مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (37) العدد (4) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (37) No. (4) 2015

مراقبة حمض البنزوئيك وأملاحه في بعض أغذية الأطفال (رقائق البطاطا) المتواجدة في السوق المحلية

الدكتور مفيد ياسين*
سميرة حسين**

(تاريخ الإيداع 21 / 6 / 2015. قُبِل للنشر في 23 / 7 /2015)

□ ملخّص □

يستخدم حمض البنزوئيك وأملاحه بشكل واسع في الصناعات الغذائية كمادة حافظة لجودة الأغذية وإطالة صلاحيتها فهي تمنع نمو الفطور والبكتيريا، وأظهرت العديد من الدراسات السابقة أن استهلاك هذه المركبات بكميات زائدة يسبب العديد من المخاطر الصحية. تهدف هذه الدراسة إلى الكشف عن وجود حمض البنزوئيك وأملاحه في بعض المنتجات الغذائية المخصصة للأطفال والمتواجدة في السوق المحلية كرقائق البطاطا (Potatochips)والتي كتب على غلافها الخارجي "خالية من المواد الحافظة"، فتم تحليل27عينة من رقائق البطاطا موزعة على ثلاث شركات مختلفة بهدف الكشف عن وجود حمض البنزوئيك، وأظهرت النتائج وجود حمض البنزوئيك في9عينات منها وتراوحت تراكيزه في هذه العينات بين 188.65-100.34مغ/كغ باستخدام الطريقة الطيفية، كما ويمكن اعتبار تقانة الفصل باستخدام الطبقة الرقيقة هي الطريقة الأكثر ملاءمة للكشف عن حمض البنزوئيك في المنتجات الغذائية.

الكلمات المفتاحية: المواد الحافظة، حمض البنزوئيك، رقائق البطاطا، سبكتروفوتومتر.

* أستاذ – قسم الكيمياء التحليلية والغذائية-كلية الصيدلة-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية .
** طالبة دراسات عليا(ماجستير)-قسم الكيمياء التحليلية والغذائية-كلية الصيدلة-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (37) العدد (4) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (37) No. (4) 2015

Quality control of benzoic acid and its salts in some commercial children foods (potatochips)

Dr. Moufid Yassine*
Samera Husain**

(Received 21 / 6 / 2015. Accepted 23 / 7 / 2015)

□ ABSTRACT □

Benzoic acid is extensively used in the preservation of food products for maintaining quality and extending shelf life by inhibiting mould and bacteria growth.

Some previous studies have demonstrated that consumption of excessive amounts of benzoic acid could be a health hazard.

The aim of this study was to detect the presence of benzoic acid and its salts in some commercial children food like potatochips that labeled "Free of Preservatives" .

Twenty seven samples of potatochips purchased from three different local products were analyzed for the presence of benzoic acid.

The results revealed the presence of benzoic acid in nine samples and its concentration was between 100.34-188.65mg/kg.

We have concluded also that TLC is a very convenient method for the detection of benzoic acid in food products .

Key words: Preservatives, Benzoic acid, Potatochips, Spectrophotometer.

*Professor, Analytical Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.
**Postgraduate Student, Analytical Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.

مقدمة

إن حفظ الاغذية من الفساد إجراء معروف منذ أقدم السنين، فعمد الإنسان إلى استخدام العديد من الطرق من أجل حماية منتجاته الغذائية مثل التجفيف بحرارة الشمس والهواء ويعتبر من أقدم الطرق المتبعة في الحفظ، والتقديد بإضافة الملح والذي ظهر حوالي عام1700.(Abdulmumeen et al,2012).

لم تكن الطرق السابقة مناسبة لحفظ كافة أنواع الأغذية وكنتيجة لذلك توجه الإنسان إلى البحث عن اساليب جديدة لمعالجة هذه المشكلة، حيث ظهرت طريقة التعليب في فرنسا عام 1806 ولم تكن آلية الحفظ مفهومة حتى عام 1864 عندما اكتشف باستور (Louis Pasteur) العلاقة بين الأحياء الدقيقة، تخرب الغذاء والأمراض المختلفة.(Gillen and Sherwin,2008).

تعود البداية الحقيقية لمعالجة فساد الأغذية إلى مرحلة الحرب العالمية الثانية حيث نجح الألمان في الكشف عن مركبات السلفا ودورها في القضاء على الجراثيم، واختبرت في نفس الفترة الكثير من المواد التي لها خواص مقاومة لنمو الجراثيم والفطور دون الإضرار بصحة الإنسان في العديد من المجالات كمعالجة الإنتانات وحفظ المواد الغذائية (Yaling et al,2013)، حيث بدأ منذ ذلك الحين استخدام المركبات التي دعيت بالمواد الحافظة، وهي مركبات تستخدم لمنع تلف وتخرب الأغذية عن طريق قتل أو إيقاف نمو الأحياء الدقيقة، وتضمنت هذه المركبات حمض البنزوئيك وأملاحه، حيث أن ملحه الصوديومي هو أول مادة تمت الموافقة على استخدامها كمادة حافظة في الاغذية من قبلFDA. (Davidson et al,2005).

يعتبر حمض البنزوئيك وأملاحه المختلفة من بين المواد الحافظة الأكثر استخداماً حيث استخدم في حفظ العديد من المنتجات الغذائية مثل العصائر، المشروبات الغازية، الحلويات، المربيات، المارغارين والمخللات. (Stanojevic et al, 2009)، ومنتجات اللحوم والأسماك المصنعة، المايونيز ومنتجات البيض. (Iammarino et al,2011)، مما دعا كافة المنظمات والهيئات المعنية بسلامة الاغذية إلى دراسة مدى مأمونيته وتأثيراته الجانبية وخاصة عند الاطفال على اعتبارهم الفئة الأكثر حساسية تجاه المواد الكيميائية.(Scheuplein et al,2002).

تحدثت العديد من الدراسات عن الآثار الجانبية التي تسببها البنزوات على الرغم من الاستخدام الواسع لها وظهرت حالات من الحساسية الجلدية مثل الحكة والشرى والتهاب الجلد التماسي بعد جرعة فموية حاوية على البنزوات، بالإضافة للحماض الاستقلابي والتشنجات. (Mohboubifar et al,2010; Iammarino et al,2011; Anand and Sati, 2013; Adergani et al,2013)

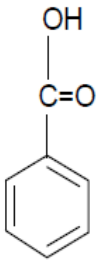
وجدت بعض الدراسات ارتباطاً مباشراً بين البنزوات وفرط النشاط لدى الأطفال، وإن الجرعة من بنزوات الصوديوم والقادرة على تحريض هذا المرض 250 مغ/كغ من وزن الجسم وتصل إلى 500 مغ/كغ يومياً ولعدة سنوات . (EL-Ziney,2009; Wroblewska ,2009)، وقد أوضحت العديد من الدراسات أن وجود بنزوات الصوديوم في الغذاء تسبب زيادة في فرط النشاط لدى الأطفال بعمر 3 سنوات وحتى 9 سنوات. (McCann et al,2007)، بالإضافة إلى تشكل البنزين والذي يعتبر مادة مسرطنة عند وجود حمض الإسكوربيك كمكون بالتلازم مع بنزوات الصوديوم في الغذاء بشروط محددة. (Violeta et al,2007; El-Ziney,2009).

أوصت المنظمة الأوروبية للغذاء EU Sientific Commision بإعطاء اهتمام خاص وحذر لاستهلاك المضافات بشكل عام والمواد الحافظة بشكل خاص من قبل الأطفال منذ أن كان هناك دلائل تقترح أن تناول بعض

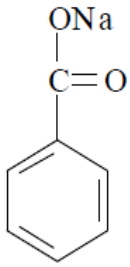
هذه المضافات معبراً عنه على أساس وزن الجسم قد يكون أعلى بشكل واضح منه عند الكبار. (EL-Ziney,2009; Saeedan et al,2014)

يضاف حمض البنزوئيك بشكل مباشر أو يضاف على شكل أحد أملاحه كأملاح الكالسيوم، البوتاسيوم والصوديوم، حيث يفضل استخدام ملحه الصوديومي للعديد من الأسباب أولها أن حمض البنزوئيك مهيج بشكل خفيف للجلد ومهيج للعين، بينما بنزوات الصوديوم ليست مهيجة للجلد ومهيجة بشكل خفيف للعين، كما وتعطي التراكيز المرتفعة من حمض البنزوئيك طعماً حامضاً وحاداً للمشروبات والأغذية، بالإضافة إلى انحلالية البنزوات الأفضل في الماء. (Petronela ENE and Diacu,2009).

حمض البنزوئيك هو حمض فينولي ضعيف يملك pKa=4.2 منحل بشكل جزئي في الماء (2.9g/l)، الوزن الجزيئي له 122.13 يبدأ بالتصعد عند $100C^{o}$، ينحل في معظم المحلات العضوية وخاصة الإيتانول والإيتر (Davidson et al,2005). إن آلية الحفظ تبدأ باجتياز حمض البنزوئيك غشاء الخلية الميكروبية ودخوله إلى داخل الخلية مما يخفض درجة الحموضة داخل الخلية إلى 5 أو أقل الأمر الذي يؤدي إلى انخفاض استقلاب الغلوكوز بنسبة 95%، وكنتيجة لذلك يتوقف النمو الميكروبي.(Petronela ENE and Diacu, 2009).



Benzoic acid



Sodium benzoate

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث

يستخدم حمض البنزوئيك وأملاحه بشكل واسع في مختلف المنتجات الغذائية ويسمح بتراكيز محددة منها، حيث تسبب زيادتها تأثيرات صحية وخاصة على صحة الأطفال، مما يستوجب الإهتمام بالمنتجات المستهلكة من قبل الأطفال والكميات المضافة لها.

أهداف البحث

يهدف العمل إلى الكشف عن وجود حمض البنزوئيك وتحديد تراكيزه في بعض المنتجات المسوقة محلياً للأطفال (رقائق البطاطا) والتي لم يصرح بإضافة أي مادة حافظة لها، للحكم على مدى التزام المصنع بالمواصفات القياسية السورية. (م.ق.س 2012/3660)، وتم العمل في مخابر كلية الصيدلة في جامعة تشرين خلال الفترة الزمنية الواقعة بين 1/1/2014إلى 1/12/2014 .

طرائق البحث ومواده

2-1 المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة

تم استخدام المواد والكواشف الكيميائية التالية : حمض بنزوئيك عياري(Merck)، كلور الصوديوم(Avonche)، دي ايتيل الايتر (Poch) ، كلور الحديد (Qualikems)، حمض كلور الماء (Riedel-de Haen)، ماءات الصوديوم(Merck).

2-2 الأجهزة والأدوات المستخدمة

تم استخدام الأجهزة والأدوا ت التالية: ميزان حساس ذو حساسية 0.0001g (Precisa XB 220 A) ، مقياس الطيف الضوئي (JASCO V-530) ، طبقة رقيقة (MERCK).

2-3- العينات

تزخر السوق المحلية بمنتجات رقائق البطاطا، حيث يوجد أكثر من سبع شركات منتجة لرقائق البطاطا متوزعة على محافظات القطر، وتم اختيار شركتين هما الأكثر رواجاً وأعطيت الرمز A للشركة الاولى و B للشركة الثانية، كما تم اختيار منتج مستورد وأعطي الرمز C، وأخذت العينات من طبخات متعددة وبتواريخ إنتاج مختلفة لهذه الشركات.

تم تحضير العينات للتحليل بإفراغ محتوى كل الأكياس من العينات المقتطعة في وعاء نظيف وتمت مجانستها بالطحن والمزج الجيد حتى حصلنا على مسحوق ناعم وتم أخذ عينة 50g منها لتطبيق الاختبارات عليها.

2- 4 طرق التحليل المتبعة

2-4-1 طرق استخلاص حمض البنزوئيك

يتم استخلاص حمض البنزوئيك بطرائق مختلفة مثل التقطير بالاعتماد على قابلية حمض البنزوئيك للتصعد، الفصل الكروماتوغرافي، الفصل بالأطوار الصلبة والاستخلاص بالمحلات العضوية، وتم الاعتماد على طريقة الاستخلاص بالمحلات العضوية وهي الطريقة المتبعة فيAOAC.

2-4-1-1 طريقة الاستخلاص المتبعة بالمحلات العضوية(AOAC 17TH , 2002)

تخلط العينة بشكل جيد وتنقل كمية مناسبة (50-200)غ من العينة إلى وعاء سعة 500 مل، ويضاف الماء المقطر حتى 400 مل ويخض جيداً حتى يصبح المزيج متجانساً ثم يضاف محلول من ماءات الصوديوم تركيزه10% حتى يصبح المزيج قلوياً ويمدد الحجم بالماء المقطر، ثم يترك المزيج ليهدأ حوالي الساعتين، يخض ويرشح (أو نقوم بالتثفيل)، ثم يؤخذ 100-200 مل من الرشاحة الناتجة وتعدل بواسطة محلول من حمض كلور الماء Hcl (1+3) ويضاف 5ml زيادة، ثم يستخلص حمض البنزوئيك بواسطة دفعات متتالية من دي ايتيل الإيتر.

2-4-1-2الطرائق المتبعة في الكشف عن حمض البنزوئيك

تم استخدام ثلاث تقانات للكشف عن وجود حمض البنزوئيك بعد استخلاصه من العينات

- التفاعل مع كلور الحديد : وهو تفاعل نوعي للوظيفة الفينولية، حيث تتفاعل الفينولات مع كلور الحديد لتشكيل معقدات ملونة بلون بنفسجي مع معظم الفينولات، أما حمض البنزوئيك يعطي راسباً بلون أحمر آجري (Salmon) مع كلور الحديد . (Nishna KP et al,2012).
- استخدام الطيف في مجال الأشعة فوق البنفسجية حيث يبدي حمض البنزوئيك طيفاً مميزاً له قمتي امتصاص عند 220nm و 270nm.(Grove and Perkins,1970).
- الفصل باستخدام الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography إذ يعتبر وسيلة جيدة لتحديد ذاتية مركب، تمت الاستعانة في هذا المجال بالعديد من الأطوار المتحركة المذكورة في أعمال سابقة (Mandrou F and Bressolle F,1980; Fried and Sherma,1999; Waksmundzka et al,2008; Ranny,2012)

النتائج والمناقشة

3-1 تطبيق طرق الكشف على محلول لحمض البنزوئيك النقي

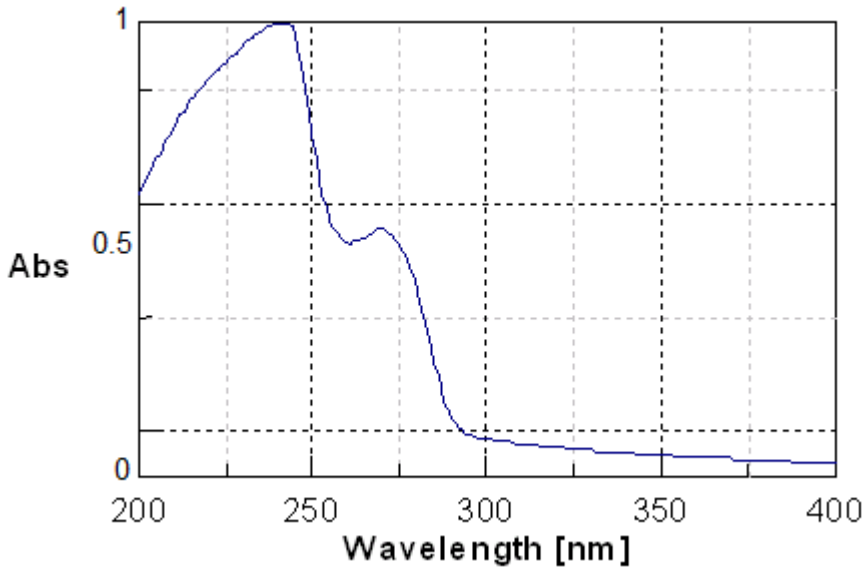
تم التأكد من كفاءة الطرق المستخدمة في تحديد الذاتية عن طريق تطبيق طرق الكشف المذكورة على محلول من مادة نقية لحمض البنزوئيك بتركيز(0.008mol/l) 1g/l وكانت النتائج التالية

- **تفاعل كلور الحديد**

تبين لدى إضافة عدة قطرات من محلول كلور الحديد إلى أنبوب اختبار يحتوي 5ml من محلول حمض البنزوئيك المحضر سابقاً ظهور راسب بلون آجري مما يثبت إيجابية الاختبار.

- **طيف حمض البنزوئيك في مجال الأشعة فوق البنفسجية**

استخدم لهذه الغاية مقياس الطيف الذي يقيس في المجال المرئي وفوق البنفسجي، نموذج JASCO-double beam، تم قياس الطيف في المجال 200-320nm مقابل محلول الماء المقطر، وتم الحصول على الطيف المميز لحمض البنزوئيك كما هو موضح في الشكل رقم(1)



الشكل 1 يوضح طيف حمض البنزوئيك باستخدام مقياس السبكترو في مجال 320-200nm

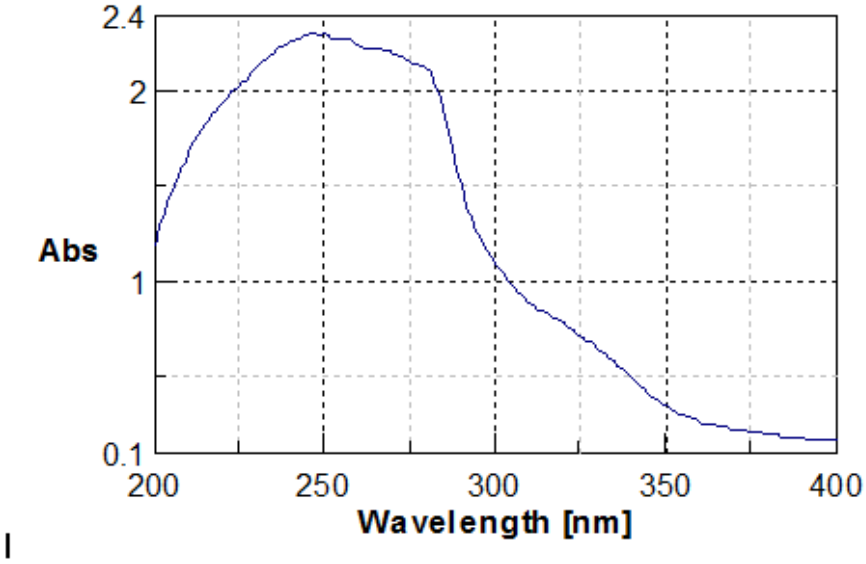
- **الفصل باستخدام الطبقة الرقيقة (طبق من أكسيد الألمنيوم)**

تم اختبار العديد من الأطوار المتحركة المذكورة في أعمال سابقة وتم التعديل عليها حتى الوصول إلى الطور المتحرك المناسب لفصل حمض البنزوئيك والذي يتألف من هكسان: ايتر: حمض الخل الثلجي (0.5:2:8 v/v/v) والذي أعطى RF= 0.7 بالإضافة إلى سرعة في الفصل، وتمت الاستعانة بمصباح UV كطريقة لإظهار البقع عند طول الموجة 254nm.

3-2اختبار كفاءة طرق الكشف والاستخلاص على عينات مضاف لها حمض البنزوئيك

اختبرت كفاءة طريقة الاستخلاص المتبعة وطرق الكشف إلى تطبيقها على نموذج متجانس مقتطع من عدة عينات من رقائق البطاطا وأضفنا لها مادة نقية من حمض البنزوئيك 10mg لكل 10g من رقائق البطاطا.

تم استخلاص حمض البنزوئيك من العينات المضاف لها كمية منه وطبقت طرق الكشف على الخلاصة الناتجة، وكانت النتيجة عدم تشكل راسب مع كلور الحديد وعند رسم الطيف ظهرت العديد من التداخلات ولم يظهر الطيف المميز لحمض البنزوئيك، كما هو موضح في الشكل رقم (2) حيث يلاحظ غياب قمتي الامتصاص المميزتين لطيف حمض البنزوئيك النقي.



الشكل 2 يوضح طيف الخلاصة الناتجة عند تطبيق طريقة الاستخلاص بالمحلات العضوية

تم تفسير ذلك بأن المستخلص بالطبقة العضوية يحتوي على كمية كبيرة من المواد الدسمة المستخدمة في تحضير رقائق البطاطا والتي ظهرت كراسب واضح بعد تبخير الخلاصة مما أعاق الاستخلاص والكشف، بالإضافة إلى العديد من المواد التي قد تضاف لرقائق البطاطا مثل المنكهات التي تتسبب في التداخلات الملاحظة.

تم تعديل طريقة الاستخلاص للتخلص من أكبر كمية ممكنة من المواد الدسمة، وذلك بإضافة كميات من الإيتر بعد قلونة العينة والتأكد من انتقال كامل كمية حمض البنزوئيك إلى الطبقة المائية على شكل أملاح، مما أدى إلى انتقال كميات كبيرة من المواد الدسمة إلى الطبقة الإيترية وتم التخلص منها، واحتفظ بالطبقة المائية وحمض الوسط حتى درجة pH بين 3-2 وتم التأكد من ذلك بواسطة ورق قياس pH لضمان انتقال حمض البنزوئيك إلى الشكل الحمضي ثم استخلص بواسطة الإيتر، ثم تبخير الايتر للحصول على الخلاصة الجافة، وتمت إعادة الاستخلاص بواسطة الماء الساخن لتطبيق تفاعل كلور الحديد وللتأكد من الطيف أو بواسطة الإيتر من أجل الفصل على الطبقة الرقيقة.

تم اختبار طريقة الاستخلاص المعدلة على العينات المضاف لها حمض البنزوئيك، حيث طبقت طرق الكشف الثلاث على الخلاصة الجديدة، وظهر الراسب في اختبار كلور الحديد وعند رسم الطيف كان مطابقاً لطيف حمض البنزوئيك بدون تداخلات، كما تم فصله على الطبقة الرقيقة مما يدل على كفاءة الاستخلاص بعد الغسل والتخلص من الطبقة الدسمة.

تم التأكد من كفاءة طريقة الاستخلاص المعدلة عن طريق تطبيقها على عينات من المخللات التي صرح بإضافة حمض البنزوئيك لها كمادة حافظة على غلافها الخارجي، وطبقت طرق الكشف الثلاث ونجحنا في الكشف

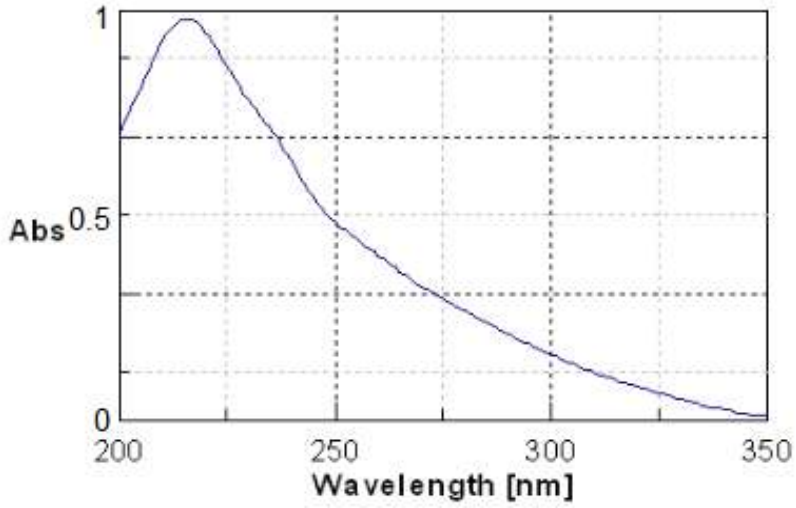
عن وجوده تأكيداً للنتيجة السابقة، مما يدل على إمكانية تطبيق هذه الطريقة في الاستخلاص على كافة عينات رقائق البطاطا المدروسة.

3-3 تطبيق طرائق الكشف عن حمض البنزوئيك على العينات المدروسة

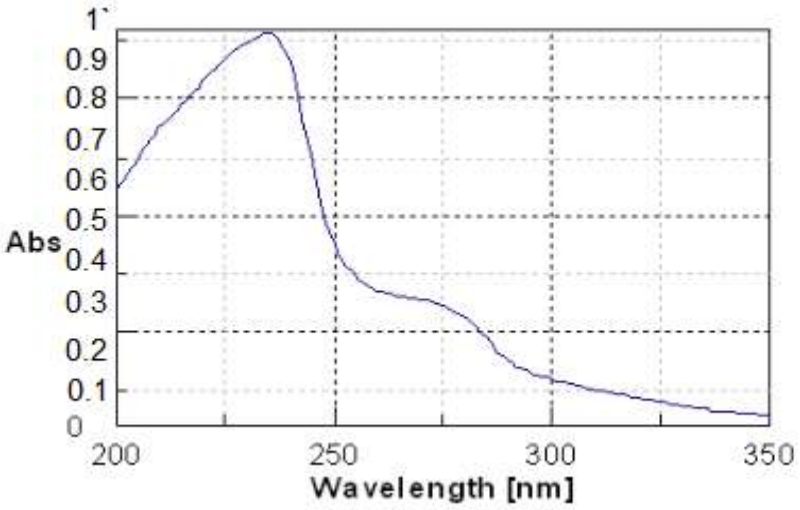
بعد تحديد الشروط المثلى لاستخلاص حمض البنزوئيك تم تطبيق هذه الشروط من أجل الكشف عن حمض البنزوئيك في العينات المدروسة من رقائق البطاطا.

طبقت طريقة الاستخلاص المعدلة مع طرق الكشف الثلاث على عينات الشركات الثلاث، حيث لوحظ تلون المحلول وظهور راسب خفيف من بنزوات الحديد في عينات الشركة B فقط، وتطابقت هذه النتائج مع نتائج رسم الطيف، حيث ظهر طيف حمض البنزوئيك المميز في خلاصة عينات الشركة B ولم يظهر في عينات الشركتينA و C ، وتوضح الأشكال (5,4,3) طيف الخلاصة الناتجة والعائدة لعينات رقائق البطاطا الثلاث، وعند تطبيق الخلاصات الإيترية على الطبقة الرقيقة أضفنا على نفس الطبقة محلول لحمض البنزوئيك العياري في الإيتر بتركيز 0.01g/l، بالإضافة إلى عينة مضاف لها كمية من حمض البنزوئيك العياري (عينة شاهد) لمقارنة قيم RF بين البقع الثلاث، وظهرت ثلاث بقع مميزة تحت ضوء UV ولها نفس قيمة RF عند تطبيق عينات الشركة B ونلاحظ غياب البقعة العائدة لعينات الشركات الأخرى مما يؤكد نتائج الاختبارات السابقة.

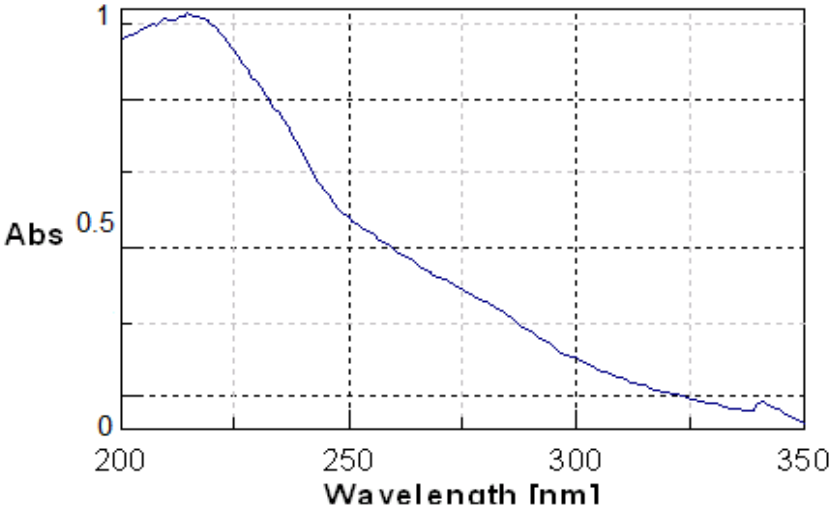
لوحظ أن استخدام الطبقة الرقيقة يعتبر من انجح الوسائل المتبعة للكشف الكيفي عن هذه المادة في الاوساط الغذائية.



الشكل 3 يوضح خلاصة عينة من الشركة A



الشكل 4 يوضح طيف خلاصة عينة من الشركة B



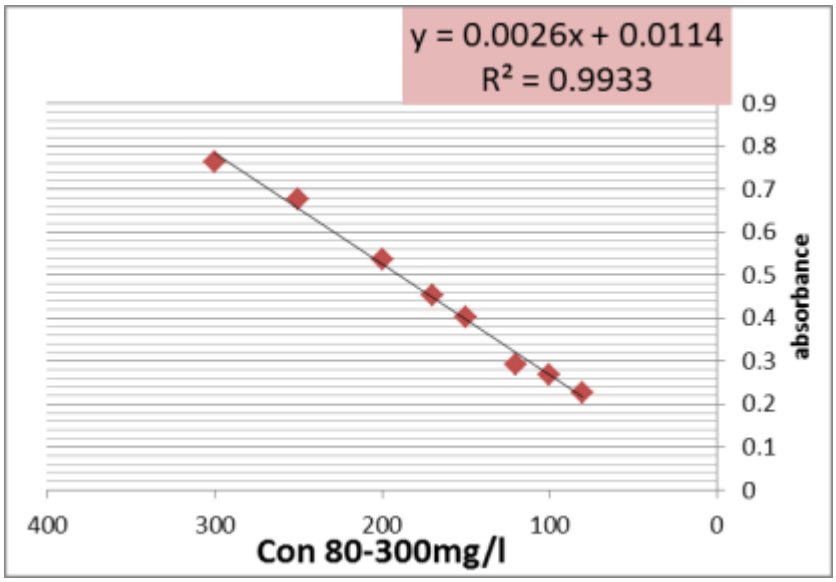
الشكل 5 يوضح طيف خلاصة عينة من الشركة C

●الطريقة الطيفية لتحديد تركيز حمض البنزوئيك

بعد الكشف عن وجود حمض البنزوئيك في عينات الشركة B اعتمدت الطريقة الطيفية في مجال الأشعة فوق البنفسجية لتحديد التراكيز المضافة لهذه العينات.

تحل الخلاصة الجافة بواسطة 4ml من دي ايتيل الايتر ويتم قياس امتصاصية الطبقة الإيترية عند 271nm، ثم مقارنة الإمتصاصية مع المنحني العياري. (Ahmad and Vaid HM,2009) .

تم تحضير عدة محاليل عيارية من حمض البنزوئيك بتراكيز تتراوح بين 80-300 مغ/ل . كانت السلسلة خطية حيث R^2 =0.993 والمعادلة $y = 0.0026x + 0.0114$ كما هو موضح في الشكل (6).



الشكل 6 يوضح السلسلة العيارية لحمض البنزوئيك

يوضح الجدول رقم (1) كمية حمض البنزوئيك في العينات التي تم التأكد من وجوده فيها عند تطبيق الطريقة الطيفية.

تم تحليل كل عينة ثلاث مرات وحساب المتوسط الحسابي لها .

الجدول رقم 1 كمية حمض البنزوئيك في عينات الشركة B بالطريقة الطيفية

رقم الطبخة	رقم العينة	متوسط كمية حمض البنزوئيك(mg/kg)	CV%
B1	1	100.34	0.8
	2	106.88	1.5
	3	131.53	0.4
B2	1	143.34	1.2
	2	149.88	1,8
	3	129.53	2
B3	1	153.73	0.5
	2	159.38	3
	3	188.65	0.3

وفقاً لمنظمة الغذاء والدواء العالمية في الولايات المتحدة الأمريكية FDA يوجد عدد من المتطلبات من أجل استخدام المواد الحافظة في الأغذية ومنها أن تصنف على أنها آمنة بشكل عام لهذا الإستخدام، وأن يكون مصرح عن

وجودها على نحو ملائم على عبوة الغذاء المستخدمة فيه. (Pawar et al,2011). لذلك تعتبر عينات الشركة Bمخالفة لشروط إضافة المواد الحافظة حيث لم يتم التصريح عن وجود أي مادة حافظة على الغلاف الخارجي. وفقاً للمنظمة الأوروبية للغذاء يسمح بإستخدام حمض البنزوئيك وأملاحه بتراكيز تتراوح بين % 0.5-0.015 . (Stanojevic et al,2009).

أما المواصفة القياسية السورية الخاصة بالمواد الحافظة رقم 2012/3660 لا تسمح باستخدام حمض البنزوئيك في المقبلات المصنوعة من الحبوب أو البطاطا. اعتماداً على ما سبق فإن وجود حمض البنزوئيك في عينات الشركةB مخالف للمواصفة القياسية السورية.

الاستنتاجات والتوصيات:

- إن وجود بقايا الزيت والمواد الدسمة المستخدمة في تحضير رقائق البطاطا يعيق استخلاص حمض البنزوئيك بالطريقة الرسمية (AOAC) وبالتالي تعيق امكانية الكشف عنه، لذلك عمدنا إلى الاستخلاص في وسط قلوي لعدة مرات للتخلص من المواد الدسمة بحيث يبقى حمض البنزوئيك في الطبقة المائية بشكله الملحي، ليتم بعد ذلك تحميض الوسط ليعود حمض البنزوئيك إلى شكله الجزيئي ويتم عندها استخلاصه بالمحل العضوي.
- يجب أن يؤخذ إعلان المنتج عن وجود المواد الحافظة بالكثير من الحذر مما يدل على أهمية مراقبة المنتجات الغذائية الموجودة في السوق المحلية وعدم الاعتماد على ما هو مصرح به على اللصاقات الخارجية.

المراجع :

1. ABDULMUMEEN, H.A; RISIKAT, A.N and SURURAH, A.R. *Food: Its preservatives, additives and applications*.International Journal of Chemical and Biochemical SciencesIlorin-Nigeria. Vol 1, 2012, 36-47.
2. ADERGANI, B.A; ESKANDARI, S; BAHREMAND , N. *Determination of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate in "Doogh" Samples in Post Market Surveillance in Iran 2012* . Journal of Chemical Health Risks Iran. Vol 3, N^{o} . 1, 2013, 65-71.
3. AHMAD, I and VAID, FH. *Determination of benzoic acid and salisylic acid in commercial benzoic and salicylic acids ointments by spectrophotometric method*. Pak J Pharm Sci, United Arab Emirates. Vol 22, N^{o}. 1, 2009, 18-22.
4. ANAND, S.P and SATI, N. *Artificial Preservatives and Their Harmful Effects: Looking Toward Nature For Safer Alternative.* IJPSR, India. Vol. 4, N^{o}. 7, 2013, 2496-2501
5. AOAC *International, Official Methods of Analysis,* 17th ed., AOAC International, Arlington,VA, 2002
6. DAVIDSON, P.M; SOFOS, J.N and BRANEN, A.L . *Antimicrobials in food*. Third Edition, CRC Press, United States of America, 2005, 721.
7. EL-ZINEY, M.G . *GC-MS Analysis of benzoate and sorbate in Saudi Dairy and Food Products with Estimation of Daily Expoure*. Journal of Food Technology Saudi Arabia, 7 (4), 2009, 127- 134 .
8. FRIED, B and SHERMA,J. *Thin Layer Chromatography. Revised and Expanded*. Fourth edition, CRC Press, New York , 1999, 512.
9. GILLEN, A.L and SHERWIN, F.J. *Louis Paster's Views on Creation, Evolution, and the Genesis of Germs*. Answers Research Journal, 2008, 43-52.
10. GROVE, E.L and PERKINS, A.J. *Development in applied spectroscopy*. First edition, Springer Science & Business Media, New York, 1970,291.

11. IAMMARINO, M; TARANTO, A.D; PALERMO, C & MUSCARELLA, M. *Survey of benzoic acid in cheeses: contribution to the estimation of an admissible maximum limit*. Food Additives and Contaminants: Part B Italy. Vol. 4, No. 4, 2011, 231–237 .

12. MAHBOUBIFAR, M; SOBHANI, Z; DEHGHANZADEH, GH; JAVIDNIA, K. *A Comparison between UV Spectrophotometer and High-performance Liquid Chromatography Method for the Analysis of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate in Food Products*. Food Anal. Methods Iran. 2010. 1-5.

13. MANDROU, B AND BRESSOLLE, F. *Thin layer chromatography reflectometric determination of benzoic and sorbic acids in fruit beverages*. J-Assoc Off Anal Chem, 63(3), 1980, 675-678.

14. MCCANN, D; BARRETT, A; COOPER, A; CRUMPLER, D; DALEN, L; GRIMSHAW, K; KITCHIN, E; LOK, K; PORTEOUS, L; PRINCE, E; BARKE, E.S; WARNER, P.JO; STEVENSON, J. *Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial*. Lancet UK, Nov 3;370, 2007,1560-7

15. NISHNA, KP; ROBIN, PC; HARIKUMAR, R and JAYACHANDRAN, VP . *A study on the presence of sodium benzoate in commercially available samples of Dasamoolarishta- an ayurvedic preparation*. International Journal of Pharmaceutical and Chemical Science India .Vol. 1, N^{o} . 4, 2012, 1387-1389 .

16. PAWAR, H.A; SHENOY, A.V; NARAWADI, P.D; SONI, P.Y; SHANBHAG, P.P; RAJAL, V.A. *Preservatives from Nature: A Review*. Int.J.Pharm.Phytopharmacol.Res.India. Vol 1,N^{o}. 2, 2011, 78-88. .

17. PETRONELA ENE, C; DIACU, E. *High-Performance Liquid Chromatography Method For The Determination Of Benzoic Acid in Beverages*. U.P.B. Sci. Bull., Series B Romania. Vol 4, 2009, 81-88.

18. RANNY,M. *Thin Layer Chromatography with Flame Ionization Detection*. Springer Science and Business Media, 2012, 200.

19. SAEEDAN, A. M; BAMOTEREF, S.KH; and AGAHRIL, M.A. *RP- HPLC Determination of Benzoic Acid in Samples of Children Food Distributed in Aden-Yemen*. International Research Journal of Pure Applied Chemistry Yemen. Vol 4, N^{o}. 5 ,2014, 507-519. .

20. SCHEUPLEIN, R; CHARNLEY, G and DOURSON, M. *Differential sensitivity of children and adults to chemical toxicity*. Regulatory Toxicology and Pharmacology USA. Vol 35, 2002, 429-447.

21. STANOJEVIC, D; COMIC, L; STEFANOVIC, O AND SOLUJIC-SUKDOLAK Sl. *Antimicrobial Effects of Sodium Benzoate, Sodium Nitrite And Potassium Sorbate And Thrie Synergistic Action in Vitro*. Bulgarian Journal of Agricultural Science Serbia. Vol 15 No .4, 2009, 307-311.

22. VIOLETA, N; TRANDAFIR, I; IONICĂ, M.E. *Development And Evaluation of an HPLC-DAD Method For Determination of Benzoic Acid in Tomato Sauce and Ketchup*. Bulletin USAMV-CN University of Craiova. Vol 63, 2007, 510-515.

23. WAKSMUNDZKA-HAJNOUS, M; SHERMA, J; KOWALSKA, T. *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*.First edition, CRC Press, United Kingdom, 2008,896.

24. WRÓBLEWSKA, B. *Influence Of Food Additives And Contaminants (Nickel And Chromium) on Hypersensitivity And Other Adverse Health Reactions – A Review*. Polish journal of food and nutrition sciences Poland. Vol. 59, No. 4 2009, 287-294.

25. YANLING, J; XIN, L and ZHIYUAN, L. *The Antibacterial Drug Discovery*. INTECH, 2013, 289-308.

26. المواصفة القياسية السورية 3660 : 2012 المواد الحافظة المسموح باستخدامها في الأغذية.