

**İSTANBUL İLİNDE TÜKETİME SUNULAN  
KIRMIZIBİBERLERİN BAZI PATOJENLER,  
KİMYASAL VE TOKSİKOLOJİK MADDELER  
YÖNÜNDEN İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR  
ARAŞTIRMA**  
**Bülent ÇALIŞKAN**  
**Yüksek Lisans Tezi**  
**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**  
**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Bilal BİLGİN**  
**2008**

**T.C.**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İSTANBUL İLİNDE TÜKETİME SUNULAN KIRMIZIBİBERLERİN BAZI  
PATOJENLER, KİMYASAL VE TOKSİKOLOJİK MADDELER YÖNÜNDEN  
İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

**Bülent ÇALIŞKAN**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Bilal BİLGİN**

**TEKİRDAĞ-2008**

Her hakkı saklıdır

Yrd. Doç. Dr. Bilal BİLGİN'in danışmanlığında, Bülent ÇALIŞKAN tarafından hazırlanan bu çalışma 21/05/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Yrd. Doç. Dr. Bilal BİLGİN  
(Danışman)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat TAŞAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Serdar POLAT

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### İSTANBUL İLİNDE TÜKETİME SUNULAN KIRMIZIBİBERLERİN BAZI PATOJENLER, KİMYASAL VE TOKSİKOLOJİK MADDELER YÖNÜNDEN İNCELENMESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Bülent ÇALIŞKAN

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Bilal BİLGİN

Bu araştırmada, İstanbul İlinde baharat paketleyen ve son tüketiciye ulaştıran büyük ölçekli 5 işletmeden bir yıl boyunca her ay alınan kırmızıbiber örnekleri Aflatoksin B1, toplam Aflatoksin, Sudan 1 ve Sudan 4 boya ve bazı patojenler yönünden incelenmiştir.

Toplam 60 numunede HPLC metodu ile yapılan analiz sonucunda 14 tanesinin (% 26,7) Aflatoksin B1, 10 tanesinin (% 16,7) toplam Aflatoksin yönünden yasal limitler üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Araştırılan toplam örneklerin 5 tanesinde (% 8,3) Sudan 1 ve 4 tanesinde ise (% 6,7) Sudan 4 boyası tespit edilmiştir.

İncelenen patojen mikroorganizmalardan *Salmonella* spp., *Bacillus cereus* ve *S. aureus* hiçbir örnekte saptanmamıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kırmızıbiber, Aflatoksin B1, Toplam Aflatoksin, Sudan 1, Sudan 4,

*Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *S. aureus*

2008, 31 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### **A RESEARCH ON THE EXAMINATION OF RED PEPPER, WHICH IS READY TO CONSUME IN ISTANBUL PROVINCE, IN THE CASE OF SOME PATHOGENS, CHEMICALS AND TOXICOLOGICAL RESIDUES**

Bülent ÇALIŞKAN

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Main Science Division of Food Science and Technology

Supervisor: Assist Prof. Dr. Dr. Bilal BİLGİN

In this study, totally sixty red pepper samples, derived from five big spice packaging companies for monthly during one year in Istanbul province, were analyzed concerning Aflatoxin B1, total Aflatoxin, Sudan 1, Sudan 4 and some pathogens.

Aflatoxin B1 and total Aflatoxin, examined by HPLC method, were found higher from the legal limits in 14 (26.7 %) and 10 samples (16.7 %) from 60 samples, respectively.

Sudan 1 and Sudan 4 dyes were detected in five (8.3 %) and four (6.7 %) samples examined from sixty samples, respectively.

There was no found any *Salmonella* spp., *Bacillus cereus* and *S. aureus* in all samples.

**Keywords:** Red pepper, Aflatoxin B1, Total Aflatoxin, Sudan 1, Sudan 4, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *S. aureus*

2008, 31 pages

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>SAYFA NO</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>4</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>11</b>
3.1 Materyal.....	11
3.2 Yöntemler.....	11
3.2.1 Numunelerin alınması ve analize hazırlanması .....	11
3.2.2 Örneklerin aflatoksin içeriğinin belirlenmesi.....	11
3.2.3 Örneklerdeki Sudan 1 ve Suda 4 boyalarının belirlenmesi.....	14
3.2.4 Mikrobiyolojik Analizler.....	16
3.2.4.1 Örneklerde <i>Salmonella</i> aranması.....	16
3.2.4.2 Örneklerde <i>Bacillus cereus</i> aranması.....	16
3.2.4.3 Örneklerde <i>Staphylococcus aureus</i> aranması.....	16
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA</b> .....	<b>17</b>
4.1 Aflatoksin B <sub>1</sub> aranması.....	17
4.2 Toplam Aflatoksin Sonuçları.....	19
4.3 Sudan 1 boyası Sonuçları.....	21
4.4 Sudan 4 boyası Sonuçları.....	22
4.5 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	23
4.5.1 <i>Salmonella</i> spp Sonuçları.....	23
4.5.2 <i>Bacillus cereus</i> Sonuçları.....	23
4.5.3 <i>Staphylococcus aureus</i> Sonuçları.....	24
<b>5. SONUÇ</b> .....	<b>26</b>
<b>6.KAYNAKLAR</b> .....	<b>28</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>31</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA NO

Çizelge 2.1. Çizelge 2.1. Türk Gıda Kodeksi (TGK) baharatlar için mikrobiyolojik kriterler...	6
Çizelge 2.2. Ülkemizin 2000–2004 yılları arasında AB’ne gönderdiği bitkisel ürünlerden uygun bulunmayan partilerin sayısı ve nedenleri .....	10
Çizelge 3.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Sisteminin özellikleri ve çalışma koşulları.....	13
Çizelge 4.1 Kırmızı Pul biberlerin Aflatoksin B <sub>1</sub> analiz sonuçları (ppb).....	17
Çizelge 4.2. Kırmızı Pul biberlerin Toplam Aflatoksin analiz sonuçları (ppb).....	20
Çizelge 4.3. Kırmızı Pul biberlerin Sudan 1 boyası içerikleri (ppm).....	22
Çizelge 4.4. Kırmızı Pul biberlerin Sudan 4 boyası içerikleri (ppm).....	22
Çizelge 4.5. Kırmızı Pul biberlerin Salmonella spp. sonuçları (25 gr’da).....	23
Çizelge 4.6. Kırmızı pul biberlerin Bacillus cereus sonuçları ( kob/gr ).....	23
Çizelge 4.7. Kırmızı pul biberlerin Staphylococcus aureus sonuçları.....	24

## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA NO

Şekil 3.1. Aflatoksin analizlerinde elde edilen örnek kromotogram	12
Şekil 4.1. Kırmızı pul biberlerin Aflatoksin B <sub>1</sub> sonuçlarının aylara göre değişimleri	18
Şekil 4.2. Aflatoksin B <sub>1</sub> yönünden yasal limit üzerindeki numunelerin incelenmesi	19
Şekil 4.3. Kırmızı pul biberlerin Toplam Aflatoksin değerlerinin aylara göre değişimleri	20
Şekil 4.4. Toplam Aflatoksin yönünden yasal limit üzerindeki numunelerin incelenmesi	.21



## 1. GİRİŞ

Baharatlar ve aromatik bitkiler dünya medeniyeti üzerinde önemli rol oynamışlardır. Bunlara bağlı olarak savaşlar çıkmış, ülkelerin ekonomileri ve kültürleri gelişmiş, efsaneler yaratılmıştır. Hippocrates, Theophrastus, Marco Polo, Coloumbus, Vasco da Gama, Ferdinand, Magellan gibi büyük araştırmacılar ve gezginlerin, ayrıca Hz. Muhammet'in 40 yaşına kadar baharat ticareti ile ilgilendiği bilinmektedir (Dziezak 1989, Wilson 1993).

Baharat sözcüğü İngilizcede "spices" olup aslen "species" kelimesinden türemiştir. Species, Latin kökenli bir sözcüktür ve "dünya meyveleri" anlamına gelmektedir. Türkçe 'de ise baharat sözcüğü baharlı bitkilerden ismini almaktadır (Akgül 1993).

Anavatanının Meksika olduğu sanılan ve Azteklerin yazılı belgelerinde söz ettikleri kırmızı acı biber, Avrupa'ya 15. yüzyılın sonlarında geldi, 16. yüzyılda kıta ülkelerine ve Osmanlı topraklarına yayıldı.

Bibere acılığı veren maddenin kristal yapısında olduğunu 1846 yılında Tresh adlı bilim adamı bulmuş ve adını "capsaicin-kapsaisin" olarak koymuştur. Kırmızıbiberi en çok tüketen ülkelerden olan Hindistan'a ise bu bitki 17. yüzyılda Portekizliler tarafından ulaştırıldı. Hint ve Meksika mutfağında çok sık kullanılan kırmızı acı biber, Türkiye'de en fazla Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilmekte, taze kırmızıbiberin kurutulup, öğütülmesiyle elde edilen pul kırmızıbiber şeklinde de tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de baharat olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Çoksöyler1995, Heperkan 2004).

Ülkemizde kırmızıbiber üretiminin yaklaşık % 80'ni Gaziantep ve Kahramanmaraş bölgesinde üretilmekte, bu miktarın büyük kısmı iç pazarda tüketilmekte ve geri kalan kısmı ise ihraç edilmektedir. İşletmeler Ağustos ayından itibaren hammadde olarak aldıkları kırmızıbiberleri öncelikle saplarından ayırır daha sonra kuruturlar. Kırmızıbiberler katkı maddeleri de katılarak (küf gelişimini engellemek için değişik bitkisel yağlar) çeşitli sınıf ve kalitede pul ve toz bibere işlenmektedir. Ardından paketlenerek piyasaya verilmektedir (Akbay 2005).

Kırmızıbiber üretiminde potansiyel tehlikeler mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal kaynaklı olabilir. Bu tehlikeler tarlada, kurutma sırasında, depolama, taşıma, işleme, paketleme ve son ürünün depolanması aşamalarında ortaya çıkabilir. Bu aşamaların hemen hepsinde mikrobiyolojik tehlikeler (fugal, bakteriyel, böcek, kemirgen); fiziksel tehlikeler (toprak, çuval ve metal parçaları) ve kimyasal tehlikeler (pestisit, hormon, mikotoksin) görülebilir (Topal 1996).

Toksik küf kontaminasyonu baharat ve yararlı bitkilerde üretimin çeşitli aşamalarında mikotoksin kontaminasyonuna neden olmaktadır. Birçok küf türü, gelişmesi sırasında uygun koşullarda insanlar ve hayvanlar için zehirli olan bileşikler oluşturmaktadır (Topal 1996).

Aflatoksinler, *Aspergillus* ve *Emerciella* cinsi küfler tarafından oluşturulan bir grup mikotoksindir. Aflatoksin dışında okratoksin A, zearalenon, fumonisler ve trikhotesenler de baharatlardan izole edilmiş olan mikotoksinlerdir (Heperkan 2004).

Kurutulmuş meyve ve sebzelerin mikrofloraları kullanılan hammaddenin mikroflorası ve uygulanan kurutma yöntemine bağlıdır. Genellikle kurutulmuş gıdaların mikrobiyal yükü orijinal hammaddeye kıyasla daha düşüktür. Kurutma öncesi uygulanan ayıklama, seçme, yıkama, buharlaşma ve alkali ile muamele gibi işlemler kurutulmuş gıdaların mikroorganizma yükünü azaltır. Bu nedenle de kurutulmuş bir gıdanın mikrobiyolojik kalitesi gıdaya kurutma öncesi uygulanan işlemlere ve dolayısı ile hammaddelerin mikrobiyolojik kalitesine bağlıdır (Ünlütürk ve Turantaş 1998; Acar ve Cemeroğlu 1999).

*Salmonella*, *Enterobacteriaceae* familyası üyesi olup, fakültatif anaerob, Gram negatif, çubuk şeklinde, genellikle hareketli, nitratı nitrite indirgeyen, glikozdan gaz oluşturan, genellikle H<sub>2</sub>S pozitif indol negatif ve çoğunlukla sakarozu fermente edemeyen bakterilerdir. Gıda maddelerinde çok düşük düzeyde *Salmonella* bulunsa bile bunlar riskli olarak kabul edilir. Dolayısı ile gıda maddeleri içme ve kullanma sularında *Salmonella* bulunmasına izin verilmez (Anonymous 1998; Anonymous 1999; Anonymous 2000).

*Bacillaceae* familyasının *Bacillus* cinsine ait bir bakteri olan *Bacillus cereus*, toprak ve bitki örtüsü üzerinde yaygın bir şekilde bulunmaktadır. *B. cereus* gıda zehirlenmesinde aracı gıdalar olarak, pişmiş pirinç, makarna, et, kümes hayvanları, sebze yemekleri, çeşitli çorbalar, pudingler, baharat ve soslar sayılabilir (Anonymous 1998; Anonymous 1999; Anonymous 2000).

*Staphylococcus aureus*, *Mikrococcaeae* familyasına ait, Gram pozitif, kok şeklinde, spor oluşturmayan, hareketsiz, katalaz pozitif, koagülaz pozitif ve termonükleaz pozitif bir bakteridir. *S. aureus*, başta ısıl işlem olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlık gösterir. Dolayısı ile gıdalarda ve/veya proses ekipmanında bu bakteriye ve/veya enterotoksinlere rastlanması zayıf bir sanitasyon göstergesidir. *S. aureus* sayısı  $5 \times 10^5$  adet/g olan gıdalar kesinlikle risklidir, bununla beraber gıdadaki düşük *S.aureus* sayısı gıdanın kesinlikle güvenli olduğunu göstermez. Zira tüketim öncesi mikroorganizmanın gelişimi için uygun koşullarda bekletilen gıdalarda mikroorganizma sayısı hızla yükselir.

Gıdalarda *S.aureus* bulunması, gıda hazırlama yerinin temiz olmadığını, cilt, ağız ve burunda bulaşma olduğunu gösterir (Anonymous 1998; Anonymous 1999; Anonymous 2000).

Birçok gıdada olduğu gibi kırmızıbiberde de bazı gıda hileleri yapılmaktadır. Ürünlere kiremit tozu, baharatlar arasına kurutulmuş ot ve sap karıştırılması gibi örnekler verilebilir. Bunların yanı sıra sağlık riski olarak kanserojen etkiye sahip ve ürüne rengini ortaya çıkararak albenisini arttırmak için kullanılan Sudan boyalarının katılması önemli yer arz etmektedir. Bu boyaların bir kısmının toksikolojik etkilerinden dolayı gıdalarda kullanımı yasaklanmıştır. Bu boyalardan Sudan I kanserojen olarak belirlenmiş, bunun dimetil türevi olan Sudan II'de farelerde yapılan testler sonucu mesane kanserine sebep olduğu gerekçesiyle gıdalarda yasaklanmıştır. Benzer etkiler Sudan III ve Sudan IV'de de gözlenmiştir (İreş 2007).

IARC (tarih) (uluslararası kanser araştırma dairesi) Sudan boyalarını fareler üzerinde kullanarak bu boyaların; karaciğer, mesane, kan kanserleri ve kas rahatsızlıklarına sebep olduğunu belirtmiştir. Bazı azo boyalarının oral alımla aminlere parçalanabilmesi ve bazı aminlerinde kanserojen olması sebebiyle bu boyaların gıdalarda kabul edilebilir bir dozu bulunmamaktadır.

Sudan boyaları endüstriyel boyalardır. Normalde plastikleri ve diğer sentetik materyalleri boyamak için kullanılır. Örneğin Sudan I; solvent, boya, cila, yer parlaticıları gibi ürünlerin imalatında kullanılır. Fakat bazı çevreler tarafından baharatların (özellikle kırmızıbiber) renklerini artırmak için kullanılmaktadır. Sudan boyaları içeren gıdalar için sağlık riski belirlendi ve bu boyaların insan sağlığına zararlı olduğu yalnız çok düşük miktarda olduğu zaman kanser riskinin de çok az olduğu fakat miktar arttıkça riskinde çoğaldığı açıklanmıştır.

Baharatların işleme, depolama ve paketleme proseslerinde, gerekli hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmadığı durumlarda, mikrobiyolojik ve toksikolojik riskler oluşmaktadır. Bunun yanı sıra, ürünün tüketici albenisi kazanması için hile amaçlı bazı boyaların kullanılması da toplum sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu çalışmada İstanbul ilinde baharat paketlemesi yapan büyük ölçekli beş işletmedeki kırmızı pul biberler, bazı patojen mikroorganizmalar, Aflatoksin ve Sudan Boyası içeriği yönünden aylık periyotlar halinde bir yıl süreyle incelenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ülkemizde kırmızıbiberlerle ilgili ilk ciddi sorunlar; son on yıldır ihraç edilen ürünlerin Avrupa ülkelerinden iade edilmesi ile dikkati çekmiştir. Mikotoksinler ve Aflatoksinler bitki gelişme döneminde meydana gelebildiği gibi, hasatta, açıkta kurutma sırasında ve depolama döneminde meydana gelebilmektedir. *Aspergillus* gelişimi ve Aflatoksin oluşumlarına nem, sıcaklık, ürünlerdeki mekanik zedelenmeler, kuruma hızı, kızışma, depo atmosferi, CO<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> miktarı, ürünün doğal yapısı, mineraller, kimyasal uygulamalar, böcekler ve diğer fungusların faaliyeti gibi birçok faktör etki etmektedir.

*Aspergillus flavus* 6-8°C'den 44-45 °C'ye kadar geniş bir sıcaklık aralığında gelişmesine karşılık daha dar bir sıcaklık aralığında Aflatoksin (11-37 °C) oluşturabilmektedir. Özellikle tarlada gelişmekte olan üründe oluşan mekanik hasarların *Aspergillus flavus* gelişmesine ve bunun sonucu olarak Aflatoksin oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir. Depoda kızışma meydana geldiğinde üründe Aflatoksin miktarı çok fazla yükselmektedir. Depo havasında CO<sub>2</sub>'nin %60'a yükseltilmesi Aflatoksin oluşumunu durdurmaktadır. Başta; kuraklık stresi olmak üzere, bitki stresi üründe Aflatoksin oluşumunu çok fazla arttırmaktadır. Benzer şekilde böcek zararları ve onların neden olduğu bulaşlar, bitkiye zarar veren diğer fungal hastalıklar, bitkiyi zayıf düşürerek üründe Aflatoksin oluşumuna neden olmaktadır. Bitkilerin *Aspergillus flavus* bulaşına karşı dirençlerinin farklılığı, üründe oluşabilecek Aflatoksin düzeyini etkileyebilmektedir. Diğer taraftan her *Aspergillus flavus* türü de Aflatoksin oluşturma yeteneğinde değildir (Hesseltine, 1976).

Küfler nemli ve sıcak ortamlarda gelişmektedir. Aflatoksin yapan küfler ise 25-35°C sıcaklık ve yüzde 70'in üzerinde nispi nem olan ortamda oluşmaktadır. Havada ve toprakta her zaman bulunabilen küflerin biberlere bulaşması mümkündür. Bu açıdan, tarladan yeni hasat edilmiş biber; içerisinde barındırdığı nem oranı ve hasat zamanındaki hava sıcaklıkları nedeniyle, küflerin, çoğalabilmesi ve özellikle Aflatoksin yapabilmesi ideal bir ortam oluşturur. Biber hasadından sonra Aflatoksin oluşmasını önlemenin tek yolu biberin neminin küfün gelişmesine fırsat tanımayacak kadar kısa sürede düşmesini; başka bir ifadeyle hızla kurumasını sağlamaktır. Bu hızlı kurutmayı gerçekleştirmenin en köklü ve sorunu tamamen ortadan kaldıracak yolu "modern kurutma fabrikalarının" sayılarının artırılmasıyla mümkündür.

Kurutma aşamasında alınacak ciddi önlemler, Aflatoksin sorununu en aza indirir. Ancak; tüm üretim sürecinde özen gösterilmezse, sorunun başka bir aşamada da çıkması işten bile değildir. Bu nedenle tarladan, kırmızı pul ve toz biberin tüketimine kadar ki süreçte iyi kurutulması önem taşır. Burada da biber çiftçisi ile pul ve toz biber üreticisinin önemli rolü vardır (GAP 2001).

Mikotoksinlerin insanlar üzerine etkilerini net olarak söyleyebilmek olanaklı değildir. Birçok organın yanı sıra esas olarak karaciğer üzerinde etkili olur ve zamanla karaciğer kanserine yol açar. İnsan sağlığını bozan bu etkiyi, Aflatoksin'in gıda maddesi içerisindeki çok düşük miktarları yapabilir. Bu nedenle gıdalarda bulunabilecek miktar yasalarla belirlenmiştir. Ülkemizde gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen Aflatoksin miktarı 5 mikrogram (Literatür TGK), Avrupa ülkelerinde ise bu miktar 2 mikrogramdır (Topal 1996).

Mikotoksinlerin vücutta etkili oldukları organ ve dokulara göre veya etki mekanizmalarına bağlı olarak çeşitli etkilerinden söz edilir. Karaciğere etki edenler hepatotoksik, deriye etki edenler dermatotoksik, böbreklere etki edenler nefrotoksik, sinir sistemine etki edenler nörotoksik, bağışıklık sistemini etki edenler immunotoksik olarak tanımlanırlar. Toksik etkilerinden başka mutajenik, kanserojenik, teratokjenik, halusinojenik, östrojenik, tremorjen etkileri de görülebilmektedir. Örneğin difran kumarin derivatı olan aflatoksib B<sub>1</sub>'in kabul edilen etki mekanizması, toksin molekülünün DNA 'ya bağlanarak RNA-polimeraz enziminin çalışmasını inhibe ettiği şeklindedir. mRNA sentezinin yapılamaması protein sentezinin gerçekleşmesini engeller. Hepatotoksik ve kanserojen olan Aflatoksin B<sub>1</sub>'in karaciğer kanserine neden olması molekülün nükleik asitlere etkisinin sonucu olarak görülmektedir (Topal 1996 ).

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın 23.09.2002 tarih ve 24885 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan 2002/63 nolu Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ çerçevesinde Kırmızı Pul biberde Aflatoksin B1 limiti 5 ppm (µg/kg) ve Toplam Aflatoksin limiti ise 10 ppm (µg/kg)'dir (TGK 2002-a).

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın 31.07.2000 tarih ve 24126 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan 2000/16 nolu Baharat Tebliğine göre baharatlar için mikrobiyolojik kriterler Çizelge 2.1.'de verilmiştir (TGK 2000).

Çizelge 2.1. Türk Gıda Kodeksi (TGK) baharatlar için mikrobiyolojik kriterler.

Mikroorganizmalar	n	c	m	M
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	25 g'da bulunmamalı	
<i>Staphylococcus aureus</i> (kob/g)	5	3	1,0X10 <sup>2</sup>	1,0X10 <sup>3</sup>
<i>Bacillus cereus</i> (kob/g)	5	3	1,0X10 <sup>3</sup>	1,0X10 <sup>5</sup>
<i>Escherichia coli</i> (kob/g)	5	3	1,0X10 <sup>1</sup>	1,0X10 <sup>2</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7	5	0	25 g'da bulunmamalı	
Sülfite indirgeyen Clostridia (kob/g)	5	3	1,0X10 <sup>2</sup>	1,0X10 <sup>4</sup>
Maya-küf (kob/g)	5	3	1,0X10 <sup>2</sup>	1,0X10 <sup>4</sup>
Mezofilik aerobik bakteri (kob/g)	5	3	1,0X10 <sup>4</sup>	1,0X10 <sup>6</sup>

n: Numune sayısı

c: Mikroorganizma sayısı "m" ile "M" arasında bulunabilecek maksimum numune sayısı

m: Tüm numunelerde bulunabilecek maksimum mikroorganizma sayısı

M: "c" sayıda numunede bulunabilecek maksimum mikroorganizma sayısı

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın 25.08.2002 tarih ve 24857 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan 2002/55 nolu Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliğinde ise Sudan 1 ve Sudan 4 boyaalarına hiçbir gıda maddesinde kullanımına izin verilmediğinden baharatlarda da kullanımı yasaktır (Anonim 2002-b).

Madhyastha ve Bhat (1985) tarafından yapılan incelemede; *Aspergillus parasiticus* 'un otoklavlanmış bütün, öğütülmüş, yüzeyi sterilize edilmiş karabiber, kakule, kırmızıbiber, kuru zencefil ve zerdeçalda gelişmesi ve Aflatoksin oluşturması, kırmızıbiberin Aflatoksin oluşumu için uygun bir substrat olduğunu belirlemişlerdir.

İnceledikleri örnekler arasında Aflatoksin B<sub>1</sub>'in ortalama düzeyinin en yüksek olduğu ürünler arasında şifalı bitkiler, tıpta kullanılan bitkiler, tahıllar ve baharatları bulmuşlardır. İncelenen 10 baharatta 10–46 ppb arasında değişen miktarda % 40 oranında ortalama 25 ppb Aflatoksin saptamışlardır. İki kırmızıbiber örneğinin birinde 10 ppb, iki karabiber örneğinin birinde 33 ppb, iki tarçın örneğinin birinde 10 ppb diğerinde 46 ppb Aflatoksin B<sub>1</sub> bulunmuş ve Aflatoksin üretim miktarının, maddenin kimyasal bileşimine fazlaca bağlı olduğu bildirilmiştir (Sanchis ve ark. 1986, Farag ve ark. 1987).

Hindistan 'dan ihraç edilen kırmızıbiber, zencefil ve zerdeçal örneklerinde 15-120 ppb düzeyinde Aflatoksin B<sub>1</sub> tespit edilmiştir (Marashetty 1980).

*A. parasiticus* 'un otoklavlanmış bütün, öğütülmüş, yüzeyi sterilize edilmiş karabiber, kakule, kırmızıbiber, kuru zencefil ve zerdeçalda gelişmesi ve Aflatoksin oluşturması Madhyastha ve Bhat (1985) tarafından incelenmiş, kırmızıbiberin Aflatoksin oluşumu için uygun bir substrat olduğunu belirlemişlerdir.

İnceledikleri örnekler arasında Aflatoksin B<sub>1</sub>'in ortalama düzeyinin en yüksek olduğu ürünler arasında şifalı bitkiler, tıpta kullanılan bitkiler, tahıllar ve baharatları bulmuşlardır. İncelenen 10 baharatta 10–46 ppb arasında değişen miktarda % 40 oranında ortalama 25 ppb Aflatoksin saptamışlardır. İki kırmızıbiber örneğinin birinde 10 ppb, iki karabiber örneğinin birinde 33 ppb, iki tarçın örneğinin birinde 10 ppb diğerinde 46 ppb Aflatoksin B<sub>1</sub> bulunmuş ve Aflatoksin üretim miktarının, maddenin kimyasal bileşimine fazlaca bağlı olduğu bildirilmiştir (Sanchis ve ark. 1986, Farag ve ark. 1987).

Aralarında Zerdeçal, kişniş, karabiber, kimyon ve kırmızıbiber gibi baharatların bulunduğu 15 ticari baharatta, insan tüketimi için belirlenen sınırların çok üstünde Aflatoksin saptamıştır (Sanexa ve Mehrotra 1989).

ABD'de 1986 yılında 19 ülkeden ithal edilen zencefil, Hindistan cevizi, kırmızıbiber gibi baharatlarda % 19 oranında belirlenebilir Aflatoksin içeriğini tespit etmiştir (Wood 1989). Kırmızıbiberde Aflatoksin oluşum aşamalarını belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada, örneklerin A.flavus türü küfle bulaşma oranı % 83,3 olarak saptanmıştır. Ortama çoğunlukla küflerin hakim olduğu belirlenmiştir. Kırmızı biber örneklerinde Aflatoksinlerin bulaşma oranı ise % 100 olarak saptanmıştır. İncelemeye aldıkları 127 adet kırmızıbiber örneğinin 79 tanesinde 82 adet A.flavus tütü küf izole edilmiştir. İncelenen suşlardan 1 tanesinde Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> ve G<sub>1</sub>, 31 tanesinin Aflatoksin B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub>, 33 tanesinin sadece Aflatoksin B<sub>1</sub> ürettiği, 17 tanesinin Aflatoksin üretmediği belirlenmiştir. Aflatoksin analizi yapılan 127 adet kırmızıbiber örneğinin 83 tanesinde Aflatoksin B<sub>1</sub>, 2 tanesinde ise hem B<sub>1</sub> hem de B<sub>2</sub> oluşumu belirlenmiştir. Araştırmacılar örneklerde toksijenik küfle bulaşmanın ve Aflatoksin üretiminin, ortam koşullarına bağlı olarak hasat öncesi oluşmaya başladığını ve tarlada doğal kurutma sırasında büyük oranda arttığını saptamıştır. Bu olumsuz durumu gidermek için de kırmızıbiberlerin ilkel şartlarda değil, modern kurutma tesislerinde işlenmesi gerektiğini belirtmişlerdir (Taydaş ve Aşkın 1995).

Pakistan'da analize alınan 176 kırmızıbiber % 66'sında Aflatoksin B<sub>1</sub> saptanmıştır. Genelde Aflatoksin miktarı düşük düzeyde bulunmuş, Aflatoksin B<sub>1</sub> 7 örnekte en yüksek 25 ppb olarak tespit edilmiştir. Kırmızı toz biber örneklerinde Aflatoksin B<sub>1</sub> için pozitif olanların sayısının yüksek olması muhtemelen düşük kaliteli kırılmış kırmızıbiberleri kapsamasında ileri gelmektedir. Yalnız iki kırmızıbiberde Aflatoksin B<sub>2</sub> bulmuşlar, buna karşın G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> tespit edilememiştir (Ahmad ve Ahmed 1995).

Aflatoksin yönünden problemlili ürünlerin başında gelen kırmızıbiberin, dünyanın birçok yerinde yapılan çalışmalarda Aflatoksin ile önemli ölçüde kontaminasyona uğradığı bildirilmektedir. Almanya'da yapılan bir tarama çalışmasında çok büyük çoğunluğu

Türkiyeden ithal edilmiş olan 204 kırmızıbiber örneğinde ve bunların % 50 sinde limitlerin üzerinde Aflatoksin olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerdeki Aflatoksin miktarı 2 ppb'den 150 ppb'ye kadar değişmektedir. Bursa ve Sakarya kırmızıbiberlerinde TLC yöntemi ile Aflatoksin aranmış, 34 örnekten 8'inde Aflatoksin saptanmıştır. Aynı çalışmada Aflatoksin B1 düzeyi 1,65–15 ppb arasında saptanmıştır (Çoksöyler 1995, Yıldırım 1997).

Etiyopya da yapılan çalışmada, depolardan, perakende satış yerlerinden, marketlerden alınan 60 kırmızıbiber örneğinin 13 tanesinde Aflatoksine rastlanmıştır (Fufa 1996).

İngiltere'de yapılan çalışmalarda aralarında kırmızı toz biberinde bulunduğu 157 baharat örneğinin % 95'inde 10 ppb düzeyinde, 9 tanesinde yüksek miktarda toplam Aflatoksin tespit edilmiştir (McDonald 1996).

Yaptıkları çalışmada Tekirdağ İl merkezinde 13 farklı satış yerinden sağlanmış kırmızı pul biber örneklerinde toplam Aflatoksin (B1+B2+G1+G2) araması yapmışlardır. Araştırmada immunoaffinity mini kolon esaslı hızlı test yöntemi kullanılmıştır. Örneklerin % 39'unda toplam Aflatoksin (<4ppb–10 ppb>) olarak belirlenmiştir (Dıraman ve Arıcı 1999).

Yapılan Literatür incelemesinde Almanya'da 1992 yılında Hamburg Federal Kimya ve Gıda Kontrol Servisi tarafından analiz edilen 11 adet kırmızı pul biberin 6 adedinde 1,3–35 ppb düzeyinde Aflatoksin B1 belirlenmiştir. Ayrıca 8 adet süs kırmızıbiberin 3 adedinde de 1,0–156 ppb düzeyinde Aflatoksin B1 ihtiva ettiği görülmüştür (Anonim 1992-a).

Federal Almanya'nın Karlsruhe şehrindeki Kimya ve Tarım Araştırma Servisinde Türkiye kökenli kırmızı pul ve süs biberlerinde Aflatoksin aranması yapılmış ve örneklerin % 75'inin Aflatoksin B1 ihtiva ettiği belirlenmiştir. Bunlar arasında 100 ppb'yi geçen örneklerin bulunduğu da belirtilmiştir (Anonymous 1994).

Buna ek olarak aynı yıl içerisinde Almanya'ya Türkiye'den ithal edilen kırmızıbiberlerin Aflatoksin riski nedeni ile Baden Württemberg eyaleti yönetimi tarafından imha edildiği de bildirilmektedir. Yine Federal Almanya ya ithal edilen Türkiye kökenli kırmızı pul biberlerden alınan 79 adet örneğin 70'inde ve 9 adet süs biberlerinin de 4'ünde Aflatoksin B1 belirlenmiştir. Bu örneklerin Aflatoksin değerlerinin pul biberler için genelde (% 50 civarının) 4 ile 100 ppb arasında odaklandığı ve 2 adet örneğin de 100 ppb'yi geçmiş olması oldukça ilginç bulunmuştur (Anonymous 1994).

Tarım Bakanlığı tarafından yapılan bir başka çalışmada ise, Güneydoğu Anadolu Bölgesi kökenli 60 kırmızı pul biber örneğinin 40 adedinde ( % 66,7 ) limit değer 20 ppb'nin altında Aflatoksin B1 belirlenmiş; geri kalan 28 örnek ( % 46,7 )'te ise limit değerinin üzerinde sonuçlar alınmıştır. Örneklerin genel ortalaması 5,7 ppb olmuştur (Dıraman ve Arıcı 1999).



Türkiyede pazarlanan bazı baharat çeşitlerinde hızlı iki yönlü ince tabaka kromatografisi kullanılarak Aflatoksin analizi yapılmıştır. Bu örneklerde Aflatoksin B1 miktarını, Hindistan cevizi örneklerinin % 76'sında 0,24–8,2 ppb, karabiber örneklerinin % 16'sında 0,8–3,6 ppb, kırmızı toz biber örneklerinin % 80'inde 1,3–19,8 ppb, kırmızı pul biber örneklerinde ise % 92'sinde 1,2–14,8 ppb olarak saptanmıştır (Karagöz 1999).

1996–2000 yılları arasında Türkiye'nin çeşitli yerlerinde alınan toz ve pul kırmızıbiber kuru incir, ayçiçeği, iç ceviz, kuru üzüm, zeytin ezmesi, mısırın ana madde olarak kullanıldığı gıdalar, bisküvi ve yaş maya olmak üzere toplam 2535 gıda maddesi örneği ve 726 karma yem örneği analiz edilmiştir. Gıda maddelerinde en yüksek Aflatoksin kontaminasyonu kırmızıbiberde (% 64,4) görülmüş ve bu ürünün % 46'sında aflatksin miktarı Türkiye limitlerini aşmıştır (Anonim 2002).

Aflatoksin oranları kırmızıbiberde önemli ölçüde değişme göstermiştir. Kahramanmaraş ve Gaziantep çevresinde üretilen kırmızıbiberlerin % 72,1'i Aflatoksinle kontamine ve % 54'ü de limitlerin üzerinde bulunmuştur. Aflatoksin B1'in ortalama (3,0–40,0 ppb) ve % 90 değerleri (25,0–104,0 ppb) yönünden bakıldığında da bu ürünlerdeki kontaminasyonun çok tehlikeli düzeylerde olduğu da görülmektedir (Anonim 2002).

Kahramanmaraş ve Gaziantep çevresinde üretilen kırmızıbiberlerde, Çanakkale, Bursa ve Şanlıurfa'da üretilen biberler arasında fark dikkat çekmektedir. Çanakkale, Bursa biberlerinde de % 23,33 gibi azımsanmayacak oranda bir kontaminasyon varken, kontamine ürünlerden yalnız 8,8 ppb Aflatoksin B1 içeren bir tanesi limiti aşmıştır. Şanlıurfa örneklerinde ise 2 örnekten birinde 5,0 ppb düzeyinde Aflatoksin bulunmuştur. Ankara İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, mikotoksin laboratuvarlarında yürütülmüş olan 'kırmızıbiberlerde Aflatoksin oluşum nedenleri ve çözüm yolları üzerinde araştırmalar' konulu proje çalışmaları sırasında bu farklılığın Çanakkale, Bursa ve Şanlıurfa çevresinde üretilen biberlerin parçalanarak, Kahramanmaraş ve Gaziantep'te ise bütün olarak kurutulmasına bağlı olabileceği görülmüştür (Anonim 2002).

İngiltere'de kahvaltı, fast food, ana sıcak yemek, çorba, sos ve mezelerden oluşan 511 adet menüde bu gıdaların ne kadar güvenilir olduğunu araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada gıdaların 356'sında (% 69,7) mezofilik aerobik bakteri, 28'inde (%5,5) *Bacillus cereus*, 163 adedinde (%31,9) *Staphylococcus aureus* ve 172'sinde (33,7) *E. coli* olduğu saptanmıştır. Gıdaların çoğunun mikrobiyolojik kalitesinin kabul edilebilir limit değerler arasında olduğu fakat salata, makarna ve kırmızıbiberde kontaminasyonun kabul edilemez değerlerde olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak herhangi bir değer belirtilmemiştir (Mensah ve ark. 2002).

Aflatoksinler, birçok gıda maddesinde bulunmuştur. Özellikle rastlandığı ürünler bitkisel ve hayvansal ürünler olarak sınıflandırılabilir. Bitkisel ürünler; yerfıstığı ve ürünleri, Pamuk tohumu, mısır, un, çavdar, yulaf ve bulgur gibi bazı tahıllar, fındık, badem, ceviz, Antep fıstığı, ayçiçeği, Brezilya kestanesi, incir, zeytin ve özellikle de kırmızı pul biber gibi bazı baharat çeşitleridir (Çelikay 2003).

İstanbul'da toz kırmızıbiber örneklerinde ELISA yöntemi ile yapılan bir çalışmada, 50 adet örneğin % 16'sında Aflatoksin B<sub>1</sub> düzeyi 1 ppm'in altında, % 72'sinde 1-5 ppm değerleri arasında, %12'sin de ise TGK'de bildirilen maksimum 5 ppm'den yüksek bulunmuştur (Bulan 2003).

Ülkemizin 2000–2004 yılları arasında AB ülkelerine gönderdiği bitkisel ürünlerden uygun bulunmayanlar ve uygun bulunmama nedenleri, AB Hızlı Alarm Sistemi (RASSF)'nin internet ortamındaki verilerine göre Çizelge 2.2.'de özetlenmiştir (Anonim 2004 ).

Çizelge 2.2. Ülkemizin 2000–2004 yılları arasında AB'ne gönderdiği bitkisel ürünlerden uygun bulunmayan partilerin sayısı ve nedenleri.

Yıllar	Uygun bulunmayan ürün sayısı	Nedenleri
2000	0	-
2001	2	Pestisit kalıntısı
2002	9	Pestisit kalıntısı
2003	54	45 parti toksin kalıntısı 9 parti diğer (sudan boyaları ve bakteriyel kirlenme)
2004	92	18 parti pestisit kalıntısı 56 parti toksin kalıntısı 18 parti diğer (sudan boyaları ve küf)

2005 Şubat'ında İngiltere'de Sudan1 isimli gıda boyası eklenmiş 350 ürünün raflardan toplatılacağı açıklandı. İngiltere'de Sudan1 hazır çorba, sos ve hazır yemeklerde kullanılmaktadır. İngiliz Yiyecek Standartları Acentesi, Sudan1 eklenmiş yiyeceklerin tüketilmemesini duyurdu. Ardından Sudan1'in kanserojen olduğu için gıda üretiminde kullanılması İngiltere'de ve tüm Avrupa Birliği'nde yasaklandı (BBC 2005).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Araştırma materyalini, İstanbul ilinde baharat paketlemesi yaparak tüketiciye son ürün olarak sunan 5 büyük işletmeden 1 yıl boyunca her ay düzenli olarak alınan toplam 60 parti kırmızı pul biber örneği oluşturmuştur. İşletmelerden, Türk Gıda Kodeksine uygun olarak Aflatoksin analizi için 500g'lık, mikrobiyolojik analizler için 150'şer g'lık, Sudan 1 ve Sudan 4 Boyalarının analizleri için DE 250 g'lık 5 paket orijinal ambalajında örnekler alınarak aynı gün içerisinde analiz edilmek üzere laboratuara götürülmüştür. Araştırma kapsamındaki işletmeler A, B, C, D ve E olarak adlandırılmıştır.

#### 3.2. Yöntemler

##### 3.2.1. Numunelerin alınması ve analize hazırlanması

Örnekler her ayın ilk 20 günü içerisinde işletmelerin son ürün deposundan 500 g'lık 250g'lık ve 150g'lık orijinal paketlerden alınarak aynı gün içerisinde laboratuara getirilerek gerekli analizler yapılmıştır.

##### 3.2.2. Örneklerin Aflatoksin içeriğinin belirlenmesi

Kırmızıbiberlerdeki Aflatoksinlerin HPLC ile analizleri, AOAC Official Method 999.07'ye göre yapılmıştır (AOAC 2000). Aflatoksin standartlarının hazırlanmasında İl Kontrol Laboratuvarı tarafından hazırlanmış stok standartlar kullanılmıştır.

##### *Sistem Koşulları*

- Dedektör : Floresans dedektör; ex: 360 nm em: 440 nm
- Kolon : LC-18 veya ODS-2 ( 4.6mm x 25cm x 5µm )
- Akış Hızı : 1 ml/dakika
- Türevlendirme : Kolon sonrası elektrokimyasal hücre ile üretilmiş brom ile
- Mobil Faz: su : asetonitril : metanol ( 6 + 2 + 3 v/v/v )  
120 ( mg/L mobil faz ) KBr + 100 ( µL/L mobil faz ) %65  
HNO<sub>3</sub>

### Ekstraksiyon

- 50 g numune 500 mL' lik vidalı kapaklı erlene tartılmıştır.
- Erlene 5 gram NaCl ve 300 mL ekstraksiyon solventi ( %80 metanol : %20 su ) ilave edilmiştir.
- Erlenin kapağını kapatıp 15–30 saniye kadar elde şiddetlice çalkalanmış, 30 dakika süre ile çalkalayıcıda tutulmuştur.
- Ekstrakt katlı filtre kâğıdından süzölmüştür.
- Filtratın 10,0 mL' si pipetle alarak temiz bir behere aktarılmıştır.
- Behere 60 mL PBS ilave edilerek iyice karıştırılmıştır.

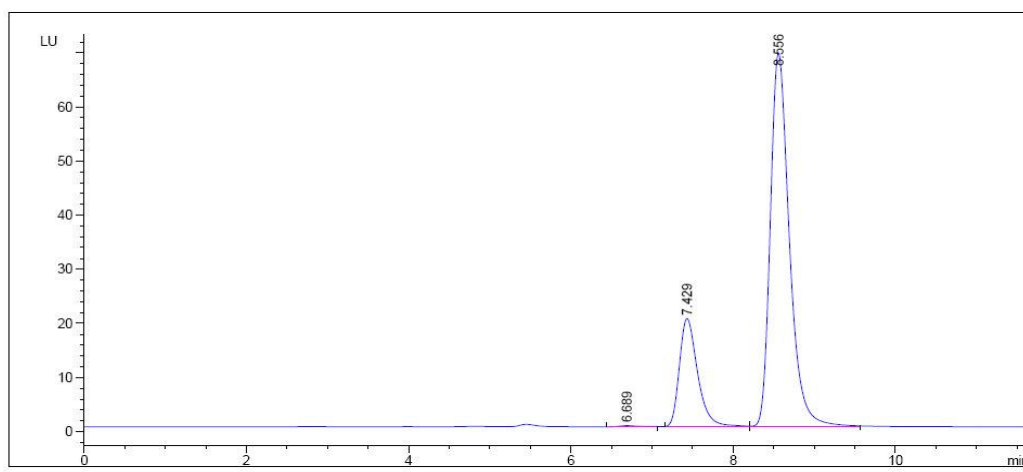
### AFLATEST® Kolon Kromatografisi:

- Numunenin tamamı 1-2 damla/saniye sabit hızla AflaTest P® kolonundan geçirilmiştir.
- Kolondan yaklaşık 2 damla/saniye sabit hızla 15 mL su geçirerek kolon yıkanmıştır.

### Elüsyon:

- Kolona 0,5 mL metanol aktarıp yerçekimi ile vial e akmasını beklenmiştir.
- 1 dakika bekledikten sonra 0,75 mL metanol ile aynı işlemi tekrarlanmıştır.
- Vial e 1,75 mL su ilave ederek toplam hacmi 3 mL' ye tamamlanmış ve iyice karıştırılmıştır.
- Eluatın yeterince berrak olmadığı durumlarda 0,45 µm' lik şırınga ucu filtresinden süzdükten sonra HPLC' ye enjekte edilmiştir.

HPLC sistem özellikleri ve çalışma koşulları Çizelge 3.1'de, örnek kromotogram da Şekil 3.1'de verilmektedir.



Şekil 3.1. Aflatoksin analizlerinde elde edilen örnek kromotogram.

Çizelge 3.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Sisteminin özellikleri ve çalışma koşulları.

---

Yüksek Basınçlı Sıvı Pompasının Özellikleri

Pompa : Quaternary Gradient Pompa  
Akış hızı : 0,01-10 mL/dak  
Basınç aralığı : 1-400 bar

---

Flöresan Dedektörün Özellikleri

Eksitasyon dalga boyu aralığı : 200-650 nm  
Emisyon dalga boyu aralığı : 280-650 nm  
Spektral bant genişliği : 8 nm  
Işık kaynağı : Xenon lamba

---

Kolonun Özellikleri

Kolon : ODS-2 Hypersil  
Boyutları : 250 x 4,6 mm  
Partikül çapı : 5µm

---

HPLC Şartları

Akış hızı : 1 mL/dak  
Enjeksiyon miktarı : 10 µL  
Kolon sıcaklığı : 23 °C  
Dalga boyu : Ex : 325 nm, Em. : 425 nm  
Mobil faz : Metanol-asetonitril-su (20-20-60), 350 µL 4 M HNO<sub>3</sub> (1 litreye), 119 mg KBr (1 litreye)

---

Signal 1: FLD A, Ex= 360 Em= 430

Ret Time ( min )	Type LU	Area *S	Amt/Area (ng/10µl)	Amount	Grp	Name
7.633	BB	9.97178e-1	3.52155e-2	3.51161e-2		G2
8.962	BB	4.24045	4.31231e-2	1.82861e-1		G1
10.415	BB	2.54529	1.49771e-2	3.81209e-2		B2
12.409	BB	7.33479	2.54472e-2	1.86650e-1		B1
Totals :			4.42748e-1			

### 3.2.3. Örneklerdeki Sudan 1 ve Sudan 4 boyaalarının belirlenmesi

Sudan 1 ve Sudan 4 içeriklerinin belirlenmesinde HPLC (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi) analiz yöntemi kullanılmıştır (FSA, 2003).

HPLC ile Sudan1'in saptanması.

Kapsam ve Uygulama Alanı :

Kırmızı pul biberde bulunan ürünlerdeki Sudan 1-4 varlığının tespiti için kullanılan ve FSA tarafından geçerli kılınan metottur. Sudan 1 yağda çözünebilir, mono azo grubu, yiyeceklerde kullanımına izin verilmeyen kanserojen bir maddedir. Metanol ile ekstrakte edilme prensibine dayanır. Sudan 1 metanolla hazırlanmış bir örnekten ekstrakte edilir. Metanolla hazırlanan örnek filtreden süzülür. HPLC kullanılarak hızlı tespit yapılır.

GPR, AR ve HPLC sınıfındaki araçlar, herhangi bir araç belirtilmedikçe bu sınıftaki araçlar kullanılır. Kullanılan suyun iyonik tuzlar açısından saflaştırılmış olması veya damıtılmış olması veya bu kalitede saf su olmalıdır.

Sudan1: % 97 saflıkta 'Aldrich'ten ulaşılır.

Sudan1 Stok Çözeltisi : 0,1g Sudan 1, mezure konur ve metanol ilavesi ile 100 ml'ye tamamlanır. Bu karışım karıştırılarak metanol içinde iyice çözüldürülmesi sağlanır. Bu çözelti 1000 mg/L konsantrasyona sahiptir.

Sudan1 çalışma çözeltileri: Hazırlanan çözelti metanol eklenerek Sudan 1 stok çözeltileri aşağıdaki konsantrasyonlarda hazırlanır.

Stok Çözelti	Konsantrasyon
100 µl	1,0 mg/l
0,5 ml	5,0 mg/l
1,0 ml	10,0 mg/l
2,0 ml	20,0 mg/l
5,0 ml	50,0 mg/l
10,0 ml	100 mg/l

Hazırlanan çözeltiler mümkün olduğunca ışıktan korunmalı en basit şekilde alüminyum folyo ile sarılır.

Potasyum Dihidrojen fosfat

Tetrabütülamın bromit

Metanol : HPLC sınıfı

HPLC için mobil fazlar

A 0.6804g Potasyum Dihidrojen fosfat saf su ile 400mL'ye tamamlanır.

B 2.0240g Tetrabütülamın bromit HPLC metanolü ile 1600mL'ye tamamlanır.

0,45 mikronluk filtreden süzülür.

*Kullanılan Alet ve Ekipmanlar:*

- Laboratuvar cam malzemeleri ve aparatları
- Örnek ekstratları koymak için 12ml'lik tüpler
- Filtre kağıtları GF/A 70 mm.
- 0,2 mikron \* 13 mm şırıngalar, Chromacol 13-MF-02 (T) uygundur.
- 2 ml otomatik örnekleyici şişeler.
- HPLC UV taramalı diode array dedektörlü.
- Laboratuvar homojenizatörü
- 50 ml'lik ölçü silindirleri

*Örneklerin hazırlanması:*

Örnek olarak kullanılacak pul biberler karıştırılır ( bu karıştırma işleminde aerosollerin potansiyel yapısına zarar vermemesi açısından yüksek hızda çalışan blendır gibi aletlerde karıştırılmamalıdır). Islak kırmızıbiber içeren ürünler homojenizasyonun sağlanması için mümkün olabildiğince laboratuvar homojenizatörüne götürülmelidir. Hazırlanan örnekler yapısında bozulma olmaması için hava geçirmeyen plastik kaptan depolanmalıdır. Hazırlanan örnekler homojenize edildikten hemen sonra analiz edilmelidir. Homojenliğin sağlanması için örnekler analizden önce iyice çalkalanmalıdır. 5 g hazırlanmış örnek 0,01 g hassasiyetindeki terazide tartılarak 50 mL'lik cam mezüre konulur. Methanol ile 50 ml'ye tamamlanır. 30 sn çalkalanır. 30 dakika dinlendirilir. Hazırlanan süper natant çözelti filtre kağıdından uygun kaba süzülür. Filtrelenen örneklerden tek kullanımlık şırıngalar yardımı ile 2 ml'lik tüplere aktarılır. Ekstrakt edilmiş örnekler karanlık ortamda depolanır veya alüminyum folyo sararak korunur. HPLC sistemi çalıştırılır. Stabilize olması için 1 saat tutulur.

*Hesaplama:*

$$\text{Konsantrasyon (ppm)} = (A/B) \times Y \times (50/W) \times D$$

A : Ekstrakte edilmiş test bölümünün pik alanının ortalaması

B: Standart çalışma solüsyonunda ilgilenilen pik alanının ortalaması

Y : Standart çalışma solüsyonunun uygun konsantrasyonu ( mg/L)

W : Örnek ağırlığı

D: Çözelti Faktörü

### 3.2.4. Mikrobiyolojik Analizler

#### 3.2.4.1. Örneklerde *Salmonella* aranması

*Salmonella* belirlenmesi klasik metodla yapılmıştır. Ön zenginleştirme için 25 g numune alınarak 225 ml pepton water ilave edilmiş ve 37°C'lik etüvde 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. Seçici zenginleştirme için 37°C'de 1 gün inkübe ettiğimiz numunelerden mikropipetle 1 ml alınarak hazır vaziyetteki MKTT Broth tüpüne, 0,1 ml de daha önceden hazırlanıp steril edilmiş 10 ml'lik Rappaport Vassiliadis tüpüne konmuştur. MKTT Broth tüpleri 37 °C'lik etüvde 1 gün, Rapaport Vassiliadis tüpleri ise 42 °C'lik etüvde 1 gün bekletildikten sonra XLT4 Agar petrisine öze yardımıyla çizilmiştir. Çizilen petriler 1 gün 37 °C'lik etüvde bekletilmiştir. Eğer koyu siyah renkte bir üreme gözlenmiyorsa sonuç negatif, siyah renkte koloniler mevcutsa *Salmonella* varlığından şüphelenilmiştir (Anonim 1992-b).

#### 3.2.4.2. Örneklerde *Bacillus cereus* aranması

Analizde uygulanan işlemler; selektif katı besiyerine sürme, koloni sayımı, tipik koloni seçimi ve biyokimyasal testlerdir. *B.cereus* sayımında kullanılan besiyeri TS 6404'te de belirtildiği gibi Mannitol Egg-Yolk PYE Polimyxine (MYP) Agar besiyeridir. Hazırlanan ardışık iki dilüsyondan ikişer petriye 0,1 er mL ekim yapılmış, önceden hazırlanan donmuş MYP Agar üzerine yayma yöntemi ile yayma yapıp, drigalski spatülü ile yayılmıştır. Petriler 30 °C'da 18-24 saat inkübasyona bırakılmış tipik koloni oluşumu gözlenmiştir (Anonim 1999, Anonim 2000).

#### 3.2.4.3. Örneklerde *Staphylococcus aureus* aranması

*S. aureus* için hazır Baird-Parker Agar besiyeri kullanılmıştır. Numuneden hazırlanan 1/10 ve 1/100'lük dilisyonlardan 0,5'er ml alınarak Baird-Parker Agar petrisine damlatılarak "L" çubuk yardımıyla yüzeye yayılmış ve petriler 37 °C'lik etüvde 2 gün inkübe edilmiş ve gelişen siyah koloniler sayılmıştır (Anonymous, 1992-b).



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Aflatoksin B<sub>1</sub> Sonuçları

Kırmızı pul biberlerde bir yıllık süre içerisinde elde edilen Aflatoksin B<sub>1</sub> sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. A firmasından yıl boyu alınan örnekler sonucunda 4 örneğinin (% 33,33), B firmasından yıl boyu alınan örnekler sonucunda 2 örneğinin (% 16,6), C firmasından yıl boyu alınan örnekler sonucunda 1 örneğinin (% 8,3), D firmasından yıl boyu alınan örnekler sonucunda 8 örneğinin (% 66,6) ve E firmasından yıl boyu alınan örnekler sonucunda da 1 örneğinin (% 8,3) yasal limitin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 4.1.’de görüldüğü gibi tüm firmalara ait değerlere bakıldığında en yüksek değer 21,33 ppb ile D firmasında Nisan ayında saptanırken, en düşük değer 0,65 ppb ile E firmasında Şubat ayında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1.’deki aylık ortalama analiz sonuçları olarak incelendiğinde Ocak ( 6,09 ppb ), Nisan ( 7,11 ppb ), Mayıs (6,62 ppb ), Haziran ( 5,46 ppb ) ve Temmuz ( 7,08 ppb ) aylarında işletmelerde yasal limitlerin üzerinde Aflatoksin B<sub>1</sub> değerleri tespit edilmiştir. Firmalar bazında Çizelge 4.1. incelendiğinde ise A ( ort. 5,57 ppb ) ve D ( ort. 9,77 ppb ) firmalarının yıllık ortalamalarının yasal limitlerin üzerinde olduğu anlaşılmaktadır.

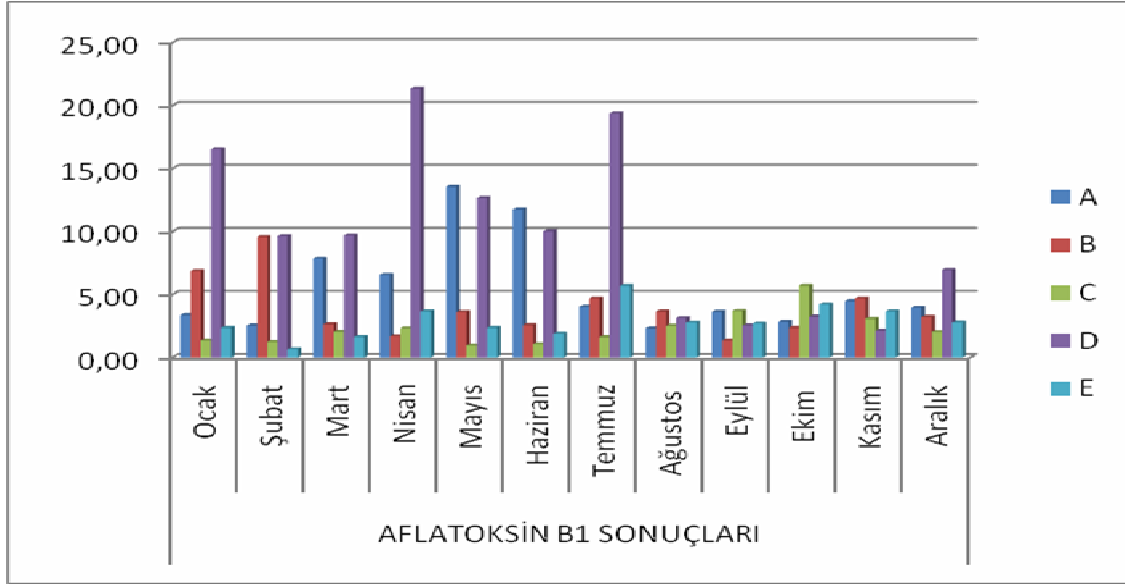
Çizelge 4.1. Kırmızı pul biberlerin Aflatoksin B<sub>1</sub> analiz sonuçları (ppb)

FİRMA	AYLAR												Ort.
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	
A	3,36	2,53	7,84	6,56	13,54	11,75	4,02	2,31	3,62	2,84	4,47	3,96	5,57
B	6,86	9,56	2,63	1,69	3,61	2,56	4,69	3,64	1,35	2,36	4,69	3,21	3,90
C	1,34	1,23	2,03	2,32	0,94	1,05	1,62	2,51	3,68	5,69	3,06	2,02	2,29
D	16,52	9,64	9,69	21,33	12,65	10,03	19,37	3,12	2,55	3,24	2,13	6,94	9,77
E	2,36	0,65	1,63	3,65	2,36	1,89	5,69	2,77	2,69	4,21	3,65	2,78	2,86
Mak.	16,52	9,64	9,69	21,33	13,54	11,75	19,37	3,64	3,68	5,69	4,69	6,94	9,77
Min.	1,34	0,65	1,63	1,69	0,94	1,05	1,62	2,31	1,35	2,36	2,13	2,02	2,29
Ort.	6,09	4,72	4,76	7,11	6,62	5,46	7,08	2,87	2,78	3,67	3,60	3,78	4,88

Numune sonuçları Çizelge 4.1.’den firmalar bazında yıllık ortalamaları incelendiğinde; D firmasının ortalama 9,77 ppb ile en yüksek değere, C firmasının ise ortalama 2,29 ppb değer ile en düşük ortalama değere sahip olduğu anlaşılmaktadır. Çizelge 4.1. aylara göre ortalamaları incelendiğinde en yüksek değere Nisan ayında 7,11 ppb ile en düşük değere ise

Eylül ayında 2,78 ppb ile ulaşılmıştır. Bu analiz sonuçlarının yıllık ortalaması 4,88 ppb olduğu anlaşılmıştır.

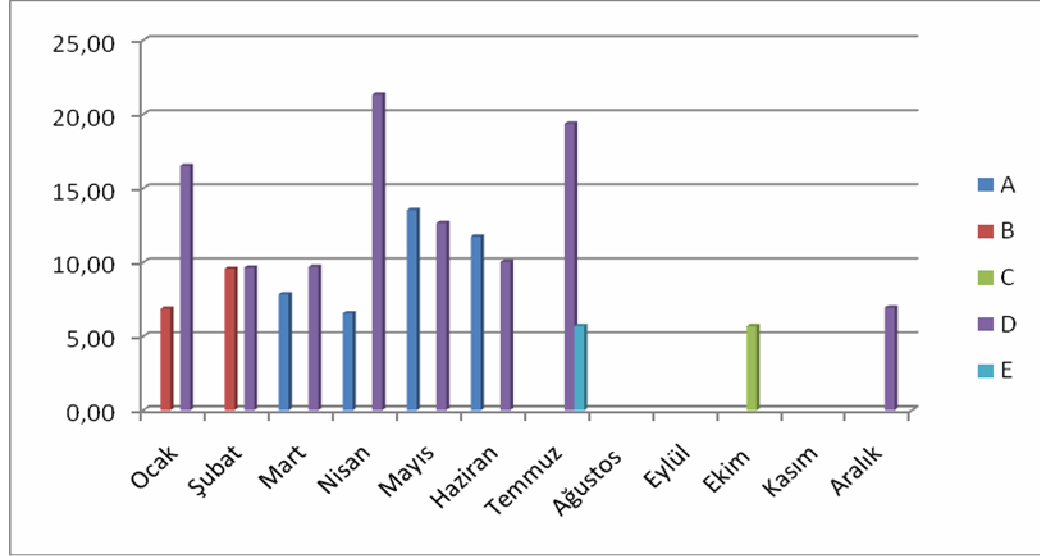
Şekil 4.1.'i incelediğimizde ise D firmasının Aflatoksin B<sub>1</sub> değerlerinin yılın ilk 7 aylık periyodunda diğer 4 firmaya göre yüksek olduğu görülmektedir.



Şekil 4.1. Kırmızı pul biberlerin Aflatoksin B<sub>1</sub> sonuçlarının aylara göre değişimleri (ppb)

Örnekler Aflatoksin B<sub>1</sub> içeriği incelendiğinde, 60 örneğin 16'sının (% 26,66) yasal limitin üzerinde olduğu görülmektedir (Şekil 4.2.).

Şekil 4.2.'den A firmasının Mart, Nisan, Mayıs, Haziran ve Ağustos, B firmasının yılın sadece ilk iki ayı olan Ocak ve Şubatta, D firmasının yılın Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım ayı hariç 8 ayın sonuçlarının yasal limitler üzerinde olduğu, buna karşın C firmasının sadece Ekim ayında ve E firmasının da sadece Temmuz ayında yasal limitleri aştığı anlaşılmaktadır. Şekil 4.2.'den de anlaşılacağı gibi Ağustos, Eylül ve Kasım aylarında Aflatoksin B<sub>1</sub> yönünden yasal limitin üzerinde çıkan numune sonucu bulunmamaktadır. Yasal limiti aşan en büyük değer Nisan ayında 21,33 ppb'lik değer ile D firmasında saptanmıştır.



Şekil 4.2. Aflatoxin B1 yönünden yasal limit üzerindeki numunelerin incelenmesi

Yaptığımız araştırmada elde ettiğimiz yasal limitin üzerindeki Aflatoxin B<sub>1</sub> sonuçlarını literatür bilgileri ile karşılaştırdığımızda; Bulan (2003)'in elde ettiği sonuçlardan yüksek, Dıraman ve Arıcı (1999)'dan düşük olduğu anlaşılmaktadır.

#### 4.2. Toplam Aflatoxin Sonuçları

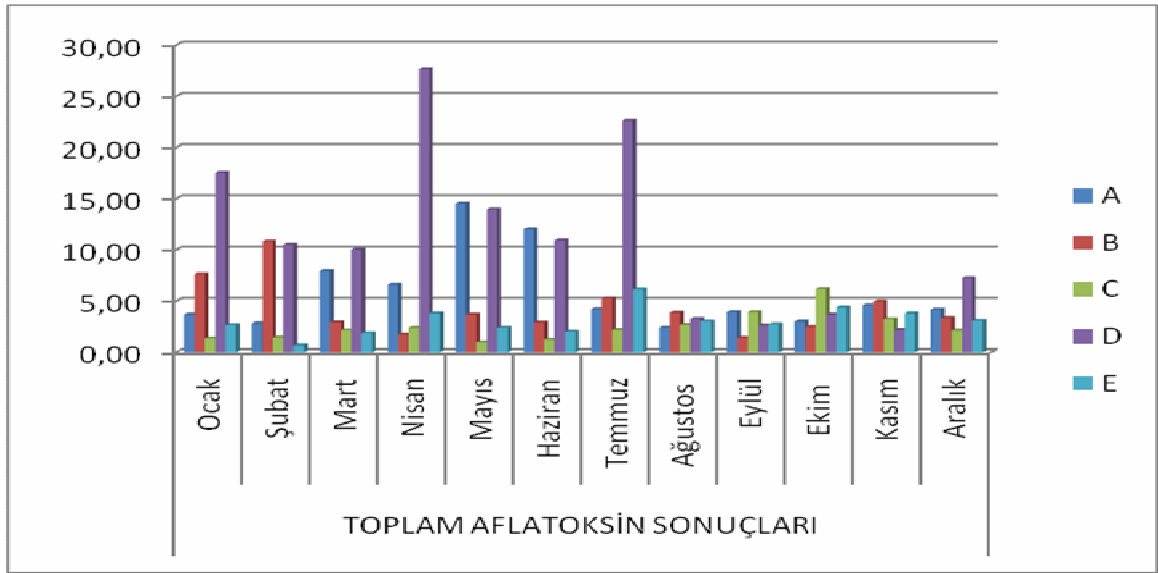
Kırmızı pul biberlerin yıl boyunca Toplam Aflatoxin içerikleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi tüm firmalara ait değerlere bakıldığında en yüksek değer 27,65 ppb ile D firmasında Nisan ayında saptanırken, en düşük değer 0,67 ppb ile E firmasında Şubat ayında tespit edilmiştir.

Firmalardan yıl boyunca alınan numunelerin Toplam Aflatoxin sonuçları incelendiğinde; A firmasının Mayıs ve Haziran aylarında alınan 2 örneğinin (% 16,66), B firmasının Şubat ayında alınan 1 örneğinin (% 8,33), D firmasının Ocak, Şubat, Mart, Nisan, Mayıs, Haziran ve Temmuz aylarında alınan 7 örneğinin (% 58,33) yasal limitleri aştığı görülmüştür. Bunun yanında C ve E firmalarından alınan numune sonuçlarında ise analiz sonuçlarının yasal limiti aşmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2.'de alınan numunelerin toplam Aflatoxin sonuçları ortalamaları aylara göre incelendiğinde yasal limitin aşılmadığı görülmüştür. Firmaların yıllık ortalamaları incelendiğinde ise sadece D firmasının yıllık ortalaması 11,02 ile yasal limit olan 10 ppb'yi aştığı görülmüştür. Aylık ortalama sonuçlar incelendiğinde; en yüksek değer 8,44 ppb ile Nisan ayında ve en düşük değer 2,93 ppb ile Eylül ayında tespit edilmiştir. Çizelge 4.2. incelendiğinde yıllık ortalama toplam Aflatoxin değeri 5,33 ppb olarak ortaya çıkmıştır.

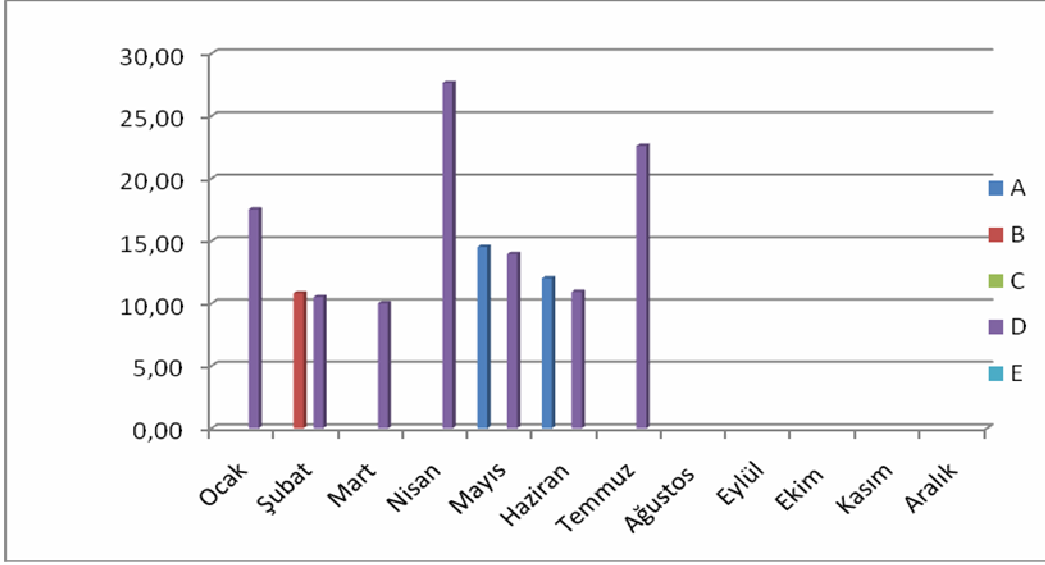
Çizelge 4.2. Kırmızı Pul biberlerin Toplam Aflatoksin analiz sonuçları (ppb)

FİRMA	AYLAR												
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ort.
A	3,69	2,84	7,95	6,62	14,53	12,02	4,22	2,39	3,95	3,02	4,58	4,19	5,83
B	7,62	10,82	2,94	1,74	3,68	2,91	5,29	3,87	1,41	2,48	4,96	3,35	4,26
C	1,36	1,44	2,15	2,38	0,99	1,24	2,19	2,68	3,93	6,18	3,24	2,14	2,49
D	17,54	10,52	10,02	27,65	13,95	10,93	22,62	3,27	2,62	3,68	2,19	7,26	11,02
E	2,67	0,67	1,88	3,81	2,39	2,03	6,15	3,03	2,75	4,39	3,81	3,09	3,06
Mak.	17,54	10,82	10,02	27,65	14,53	12,02	22,62	3,87	3,95	6,18	4,96	7,26	11,02
Min.	1,36	0,67	1,88	1,74	0,99	1,24	2,19	2,39	1,41	2,48	2,19	2,14	2,49
Ort.	6,58	5,26	4,99	8,44	7,11	5,83	8,09	3,05	2,93	3,95	3,76	4,01	5,33



Şekil 4.3. Kırmızı pul biberlerin Toplam Aflatoksin değerlerinin aylara göre değişimleri

Yaptığımız araştırmada elde ettiğimiz yasal limitin üzerindeki toplam Aflatoksin sonuçlarını literatür bilgileri ile karşılaştırdığımızda; Macdonald (1996)'ın elde ettiği sonuçlardan yüksek, Dıraman ve Arıcı (1999)'dan düşük olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.4. Toplam Aflatoksin yönünden yasal limit üzerindeki numunelerin incelenmesi

Şekil 4.4.'dan da anlaşılacağı gibi Ağustos, Eylül, Ekim, Kasım ve Aralık aylarında Toplam Aflatoksin yönünden yasal limitin üzerinde çıkan numune sonucu bulunmamaktadır. Yasal limiti aşan en büyük değer Nisan ayında 27,65 ppb'lik değer ile D firmasında saptanmıştır.

Şekil 4.4.'dan da anlaşılacağı gibi yıl boyunca alınan 60 numuneden 10 tanesi ( % 16,66 ) yasal limitlerin üzerinde tespit edilmiştir.

### 4.3. Sudan 1 Boyası Sonuçları

Kırmızı pul biberlerin yıl boyunca Sudan 1 boyası içerikleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. 60 numunenin 5 tanesine (%8,3) Sudan 1 boyası katıldığı tespit edilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi tüm firmalara ait değerlere bakıldığında en yüksek değer 280,23 ppm ile A firmasında Nisan ayında saptanırken, en düşük değer 80,35 ppm ile D firmasında Mart ayında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Kırmızı pul biberlerin Sudan 1 boyası içerikleri (ppm)

Firma	AYLAR											
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
A	.*	-	-	280,23	150,96	-	-	-	-	-	-	-
B	-	-	120,36	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	-	157,63	80,35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*-: Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

Çizelge 4.3. incelendiğinde A işletmesinden Nisan ve Mayıs aylarında alınan 2 numunesinin (% 16,66), B işletmesinin 1 numunesinin (% 8,33), D işletmesinin 2 numunesinin (% 16,66) Sudan 1 boyası tespit edilmiştir. C ve E işletmesinde ise Sudan 1 boyası içeren ürün üretmedikleri belirlenmiştir.

#### 4.4. Sudan 4 Boyası Sonuçları

Kırmızı pul biberlerin yıl boyunca Sudan 4 boyası içerikleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. 60 numunenin 4 tanesine (% 6,6) Sudan 4 boyası katıldığı tespit edilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi tüm firmalara ait değerlere bakıldığında en yüksek değer 75,47 ppm ile A firmasında Nisan ayında saptanırken, en düşük değer 18,69 ppm ile D firmasında Mart ayında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. incelendiğinde A işletmesinden Nisan ayında alınan 1 numunesinin ( % 8,33 ), B işletmesinin Mart ayında alınan 1 numunesinin ( % 8,33 ), D işletmesinin Şubat ve Mart ayında alınan 2 numunesinin ( % 16,66 ) Sudan 4 boyası tespit edilmiştir. C ve E işletmesinde ise Sudan 1 boyası içeren ürün üretmedikleri belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Kırmızı pul biberlerin Sudan 4 boyası içerikleri (ppm)

Firma	AYLAR											
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
A	.*	-	-	75,47	-	-	-	-	-	-	-	-
B	-	-	23,59	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	-	48,69	18,69	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*-: Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

## 4.5. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

### 4.5.1. *Salmonella* spp. Sonuçları

Çizelge 4.5. incelendiğinde alınan 60 adet pul biber numunesinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçlarından birisi olan *Salmonella* spp. hiçbir numunede bulunmamıştır. Araştırmanın bu sonucunda, insan sağlığını tehdit edici bir ürüne rastlanılmaması ürünlerde, hammadde sürecinde ve işleme prosesinde herhangi mikrobiyal bulaşmanın olmadığı anlamına gelmektedir

Çizelge 4.5. Kırmızı pul biberlerin *Salmonella* spp. sonuçları (25g'da)

Firma	AYLAR											
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
A	.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* -: Tesbit edilemedi

### 4.5.2. *Bacillus cereus* Sonuçları

Çizelge 4.6. incelendiğinde alınan 60 adet pul biber numunesinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçlarından birisi olan *Bacillus cereus*, her numunede 10 kob/g'dan az çıkmıştır. Araştırmanın bu sonucunda, insan sağlığını tehdit edici bir ürüne rastlanılmaması ürünlerde, hammadde sürecinde ve işleme prosesinde herhangi mikrobiyal bulaşmanın olmadığı anlamına gelmektedir.

Çizelge 4.6. Kırmızı pul biberlerin *Bacillus cereus* sonuçları ( kob/g )

Firma	AYLAR											
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
A	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10
B	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10
C	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10
D	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10
E	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10

n: 5 örnektir

#### 4.5.3. *Staphylococcus aureus* sonuçları

Çizelge 4.7. incelendiğinde alınan 60 adet pul biber numunesinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçlarından birisi olan *S. aureus* her numunede 10 kob/g'dan az çıkmıştır.

*S. aureus*, başta ısıtıl işlem olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlılık gösterir. Dolayısıyla gıdalarda ve/veya proses ekipmanında bu bakteriye ve/veya enterotoksinlere rastlanması zayıf bir sanitasyon göstergesidir. Yapılan analizlerde ürünlerde *S. aureus*'a rastlanılmaması ürünlerin ayıklama, depolama ve paketlenme yerlerinin temiz olduğunu ve çalışanlardan herhangi bir bulaşma olmadığını gösterir.

Çizelge 4.7. Kırmızı pul biberlerin *Staphylococcus aureus* sonuçları (kob/g)

Firma	AYLAR											
	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
A	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10
B	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10
C	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10
D	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10
E	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10	n<10

n: 5 örnektir

Araştırma sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde, 16 örnekte (% 26,7) Aflatoxin B1, 10 örnekte (% 16,7) Toplam Aflatoxin, 5 örnekte (% 8,3) Sudan 1 boyası ve 4 örnekte (% 6,7) Sudan 4 boyası değerleri yasal limitin üzerine tespit edilmiştir. Tüm işletmesinden 12 ay boyunca alınan örnekler, incelenen mikroorganizmalar yönünden temiz çıkmıştır.

Sonuçları işletme bazında değerlendirecek olursak, A işletmesinden yıl içerisinde alınan 12 numuneden 4'ü Türk Gıda Kodeksi Aflatoxin B1 limitini, 2'si Türk Gıda Kodeksi Toplam Aflatoxin limitini aşmıştır. İşletme Sudan boya maddeleri yönünden ise A işletmesinde Nisan ayında alınan numunede Sudan 1 ve Sudan 4, Mayıs ayında ise Sudan 1 boya maddesi tespit edilmiştir.



B işletmesinde yıl boyunca 12 numuneden sadece 1'i Türk Gıda Kodeksi Aflatoksin B1, ve Toplam Aflatoksin limitini aşmıştır. İşletmede Sudan boya maddeleri yönünden; B işletmesinden Mart ayında alınan numunesinde Sudan 1 ve Sudan 4 boya maddesi tespit edilmiştir.

C işletmesinde sadece 1 numune Türk Gıda Kodeksi Aflatoksin B1 limitini aşmıştır. Yıl boyu alınan numunelerde Sudan 1 ve Sudan 4 boya maddesine rastlanmamıştır.

D işletmesi 8 numunedeki Türk Gıda Kodeksi Aflatoksin B1 limitini, 7 numunedeki Toplam Aflatoksin limitini aşmıştır. Şubat ve Mart aylarında alınan numunelerde Sudan 1 ve Sudan 4 boya maddesi tespit edilmiştir. İşletmeler içerisinde D işletmesi, Aflatoksin ve Sudan boyaları yönünden, incelenen diğer işletmelerle kıyaslandığında en çok kirliliğin saptanan işletme olmuştur.

E işletmesinden yıl içerisinde 12 ay alınan numuneden hiçbirisinde Türk Gıda Kodeksi Aflatoksin B1 ve Toplam Aflatoksin limitini aşan sonuç elde edilmemiş ve Sudan 1 ve Sudan 4 boya maddesine rastlanmamıştır. Bu açıdan E işletmesi, Aflatoksin ve Sudan boyaları açısından en temiz işletme olarak saptanmıştır.

## 5. SONUÇ

Yemeklere verdiği tat ve geleneksel baharatlarımızdan olan kırmızı pul biberlerin, Aflatoksin ve Sudan boyaları açısından risk oluşturduğu görülmüştür. Bu durumun düzeltilmesi; çiftçiden sofraya kadar uzanan gıda güvenliği zincirinin sağlam olarak kurulmasıyla mümkündür.

Ülkemizde üretilen pul biberlerde Aflatoksin bulunma riski açısından en önde gelen gıdalardan olduğunu ifade etmek mümkündür. İhraç ettiğimiz ürünlerden olan fındık, fıstık, antepfıstığı ve kuru incir gibi birçok ürünümüz Aflatoksin içerdiği için yurtdışından red edilmiş ve ekonomik yönden büyük kayıplara neden olmuştur. Bunun için bu konunun üzerinde titizlikle durmamız ve önce üreticiyi bilinçlendirmemiz gerekmektedir. Hasat zamanında yapılmalı, kurutma işleminde modern teknikler kullanılmalıdır. Ürünler depolanmaya alınmadan çürük ve bozuk olanlar ayrılmalıdır. Depoya ürün yaşken konulmalı ve nem miktarının artmamasına dikkat edilmelidir.

İşletmeler, aldıkları yasal limitler üzerindeki Aflatoksinli hammaddelerin Aflatoksin içeriğini yok edemezler. Bu kötü durumu tarladan önlem olarak kesmek gerekmektedir. Bunun için yasal limitlerin çerçevesinde hammaddeleri alıp, alınan hammaddeyi de uygun koşullarda depolayıp işledikten sonra market raflarına konulması gerekmektedir.

İşlemeye alınacak biberlerde küflü biberler ayıklanmalı ve imha edilmelidir. Küflü olmadığı halde, kuruma ve benzer nedenlerle görüntüleri bozulmuş biberler ise ayrı olarak öğütülüp, Aflatoksin analizlerinin olumlu sonuç vermesi durumunda kullanılmalıdır. İmalatçı, çiftçiden kuru değil taze biber almalı ve kurutmayı kendisi yapmalıdır.

Kırmızıbiberin hasadında ve kurutulmasında birçok yanlış yapılmaktadır, bu yanlışların minimize edilmesi gerekmektedir. Kurutma işleminde yol kenarlarına serilen kırmızıbiber toprak hariç, birde egzoz gazı bulaşmaktadır. Bunların önlenmesi için gerekli çalışmaların yapılması gerekmektedir. Kırmızıbiber üreten çiftçiler Aflatoksin konusunda tam anlamıyla bilgisizdirler. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı biber üretimi yapan çiftçilere Aflatoksin konusunda eğitim çalışmalarında bulunmalıdır.

Üretim zincirinin son noktası olan tüketicinin, kırmızı pulbiberleri sağlıklı olarak tüketebilmesi için baharat paketleyen işletmelerin dikkat etmesi gereken hususlar aşağıda belirtilmiştir;

- Herbir parti hammadde ürünü yasal limitler çerçevesinde işletmesine kabul etmeli.

- Herbir parti hammaddeyi deposunda birbirine karıştırılmadan uygun şartlarda muhafaza etmeli.
- Herbir parti hammaddenin işlenmesi nem ve ısı olarak Aflatoksin üretimini artırıcı olmayan sıcaklık ve nem değerlerinde olmalıdır.
- Üretilen her bir parti ürün uygun depolama koşullarındaki mamül madde deposunda muhafaza edilmelidir.
- İşletmelerde yasal limitin üzerinde numune elde edilmesinin nedenlerinden biri işletmelerin Gıda Güvenliği gerekliliklerini dikkate almayarak fiyat politikasını ön planda tutup düşük kalitede uygun fiyatlı hammadde alımları yapmaktadırlar.

İmalatçıların ortak veya tek tek, kendilerine ait bir laboratuvar sahibi olmaları ve Aflatoksin konusunda otokontrol sistemi geliştirmeleri zorunludur. Bu, halk sağlığı yönünden önemli olduğu gibi, işlenen biber partilerini harmanlayarak limitlerin altında Aflatoksin içeren mamul madde elde edilmesini sağlayacaktır.

Yaygın denetleme ağı oluşturarak kırmızıbiber işleyen küçük veya büyük işletmelerin devamlı denetlenmesi, uygun olmayanların direkt kapatılması ve en önemlisi olan merdiven altı işletmelerin tamamının kapatılması gerekmektedir.

Gıda işletmelerinde genellikle üründe mikrobiyolojik bulaşma olması büyük ölçüde alet ve ekipmanların yüzeylerinde ve çalışan personelin ellerinde bulunan mikrobiyal yüke bağlıdır. Bu durum halk sağlığı açısından da önemlidir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarının yasal limitlerin altında çıkması Türkiye ekonomisi ve ihracatı açısından büyük önem taşıyan kırmızı pul biberde olumlu bir sonuçtur.

Ayrıca kırmızı pul biberlere taşıyıcı amacıyla katıldığı tespit edilen Sudan 1 ve Sudan 4 boya, pul biberlerin sağlığımız üzerindeki riskini bir kat daha arttırmaktadır.

Bu yapılan çalışma sonuçları göstermektedir ki; İstanbul gibi Türkiye'nin en büyük metropol şehrinde market raflarında, mutfaklarımızın ve sofralarımızın değişmez baharatı olan Kırmızı pul biber sağlığımızı uzun vadede tehdit eden boyutlarda paketinde bizleri beklemektedir.

Sonuç olarak 2010 Avrupa Kültür başkenti olarak seçilen ve 70 milyonluk nüfusumuzun 12 milyon kişinin yaşadığı ülkemizin metropol şehri olan İstanbul'daki gıda raflarındaki pul biberler bu çalışmadan da anlaşılacağı üzere sadece pul biber ağzımızı yakmakla kalmayıp sağlığımızı da önemli ölçüde tehdit ederek geleceğimizi de yakarak kısa sürede kül etmeye başlamıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- Acar J, Cemeroglu B 1999. Meyve ve Sebze Teknolojisi, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No. 43, 399s Ankara.
- Ahmad A, Ahmed A (1995). Contamination of red chili with aflatoxin B<sub>1</sub> in Pakistan, Mycotoxin Res. 11: 21-24 Pakistan.
- Anonymous 1992-a. Jahresbericht 1992. Chemische und Lebensmitteluntersuchungsanstalt Marcmanstr. 129a Hamburg.
- Anonymous, 1992-b. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (3rd ed.), APHA, Washington.
- Anonymous (1994). Jahresbericht Chemische Landesuntersuchungsanstalt, Karlsruhe.
- Anonymous (1998). Merck Gıda Mikrobiyolojisi 98. Armoni Matbaacılık Ltd.Şti. 68s, Ankara.
- Anonymous (1999). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Armoni Matbaacılık Ltd. Şti. 296 s, Ankara.
- Anonymous (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd.Şti. 522 s, Ankara.
- Anonymous (2002). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Gıdalarda Katkı-Kalıntı ve Bulaşanların İzlenmesi-II, Ufuk Ofset Ltd. Şti. 99 s, Bursa.
- Anonymous (2004). [www.kktczmo.org](http://www.kktczmo.org) (erişim tarihi, 10.12.2007).
- Akbay C (2005). Kahramanmaraş'ta Kırmızı Biber Üretim ve Sorunları Üzerine Araştırma. Çiftçi Köşesi, [http://ciftci.ksu.edu.tr/dokumanlar/kirmizi\\_biber\\_sorunlari.html](http://ciftci.ksu.edu.tr/dokumanlar/kirmizi_biber_sorunlari.html). (erişim tarihi, 10.12.2007).
- Akgül A (1993). Baharat Bilimi & Teknolojisi. Gıda Tek. Derneği. Yayınları No. 15, Ankara.
- AOAC 999.07 (2000). Aflatoxins B<sub>1</sub> and Total Aflatoxin in Peanut Butter, Pistachio paste, Fig paste, and Paprika powder./Immunoaffinity Column Method.J.AOAC INT 83,320
- Bulan İ (2003). Piyasada Satılan Bazı Baharat Çeşitlerinin Mikrobiyolojik Yönden İncelenmesi, (Y. Lisans Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, Marmara Üniversitesi.
- BBC News (2005). 'Food recalled in cancer dye scare', <http://news.bbc.co.uk/1/hi/health/4277677.stm> 18 Şubat 2005 Erişim tarihi : 10/12/2007
- Çelikay A (2003). Kurutulmuş Kırmızı Biberin Mikrobiyolojik Kalitesi ve Aflatoxin Aranması, (Y. Lisans Tezi), Fen Bilim. Enstitüsü, Süleyman Demirel Üniversitesi.

- Çoksöyler N (1995). Aflatoksin Oluşumu ve Aflatoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler, Kahramanmaraş Kırmızı Biber Semineri, (11):18-25. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi.
- Dıraman H, Arıcı M (1999). Tekirdağ İlinde Tüketime Sunulan Kırmızı Pul Biberlerde Aflatoksin Aranması Üzerine Bir Çalışma, Gıda ( 12), 41-43.
- Dziezak J. D (1989). Spices: aromatic, savory, spicy, hot. Food Technol. 43(1);102-116.
- Farag R.S, El-Leithy M.A, Basyony A.E, Daw Z.Y (1987). Growth And Aflatoxin Production By Aspergillus Parasiticus In Medium Containing Plant Hormones, Herbicides Or Insecticides. J. Food Protect. 50:1044-1048
- FSA (2003). Collaborative Trial 145 of a Method for the Detection and Determination of Sudan 1 in Chilli Products by HPLC.
- Fufa H (1996). Screening of Aflatoxin in Shiro and Ground Red Piper in Addis Ababa, Ethiopian Medical Journal, 34, 243-249, (1996)
- Gap (2001). GAP Broşürü. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı.
- Heperkan D (2004). Baharatta Mikotoksinler. Mikrobiyoloji Dergisi, Cilt: 02 Sayı: 04 Sayfa : 1, İstanbul.
- Hesseltine, C. W., 1976. Conditions Leading to Mycotoxin Contamination of Foods and Feeds. In Mycotoxins and Other Fungal Related Food Problems. Ed. J. V. Rodrics, Washington. D. C., 411p.
- İreş N ( 2007). Gıdalarda Sudan Boyaları. Konya İl Kontrol Laboratuar Müdürlüğü, [www.konyatarim.gov.tr](http://www.konyatarim.gov.tr). (erişim tarihi, 10.12.2007).
- Karagöz S (1999). Türkiye’de Pazarlanan Bazı Baharat Örneklerinde Aspergillus Flavus’un Varlığı ve Aflatoksin Oluşumu, (Doktora Tezi), Sağlık Bilimler Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi.
- Madhyastha M.S, Bhat R.V (1985). Evaluation Of Substrate Potentiality And Inhibitory Effects To Identify High-Risk Spices For Aflatoxin Contamination. J. Food Sci. 50; 376-378
- Marashetty S (1980). Studies on Aflatoxins, Aspergillus and Bacterial Contamination in Selected Indian Spices Involved in International Trade. Dissertation Abstracts International, B 40(9); 4133. [In Food Sci. Technol. Abstr. (1981) 13(1); 1 T 5].
- Mcdonald S (1996). UK Retail Survey of Aflatoxins in Herbs and Spices and Their Fate During Cooking, Food Additives and Contaminants, 13: 121-128.
- Mensah P, Yeboah-Manu D, Owusu-Darko K, Ablordey A (2002). Bulletin of the World Health Organization, 80 (7): 546-554

- Sanchis V, Sala N, Palomes A, Santamarina P, Burdaspal P.A (1986). Occurrence of aflatoxin and aflatoxigenic moulds in foods and feed in Spain. *J. Food Protect.*, 49: 445-448.
- Saxena J.L, Mehrotra, B.S (1989). Screening of Spices commonly marketed in India for naturel occurrence of Mykotoxins. *J. Food Compos. Anal.*, 2: 286-292.
- Taydaş E, Aşkın O (1995). Kırmızı biberlerde Aflatoksin Oluşumu. *Gıda* 20 (1): 3-8
- TGK, 2000. Baharat Tebliği, No: 2000/16.
- TGK, 2002-a. Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ, No: 2002/63.
- TGK, 2002-b. Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği, No: 2002/55.
- Topal Ş (1996). Gıda Güvenliği ve Kalite Yönetim Sistemleri. Tübitak Marmara Araştırma Merkezi Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü, 225s, Kocaeli.
- Ünlütürk A, Turantaş F (1998). Gıda Mikrobiyolojisi, Kurutulmuş Meyve ve Sebzeler. Mengi Tan Basımevi 337-340, İzmir.
- Wilson L.A (1993). Spices and flavouring crops. In "Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition", eds. Macrae, R., Robinson, R.K. ve Sadler, M.J. pp. 4282-4286. Academic Press Limited, London. .
- Yıldırım T (1997). Bursa ve Sakarya Kırmızı Biberlerinde Aflatoksin Çalışması, *Gıda Teknolojisi Dergisi* 2 (6).

## ÖZGEÇMİŞ

23.07.1978 tarihinde Bulgaristan'ın Şumnu şehrinde doğdum. 2 aylıkken ailemle beraber muhacir olarak Türkiye'ye göç ettik. İlköğretimimi Sefaköy Fevzi Çakmak İlköğretim Okulunda, Orta öğretimimi ise Bakırköy Ortaokulunda tamamladıktan sonra 1995 yılında Üsküdar Cumhuriyet Lisesi'nden mezun olarak lise öğrenimimi tamamladım. 1996-1998 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Teknik Bilimler M.Y.O. Endüstriyel Elektronik bölümünü bitirerek Elektronik Teknisyenliği diplomamı aldım. 1998 yılında başladığım Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünden 2002 yılında mezun oldum. Özel sektöre ait bir işletmede 1,5 yıl Proje Müdürü olarak çalıştım. 2003 Aralık ayında askerlik sebebiyle işyerimden ayrılarak, İzmir Gaziemir Ulaştırma Okulunda 6 aylık askerlik vazifemi tamamladım. 2004 Kasım ayından itibaren Tarım ve Köyişleri Bakanlığı İstanbul İli Büyükçekmece İlçe Tarım Müdürlüğünde Gıda Kontrolörü olarak çalışmaktayım. Profesyonel olarak voleybol Milli takımında 1995 yılında görev aldım. Evliyim.