

Nar Sosunda Kromatografik Yöntemle Bazı Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Analizi

Bugra Dayı¹ , Hatice Ardağ Akdoğan¹ , Abdullah Akdoğan² 

¹Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Denizli

²Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Denizli

Geliş Tarihi (Received): 18.06.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 13.09.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): hardag@pau.edu.tr (H. Ardağ Akdoğan)

☎ 0 258 296 36 10 📠 0 258 296 35 35

ÖZ

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), insanlar ve hayvanlar için son derece toksik özellikte ve kanserojendir. Bu bağlamda güvenli gıda üretimi açısından, üretimi yapılan ticari nar soslarında bu bileşiklerin oluşumu ve düzeyleri önemli bir konudur. Bu çalışmada Türkiye’de satışa sunulan sekiz farklı nar sosu kullanılmıştır. Yüksek performanslı sıvı kromatografi-UV detektör (HPLC-UV) ile on üç tane PAH analizi yapılmıştır. Sekiz farklı nar sosu örneği için basit, hassas ve maliyeti düşük bir katı faz ekstraksiyonu (SPE) tekniği kullanılarak, PAH’ların ön deriştirilmesi gerçekleştirilmiştir. Nar sosu numunelerinin optimum SPE koşullarında elde edilen ekstraktları, daha sonra ters fazlı HPLC-UV dedektörü ile analiz edilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde, toplam PAH miktarlarının 1.5 mg/L ile 16.6 mg/L arasında değiştiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: HPLC, Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, Nar, Nar sosları

Chromatographic Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Pomegranate Sauces

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are highly toxic and carcinogenic to humans and animals. In terms of safe food production, the formation and levels of these compounds in commercial pomegranate sauces are important. This study was carried out on eight different pomegranate sauces sold in Turkey. Thirteen PAH analyzes were performed with high performance liquid chromatography-UV detector (HPLC-UV). Pre-concentration of PAHs was performed by a simple, precise and low cost solid phase extraction (SPE) technique for eight different pomegranate sauces samples. Extracts of pomegranate sauce samples obtained under optimum SPE conditions were then analyzed by reversed-phase HPLC-UV detector. Results indicated that the total amounts of PAHs varied from 1.5 mg/L to 16.6 mg/L.

Keywords: HPLC, Polycyclic aromatic hydrocarbons, Pomegranate, Pomegranate sauces

GİRİŞ

Nar (*Punica granatum*, *Punicaceae*), insan sağlığı üzerindeki çok faydalı etkileri nedeniyle büyük ilgi gören, fonksiyonel bir besin olup, bilinen en eski yenilebilir meyvelerdendir ve birçok ülkede ise halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır [1]. Meyvenin yenilebilir

kısmı önemli mineraller yanında asitler, şekerler, vitaminler, polisakkaritler ve polifenoller içerir [2-4]. Nar suyu, polifenolikler, taninler ve antosiyaninler nedeniyle yüksek anti-oksidatif özellikler sunar [5]. Meyve taze olarak veya meyve suyu, şurup (grenadin), reçel, sos ve şarap haline getirilerek tüketilebilir. Nar sosu sektöründe, uygun sos bileşimi ile yüksek sos veren nar

türlerinin kullanılabilirliği önemlidir. Son yıllarda popülerlik kazanan nar ve nar ürünleri, Bakteriyel enfeksiyon, mantar enfeksiyonu, immüno modülasyon, gıda zehirlenmesi, ateroskleroz/arteryoskleroz, paraziter enfeksiyon ve periodontal hastalık içeren birçok potansiyel kullanım alanı için incelenmiştir. Nar konsantresi sosları genellikle salatalar için ve Türkiye'de birçok yemek için kullanılmaktadır [2]. Büyük ölçekli üretime sahip firmalar tarafından sağlansa da, bölgelere göre değişen geleneksel yöntemlerle küçük ölçeklerde de üretilmektedir.

PAH'lar su içerisinde düşük çözünürlüğe sahiptir ancak yüksek oranda lipofilik özelliği göstermektedirler. Özellikle kömür ve ham petrolün işlenmesi, doğal gazın yanması, çöp yakma, motorlu taşıtlardan, tütün kullanma ve pişirme gibi endüstriyel ve diğer insan faaliyetleri sırasında organik materyallerin eksik yanması ve ayrıca karbonizasyon gibi doğal işlemler ile esasen pirolitik süreçlerin bir sonucu olarak oluşurlar. Buna ek olarak, PAH'lar pişirme, koruma ve depolamanın moduna bağlı olarak çok çeşitli et, balık, sebze ve meyvelerde bulunurlar. Doğada 100'den fazla PAH bulunmuştur; Bununla birlikte, Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından bunların oluşumu ve kanserojenliği göz önüne alındığında öncelikli kirlenici olarak sadece 16 tanesi belirlenmiştir [6-8]. Bunların en tanınmışları benzo[a]piren (BaP)'dir. DNA gibi hücre makromoleküllerine kovalent olarak bağlanan kimyasal olarak reaktif ara maddelere biyotransformasyon yoluyla mutajenik ve kanserojenik aktivitelerini uygularlar. Hayvanlardaki bireysel PAH metabolitlerinin tümöre özdeşliği üzerine yoğun ve sistematik çalışmalar incelendiğinde, diol epoksitlerinin alternatif bölgesi PAH'ların mutasyona uğramış ve kansinojenik türleri oldukları sonucuna varılmıştır. Fakat sadece bunlardan ibaret değildir [9-12]. Bu diol epoksitler, epoksit halkasının açılmasıyla, DNA bazlarına ve proteinlerde kovalent olarak nükleofilik alanlara bağlanan alkilleyici maddeler olan elektrofilik karbonium iyonlarına kolaylıkla dönüştürülür. Buna ek olarak birçok PAH, deney hayvanlarında tümör oluşturabilir. BaP ve başka PAH çeşitleri ağız yoluyla çeşitli kemirgen hayvan dokularına uygulandığında, karın, karaciğer, akciğerler ve meme bezleri gibi vücudun çeşitli bölgelerinde tümörler üretmiştir [13-14]. Toprak, gıda, hava ve su gibi matrislerdeki PAH'ların belirlenmesi için ekstraksiyon işlemi ile temizlenmesi gerekmektedir.

Numune olarak sulu örnekleri almak için Çevre kontrol sistemlerine katılan birçok laboratuvar, rutin bir numune hazırlama aracı olarak, katı faz ekstraksiyonunu (SPE) kullanır. SPE, 10 ng/L'den 10 µg/L'ye kadar olan konsantrasyon düzeyinde birçok bileşik için yüksek zenginleştirme oranı ve iyi geri kazanım sağlayan iyi bir laboratuvar yöntemi haline gelmiştir. Silika içeren SPE kartuşları kromatografi kolonları yerine başarıyla kullanılmıştır. Bu teknik istenen ayırımı gerçekleştirmek için kullanılabilen çok çeşitli ekstraksiyon koşullarından dolayı potansiyel olarak mükemmel bir seçiciliğe sahiptir [14]. Bu teknik, istenilen ayırımı elde etmek için kullanılabilen çok çeşitli ekstraksiyon koşullarından dolayı potansiyel olarak mükemmel bir seçiciliğe

sahiptir. Sıvı fazdan matrisleri, PAH'ları zenginleştirmek ve temizlemek için Octadecyl (C18) silika bağlı SPE kartuşları kullanılmıştır [15-16]. PAH'ları ayırmak ve tayin etmek için en sık kullanılan kromatografik yöntemler gaz kromatografisi [17] ve yüksek performanslı sıvı kromatografisidir [18].

Bu çalışmada PAH grubundan seçilen bileşiklerle nar soslarının kontaminasyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Örneklerden elde edilen numunelerde 13 farklı PAH'in analizi yapılmıştır. Bu PAH'lar; antrasen, benzo(a)antrasen, benzo(a)fluoren, benzo(b)fluoren, benzo(e)piren, Benzo(g,h,i)-perilen, krizen, dibenzo (a,c) antrasen, dibenzo (a,h) antrasen, flüoranten, flüoren, fenantren ve piren'dir. Nar sosu örneklerinde üretim prosesine bağlı olarak PAH oluşum seviyeleri incelenmiştir.

DENEYSEL ÇALIŞMA

Reaktifler ve Kullanılan Çözeltiler

Asetonitril, metanol, diklorometan ve heksan Merck (Darmstadt,Almanya) firmasından temin edilmiştir ve tümü HPLC saflıktadır. Seyreltme işlemi için ultra saf su (Human Corporation Zeneer Power I S-UV) kullanılmıştır.

Kullanılan PAH'lar (antrasen (A), benzo(a)antrasen (BaA), benzo(a)fluoren (BaF), benzo(b)fluoren (BbF), benzo(e)piren (BeP), Benzo(g,h,i)-perilen (BgHiP), krizen (CHR), dibenzo (a,c) antrasen (DBacA), dibenzo (a,h) antrasen (DBahA), flüoranten (FL), flüoren (F), fenantren (Pa) ve piren (P)) Sigma firması (Missouri, ABD) tarafından temin edilmiştir. Kullanılan diğer tüm kimyasallar analitik saflıkta ve Merck firması (Darmstadt, Almanya) tarafından temin edilmiştir. C-18 SPE kartuşları (500 mg/unit) Whatman (Clifton, New Jersey, USA) tarafından temin edilmiştir.

Çalışma Örnekleri

PAH analizi yapılmak için Türkiye'de marketlerde bulunan ticari nar soslarından satın alınmıştır. Farklı markalarda sekiz nar sosu örneği laboratuvarında cam elyaf filtreden geçirilmiştir. Daha sonra örnekler +4°C'de saklanmak üzere koyu kahverengi cam şişelere aktarılmıştır.

Katı Faz Ekstraksiyon (SPE) Prosedürü

SPE yönteminin performansı, nar sosları örneklerine uygulanmadan önce standart PAH'lar ile test edilmiştir. Bunun için, 13 PAH'ın her birinde 10 µg/L'lik bir model çözeltiden 500 mL kullanılmıştır. Bilinen ve bilinmeyen PAH örneklerini deriştirmek için bir C-18 SPE kartuş kullanıldı. Numune, 5 mL 1:1 (h/h) su-metanol ile yıkanan ve vakumla tamamen kurutulan 500 mg/unit C-18 SPE kartuştan geçirildi. Daha sonra kartuşun vakum altında tamamen kurduğundan emin olunduktan sonra PAH'lar 5 mL heksan ile elue edilmiştir. Toplanan eluent azot atmosferinde konsantre edilmiş ve elde edilen tortu 1mL asetonitril ile çözümlenerek HPLC'ye 20 µL enjektörde edilmiştir.

HPLC Analizi

Her bir PAH'nin kalitatif ve kantitatif tayinleri için ters faz HPLC Thermo Separation Products (TSP), Spectra serisi P200 pompa, UV 150 dedektör ve TSP Chromjet Integrator (Spectra-Physics Analytical, Fremont, CA, USA) sistemi kullanılmıştır. Analizde PAH'ların kolonda ayrılmalarında, ters faz (Reverse Phase; RP) Supelcosil™ sütun LC-18 kolonu kullanılmıştır. (4,6 mm x 250 mm, Supelco, Bellefonte, PA).

İstatistiksel Analiz

Örnekler 3 tekrar halinde çalışılmış ve sonuçların standart sapmaları Microsoft Excel Spreadsheet programında hesaplanmıştır.

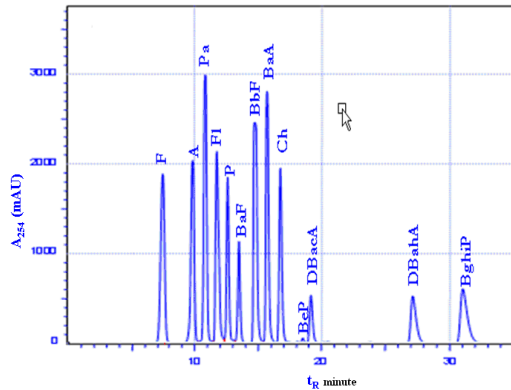
SONUÇ ve TARTIŞMA

Ekstraksiyon Prosedürünün Optimizasyonu

Seçilmiş PAH'lar için gerçek örnek analizine geçilmeden önce HPLC-DAD sisteminde ayırma şartları incelenmiştir. Daha sonra belirlenen ayırma şartlarında model çözelti kullanılarak, 13 PAH'nin ekstraksiyon şartları araştırılmış ve gerçek nar sosu örneklerine uygulanmıştır. Ayrıca optimize edilen ekstraksiyon yöntemine ait analitik parametrelerde incelenmiştir.

HPLC Çalışma Şartları

PAH'ların HPLC de ayrılması için izokrotik elüsyon şartlarında, hareketli faz olarak asetonitril:su (70:30, V:V) kullanılmıştır. Analiz, akış hızı 0.5 mL /dakika, DAD detektör de ölçümler 254 nm'de ve kolon fırın sıcaklığı 25°C'ye optimize edildi. PAH ların ayrılmasında kolon olarak C18 kolonu tercih edilmiştir. Şekil 1'de, 10 µg/L derişimdeki 13PAH standart karışımına ait kromatogram verilmiştir. Kromatogram incelendiğinde tüm analitler için ayırıcılık (Rs) değerlerinin 1.3 den büyük olduğu görülmüştür.



Şekil 1. 10 µg/L standart 13 PAH karışımının HPLC-DAD kromatogramı

Standart karışımın 20 µL'sini on kez enjekte edilerek sistemin tekrarlanabilirliği test edildi. Bağıl standart sapma % 0.9-3.3 aralığındadır.

Ekstraksiyon Şartlarının Optimizasyonu

Çoğu çalışmada PAH'ların sulu ortamlardan ayrılmalarında SPE tekniği kullanılmaktadır [17]. Özellikle SPE kartuş olarak C18 ya da yağlı matrisler için Silica tipi kartuşlar kullanılmaktadır. Bu çalışma içinde, nar sosu örneklerinde PAH'ları zenginleştirmede, örnek matrisi yağ içeriği çok düşük olduğu için Silica katı faz kartuş yerine C18 katı faz kartuşu kullanmaya karar verildi. Numuneden PAH'ların ekstraksiyonunda organik çözücü türü kritik bir parametredir. Eğer organik çözücünün polaritesi çok düşükse, ağır PAH'ları çözmek için yeterli olmayabilir, fakat çok yüksek olmasında, çok düşük atılma hacmi olacağından SPE kartuşu üzerinde kalmayacaktır. Çeşitli çözücülerle (asetonitril, metanol, aseton ve hekzan) çalışıldı. En iyi geri kazanım hekzan ile gerçekleştirildi. Düşük molekül ağırlıklı PAH'lar, buharlaşma basamağı sırasında buharlaşma basıncının düşmesi nedeniyle en yüksek geri kazanımlar hekzan ile elde edildi. Ağır PAH'ların polaritesi düşük olduğundan apolar çözücülerle birbirinden daha kolay ayrılır. PAH'lar için ekstraksiyon geri kazanım sırası incelendiğinde elüsyon çözeltisi sıralaması hekzan>asetonitril>metanol>aseton şeklinde olmuştur. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, hekzan en iyi elüsyon çözeltisi olarak seçildi ve tüm PAH'lar için geri kazanım yüzdeleri %94'ün üzerinde ve % bağıl standart sapma (BSS) değerleri <7.6 olarak hesaplandı. Literatürde yapılan diğer bir çalışmada da, C18 SPE kartuşları kullanılarak yapılan PAH ekstraksiyonu için elüsyon çözeltisi olarak hekzanın kullanıldığı görülmüştür [6].

Miktarları bilinen 13 PAH maddesi kullanılarak optimum SPE koşulu belirlendi. Bu deney için, sulu çözeltide 13 PAH'nin her birinden 10 µg/L içeren 500 mL'lik bir çözelti kullanıldı. İncelenen 13 PAH'nin kantitatif geri kazanımı (%90-104) sağlandı. Daha uçucu olan ve bu nedenle buharlaştırma adımı sırasında kısmen kaybolan düşük molekül ağırlıklı PAH'lar (F, Pa, A, FI) hariç ortalama geri kazanımlarda iyi sonuçlar elde edildi. Sonuçlar, aynı şartlarda yapılan altı deneyin ortalamasıdır ve bağıl standart sapmalar %2-8 aralığındadır. (Tablo 1).

Yöntemin Analitik Değerlendirmesi

Analitik değerlendirme için öncelikle kalibrasyon eğrileri incelenmiştir. Kalibrasyon doğruları için kullanılan standartlar ekstraksiyon çözeltileri dikkate alınarak hazırlanmıştır. Ekstraksiyon çözeltileri, analit içermediğinden emin olunan örneklerle uygulanan ekstraksiyon sonucu elde edilmiştir. Bu çözeltilere değişen derişimlerde PAH ilavesi yapılarak kalibrasyon doğruları türetilmiştir (Tablo 2). Kalibrasyon eğrileri, HPLC cihazının kendi yazılım programıyla oluşturulmuştur. Yöntemin analitler için gözlenebilir sınırlarının (LOD) belirlenmesi için, çalışılan optimum şartlarda analit içermeyen 10 tane kör çözelti hazırlandı ve bu çözeltilerden 20 µL alınarak HPLC'ye enjekte edildi. Analitlerin alıkonma zamanındaki piklerin pik alan değerleri ve standart sapmaları hesaplandı. Ortalama pik alan değeri, standart sapmasının 3 katı ile çarpılarak elde edilen pik alan değeri kalibrasyon doğrusunda yerine konarak gözlenebilir sınırları belirlendi (S/N=3). Tayin sınırı ise (LOQ) ise ortalama pik alan değeri,

standart sapmasının 10 katı alınarak kalibrasyon denkleminde yerine koyulup hesaplanmıştır. Bu çalışmalar sonunda elde edilen sonuçlar Tablo 2.'de verilmiştir.

Tablo 1. Model çözelti içindeki 13PAH için geri kazanım ve standart sapma değerleri

PAH	Geri Kazanım (%)	Standart Sapma
F	90	4
Pa	89	5
A	92	7
FL	91	5
P	99	3
BaF	97	4
BbF	96	5
BaA	104	4
CHR	102	3
BeP	99	8
DBacA	100	6
DBahA	98	3
BghiP	96	6

antrasen (A), benzo(a)antrasen (BaA), benzo(a)fluoren (BaF), benzo(b)fluoren (BbF), benzo(e)piren (BeP), Benzo(g,h,i)-perilen (BghiP), krizen (CHR), dibenzo (a,c) antrasen (DBacA), dibenzo (a,h) antrasen (DBahA), flüoranten (FL), flüoren (F), fenantren (Pa) ve piren (P)

Tablo 2. Yöntemin analitik verileri

PAH	Derişim aralığı (µg/L)	r ²	LOD (S/N=3) (µg/L)	LOQ (S/N=10) (µg/L)
F	0.2-10	0.963	0.01	0.33
Pa	0.5-10	0.994	0.03	0.10
A	0.2-10	0.998	0.02	0.06
FL	0.2-10	0.995	0.01	0.33
P	0.2-10	0.978	0.01	0.33
BaF	0.5-10	0.988	0.03	0.10
BbF	0.5-10	0.976	0.04	0.13
BaA	0.2-10	0.997	0.01	0.33
CHR	1-10	0.995	0.06	0.20
BeP	0.5-10	0.995	0.03	0.10
DBacA	2-10	0.992	0.15	0.50
DBahA	2.5-10	0.987	0.17	0.57
BghiP	1-10	0.996	0.09	0.30

antrasen (A), benzo(a)antrasen (BaA), benzo(a)fluoren (BaF), benzo(b)fluoren (BbF), benzo(e)piren (BeP), Benzo(g,h,i)-perilen (BghiP), krizen (CHR), dibenzo (a,c) antrasen (DBacA), dibenzo (a,h) antrasen (DBahA), flüoranten (FL), flüoren (F), fenantren (Pa) ve piren (P)

Yöntemin Nar Soslarına Uygulanması

Çalışmada ticari olan ve marketlerden temin edilmiş sekiz adet farklı markalarda nar sosu örnekleri ele alınmıştır. Elde edilen sonuçlar için bağıl standart sapma değerleri % 14'ten düşük bulunmuştur. İncelenen nar sosu örneklerinde tespit edilen PAH düzeyleri, 6, 7 ve 8 no'lu numunelerde diğer örneklerden daha yüksek bulundu (Tablo 3). Tablo 3 incelendiğinde örneklerin hemen hemen tamamında, F, Pa, A, FL, Ch, BeP ve DB(c,c)A PAH'larının varlığını rastlanırken bir kısmında ise P, BaF, BbF, BaA, DB(a,h) ve BghiP PAH'larının varlığı tespit edilmiştir.

Tablo 3. Gerçek nar sosu örneklerindeki PAH içerikleri*

Örnek	PAH derişimi (µg/L, $\bar{x} \pm sd$), (n=3)													Toplam PAH
	F	Pa	A	FL	P	BaF	BbF	BaA	CHR	BeP	DBacA	DBahA	BghiP	
1	0.35±0.02	0.21±0.03	<LOD	0.42±0.02	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.24±0.02	0.35±0.04	<LOD	<LOD	1.57
2	0.32±0.02	0.24±0.01	0.22±0.02	0.34±0.02	0.43±0.03	0.31±0.03	0.84±0.06	0.43±0.02	0.21±0.03	0.53±0.03	0.35±0.03	<LOD	<LOD	4.22
3	0.53±0.03	0.22±0.02	0.34±0.04	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.22±0.02	0.24±0.04	0.73±0.07	<LOD	<LOD	<LOD	2.28
4	0.24±0.02	0.53±0.06	0.71±0.07	2.07±0.10	1.11±0.20	0.43±0.03	<LOD	<LOD	0.55±0.05	0.42±0.05	0.33±0.06	0.25±0.03	0.34±0.03	6.98
5	0.54±0.03	0.45±0.02	0.62±0.06	0.41±0.06	0.53±0.05	0.34±0.03	0.85±0.09	<LOD	0.32±0.05	3.94±0.50	2.10±0.70	<LOD	<LOD	10.10
6	0.24±0.04	1.25±0.06	2.04±0.07	2.54±0.20	<LOD	4.23±0.14	<LOD	<LOD	<LOD	0.44±0.05	2.25±0.06	0.62±0.05	0.74±0.07	14.35
7	0.74±0.05	1.43±0.10	1.25±0.05	3.52±0.28	2.21±0.30	2.34±0.10	3.45±0.32	1.22±0.07	1.04±0.06	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	17.20
8	0.54±0.05	0.95±0.08	0.62±0.04	<LOD	3.71±0.26	1.73±0.32	<LOD	<LOD	1.42±0.03	2.13±0.27	2.05±0.02	1.13±0.04	<LOD	14.28

*: antrasen (A), benzo(a)antrasen (BaA), benzo(a)fluoren (BaF), benzo(b)fluoren (BbF), benzo(e)piren (BeP), Benzo(g,h,i)-perilen (BghiP), krizen (CHR), dibenzo (a,c) antrasen (DBacA), dibenzo (a,h) antrasen (DBahA), flüoranten (FL), flüoren (F), fenantren (Pa) ve piren (P)

Birinci nar sosu örneğinde toplam altı farklı PAH gözlenmiş, 0.42 µg/L maksimum konsantrasyonunda FL tespit edilmiştir. Bu altı PAH'ın toplam konsantrasyonu 1.57 µg/L dir. Örnekler arasındaki korelasyonlar değerlendirildiğinde; F, Pa, A, FL, CHR ve DB(a,c)A PAH'lar düşük düzeyde de olsa tüm sos örneklerinde görülmüştür. Bununla birlikte, BbF sadece örnek 2, 5 ve 7'de bulunmuştur. BaA ise 2, 3 ve 7 nolu örneklerde tespit edilmiştir. Ayrıca, DB(a,h)A ve Bghi yalnızca örnek 4, 6 ve 8'de bulunmuştur. Örnekler 5, 6, 7 ve 8'in dışında, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) değerlendirilmesine göre [19], nar sosu, yüksek konsantrasyonlarda PAH içeren başlıca gıdalar arasında bulunmamaktadır. BaA, CHR ve BbF

bakımından incelendiğinde, tüm nar sosu örneklerinin Avrupa Birliğinin 4 PAH için belirlemiş olduğu kalıntı düzeyleri bakımından kabul edilebilir olduğu görülmüştür. Bazı ülkelerde, özellikle Avrupa'da nar sosu tüketimi oldukça fazladır. Bununla birlikte bu çalışmada görüldüğü gibi nar sosları PAH içerebilir. Nar sosu tüketimi fazla olduğunda günlük PAH alımı artmaktadır. Sonuç olarak, nar soslarının pazara arzında güvenli gıda tüketimi bağlamında incelenmesi gereken önemli bir konu olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca, çalışmada önerilen yöntem, nar soslarındaki PAH'ların kantitatif geri kazanımlarla hızlı ve doğru bir şekilde tespit edilebileceğini göstermiştir. Bütün bunların yanında, PAH bakımından kirli olduğu belirlenen nar

sosları insan sağlığı içinde risk taşımaktadır. Bu açıdan, nar soslarının üretiminde yanma işlemine tabi tutulması, nar soslarındaki PAH varlığının da bir göstergesidir.

KAYNAKLAR

- [1] Alessandra, M., Andrea, C., Eugenio, L., Luciana, M., Patrizia, P., Stefania, C., 2016. Evaluation of different extraction methods from pomegranate whole fruit or peels and the antioxidant and antiproliferative activity of the polyphenolic fraction. *Food Chemistry* 202: 59–69.
- [2] Maskan, M., 2006. Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering* 72(3): 218-224.
- [3] Vardin, H., Fenercioglu, H., 2003. Study on the development of pomegranate juice processing technology: clarification of pomegranate juice. *National Center for Biotechnology Information* 47(5): 300-3.
- [4] Cemeroglu, B., Artik, N., Erbas, S., 1992 Gewinnung von Granatapfelsaft und seine Zusammensetzung. *Flussiges Obst* 59(6): 335-340.
- [5] Hamid, R.R., Mohammad, A., Seyed, N.O., 2012. A comprehensive review of *Punica granatum* (pomegranate) properties in toxicological, pharmacological, cellular and molecular biology Researches. *Iran Journal of Pharmaceutical Research* 11(2): 385–400.
- [6] Barranco, A., Alonso-Salces, R.M., Bakkali, A., Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F., Sarobe, M., 2003. Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. *Journal of Chromatography A* 988(1): 33-37.
- [7] Buseti, F., Heitz, A., Cuomo, M., Badoer, S., Traverso, P., 2006. Determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous and solid samples from an Italian wastewater treatment plant. *Journal of Chromatography A* 1102(1-2): 104-115.
- [8] Simko, P., 2002. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke favouring food additives. *Journal of Chromatography B* 770(1-2): 3-18.
- [9] Tehranifar, A., Selahvarzi, Y., Kharrazi, M., Bakhsh, V.J., 2011. High potential of agroindustrial by-products of pomegranate (*Punica granatum* L.) as the powerful antifungal and antioxidant substances. *Industrial Crops and Products* 34(3): 1523-1527.
- [10] Macek, T., Mackova, M., Kas, J., 2000. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotechnology Advances* 18(1): 23-34.
- [11] Mackova, M., Dowling, D.N., Macek, T., 2006. Phytoremediation and rhizoremediation. *Focus on Biotechnology*, vol. 9A. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- [12] Harvey, P.J., Campanella, B.F., Castro, P.M.L., Harms, H., Lichtfouse, E., Schaufner, A.R., Smrcek, S., Werck-Reichhart, D., 2002. Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols. *Environmental Science and Pollution Research* 9(1): 29-47.
- [13] Rezek, J., Wiesche, C., Mackova, M., Zadrazil, F., Macek, T., 2008. The effect of ryegrass (*Lolium perenne*) on decrease of PAH content in long term contaminated soil. *Chemosphere* 70(9): 1603-1608.
- [14] Shami, S.G., Wolff, R.K., Hahn, F.F., Brooks, A.L., Griffith, W.C., 1985. Early cytokinetic and morphological response of rat lungs to inhaled benzo(a)pyrene, gallium oxide, and SO₂. *Environmental Research* 37(1): 12-25.
- [15] Kira, S., Sakano, M., Nugami, Y., 1997. Measurement of a time-weighted average concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic environment using solid phase extraction cartridges and a portable pump. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 58(6): 878-884.
- [16] Masih, A., Taneja, A., 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) concentrations and related carcinogenic potencies in soil at a semi-arid region of India. *Chemosphere* 65(3): 449-456.
- [17] Countway, R.E., Dickhut, R.M., Canuel, E.A., 2003. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) distribution and associations with organic matter in surface waters of the York River, VA Estuary. *Organic Geochemistry* 34(2): 209-224.
- [18] Luthe, G., Broeders, J., Brinkman, U.A.T.H., 2001. Mono fluorinated polycyclic aromatic hydrocarbons as internal standards to monitor trace enrichment and desorption of their parent compound during solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A* 933(1-2): 27-35.
- [19] World Health Organization Regional Office for Europe, 1987. Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH), Air quality guidelines for Europe; Copenhagen, 105-117.