

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANKARA PİYASASINDA SATIŞA SUNULAN  
NAR EKŞİSİ, NAR EKŞİSİ SOSU VE ÜZÜM PEKMEZLERİNİN  
HİDROKSİMETİLFURFURAL DÜZEYİNİN SAPTANMASI**

**Dyt. Ziya Erokay METİN**

**Toplu Beslenme Sistemleri Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA  
2014**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANKARA PİYASASINDA SATIŞA SUNULAN  
NAR EKŞİSİ, NAR EKŞİSİ SOSU VE ÜZÜM PEKMEZLERİNİN  
HİDROKSİMETİLFURFURAL DÜZEYİNİN SAPTANMASI**

**Dyt. Ziya Erokay METİN**

**Toplu Beslenme Sistemleri Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd.Doç.Dr. Derya DİKMEN**

**ANKARA  
2014**

Anabilim Dalı :**Beslenme ve Diyetetik**  
Program :**Toplu Beslenme Sistemleri**  
Tez Başlığı :**Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Nar Eksisi, Nar Eksisi Sosu ve Üzüm Pekmezlerinin Hidroksimetilfurfural Düzeyinin Saptanması**  
Öğrenci Adı Soyadı :**Ziya Erokay METİN**  
Savunma Sınavı Tarihi :**13.08.2014**

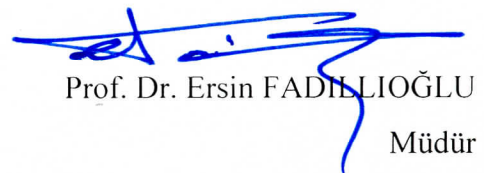
Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: **Yrd. Doç. Dr. Derya DİKMEN**  
(Tez Danışmanı) **Hacettepe Üniversitesi**  
Üye: **Doç. Dr. Hilal YILDIRAN**  
**Gazi Üniversitesi**  
Üye: **Prof. Dr. H. Tanju BESLER**  
**Hacettepe Üniversitesi**  
Üye: **Doç. Dr. M. Fatih UYAR**  
**Hacettepe Üniversitesi**  
Üye: **Yrd. Doç. Dr. Mevlüde KIZIL**  
**Hacettepe Üniversitesi**



ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Ersin FADILIOĞLU  
Müdür

## TEŞEKKÜR

Çalışmamda her türlü bilimsel desteğini esirgemeyen değerli tez danışmanım  
Yrd. Doç. Dr. Derya DİKMEN' e

Çalışma süresi boyunca bana göstermiş olduğu anlayışlarından ve desteklerinden  
dolayı beraber çalıştığım değerli hocam Doç. Dr. M. Fatih UYAR' a

Çalışmam sırasında benden bilgilerini esirgemeyen Tarım ve Köy İşleri  
Bakanlığı'nın İl Kontrol Laboratuvarı müdürü Dr. Osman İNAY' a

Hayatımın her döneminde yanımda olan, maddi ve manevi her türlü desteğini  
esirgemeyen canım aileme,

Her zaman yanımda olan, sevgi, anlayışını esirgemeyen ve çalışmadaki  
yardımlarından dolayı sevgili eşim M. Merve TENGİLİMOĞLU METİN' e sonsuz  
teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Metin, Z.E. Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Nar Ekşisi, Nar Ekşisi Sosu ve Üzüm Pekmezlerinin Hidroksimetilfurfural Düzeyinin Saptanması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Toplu Beslenme Sistemleri Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2014.** 5-Hidroksimetilfurfural (HMF) enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu sonucunda oluşan bir ara ürün ve heksozların asidik ortamlarda dehidrasyonu sonucu oluşan ayrıca besine uygulanan ısı işlem hakkında bilgi veren bir bileşiktir. Meyvelerin ve diğer karbonhidrat içeriği yüksek besinlerin ısı işlem görmesiyle üretilen ürünlerde ortaya çıkan HMF bir kalite parametresidir ve mutajeniktir, insan sağlığı açısından zararlı başka bileşiklere metabolize olabilmektedir. Bu çalışma Ankara piyasasında satışa sunulan 5 adet nar ekşisi, 9 adet nar ekşisi sosu ve 4 adet üzüm pekmezinin HMF değerlerinin saptanması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada, HMF seviyeleri nar ekşilerinde 91.1 – 11485.7 mg/kg, nar ekşisi soslarda 41 – 151.9 mg/kg ve üzüm pekmezlerinde 11.9 – 101.7 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Elde edilen veriler çalışmaya alınan nar ekşilerinin ve 1 adet üzüm pekmezinin Türk Standartlarına uymadığını göstermektedir. Nar ekşileri, nar ekşisi sosları ve üzüm pekmezlerinin üretiminde kullanılan ısı işlem yöntemleri HMF seviyelerini artırabilir. Ayrıca uygunsuz depolama süresi ve koşulları, pH seviyeleri üretim sonrası HMF seviyelerini bu ürünlerde artırmış olabilir. Bu çalışmada, çalışmaya alınan ürünlerin Türk toplumu tarafından sıklıkla kullanılması ve tüketilen diğer besinlerden alınan HMF seviyeleri göz önünde bulundurulduğunda HMF' nin sağlığa zararlı etkilerine maruziyeti ortadan kaldırmak amacıyla üretim tekniklerinin iyileştirilmesi ve optimize edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Nar ekşisi, nar ekşisi sosu, üzüm pekmezi, hidroksimetilfurfural

## ABSTRACT

**Determination of hydroxymethylfurfural levels of pomegranate sour, pomegranate sour sauce and grape molasses sold in Ankara markets. Hacettepe University Institute of Health Sciences Food Service Systems. Ankara, 2014.** 5-Hydroxymethylfurfural is an intermediate compound as a result of non-enzymatic browning reaction, appears with dehydration of hexoses in acidic conditions and is a compound gives information about applied thermal process to food. HMF is a quality parameter and mutagenic substance forming as a result of thermal process of fruits and other carbohydrate rich foods and could metabolize to harmful compounds for human health. Turkish Standards Institute allows 50 mg/kg HMF levels for pomegranate sour and 75 mg/kg for grape molasses. There is no standard HMF level for pomegranate sour sauces. In this study HMF levels of pomegranate sour, pomegranate sour sauce and grape molasses were changed between 91.1 to 11485.7 mg/kg, 41 to 151.9 mg/kg, 11.9 to 101.7 mg/kg respectively. The data obtained in this study shows pomegranate sours and 1 of grape molasses do not comply the Turkish Standards. Heat treatment methods used in the manufacture of pomegranate sour, pomegranate sour sauce and grape molasses may increase the levels of HMF. In addition, improper storage time and conditions, pH levels in these products after production may have increased levels of HMF. As a result, in this research, research of products are often bought by Turkish society and HMF consumed from other foods takes the levels considering to HMF's harmful effects on health and to eliminate the exposure technical improvement and optimizing the production needed.

**Key words:** Pomegranate sour, pomegranate sour sauce, grape molasses, hydroxymethylfurfural

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No:</b>
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar	1
1.2. Amaç ve Varsayım	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. 5-Hidroksimetil-2-Furfural-HMF	3
2.2. HMF Oluşumu	5
2.2.1. Enzimatik Olmayan Esmerleşme Reaksiyonları ile HMF Oluşumu	5
2.3. Besinlerde HMF Seviyeleri	11
2.4. Diyetle HMF Alımları	15
2.5. HMF Metabolizması	17
2.5.1. HMF Emilim ve Eliminasyonu	19
2.6. Sağlık Riskleri	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi	23
3.2. Araştırmanın Planlanması ve Uygulanması	23
3.2.1. Örneklerin Hazırlanması ve Analizi	24
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	28
6. SONUÇLAR	35
KAYNAKLAR	37

## SİMGELER VE KISALTMALAR

FA	: furoik asit
FDCA	: 2,5 furandikarboksilik asit
g	: gram
HMF	: 5-hidroksimetilfurfural
HMFA	: 5-hidroksimetil-2-furonoik asit
HMFAG	: 5-hidroksimetilfuranacryloylgisin
kg	: kilogram
L	: litre
mg	: miligram
SMF	: sülfoksimetilfurfural
SULT	: sulfotransferaz



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No:</b>
Şekil 2.1. Hidroksimetilfurfural kimyasal yapısı	4
Şekil 2.2. Maillard reaksiyonu aşamaları	8
Şekil 2.3. Basit şekerlerden HMF oluşumu	9
Şekil 2.4. Karamelizasyonda HMF oluşumu	10
Şekil 4.1. Nar ekşilerinin HMF ve pH değerleri	25
Şekil 4.2. Nar ekşisi soslarının HMF (mg/kg) ve pH değerleri	27
Şekil 4.3. Üzüm Pekmezlerinin HMF (mg/kg) ve pH Değerleri	28
Şekil 4.4. Nar Ekşisi ve Nar Ekşisi Soslarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	28

## TABLOLAR DİZİNİ

**Sayfa No:**

Tablo 2.1. Çeşitli besinlerin ortalama HMF içerikleri.....	12
Tablo 2.2. Nar ekşisi genel özellikleri (TS 4953).....	14
Tablo 2.3. Üzüm pekmezi genel özellikleri (TS 3792).....	15
Tablo 4.1. Ankara piyasasında satılan nar ekşilerinin HMF içerikleri. ....	25
Tablo 4.2. Ankara piyasasında satılan nar ekşisi soslarının HMF içerikleri. ....	26
Tablo 4.3. Ankara piyasasında satılan üzüm pekmezlerinin HMF içerikleri. ....	27

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Kuramsal Yaklaşımlar

Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu sonucunda oluşan 5-Hidroksimetilfurfural (HMF) bir ara üründür ve heksozların asidik ortamlarda dehidrasyonu sonucu oluşan ayrıca besine uygulanan ısı işlem hakkında bilgi veren bir bileşiktir (1).

Isıl işlemler besinleri muhafaza etmenin ve tüketicilere uygun, organoleptik olarak çekici hale getirmenin en yaygın yollarından birisidir. Ancak uygulanan işlemin türü ve süresi besinlere zarar verebilir ve sonuç olarak besin değerini olumsuz etkileyebilir. Isıl işlem gören besinlerin kalite değerlendirmesi için kullanılan ve en iyi üretim koşullarını oluşturan farklı kimyasal indikatörler uygulanan işlemin kontrolü için kullanışlı olduklarını kanıtlamışlardır. HMF oluşumu doğrudan çoğu besinlere ısı uygulanmasına bağlıdır. HMF, taze ve işlem görmemiş besinlerde yer almasa da ısı işlemlerde ve karbonhidrattan zengin ürünlerin depolanmasında hızlıca seviyeleri artmaktadır. Bazı kurutulmuş meyvelerde ve karamel ürünlerde 1 g/kg' ı aştığı bildirilmiştir. İşlenmiş besinlerde HMF seviyeleri geniş aralıkta çeşitlilik göstermektedir. Öte yandan karamel solüsyonlar, tatlandırıcılar, bal veya kurutulmuş peynir altı suyu proteini gibi işlenmiş ürünlerin formülasyonlarında kullanılan içerikler besinlerde yer alan HMF içeriğinin başka bir kaynağıdır (2).

Genel olarak, Maillard reaksiyonu ve/veya heksoz indirgenmesinin yer aldığı besinlere ısı işlem uygulamalarında HMF ısı işlemin göstergesi olarak kullanılabilir. HMF, karbonhidrat içeren çoğu besinlerde aşırı ısı uygulaması ve uygunsuz depolama koşulları sonucu oluşan kalite kaybının bir göstergesi olarak bilinmektedir. HMF, işlenmiş meyveler, kahve, bal ve süt gibi çoğu besin için kimyasal indeks olarak düşünülmektedir. Ayrıca makarna, kurabiye, ekmek, kahvaltılık tahıllar gibi tahıl ürünlerine uygulanan ısı işlemlerin izlenmesinde kullanılmaktadır. HMF varlığı bira, şarap gibi alkollü içeceklerde de bildirilmiştir.

Isıl işlem görmüş süt ürünlerinde 1950' lerde HMF belirlenmesinde kalorimetrik yöntemler geliştirilmiştir. Modern analiz teknikleri genel olarak UV dedektörlü HPLC sistemine dayanmaktadır. Türevlendirme sonrası iyon kromatografisi gibi diğer yöntemler de tanımlanmıştır (3).

Sıcaklık, pH ve su aktivitesi HMF oluşumunun bağlı olduğu değişkenlerdir. İçerik seçimi, işlem sırasında ısının kontrolü, belli koşullarda uzatılmış ısıl işlemler, uygun depolama koşullarının seçimi HMF oluşumunu azaltabilir.

Yüksek konsantrasyonlarda HMF sitotoksiktir, gözlerde, üst solunum yolunda, deride ve mukus membranda iritasyona neden olmaktadır. Hücresel sistemlerde yapılan laboratuvar çalışmaları HMF' nin insan sağlığı üzerine ciddi sorun teşkil etmediğini göstermektedir, ancak bazı genotoksik metabolitlerle bağlantı HMF' nin insan sağlığı üzerine etkileri konusunda endişe uyandırmaktadır.

HMF farklı besin gruplarının üretim ve depolama aşamasında farklı seviyelerde oluşabilir. Besinlere uygulanan ısıl işlem sonrasında HMF, kuru meyveler, ketçap, hardal, işlenmiş tahıllar, ekmekek, kahve, reçeller, marmelatlar, bal, meyve suları, alkollü içecekler, süt, pekmez, nar ekşisi gibi besinlerde yüksek seviyelerde görülmektedir. Türk standartları enstitüsü nar ekşilerinin üretimi aşamasında ısıl işlem nedeniyle oluşan HMF seviyelerinin en üst sınırlarını 50 mg/kg, üzüm pekmezlerinin ise 75 mg/kg olarak belirlemiştir. Nar ekşisi sosları için yasal düzenleme yoktur.

## **1.2. Amaç ve Varsayım**

Bu çalışmanın amacı Ankara' da satışa sunulan farklı markalara ait nar ekşileri, nar ekşisi sosları ve üzüm pekmezlerinin HMF seviyelerinin saptanmasıdır.

Bu çalışma aşağıdaki varsayıma dayanarak planlanmıştır.

HMF nar ekşisi, nar ekşisi sosu ve üzüm pekmezinde yüksek seviyelerde bulunur.

## 2. GENEL BİLGİLER

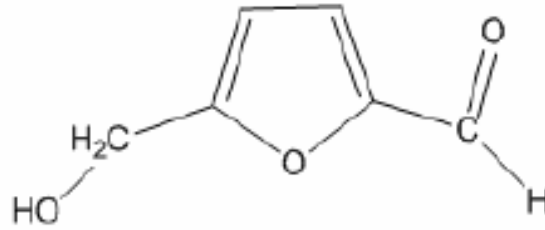
### 2.1. 5-Hidroksimetil-2-Furfural-HMF

Hidroksimetilfurfural (HMF) şekerlerden elde edilen suda çözünür, heterosiklik organik bir bileşiktir. HMF bir furan türevidir ve hem alkol hem de aldehid fonksiyonel gruplarına sahiptir. Süt, bal, meyve suları ve ekmek gibi besinlerde çok az miktarlarda bu bileşik doğal olarak bulunmaktadır. HMF asidik ortamlarda uzun süreli depolama sonucunda da ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle HMF, aşırı ısı işlem, bozulma ve olası şeker veya şurup ile taşıyış göstergesidir (1). Gıdalarda HMF oluşumunun oranı sıcaklık haricinde şeker türüne, pH' ya, su aktivitesine göre değişmektedir (2).

HMF, Maillard tepkimesi sırasında ortaya çıkan bir ara üründür ve besinlere ısı işlemler uygulanırken şekerlerin asidik ortamlarda dehidrasyonundan (karamelizasyon) oluşmaktadır (3). HMF oluşumunda anahtar ara ürün 3-deoksiozone olarak bilinmektedir. Asidik ortamlarda, düşük sıcaklıklarda da oluşurken HMF konsantrasyonları sıcaklık ve depolama süresi arttıkça artmaktadır. Kuru ve pirolitik şartlarda fruktoz ve sukrozdan HMF oluşumu için alternatif bir yol öngörülmektedir. Bu durum son derece reaktif olan fruktofuranosil katyonunun HMF' a dönüşümüne neden olmaktadır (4).

Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları indirgen şeker ve amino asitler içeren gıdaların işlenmesinde ve pişirilmesinde yer almaktadır. HMF bu reaksiyonun erken göstergesidir ve çoğu karbonhidrattan zengin besinde oluşmaktadır. Ek olarak, bu siklik aldehit asidik ortamlarda heksoz dehidrasyonu sırasında da oluşmaktadır. Ayrıca, HMF askorbik asit ayrışma ürünlerinden biridir ve meyve suyu yapım aşamasında uygulanan ısı yoğunluğunu saptamak için kullanılır. Bundan dolayı, HMF sadece Maillard reaksiyonu sırasında değil, aynı zamanda amino grup gereksinmesi olmadan heksoz indirgenmesi ve karamelizasyon sırasında da oluşabilir (5). Şekil 2.1' de HMF' nin kimyasal yapısı belirtilmektedir.

HMF, aminoasit veya protein varlığında, heksozların ısıtılmasında ve fruktoz, sukroz ve glikozun direk ısı ile dehidrasyonunda ortaya çıkar. HMF, özellikle karamelli ürünlerde (9.5 g/kg), kurutulmuş meyvelerde, şaraplarda, balzamik sirkelerde, pekmezlerde ve nar ekşilerinde olmak üzere çoğu besinde yüksek seviyelerde bulunmaktadır. Kahve tüketimi fazla olan bireylerde kahve HMF alımı için ana kaynak olabilir. Tahmin edilen günlük alım kişi başına 30-150 mg aralığındadır (6).



**Şekil 2.1.** Hidroksimetilfurfural kimyasal yapısı (7) .

İşlenmemiş ve taze gıdalarda HMF miktarı çok az olmasına rağmen ısı ile konsantrasyonu artmaktadır, böylece besinlerde ısı zararını değerlendirmek için iyi bir araçtır. Dünya Sağlık Örgütü ve Avrupa Birliği balda (40 mg/kg) ve elma suyunda (50 mg/L) bozulma ve ısı uygulaması göstergesi olarak en yüksek bulunabilecek HMF değerlerini belirtmiştir (5).

HMF, düşük pH değerinde Amadori ürünlerinin parçalanması sonucu meydana geldiği gibi heksozların asidik ortamda bozulmalarından da meydana gelebilmektedir. HMF, bal, domates salçası, greyfurt, meyve ürünleri (konsantreler, nar ekşileri, pekmezler vb.), kahveler, işlenmiş tahıllar gibi birçok besinde yer almaktadır. Pekmezde en önemli kalite problemlerinden biri kahverengileşme reaksiyonları olup, bu reaksiyonların ürünlerinden olan HMF' a değişik oranlarda birçok pekmezde rastlanmıştır (8).

Amerika Birleşik Devletleri Sağlık Bakanlığı Ulusal Çevre Sağlığı Bilimleri Enstitüsü besinlerin içeriğinde çoğunlukla yer almasından ve bu sınıftaki diğer ürünlerin karsinogenik etkilerine dair kanıtlardan dolayı HMF' ı toksisite testlerine tabi tutmuştur. Sonuç olarak çoğu ülkeler besinlerde ve içeceklerde bulunması gereken HMF konsantrasyonlarına kısıtlamalar getirmiştir (1).

Besinlerde yer alan HMF ve yan ürünleri sulfoksimetilfurfurol (SMF) ve klorometilfurfurol toksikolojik endişeye sitotoksik, genotoksik, nefrotoksik, mutajenik ve karsinogenik etkilerinden sonra neden olmuştur. Ek olarak, HMF' ın, mutajenik yan ürünü olan SMF' a çeviren sulfotransferazlara bağlı olarak karsinogenik potansiyeli olabileceği bildirilmiştir (5).

## **2.2. HMF Oluşumu**

Besinlere uygulanan ısı işlemler sonrası HMF seviyeleri hızlı olarak artış göstermeye başlamaktadır. Genel literatür bilgisine göre HMF oluşumu ısı işlem sonucu oluşan enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarından Maillard reaksiyonu ve karamelizasyon ile oluşmaktadır.

### **2.2.1. Enzimatik Olmayan Esmerleşme Reaksiyonları ile HMF Oluşumu**

Enzimlere bağlı olmadan ısı işlem, pH, su aktivitesi faktörleri etkisinde gerçekleşen depolama sırasında devam eden bu renk değişimine enzimatik olmayan renk esmerleşmeleri, bu renk değişimlerinin oluşumunu sağlayan reaksiyonlara da enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları denilmektedir. Meyve suları, kurutulmuş meyveler, işlenmiş tahıllar gibi ürünlerde renk esmerleşmesi belirgin gözlemlenmektedir. Bu reaksiyonlar sonucunda melanodin denilen esmer renkli bileşikler oluşmaktadır ve HMF bu bileşiklerin en önemlilerindedir (9).

Genel olarak bir ürüne uygulanan ısının yüksek oluşu ve süresinin uzunluğu enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarını artırmaktadır. Ayrıca depo sıcaklığı da aynı şekilde enzimatik olmayan esmerleşmeleri etkilemektedir. Diğer taraftan enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları besinlerin kuru madde içerikleriyle de

ilgilidir. Isıl işlem etkisiyle besinlerin su içeriği belli bir düzeye kadar düşerken esmerleşme reaksiyonları ve dolayısıyla esmerleşmeler artmaktadır. Bu nedenle kurutulmuş meyve ve sebzelerde, açık kazanlarda yüksek ısı uygulaması ile kaynatılarak üretilen nar ekşileri, pekmezler gibi ürünlerde esmerleşmeler ve esmerleşme reaksiyonları sonucu oluşan bileşikler aşırı düzeyde görülmektedir. Isıl işlemler gıda üretiminde raf ömrü uzatılmış güvenli gıdalar elde etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır ve ürünün son kalitesi üzerine güçlü etkisi vardır. Isıl işlem uygulanmasına bağlı olarak fırında pişirme, kızartma, kavurma, sterilizasyon gibi yöntemlerde enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları tat, görüntü gibi istenilen ve toksik bileşiklerin oluşumu gibi istenilmeyen etkilere neden olmaktadır (10). Enzimatik esmerleşme reaksiyonları sonucu mutajenik, karsinojenik ve sitotoksik etkiler gösterebilen heterosiklik aminler, nitrozaminler ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi bileşiklerin oluşumuna neden olmaktadır (11).

Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları besinlerin işlenmesi ve depolanması sırasında meydana gelen en önemli kimyasal olaylar arasında yer almaktadır. Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları; askorbik asit degradasyonu, karamelizasyon ve Maillard reaksiyonu olmak üzere 3 grup altında toplanabilir. Maillard reaksiyonu ve karamelizasyon ısıl işlem sonucu ortaya çıkan kontaminantlardan HMF' in oluşumuna neden olan enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarıdır (12).

### **2.2.1.1. Maillard Reaksiyonu ile HMF Oluşumu**

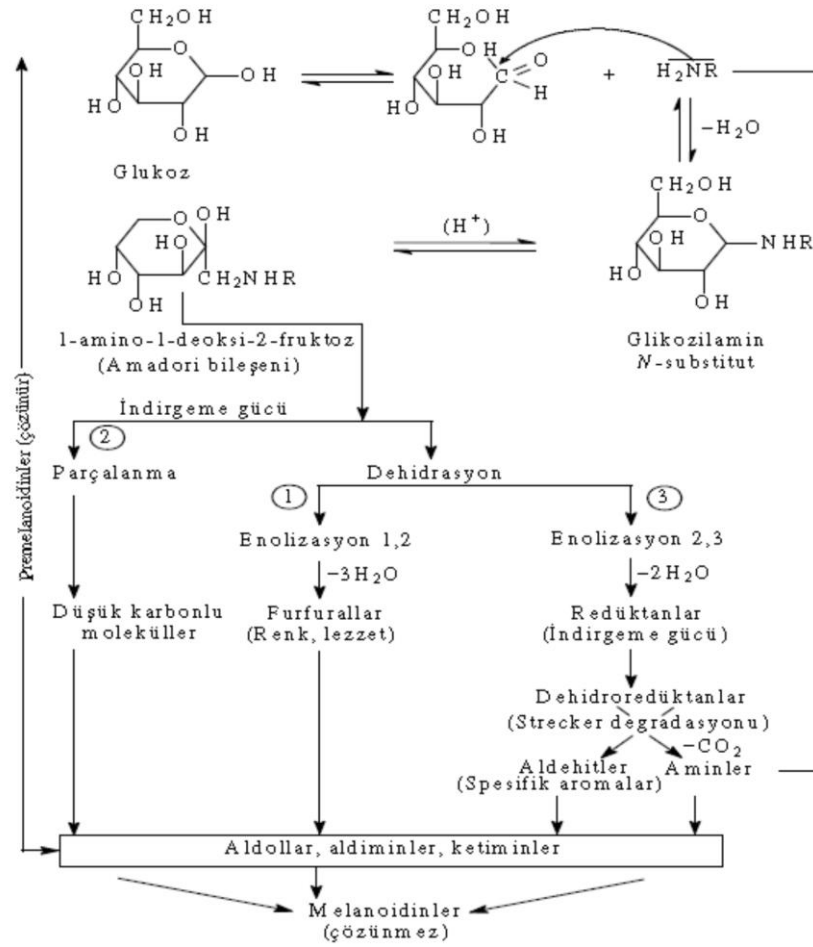
Maillard reaksiyonu indirgen şekerlerin karbonil grubu ile amino asitlerin amino grubunun birleşmesi ile başlar ve erken uçucu ürünleri, orta ve yüksek molekül ağırlıklı polimerleri oluşturur. Bu katılım reaksiyonları amino asitlerle lipit oksidasyon ürünleri arasında da meydana gelmektedir. Lipit oksidasyon ürünlerinin Maillard reaksiyonlarındaki rolü indirgen şekerlerin rolüne benzerdir. Spesifik aroma ve renk karakteristiklerine katkıda bulunan oluşum ürünleri Maillard Reaksiyon Ürünleri olarak adlandırılır. Enzimatik olmayan renk esmerleşmeleri olarak da bilinen bu reaksiyonlar pH, reaktanların tipi, sıcaklık, su aktivitesi gibi faktörlere



bağlı olarak renkli veya renksiz reaksiyon ürünleri oluşturur. Yapılan son çalışmalarda Maillard reaksiyon ürünlerinin zararlı etkilerinin yanında antioksidan, antialerjenik, antimikrobiyal özellikleri gibi faydalı etkileri de olduğu da bildirilmektedir. Reaksiyonlar fırında pişmiş (ekmek, kurabiye, kek vb.), kızartılmış (et, patates cipsi vb.), üretiminde ve/veya sonrasında ısı işlem görmüş (bal, pekmez, kahve, reçel vb.) bütün gıdalarda gerçekleşir. Reaksiyonun gerçekleştiği temel gıdalar raf ömrü süresince yavaş, ısı işlem görmesi durumunda ise hızla bu reaksiyona girmekte ve Maillard reaksiyon ürünleri oluşmaktadır. Oluşan ürünlerin kompozisyonu pH, asitlik, reaktantların kompozisyonu, sıcaklık, zaman, oksijenin konsantrasyonu, su aktivitesi gibi etkenlerle değişmektedir (8).

Maillard reaksiyonu ilk basamak, ileri basamak ve son basamak olmak üzere üç aşamada gerçekleşmektedir (13). Maillard reaksiyonunun ilk basamaklarında oluşan ilk kararlı ürünler Amadori bileşikleridir. Bu ürünler proteinlerin amino gruplarının ve indirgen şekerlerin karbonil gruplarının reaksiyonu sonucunda oluşur. Amadori bileşikleri ürünlere aroma ve kahverengi renk kazandırırken, proteinlerin besinsel değerinde azalmaya yol açmaktadır (14).

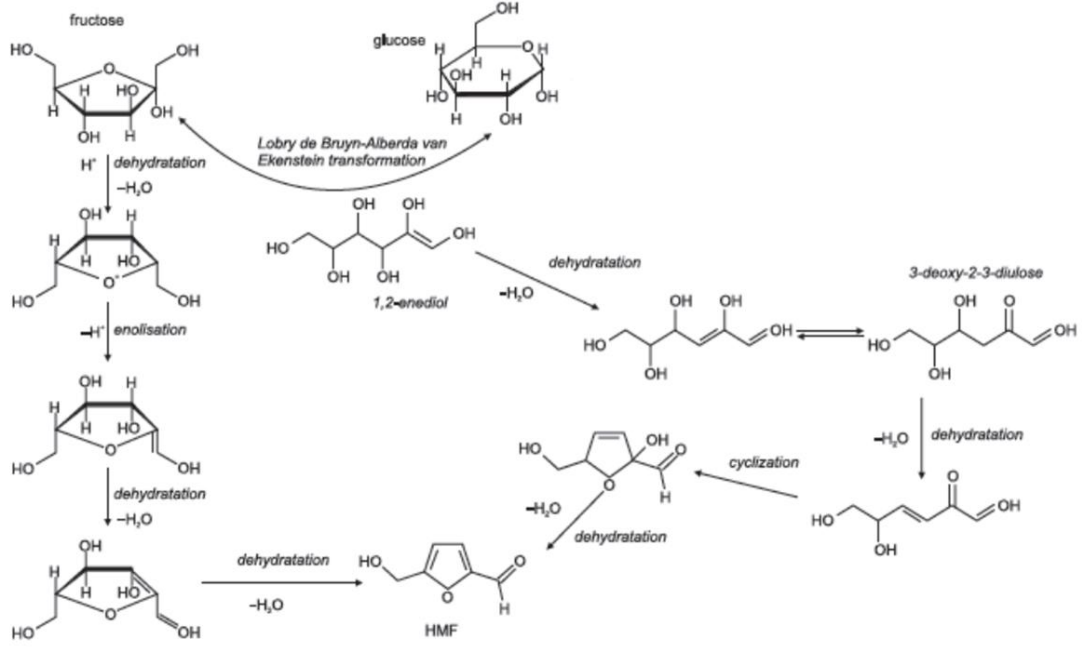
Maillard reaksiyonunun ilk aşamasında oluşan Amadori ürünleri ortam şartlarına bağlı olarak farklı ürünlere parçalanırlar. Ketozaminlerin amino gruplarındaki serbest hidrojen, diketozamin oluşturmak için aldozların ikinci molekülü ile reaksiyon verir. Bu reaksiyon sonucunda, monofruktozamin ve nitrojen içermeyen karbonil bileşikler meydana gelir. Ayrıca Amadori ürünleri, enolizasyon ile 1,2 enediol forma dönüşür. 1,2 enediol'den de 3-deoksiosuloz oluşur. Bu bileşik dehidrasyon ile renk ve aroma veren HMF ve diğer furfural bileşikleri oluşturur (13). Maillard reaksiyonunun son aşamasında kahverengi pigmentler, aroma ve tat bileşikleri oluşur (15). Şekil 2.2'de Maillard reaksiyon aşamaları gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Maillard reaksiyonu aşamaları (16).

Maillard reaksiyonlarının gıda kalitesi üzerine olumlu ve olumsuz etkileri bulunmaktadır. *In vitro* çalışmalar mutajenik, karsinojenik ve sitotoksik etkileri içeren bazı zararlı etkilerini göstermektedir. Aşırı glikasyonun esansiyel amino asitlerin tahrip olmasına, sindirilebilirliğinin azalmasına, enzimlerin inaktivasyonuna, düzenleyici molekül bağlarının inhibisyonuna, glikasyona uğramış hücre dışı matrisin çapraz bağlanmasına, proteolizisin hassaslığının azalmasına, nükleik asit fonksiyonlarının anormalleşmesine, endositozun ve makromoleküllerin tanımlanmasının tahrip olmasına, bağışıklık sisteminin zayıflamasına neden olduğu ifade edilmektedir. Bazı çalışmalarda özellikle reaksiyonun erken basamaklarında oluşan Maillard reaksiyon ürünlerinin savunulanı aksine faydalı bileşikler olduğu ifade edilmektedir. Bu anlamda bazı oluşan Maillard reaksiyon ürünlerinin antioksidan etkili ve faydalı ürünler olduğuna dair bulgular mevcuttur. Maillard

reaksiyon ürünleri karışımının antioksidan aktiviteleri, melanoidinlerin üstün radikal süpürme özellikleri, oksijenle reaksiyonları, O<sub>2</sub> ve OH gibi ürünlerle reaksiyonları ile açıklanmaktadır. Maillard reaksiyonu ara ürünlerinden olan HMF' in antioksidan özelliği olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (8). Şekil 2.3, basit şekerlerden HMF oluşum yolunu göstermektedir.

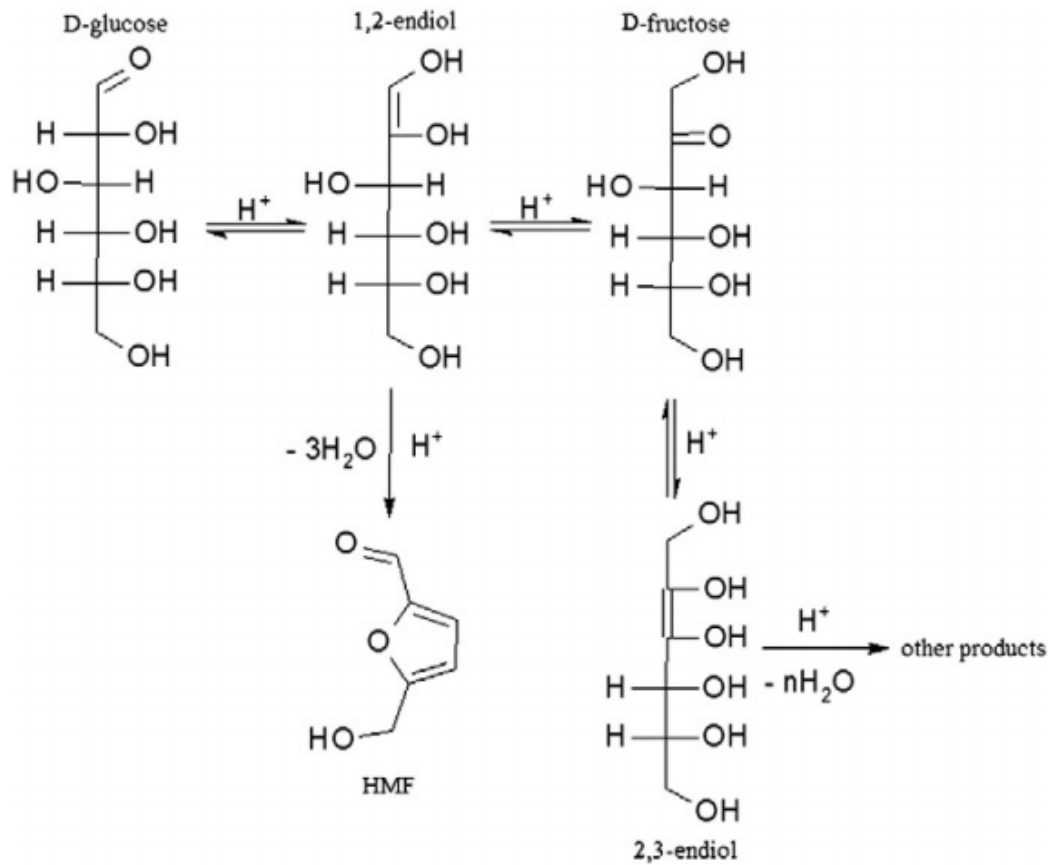


Şekil 2.3. Basit şekerlerden HMF oluşumu (7).

### 2.2.1.2. Karamelizasyon ile HMF Oluşumu

Karamelizasyon, yoğunlaşma basamağı olmadan şekerlerin indirgenmesini içeren esmerleşme reaksiyonlarına bir örnektir. Şekerler erime noktalarının üstünde ısıtıldığında alkali veya asit ortamlarda kahverengi polimerler oluşturarak koyulaşırlar. Yüksek sıcaklıklarda uzun süre uygulanan ısıl işlemler, besinlerde kalitenin büyük çapta düşmesine yol açan renk ve tat değişimlerine neden olurlar. Şekerlere yüksek ısı uygulandığında enolizasyon, dehidrasyon, dikarbonil bölünme gibi reaksiyonlar gerçekleşir. Şekerlerin disakkarit olduğu durumlarda iki monosakkarit oluşturan hidroliz basamağı gerçekleşir. İlk olarak polisakkaritler monosakkaritlere ayrışırlar ve karamelleşirler. Bu reaksiyon, yüksek sıcaklığın

uygulandığı her koşulda gerçekleşmekle birlikte ortamda çok az miktarda bile alkali bulunması halinde şiddetlenir. Karamelizasyon pentozlardan furfural, heksozlardan HMF ana indirgenme ürünü olarak ortaya çıkar (Şekil 2.4) (17). Asidik ortamda heksozlara ısı işlem uygulanması sonucu HMF oluştuğu uzun zamandır bilinmektedir. HMF, asitle katalizlenmiş dehidrasyon ve kapak zincir reaksiyonu mekanizması ile heksozlardan oluşmaktadır. Glikoz, fruktoz, sukroz, maltoz, maltotrioz, laktoz, ve bazı pentozlar aminoasitler ve proteinlerle birlikte besinlerde yer almaktadır.



**Şekil 2.4.** Karamelizasyonda HMF oluşumu (18).

Karamelizasyon sırasında indirgenen karbonhidratlar direk 1,2-enolizasyon, dehidrasyon ve kapak zincir reaksiyonlarına girer. Karamelizasyon oluşumu Maillard oluşumundan daha fazla sıcaklığa ihtiyaç duyar (9).

### 2.3. Besinlerde HMF Seviyeleri

Prosesle bağlı olarak HMF seviyeleri, farklı besin gruplarında ve hatta aynı besinlerde oldukça farklılık göstermektedir. Bal, pekmez, meyve suları, şaraplar, bira, kahve, bebek mamalarında ve fırınlanmış ürünlerde HMF' a rastlanmıştır. Bazı besinlerin ortalama HMF içerikleri Tablo 2.1' de gösterilmiştir.

Isıl işlemler ve uygun olmayan depolama sıcaklıkları meyve ürünlerinin ve duyuşsal ve besinsel özelliklerini olumsuz yönde etkilemektedir. Renk hızlıca koyulaşmaktadır. Taze, işlem görmemiş meyve sularında HMF eser miktarda bulunmaktadır. Depolanan meyve sularında HMF oluşmaya başlamaktadır ve renk ve tat değişimiyle ilişkilendirilmektedir. Isıl işlem ve uzun veya uygun olmayan depolama yüksek HMF seviyelerinin nedeni olarak gösterilmektedir. Elma sosu ve üzüm jölesinde HMF konsantrasyonları uzun depolama kalitesi göstergesi olarak kullanılmaktadır. Taze üzümde HMF yer almamasına rağmen üzüm konsantrelerinin üretiminde ısıl işlem sonucunda açığa çıkmaktadır. Üzümlerin HMF oluşturma kapasiteleri diğer meyvelere göre daha fazla gözükmektedir. Bu üzüm sularının şeker içeriği diğer içeriklerine bağlı gelişebilir. Avrupa Ekonomi Komitesi HMF seviyelerini meyve sularında 20 mg/L ve meyve konsantrelerinde 25 mg/L olarak belirlemiştir (19).

**Tablo 2.1.** Çeşitli besinlerin ortalama HMF içerikleri (9).

Besinler	HMF miktarları (mg/kg)
Elma suyu	7.4
Portakal suyu	0.4
Nar suyu	760 - 5000
Şeftali reçeli	36.3
Çikolatalar	273.8
Kurutulmuş meyveler	5.5 – 1350
Tahıllar	14 – 53
Kahve	100 – 1900
Meyve suları	2 - 22
Bal	10.4 – 58.8
Üzüm pekmezi	34.1
Nar ekşisi	18.56 – 1542.98

Isıl işlem sırasında HMF oluşumu pirinç şarabı, bal, kurabiye gibi ürünlerde çalışılmıştır. Bu çalışmalar HMF oluşumunu şeker türü, süre ve fırında pişirme sıcaklığının etkilediğini göstermektedir. Yakın zamanlı yapılan bir çalışma, sukroz içerikli kurabiyelerin glikoz veya fruktoz içerikli kurabiyelere göre 250°C' nin altında daha az HMF oluşturduğu gösterilmiştir (20).

Oda sıcaklığında balın asiditesinin indirgen şekerler ve sukroz üzerine etkisi sonucu oluşumuyla HMF balda doğal olarak bulunmaktadır. Baldaki HMF miktarı ısıtma işlemi ve/veya uygunsuz sıcaklıklarda depolama sonucu artmaktadır. Ballara uygulanan ısıtma işlemleri diastaz aktivitesinde düşüşe ve HMF içeriğinde artışa neden olur. Kodeks Alimentarius Standartları ballarda 40 mg/kg HMF üst limitine izin vermektedir. Çok yüksek HMF miktarları (>500 mg/kg) invert şuruplarla tatlandırılması yapıldığını göstermektedir (19).

Yenidoğan mamalarının HMF içerikleri önemlidir. Bu mamalar bazı zamanlarda yenidoğanlara verilen tek beslenme ürünüdür ve yenidoğanların tüm gereksinimini sağlamalıdır. Ancak bu mamaların askorbik asit, demir ve laktoz

içeren çeşitli bileşiklerle zenginleştirilmesi Maillard reaksiyonu yönünden inek sütüne oranla bu ürünleri daha şüpheli yapmaktadır. Süt ve süt bazlı ürünlerde HMF miktarı (i) reçetede yer alan çiğ madde kalitesine, (ii) uygulanan ısıl işleme, (iii) depolama koşullarına bağlı olduğu belirtilmektedir (19).

Domatesin endüstriyel prosesi oksijen varlığında 2-10 saat arası yüksek sıcaklıklarda (60-110°C) <15% neme ulaşmayı içerir. Bundan dolayı ürünler belli seviyelerde oksidatif hasar gösterebilir (21). İşlem ve depolama sırasında domateslerin duyu ve besinsel özellikleri değişikliğe uğramaktadır. Genel olarak, HMF işlenmiş domates ürünlerinde uygulanan ısı hasarının büyüklüğünü belirlemek için kullanılır (22). Domateslerin kurutulması da HMF içeriğinde renk ve görüntüde değişikliğe yol açan artışa neden olmaktadır (21).

TS 4953 standardına göre nar ekşisi, nar meyvesinin iki veya dört parçaya bölünüp preslenmesi, elde edilen nar suyunun durultulması ve tekniğine uygun olarak açıkta veya vakum altında koyulaştırılması ile elde edilen ve gıdalara çeşni vermek amacıyla üretilen ekşi bir gıda maddesidir.

Nar ekşisinin TS 4953 standardına göre genel özellikleri Tablo 2.2'de verilen değerlere uygun olmalıdır.

**Tablo 2.2.** Nar ekşisi genel özellikleri (TS 4953) (23).

ÖZELLİKLER	SINIRLAR			
- Suda Çözünür Kuru Madde, % (m/m), en az	68,0			
- Titrasyon Asitliği (SA), % (m/m), en az	7,5			
pH Değeri	3,0			
Hidroksimetil furfural (HMF), (mg/kg), en çok	50			
Sakaroz	Bulunmamalı			
Koruyucu Madde	Bulunmamalı			
Yapay Boyar Madde	Bulunmamalı			
<b>Metalik Maddeler (Kontaminasyon)</b>				
Arsenik (As), (mg/kg), en çok	0,2			
Bakır (Cu), (mg/kg), en çok	5,0			
Çinko (Zn), (mg/kg), en çok	5,0			
Demir (Fe), (mg/kg), en çok	15,0			
Kalay (Sn), (mg/kg), en çok	150,0			
Kurşun (Pb), (mg/kg), en çok	0,3			
Çinko, bakır ve demir toplamı, (mg/kg), en çok	20,0			
<b>Mikrobiyolojik Özellikler</b>				
Toplam mezofilik aerobik bakteri, (adet/g), en çok	n	c	m	M
Maya ve küf sayısı, (adet/g), en çok	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Ozmozofilik maya, (adet/g), en çok	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>
Fekal koli (adet/g)	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>
Salmonella (adet/25 g)	5	5	0	0
Staphylococcus aureus (adet/g)	5	5	0	0
Aflatoksin B1, (ppb), en çok	5	5	0	0
Aflatoksin (B1+B2+G1+G2), (ppb), en çok	5,0			
	10,0			
M: "c" sayıdaki deney numunesinin gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı				
n: Deney numunesi sayısı				
c: "m" ile "M" arasındaki sayıda mikroorganizma bulunduran kabul edilebilir en fazla deney numunesi sayısı.				
m: (n-c) sayıdaki deney numunesinde bulunmasına müsaade edilen mikroorganizma sayısı				

**Kaynak:** Türk Standartları Enstitüsü TS 4953 Nar Ekşisi standardı

TS 3792 standardına göre üzüm pekmezi, taze veya kuru üzüm şirasının asitliğini azaltmaksızın veya kalsiyum karbonat ile asitliğini azaltarak tekniğine uygun olarak vakum altında veya açıkta koyulaştırılması ile elde edilen koyu kıvamlı veya bal (TS3036), çöven, süt (TS 1019), süttozu (TS 1329), yumurta akı gibi maddeler ilavesi ile katılaştırılan bir mamuldür. Üzüm pekmesinin kendine has kokusu, rengi ve tadı olmalıdır. Yanık tat ve yabancı koku bulundurmamalıdır. Üzüm pekmesinin görünüşü kendine has ve homojen olmalıdır. Üzüm pekmezi şekerlenmemiş olmalıdır.

Üzüm pekmezlerinin TS 3792 standardına göre genel özellikleri Tablo 2.3'te verilen değerlere uygun olmalıdır.



**Tablo 2.3.** Üzüm pekmezi genel özellikleri (TS 3792) (24).

Özellikler	Sıvı pekmez	Katı pekmez
<b>Kimyasal özellikler</b>		
-Suda çözünür katı madde (briks) % (m/m) en az	68	80
-Fruktoz ve glikoz oranı (F/G)	0,9 -1,1	0,9-1,1
-Sakaroz (%)	1	1
-Toplam kül %, (m/m) en çok	2,5	3
-Suni boya maddeleri	Bulunmamalı	Bulunmamalı
-Hidroksimetil furfural (mg/kg) en çok	75	100
-Koruyucu madde	Bulunmamalı	Bulunmamalı
-C 13 (‰) binde	-23,5'den daha negatif olmalı	-23,5'den daha negatif olmalı
<b>Organik asitler</b>		
-Fumarik asit	Bulunmamalı	Bulunmamalı
-Okzalik asit	Bulunmamalı	Bulunmamalı
-İzobutirik asit	Bulunmamalı	Bulunmamalı
-Metalik maddeler(kontaminasyon)		
Arsenik (As) (mg/kg) en çok	0,2	0,2
Bakır (Cu) (mg/kg) en çok	5,0	5,0
Çinko (Zn) (mg/kg) en çok	5,0	5,0
Demir (Fe) (mg/kg) en çok	25,0	25,0
Kalay (Sn) (mg/kg) en çok	150,0	150,0
Kurşun (Pb) (mg/kg) en çok	0,3	0,3

**Kaynak:** Türk Standartları Enstitüsü TS 3792 üzüm pekmezi standardı

#### 2.4. Diyetle HMF Alımları

Besinlerde bulunan HMF miktarları karbonhidrattan zengin ürünlerin prosesi sırasında uygulanan ısı yüküne doğrudan bağlıdır. Besinlerdeki HMF seviyeleri büyük ölçüde çeşitlilik göstermektedir, bazı karamel ürünlerde ve kurutulmuş meyvelerde 1g/kg a kadar çıkabildiği bildirilmiştir (25). HMF ayrıca fırın ürünlerinde, meyve sularında, kahvede ve sirkelerde bulunmaktadır. Genel olarak HMF işlem görmüş meyve, kahve, bal ve sütlerde kalite göstergesi olarak kullanılabilir (26) . Ayrıca HMF makarna kurutma, ekmek fırınlama, bebek mamaları ve kahvaltılık gibi tahıl ürünlerine uygulanan ısı işlemlerin izlenmesinde de kullanılmaktadır. Kurutulmuş meyve, karamel, sirke gibi besinlerde HMF konsantrasyonları çok yüksek olmasına rağmen diyet HMF alımının ana kaynakları ekmek ve kahvedir (27).

Max-Rubner-Enstitüsü tarafından yapılan Alman Ulusal Beslenme Çalışması'nda besin tüketim kaydına göre diyetle HMF alımlarını belirlemiştir (28) . Maruziyet değerlendirmesi üretim ve depolama aşamalarında HMF oluşabilecek 13 besin grubunda yapılmıştır; kuru meyveler ve kuru meyvelerden yapılmış içecekler,

taze meyveler, ketçap ve hardal, tahıllar ve ekmek, şekerler, kuruyemişler, kahve, reçeller-marmelatlar ve bal, meyve suları, alkollü içecekler, süt, sirke ve diğer.

İlk grupta (kuru meyve, erik, üzüm ve hurma) kurutulmuş meyveler en fazla HMF konsantrasyonlarına sahiptir. Alman çalışmasından elde edilen veriler ve birkaç çalışmaya göre ortalama konsantrasyonlar 5.5 ile 1350 mg/kg arasında değişmektedir. En yüksek seviye kurutulmuş elma ve armutta 3500 mg/kg bulunmuştur. Hurma ve üzümlerde daha düşük seviyeler bulunmuştur. Taze erikte yüksek konsantrasyonlarda HMF bulunmaktadır (2200 mg/kg' a kadar) (29). Tahıl ve tahıl ürünleri, özellikle ekmek HMF alımının ana kaynağı olarak gösterilebilir. Ortalama konsantrasyonlar 14 ile 53 mg/kg arasında değişmektedir. Tahıllardan ortalama günlük HMF alımı 2 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Tüketimleri daha fazla olan beyaz ekmek veya tam tahıl ekmeği gibi tahıllar günlük 30-50 µg/kg vücut ağırlığı HMF sağlamaktadır (30). Alman ve Norveç çalışmasından elde edilen verilere göre kuruyemişler HMF için uygun bir kaynak değildir. Meyve suları yüksek konsantrasyonlarda HMF içerdiğinden (ör: erik suyu) veya az konsantrasyonlarda yer aldığı ürünlerin (ör: elma suyu) fazla tüketiminden dolayı ana kaynak olarak gösterilebilir. Çoğu meyve suyu için günlük HMF alımı 1 µg/kg vücut ağırlığı altında bildirilmiştir. Sadece elma suyuna bakıldığında günlük alım 16.8 – 92.5 µg/kg vücut ağırlığı arasında değişmektedir (29). Bira ve diğer alkollü içecekler de HMF maruziyetine neden olmaktadır. İlginç olarak, balzamik sirke yüksek HMF konsantrasyonları bulundurmaktadır. İspanyol çalışmasından elde edilen verilere göre balzamik sirkeden günlük 1.5 µg/kg vücut ağırlığı HMF alımı bildirilmiştir (30).

Kahve HMF için önemli bir kaynaktır ve 4000 mg/kg' a kadar HMF varlığı kahve tozunda tespit edilmiştir ancak çoğu seviyeler daha düşüktür (12-300 mg/kg). Kahve tüketimine bağlı olarak HMF alımı İspanya' da yapılan bir çalışmada araştırılmıştır ve kahve tüketimi ile yüksek dozda HMF alımı saptanmıştır (31).

HMF, yiyeceklerde, içeceklerde, parenteral solüsyonlarda ve sigara dumanında yer almaktadır. İspanya, Norveç ve Almanya’ da yapılan çalışmalarda kişi başına günlük HMF alımı 2-30 mg olarak bildirilmiştir (32).

## 2.5. HMF Metabolizması

HMF metabolizmasında yer alan ana yol HMF’ nin 5-hidroksimetil-2-furanoik (HMFA) aside oksidasyonunu ve bunu takiben N-(5-hidroksimetil-2-furoyl) glisin (HMFG, HMFA’ya bağlanmış glisin) oluşturmak için glisine bağlanmasını içermektedir. HMFA ve HMFG idrarla atılan ana metabolitlerdir. Hem farelerde hem de insanlarda HMFA/HMFG oranının HMF alımının artışına bağlı olarak azalması serbest glisin varlığının konjugasyon oranını sınırladığını ileri sürmektedir ve serbest furoik asit (FA) veya 2,5-furandikarboksilik asit (FDCA) atımı ile sonuçlanmaktadır (19) . Farklı seviyelerde (0.08-500 mg/kg vücut ağırlığı) HMF’ nin oral gavaj ile verilmesi üzerine yapılan çalışmalar HMF’ nin sıçanlarda ve farelerde gastrointestinal sistemden hızlıca emildiğini göstermektedir. Ayrıca hücrelerin maruz kaldığı HMF konsantrasyonunun artması HMF emiliminin ve transportunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak, çalışmacılar gıda bileşiminin, posa içeriği gibi unsurların HMF kullanımını etkilediğini savunmaktadır. Gastrointestinal emilimden kaçan HMF’ nin enterik bakteriler tarafından furfuril alkole dönüştürülebileceği de varsayılmaktadır (12). HMFA, HMFG ve FDCA sıçanların ve farelerin idrarlarında saptanmıştır. İnsanlarda HMFG, HMFA ve FDCA idrarda saptanmasına bağlı olarak bu ürünlerin besinlerdeki HMF’ den oluştuğu gösterilmiştir. HMFA, HMFG, glisin ve amino-metan kurutulmuş erik suyu tüketen bireylerin idrarlarında saptanmıştır (33). İdrar örneklerinin alfa-glukuronidaz ve sulfataz ile inkübasyonu idrarda HMF türevlerinin miktarını önemli ölçüde değiştirmemiştir. Dolayısıyla HMF türevlerinin glukuronid ve sülfatla konjüge olmadığı ortaya çıkmıştır. Ek olarak, HMF’ nin 5-hidroksimetilfuranacryloyl-CoA’ ya dönüştüğü ve glisinle bağlandıktan sonra 5-hidroksimetilfuranacryloylglisin (HMFAG) olarak idrarla atıldığı çıkarılabilir. Ancak HMFAG hayvanların ve kemirgenlerin idrarında daha saptanmamıştır (12).

HMF' nin biyotransformasyonunda 4 yol hipotezlenmektedir: (i) glisin konjugatı oluşumu (ii) oksidasyon (iii) CO<sub>2</sub> oluşumu ile birlikte  $\alpha$ -ketoglutarik asit (iv) sülfat eklenmesi. (i), (ii), (iii) yolları aldehit grubunun furoik asit yan ürününe (5-HMFA) oksidasyonunun ilk basamağına benzer oluşur. HMF, furfural alkol, furoik asit, ve bunların yan ürünleri, sıçanlarda furfuralın detoksifikasyonunda yer alan aynı yollara katılırlar. HMF gibi sülfür içermeyen furan ürünleri metabolizması hepatotoksositeye neden olan reaktif aldehit furfuralın oluşumunu içerir (34) . Godfrey ve arkadaşları, fare ve sıçan idrarlarında HMFA, HMFG ve FDCA bileşiklerini belirlemiştir. HMFG atımı glisin azalmasına bağlı olarak doz ile ters orantılı bulunmuştur (35). Daha erken tarihli bir çalışmada Germand ve arkadaşları sıçanlarda HMFA ve HMFG olmak üzere iki ana HMF metaboliti saptamıştır (36) . İnsanlarda furoilglisin, HMFA ve FDCA idrarda saptanmıştır ve bunların HMF metaboliti olduğu gösterilmiştir (37,38) . Bu sonuçlar HMF alımının artmasının glisinli bileşik oluşumunu azalttığını göstermektedir (36). Ayrıca HMFA tüketimden 30 dakika sonra plazmada saptanmıştır ve 60 dakika sonra düşmeye başlamıştır (33). Özet olarak, HMF glisinli bileşiklere ve diğer metabolitlere hızlıca metabolize olmaktadır ve idrarla atılmaktadır (19).

Kemirgenlerde HMF biyotransformasyonu için olası üçüncü bir yol tanımlanmaktadır ve furanların tamamen CO<sub>2</sub> ye oksidasyonunu içermektedir. HMF ve alfa-ketoglutarik asit insan plazmasında belirlenebilir. Kemirgenlerde furfural ve furfural alkolden CO<sub>2</sub> oluşumu 2-furoik asit dekarboksilasyonu ve alfa-ketoglutarik asit oluşumu ile olabilir (19).

Diğer üç yola ek olarak HMF' nin SMF' ye sülfotransferazlar tarafından dönüşebildiği gösterilmiştir. Oluşan ürünün genotoksik ve mutajenik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu reaktif ürün ile DNA, RNA gibi moleküllerin etkileşimi bu moleküllere yapısal hasara yol açabilmektedir. Yakın zamanlı bir çalışma SMF' nin insan idrarında bulunmadığını göstermiştir. Çalışmada SMF' nin proteinler ve DNA ile reaksiyona giren kısa ömürlü bir metabolit olduğu ve sonuç olarak idrarda görünmediği varsayılmıştır (39).

### 2.5.1. HMF Emilim ve Eliminasyonu

Kemirgenlere farklı dozlarda (0.08-500mg/kg va) [U-14C]-HMF verilmesi sonrası sindirim sisteminden hızlı emilim gözlenmiştir. Emilim ile ilgili kemirgenlerden elde edilen verilerin insana uyarlanmasının zorluğu bilinmektedir ve insanlarda HMF aynı şekilde emilmeyebilir (19). HMF' nin taşınması ve kullanımı üzerine yapılan yakın zamanlı bir çalışmada posa içeriğinin HMF' nin kullanılabilirliğinde rol oynayabileceği, yüksek posa değerlerinde emilimin az olabileceği bildirilmiştir (40).

HMF' de sindirim sonrası mikrobiyal transformasyon beklenebilir çünkü barsak bakterileri hem aerobik hem de anaerobik şartlarda furfuralı furfuril alkol çevirme yeteneğine sahiptir. Furfural verilen hayvanların sindirim sistemlerinde furfuril alkol ve furfuralın gözlenmesi beklenmektedir. Barsak bakterileri aynı zamanda HMF' yi 8 saatlik inkubasyon süresinde 5-hidroksimetilfurfuril de indirgeme yeteneğine sahiptir. HMF transformasyonu ana substratlar glikoz ve pepton varlığında tamamlanabilmektedir (41).

Oral alım sonrası HMF ve metabolitlerinin dağılımı tüm vücut otoradyografi ile çalışılmıştır. Tüm ana dokulardan birikim izi olmadan HMF hızlıca temizlenmiştir, ancak 1, 8 ve 24 saat sonrası karaciğerde, mesanede, böbrekte ve sindirim sisteminde gösterilebilir. Verilen dozun % 70-80' i sıçanların idrarı ile, % 8-12' si dışkı ile 48 saat içerisinde atılmıştır (36).

### 2.6. Sağlık Riskleri

HMF kendi başına veya sulfoksimetilfurfural, klorometilfurfural gibi yan ürünleri ile mutajenik ve toksikolojik etkilere neden olmaktadır (5). HMF ve HMF' ye bağlı bileşikler üzerine bazı toksikolojik çalışmalar yapılmıştır ve bu çalışmalar kolon kanseri, deri papillomaları, böbrek tümörleri ile ilişkilerini incelemiştir. HMF'den sülfat bağlanarak oluşan SMF *in vitro* mutajenik aktivitesi HMF' nin

genotoksik potansiyeline göz önünde bulunduracak yeterli veri sağlamaktadır. Ancak bu aktiviteyi doğrulayacak *in vivo* çalışmaların yapılması gerekmektedir (19).

Günümüzde HMF alımının insan sağlığı üzerine potansiyel etkisi kesin olmamasına rağmen yüksek dozlarının sitotoksik olduğu ve gözlerde, üst solunum yolunda, deride, mukozada iritasyona neden olduğu bilinmektedir. Ancak, *in vivo* ve *in vitro* çalışma verileri genotoksite üzerinde önemle durmaktadır. Ek olarak, HMF' nin genotoksik etki gösterdiği mekanizma açık değildir ve sağlık riski hala tartışma konusudur. HMF furan halkası, bir karbonil grubu ve hidrosil grubu olan multifonksiyonel bir moleküldür. Bu reaktif taraflar HMF' nin biyolojik aktivitesini etkilemektedir (19).

HMF' nin kanserojenik aktivitesi fareler üzerinde çalışılmıştır. Fare kolonunda HMF' nin Aberrant Kript Odağı (Aberrant Crypt Foci ACF)' na sebep olduğu gösterilmiştir. Zhang ve diğerleri oral 0-300 mg/kg HMF alımının ACF' yi doz bağımlı artırdığını bildirmiştir. Sıçan ve diğerleri 10-25 µmol HMF alımından sonra deri papillomalarının oluştuğunu tanımlamıştır. Karşıt olarak, Miyakawa ve diğerleri HMF sonrası deri tümörü oluşumunda önemli artış saptamamıştır. Yakın zamanlı bir çalışma da adenomaları artırdığını göstermektedir (42). Öte yandan, Ulusal Toksikoloji Programı tarafından fareler üzerinde yapılan gavaj çalışmasında HMF' nin hepatoselüler adenomaların insidansını artırdığını ancak karsinojenik aktivite göstermediği bildirilmiştir (43). HMF' nin mutajenik ve genotoksik potansiyeli bazı çalışmalarda araştırılmıştır. Bütün bu çalışmalar HMF' nin düşük mutajenik etkisinin olduğunu göstermektedir. Buna karşın, *S. Typhimurium* TA104' de, sıçan karaciğer sulfotransferazı eşliğinde HMF mutajenik bulunmuştur (44). HMF sulfotransferazlar eşliğinde fare derisinde tümörlere neden olduğu bildirilen sulfoksimetilfurfurala dönüşmektedir (45). Yakın bir çalışmada SMF' nin farelerde nefrotoksik olduğu bildirilmiştir (6). Histopatolojik analizler SMF' nin karaciğerde ve özellikle proksimal tübüllerde olmak üzere böbreklerde daha etkili hasara yol açtığını göstermektedir.

Kimyasal reaktif ürünlere metabolik aktivasyonundan sonra çoğu kimyasal mutajenik veya karsinojenik olabilmektedir. HMF sulfotransferazlar (SULT) tarafından kimyasal reaktif bir ester olan 5-sulfooksimetilfurfurala dönüşmektedir. Sülfat esteri 5-sulfoksimetilfurfurolun genotoksik ve mutajenik etkileri olabileceği düşünülmektedir. Yakın zamanda yapılan bir hayvan çalışmasında farelerde SMF oluşumu gösterilmiştir. Bifazik eliminasyon kinetiği 793 µmol/kg 5-HMF vücut ağırlığı intravenöz uygulamayı takiben 1.7 yarı-ömürle ve 28 dakikalık başlangıç ve bitiş eliminasyon fazı ile gözlemlenmiştir. Plazma SMF, 5-HMF verildikten sonra en yüksek değerine 2.5 dakika içinde ulaşmıştır ve bu durum 5-HMF' nin 452 ve 551 ppm arası dozunun SMF' ye dönüştüğü ve kan dolaşımına ulaştığı şeklinde vurgulanmıştır (46). Muhtemelen SMF' nin bir kısmı hücrel yapılarla tepkimeye girmektedir. Bu nedenle, toplam oluşan SMF miktarı ölçülememektedir (29). *Glatt* (47) insan SULT' larının HMF' nin SMF' ye dönüşümünde etkisini araştırmışlardır. HMF' yi SMF' ye dönüştürebilen 13 insan SULT formu incelenmiştir ve SULT1A1 en aktif form olarak gösterilmiştir. SULT1A1 çoğu dokuda yer almaktadır ve genotoksik SMF oluşumunda en kritik enzim olarak gösterilmektedir (47). Fare derisine uygulandığında SMF, HMF' ye göre daha fazla papilloma oluşumunu artırmaktadır (45). İnsan SULT1A1 enzimi eşliğinde HMF mutajenik aktivite göstermektedir. HMF' den farklı olarak, SMF bir aktivasyon sistemine gerek duymadan mutajenik etki göstermektedir. Yakın zamanlı bir hayvan çalışmasında, SMF' nin farelerde güçlü nefrotoksik etkisi olduğu gösterilmiştir. Çalışmada tek doz (250 mg SMF/kg) alan erkek fareler uygulamadan 5-11 gün sonrasında ölmüştür. Histopatolojik analizler SMF' nin karaciğerde hasara yol açtığını ve en çok böbreklerde özellikle proksimal tübüllerde hasara neden olduğunu göstermiştir. SMF' nin proksimal tübüllerde neden olduğu seçici toksisitenin altında yatan mekanizma bilinmemektedir (6).

*Glatt* (47) insan SULT' larının HMF' nin SMF' ye dönüşümünde etkisini araştırmışlardır. HMF'yi SMF' ye dönüştürebilen 13 insan SULT formu incelenmiştir ve SULT1A1 en aktif form olarak gösterilmiştir. SULT1A1 çoğu dokuda yer almaktadır ve genotoksik SMF oluşumunda en kritik enzim olarak

gösterilmektedir. Fare derisine uygulandığında SMF, HMF' ye göre daha fazla papilloma oluşumunu artırmaktadır (45).

HMF için birkaç metabolik yol düşünülebilir. Ana basamak 5- hidroksimetil-2-furoik aside oksidasyondur (HMFA). Bunu glisine bağlanma ile 5-hidroksimetil-2-furoyl (HMFG) oluşumu takip eder. Bu iki metabolit, HMFA ve HMFG idrar ile hızlıca atılır. HMFA' nın HMFG' ye oranı serbest glisin miktarının yetersiz olduğu zamanlarda artmaktadır ve bu serbest HMFA veya 2,5-furan dikarboksilik asit (FDCA) atımını artırır. İşaretlenmiş 5-HMF farelere ve sıçanlara oral ve intravenöz olarak verilmiştir. Hızlı emilim sonrası radyoaktivite hızlıca ve neredeyse tamamen 24-48 saat içerisinde idrar ile atılmıştır. HMF alımından kısa süre sonra karaciğer radyoaktivite saptanmıştır, ancak böbrekler ve mesanede daha fazla miktarda radyoaktivite saptanmıştır. Oral ve intravenöz alım arasında intravenöz alımın beyinde daha fazla radyoaktiviteye neden olması olarak gösterilmiştir (36). HMFA, HMFG ve FDCA insan idrarında fruktoz içeren parenteral nütrisyon sonrası saptanmıştır. Kurutulmuş erik yiyen ve kurutulmuş erik suyu için bireylerin idrarlarında HMFA, HMFG, 5-karboksilik-2-furoyl-glisin (CAFG) ve 5-karboksilik-2-furoylamino-metan (CAFAM) saptandığı bildirilmiştir (29).

Günlük 0, 47, 94, 188, 375 ve 750 mg/kg 5-HMF' nin gavaj ile erkek ve dişi B6C3F1 farelerine 90 gün boyunca verildiği bir çalışmada periferik kan hücreleri ile yapılan mikronukleus testlerinde mikronukleus oluşturmamıştır. Polikromatik eritrositlerin total eritrositlere oranı değişmemiştir ve böylece maddenin kemik iliğine ulaştığı belli değildir (43). SMF farelerde mikronukleus testinde pozitif bulunmuştur. Ancak bu iki çalışma farklı fare türleri ile yapıldığı için tam olarak karşılaştırılmaz (29).

HMF in vitro genotoksisite testlerinde inaktif çıkmasına rağmen fare kolonunda preneoplastik lezyonlara ve fare derisinde papillomalara neden olmaktadır. Ulusal Toksikoloji Programı tarafından yapılan bir çalışmada dişi farelerde HMF' nin hepatosellüler adenomaların insidansını artırdığını göstermektedir (6).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

Bu araştırmada Ankara' da hipermarketlerde satılan farklı markalara ait 5 adet nar ekşisi, 9 adet nar ekşisi sosu ve 4 adet üzüm pekmezi örneği incelenmiştir. HMF tayini için yapılan analizler Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Laboratuvarlarında Haziran 2013 ve Haziran 2014 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2. Araştırmanın Planlanması ve Uygulanması

Çalışmada örnekler hipermarketten satın alınarak temin edildikten sonra Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Laboratuvarlarına götürülmüş her bir örneğin pH ölçümleri alınmış ve HMF içeriği analizleri yapılmıştır.

**pH ölçümü:** Örneklere pH metre (Orion marka) doğrudan daldırılarak ölçümleri yapılmıştır.

**HMF analizi:** UV dedektörlü, ters faz Agilent marka 1100 model HPLC kullanarak "Harmonised Methods of the International Honey Commission" metoduna göre yapılmıştır. HMF sırasıyla sulu örneğin hazırlanması, süzme, HPLC' de tanımlama ve miktar tespiti ile tayin edilmiş, kromatogramdaki pik alanı bilinen konsantrasyondaki standartların pik alanı ile karşılaştırılarak HMF miktarı hesaplanmıştır.

#### **Çözeltiler, kimyasal ve standart malzemeler:**

**Mobil faz:** HPLC saflığında su – metanol (90+10 ml)

**Standart çözeltiler:** 5-hidroksimetil-2-furfural (Dr. Ehrenstrofer GmbH) 0-10 ppm aralığında 5 farklı konsantrasyonda standart HMF çözeltisi saf su içerisinde hazırlanır. Çözeltiler günlük kullanılır.

**Kromotografik şartlar:**

Akış hızı: 1 ml/dk

Dalga boy: 285 nm

Enjeksiyon hacmi: 20 µl

Kolon sıcaklığı: oda sıcaklığı

Kolon çeşidi: C18 ters fazlı materyalli kromotografi kolonu

**3.2.1. Örneklerin Hazırlanması ve Analizi**

Her bir numuneden alınan 5 g örnek 0.01 hassasiyetle 100 ml' lik balon jøjeye tartılmış ve saf su ile çözölüp çizgisine tamamlanmıştır. Çözelti 0.45 mikrometre filtreden geçirilerek viallere alınarak HPLC sistemine enjekte edilmiştir. Enjekte edilen numunelerin absorpsiyonu sonucu elde edilen kromotogramlar değerlendirilmiştir.

Hazırlanan 5 farklı konsantrasyondaki standart HMF çözeltileri her biri en az üç paralel olmak kaydıyla HPLC' de analiz edilerek kalibrasyon tablosu oluşturulmuştur. HMF piki ile konsantrasyon arasında lineer ilişki vardır. Numunenin HMF içeriği verdiği pik alanı kullanılarak kalibrasyon tablosu yardımı ile seyreltme faktörü ile çarpılarak hesaplanmıştır.

**3.3. İstatistiksel Değerlendirme**

HMF miktarları aritmetik ortalama ( $\bar{x}$ ) ± standart sapma (S) değeri olarak verilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Verilerin değerlendirilmesi Windows ortamında SPSS 15.0 İstatistik Paket Programı kullanılarak yapılmıştır.

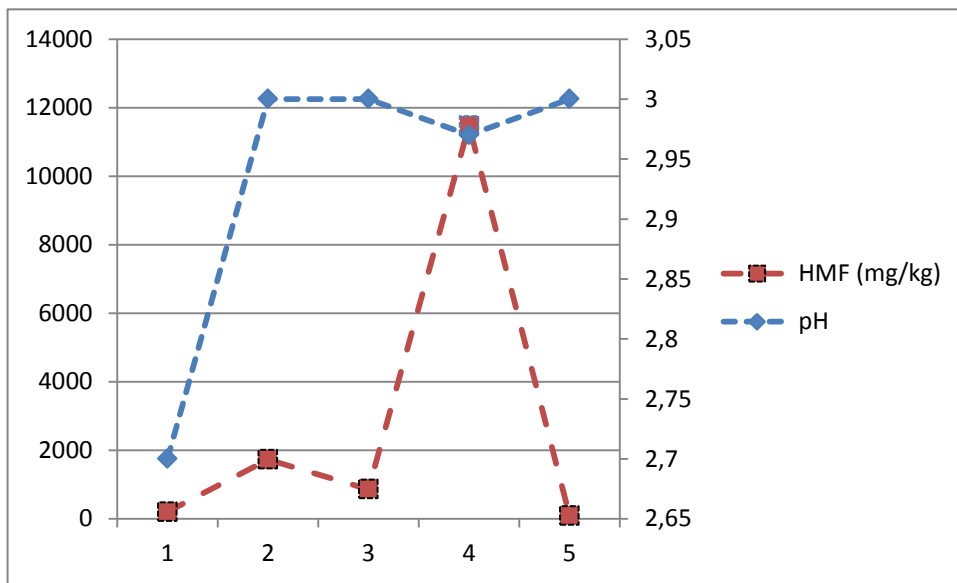
#### 4. BULGULAR

Ankara piyasasında satıŖa sunulan nar ekŖilerinin, nar ekŖisi soslarının ve üzüm pekmezlerinin HMF içerikleri Tablo 4.1., Tablo 4.2. ve Tablo 4.3.' te sırasıyla verilmiŖtir.

Isıl iŖlem gören ürünlerde ısıl iŖlem derecesini göstermesi ve kalite parametresi olması açısından HMF önemlidir ve analize alınan tüm nar ekŖilerinin HMF içerikleri standardın (50 mg/kg) zerinde saptanmıŖtır. alıŖmaya alınan nar ekŖilerinin ortalama HMF değeri 2875.72 mg/kg olarak saptanmıŖtır (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Ankara piyasasında satılan nar ekŖilerinin HMF içerikleri.

rn	pH	HMF (mg/kg)	HMF x	HMF S
Nar ekŖisi 1	2.70	203.40		1889.62
Nar ekŖisi 2	3	1733.90		807.39
Nar ekŖisi 3	3	864.50	2875.72	1422.15
Nar ekŖisi 4	2.97	11485.70		6088.17
Nar ekŖisi 5	3	91.10		1969.02



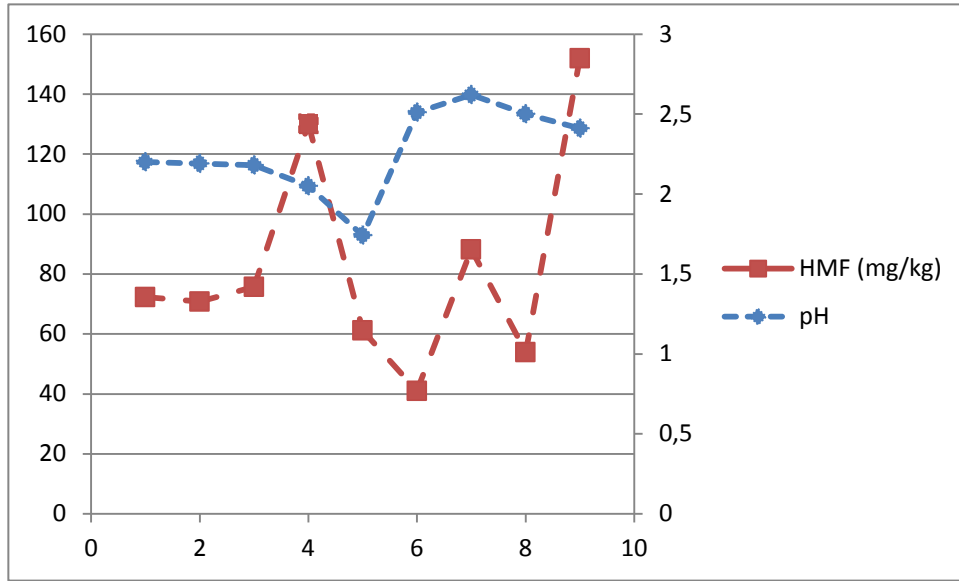
**Ŗekil 4.1.** Nar ekŖilerinin HMF ve pH değerleri

Araştırmada örnekleri toplanan nar ekşilerinin HMF içeriği 91.10-11485.70 mg/kg arasında değiştiği, nar ekşisi örneklerinin pH değerlerinin ise 2.7-3 arasında olduğu saptanmıştır (Şekil 4.1).

Nar ekşisi sosları için Türkiye’ de standart bulunmamaktadır. Yapılan çalışmada nar ekşisi sosları arasında ancak bir ürünün HMF miktarının nar ekşisi standardında yer alan HMF limitinin (50 mg/kg) altında olduğu saptanmıştır. Çalışmaya alınan nar ekşisi soslarının ortalama HMF değeri 82.78 olarak saptanmıştır (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** Ankara piyasasında satılan nar ekşisi soslarının HMF içerikleri.

Ürün	pH	HMF (mg/kg)	HMF x	HMF S
Nar ekşisi sosu 1	2.20	72.30		7.41
Nar ekşisi sosu 2	2.19	70.80		8.47
Nar ekşisi sosu 3	2.18	75.70		5.05
Nar ekşisi sosu 4	2.05	130.10		33.46
Nar ekşisi sosu 5	1.74	61.10	82.78	15.33
Nar ekşisi sosu 6	2.51	41		29.54
Nar ekşisi sosu 7	2.62	88.20		3.83
Nar ekşisi sosu 8	2.50	53.90		20.42
Nar ekşisi sosu 9	2.41	151.90		48.88



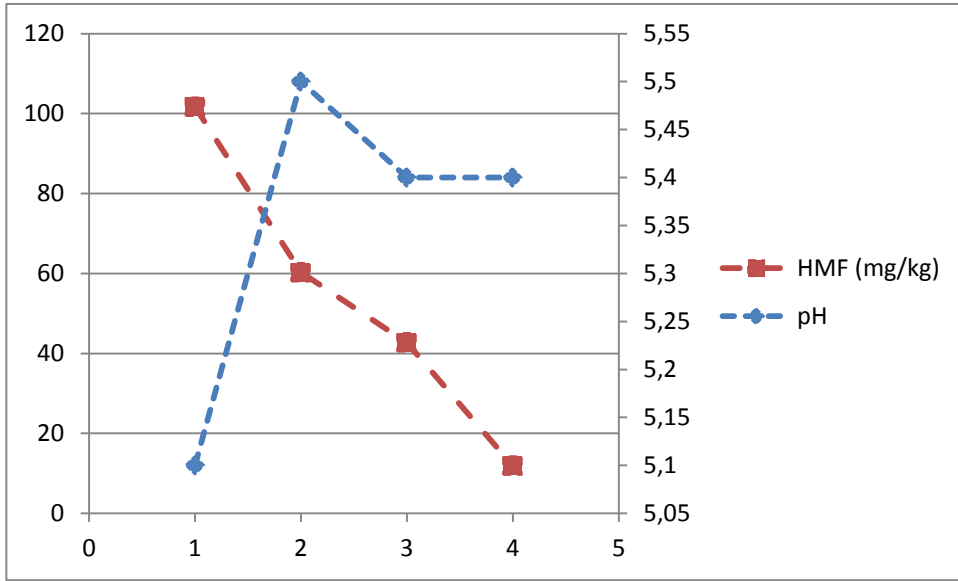
**Şekil 4.2.** Nar ekşisi soslarının HMF (mg/kg) ve pH değerleri

Örnekleri toplanan nar ekşisi soslarının HMF içeriklerinin 41-151.90 mg/kg arasında değiştiği, pH değerlerinin ise 1.74-2.62 arasında olduğu saptanmıştır. (Şekil 4.2).

Çalışmaya alınan üzüm pekmezi örneklerinden üzüm pekmezi 1 dışında diğer ürünler standarda (75 mg/kg) uygundur. Analize alınan üzüm pekmezi örneklerinin ortalama HMF değeri 54.15 mg/kg olarak saptanmıştır (Tablo 4.3)

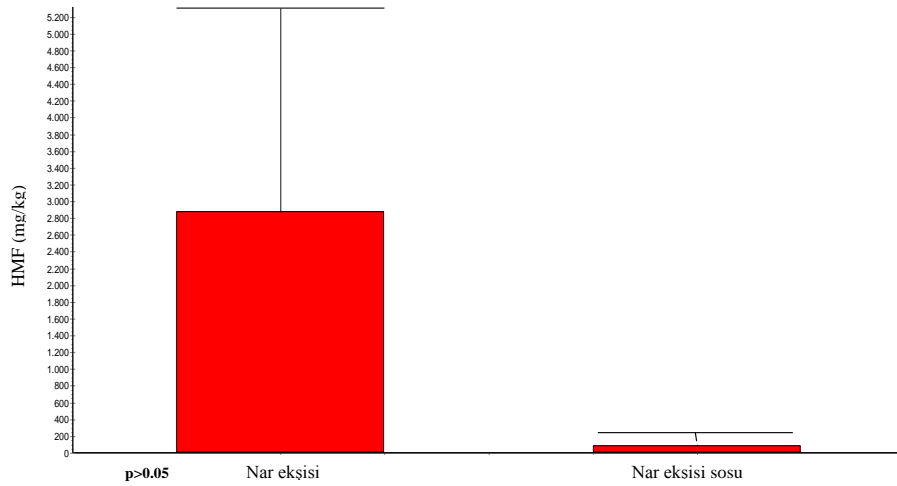
**Tablo 4.3.** Ankara piyasasında satılan üzüm pekmezlerinin HMF içerikleri.

Ürün	pH	HMF (mg/kg)	HMF x	HMF S
Üzüm pekmezi 1	5.10	101.70		33,62
Üzüm pekmezi 2	5.50	60.30		4,35
Üzüm pekmezi 3	5.40	42.70	54.15	8,09
Üzüm pekmezi 4	5.40	11.90		29,87



**Şekil 4.3.** Üzüm Pekmezlerinin HMF (mg/kg) ve pH Değerleri

Çalışmada örnekleri analiz edilen üzüm pekmezlerinin HMF değerlerinin 11,9-101,7 mg/kg arasında değiştiği, pH değerlerinin ise 5,10-5,50 arasında olduğu saptanmıştır (Şekil 4.3).



**Şekil 4.4.** Nar Ekşisi ve Nar Ekşisi Soslarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Şekil 4.4' te nar ekşisi ve nar ekşisi sosu örneklerinin HMF ortalama ve standart sapma değerleri gösterilmiştir. Çalışmada nar ekşisi, nar ekşisi sosu ve üzüm pekmezinden alınan örneklerin HMF içeriği açısından istatistiksel olarak farklı olmadığı ortaya konmuştur ( $p>0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Isıl işlem besinleri koruma yöntemlerinin en yaygınıdır. Uygun ortamlarda besinler beklenen organoleptik ve nütrisyonel özelliklerini kazanmaktadır; ancak, aşırı ısı işlem uygulanması zarara ve besin değerlerinin azalmasına neden olabilir. Isıl işlem uygulanmış gıdaların kalitesini değerlendirmede kullanılan kimyasal indikatörler yapılan işlemin kontrolü için kullanılabilir olduklarını yapılan çalışmalarla kanıtlamıştır (48). Isıl işlemler sonucu karbonhidrattan zengin besinlerde oluşumu hızlanan HMF uygunsuz üretim teknikleri ve depolama koşullarını izlemede etkin bir parametredir.

Bu çalışmada Türk toplumu tarafından yaygın olarak kullanılan nar ekşisi, nar ekşisi sosu ve üzüm pekmezlerinin HMF değerleri saptanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre nar ekşilerinde pH değerleri 2.7-3 arasında değişmektedir ve HMF değeri ortalama 2875.72 mg/kg olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada nar ekşilerinde elde edilen veriler daha önce yapılan çalışma sonuçları ile benzerdir ve bu sonuçlar Türk Standartları Enstitüsü tarafından belirlenen değerlerin (50 mg/kg) çok üzerindedir (49). Nar ekşisi, nar suyunun direk ısıtılması ile koyulaştırılması sonucu üretilmektedir; bu nedenle nar ekşilerinin HMF seviyelerinin üretim sırasında arttığı düşünülmektedir. Depolama koşullarının uygunsuzluğu ve düşük pH seviyeleri raflarda satışa hazır bekleyen nar ekşilerinin HMF seviyelerindeki artışın devam etmesine neden olabilir. İşlenmiş besinlerde bulunan HMF seviyeleri başta pH, sıcaklık ve su aktivitesi olmak üzere farklı değişkenlerden etkilenmektedir. Bu çalışmada elde edilen veriler aynı pH (pH:3) seviyelerine sahip nar ekşilerinin farklı HMF seviyelerine (Nar ekşisi 2, 3 ve 5. sırasıyla HMF değerleri; 1733.9, 864.5, 91.1 mg/kg) sahip olduğunu göstermektedir. Bu farklılık üretime alınan narların besinsel bileşimden, uygulanan ısı işlem tekniği, ölçüsü ve süresinden, depolama sırasında nar ekşilerinin maruz kaldığı sıcaklık ve nemden oluşabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, kaynatılmış nar suyunda daha yüksek HMF konsantrasyonları saptanmıştır ve kaynatılan nar suyunda HMF oluşumunun yüksek derecede pH' ya bağlı olduğunu belirlenmiştir (50). Orak (51) geleneksel yöntemle üretilmiş ve 2 ay depolanmış konsantre nar ekşisinde daha yüksek HMF değerleri (4003 ppm)



saptamıştır. Nar ekşisi konsantre olarak üretildiğinde besin değeri yüksek bir üründür. Özellikle mineral içeriği yüksektir. Isıl işlem ile üretilen meyve konsantreleri doğru yöntemle yapıldığında fenolik içeriklerinin yüksek olduğu ve HMF değerlerinin düşük tutulabildiği bildirilmiştir (49). Bu çalışma sonucunda ortaya çıkan HMF değerleri çoğunlukla standardın üzerindedir ve bu sonuçlara dayanarak nar ekşisi, nar ekşisi sosu ve üzüm pekmezi üretim tekniklerini geliştirmek gerekliliği düşünülmelidir. Özellikle uzun süre ısıl işlem sonucu ortaya çıkan sağlığa zararlı HMF içeriğini sınırlamak için vakum yönteminden (basınç altında ısıl işlem) faydalanılmalıdır. Kalite indikatörü olarak HMF' nin güvenilirliğinin araştırıldığı bir çalışmada da 3 farklı reçel ve 1 bebek maması 20°C ve 35°C' de 12 ay boyunca saklanmıştır. Sonuç olarak zaman ve sıcaklık artışının HMF konsantrasyonlarını artırdığı gösterilmiştir (26).

Nar ekşisi soslarda pH değerleri 1.74-2.62 arasında değişmektedir ve HMF değeri ortalama 82.78 mg/kg olarak belirlenmiştir. Nar ekşisi sosu, nar ekşisinden farklı olarak içeriğinde glikoz şurubu, su, nar aroması, asitliği düzenleyici (sitrik asit), renklendirici ve koruyucu madde içermektedir. Nar ekşilerinden farklı olarak nar ekşisi soslarda HMF seviyelerinin düşük olması nar ekşisi sosların üretiminde kıvam ve renk standartlarının sağlanması için glikoz şurubu ve renklendirici kullanılmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Çalışmada yer alan nar ekşisi sosların HMF seviyeleri nar ekşisi standart değerine (50 mg/kg) göre değerlendirildiğinde bir ürünün standart değerinin altında yer aldığı gözlenmektedir. HMF oluşumunu etkileyen faktörlerden pH seviyesi nar ekşisi soslarda nar ekşilerine göre daha düşük saptanmıştır. Üretim tekniğinin farklı oluşu ve sitrik asit, karamel, şeker şurubu gibi ürünlerin nar ekşisi soslarda kullanılması nar ekşilerine göre nar ekşisi soslarda pH ve HMF seviyelerinin daha düşük olmasına neden olabilir.

Bu çalışma sonuçlarına göre üzüm pekmezlerinde pH değerleri 5.1-5.4 arasında değişmektedir ve HMF değeri ortalama 54.15 mg/kg olarak belirlenmiştir. İnsan metabolizması üzerine mutajenik etkilere sebep olabilmesi nedeniyle pekmezlerde bu bileşiğin konsantrasyonunun yüksek olması istenmemektedir. HMF oluşumu ürünün şeker içeriği ve konsantrasyonuna da bağlı olduğu bilinen bir

gerçektir. Yapılan bir çalışmanın sonuçları keçiboynuzu pekmezinde HMF konsantrasyonunun, yüksek şeker konsantrasyonuna (62.80g/100g) rağmen Türk Gıda Kodeksinde belirlenen değerden daha düşük bir değer olan 12.25 mg/kg olduğunu göstermiştir. Keçiboynuzu pekmezinin düşük asit içeriği nedeniyle az miktarda HMF oluşumu gerçekleştiği düşünülmektedir (52). Ayrıca yapılan bir çalışmada da karadut pekmezinin kimyasal özelliklerini incelenmiştir ve HMF miktarı 6.34 mg/L olarak belirlenmiştir (53). Yaygın olarak tüketilen besinlerde bulunan 1,2-dikarbonil bileşiklerin konsantrasyonlarının saptandığı bir çalışmada da ortalama HMF değerleri sirkelerde 123 mg/L, reçellerde 16 mg/kg ve ballarda 3.6 mg/kg olarak bulunmuştur (54).

Karbonhidrattan zengin işlenmiş ürünlerde ve özellikle meyve özütlerine ısı işlem uygulanması sonucu elde edilen konsantrelerde HMF oluşumu uygulanan ısı ve üretim tekniğine bağlı olarak artmaktadır. Ancak üretim sonrası depolama koşulları ve ürün pH değerleri çok önemlidir. Standartlara uygun olarak üretilen ve satışa hazır hale getirilen nar ekşisi gibi ürünlerin pH değerlerinden etkilenecek uygunsuz sıcaklıktan bağımsız olarak HMF oluşturabileceği düşünülebilir. Depolamanın HMF seviyeleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada bir yıl depolama (20±5°C) sonucunda bal örneklerinde HMF miktarındaki değişiklikler incelenmiştir. Depolama sonunda ortalama olarak, HMF miktarı 3.3 mg/kg' dan 19.1 mg/kg' a kadar artış göstermiştir. Bu sonuçlara göre depolamanın HMF miktarlarındaki artışta çok etkin bir rol oynadığı gözlenmiştir (55). Ayrıca bu çalışmada elde edilen verilere göre üzüm pekmezlerinin ortalama pH seviyeleri, nar ekşileri ve nar ekşisi soslarına göre daha yüksekken ortalama HMF seviyelerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Çalışmaya alınan ürünlerin pH seviyelerinin HMF miktarlarını etkilediği söylenebilir ancak üretime alınan besinlerin şeker içerikleri, üretim teknikleri de önemlidir. Farklı üretim teknikleri kullanılarak yapılan bir çalışmada nar suyu üretiminde osmotik distilasyon ve membran distilasyon+osmotik distilasyon yöntemleri kullanılmıştır. Bu iki yöntemle yapılan nar suyu konsantrelerinde HMF oluşumu düşük seviyelerde gözlenmiştir (56).

Karamel ve karamelli ürünlerin besinlerin içerisinde kullanılması sonucu oluşan HMF varlığı güvenlik sınırlarının yetersiz olduğunu göstermektedir (57). Bundan dolayı, karamel renkler içeren besinler için güvenilir risk değerlendirilmesi yapılmalıdır. Nar ekşisi soslarında renklendirici olarak karamel kullanılmaktadır ve bu çalışmada nar ekşisi soslarında ortalama HMF değerinin nar ekşisi standardının üzerinde olduğu saptanmıştır. Nar ekşisi soslarında ve benzer ürünlerde kullanılacak karamel ve karamelli ürünlerin seviyeleri yasal olarak belirlenmelidir ve bu ürünler HMF değerleri açısından izlenmelidir.

İnsanların HMF alımı, akrilamid, furan, heterosiklik amin veya polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi ısıl işlemler sonrası ortaya çıkan zararlı bileşiklere göre çok daha yüksektir. HMF' nin akut ve kronik toksitesinin çok düşük olmasına rağmen SULT' larla aktive olabileceği gösterilmiştir ve farelerde tek doz yükleme ile bile HMF ve SMF' nin bağırsaklarda düşük tümorojenik etkisi olduğu gösterilmiştir (42). SMF 240 mg HMF alımı sonrası idrarda saptanmıştır (58). HMF' nin karsinojenik potansiyeli üzerine çelişkili bulgular vardır. Ancak, yapılan çalışma sayısı ve üzerinde çalışılan tür sayısı yetersizdir. Ek olarak, kritik etki tam olarak karakterize edilememiştir. Bu bilgilere göre, toksisite mekanizması veya insanlar için uygunluğu belirlenememiştir. Üreme ve gelişim toksitesisi üzerine veri yoktur. Bu belirsizliklere dayanarak günümüzde tolere edilebilir günlük alım miktarları belirlemek mümkün değildir (29).

Türkiye' de nar ekşileri, nar ekşisi sosları genellikle salatalarda, soğuk mezelerde, etli dolmalarda çeşni verici olarak, üzüm pekmezleri tatlılarda ve doğrudan kahvaltı malzemesi olarak kullanılmaktadır. Türk toplumunda böyle bir sonuç verebilmek için yeterli veri bulunmamaktadır. Türk toplumu için bir örnek verilecek olursa, günde iki öğünde de salata tüketen bir bireyin salatasına 1 yemek kaşığı nar ekşisi ya da nar ekşisi sosu kullandığı düşünülürse günde 2 yemek kaşığı bu çeşni vericileri kullandığı hesaplanabilir. 'Yemek ve Besin Fotoğraf Kataloğu' kitabı referans alındığında 1 yemek kaşığı nar ekşisi sosu ya da nar ekşisinin yaklaşık 20 gram olduğu görülmektedir. Yapılan hesaba göre günde iki kez salatasına nar ekşisi ya da nar ekşisi sosu kullanan bireyin günlük bu çeşni vericileri kullanma

miktarının yaklaşık 40 gram olduğu hesaplanabilir. Verilen örnekte günlük alınan 40 g nar ekşisi ya da nar ekşisi sosu ile bir bireyin günde ortalama 115,0288 mg HMF maruziyetine neden olabileceği söylenebilir. Bu çalışma sonucu elde edilen HMF seviyeleri ve nar ekşisi, nar ekşisi sosu ve üzüm pekmezi gibi çeşni verici veya direk tüketilen ürünler, özellikle ekmek, göz önünde bulundurulduğunda Türk toplumunun HMF maruziyetinin yüksek olduğu düşünülebilir. İspanya’ da yapılan bir çalışmada İspanyol toplumunun HMF alımı 8.57 mg/gün olarak belirlenmiştir (31).

Sonuç olarak, HMF ısıtıl işlem görmüş ve işlenmiş besinlerde yüksek seviyelerde bulunmaktadır ve bu çalışma sonucu ortaya çıkan değerler bu durumu desteklemektedir. İnsan sağlığı açısından zararlı potansiyeli olduğu düşünülen ve çoğu otoriteler tarafından besinlerde bulunabilir değerlerine sınırlandırılma getirilen bu bileşik üzerine daha fazla çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir. Besinlerde bulunabilirliği, insanlar tarafından tüketim miktarları, metabolizması ve biyotransformasyonu sonrası oluşturduğu bileşiklerin insan sağlığı üzerine etkileri konusunda bilgiler halen kesin ve yeterli değildir.

## 6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında elde edilen önemli sonuçlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Nar ekşisi örneklerinin ortalama HMF değeri (2875.72 mg/kg) nar ekşisi standardının (50 mg/kg) üzerinde ve standartlara uygun çıkmamıştır.
2. Nar ekşisi sosu örneklerinin ortalama HMF değeri 82.78 olarak belirlenmiştir. Nar ekşisi sosunun bir standardı olmadığından nar ekşisi örnekleri ile kıyaslandığında nar ekşisi soslarının ortalama HMF değerinin 82.78 mg/kg olduğu ve nar ekşisi standardı değerinden (50 mg/kg) yüksek olduğu saptanmıştır.
3. Üzüm pekmezi örneklerinin ortalama HMF değeri (54.15 mg/kg) üzüm pekmezi standardına (75 mg/kg) uygun çıkmıştır.

## 7. ÖNERİLER

1. Nar ekşisi sosları için HMF standardı geliştirilmelidir.
2. Nar ekşisi soslarında ve benzer ürünlerde kullanılacak karamel ve karamelli ürünlerin seviyeleri yasal olarak belirlenmelidir ve bu ürünler HMF değerleri açısından izlenmelidir.
3. Üretim teknikleri, depolama koşulları, meyvelerin karbonhidrat oranları değerlendirilerek yapılacak ileri çalışmalar HMF oluşumu hakkında daha belirgin bilgilere ışık tutabilir. Yapılan çalışmada, örneklerin üretim tarihi ve ürünün üretimi ardından depolama koşulları ve süresi verileri göz ardı edildiğinden bu koşulların HMF oluşumu üzerine etkisine dair ileri çalışmalar yapılmalıdır.
4. Ülkemizde HMF seviyeleri yüksek ürünler toplumumuz tarafından çok sıklıkla tüketilen besinler arasında yer almaktadır. Özellikle üzüm pekmezi sağlıklı olması nedeniyle çocuklarda sıklıkla tüketilmesi önerilmektedir. Sadece üzüm pekmezi tüketimi HMF açısından yüksek risk teşkil etmese de diğer besinler ile toplamda alınan HMF miktarları sağlık riski olarak göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle ileri çalışmalar ve Türkiye için maruziyet çalışmaları yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Zappalà, M., Fallico, B., Arena, E., and Verzera, A. (2005). Methods for the Determination of HMF in Honey: a Comparison. *Food Control*, 16 (3), 273-277.
2. Lee, H.S., Nagy, S. (1990). Relative reactivities of sugars in the formation of 5-hydroxymethyl furfural in sugar-catalyst model systems. *Journal of Food Processing and Preservation*, 14, 171-178.
3. Ames, J.M. (1992). *Biochemistry of food proteins*. The Maillard reaction. London: Elsevier.
4. Perez, C., Yaylayan, V.A. (2008) Isotope labeling studies on the formation of 5-(hydroxymethyl)-2-furfuraldehyde (HMF) from sucrose by pyrolysis-GC/MS. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 6717-6723.
5. Teixidó, E., Núñez, O., Santos, F.J. and Galceran M.T. (2011) 5-hydroxymethylfurfural content in foodstuffs determined by micellar electrokinetic chromatography. *Food Chemistry*, 126 (4), 1902-1908.
6. Bakhiya, N., Monien, B., Frank, H., Seidel, A., and Glatt, H. (2009) Renal organic anion transporters OAT1 and OAT3 mediate the cellular accumulation of 5-sulfoxymethylfurfural, a reactive, nephrotoxic metabolite of the Maillard product 5-hydroxymethylfurfural. *Biochemical Pharmacology*, 78 (4), 414-419.
7. Kowalski, S., Lukaszewicz, M., Duda-Chodak, A., Zięć, G. (2013) 5-Hydroxymethyl-2-Furfural (HMF) - Heat-Induced Formation, Occurrence in Food and Biotransformation-a Review. *Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences*, 63 (4), 207-225.
8. Yıldız, O., Şahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö., ve Kolay, S. (2010) Maillard Reaksiyonları ve Reaksiyon Ürünlerinin Gıdalardaki Önemi. *Akademik Gıda*, 8 (6), 44-51.

9. Ö.S., T. (2012). *Farklı gıdalarda 5-HMF düzeyinin belirlenmesi ve riskli bulunan gıdaların 5-HMF içeriğinin farklı yöntemler kullanılarak azaltılma olanaklarının araştırılması*. Erciyes Üniversitesi.
10. Borrelli, R.C., and Fogliano, V. (2005) Bread crust melanoidins as potential prebiotic ingredients. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49, 673
11. Knize, M.G. (1999). *Impact of Processing on Food Safety*. Food heating and the formation of heterocyclic aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbon mutagens/carcinogens. US: Springer.
12. Capuano, E., and Fogliano, V. (2011) Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *Food Science and Technology*, 44 (4), 793-810.
13. Jose M. Silván, S.H.A., Chou Srey, M. Dolores del Castillo, Jennifer M. Ames. (2011) Control of the Maillard reaction by ferulic acid. *Food Chemistry*, 128, 208 - 213.
14. Silvan, J.M., Agustin, O., Castillo, M.D. (2006) Analysis and biological properties of amino acid derivatives formed by Maillard reaction in foods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1543-1551.
15. Brownlee, M., Helen, V. Nonenzymatic Glycosylation and the Pathogenesis of Diabetic Complications. (1984) *Annals of Internal Medicine*, 101 (4), 527-537.
16. Alais, C.a.L., G. (1991). *Food Biochemistry*. Non-enzymatic browning-the Maillard reaction. England : Ellis Horwood Limited.
17. José A. Rufián-Henares, C.D.-A. (2009) Effect of digestive process on Maillard reaction indexes and antioxidant properties of breakfast cereals. *Food Research International*, 42, 394 - 400.



18. Pereira, V., Albuquerque, F.M., Ferreira, A.C., Cacho, J., Marques, J.C. (2011) Evolution of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and furfural (F) in fortified wines submitted to overheating conditions. *Food Research International*, 44 (1), 71-76.
19. Francisco, J.M. (2008). Hydroxymethylfurfural (HMF) and Related Compounds. a. L. D. R. Stadler R.H. (Ed.). *Process-Induced Food Toxicants: Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks*. Canada: John Wiley.
20. Zhang, Y.Y., Song, Y., Hu, X.S., Liao, X.J., Ni, Y.Y., Li, Q.H. (2012) Effects of sugars in batter formula and baking conditions on 5-hydroxymethylfurfural and furfural formation in sponge cake models. *Food Research International*, 49 (1), 439-445.
21. Zanoni, B., Peri, C., Nani, R. and Lavelli, V. (1999) Oxidative heat damage of tomato halves as affected by drying. *Food Research International*, 31, 395-401.
22. Allen, B.H., and Chin, H.B. (1980) Rapid HPLC determination of hydroxymethylfurfural in tomato paste. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 63, 1074-1076.
23. Türk Standartları Enstitüsü, Nar Ekşisi Standardı (2001) ICS 67.160.20.
24. Türk Standartları Enstitüsü, Üzüm Pekmezi Standardı (2008) ICS 67.080.10.
25. Akkan, A.A., Özdemir, Y. ve Ekiz, H.L. (2001) Derivative spectrophotometric determination of 5(hydroxymethyl)-2-furaldehyde HMF and furfural in Locust an extract. *Nahrung*, 45 (1), 43-46.
26. Rada-Mendoza, M., Luz Sanz, M., Olano, A. and Villamiel, M. (2004) Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods. *Food Chemistry*, 85, 605-609.
27. Janzowski, C., Glaab, V., Samimi, E., Schlatter, J. and Eisenbrand, G. (2000) 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. *Food and Chemical Toxicology*, 38, 801-809.

28. M.R.I. (2008) Nationale Verzehrsstudie II (NVS II), Ergebnisbericht. Erişim tarihi: 20 Temmuz 2014, [www.was-esse-ich.de](http://www.was-esse-ich.de).
29. Abraham, K., Gürtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A., Appel, K.E. (2011) Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55 (5), 667-678.
30. Rufian-Henares, J.A.a.d.l.C., S.P. (2008) Assessment of hydroxymethylfurfural intake in the Spanish diet. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 25, 1306-1312.
31. Arribas-Lorenzo, G., and Morales, F.J. (2010) Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (2), 644-649.
- 32.. Monien, B., H., Engst, W., Barknowitz, G., Seidel, A., and Glatt, H., (2012) Mutagenicity of 5-Hydroxymethylfurfural in V79 Cells Expressing Human SULT1A1: Identification and Mass Spectrometric Quantification of DNA Adducts Formed. *Chemical Research in Toxicology*, 25 (7), 1484-1492.
33. Prior, R.L., Wu, X., and Gu, L. (2006) Identification and Urinary Excretion of Metabolites of 5-(Hydroxymethyl)-2-furfural in Human Subjects following Consumption of Dried Plums or Dried Plum Juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54 (10), 3744-3749.
34. EFSA. (2005) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the on a request from the Commission related to flavouring group evaluation *The EFSA Journal*, 215, 1-73.
35. Godfrey, V.B., Chen, L.J., Griffin, R.J., Lebetkin, E.H. and Burka, L.T. (1999) Distribution and Metabolism of (5-hydroxymethyl)furfural in male F344 rats and B6C3F1 mice after oral administration. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A*, 57 (3), 199-210.

36. Germond, J.E., Philippossian, G., Richli, U., Bracco, I. and Arnaud, M.J. (1987) Rapid and complete urinary elimination of (14C)-5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde administered orally or intravenously to rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 22, 79-89.
37. Jellum, E., Borrensen, H.C., Eldjarn, L. (1973) The presence of furan derivatives in patients receiving fructose containing solutions intravenously. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 47, 191-201.
38. Pettersen, J.E., and Jellum, E.. (1972 ) The identification and metabolic origin of 2-furoylglycine and 2,5-furandicarboxylic acid in human urine *Clinica Chimica Acta*, 41, 199-207.
39. Murkovic, M., and Pichler, N.. (2006) Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in coffee, dried fruits and urine *Molecular Nutrition Food Research*, 50 842-846.
40. Delgado-Andrade, C., Seiquer, I., Navarro, M.P., and Morales, F.J. (2008) Estimation of hydroxymethylfurfural availability in breakfast cereals. Studies in Caco-2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (5), 1600-1607.
41. Boopathy, R., Bokang, H., and Daniels, L. (1993) Biotransformation of furfural and 5-hydroxymethyl furfural by enteric bacteria. *Journal of Industrial Microbiology*, 11, 147-150.
42. Svendsen, C., Husøy, T., Glatt, H., Paulsen, J.E., and Alexander, J. (2009) 5-hydroxymethylfurfural and 5-Sulfooxymethylfurfural Increase Adenoma and Flat ACF Number in the Intestine of Min/+ Mice. *Anticancer Research*, 29 (6), 1921-1926.
43. NTP. (2010). Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural (CAS no. 67-47-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services.

44. Lee, Y.C., Shlyankevich, M., Jeong, H. K., Douglas, J.S., Surh, Y.J. (1995) Bioactivation of 5-Hydroxymethyl-2-Furaldehyde to an Electrophilic and Mutagenic Allylic Sulfuric Acid Ester. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 209 (3), 996-1002.
45. Surh, Y.J., Liem, A., Miller, J.A., and Tannenbaum, S.R. (1994) 5-Sulfooxymethylfurfural as a possible ultimate mutagenic and carcinogenic metabolite of the Maillard reaction product, 5-hydroxymethylfurfural. *Carcinogenesis*, 15, 2375-2377.
46. Monien, B.H., Frank, H., Seidel, A. and Glatt, H.R. (2009) Conversion of the common food constituent, 5-hydroxymethylfurfural, into a mutagenic and carcinogenic sulfuric acid ester in the mouse in vivo. *Chemical Research in Toxicology*, 22, 1123-1128.
47. Glatt H., S.H., Liu Y. (2005) V79-hCYP2E1-hSULT1A1, a cell line for the sensitive detection of genotoxic effects induced by carbohydrate pyrolysis products and other food-borne chemicals. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 580 (1-2), 41-52.
48. Rada-Mendoza, M., Olano, A., Villamiel, M. (2002) Determination of hydroxymethylfurfural in commercial jams and in fruit-based infant foods. *Food Chemistry*, 79 (4), 513-516.
49. İncedayi, B., Tamer C.E., ve Çopur Ö.U. (2010) A Research on the Composition of Pomegranate Molasses *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 24 (2), 37-47.
50. Kus, S., Gogus, F. and Eren, S. (2005) Hydroxymethyl furfural content of concentrated food products. *International Journal of Food Properties*, 8 (2), 367-375.

51. Orak, H. (2008) Evaluation of antioxidant activity, colour and some nutritional characteristics of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice and its sour concentrate processed by conventional evaporation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (1), 1-11.
52. Tetik, N., Turhan, İ., Karhan, M. ve Öziyici, H.R. (2010) Characterization of, and 5-Hydroxymethylfurfural concentration in carob pekmez. *Gıda*, 35 (6), 417-422.
53. Sengul, M., Ertugay, M.F., Sengul, M. (2005) Rheological, physical and chemical characteristics of mulberry pekmez. *Food Control*, 16, 73-76.
54. Degen, J., Hellwig, M., and Henle, T. (2012) 1,2-Dicarbonyl Compounds in Commonly Consumed Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (28), 7071-7079.
55. Yılmaz, H., ve Kufreviöglu, U. (2001) Composition of Honeys Collected from Eastern and South-Eastern Anatolia and Effect of Storage on Hydroxymethylfurfural Content and Diastase Activity. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 25, 347-349.
56. Onsekizoglu, P. (2013) Production of high quality clarified pomegranate juice concentrate by membrane processes. *Journal of Membrane Science*, 442, 264-271.
57. EFSA. (2011) EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS); Scientific Opinion on the re-evaluation of caramel colours as food additives. *The EFSA Journal*, 9(3), 103.
58. Hardt-Stremay, M., Mattioli, S., Greilberger, J., Stiegler, P., Matzi, V., Schmid, M.G., and Wintersteiger, R. (2013) Determination of metabolites of 5-hydroxymethylfurfural in human urine after oral application. *Journal of Separation Science*, 36, 670-676.