

TGK- TURUNÇGİL MEYVELERİNDE YÜZEYDE KULLANILAN KORUYUCU MADDELER VE BU KORUYUCULARIN KALİTATİF VE KANTİTATİF ANALİZ METODLARI TEBLİĞİ (Tebliğ no 2002/19)

Yayımlandığı R.Gazete 05.03.2002-24686

Amaç

Madde 1- Bu Tebliğin amacı, insan tüketimine sunulan turunçgil meyvelerinin yüzeyinde kullanılan belirli koruyucu maddeler ile bu maddelerin ürün yüzeyinde ve içindeki kalıntı düzeylerinin kalitatif ve kantitatif analiz metodlarını belirlemektir.

Kapsam

Madde 2- Bu Tebliğ, turunçgil meyvelerinin yüzeyinde kullanılan belirli koruyucu maddeler ile bu maddelerin ürün yüzeyinde ve içindeki kalıntı düzeylerinin kalitatif ve kantitatif analiz metodlarını kapsar.

Hukuki dayanak

Madde 3- Bu Tebliğ 16/11/1997 tarihli ve 23172 mükerrer sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre hazırlanmıştır.

Analiz metodları

Madde 4- Bu Tebliğde geçen analiz metodları aşağıdaki şekilde uygulanır:

- Turunçgil meyvelerinde yüzeyde kullanılan belirli koruyucu madde kontrolü için numune alma metodları EK-1'e göre uygulanır.
- Turunçgil meyvelerinde yüzeyde kullanılan koruyucu maddelerin listesi EK-2'de verilmiştir.
- Turunçgil meyvelerindeki bifenil kalıntılarının kantitatif analizi EK-3'deki metode göre yapılır.
- Turunçgil meyvelerindeki OPP ve SOPP kalıntılarının kantitatif analizi EK-4' deki metode göre yapılır.
- Turunçgil meyvelerinin kabuklarındaki bifenil, ortofenilfenol (OPP) ve sodyum ortofenilfenat (SOPP) kalıntılarının kalitatif analizi EK-5' deki metoda göre yapılır.

Tescil ve denetim

Madde 5- Söz konusu analiz metodları sonucu uygun olmayan durumlarda, denetlenen işyerleri hakkında 24/6/1995 tarihli ve 560 sayılı Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararname hükümlerine göre yasal işlem yapılır.

Denetim

Madde 6- Bu Tebliğe ait hükümler, 560 sayılı Kanun Hükmünde Kararnameye göre Tarım ve Köyşleri Bakanlığı ile Sağlık Bakanlığınca denetlenir.

Avrupa Birliğine uyum

Madde 7- Bu Tebliğ, 67/427/EEC sayılı "Turunçgil Meyvelerinde Yüzeyde Kullanılan Koruyucu Maddeler ve Bu Maddelerin Kalitatif ve Kantitatif Analiz Metodları" Komisyon Direktifi dikkate alınarak, Avrupa Birliği'ne uyum çerçevesinde hazırlanmıştır. Bu Tebliğ, laboratuvarların kendi mevzuatlarına uygun denenmiş ve bilimsel geçerliliği olan metodları kullanmasını engellemez.

Yürürlük

Madde 8- Bu Tebliğ yayımı tarihinde yürürlüğe girer.

Yürütme

Madde 9- Bu Tebliğ hükümlerini Tarım ve Köyşleri Bakanı ve Sağlık Bakanı yürütür.

EK-1

Koruyucu Maddelerin Kontrolü İçin

Turunçgil Meyvelerinden Numune Alma Prosedürü

A. Numune alımı

I. Numuneler analiz edilecek partiyi temsil edecek şekilde bilimsel metodlarla alınmalıdır.

II. Numuneler en azından şu şartları taşımaktadır:

1. Paketlenmiş ürünler (tahta kasa, karton kutu veya benzerleri),

Partideki ambalaj sayısı	20 ye kadar	21-500	501-1000	1000 ve üstü
Alınacak ambalaj sayısı(en az)	1	2	3	4
Ambalajdan alınacak alınacak meyve miktarı(kg)	2	2	2	2

2. Yığın halinde ürünler,

Yığın(kg)	20 ye kadar	21-500	500 ve üstü
Yığından alınacak numune miktarı (kg)	2	4	

III. Parti çeşit, olgunluk derecesi, paketlenme tipi gibi aynı özelliklere sahip ürün topluluğudur.

B. Paketlenme ve numunelerin gereken yere ulaştırılması:

1. Numuneler hava geçirmez kaplarda taşınmalıdır.

2. Kaplar mühürlü olmalıdır.

3. Paketlenmiş numuneler mümkün olan en kısa sürede laboratuvarlara ulaştırılmalıdır.

EK-2

Koruyucu Maddeler

Numaralandırma	Adlandırma	Kullanım Koşulları
E 230 231	Bifenil(Difenil) Ortofenilfenol	a)Tropik bitkilerin yüzey muameleleri dışında, b)Turunçgillerin ticareti sırasında; 1)Turunçgil meyvelerinin bütünündeki kalıntı oranı aşağıdaki değerleri geçmemelidir. Bifenil için 70mg/kg, ortofenilfenol için ve ortofenilfenat E di sodyum için; izoelement veya birlikte ortofenilfenol cinsinden 12mg/kg,
E 232	Ortofenilfenat di sodyum	2) Aşağıdaki işlemler uygulanmalıdır. - Toptan satışlarda kullanılan madde veya adı ".....vasıtasıyla konserve edilmiştir." şeklinde ambalajın dış yüzünde ve faturada belirtilmelidir. - Perakende satışlarda, tüketicinin yanlış anlamasını önleyecek güvenli bilgiler açıkça belirtilmelidir.

EK-3

Turunçgil Meyveleri Kabuklarındaki Bifenil, Ortofenilfenol Ve Sodyum Ortofenilfenat Kalıntılarının Kalitatif Analizi

1. Amaç

Analiz metodu, turunçgil meyveleri kabuklarındaki bifenil, ortofenilfenol (OPP) ve sodyum ortofenilfenat (SOPP) kalıntılarının varlığının tespit edilmesini açıklamaktadır. Bu metodin hassasiyet limiti yaklaşık olarak bifenil için 5 mg, OPP veya SOPP için 1 mg'dir. 5 mg (5 ppm) bifenil ve 1 mg (1 ppm) OPP 1 kg turunçgil meyveleri kabuğundaki miktara eşdeğerdir.

Turunçgil meyveleri bu koruyucularla muamele edildiği zaman, kalıntılar meyve kabuğunda büyük oranda bulunmaktadır. Meyve kabuğunda bu koruyucuların tespit edilmesi durumunda, tüm meyvede bu kalıntıların kantitatif analizi gerekli görülmektedir.

2. Prensiptir

Ekstrakt, asit ortamda diklorometan kullanılarak kabuktan hazırlanır. Ekstrakt konsantre edilir, silika jel kullanılarak ince tabaka kromatografisi ile ayrılır. Bifenil, OPP ve SOPP varlığı floresans ve renk testleri ile tespit edilir.

3. Reaktifler

3.1. Sikloheksan (Analitik Saflıkta)

3.2. Diklorometan (Analitik Saflıkta)

3.3.HCl çözeltisi; %25 (ağırlık/hacim)

3.4.Silika jel; GF 254 Merck veya eşdeğeri

3.5.,4,7-trinitroflorenon (TNF) çözeltisi; % 0.5'lik, aseton içinde hazırlanır (Fluka, B. D. H veya eşdeğeri).

3.6.2,6- dibromo-benzokinon-4-kloroimid çözeltisi; % 0.1'lik, etanol içinde hazırlanır. Eğer çözelti buzdolabında muhafaza edilirse 1 haftaya kadar stabil kalır.

3.7. erişik amonyak çözeltisi; derişik, özgül ağırlık : 0.9

3.8.Bifenil standart çözeltisi; %1' lik, sikloheksan ile hazırlanır.

3.9. Ortofenilfenol standart çözeltisi; %1' lik, sikloheksan ile hazırlanır.

4. Gerekli Cihazlar

4.1. Mikser

4.2. Balon, 250 mL, ağız traşlı

4.3. Geri soğutucu

4.4. Rotary evaporatör

4.5. Mikropipetler

4.6. 20X20 cm boyutlarında ince tabaka kromatografi sistemi

4.7. UV lamba (254 nm): 5 mg bifenil lekesini görünür yapabilecek yoğunluğa sahip olmalıdır.

4.8. Püskürtücü

4.9. Etüv

5. Metod

5.1. Numune hazırlama ve ekstraksiyon

Alınan tüm meyveler ikiye bölünür. Her bir meyvenin yarısı kantitatif analiz için muhafaza edilir. Meyvelerin diğer yarısından 80 g kadar kabuk alınır. Bu parçalar doğrandıktan sonra mikserde parçalanır ve 250 mL'lik balona aktarılır. Üzerine 1 mL %25'lik HCl ve 100 mL diklorometan eklenir. Karışım geri soğutucu altında 10 dakika ısıtılır. Soğutma işlemi ve geri soğutucunun 5 mL diklorometan ile yıkanmasından sonra, karışım katlı filtre kağıdından süzülür. Evaporatör balonuna bir miktar poröz madde konduktan sonra üzerine süzüntü ilave edilir ve evaporatöre bağlanır. Düşük basınç altında 60° C'da 10 mL süzüntü kalana dek evapore edilir. Rotary evaporatör balonun çeperlerinde bifenilin film oluşturarak kayba neden olmaması için sabit pozisyonda tutulmalıdır.

5.2. Kromatografi

30 g silika jel ve 60 mL su mikserde konur ve 1 dakika karıştırılır. Karışım 5 kromatografi plakasına bölünür ve yaklaşık olarak 0.250 mm kalınlığında film oluşturacak şekilde yayılır. Kaplanmış bu plakalar yaklaşık olarak 15 dakika sıcak hava akımına tabi tutulur ve 110° C'lik etüvde 30 dakika bekletilir.

Plakalar soğutulduktan sonra, her plaka paralel olarak 2 cm genişliğinde bantlara bölünür. Analiz edilecek 50 µL ekstrakt birbirine yakın şekilde, bantın kenarından en az 1.5 cm uzaklıkta damlatılır. En az bir bant 1 µL (10 µg) bifenil ve OPP standart çözeltilerinin kalıntılarını içeren kontrol numuneleri için ayrılır.

Kromatografi plakaları sikloheksan:diklorometan (25:95) karışımı ile önceden filtre kağıdı ile kaplanmış yürütme tankı içinde geliştirilir.

5.3. Tespit etme ve tanımlama

Bifenil ve OPP varlığı 254 nm UV ışık altında spotların görülmesi ile tespit edilir. SOPP asit ortamdaki ekstraksiyon sırasında OPP'ye dönüştüğünden; varlığı OPP'den ayırt edilemez. Ürünler aşağıdaki şekilde teşhis edilir:

(a) Plakalar üzerine TNF çözeltisi püskürtüldüğü zaman bifenil gün ışığında sarı lekeler halinde tespit edilir.

(b) Plakalar üzerine 2,6- dibromo-benzokinon-4-kloroimid püskürtüldükten sonra hemen sıcak hava akımına tabi tutulup amonyak ile doyurulmuş atmosfere maruz bırakıldığı zaman; OPP mavi lekeler halinde tespit edilir.

EK-4

Turunçgil Meyvelerinde Bifenil Kalıntılarının Kantitatif Analizi

1. Amaç

Analiz metodu, bütün meyvedeki bifenil kalıntılarının kantitatif olarak tespit edilmesini açıklamaktadır. Metodun kesinliği bifenil için 1 kg meyvede 10 mg (10 ppm) den çok olan meyvelerde \pm % 10 dur.

2. Prensiptir

Asit ortamda distilasyon ve sikloheksan ile ekstraksiyondan sonra, ekstrakt silika jel kullanılarak ince tabaka kromatografisi ile ayrılır. Kromatogram yürütülür ve bifenil ortamdan yıkanır ve spektrofotometrik olarak 248 nm de okunur.

3. Reaktifler

3.1. Derişik sülfürik asit

3.2. Silikon esaslı köpüklenmeyi önleyici emülsiyon

3.3. Sikloheksan (Analitik Saflıkta)

3.4. Hekzan (Analitik Saflıkta)

3.5. Etanol (Analitik Saflıkta)

3.6. Susuz sodyum sülfat

3.7. Silika jel GF 254 Merck veya eşdeğeri

3.8. Bifenil standart çözeltisi; %1lik, sikloheksan ile hazırlanır. Sikloheksan ile seyreltilerek 0.6 mg/mL, 1 mg/mL ve 1.4 mg/mL'lik çözeltiler hazırlanır.

4. Gerekli Cihazlar

4.1. Mikser (1 Litre kapasiteli)

4.2. Modifiye Clevenger tip ayırıcılı distilasyon balonu, 2 L (şekil 1)

4.3. Geri Soğutucu

4.4. Ölçülü balon, 10 mL

4.5. Mikropipetler, 50 mL

4.6. 20cm X 20 cm boyutlarında ince tabaka kromatografi sistemi

4.7. Etüv

4.8. Santrifüj

4.9. Konik santrifüj tüpü, 15 mL

4.10. UV Spektrofotometre

5. Metod

5.1. Numune hazırlama ve ekstraksiyon Alınan tüm meyveler ikiye bölünür. Her bir meyvenin yarısı Bifenil, OPP veya SOPP kalıntılarının kalitatif analizi için muhafaza edilir. Diğer yarılar biraraya getirilir ve homojen bir karışım elde edene dek rendelenir veya parçalanır. Bu homojen karışımdan en az 200 g lık iki numune alınır. Her numune mikserde 100 mL su ile beraber konular ve düşük hızda birkaç saniye karıştırılır. Mikser kapasitesinin 3/4 ünü dolduracak oranda su ilave edilir ve 5 dakika maksimum hızda karıştırılır. Elde edilen püre 2 litrelik distilasyon balonuna alınır. Mikser su ile temizlenir ve bu su balona ilave edilir. Mikseri temizlemede kullanılan su dahil toplam su hacmi 1 L olmalıdır. Karışıma 2 mL sülfürik asit ve 1 mL köpüklenmeyi önleyici emülsiyon ile beraber birkaç poröz granül ilave edilir. Ayırıcı ve soğutucu balona bağlanır. Ayırıcıya yanalt tüpün alt dirseğini geçecek kadar saf su ve 7 mL sikloheksan konular. 2 saat distilasyon yaptırılır. Ayırıcıda toplanan destilat 10 mL'lik ölçülü balona toplanır. Ayırıcı 1.5 mL kadar sikloheksan ile yıkanır ve ölçülü balona ilave edilir ve sikloheksan ile hacmine tamamlanır. Son olarak bir miktar susuz sodyum sülfat ilave edilir ve karışım çalkalanır.

5.2. Kromatografi

30 g silika jel ve 60 mL su mikserde konular ve 1 dakika karıştırılır. Karışım 5 kromatografi plakasına bölünür ve yaklaşık olarak 0.250 mm kalınlığında film oluşturacak şekilde yayılır. Kaplanmış bu plakalar yaklaşık olarak 15 dakika sıcak hava akımına tabi tutulur ve 110 OC'lik etüvde 30 dakika bekletilir.

Plakalar soğutulduktan sonra, her plaka paralel olarak 4,5 cm genişliğinde 4 banta bölünür. Analiz edilecek 50 µL ekstrakt birbirine yakın şekilde bantın kenarından en az 1.5 cm uzaklıkta damlatılır. 3 farklı konsantrasyondaki standart çözeltiler (0.6 µg/µL, 1 µg/µL ve 1.4 µg/µL'lik çözeltiler) (sırasıyla 30, 50 ve 70 µg bifenile eşdeğer) aynı şekilde ve miktarda bantlar üzerine damlatılır.

Eğer analiz seri halinde yapılacaksa, standart çözeltilerin her plakaya konmasına gerek yoktur. Standard eğri, aynı standart miktarları ile en az 5 plakadan elde edilen değerlerin ortalaması alınarak yapılabilir.

5.3. Kromatogramın yürütülmesi ve elüsyon

Kromatogramlar önceden filtre kağıdı ile kaplanmış olan 17 cm derinliğinde içinde hekzan bulunan yürütme tankı içinde geliştirilir. Plakalar havada kurutulur. Bifenilin toplandığı alanlar 254nm UV ışık altında belirlenir ve eşit alanlar dikkörtgen ile işaretlenir.

İşaretlenmiş alanlar hemen temiz bir spatül ile plaka tamamen kazınır. Bu sırada kazınmış olan plakadan bifenili ayırmak için 10 mL etanol ilave edilir ve 10 dakika boyunca çalkalanır. Daha sonra santrifüj tüplerine aktarılan karışım 2500 rpm de 5 dakika santrifüjlenir.

Aynı boyuttaki kontrol numunesinin alanı da aynı işleme tabi tutulur. Eğer analiz seri halinde yapılıyorsa, bu kontrol alanı plakanın kullanılmamış bandından alınır.

Eğer analiz tekli olarak yapılıyorsa, bifenil içeren alanın altındaki standart çözeltinin konduğu bantlardan birinden alınır.

5.4. Spektrofotometrik belirleme

Santrifüjleme sonunda elde edilen berrak kısım 248 nm' de bifenil içermeyen alandan ekstrakte edilen kontrol çözeltisine karşı okunur.

6. Sonuçların Hesaplanması

Standart eğri 30, 50 ve 70 m g bifenil değerlerine karşı okunan absorbanlarla çizilir. Orijinden geçen lineer bir eğri oluşmalıdır. Bu grafikten numunedeki bifenil miktarları ppm cinsinden bulunur.

EK-5

Turuncgil Meyvelerinde Ortofenilfenol(Opp) Ve Sodyum Ortofenilfenat Kalıntılarının Kantitatif Analizi

1. Amaç

Analiz Metodu, bütün meyvedeki OPP ve SOPP kalıntılarının kantitatif olarak tespit edilmesini açıklamaktadır. Metod, 12 ppm civarındaki OPP ve SOPP içeriği için ortalama % 10-20 arasında düşük sonuçlar verir.

2. Prensiptir

Asit ortamda distilasyon ve di-isopentil eter ile ekstraksiyondan sonra, ekstrakt saflaştırılır ve 4-amino-2,3-dimetil-1-fenil-3-pirazolin-5-one (=4-aminoantiprin) çözeltisi ile muamele edilir. Spektrofotometrede 510 nm'de ölçülebilen yoğunlukta bir kırmızı renk oluşur.

3. Reaktifler

3.1. Ortofosforik asit, %70'lik

3.2. Silikon esaslı köpüklenmeyi önleyici emülsiyon

3.3. Di-isopentil eter (Analitik Saflıkta)

3.4. Saflaştırılmış siklohekzan: %4 lük NaOH ile üç kez çalkalanır ve üç kez saf su ile yıkanır.

3.5. NaOH çözeltisi, %4' lük

3.6. Tampon çözelti, pH=10.4: 2 litrelik ölçülü balona 6.64 g borik asit, 8.00 g KCl ve 93.1 mL, 1 N NaOH çözeltisi konur. Çalkalanır ve saf su ile çizgisine tamamlanır.

3.7. Reaktif I: 1.0 g 4-amino-2,3-dimetil-1-fenil-3-prazolin-5-one (4-aminoantiprin) 100 mL saf su içinde çözündürülür.

3.8. Reaktif II: 2 g potasyum ferrosiyanoür 100 mL saf suda çözülür. Reaktif I ve II renkli şişelerde yaklaşık 14 gün stabildir.

3.9. Silika jel

3.10. Standart Çözelti: 10 mg saf OPP 1 mL 0.1 N NaOH içinde çözülür. 0.2 m sodyum borat (1 mL=100m g) ile 100 mL'ye seyreltilir. Standart çözelti için tampon çözelti ile 1:10 oranında seyreltilir.

4. Gerekli Cihazlar

4.1. Parçalayıcı

4.2. Mikser

4.3. Modifiye Clevenger tip ayırıcılı distilasyon balonu, 1 L (şekil 1)

4.4. Geri Soğutucu

4.5. İnfra-red banyo

4.6. Ayırma hunisi, 200 mL

4.7. Ölçü silindirleri, 25 ve 100 mL

4.8. Ölçülü balonlar, 25 ve 100 mL

4.9. Pipetler, 1 mL'den 10 mL'ye kadar olan

4.10. Pipet, 0.5 mL dereceli

4.11. Spektrofotometre (5 cm küvetli)

5. Metod

Alınan tüm meyveler ikiye bölünür. Her bir meyvenin yarısı bifenil, OPP veya SOPP kalıntılarının kalitatif analizi için muhafaza edilir. Diğer yarıları biraraya getirilir ve homojen bir karışım elde edilinceye kadar rendelenir veya parçalanır. Bu homojen karışımdan en az 250 g lık iki numune alınır.

Her numune miksera 500 mL su ile beraber konur ve yağlı hücrelerin algılanamadığı homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılır. Tahmin edilen OPP miktarına bağlı olarak 150 - 300 g püre alınır ve 1 litrelik distilasyon balonuna konur. Karışım miktarı 500 g olacak şekilde su ilave edilir. 10 mL %70 lik ortofosforik asit ilave ettikten sonra birkaç poröz granül ve 0.5 mL köpüklenmeyi önleyici emülsiyon ilave edilir. Ayırıcılı geri soğutucuya bağlanır. 10 mL di-isopentil eter ayırıcıya konur ve balon infra-red banyoda kaynama veya köpürme oluşmayacak şekilde yavaşça ısıtılır. Yaklaşık olarak 6 saatlik distilasyondan sonra, ayırıcı içeriği 200 mL lik ayırma hunisine boşaltılır. Ayırıcı ve soğutucu önce 60 mL sikloheksan ile daha sonra 60 mL su ile yıkanır. Yıkama çözeltileri ayırma hunisine ilave edilir. Karışım iyice çalkalanır ve ayırım gerçekleştikten sonra sulu faz atılır.

OPP'yi ekstrakte etmek için, organik faz 5 kez 3'er dakika 10 mL %4 lük NaOH ile şiddetli bir şekilde çalkalanır. Alkali kısımlar birleştirilir, fenoltaleyn eşliğinde ortofosforik asit ile pH 9-10'a kadar nötralize edilir ve su ile 100 mL ye seyreltilir. Bulanık olan çözeltiyi berraklaştırmak için bir tutam silika jel ilave edilir. Çözelti çalkalanır, kuru, ince partiküllü filtreden süzülür. Maksimum keskinlik ve doğrulukta renk gelişimi, 10 ve 70m g arasında OPP kullanılarak oluştuğundan, bulunması tahmin edilen OPP miktarı dikkate alınarak, 0.5 ve 10 mL arasında numune alınır. Numune 25 ml'lik ölçülü balona konur, üzerine 0,5 mL reaktif I, 10 mL tampon çözelti ve 0.5 mL reaktif II'den konur. Çalkalanır ve tampon çözelti ile hacmine tamamlanır. 5 dakika sonra 510 nm de kırmızı renk yoğunluğu ekstrakt içermeyen kontrol numunesine karşı okunur. Renk yoğunluğunu 30 dakika boyunca kaybetmez. OPP standard çözeltisi kullanılarak aynı koşullar altında standart eğri hazırlanır.

6. Gözlemler

Her analiz için farklı hacimlerdeki nötralize edilmiş alkali ekstrakt kullanılarak spektrofotometrede paralel okumalar yapılması tavsiye edilmektedir.

Bu koruyucularla muamele edilmemiş meyvelerde köre karşı okuma portakallar için 0.5 ppm'e, limonlar için 0.8 ppm'e kadar değerler verir.

