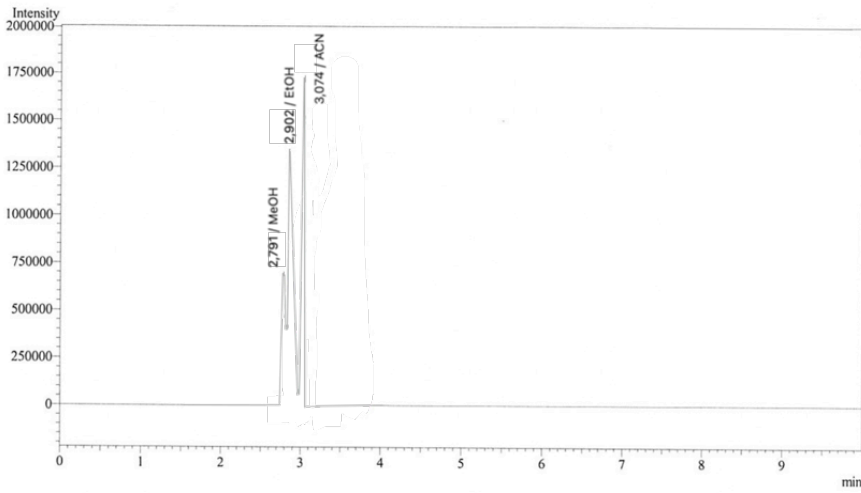
Şekil 4-1: 80 °C'deki izotermal çalışmada MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

MeOH'ün alıkonma zamanı 3,06 dk, EtOH'ün alıkonma zamanı 3,32 dk ve ACN'in alıkonma zamanı 3,78 dk'dır. MeOH ve EtOH piklerinde Rs değerinin kabul kriterinin dışında olduğundan analize uygun olmadığı belirlendi (Şekil 4-1).



Şekil 4-2: 90 °C'deki izotermal çalışmada MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

MeOH'ün alıkonma zamanı 2,89 dk, EtOH'ün alıkonma zamanı 2,97 dk ve ACN'in alıkonma zamanı 3,25 dk'dır. MeOH ve EtOH piklerinde Rs değerinin kabul kriterinin dışında olduğundan analize uygun olmadığı belirlendi (Şekil 4-2).

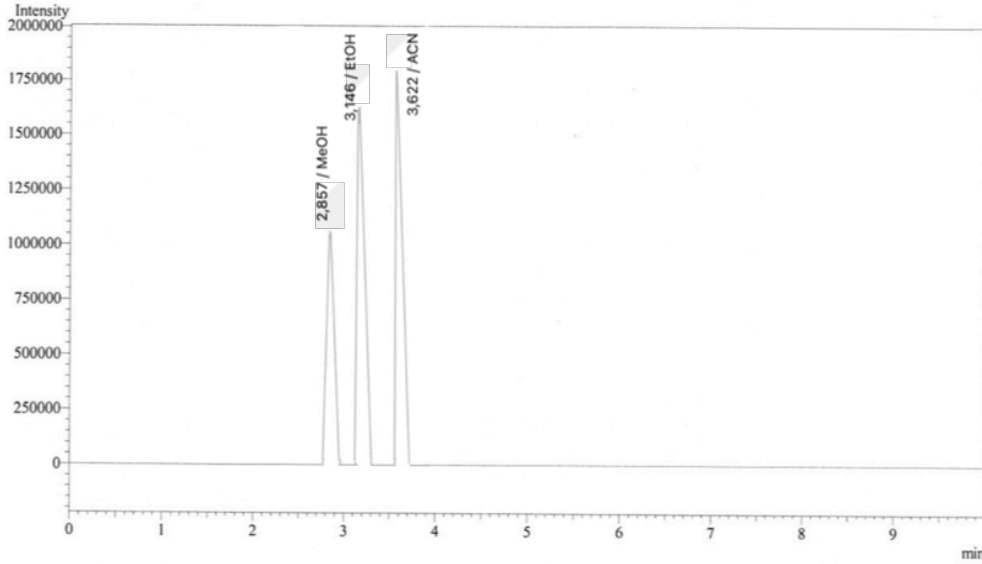


Şekil 4-3: 100 °C'deki izotermal çalışmada MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

MeOH'ün alıkonma zamanı 2,79 dk, EtOH'ün alıkonma zamanı 2,90 dk ve ACN'in alıkonma zamanı 3,07 dk'dır. MeOH ve EtOH piklerinde Rs değerinin kabul kriterinin dışında olduğundan analize uygun olmadığı belirlendi (Şekil 4-3).

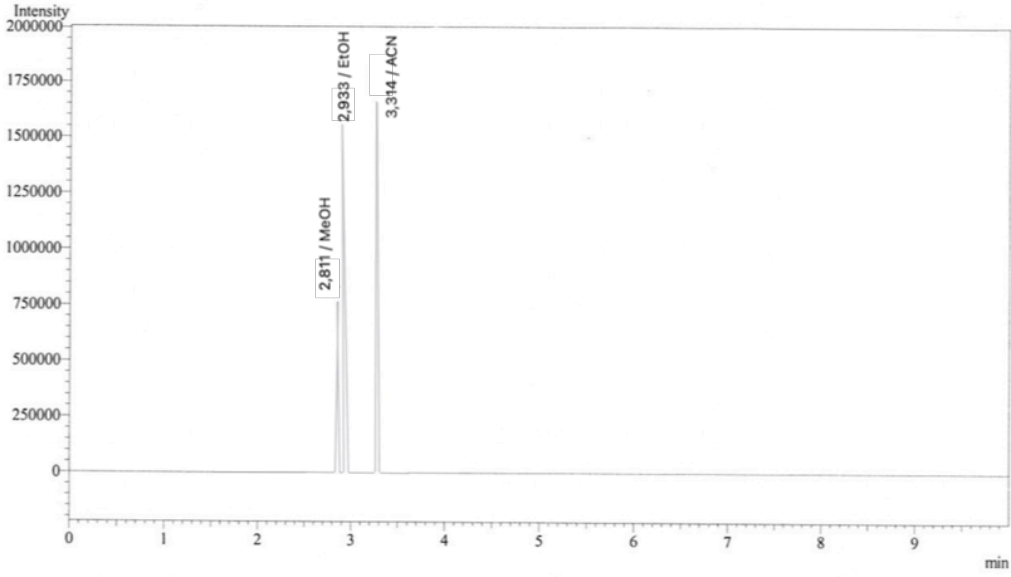
Fırın Sıcaklık Programlama Çalışması

İzotermal çalışmaların yanısıra fırın sıcaklık programlaması da yapıldı. Şekil 4-4, Şekil 4-5 ve Şekil 4-6'da sırasıyla 70 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programına ait GC kromatogramı, 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programına ait GC kromatogramı ve 90 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programına ait GC kromatogramı verildi.



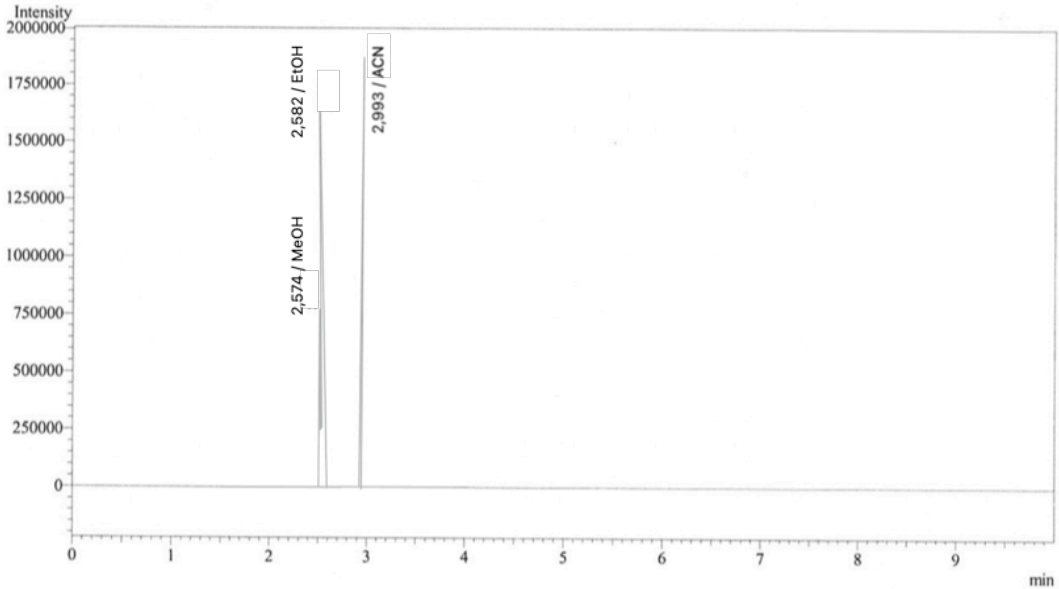
Şekil 4-4: 70 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

MeOH'ün alıkonma zamanı 2,86 dk, EtOH'ün alıkonma zamanı 3,15 dk ve ACN'in alıkonma zamanı 3,62 dk'dır. MeOH ve EtOH piklerinde Tf değerinin kabul kriterinin dışında olduğundan analize uygun olmadığı belirlendi (Şekil 4-4).



Şekil 4-5: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

MeOH'ün alıkonma zamanı 2,81 dk, EtOH'ün alıkonma zamanı 2,93 dk ve ACN'in alıkonma zamanı 3,51 dk'dır. MeOH ve EtOH piklerinde T_f ve R_s değerleri kabul kriterinin içinde olması sebebiyle analize uygun olduğu belirlendi (Şekil 4-5).



Şekil 4-6: 90 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiye ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

MeOH'ün alıkonma zamanı 2,57 dk, EtOH'ün alıkonma zamanı 2,58 dk ve ACN'in alıkonma zamanı 2,99 dk'dır. MeOH ve EtOH piklerinde Rs değerinin kabul kriterinin dışında olduğundan analize uygun olmadığı belirlendi (Şekil 4-6).

Yapılan çalışmalar sonrasında en uygun Rs ve Tf değerlerine sahip olan 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programı tercih edildi. Tercih edilen kolon ve sıcaklık programı sonrasında EtOH ve MeOH'un Tf ve Rs değerlerine ait veriler Tablo 4-1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: 80°C'den 100°C'ye dakikada 5°C artan fırın sıcaklık programında metil alkol ve etil alkol piklerinin Rs ve Tf değerleri

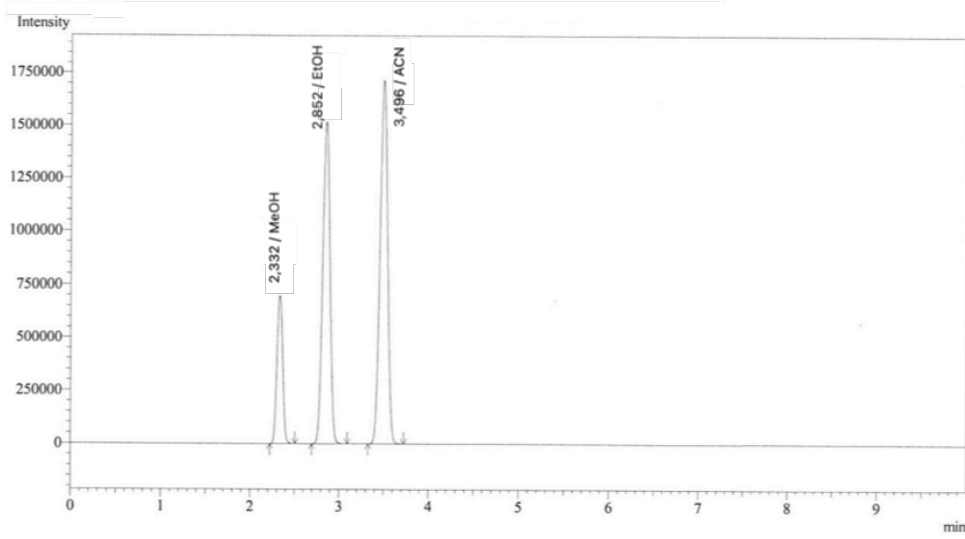
Etken Madde	Konsantrasyon MeOH-EtOH g/dL	Rs	Tf
MeOH	0,002	2,21	0,96
	0,01	2,14	1,08
	0,1	2,02	1,14
EtOH	0,002	2,21	1,02
	0,01	2,14	1,12
	0,1	2,02	1,43

80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında yapılan çalışmalarda, Rs değeri 2,0'den büyük, Tf değeri ise 0,8 ve 1,5 arasında bulundu. Elde edilen değerler kabul kriterlerinin içindedir.

4.1.1.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Fırın Sıcaklık Programının Belirlenmesi

Alev iyonizasyon dedektörlü gaz kromatografisi ile belirlenen sıcaklık programı headspace alev dedektörlü gaz kromatografisi için de aynı koşullarda test edildi. Çalışmada, 0,1 g/dL konsantrasyonlarında bulunan MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu

çözeltilisinin, 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programına ait GC kromatogramı Şekil 4-7'de gösterilmektedir.



Şekil 4-7: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki MeOH, EtOH ve ACN içeren sulu çözeltiliye ait HS-GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

MeOH'ün alıkonma zamanı 2,33 dk, EtOH'ün alıkonma zamanı 2,85 dk ve ACN'in alıkonma zamanı 3,50 dk'dır (Şekil 4-7). Çalışmalar sonucunda MeOH ve EtOH'ün T_f ve R_s değerlerine ait veriler Tablo 4-2'de gösterilmektedir.

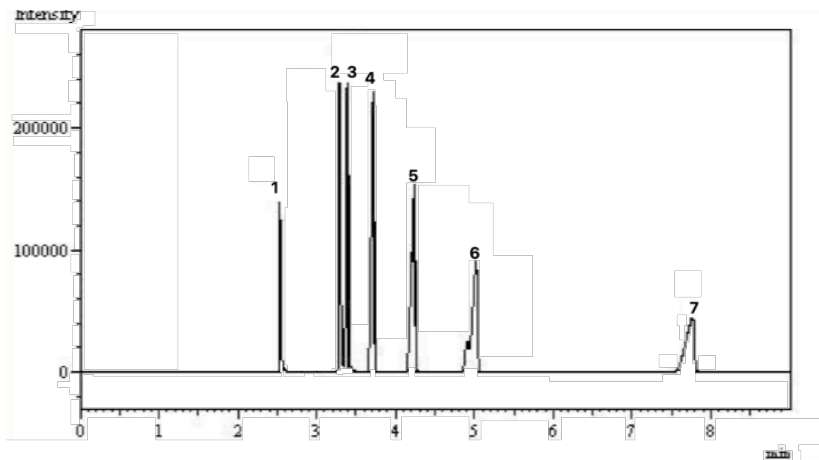
Tablo 4-2: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında metil alkol ve etil alkol piklerinin R_s ve T_f değerleri

Etken Madde	Konsantrasyon (g/dL)	MeOH-EtOH (Rs)	Tf
	0,002	4,20	0,84
MeOH	0,01	3,10	1,13
	0,1	2,37	1,24
EtOH	0,002	4,20	1,05
	0,01	3,10	1,24
	0,1	2,37	1,36

80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında yapılan çalışmada, Rs değeri 2,0'den büyük, Tf değerinin ise 0,8 ve 1,5 değerleri arasında bulundu. Elde edilen değerler kabul kriterlerinin içindedir.

4.1.2. Etil Alkol Safsızlık Çalışması

Bölüm 3.4.7.'de belirtildiği gibi 0,1 g/dL konsantrasyonlarında hazırlanan asetaldehit, 2-bütanol, 1-propanol, izobütül alkol, 1-bütanol, izoamil alkol ve 1-hekzanol çözeltileri ard arda 6 kez enjekte edildi. Etil alkol safsızlıklarına ait GC kromatogramı Şekil 4.8.'de ve analiz verileri Tablo CC'de gösterilmektedir. Etil alkol ve metil alkol pikleri safsızlık pikleriyle girişim yapmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4-8: Etil alkol safsızlıklarına ait GC kromatogramı (1- Asetaldehit, 2- 2-bütanol, 3- 1-propanol, 4- izobütül alkol, 5- 1-bütanol, 6- izoamil alkol, 7- 1-hekzanol)

Tablo 4-3: Etil alkol safsızlıkları

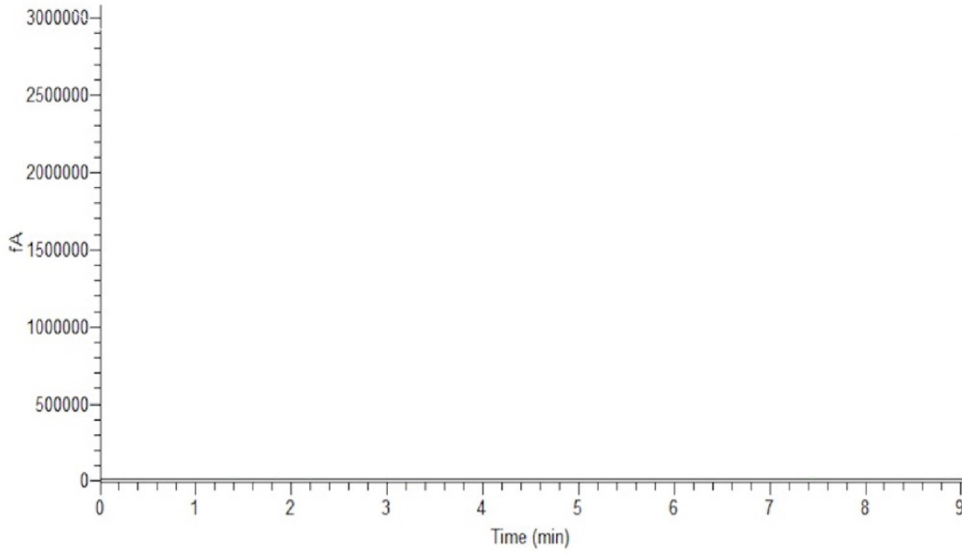
No	Madde (%)	Alkonma Zamanı (dk)
1	Asetaldehit	2,53
2	2-bütanol	3,28
3	1-propanol	3,39
4	İzobütil alkol	3,74
5	1-bütanol	4,24
6	İzoamil alkol	5,02
7	1-Hekzanol	7,76

4.2. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu

4.2.1. Seçicilik

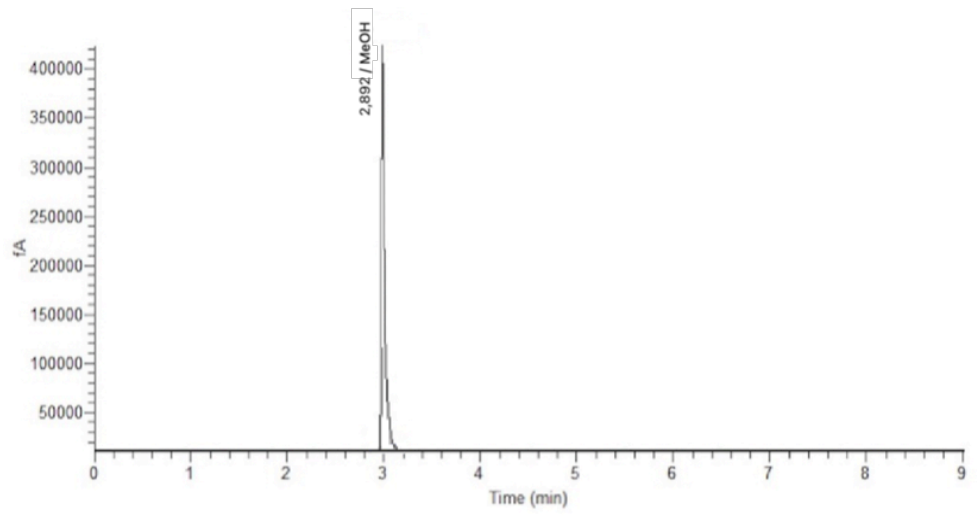
4.2.1.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi Seçicilik Çalışması

Seçicilik çalışmaları Bölüm 3.6.1.1.'de belirtildiği gibi çözücü (su), EtOH, MeOH ve ACN sulu çözeltileri ayrı ayrı ve tüm bileşenlerin bulunduğu sulu çözelti analiz edildi. Kabul kriteri olarak, numune matrisinde bulunan bileşenler ve ilgilenilen maddeler birbirleri ile girişim yapmamalıdır. Analizlere ait GC kromatogramları Şekil 4-9, Şekil 4-10, Şekil 4-11, Şekil 4-12 ve Şekil 4-13'te gösterilmiştir.



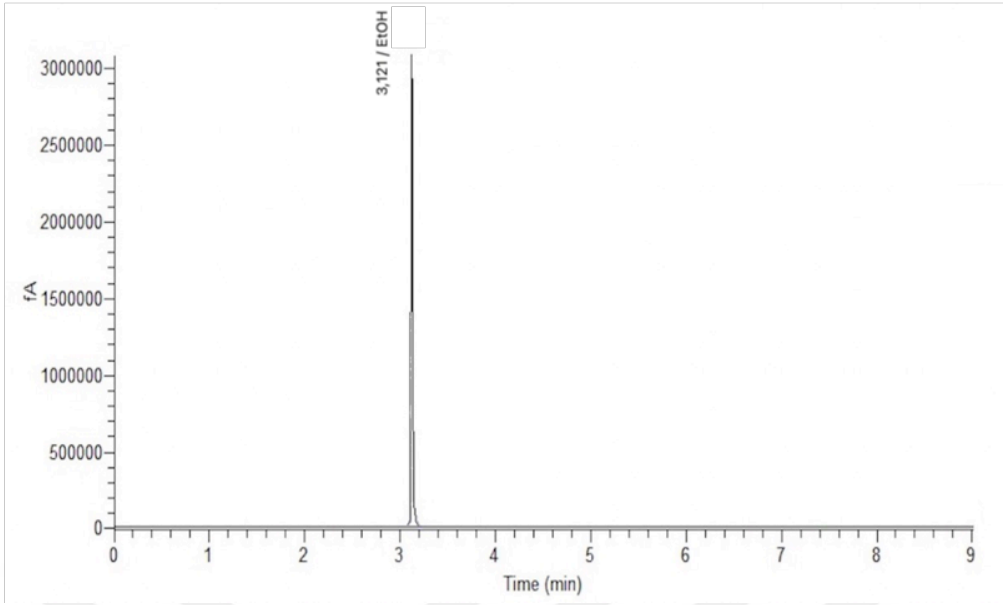
Şekil 4-9: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında çözücüye (su) ait GC kromatogramı

Çözücü (su) ard arda 6 kere enjekte edildi, safsızlık pikleri, EtOH, MeOH ve ACN ait piklerin alıkonma zamanlarında girişim bulunmadı (Şekil 4-9).



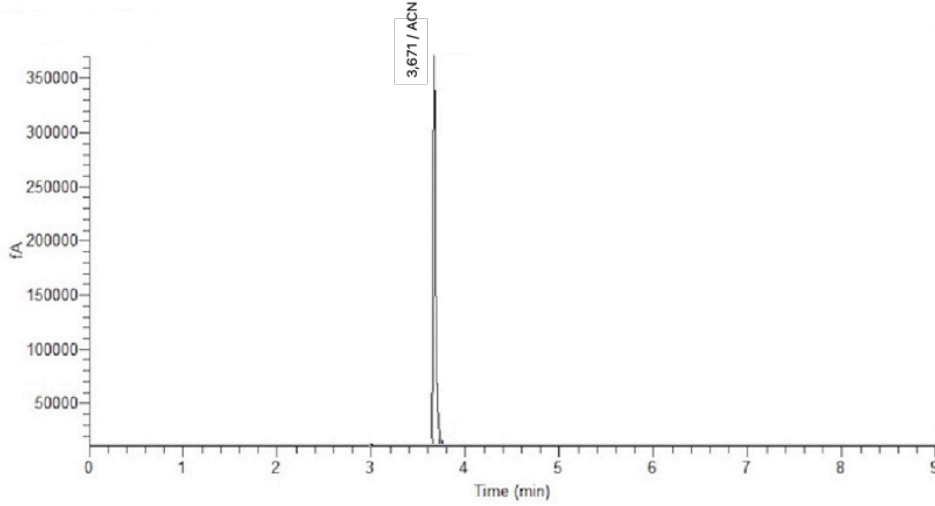
Şekil 4-10: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında metil alkol sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL)

Metil alkol sulu çözeltisi ard arda 6 kere enjekte edildi, safsızlık pikleri, EtOH ve ACN'e ait piklerin alıkonma zamanlarında girişim tespit edilmedi (Şekil 4-10).



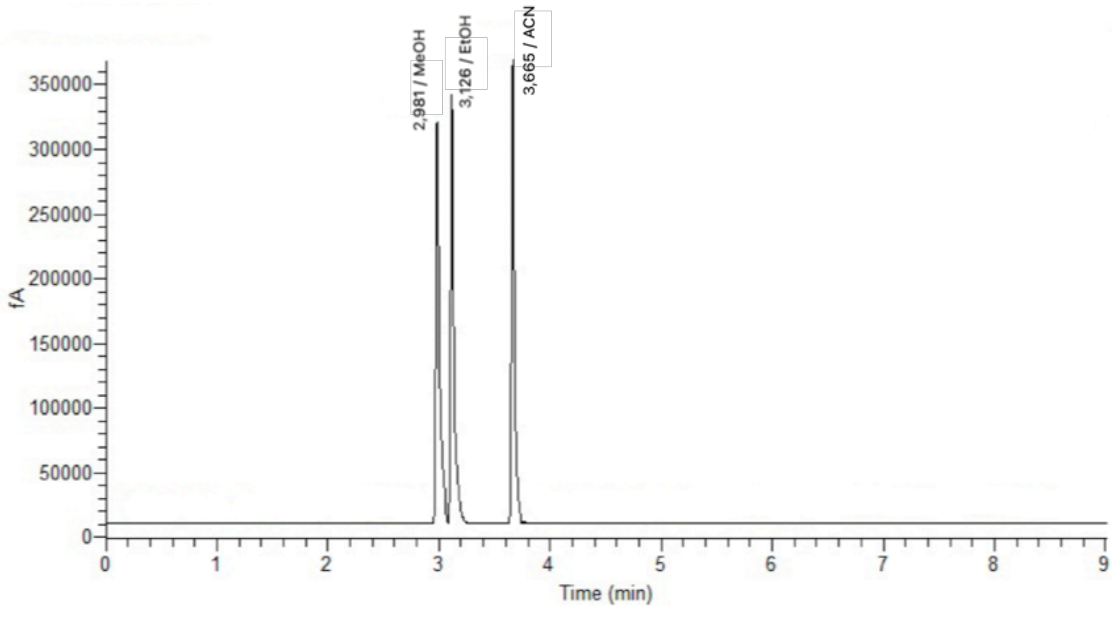
Şekil 4-11: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında etil alkol sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{EtOH} : 0,10 g/dL).

Etil alkol sulu çözeltisi ard arda 6 kere enjekte edildi, safsızlık pikleri, MeOH ve ACN'e ait piklerin alıkonma zamanlarında girişim tespit edilmedi (Şekil 4-11).



Şekil 4-12: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında asetonitril sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{ACN} : 0,10 g/dL).

Asetonitril sulu çözeltisi ard arda 6 kere enjekte edildi, safsızlık pikleri, MeOH ve EtOH'e ait piklerin alıkonma zamanlarında girişim tespit edilmedi (Şekil 4-12).

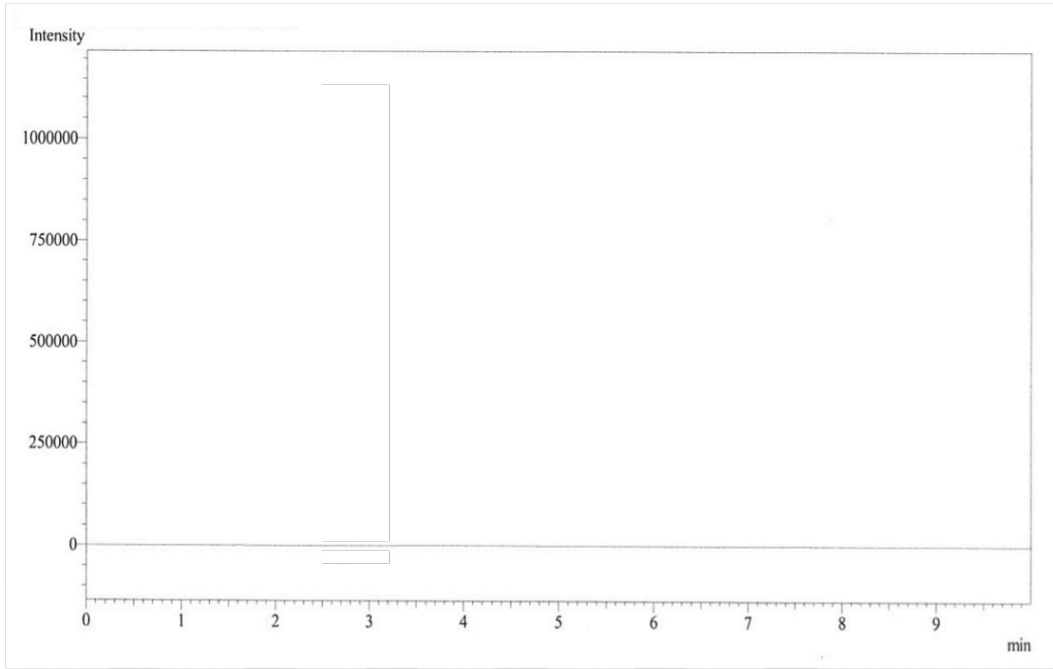


Şekil 4-13: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programında metil alkol, etil alkol ve asetonitril karışımının sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).

Sonuç olarak analiz edilen MeOH, EtOH ve ACN sulu çözeltisine ait piklerde girişim bulunmadığı ve metodun tüm pikler için seçici sonuçlar verdiği tespit edildi (Şekil 4-13).

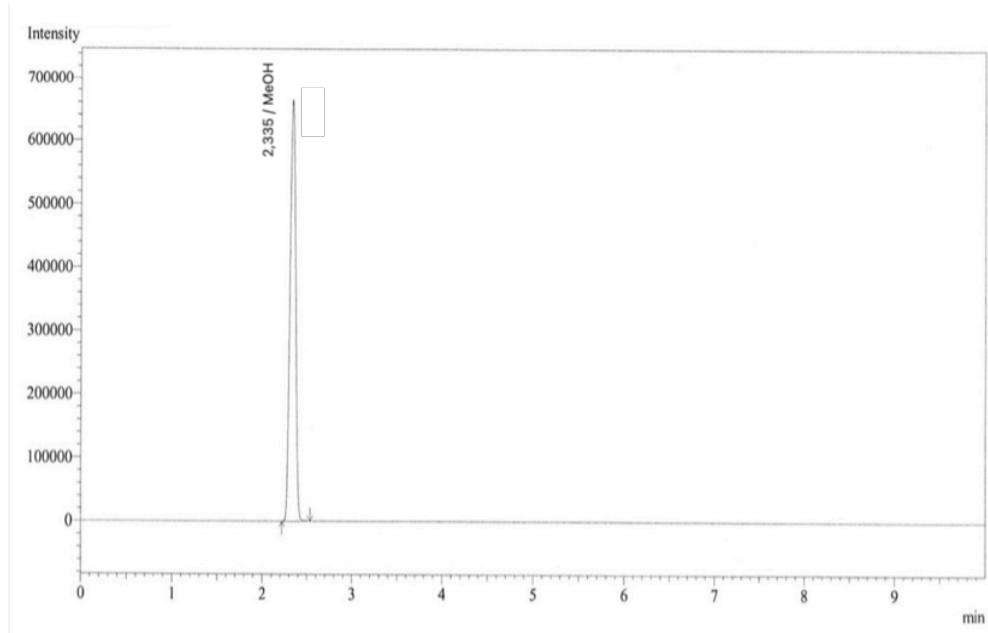
4.2.1.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Seçicilik Çalışması

Seçicilik çalışmaları bölüm 3.6.1.2.'de belirtildiği gibi çözelti matrisi olarak su, EtOH, MeOH ve ACN sulu çözeltileri ayrı ayrı ve tüm bileşenlerin bulunduğu sulu çözelti analiz edildi. Kabul kriteri olarak, numune matrisinde bulunan bileşenler ve ilgilenilen maddeler birbirleri ile girişim yapmamalıdır. Analizlere ait GC kromatogramları Şekil 4-14, Şekil 4-15, Şekil 4-16, Şekil 4-17 ve Şekil 4-18'de gösterilmiştir.



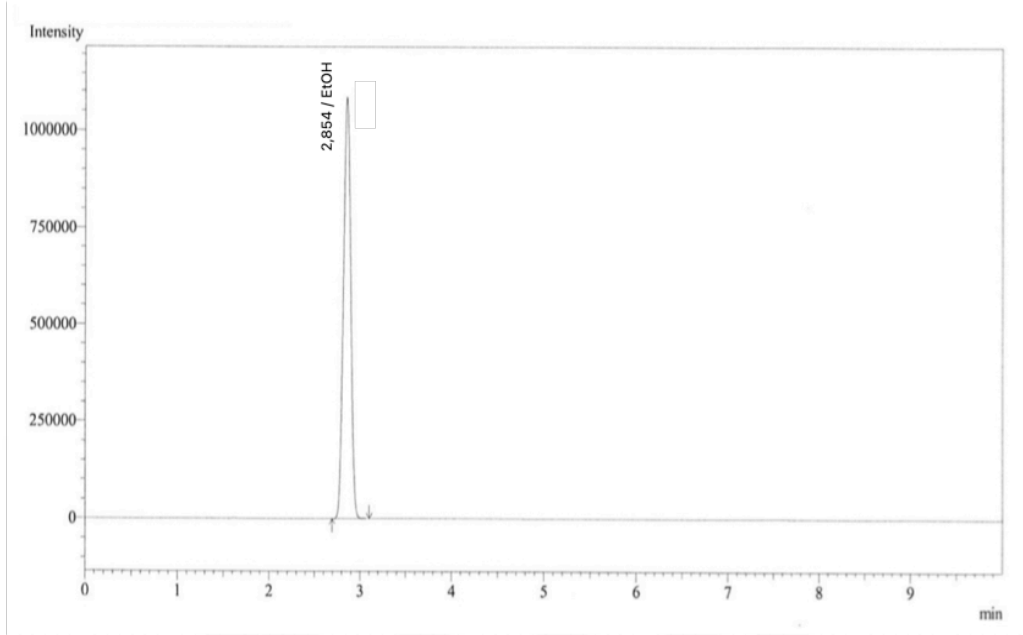
Şekil 4-14: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki çözücüye (su) ait gaz kromatografisi kromatogramı

Çözücü (su) ard arda 6 kere enjekte edildi, safsızlık pikleri ve EtOH, MeOH ve ACN ait piklerin alıkonma zamanlarında pik tespit edilmedi (Şekil 4-14).



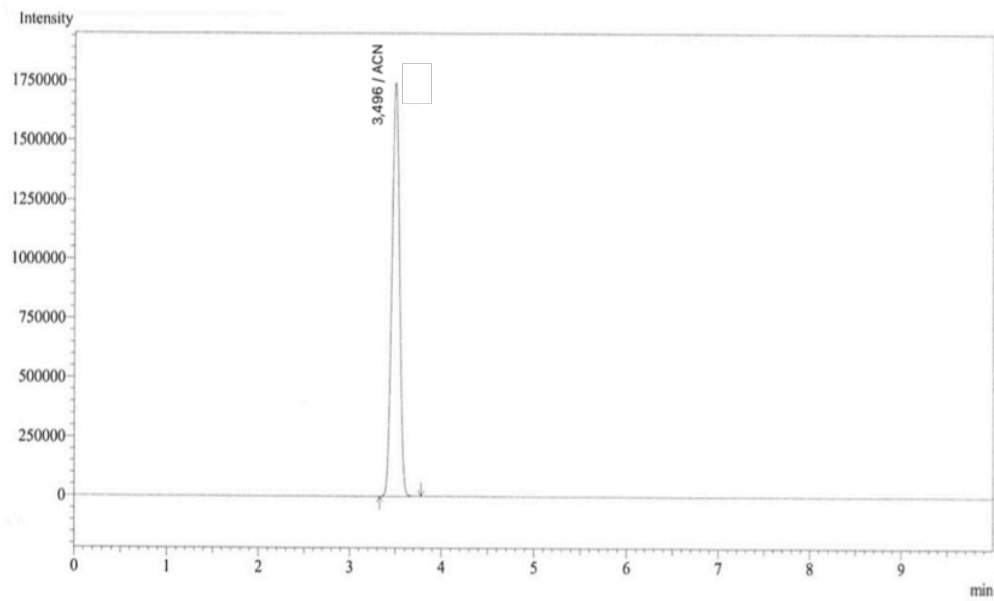
Şekil 4-15: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki metil alkol sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL).

Metil alkol sulu çözeltisi ard arda 6 kere enjekte edildi, safsızlık pikleri, EtOH ve ACN'e ait piklerin alıkonma zamanlarında girişim tespit edilmedi (Şekil 4-15).



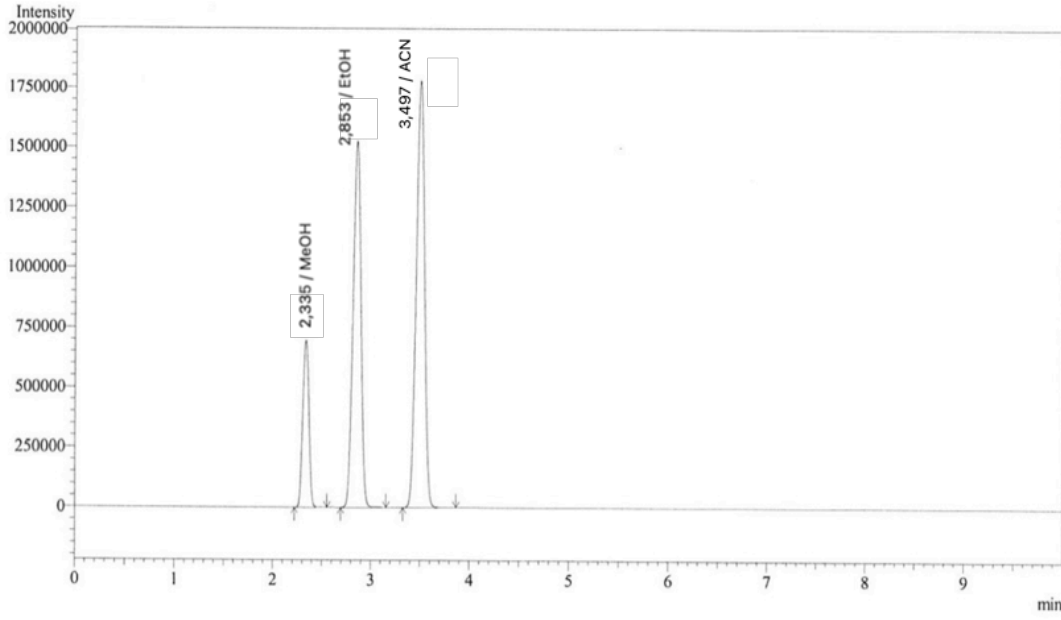
Şekil 4-16: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki etil alkol sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{EtOH} : 0,10 g/dL).

Etil alkol sulu çözeltisi ard arda 6 kere enjekte edildi, safsızlık pikleri, MeOH ve ACN'e ait piklerin alıkonma zamanlarında girişim tespit edilmedi (Şekil 4-16).



Şekil 4-17: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki asetonitril sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{ACN} : 0,10 g/dL).

Asetonitril sulu çözeltisi ard arda 6 kere enjekte edildi, safsızlık pikleri, MeOH ve EtOH'e ait piklerin alıkonma zamanlarında girişim tespit edilmedi (Şekil 4-17).



Şekil 4-18: 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artan fırın sıcaklık programındaki metil alkol, etil alkol, asetonitril sulu karışım çözeltisine ait GC kromatogramı (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL).

Sonuç olarak analiz edilen MeOH, EtOH ve ACN sulu çözeltisine ait piklerde girişim bulunmadığı ve metodun tüm pikler için seçici sonuçlar verdiği tespit edildi (Şekil 4-18).

4.2.2. Doğrusallık, Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı

4.2.2.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Doğrusallık, Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı

Bölüm 3.2.6.1.'de belirtildiği gibi hazırlanan 9 farklı konsantrasyondaki metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımları 6 kere ard arda enjekte edildi. Enjekte edilen sulu çözeltilerin alıkonma zamanları, alanları ve iç standart ile alan oranları Tablo 4-4 ve Tablo 4-5'te gösterilmiştir.

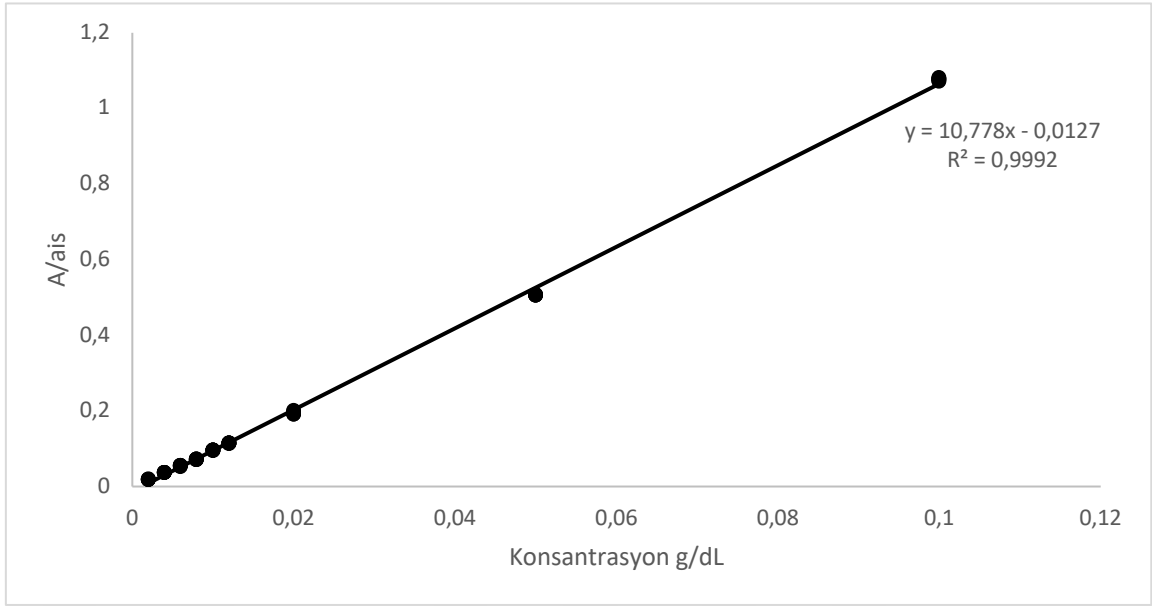
Tablo 4-4: Metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımının alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi analizinden elde edilen alıkonma zamanı, alan ve alan oranı tablosu

Etken Madde Konsantra syonu g/dL	MeOH		EtOH		ACN			
	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan MeOH A _{MeOH}	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan EtOH	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan ACN (A _{is})	A _{MeOH} / A _{is}	A _{EtOH} / A _{is}
0,002	2,98	14015	3,12	13484	3,66	734334	0,019	0,018
	2,99	14637	3,12	14036	3,67	758509	0,019	0,019
	2,98	14234	3,13	13648	3,66	741390	0,019	0,018
	2,98	14483	3,12	14043	3,66	758123	0,019	0,019
	2,98	14457	3,13	14070	3,67	760635	0,019	0,018
	2,99	14288	3,13	13701	3,65	745257	0,019	0,018
0,004	2,99	29698	3,12	28656	3,67	792179	0,037	0,036
	2,98	29910	3,12	28786	3,65	794452	0,038	0,036
	2,99	28190	3,13	27182	3,66	755376	0,037	0,036
	2,98	29410	3,12	28361	3,64	780855	0,038	0,036
	2,99	28819	3,13	27733	3,66	767546	0,038	0,036
	2,98	28698	3,13	28193	3,66	771032	0,037	0,037
0,006	2,99	41634	3,12	40967	3,65	741896	0,056	0,055
	2,99	41197	3,13	40320	3,67	793326	0,052	0,051
	2,99	41230	3,13	40396	3,67	767546	0,054	0,053
	2,98	42535	3,13	41725	3,67	761480	0,056	0,055
	2,99	41405	3,13	40516	3,67	738473	0,056	0,055
	2,99	40531	3,13	41012	3,65	725779	0,056	0,057
0,008	2,99	49249	3,12	49249	3,66	688208	0,072	0,072
	2,99	49501	3,12	49501	3,64	691473	0,072	0,072
	2,99	50094	3,12	50094	3,65	697222	0,072	0,072
	2,99	50953	3,13	50953	3,66	710637	0,072	0,072
	2,98	51598	3,13	51598	3,66	719195	0,072	0,072
	2,98	50131	3,13	49885	3,67	699987	0,072	0,071
0,010	2,98	76996	3,12	75716	3,65	807351	0,095	0,094
	2,98	80230	3,12	78830	3,66	839440	0,096	0,094
	2,99	81126	3,13	80065	3,67	848680	0,096	0,094
	2,98	76659	3,12	75424	3,66	802622	0,096	0,094
	2,98	80728	3,13	79536	3,65	842625	0,096	0,094
	2,98	79855	3,13	77953	3,66	835127	0,096	0,093

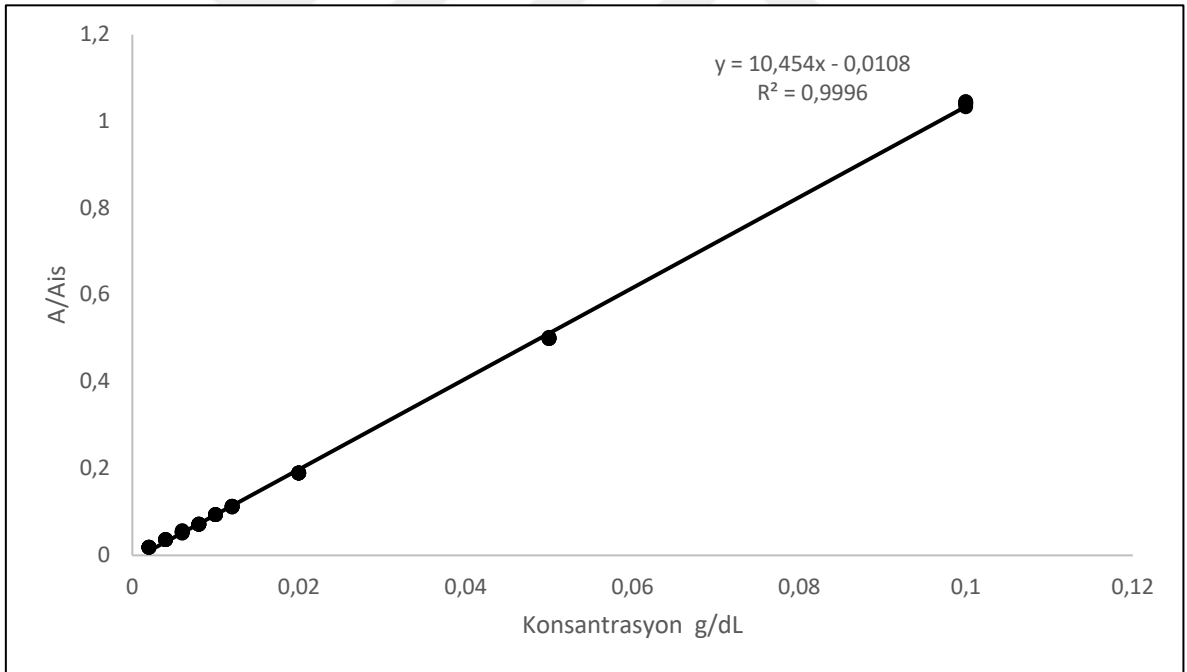
Tablo 4-5: Metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımının alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi analizinden elde edilen alıkonma zamanı, alan ve alan oranı tablosu (Tablo 4-4 devamı)

Etken Madde Konsantra syonu g/dL	MeOH		EtOH		ACN			
	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan MeOH A _{MeOH}	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan EtOH	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan ACN (A _{is})	A _{MeOH} / A _{is}	A _{EtOH} / A _{is}
0,012	2,99	83600	3,12	81960	3,67	725327	0,115	0,113
	2,99	83657	3,13	82259	3,67	730389	0,115	0,113
	2,98	84342	3,13	82897	3,66	736895	0,114	0,112
	2,98	80982	3,12	79247	3,66	704928	0,115	0,112
	2,99	80583	3,13	79034	3,65	701620	0,115	0,113
	2,98	81147	3,13	80189	3,66	715017	0,113	0,112
	2,98	137086	3,12	136086	3,67	719066	0,191	0,189
0,020	2,98	145987	3,12	142778	3,66	752904	0,194	0,190
	2,98	143577	3,13	142119	3,67	749874	0,191	0,190
	2,99	141022	3,13	137125	3,67	723258	0,195	0,190
	2,99	142895	3,12	137007	3,67	723351	0,198	0,189
	2,98	146554	3,12	138569	3,66	730148	0,201	0,190
	2,98	362837	3,12	359009	3,66	717332	0,506	0,500
	2,98	362110	3,13	358151	3,67	714270	0,507	0,501
0,050	2,99	360444	3,13	356637	3,66	712979	0,506	0,500
	2,98	363043	3,12	359360	3,65	718361	0,505	0,500
	2,99	364913	3,13	360609	3,65	718309	0,508	0,502
	2,99	362181	3,12	358148	3,65	716258	0,506	0,500
	2,98	730096	3,12	704351	3,67	680920	1,072	1,034
	2,98	770394	3,13	787860	3,68	718234	1,073	1,097
	2,99	734568	3,13	710053	3,68	679082	1,082	1,046
0,100	2,99	745124	3,12	723528	3,67	692010	1,077	1,046
	2,99	739331	3,13	714464	3,67	686033	1,078	1,041
	2,98	723397	3,13	699513	3,64	671342	1,078	1,042

Tablo 4-4 ve Tablo 4-5'teki A_s/A_{is} verileri ile doğrusallık grafikleri hazırlanmıştır. Elde edilen grafiklere ait görseller Şekil 4-19 ve Şekil 4-20'de verilmiştir.



Şekil 4-19: Metil alkole ait doğrusallık grafiği



Şekil 4-20: Etil alkole ait doğrusallık grafiği

Kalibrasyon grafiklerinden elde edilen veriler ile doğrusallık çalışmasına ait doğru denklemi, eğim, y noktası kesim noktası, korelasyon katsayısı ve korelasyon katsayısı karesi verileri Tablo 4-6'da gösterilmiştir.

Tablo 4-6: Metil alkol ve etil alkolün 9 farklı konsantrasyondaki çözelti karışımlarından elde edilen doğrusallık verileri

Etken Madde	Doğru Denklemi	Eğim S	Y kesim noktası	Korelasyon Katsayısı R	Korelasyon katsayısının karesi R²
MeOH	$y=10,778x-0,0127$	10,778	0,0127	0,99916	0,99917
EtOH	$y=10,454x-0,0108$	10,454	0,0108	0,99957	0,99958

Kalibrasyon grafikleri korelasyon katsayısı 0,998'un üstünde tespit edildi. Yapılan analizler sonucunda dedektör yanıtı ile konsantrasyonlar arasında doğrusal bir ilişki olduğu belirlendi.

Kalibrasyon grafikleri ile hesaplanan etken madde / iç standart pik alanı oranları, standart sapma, eğim, LOD, LOQ ve % RSD değerleri Tablo 4-7'de verilmiştir. 0,01 g/dL konsantrasyonu 6 enjeksiyon yapılarak tekrarlanabilirlik incelenmiş ve % RSD değerleri kabul kriteri olan % 20 nin altında bulundu.

Tablo 4-7: Metil alkol ve etil alkolün 9 farklı konsantrasyondaki çözelti karışımlarının kalibrasyon grafiğinden hesaplanan etken madde / iç standart pik alanı oranları, standart sapma, eğim, LOD, LOQ, % RSD verileri

Etken Madde	Ortalama As/A_{is}	Standart Sapma σ	Eğim S	Teşhis Sınırı g/dL	Tayin Sınırı g/dL	% RSD
MeOH	0,095	0,00164	10,778	0,00050	0,0015	8,59
EtOH	0,094	0,00113	10,454	0,00036	0,0011	6,60

4.2.2.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Doğrusallık, Teşhis Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)

Bölüm 3.2.6.2.'de belirtildiği gibi hazırlanan 9 farklı konsantrasyondaki metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımları 6 kere ard arda enjekte edildi. Enjekte edilen sulu çözeltilerin alikonma zamanları, alanları ve iç standart ile alan oranları Tablo 4-7'de gösterilmektedir.

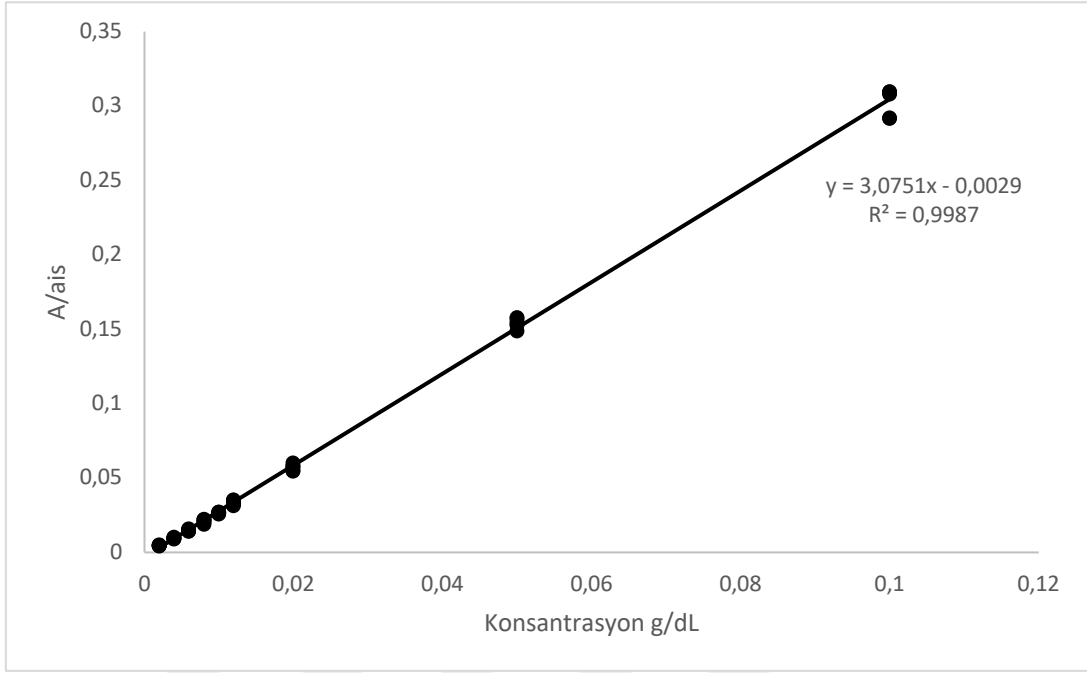
Tablo 4-8: Metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımının headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi analizinden elde edilen alıkonma zamanı, alan ve alan oranı tablosu

Etken Madde Konsantrasyon g/dL	MeOH		EtOH		ACN		A _{EtOH} / A _{MeOH}	
	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan MeOH A _{MeOH}	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan EtOH	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan ACN (A _{is})	A _{is}	A _{is}
0,002	2,34	53693	2,85	137592	3,50	9885006	0,014	0,005
	2,33	45966	2,84	124837	3,49	9884249	0,013	0,005
	2,34	48319	2,86	129828	3,50	10124511	0,013	0,005
	2,35	46712	2,87	126211	3,49	9984131	0,013	0,005
	2,33	45163	2,85	123079	3,51	9963481	0,012	0,005
	2,33	47089	2,84	128068	3,49	10164358	0,013	0,005
	2,33	97761	2,87	270111	3,50	10223067	0,026	0,001
0,004	2,35	105662	2,85	286082	3,49	10426844	0,027	0,001
	2,34	94261	2,84	261297	3,48	9942270	0,026	0,009
	2,34	94652	2,86	263970	3,49	10302847	0,026	0,009
	2,34	103273	2,87	277934	3,51	10047211	0,028	0,010
	2,33	118592	2,83	331207	3,50	12323459	0,027	0,001
	2,34	152149	2,85	422482	3,50	10251844	0,041	0,015
	2,33	147603	2,87	418407	3,51	10196319	0,041	0,014
0,006	2,35	148327	2,88	421810	3,49	10314632	0,041	0,014
	2,35	146189	2,85	399656	3,50	9610654	0,042	0,015
	2,32	167521	2,84	453283	3,49	10402835	0,044	0,016
	2,34	153318	2,86	421569	3,51	9975263	0,042	0,015
	2,34	221091	2,87	628487	3,50	9791575	0,064	0,023
	2,35	200272	2,88	569625	3,49	9891078	0,058	0,020
	2,32	203072	2,87	573142	3,49	9774460	0,059	0,021
0,008	2,32	172147	2,88	468459	3,49	7805675	0,060	0,022
	2,33	201044	2,85	558523	3,51	9209547	0,061	0,022
	2,34	191153	2,84	556828	3,49	10015878	0,056	0,019
	2,32	257567	2,82	723956	3,50	9475313	0,076	0,027
	2,35	262731	2,83	738053	3,50	9634246	0,077	0,027
	2,35	321386	2,85	912024	3,49	11892210	0,077	0,027
	2,35	259052	2,87	738631	3,49	9827396	0,075	0,026
0,010	2,34	256300	2,86	727196	3,50	9516628	0,076	0,027
	2,32	254890	2,85	730540	3,49	9886404	0,074	0,026

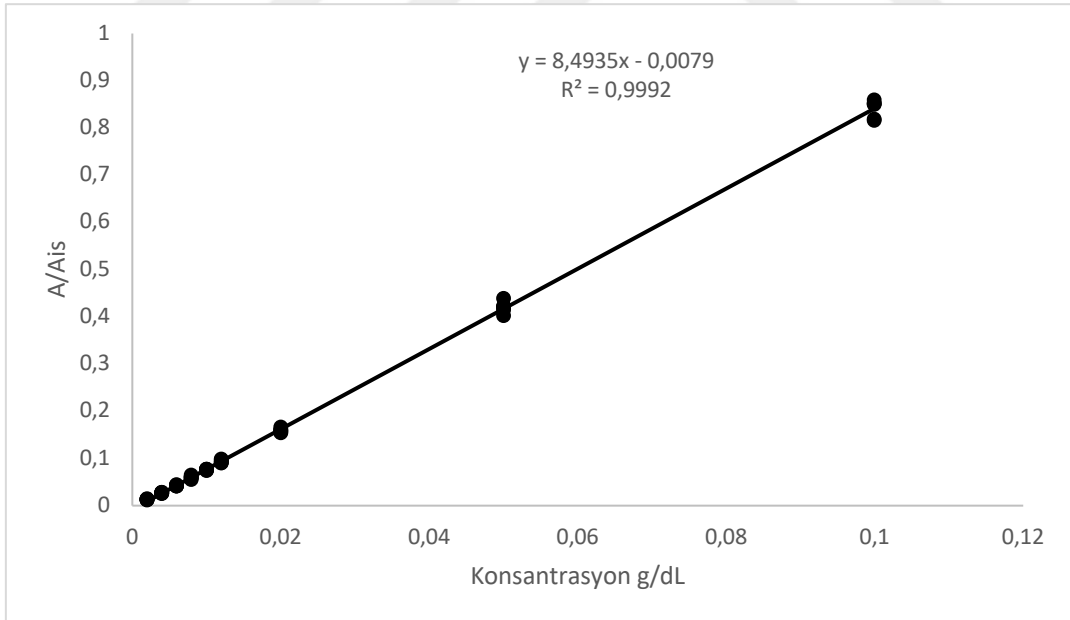
Tablo 4-9: Metil alkol, etil alkol ve asetonitril sulu çözelti karışımının headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi analizinden elde edilen alıkonma zamanı, alan ve alan oranı tablosu (Tablo 4-8 devamı)

Etken Madde Konsant rasyon g/dL	MeOH		EtOH		ACN		A _{EtOH} / A _{is}	A _{MeOH} / A _{is}
	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan MeOH A _{MeOH}	Alıkonma Zamanı (Rt) / dk	Alan EtOH	Alıkon ma Zamanı (Rt) / dk	Alan ACN (A _{is})		
0,012	2,32	319175	2,83	906712	3,51	9747294	0,093	0,033
	2,33	331472	2,83	901877	3,50	9992421	0,090	0,033
	2,34	344393	2,84	975871	3,50	10520142	0,093	0,033
	2,34	348750	2,84	980712	3,49	9914685	0,099	0,035
	2,35	291405	2,84	834807	3,50	9250040	0,090	0,032
	2,35	341405	2,84	937066	3,49	9708853	0,097	0,035
0,020	2,32	540519	2,83	1483841	3,50	8939499	0,166	0,061
	2,32	537860	2,83	1484747	3,50	9234257	0,161	0,058
	2,33	524103	2,85	1477941	3,50	9510094	0,155	0,055
	2,34	578607	2,86	1596013	3,49	9983171	0,160	0,058
	2,34	527920	2,86	1471295	3,48	9299028	0,158	0,057
	2,32	542938	2,83	1528372	3,48	9895451	0,155	0,055
0,050	2,35	1493203	2,83	3933072	3,51	9770085	0,403	0,153
	2,35	1469030	2,85	3997348	3,50	9453669	0,423	0,155
	2,34	1449075	2,84	4023847	3,51	9725088	0,414	0,149
	2,34	1525921	2,83	4452733	3,50	9669928	0,461	0,158
	2,32	1412603	2,82	3915705	3,49	8968414	0,437	0,158
	2,32	1499044	2,83	4074872	3,48	9750589	0,418	0,154
0,100	2,33	3053264	2,85	8550943	3,49	10452297	0,818	0,292
	2,35	3156148	2,85	8700432	3,50	10247958	0,849	0,308
	2,34	3156036	2,85	8750321	3,50	10185451	0,859	0,310
	2,35	2995653	2,84	8385531	3,49	10272415	0,816	0,292
	2,33	3133075	2,85	8615457	3,48	10131391	0,850	0,309
	2,32	3109428	2,85	8575321	3,51	10059218	0,853	0,309

Tablo 4-8 ve Tablo 4-9'deki A_s/A_{is} verileri ile doğrusallık grafikleri hazırlanmıştır. Elde edilen grafiklere ait görseller Şekil 4-21 ve Şekil 4-22'de verilmiştir.



Şekil 4-21: Metil alkole ait doğrusallık grafiği



Şekil 4-22: Etil alkole ait doğrusallık grafiği

Kalibrasyon grafiklerinden elde edilen veriler ile doğrusallık çalışmasına ait doğru denklemi, eğim, y noktası kesim noktası korelasyon katsayısı ve korelasyon katsayısı karesi verileri Tablo 4-10'da gösterilmiştir.

Tablo 4-10: Metil alkol ve etil alkolün 9 farklı konsantrasyondaki çözelti karışımlarından elde edilen doğrusallık verileri

Etken Madde	Doğru Denklemi	Eğim S	Y kesim noktası	Korelasyon Katsayısı R	Korelasyon katsayısının karesi R²
MeOH	$y=3,0751x-0,0029$	3,0751	0,0029	0,99934	0,9987
EtOH	$y=8,4935x-0,0079$	8,4936	0,0079	0,99960	0,9992

Metil alkol ve etil alkol kalibrasyon grafiklerinden elde edilen korelasyon katsayısı 0,998'un üstünde tespit edildi. Analizler sonucunda dedektör yanıtı ile konsantrasyonlar arasında doğrusal bir ilişki olduğu belirlendi.

Kalibrasyon grafikleri ile hesaplanan etken madde/iç standart pik alanı oranları, standart sapma, eğim, LOD, LOQ ve % RSD değerleri Tablo 4-11'de verilmiştir. 0,01 g/dL konsantrasyonu 6 enjeksiyon yapılarak tekrarlanabilirlik incelenmiş ve % RSD değerleri kabul kriteri olan % 20 nin altında bulundu.

Tablo 4-11: Metil alkol ve etil alkolün 9 farklı konsantrasyondaki çözelti karışımlarının kalibrasyon grafiğinden hesaplanan etken madde / iç standart pik alanı oranları, standart sapma, eğim, LOD, LOQ, % RSD verileri

Etken Madde	Ortalama As/Ais	Standart Sapma σ	Eğim S	Teşhis Sınırı LOD g/dL	Tayin Sınırı LOQ g/dL	% RSD
MeOH	0,027	0,0016	3,0751	0,0006	0,0019	0,86
EtOH	0,076	0,0013	8,4935	0,0005	0,0015	0,66

4.2.3. Doğruluk Çalışmaları

4.2.3.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Doğruluk Çalışmaları

Doğruluk çalışması Bölüm 3.6.3.1’de belirtildiği gibi %80, %100 ve %120 seviyelerinde sulu çözeltiler hazırlanıp, her konsantrasyon ard arda kere 6 enjeksiyon yapıldı. Doğruluk çalışmalarına ait veriler Tablo 4-12’de verilmiştir.

Tablo 4-12: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltilerine ait doğruluk çalışması verileri

Seviye	ölçüm sayısı	Teorik Konsantrasyon (g/dL)	MeOH Deneysel Konsantrasyon (g/dL)	MeOH % Geri Kazanım	EtOH Deneysel Konsantrasyon (g/dL)	EtOH % Geri Kazanım
% 80	1	0,0180	0,0177	98,54	0,0177	98,49
	2	0,0180	0,0178	98,93	0,0178	98,82
	3	0,0180	0,0177	98,22	0,0178	98,84
	4	0,0180	0,0177	98,43	0,0178	99,01
	5	0,0180	0,0177	98,41	0,0177	98,16
	6	0,0180	0,0177	98,52	0,0177	98,21
% 100	1	0,0200	0,0198	98,76	0,0198	98,83
	2	0,0200	0,0196	98,20	0,0198	98,77
	3	0,0200	0,0197	98,25	0,0198	98,80
	4	0,0200	0,0197	98,66	0,0196	98,01
	5	0,0200	0,0196	98,05	0,0196	98,08
	6	0,0200	0,0197	98,29	0,0196	98,13
% 120	1	0,0220	0,0216	98,12	0,0216	98,33
	2	0,0220	0,0216	98,37	0,0216	98,15
	3	0,0220	0,0216	98,28	0,0216	98,34
	4	0,0220	0,0217	98,57	0,0216	98,12
	5	0,0220	0,0217	98,49	0,0216	98,29
	6	0,0220	0,0217	98,51	0,0216	98,06
Ortalama				98,41		98,60

Doğruluk çalışmaları sonucunda metil alkol ve etil alkol geri kazanım değerleri kabul kriteri olan % 98 - % 102 arasında bulundu.

4.2.3.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Doğruluk Çalışmaları

Doğruluk çalışması Bölüm 3.6.3.2’de belirtildiği gibi %80, %100 ve %120 seviyelerinde sulu çözeltiler hazırlanıp, her konsantrasyon ard arda 6 kere enjeksiyon yapıldı. Doğruluk çalışmalarına ait veriler Tablo 4-13’de verilmiştir.

Tablo 4-13: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltilerine ait doğruluk çalışması verileri

Seviye	Numune	Etken Madde Teorik Konsantrasyon (g/dL)	MeOH Deneysel Konsantrasyon (g/dL)	MeOH % Geri Kazanım	EtOH Deneysel Konsantrasyon (g/dL)	EtOH % Geri Kazanım
% 80	1	0,0180	0,0183	101,56	0,0183	101,68
	2	0,0180	0,0176	97,73	0,0178	99,04
	3	0,0180	0,0177	98,28	0,0179	99,68
	4	0,0180	0,0180	100,20	0,0180	99,90
	5	0,0180	0,0177	98,34	0,0179	99,19
	6	0,0180	0,0182	101,03	0,0179	99,61
% 100	1	0,0200	0,0204	102,18	0,0202	100,83
	2	0,0200	0,0207	103,64	0,0201	100,73
	3	0,0200	0,0202	101,17	0,0203	101,57
	4	0,0200	0,0203	101,63	0,0204	101,88
	5	0,0200	0,0200	100,08	0,0200	99,86
	6	0,0200	0,0201	100,37	0,0200	99,93
% 120	1	0,0220	0,0220	99,85	0,0219	99,68
	2	0,0220	0,0216	98,22	0,0217	98,85
	3	0,0220	0,0216	98,31	0,0217	98,71
	4	0,0220	0,0217	98,70	0,0218	98,88
	5	0,0220	0,0218	98,90	0,0217	98,83
	6	0,0220	0,0217	98,82	0,0220	99,79
Ortalama				99,94	99,92	

Doğruluk çalışmaları sonucunda metil alkol ve etil alkol geri kazanım değerleri kabul kriteri olan % 98 - % 102 arasında bulundu.

4.2.4. Kesinlik Çalışmaları

4.2.4.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Kesinlik Çalışmaları

Gün içi kesinlik çalışması Bölüm 3.6.4.'te belirtilen 0,002 g/dL, 0,01 g/dL ve 0,1 g/dL konsantrasyonlardaki MeOH ve EtOH karışım çözeltileri ile yapıldı. Her çözelti oda sıcaklığında 24 saat içerisinde ard arda 6 kez enjekte edildi. Gün içi kesinlik çalışmalarına ait veriler Tablo 4-14'te gösterilmektedir.

Tablo 4-14: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltilisinin oda sıcaklığında 24 saat içerisinde yapılan analizlere ait gün içi kesinlik verileri

Etken Madde	Teorik Konsantrasyon g/dL	Ortalama Deneysel Konsantrasyon g/dL	Sapma (SD)	% RSD	n Analiz Sayısı
MeOH	0,002	0,0029	0,0000215	0,74	6
	0,010	0,0101	0,0000434	0,43	6
	0,100	0,1007	0,0003220	0,32	6
EtOH	0,002	0,0028	0,0000182	0,65	6
	0,010	0,0100	0,0000369	0,37	6
	0,100	0,1009	0,0002421	0,24	6

Alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile yapılan gün içi kesinlik çalışmaları sonucunda metil alkol ve etil alkol % RSD değerleri kabul kriteri olan % 2'nin altında tespit edildi.

Günler arası kesinlik çalışması Bölüm 3.6.4.'te belirtilen 0,002 g/dL, 0,01 g/dL ve 0,1 g/dL konsantrasyonlardaki MeOH ve EtOH karışım çözeltileri ile yapıldı. Her çözelti +4 °C sıcaklıkta 48 saat muhafaza edilip ard arda 6 kez enjekte edildi. Günler arası kesinlik çalışmalarına ait veriler Tablo 4-15'te verilmiştir.

Tablo 4-15: Metil alkol ve etil alkol çözeltisinin +4 °C sıcaklıkta 48 saat arayla günler arası kesinlik verileri

Etken Madde	Teorik Konsantrasyon (g/dL)	Ortalama Deneysel Konsantrasyon (g/dL)	Sapma (SD)	% RSD	Analiz Sayısı
MeOH	0,002	0,0025	0,000096	3,82	6
	0,010	0,0097	0,000292	3,01	6
	0,100	0,0953	0,0018012	1,89	6
EtOH	0,002	0,0026	0,0000975	3,75	6
	0,010	0,0097	0,0002143	2,20	6
	0,100	0,0998	0,0017365	1,74	6

Alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile yapılan günler arası kesinlik çalışmaları sonucunda metil alkol ve etil alkol % RSD değerleri kabul kriteri olan % 10'un altında bulundu.

4.2.4.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Kesinlik Çalışmaları

Gün içi kesinlik çalışması Bölüm 3.6.4.'te belirtilen 0,002 g/dL, 0,01 g/dL ve 0,1 g/dL MeOH ve EtOH karışım çözeltileri ile yapıldı. Her çözelti oda sıcaklığında 24 saat içerisinde ard arda 6 enjete edildi. Gün içi kesinlik çalışmalarına ait veriler Tablo 4-16'da gösterilmektedir.

Tablo 4-16: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltisinin oda sıcaklığında 24 saat içerisinde yapılan analizlere ait gün içi kesinlik verileri

Etken Madde	Teorik Konsantrasyon g/dL	Ortalama Deneysel Konsantrasyon g/dL	Sapma (SD)	% RSD	n Analiz Sayısı
MeOH	0,002	0,0028	0,0000176	0,63	6
	0,010	0,0102	0,0000367	0,36	6
	0,100	0,1005	0,0003015	0,30	6
EtOH	0,002	0,0027	0,0000159	0,59	6
	0,010	0,0101	0,0000313	0,31	6
	0,100	0,1006	0,0001811	0,18	6

Headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile yapılan gün içi kesinlik çalışmaları sonucunda metil alkol ve etil alkol % RSD değerleri kabul kriteri olan % 2'nin altında bulundu.

Günler arası kesinlik çalışması Bölüm 3.6.4.'te belirtilen 0,002 g/dL, 0,01 g/dL ve 0,1 g/dL MeOH ve EtOH çözeltileri hazırlandı. Her çözelti +4 °C sıcaklıkta 48 saat muhafaza edilip ard arda 6 kez enjekte edildi. Günler arası kesinlik çalışmalarına ait veriler Tablo 4-17'de gösterilmektedir.

Tablo 4-17: Metil alkol ve etil alkol sulu çözeltisinin +4 °C sıcaklıkta 48 saat arayla günler arası kesinlik verileri

Etken Madde	Teorik Konsantrasyon g/dL	Ortalama Deneysel Konsantrasyon g/dL	Sapma (SD)	% RSD	n Analiz Sayısı
MeOH	0,002	0,0023	0,0000527	2,29	6
	0,010	0,0098	0,0001647	1,67	6
	0,100	0,0962	0,0012792	1,33	6
EtOH	0,002	0,0025	0,0000585	2,34	6
	0,010	0,0100	0,0001753	1,75	6
	0,100	0,0975	0,0014330	1,47	6

Headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile yapılan günler arası kesinlik çalışmaları sonucunda metil alkol ve etil alkol % RSD değerleri kabul kriteri olan % 10'un altında bulundu.

4.2.5. Sağlık Çalışması

4.2.5.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Sağlık Çalışmaları

Sağlık çalışmaları kapsamında 0,1 g/dL konsantrasyonundaki MeOH ve EtOH karışım çözeltileri hazırlandı ve Bölüm 3.6.5.'te belirtilen koşullarda ard arda 6 kez enjeksiyon yapıldı. Sağlık çalışmalarına ait veriler Tablo 4-18'de verilmiştir.

Tablo 4-18: Metil alkol ve etil alkol çözeltilisine ait sağlamlık verileri (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL)

Etken Madde	Analiz Koşulları	Rs	Tf	Alıkonma Zamanı / dk	A_s/A_{is}
MeOH	2,2 µL enjeksiyon hacmi	2,01	1,13	2,98	1,076
	1,8 µL enjeksiyon hacmi	2,02	1,13	2,98	1,072
	255 °C enjektör sıcaklığı	2,02	1,13	2,97	1,075
	245 °C enjektör sıcaklığı	2,00	1,12	2,99	1,074
	255 °C detektör sıcaklığı	2,01	1,13	2,98	1,076
	245 °C detektör sıcaklığı	2,02	1,13	2,97	1,075
EtOH	2,2 µL enjeksiyon hacmi	2,01	1,43	3,13	1,051
	1,8 µL enjeksiyon hacmi	2,02	1,43	3,11	1,050
	255 °C enjektör sıcaklığı	2,02	1,44	3,12	1,052
	245 °C enjektör sıcaklığı	2,00	1,42	3,14	1,051
	255 °C detektör sıcaklığı	2,01	1,42	3,10	1,050
	245 °C detektör sıcaklığı	2,02	1,41	3,12	1,049

Sağlamlık çalışmaları sonucunda elde edilen veriler ile standart veriler karşılaştırıldığında metot verilerinde önemli bir farklılık olmadığı görüldü. Yukarıda belirtilen bütün koşullarda metodun sağlamlığı kanıtlandı.

4.2.5.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Sağlamlık Çalışmaları

Sağlamlık çalışmaları kapsamında 0,1 g/dL konsantrasyonundaki MeOH ve EtOH karışım çözeltileri hazırlandı ve Bölüm 3.6.5.'te belirtilen koşullarda ard arda 6 enjeksiyon yapıldı. Sağlamlık çalışmalarına ait veriler Tablo 4-19'da gösterilmektedir.

Tablo 4-19: Metil alkol ve etil alkol çözeltilisine ait sağlamlık verileri (C_{MeOH} : 0,10 g/dL, C_{EtOH} : 0,10 g/dL, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

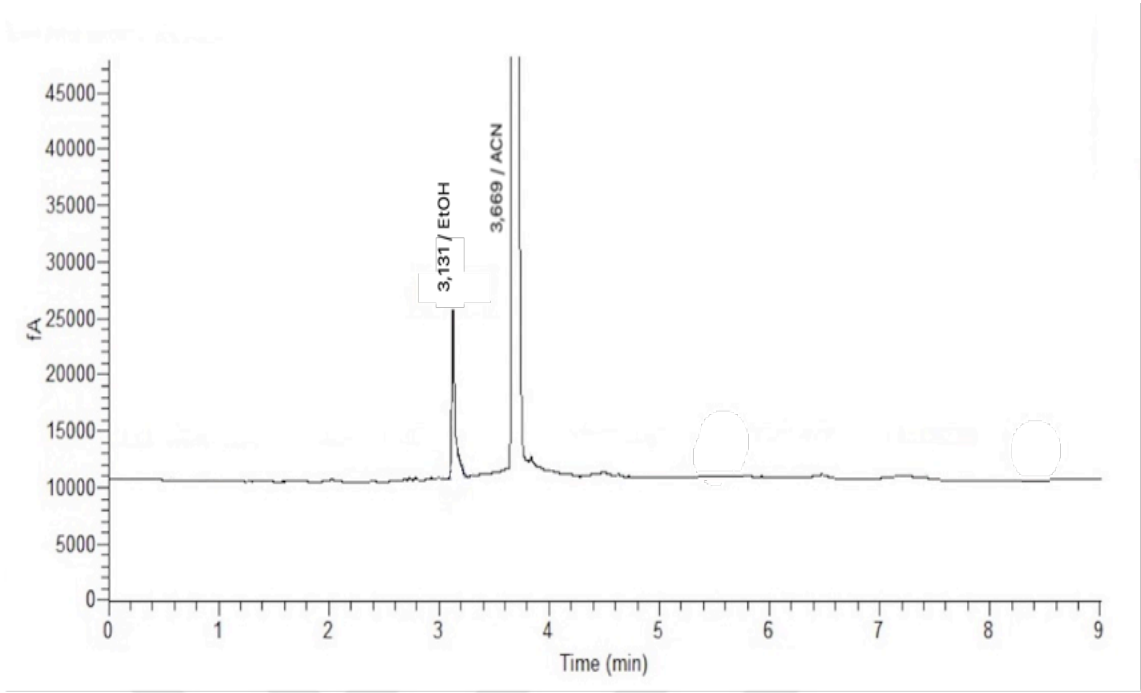
Etken Madde	Analiz Koşulları	Rs	Tf	Alkonma Zamanı / As/Ais dk	
MeOH	2,2 mL enjeksiyon hacmi	2,33	1,24	2,33	0,311
	1,8 mL enjeksiyon hacmi	2,35	1,23	2,34	0,323
	255 °C enjektör sıcaklığı	2,31	1,25	2,31	0,317
	245 °C enjektör sıcaklığı	2,33	1,20	2,31	0,315
	255 °C detektör sıcaklığı	2,32	1,21	2,33	0,311
	245 °C detektör sıcaklığı	2,34	1,22	2,34	0,309
EtOH	2,2 mL enjeksiyon hacmi	2,33	1,36	2,84	0,850
	1,8 mL enjeksiyon hacmi	2,35	1,32	2,84	0,853
	255 °C enjektör sıcaklığı	2,31	1,33	2,82	0,843
	245 °C enjektör sıcaklığı	2,33	1,34	2,85	0,848
	255 °C detektör sıcaklığı	2,32	1,36	2,84	0,851
	245 °C detektör sıcaklığı	2,34	1,38	2,83	0,853

Sağlamlık çalışmaları sonucunda elde edilen veriler ile standart veriler karşılaştırıldığında metot verilerinde önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmedi. Yukarıda belirtilen bütün koşullarda metodun sağlamlığı kanıtlandı.

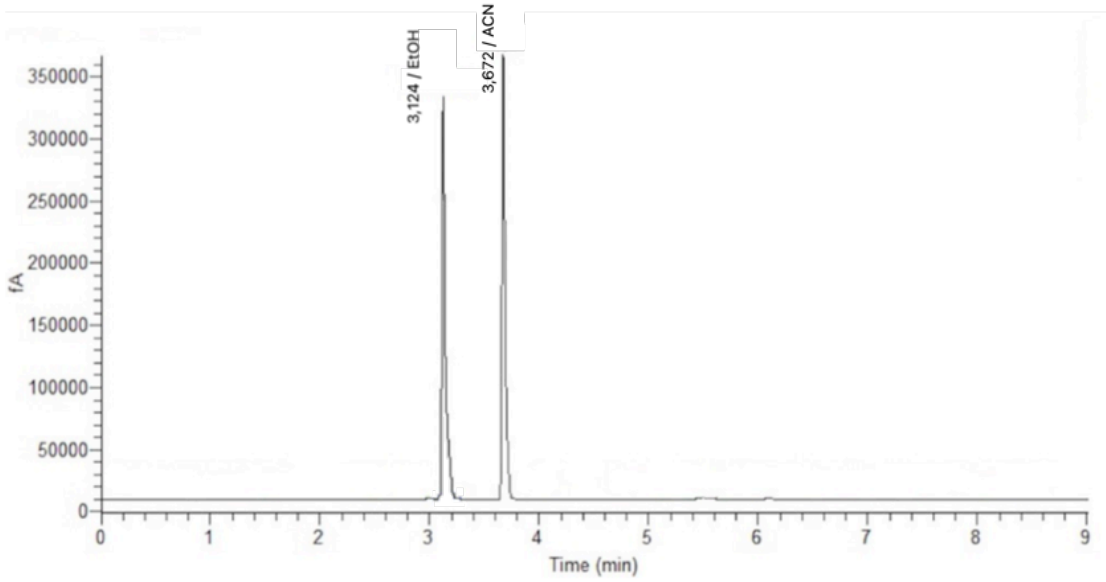
4.3. Numune Analizi

4.3.1. Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Numune Analizi

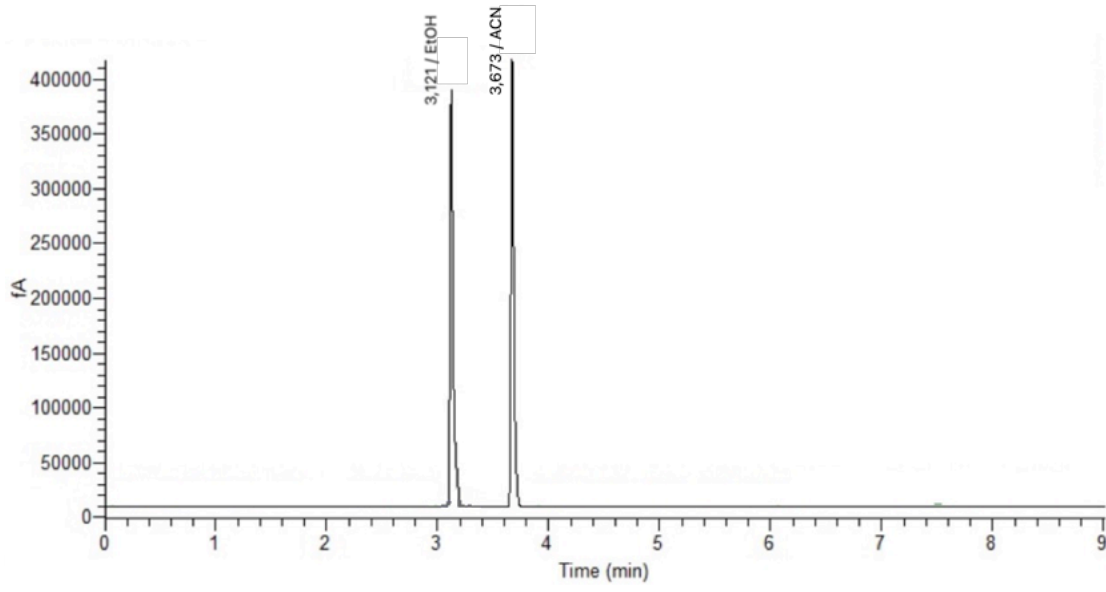
Bölüm 3.7.1.'de belirtildiği gibi hazırlanan numune çözeltilerinin ard arda 6 kere enjeksiyonu yapıldı. PS A-, PS A+ ve PI A+ numunelerine ait GC kromatogramları sırasıyla Şekil 4-23, Şekil 4-24 ve Şekil 4-25'te gösterilmektedir. Ayrıca numune analizine ait veriler Tablo 4-20'de verilmiştir.



Şekil 4-23: *Pelargonium sidodies* kökü alkolsüz sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:10 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)



Şekil 4-24: *Pelargonium sidodies* kökü alkollü sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:100 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)



Şekil 4-25: *Passiflora incarnata* kökü alkollü sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:100 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

Tablo 4-20: Alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile elde edilen numune analizi verileri

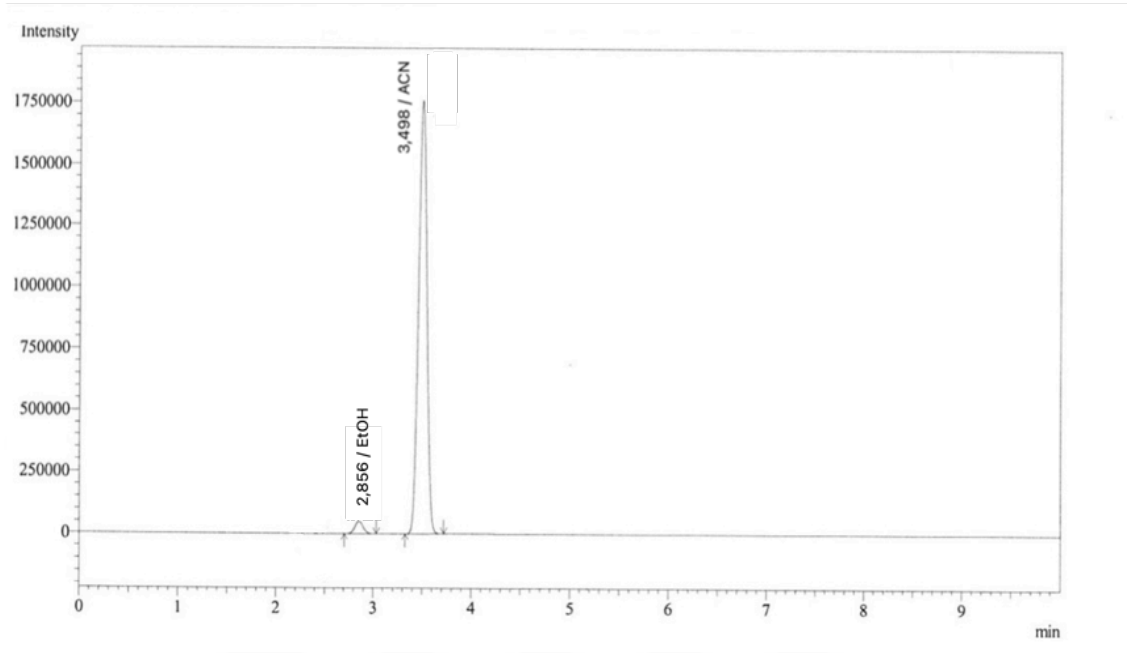
Numune	Metil Alkol Konsantrasyonu g/dL ; %	Etil Alkol Konsantrasyonu g/dL ; %
PS A-	Tespit edilmedi	0,05 ; 0,06
PS A+	Tespit edilmedi	9,65 ; 12,23
PI A+	Tespit edilmedi	10,52 ; 13,33

Alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile yapılan analizler sonucunda PS A- gıda takviyesinde 0,05 g/dL, PS A+ gıda takviyesinde 9,65 g/dL ve PI A+ gıda takviyesinde 10,52 g/dL konsantrasyonda etil alkol bulundu. Tüm numunelerde metil alkol tespit edilmedi.

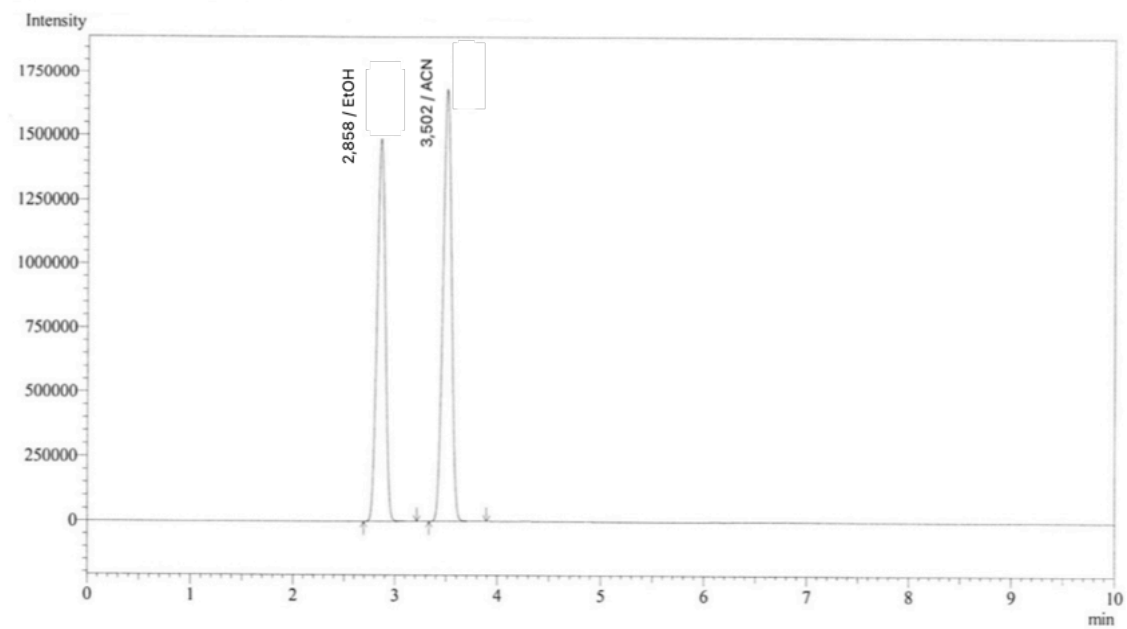
4.3.2. Headspace Alev İyonizasyon Detektörlü Gaz Kromatografisi için Numune Analizi

Bölüm 3.7.2.'de belirtildiği gibi hazırlanan sulu numune çözeltilerinin ard arda 6 kere enjeksiyonu yapıldı. PS A-, PS A+ ve PI A+ numunelerine ait GC kromatogramları

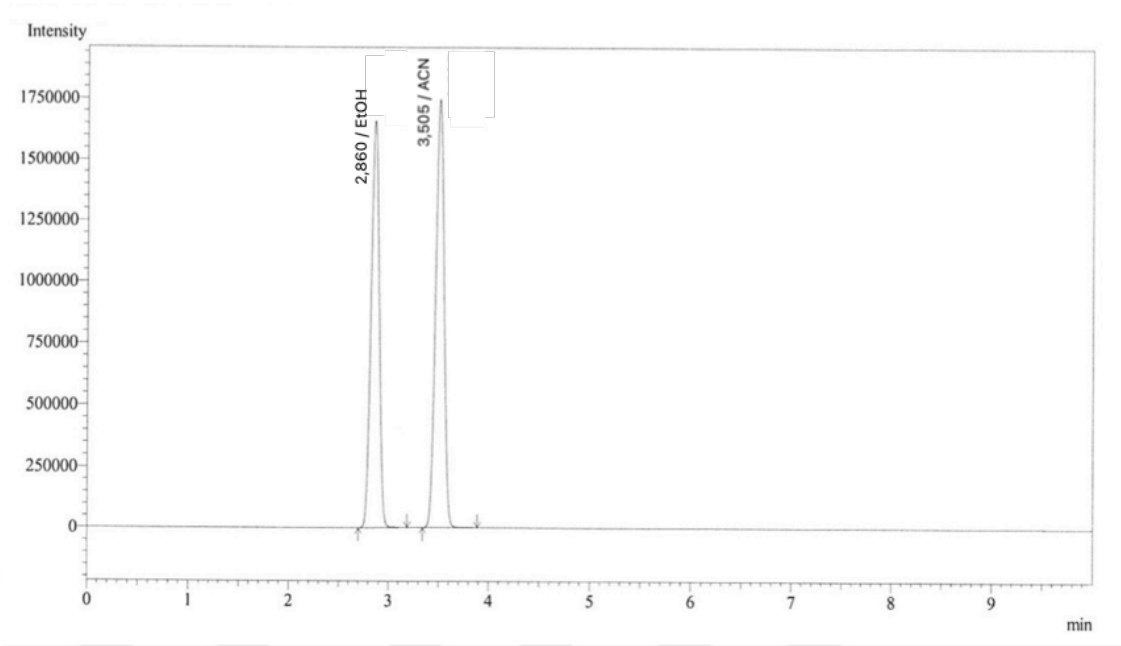
sırasıyla Şekil 4-26, Şekil 4-27 ve Şekil 4-28'de gösterilmektedir. Ayrıca numune analiz çalışmalarına ait veriler Tablo 4-21'de gösterilmektedir.



Şekil 4-26: *Pelargonium sidodies* kökü alkolsüz sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:10 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)



Şekil 4-27: *Pelargonium sidodies* kökü alkollü sıvı sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:100 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)



Şekil 4-28: *Passiflora incarnata* alkollü sıvı ekstresi sulu çözeltisine ait GC kromatogramı (1:100 su ile, C_{ACN} : 0,10 g/dL)

Tablo 4-21: Headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile elde edilen numune analizi verileri

Numune	Metil Alkol Konsantrasyonu g/dL ; %	Etil Alkol Konsantrasyonu g/dL ; %
PS A-	Tespit edilmedi	0,05 ; 0,07
PS A+	Tespit edilmedi	10,16 ; 12,88
PI A+	Tespit edilmedi	10,99 ; 13,93

Headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile yapılan analizler sonucunda PS A- gıda takviyesinde 0,05 g/dL, PS A+ gıda takviyesinde 10,16 g/dL, PI A+ gıda takviyesinde ise 10,99 g/dL konsantrasyonda etil alkol bulundu. Tüm numunelerde metil alkol tespit edilmedi.

5. TARTIŞMA

Gıda takviyeleri, ilaç yerine geçmeyen, hastalık tedavi etmede kullanılmayan, günlük alım dozu belirlenmiş, normal beslenmeyi desteklemek amacıyla kullanılan vitamin, mineral, protein, karbonhidrat, lif, yağ asidi, amino asit ve besin öğelerini içeren ürünlerdir. Yeterli dozlarda tüketilmesi ile sağlıklı yaşama olumlu katkıları olduğu bilinen gıda takviyelerinin tavsiye edilen miktarlardan fazla tüketilmesiyle olumsuz yan etkileri ortaya çıkmaktadır. Bundan dolayı gıda takviye ürünlerini kullanmadan önce kullanım dozajları ile ilgili güvenilir kaynaklardan bilgi alınmalı veya konu ile ilgili bir uzmana danışılmalıdır. Gelir ve eğitim düzeyi yüksek topluluklarda gıda takviyelerinin kullanımı oldukça fazladır. Özellikle COVID-19 pandemi süresince Dünya’da ve ülkemizde gıda takviyelerine olan ilgi fazlasıyla artmıştır. Artan bu ilgi de sektörde tağşiş ve sahte ürünlerin sayısının artmasına neden olmuştur. Tağşiş ve sahte ürünlerin, insanlar tarafından tüketilmemesi için birçok yerli ve yabancı kurum, denetleme ve düzenleme faaliyetlerini gerçekleştirmektedir. Fakat güvenilirlik, halkın gıda takviyeleri hakkında bilinçlendirilmesi ile artmaktadır. Ayrıca sahtecilik faaliyetlerinin engellenmesi için uygunsuz ve merdivenaltı üretimlerinin engellenmeli, usulsüz üretim ve satış yapanlara caydırıcı cezalar uygulanmalıdır.

Gıda takviyelerinin içerdiği etil alkol ve metil alkol içeriği insan sağlığı için oldukça önemlidir. Yiyecek ve içeceklerde kıvamlaştırıcı, çözücü, renk ve koku vermek gibi amaçlarla etil alkol yaygın olarak kullanılmaktadır. Etil alkolün bilinçsizce ve fazla miktarda kullanılması sağlık için tehlikelidir. Kanda etil alkol miktarı % 15’i geçtiğinde alkol zehirlenmesi olmaktadır. Bu sebeple etil alkol kullanılırken çok dikkatli olunmalıdır. Etil alkol içeren gıda takviyelerindeki etil alkol safsızlıkları da önemlidir. Etil alkolün safsızlıklarından olan metil alkolün gıda takviyelerinde bulunması durumunda ürünü tüketen kişide körlük gibi çok ciddi sağlık problemlerine yol açabilmekte ve hatta ölüme sebep olabilmektedir. Gıda takviyelerinde bulunan metil alkol ve etil alkol içeriği İslam inancı bakımından da oldukça önemlidir. % 1’ konsantrasyondan fazla alkol içeren ürünler haram kabul edilmektedir. Bu sebeple Müslümanlar kullandıkları ürünlerin alkol ihtiva etmesini istememektedir.

Gıda takviyelerinde bulunabilecek etil alkol ve metil alkol miktarının belirlenmesi için yeni, güvenilir, hassas ve kolay analiz yöntemlerine ihtiyaç bulunmaktadır. Bu amaçla alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi (GC-FID) ve

headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi (HS GC-FID) ile yöntemler geliştirilmiş ve ICH Q2 standartlarına göre valide edilmiştir (197).

Literatürde yapılan bir çalışmada statik headspace alev iyonizasyon detektörlü gaz kromatografisi ile gıda takviyelerinde bulunabilecek etil alkol içeriği, grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometresi ile metal safsızlıkları belirlenmiştir. Toplam analiz süresi HS GC-FID ile 31 dk ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometresi ile 11 dk'dır. Etil alkol analizi yapılan HS GC-FID yöntemi ile en düşük % 0,01 konsantrasyonunda etil alkol tespit edilmiştir (165). Geliştirdiğimiz GC-FID yöntemi ve HS GC-FID yöntemiyle ise sırasıyla 9 dk ve 19 dk'da analizler tamamlanmış olup diğer yönteme göre yaklaşık 5 kat daha hassas olduğu belirlenmiştir.

Metot geliştirme çalışmaları ilk olarak GC-FID yöntemiyle yapıldı ve öncelikle split koşulları belirlendi. 80°C izotermal sıcaklık splitsiz koşulda yapılan analizde pik ayrılması gerçekleşmedi. Uygun split koşulunun belirlenmesi amacıyla 80 °C izotermal sıcaklık 40:1 split koşulunda yapılan analizde pik ayrılması gerçekleşti.

Metot geliştirme çalışmaları kapsamında izotermal olarak sırasıyla 80 °C'de, 90 °C'de ve 100 °C fırın sıcaklık çalışmaları yapıldı. Yapılan çalışmalar kapsamında etil alkol ve metil alkol Rs değerleri kabul kriterlerinin dışında olduğundan 70 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artacak şekilde fırın sıcaklık programlaması çalışıldı. Etil alkol ve metil alkol Rs değeri kabul kriterlerini karşılamadığı için 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artacak şekilde ve 90 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C şekilde analizler yapıldı. En iyi Rs değeri 80 °C'den 100 °C'ye dakikada 5 °C artacak şekilde yapılan analiz ile bulundu.

Etil alkolün içerdiği metil alkol dışındaki diğer safsızlıkların geliştirilen yöntemde girişim yapıp yapmadığı kontrol edildi. Sonuç olarak geliştirilen ve valide edilen her iki yöntem de seçici olup etil alkolün metil alkol dışında içerdiği diğer safsızlıklarla girişim yapmamaktadır.

Bu tez çalışmasında geliştirilen HS GC-FID ve GC-FID yöntemlerinin analiz süreleri karşılaştırıldığında GC-FID yönteminde bu sürenin 9 dk olduğu HS GC-FID yönteminde ise 10 dk vial çalkalama süresi sebebiyle 19 dk olduğu saptanmıştır. GC-FID yöntemi 10 dk daha kısa bir sürede analiz yapılmıştır.

Enerji harcama bakımından iki yöntem kıyaslandığında headspace sistemlerinde viallerin ısıtılması prosesinde enerji harcanması daha fazla olduğundan GC-FID yöntemi HS GC-FID yönteminden daha avantajlıdır.

Metil alkol ve etil alkol piklerinin ayrılmalarında Rs değeri GC-FID yönteminde ortalama 2,12 olarak, pik kuyruklanmasında Tf değerleri ise metil alkol için ortalama 1,06 ve etil alkol için ortalama 1,11 olarak hesaplandı. HS GC-FID yöntemi ile de yapılan çalışmalar sonucunda metil alkol ve etil alkol Rs değeri ortalama 2,81 ve Tf değerleri ise sırasıyla ortalama 1,07 ve 1,22 olarak hesaplandı. Piklerin ayrılması bakımından HS GC-FID yöntemi GC-FID yöntemine göre daha avantajlı iken pik kuyruklanması bakımından GC-FID yöntemi HS GC-FID'ye göre daha avantajlıdır.

Geliştirilen her iki yöntemin doğrusallık değerleri standartlar içerisinde olup GC-FID yönteminde korelasyon katsayısı metil alkol için 0,9992 ve etil alkol için 0,9996 olarak hesaplanmıştır. HS GC-FID yönteminde doğrusallık çalışmaları sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda korelasyon katsayıları sırasıyla metil alkol için 0,9989 ve etil alkol için 0,9992 olarak bulunmuştur. GC-FID yöntemi ile metil alkol için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,00050 g/dL ve 0,0015 g/dL; etil alkol için ise 0,00036 g/dL ve 0,0011 g/dL olarak hesaplanmıştır. HS GC-FID yöntemi ile metil alkolün LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,0006 g/dL ve 0,0019 g/dL; etil alkolün ise 0,0005 g/dL ve 0,0015 g/dL olarak hesaplanmıştır. LOD ve LOQ değerleri incelendiğinde gıda takviyelerinde etil alkol ve metil alkol analizleri için GC-FID yönteminin daha düşük konsantrasyonları tespit edebildiği belirlenmiştir. Fakat her iki yöntemin tekrarlanabilirlik çalışmaları incelendiğinde % RSD değeri GC-FID için 7,60 iken HS GC-FID için 0,76 olarak bulundu. Tekrarlanabilirlik bakımından HS GC-FID yöntemi diğer yöntemlere göre daha avantajlıdır.

Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik çalışmaları bakımından iki yöntem kıyaslandığında GC-FID yönteminde, gün içi tekrarlanabilirlikte % RSD değeri % 0,46 ve günler arası tekrarlanabilirlikte % RSD değeri % 2,74 olarak bulunmuştur. HS GC-FID yöntemi ile gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik çalışmaları kapsamında gün içi için % RSD değeri % 0,40, günler arası için ise % RSD değeri % 1,81 olarak bulunmuştur. Elde edilen veriler doğrultusunda headspace yönteminin tekrarlanabilirlik bakımından avantajlı olduğu belirlenmiştir.

Geliştirilen ve valide edilen GC-FID ve HS GC-FID yöntemleri; etiketinde alkol içerir ibaresi bulunan fakat alkol yüzdesi verilmeyen iki farklı ticari sıvı gıda takviyesi numunesi ve etiketinde alkol içermez ibaresi bulunan bir adet ticari gıda takviyesi numunesine uygulandı. GC-FID yöntemi ile etiketinde alkol içerir ibaresi bulunan gıda takviyelerinde etil alkol 12,23 g/dL ve 13,33 g/dL konsantrasyonda, alkol içermez ibaresi bulunan gıda takviyesinde ise 0,06 g/dL konsantrasyonda bulunmuştur. HS GC-FID ile yapılan analizlerde ise alkol içerir ibaresi bulunan gıda takviyelerinde etil alkol 12,88 g/dL ve 13,93 g/dL konsantrasyonlarda, alkol içermez ibaresi bulunan gıda takviyesinde ise 0,07 g/dL olarak bulunmuştur. Her iki yöntemle numunelerde metil alkol tespit edilmemiştir.

Her iki yöntem kıyaslandığında headspace yönteminin numune hazırlama kolaylığı, analiz hassasiyeti, tekrarlanabilirliği, kesinliği ve pik ayrılması bakımından GC-FID yöntemine karşı avantajları olmakla birlikte, analiz süresi uzunluğu ve fazla enerji harcaması bakımından da dezavantajları bulunmaktadır. Geliştirilen her iki yöntemin de gıda takviyelerinde etil alkol ve metil alkol analizleri için yeni, güvenilir, hızlı ve hassas olduğu saptanmıştır. Geliştirilen ve valide edilen GC-FID ve HS GC-FID yöntemleri gıda takviyelerinde etil alkol ve metil alkol tayininde kullanılmak üzere bilim dünyasına sunulmuştur.

KAYNAKLAR

- 1- Şahin, P. D. ve Başoğlu, P. D. (2014). Gıda mikrobiyolojisi. Bursa: Dora Basım Yayın Dağıtım.
- 2- Yalçın, A. (2000). Baharat dünyası. A. Yalçın (Ed.). Baharat Tarihi. (1. Baskı, s.23) içinde. İstanbul: Geçit Kitabevi.
- 3- Kanak, E., Öztürk S. N., Özdemir, Y., Asan, K., Yılmaz, S. (2021). Gıda takviyeleri kullanım alışkanlıklarının değerlendirilmesi, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 10(1), 168-177.
- 4- Petroczi, A., Taylor, G., D. P. Naughton. (2011), Mission impossible? Regulatory and enforcement issues to ensure safety of dietary supplements, Food and Chemical Toxicology, 49, 393-402.
- 5- Atalay, D., Erge, H. S. (2018). Dietary supplements and their effects on health', Food and Health, 98–111. doi:10.3153/fh18010.
- 6- Tek, N. A., Pekcan, G. (2008). Besin destekleri kullanılmalı mı? Ankara: Sağlık Bakanlığı. Available at: <http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/t65.pdf>.
- 7- Özcan, V. (2011). Bitkisel gıda takviyeleri alanına ilişkin bir durum değerlendirmesi: Sorunlar ve çözüm önerileri, Türkiye Eczacılar Birliği Haberler, Temmuz-Ağustos, 16-22.
- 8- Féart, C. (2020). 'Dietary supplements: Which place between food and drugs?', Nutrients, 12(1),204. doi:10.3390/nu12010204.
- 9- Khattak, J. Z. K., Mir, A., Anwar, Z., Wahedi, H. M., Abbas, G., Khattak, H. Z. K.. (2011). Concept of halal food and biotechnology. Advance Journal of Food Science and Technology, 3,385-389.
- 10- Pannu, N., Bhatnagar, A., (2019). Resveratrol: from enhanced biosynthesis and bioavailability to multitargeting chronic diseases. Biomed. Pharmacother., 109, 2237-2251.
- 11- Anonim. Geleneksel bitkisel ürün. Yönetmeliği, Sayı: 23455. Erişim Tarihi: 11.01.2022.
- 12- Anonim (2013). Takviye edici Gıdaların ithalatı, üretimi, işlenmesi ve piyasaya arzına ilişkin yönetmelik, Resmi Gazete Tarihi: 02.05.2013, Sayısı:28635
- 13- Mason P. (2007). Dietary Supplements. Third Edition. Pharmaceutical Press.
- 14- Dietz, B., Bolton, J. L. (2007). Botanical dietary supplements gone bad. Chem. Res. Toxicol, 20: 586-590.

- 15- Garcia-Rico, L., Leyva-Perez, J., Jara-Marini, M. E. (2007). Content and daily intake of copper, zinc, lead, cadmium, and mercury from dietary supplements in Mexico. *Food and Chemical Toxicology*, 45:1599–1605.
- 16- FDA, FDA: 101, Center for food safety and applied nutrition, office of nutrition, labeling, and dietary supplements. dietary supplements food & beverages, (June. 2, 2022).
- 17- Piekara, A., Krzywonos, M., Kopacz, M. (2021). Dietary supplements intended for children-proposed classification of products available on the market. *Journal of Dietary Supplements*, 1-12, doi: 10.1080/19390211.2021.1887425
- 18- Anonim (2013). Türk Gıda Kodeksi Takviye Edici Gıdalar Tebliği. Ağustos 2013 (Tebliğ No: 2013/49), Resmi Gazete Tarihi: 16.08.2013, Sayısı: 28737.
- 19- Saldamlı İ. (2017). Gıda kimyası. hacettepe üniversitesi yayınları, 682s, Ankara.
- 20- Temple N. J (2010). The marketing of dietary supplements in North America: the emperor is (almost) naked. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 16(7): 803-806.
- 21- Ertugay Z, Elgün A, Gökalp H, Kurt A (1994). Gıda bilimi ve teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Yayınları No:301, 49-61.
- 22- Demirci M (2012). Gıda kimyası. 290s, Tekirdağ.
- 23- Megep (2006). Gıda Teknolojisi Vitamin ve Mineraller. MEB, 89s, Ankara.
- 24- Schwieter, U. and Isler. O. (1967). Vitamins A, carotene. II. Chemistry, in *The Vitamins. Chemistry, Physiology, Pathology, Methods*, Sebrell.
- 25- Penniston KL., Tanumihardjo SA. (2006). The acute and chronic toxic effects of vitamin A, *Am J Clin Nutr.* 83:191-201. [Internet] Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/83/2/191/4649798>
- 26- Işıklar H., Yılmaz HÖ. (2020). A vitamini eksikliği hastalıkları ve önlenmesinde beslenme yaklaşımları, *Türkiye Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi.* 3(1):45–53.
- 27- Lukaski HC., (2004). Vitamin and mineral status: Effects on physical performance., *Nutrition.* 20:632–644.
- 28- Vatanssev H. (2013). Vitamin ve mineral takviyeleri. Uluslararası 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi ‘Sağlıklı ve Helal Gıda Seçimi’ Bildirileri, 296-311, Konya.
- 29- Bıngöl G., Vitaminler ve enzimler, Ankara, 1977. 8–38p.

- 30- T.C. Sağlık Bakanlığı (2015), Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Sağlıklı Beslenme ve Hareketli Hayat Dairesi Başkanlığı. Türkiye Beslenme Rehberi Ankara.
- 31- de Oliveira MR. (2015) The neurotoxic effects of vitamin A and retinoids. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 87(2): 1361–1373.
- 32- Akpınar P, İçağasıoğlu A. (2012). D Vitamininin yaşam kalitesi ile ilişkisi. *Türk Osteoporoz Dergisi*,18:13-18.
- 33- Ross AC., Taylor CL., Yaktine AL., dell Valle HB. (2011). Dietary reference intakes: Calcium, vitamin D, National Academies Press. 345-362.
- 34- Khachik, F., Beecher, G.R., and Whittaker, N.F. (1986). Separation, identification, and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography, *J. Agric. Food Chem.*, 34, 603-616.
- 35- Yavuz D., Mete T., Yavuz R., Altunoğlu A. (2014). D Vitamini, kalsiyum & mineral metabolizması, D vitaminin iskelet dışı etkileri ve kronik böbrek yetmezliğinde nütrisyonel D vitamini kullanımı. *Ankara Medical Journal*. 14(4),162-171.
- 36- Can, P. D. A., Akev, P. D. N. (2016) ‘Bölüm 13 vitaminler’in eczacılık fakültesi öğrencileri için biokimya dersleri. 2. Baskı. İstanbul Üniversitesi Yayınları, 345–375.
- 37- AOAC official method 992.03. Vitamin E activity (all-rac-a-tocopherol) in milk-based infant formula, Liquid chromatographic method, Final action 1996, in *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17th ed., Phifer, E., Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, 2000, pp. 50-4.
- 38- Albidi, S.L. (2003) Tocol-derived minor constituents in selected plant seed oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 80, 327-333.
- 39- Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. (1997). Dietary reference intakes. Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride.
- 40- Gürdöl F, Ademoğlu E (2006). *Biyokimya*. İstanbul, 880s, Türkiye.
- 41- Burton, G.W., Traber, M.G., Acuff, R.V., Walters, D.N., Kayden, H., Huges, L., and Ingold, K.U. (1988) Human plasma and tissue a-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E, *Am. J. Clin. Nutr.*, 67, 669-684.

- 42- National Research Council, Recommended dietary allowances, 10th ed., National Academy of Sciences, Washington, DC, 1989, p. 78.
- 43- Schneiderman, M.A., Sharma, A.K. (1988) Mahanama, K.R.R., and Locke, D.C., Determination of vitamin K1 in powdered infant formulas, using supercritical fluid extraction and liquid chromatography with electrochemical detection, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71, 815-817.
- 44- Booth, S.L., Sadowski, J.A., Pennington, J.A.T. (1995) Phylloquinone (vitamin K1) content of foods in the U.S. Food and Drug Administration's Total Diet study, *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1574-1579.
- 45- Booth, S.L., Davidson, K.W., Sadowski, J.A. (1994). Evaluation of an HPLC method for the determination of phylloquinone (vitamin K1) in various food matrices, *J. Agric. Food Chem.*, 42, 295-300.
- 46- Pennington, J.A.T. (1992). Total diet studies: the identification of core foods in the United States food supply, *Food Addit. Contam.*, 9, 253-264.
- 47- Bolton-Smith, C., Price, R.J.G., Fenton, S.T., Harrington, D.J., Shearer, M.J. (2000). Compilation of a provisional UK database for the phylloquinone (vitamin K1) content of foods, *Br. J. Nutr.*, 83, 389-399.
- 48- Booth, S.L., Pennington, J.A.T., Sadowski, J.A. (1996). Food sources and dietary intakes of vitamin K-1 (phylloquinone) in the American diet: data from the FDA Total Diet Study, *J. Am. Dietetic Assoc.*, 96, 149-154.
- 49- Ferland, G. Sadowski, J.A. (1992). Vitamin K1 (phylloquinone) content of green vegetables: effects of plant maturation and geographical growth location, *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1874-1877.
- 50- Woollard, D.C., Indyk, H.E., Fong, B.Y., Cook, K.K. (2002). Determination of vitamin K1 isomers in foods by liquid chromatography with C30 bondedphase column, *J. AOAC Int.*, 85, 682-691.
- 51- Seiffert, B., Swaczyna, H., Schaefer, I. (1992). Simultaneous determination of L-ascorbic acid and D-isoascorbic acid by HPLC in wine and beer, *Deutsche Lebensm.-Rundschau*, 8, 38, 517-560.
- 52- Hornig, D. Weiser, H. (1976). Interaction of erythorbic acid with ascorbic acid catabolism, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 46, 40-47.
- 53- Pelletier, O. Godin, C., (1969). Vitamin C activity of D-isoascorbic acid for the guinea pig, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 47, 985-991.

- 54- Tannenbaum, S.R., Young, V.R., Archer, M.C. (1985). Vitamins and minerals, in *Food Chemistry*, Fennema, O.R., Ed., 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, p. 7.
- 55- De Ritter, E. (1982). Effect of processing on nutrient content of food: vitamins, in *Handbook of Nutritive Value of Processed Food*, Vol. 1, Food for Human Use, Rechcigl, M., Jr., Ed., CRC Press, Inc., Boca Raton, p. 473-480.
- 56- Sorrell, M.F., Frank, O., Thomson, A.D., Aquino, H., Baker, H. (1971) Absorption of vitamins from the large intestine in vivo, *Nutr. Rep. Int.*, 3, 143-148.
- 57- Ball, G.F.M. (2009). *Vitamins: Their role in the human body*, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, p. 273.
- 58- Laforenza, U., Patrini, C., Alvisi, C., Faelli, A., Licandro, A., Rindi, G. (1997). Thiamine uptake in human intestinal biopsy specimens, including observations from a patient with acute thiamine deficiency, *Am. J. Clin. Nutr.*, 66, 320-326.
- 59- Ricci, V. Rindi, G. (1992). Thiamin uptake by rat isolated enterocytes: relationship between transport and phosphorylation, *Arch. Int. Physiol. Biochim. Biophys.*, 100, 275-279.
- 60- Rindi, G. (1984). Thiamin absorption by small intestine. *Acta Vitaminol. Enzymol.*, 6, 47-55.
- 61- Laforenza, U., Orsenigo, M.N., Rindi, G. (1988). A thiamine/H_p antiport mechanism for thiamine entry into brush border membrane vesicles from rat small intestine, *J. Membrane Biol.*, 161(2):151-161.
- 62- Laforenza, U., Gastaldi, G., Rindi, G. (1993). Thiamine outflow from the enterocyte: a study using basolateral membrane vesicles from rat small intestine, *J. Physiol.*, 468, 401-412.
- 63- Food Standards Agency. (2002). McCance and Widdowson's *The Composition of Foods*, 6th summary ed., Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- 64- Leenheer, A.P., Lambert, W.E., Nelis, H.J., Eds. (1992). *Vitamin B1: thiamine, in modern chromatographic analysis of vitamins*. 2nd ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 319-324.
- 65- Nicolas, E.C. Pfender, K.A. (1990). Fast and simple liquid chromatographic determination of nonphosphorylated thiamine in infant formula, milk, and other foods, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73, 792-798.

- 66- Andrews, J.S. Nordgren, R. (1941). The application of the thiochrome method to the thiamin analysis of cereals and cereal products, *Cereal Chem.*, 18, 686-695.
- 67- Hoffer, A., Alcock, A.W., Geddes, W.F. (1943). A rapid method for the determination of thiamine in wheat and flour, *Cereal Chem.*, 20, 717-728.
- 68- Food Standards Agency, (2002). McCance and Widdowson's the composition of foods, 6th summary ed., Royal Society of Chemistry, Cambridge, 81-83.
- 69- Cooperman, J.M., Lopez, R. (1991). Riboflavin, in handbook of vitamins, machlin, L.J., Ed., 2nd ed., Marcel Dekker, Inc., New York, p. 283.
- 70- Kanno, C., Shirahuji, K., Hoshi, T. (1993). Simple method for separate determination of three flavins in bovine milk by high performance liquid chromatography, *J. Food Sci.*, 56, 678-681.
- 71- Kanno, C., Kanehara, N., Shirafuji, K., Tanji, R., Imai, T. (1991). Binding form of vitamin B2 in bovine milk: its concentration, distribution and binding linkage, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 37, 15-27.
- 72- Merrill, A.H., Jr., Lambeth, J.D., Edmondson, D.E., McCormick, D.B. (1981). Formation and mode of action of flavoproteins, *Annu. Rev. Nutr.*, 1, 281-317.
- 73- Fanelli, A.J., Burlew, J.V., and Gabriel, M.K. (1985) Protection of milk packaged in high density polyethylene against photodegradation by fluorescent light, *J. Food Protection*, 48, 112-117.
- 74- McCormick, D.B., (1994). Riboflavin, in modern nutrition in health and disease. Eds. Lea and Febiger, Philadelphia, 8(1) 366-378.
- 75- Guilbert, C.C., Johnson, S.L. (1977). Investigation of the open ring form of nicotinamide adenine dinucleotide, *Biochemistry*, 16, 335-344.
- 76- Chaykin, S. (1967). Nicotinamide coenzymes, *Annu. Rev. Biochem.*, 36, 149-170.
- 77- Ghosh, H.P., Sarkar, P.K., Guha, B.C., (1963). Distribution of the bound form of nicotinic acid in natural materials, *J. Nutr.*, 79, 451-453.
- 78- Wall, J.S. Carpenter, K.J., (1988). Variation in availability of niacin in grain products, *Food Technol.*, 42 (10), 198-204.
- 79- Kodicek, E. Wilson, P.W. (1960). The isolation of niacytin, the bound form of nicotinic acid, *Biochem. J.*, 76, 509-513.
- 80- Das, M.L. Guha, B.C. (1960). Isolation and chemical characterization of bound niacin (niacinogen) in cereal grains, *J. Biol. Chem.*, 235 (10), 2971-2976.

- 81- Mason, J.B., Gibson, N., Kodicek, E. (1973). The chemical nature of the bound nicotinic acid of wheat bran: studies of nicotinic acid-containing macromolecules, *Br. J. Nutr.*, 30, 297-311.
- 82- Mason, J.B. Kodicek, E. (1973). The chemical nature of the bound nicotinic acid of wheat bran: studies of partial hydrolysis of products, *Cereal Chem.*, 50, 637-643.
- 83- Kodicek, E., Braude, R., Kon, S.K., Mitchell, K.G. (1959). The availability to pigs of nicotinic acid in tortilla baked from maize treated with lime-water, *Br. J. Nutr.*, 13, 363-384.
- 84- Wall, J.S., Young, M.R., Carpenter, K.J. (1987). Transformation of niacin-containing compounds in corn during grain development: relationship to niacin nutritional availability, *J. Agric. Food Chem.*, 35, 752-758.
- 85- Carpenter, K.J., Schelstraete, M., Vilicich, V.C., Wall, J.S. (1988). Immature corn as a source of niacin for rats, *J. Nutr.*, 118, 165-169.
- 86- Carter, E.G.A. Carpenter, K.J. (1982). The available niacin values of foods for rats and their relation to analytical values, *J. Nutr.*, 112, 2091-2103.
- 87- Roth-Maier, D.A., Wauer, A., Stangl, G.I., Kirchgessner, M. (2000). Precaecal digestibility of niacin and pantothenic acid from different foods, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 70, 8: 473-489.
- 88- Hodges, R. E., Ohlson, M. A., Bean, W. B. (1958). Pantothenic acid deficiency in man. *The Journal of clinical investigation*, 37(11), 1642-1657.
- 89- Özata, M. (2014). *Hayat kurtaran vitamin ve mineraller*. İstanbul: Haykitap Kitabevi.
- 90- Joshua W. M., Lisa M. R., Robert B. R., Pantothenic acid, present knowledge in nutrition, ninth edition, Ninth Edition, Section V: Water-Soluble Vitamins and Related Nutrients.
- 91- Herbert, V. (1996). Vitamin B-12. Present knowledge in nutrition, 191-205.
- 92- Polansky, M.M., Toepfer, E.W. (1969) Nutrient composition of selected wheats and wheat products. IV. Vitamin B-6 components, *Cereal Chem.*, 46, 560-566
- 93- Sauberlich, H.E., (1985). Bioavailability of vitamins, *Prog. Food Nutr. Sci.*, 9, 1-33.

- 94- Gregory, J.F., III Feldstein, D. (1985). Determination of vitamin B-6 in foods and other biological materials by paired-ion high-performance liquid chromatography, *J. Agric. Food Chem.*, 33, 359-365.
- 95- Achuta Murthy, P.N. Mistry, S.P. (1977). Biotin, *Progr. Food Nutr. Sci.*, 2, 405-455.
- 96- Zapsalis, C. Beck, R.A. (1985). *Food Chemistry and Nutritional Biochemistry*, John Wiley & Sons, New York, p. 189.
- 97- Lampen, J.O., Bahler, G.P., Peterson, W.H.(1942). The occurrence of free and bound biotin, *J. Nutr.*, 23, 11-21.
- 98- Food Standards Agency (2002). McCance and Widdowson's *The Composition of Foods*, 6th summary ed., Royal Society of Chemistry, Cambridge..
- 99- Scaglione, F., Panzavolta, G. (2014). Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *Xenobiotica*, 44(5), 480-488.
- 100- Baysal A. (2011) *Beslenme*. 13. Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi
- 101- Ebara, S. (2017). Nutritional role of folate. *Congenital anomalies*, 57(5), 138-141.
- 102- Tunçbilek, E. (2004). Türkiye'deki yüksek nöral tüp defekti sıklığı ve önlemek için yapılabilecekler. *Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi*, 47(2), 79-84.
- 103- World Health Organization. (2009). Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005: WHO global database on vitamin A deficiency.
- 104- Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması (2018). Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü. T.C. Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı ve TÜBİTAK, 2019, Ankara, Türkiye.
- 105- Food Standards Agency, McCance and Widdowson's *The Composition of Foods*, 6th summary ed., Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2002.
- 106- Herbert, V. (1988). Vitamin B-12: plant sources, requirements, and assays, *Am. J. Clin. Nutr.*, 48, 852-858.
- 107- National Research Council (1989). *Recommended Dietary Allowances*, 10th ed., National Academy Press, Washington, DC, p. 115.
- 108- Farquharson, J.N. Adams, J.F., (1976) The forms of vitamin B-12 in foods, *Br. J. Nutr.*, 36, 127-136.

- 109- Schaefer SM., Hivnor CM. (2012). Dermatology. In: Bologna J., Jorizzo J., Schaffer J., editors. Third. Elsevier Saunders. 237–251.
- 110- Samur, G. (2008). Vitaminler mineraller ve sağlığımız. Available at: <https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-hareketli-hayat-db/Yayinlar/kitaplar/Beslenme-Bilgi-Serisi-2/Vitamin-Mineral-Sagligimiz.pdf>.
- 111- Tayar, M., Çıbık, R. (2016) Gıda Kimyası. 4th edn. Bursa: Dora Yayınevi.
- 112- Lanham-New, S. A. (2008). Importance of calcium, vitamin D and vitamin K for osteoporosis prevention and treatment: symposium on ‘diet and bone health’. Proceedings of the Nutrition Society, 67(2), 163-176.
- 113- Aksoy M. (2011) Beslenme Biyokimyası Kitabı, Ankara.
- 114- De Baaij, J. H., Hoenderop, J. G., Bindels, R. J. (2015). Magnesium in man: implications for health and disease. Physiological reviews (1-46).
- 115- Roohani N., Hurrell R., Kelishadi R., (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. Journal of Research in Medical Sciences 18(2):144-157.
- 116- Uzun, M. B., Aykaç, G. Özçelikay, G. (2014) ‘Bitkisel ürünlerin yanlış kullanımı ve zararları’, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi, 4(3), pp. 1–5. Available at: <http://lokmanhekim.mersin.edu.tr>.
- 117- McKay DL., Blumberg JB. (2006). review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). Phytother Res, 20:519-530. [Internet]. Available from: www.interscience.wiley.com.
- 118- Zirak N., Shafiee M., Soltani G., Mirzaei M., Sahebkar A. (2019). Hypericum perforatum in the treatment of psychiatric and neurodegenerative disorders: Current evidence and potential mechanisms of action, Vol. 234, Journal of Cellular Physiology, Wiley-Liss Inc., 8496–8508.
- 119- Mei N., Guo X., Ren Z., Kobayashi D., Wada K., Guo L. (2017). Review of Ginkgo biloba-induced toxicity, from experimental studies to human case reports,, Journal of Environmental Science and Health, Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews. Taylor and Francis Inc.; 1–28.

- 120- Salar B., Kuruüzüm Uz A. (2021). Omega Yağ Asitleri: Biyolojik etkileri ve bitkisel kaynakları, Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy. 41(3):196–211.
- 121- Elbossaty WF. (2018). Clinical influence of triple omega fatty acids (Omega-3, 6, 9). Biomedical Journal of Scientific & Technical Research, 5332-5334.
- 122- Simopoulos AP. (2006) An increase in the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity, Vol. 8, Nutrients. 8(3): 128-135.
- 123- Markowiak P., Ślizewska K. (2017) Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health, , Nutrients. 2-30.
- 124- Kanmani P., Satish Kumar R., Yuvaraj N., Paari KA., Pattukumar V., Arul V. (2013) Probiotics and its functionally valuable products-a review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 53:641–658.
- 125- Toprak K., Ayaz A. (2019). Coenzyme Q10: Biological activity and current approach on the effect on health. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi, 6(2), 95-111.
- 126- Acosta MJ., Vazquez Fonseca L., Desbats MA., Cerqua C., Zordan R., Trevisson E., (2016). Coenzyme Q biosynthesis in health and disease, Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics, 1079–1085.
- 127- Tan, T. (2021). Fonksiyonel Gıdalar ve Gıda Destek Ürünleri ile İlgili Yasal Düzenlemelerin Analizi. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Mersin, Türkiye, 64 s.)
- 128- Demir, G., Kılıçkalkan, B., Takak, M. K. (2021), COVID-19 pandemisi sürecinde yetişkinlerin besin destekleri kullanımlarının incelenmesi, Genel Tıp Dergisi, 31(4),430-439.
- 129- Yetley, E.A. (2007), Multivitamin and multimineral dietary supplements: definitions, characterization, bioavailability and drug interactions1-3, The American Journal of Clinical Nutrition, 85, 269-276.
- 130- Durna, D. (2020). Türk Yargı Kararları Işığında Takviye Edici Gıdaların Denetimi. Türkiye Adalet Akademisi Dergisi, 1(41), 243-274.
- 131- Şimşek S. (2021). Takviye edici gıdaların onay işlemleri ve idari denetimi. Ankara Sosyal Bilimler Üniversitesi Hukuk Fakültesi Dergisi; 1: 133–139.

- 132- World Health Organization. National policy on traditional medicine and regulation of herbalmedicines—Report of aWHO Global Survey. Available online: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js7916e/> (accessed on 6 November 2017).
- 133- Halsted C. (2003) Dietary Supplements And Functional Foods: 2 Sides Of A Coin? *The American Journal Of Clinical Nutrition.*; 77(4), 1001–1007.
- 134- Sirico, F., Miressi, S., Castaldo, C., Spera, R., Montagnani, S., Di Meglio, F., Nurzynska, D. (2018). Habits and beliefs related to food supplements: Results of a survey among Italian students of different education fields and levels. *PLoS ONE*, 13(1): e0191424, doi: 10.1371/journal.pone.0191424
- 135- Özbekler, T.M. (2019). Değişen beslenme alışkanlıkları perspektifinde takviye edici gıdalar: Tüketiciler ne kadar bilinçli? *International Social Sciences Studies Journal*, 5(51): 6866-6882, doi: 10.26449/sss.1937
- 136- Kazaz, A., Gençyürek Erdoğan, M. (2020). Takviye edici gıda reklamlarında aldatıcı unsurlar. *Gümüşhane Üniversitesi İletişim Fakültesi Elektronik Dergisi*, 8(2): 930-960, doi: 10.19145/e-gifder.722025
- 137- Toker, R., Gölükcü, M., Tokgöz, H. (2015). Tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda sanayisinde kullanım alanları. <https://www.turktob.org.tr/dergi/makaleler/dergi15/54-59.pdf> (Erişim Tarihi: 06.12.2021).
- 138- Dwyer, J. T., Coates, P. M., Smith, M. J. (2018). Dietary supplements: regulatory challenges and research resources. *Nutrients*, 10(1): 41-48, doi: 10.3390/nu10010041
- 139- Becker, M. (2016). Growth in global dietary supplements market led by asia pacific region, <https://www.naturalproductsinsider.com/business-resources/growth-global-dietary-supplements-market-led-asia-pacific-region>, erişim tarihi:26.09.2019.
- 140- Pekcan G. (2016). Bölüm III: Çeşitli yaşam dönemlerinde beslenme. Yaşam sürecinde sık görülen beslenme sorunları. *Beslenmenin Esasları ve Sağlığın Korunmasında Beslenme* (Ed. Özenoğlu A.) Hatiboğlu Yayınevi. 611-663.
- 141- Taimiyah, Ibn (1997). *Majmu'at Al-Fatawa*. Kaherah: Dar al-Wafa.

- 142- Mian R.N., Muhammad N.C., (2019). Handbook of halal food production, CRC Press Taylor & Francis Group.
- 143- Alzeer, J., Rieder, U., AbouHadeed, K. (2017). Rational and practical aspects of halal and tayyib in the context of food safety. Trends Food Sci. Tech. 44-59.
- 144- Qureshi, M. I., Iftikhar, M., Abbas, S. G., Hassan, U., Khan, K., & Zaman, K. (2013). Relationship between job stress, workload, environment and employees turnover intentions: What we know, what should we know. World Applied Sciences Journal, 23(6), 764-770.
- 145- Batu, A. (2012). Helal (Mahzursuz) Gıda belgelendirmesindeki sorunlar ve çözüm önerileri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7(2), 60-75.
- 146- Tekle, Ş., Sağdıç, O., Nursaçan, Ş., Yetim, H., Mehmet, E. (2013). ülkemizde ve dünyada helal gıda hususunda karşılaşılan problemler. Avrupa Bilim & Teknoloji Dergisi, 1-24. <https://dergipark.org.tr/ejosat>.
- 147- Riaz, M.N. Chaudry, M.M. (2004). Halal food production. CRC Press LLC, 2000 N.W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida 33431. USA.
- 148- Egan, M. (2002). An overview of halal from the agri-Canada perspectives. 4thInt. Halal Food Conference. April. Toronto, Canada, 21-23.
- 149- Khattak, J. Z. K., Mir, A., Anwar, Z., Wahedi, H. M., Abbas, G., Khattak, H. Z. K., (2011). Concept of halal food and biotechnology. Advance Journal of Food Science and Technology, (3):385-389.
- 150- Al-Mazeedi, H.M., Regenstein, J.M. Riaz, M.N. (2013). The issue of undeclared ingredients in halal and kosher food production: A focus on processing aids. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12(2), 228-233.
- 151- Elgün, A. (2013). Alkollü içkiler ve gıdalarda alkol. Standart- Ekonomik ve Teknik Dergi, 96-100.
- 152- Elgün, A., (2019). İçeriğinde doğal olarak etil alkol oluşan gıda maddeleri. Diyanet İşleri Başkanlığı, Dini Hükümü Açısından Gıdalardaki ve İlaçlardaki Katkı Maddeleri Çalıştayı.17-18 Nisan, Ankara.
- 153- Dudley, R. (2004). Ethanol, fruitripening, and the historical origins of human alcoholism in primate frugivory. Integrative and Comparative Biology (44):315-323.

- 154- İbrahim H.R., Mokhtarudin M.Z H., (2010), Fraudulent quality labelling: Case of halal labelling, *China-USA Business Review*, 9, 941-47.
- 155- Ghazali, Mohd Al'Ikhsan, Sawari, Siti Salwa Md. (2015). Standard piawaian halal Di Malaysia Menurut perundangan, Kelebihan Dan Kekurangan. *International Journal of Islamic and Civilizational Studies*, 2, 56–61.
- 156- Ghazali, Mohd Al'Ikhsan, Sawari, Siti Salwa Md. (2015). Mengglobalisasikan sistem piawaian standard halal Malaysia Di peringkat Dunia. *Sains Humanika*, 5(3), 15–20.
- 157- Ahmad, Anis Najiha, Yang, Tajul Aris, Norziah, Mohd Hani, Wan, Nadiah Wan, Abdullah (2014). Alcohol in food: Current Fatwa in contemporary rulings Southeast Asian countries. *'Ulum Islamiyah Journal*, 14, 1–18.
- 158- Robertson, S. (2005). Interpretation of Measured Alcohol Levels in Overview by Alcohol.
- 159- B. Uslu, *Türk Farmakopesi 2017*. T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
- 160- Dzulkifly, M.H., (2010). Unraveling the issue of alcohol for the halal industry. Halal Product Research Institute. Universiti Putra, 43400 Serdang Selangor Malasia, 448-471.
- 161- Baduroğlu, E., Durak, D. (2010). Alkol İle İlgili Adli Tıp Sorunları. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 36(2), 65–71.
- 162- Kurtaş, Ö., Imre, K. Y., Özer, E., Can, M., Birincioğlu, İ., Bütün, C. Yılmaz, R. (2017). The evaluation of deaths due to methyl alcohol intoxication, 3680-3687.
- 163- Yayci, N., Ağritmiş, H., Turla, A., & Koç, S. (2003). Fatalities due to methyl alcohol intoxication in Turkey: an 8-year study. *Forensic Science International*, 131(1), 36-41.
- 164- Olson K, Anderson I, Benowitz N, Blanc P, Clark R, Kearney T, Osterloh J. (2006). *Poisoning & Drug Overdose 5th Edition*, 260-262.
- 165- Ana M., Miranda S., Daniela A.K., Ilija K., Ksenija S., Biljana N., (2016). Evaluation of alcohol content and metal impurities in liquid dietary supplements by sHSS-GC-FID and GFAAS techniques. *Food Chemistry*, 211: 285–293.

- 166- Ahmad R.M., Jungmin O., Hyun S.L., Seung Y.O., (2022). Determination of ethanol in foods and beverages by magnetic stirring-assisted aqueous extraction coupled with GC-FID: A validated method for halal verification. *Food Chemistry* 366, 130-526.
- 167- Qomariyah R.S., Anna P.R., Dedy S., (2021). Analysis of alcohol content in a herbal medicine of noni using gas chromatography Method. *International Journal of Halal Research*. 3(1):1-7.
- 168- Joanna G.A., Urszula H., Jan K., Malgorzata T.C., Jerzy J., (2009). Development and validation Of GC-FID method for the determination of ethanol residue in marjoram ointment. *Acta Poloniae Pharmaceutica and Drug Research*, 66(6):611-615.
- 169- Cassiano L.D.S.A., Daleska P.R., Juliana B.D.A., (2019). Multivariate optimization and validation of a procedure to direct determine acetonitrile and ethanol in radiopharmaceuticals by GC-FID. *Microchemical Journal* 147;654–659.
- 170- Libargachew D.M., Asfaw G.G., Gebretsadik G., Kebede N.M., Abraha G.A., Y.D., (2020). Determination of ethanol in blood using headspace gas chromatography with flameionization detector (HS-GC-FID): Validation of a method. *Cogent Chemistry*, 6(1):176-187.
- 171- Xiaoqing L., Jiansheng F., Qingshi W., Renjie L., Xiaohong J., Jinglan W., Wenbin Q., Dong L., Jingjing X., Jianxin B. Hanjie Y., (2014). Optimization and validation of a GC–FID method for the determination of acetone-butanol-ethanol fermentation products. *Journal of Chromatographic Science* 52:264–270.
- 172- Mei-Ling W., Youk-Meng C., Nan-Wei S. Min-Hsiung L., (2003). A Rapid method for determination of ethanol in alcoholic beverages using capillary gas chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*, 11(2):2, 133-140.
- 173- Nicholas B. T., Ilene A., Dustin T.Y., Xiaoqin S., (2011). Ethanol Analysis by Headspace Gas chromatography with simultaneous flame-ionization and mass spectrometry detection. *Journal of Analytical Toxicology*, 35:501-511
- 174- Simay G., Hasibe Y. Ahmet C. G., (2013). Halal food and metrology: ethyl alcohol contents of beverages. *J. Chem. Metrol.* 7:1, 7-9.

- 175- Sahil K, Prashant B, Akanksha M, Premjeet S, Devashish R. (2011) GC-MS: applications. international journal pharma & biological archives, 2:1544-1560.
- 176- Jenke DR (1996) Chromatographic Method Validation: A review of current practices and procedures. I. General Concepts and Guidelines. J Liq Chrom & Rel Technol 19:737-757.
- 177- Rowley AG (2001) Evaluating uncertainty for laboratories. A Practical Hand book.
- 178- A.T. James, A.J.P. Martin, (1956). The Biochemical Journal 63: 144–152.
- 179- K.D. Bartle, P. Myers. (2002). Trends in Analytical Chemistry 21: 547–557,.
- 180- W. Jennings, Analytical gas chromatography. (1987). Academic Press, Inc., San Diego, CA.
- 181- J. Mommers, J. Knooren, Y. Mengerink, A. Wilbers, R. Vreuls, S. van der Wal (2011) Journal of Chromatography. 1218: 3159–3165.
- 182- Y. Saito, S. Kodama, A. Matsunage, A. Yamamoto (2004). Journal of AOAC International 87: 1356–1367.
- 183- K. Mastovska, P.L. Wylie, (2012) Journal of Chromatography. A 1265: 155–164.
- 184- Skoog D.A., James F.H., Stanley R.C., (2016). Principles of Instrumental Analysis 7th Edition.
- 185- Kolb, B., Ettre, L.S., (1997). Static Headspace-Gas Chromatography. Theory and Practice; Wiley-VCH, New York, NY.
- 186- Kolb, B. J. Chromatogr. (1999). 842, 163-205.
- 187- J. M. Miller, Chromatography—Concepts and Contrasts, (2005). 2nd ed., Wiley-Interscience, Hoboken, NJ.
- 188- R. L. Grob, E. F. Berry (2004), Modern Practice of Gas Chromatography, 4th ed., Wiley, New York.
- 189- Hachenberg H., Schmidt A.P. (1977). Gas chromatographic headspace analysis. Heyden, London.
- 190- Loffe B.V., Vitenberg A.G. (1984). Headspace analysis and related methods in gas chromatography. Wiley, New York.

- 191- Nunez A.J., Gonzalez L.F., Janak J. (1984). J. Chromatogr.
- 192- Davis P.L. (1970). J. Chromatogr. Sci., 8: 423-431.
- 193- Wyllie, S.G., Alves, S., Filsoof, M., Jennings, W. (1978). In analysis of foods and beverages; charalambous, G., Ed.; Academic Press: New York, ; p. 394.
- 194- Peppard, T. L., (1999). How Chemical Analysis Supports Flavors Creation, Food Technology, 53:46-51.
- 195- L. N. Moskvina, O. V. Rodinkov, J., (1996). Chromatogr. A 725, 351–359.
- 196- Kees J. B., Rainer B., Nico C.V.D.M., (2012). Internal standards in the quantitative determination of protein biopharmaceuticals using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Journal of Chromatography B, 893– 894.
- 197- ICH Q2 (R1), Validation of analytical procedures: text and methodology. 2005 Kasım. Erişim 10.02.2016; http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf

HAM VERİLER

FORMLAR

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 9	% 8	% 2	% 2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 2
2	watermark.silverchair.com İnternet Kaynağı	% 1
3	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	acikerisim.nku.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
5	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	% 1
6	openaccess.izu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	eczacilik.yeditepe.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<% 1

Submitted to Istanbul University