






Açıkta ve Ambalajlı Olarak Satışa Sunulan Kırmızıbiberlerde Sentetik Boya Varlığı

Hasan Yiğit¹ , Ahmet Levent İnanç² ¹Müsan Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş., Kahramanmaraş²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş

Geliş Tarihi (Received): 14.10.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 06.08.2017

 Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): linanc@ksu.edu.tr (A.L. İnanç) 0 344 300 20 84  0 344 300 16 02

ÖZ

Baharatlık kırmızıbiberlerde (n=50) suda ve yağda çözünen sentetik boyaların miktarları HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) ile belirlenmiştir. Dökme ve ambalajlı pul kırmızıbiber örnekleri pazar ve marketlerden temin edilmiştir. Kinolin sarısı, Sunset Yellow FCF, Azorubin, Amarant, Eritrosin, Allura Red AC, Patent Blue V, İndigotin, Brilliant Blue FCF, Sudan III ve Sudan para red B hiçbir örnekte tespit edilebilir düzeyde bulunmamıştır. Sudan I 0.81-996.77 mg/kg aralığında, Sudan II iki örnekte 1.88 ile 4.62 mg/kg seviyesinde, Sudan para red 0.89-21.33 mg/kg aralığında, Sudan IV sadece bir örnekte 8.34 mg/kg miktarında biberlere katıldığı bulunmuştur. Dökme kırmızıbiber örneklerinin %4'ünde Tartrazin, %24'ünde Ponceau 4R bulunmuş, ambalajlı ürünlerde %4 oranında Ponceau 4R tespit edilmiştir. Dökme kırmızıbiber örneklerinin %20'sinde Sudan I, %4'ünde Sudan II ve %12'sinde Sudan para red belirlenirken, ambalajlı kırmızıbiber örneklerinin %12'sinde Sudan I, %4'ünde Sudan II, %4'ünde Sudan IV ve %12'sinde Sudan para red varlığı tespit edilmiştir. Baharatlık kırmızıbiberin rengini iyileştirmek için sentetik boya maddeleri kullanılmaktadır. Fakat suda ve yağda çözünen sentetik boyalar kanserojen ve teratojenler olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, sadece Türkiye değil, aynı zamanda AB, bu renk maddelerin gıda katkı maddesi olarak kırmızıbiberde kullanılmasına izin vermemektedir. Sonuç olarak, yasal kurumlar tarafından tüketicinin sağlığının korunması için kırmızıbiberde sentetik boyaların tespiti için düzenli bir tarama programı gereklidir.

Anahtar Kelimeler: HPLC, Kırmızıbiber, Suda çözünen sentetik boyalar, Yağda çözünen sentetik boyalar

Presence of Synthetic Dyes in Red Peppers Sold in Bulk and Packages

ABSTRACT

The presence and concentration of water- and oil-soluble synthetic dyes in spice red pepper in red pepper were determined. Packaged and bulk red peppers were obtained from bazaar and market. Quinoline yellow, Sunset Yellow FCF, Azorubine of Amarante, Erythrosine, Allura Red AC, Patent Blue V, Indigotina, Brilliant Blue FCF Sudan III and Sudan para red B were not detected in any sample at detectable level. It was found that Sudan II were present in the range of 0.81 to 996.77 mg/kg, Sudan II at a level of 1.88 and 4.62 mg / kg in two samples, Sudan red para in the range of 0.89 to 21.33 mg/kg and Sudan IV in the range of 8 to 34 mg/kg in just a sample among red peppers. Whereas Tartrazine and Ponceau 4R were detected in 4% and 24% of bulk red pepper samples, only Ponceau 4R was found in the packaged red pepper samples at the ratio of 4%. The presence of Sudan I was detected in 20% of the bulk red peppers, Sudan II in 4% and Sudan para red in 12%. For packaged red pepper samples, Sudan I was detected in 12%, Sudan II in 4%, Sudan IV in 4% and Sudan para red in 12%. Synthetic dyes are usually used in order to intensify the colour of spice red pepper. However, water- and oil- soluble synthetic are considered to be carcinogens and teratogens. Therefore, Turkey and the EU do not permit the use of these colours as food additives. As a result, a regular screening program for the determination of synthetic dyes in red pepper is required in order to ensure consumers' health by legal organizations.

Keywords: HPLC, Red pepper, Synthetic dyes, Water-soluble, Oil-soluble

GİRİŞ

Gıda üretimi ve ürün geliştirme alanlarında yapılan çalışmalar dikkate alındığında, gıdalara kendine özgü renkler veren renk pigmentleri; gıda işleme prosesleri, depolama ve satış gibi çeşitli aşamalarda ısı, ışık (UV-radyasyon), pH, oksidasyon, su aktivitesi ve metal gibi fiziksel ve kimyasal şartlara bağlı olarak renk solması veya renk kaybına uğramaktadırlar. Ancak bu durumu tolere etmek için gıda üreticileri, gıda işleme sırasında ortaya çıkan renk farklılıklarını ve kayıplarını karşılayarak gıdanın homojen renk dağılımını korumak için gıda boyalarını ürünlerinde kullanabildikleri gibi, ürünün renk tek düzelikliğini sağlama, yeni ve değişik bir renk oluşturarak görünümü daha çekici hale getirmek amacıyla da kullanılmaktadırlar [1].

Gıdalarda gıda boyalarının kullanılması tarih öncesi zamanlara kadar uzanmaktadır. Tarih öncesi dönemlerde sadece bitki ve hayvanlardan elde edilen doğal boya maddeleri kullanılmıştır [2]. M.Ö. 1500 yılları öncesinde Mısır da şeker üreticilerinin gıdaların görünümünü iyileştirmek için gıdalara doğal özütler ve şarap eklemesiyle başladığı düşünülmektedir [3]. İlk sentetik boya ise 1856 yılında İngiliz bilim adamı Sir Elvin Perkin tarafından sentezlenmiştir ve 19. yüzyılın sonlarına doğru on bin yeni sentetik boyar madde geliştirilmiş ve üretilmiştir [4].

JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives - Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzmanlar Komitesi) dünyada her çeşit katkı maddesi üzerinde yürütülen çalışmaları periyodik toplantılarda ele alarak değerlendirmektedir. Bu çalışmaların sonuçlarına dayanarak FD&C boyaları için ADI (Acceptable Daily Intakes - Önerilen Günlük Tüketim Miktarı) değerlerini belirlemekte ve gerekli gördükleri durumlarda gerekli değişiklikleri yapmaktadır [5-6-7].

Gıda üretiminde renklendirici olarak kullanılan birçok sentetik boyanın kullanıldığı bazı gıdalar: şekerlemeler, dondurma, içecekler, salata sosları, konserve, sakızlar, sosis, reçel, unlu gıdalar, balık, hazır çorbalar, alkolsüz meşrubatlar, ketçap, yoğurt, şeker ve bisküvidir [8].

Doğal boyalar hayvansal ve bitkisel kaynaklardan elde edilirler. Gıdalarda doğal olarak bulunan bu boyalar, farklı kimyasal yapıya sahip oldukları için bazıları suda çözünürken bazıları da suda çözünmezler. Doğal boyaların gıdalarda kullanımları çeşitli problemlere yol açmasına ve ısı, sıcaklık, pH gibi etkilere karşı kararlılıklarının düşük olmasına rağmen, bu boyaların yapılan araştırmalarda sağlık üzerine yaptıkları olumlu etkiler nedeniyle son yıllarda kullanımları artmıştır [9]. Yapay boyalar ise kimyasal yapıları itibarıyla doğada bulunmayan, kimyasal sentez yoluyla elde edilen boyalardır. Fizikokimyasal özellikleri bakımından yapay boyalar gıda sanayinde daha çok tercih edilmektedir. Yapay boyalar, suda ve yağda kolayca çözünürler [10]. Yapay boyaların insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri vardır. Örneğin sentetik (yapay) boya grubunda olan azo boyalar, vücuda alınması durumunda aromatik aminlere parçalanmakta; bu da yetişkinlerde baş ağrısına neden

olurken çocuklarda dikkat dağınıklığı ve hiperaktiviteye neden olmaktadır [11]. Bu sebeple gıdalarda kullanılan sentetik boyaların içeriğinin ve miktarının kontrol edilmesi gerekmektedir. Avrupa Komisyonu tarafından gıdalara ilave edilebilecek ve maksimum kullanım miktarları olan boyalar belirtilmiştir. Bu sentetik gıda boyaları şu şekildedir: Tartrazin, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow FCF, Karmin, Amarant, Ponceau 4R, Eritrosin, Allura Red, Patent Blue V, Brilliant Blue FCF. Avrupa komisyonu tarafından izin verilen bu sentetik gıda boyalarının gıdalarda kullanım miktarları, insan sağlığı üzerindeki potansiyel tehlikelerden dolayı sıkı bir şekilde denetlenmektedir. Sudan I-II-III-IV, Sudan Red B ve Sudan Para Red kırmızı boyaların gıda maddelerinde kullanılması yasaktır [12-13].

Kırmızıbiberin ticari değerini belirleyen önemli kriterlerden biri renktir. Tüketici hemen her gıda ürünü gibi kırmızıbiberinde fiziksel görünüş ve rengine bakar. Tüketici açısından bakıldığında, kırmızıbiberlerin rengi satın alma ve tercih edilme bakımından en dikkat çekici özelliğidir. Suda ve yağda çözünen sentetik boyalar düşük kaliteli kırmızıbiberleri daha üstün göstermek, işleme ve depolama sırasında kaybolan doğal rengi yeniden kazandırmak, zayıf olan rengi kuvvetlendirmek, gerçekte renksiz olan besine renk vermek, düşük kaliteyi gizleyerek tüketici beğenisi kazanmak ve tüketiciyi aldatıcı özellikler kazandırmak amacıyla kırmızıbiberlere uygulanan tağşiş yöntemlerinin en başında gelmektedir.

Bu çalışmada, piyasada satışa sunulan kırmızıbiberlere renk vermek için katılan suda çözünen sentetik boyalardan; Tartrazin, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow FCF, Azorubin, Amarant, Ponceau 4R, Eritrosin, Allura Red AC, Patent Blue V, İndigotin, Brilliant Blue FCF ve yağda çözünen sentetik boyalardan; Sudan I, Sudan II, Sudan III, Sudan IV, Sudan para red ve Sudan red B sentetik boyaların varlıkları ve miktarları araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

25 adet dökme (açıkta satılan) kırmızı pul biber (500 g) ve 25 adet kırmızı pul biber 500 g orijinal ambalajında olmak üzere toplam 50 adet kırmızıbiber Ankara ili halk pazarları ve marketlerinden 2015 yılı Haziran ayı içerisinde satın alınmıştır. Açıkta satılan kırmızıbiberlerde, kırmızıbiberi tanıtan ambalaj, paket, doküman, bildirim, etiket gibi hiçbir yazı, bilgi, ticari marka, marka adı, resimli unsur veya işaret bulunmamaktadır. Ambalajlı kırmızıbiberlerde ise üretim bilgileri mevcuttur. Örnekler numaralandırılarak kodlanmıştır. Dökme örnekler 1-25, ambalajlı örnekler ise 26-50 arasında numaralandırılmıştır.

Boya Standart Çözeltileri (Sunset Yellow FCF, Tartrazin, Kinolin Sarısı, Amarant, Ponceau 4R, Allura Red AC, Azorubin, Eritrosin, Brilliant Blue FCF, İndigotin, Patent Blue V, Sudan; I, II, III, IV, Para red, Red B) ve diğer kimyasallar (amonyak, metanol, susuz sodyum sülfat, asetonitril, aseton, potasyum fosfat, tetrabütil amonyum

bromid) Merck (İstanbul, Türkiye) firmasından satın alınmıştır.

Metot

Suda Çözünen Sentetik Boya Tayini

Örnek Hazırlama ve Ekstraksiyon İşlemi

50 mL'lik falkon tüpüne 5 g numune tartılmış, üzerine 10 mL ılık su ve 10 mL amonyak-metanol (v:v; 5:95) çözeltisi ilave edilerek, 2 dk 4000 rpm'de ve 10 dk santrifüj edilmiştir. Ekstrakt başka bir falkon tüpüne aktarılarak 50°C'lik su banyosu ve azot atmosferi altında içerisinde bulunan amonyak-metanol muhtevası uçana kadar bekletilmiştir. Çözelti 50 mL'lik balon jöjeye aktararak ultra saf su ile hacme tamamlanmıştır. 10 mL çözelti şartlandırılmış C18 Sep-Pak (Waters Corp.) kartuştan geçirilmiştir. Kartuştaki boya maddesi 2 mL metanol (HPLC saflıkta) ile 15 mL'lik falkon tüpü içerisine alınmış ve 2 mL ultra saflıkta su üzerine eklenmiştir. 50°C'deki su banyosu ve azot atmosferi altında metanol uzaklaştırılmıştır. 10 mL lik balon jöje içerisine aktarılan örnek ultra saf su ile hacme tamamlanmıştır. Kartuştan boyayı geçirdikten sonra örnek çözeltiden (0.1 g/mL) 1 mL alınarak ultra saf suyla

hacmi 20 mL'ye tamamlanması ile de seyreltme faktörü (SF) 20'ye ayarlanmıştır. Örnek enjeksiyonundan önce tüm çözeltiler 0.45 µm'lik tek kullanımlık şırınga filtresinden geçirilmiştir C18 kartuşun şartlandırılması için 5 mL metanol ve 5 mL TBA-II çözeltisi her biri 1 damla/s olacak şekilde kartuştan geçirilmiştir. 1-2 defa hava geçirilerek kartuştan fazlalıklar alınarak, TBA Buffer-II çözeltisi 1 hacim TBA buffer-I ve 3 hacim ultra saf su olacak şekilde hazırlanmıştır. HPLC cihazında kalibrasyon grafiklerinin (pik alanı-konsantrasyon grafiği) oluşturulmasında 0.25, 0.50, 1, 2.5, 5, 10 ve 20 mg/L konsantrasyonlarında çalışılan suda çözünen sentetik boyaların standartları kullanılmıştır [14].

HPLC Çalışma Şartları

NKLM-130 metodu esas alınarak, İntersil ODS 3V 4-5µm 4.6x250 mm (GL sciences Inc./Japan) kolonlu ve DAD Dedektörlü HPLC (Shimadzu LC 20A) cihazı 1.2 mL/dakika akış hızına, 40°C kolon sıcaklığına şartlandırılmıştır [14]. Taşıyıcı A fazı (10 mM Disodyum hidrojen fosfat pH: 7.0) ve B fazı (metanol, HPLC saflıkta) izokrotik olarak pompalanmıştır. 20 µl örnek enjekte edilmiştir. Gradient akış programı aşağıda Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Gradient Akış Programı

Zaman (dakika)	Taşıyıcı faz A (%)	Taşıyıcı Faz B (%)
0.01	95	5
4.00	70	30
10.00	60	40
15.00	60	40
20.00	60	40
37.00	5	95
39.00	5	95
40.00	95	5
45.00	Stop	Stop

İstatistiksel Analiz

Kalibrasyon çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak bulunan boyaların miktarları, seyreltme faktörü ile çarpılarak numunedeki boya miktarı mg/kg olarak bulunmuştur. Metodun analitik verileri Tablo 2'de gösterilmiştir. Tayin sınırı (TS), kör örneklerinin analizlenerek analitik geri zemin cevabının ölçülmesi ve bu değerlerin standart sapmanın faktörle çarpılması sonucu elde edilmiştir.

Yağda Çözünen Sentetik Boya Tayini

Örnek Hazırlama ve Ekstraksiyon İşlemi

5 g kırmızı pul biber numunesi 50 mL'lik falkona aktarılmış ve üzerine 10 g susuz sodyum sülfat ve 15 mL asetonitril eklenmiştir. Vorteks yardımıyla karıştırılmış ve daha sonra 3000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenmiştir. Çözelti alınmış ve kalan örneğe 3 kez tekrar işlem yapılmıştır. 45 mL'lik çözeltiden 10 mL alınmış ve üzerine 10 mL su eklenmiştir. C18 500 mg (CNW) kartuştan geçirilerek temizleme yapılmıştır. 45 mL 80:20 asetonitril/aseton karışımı ile geri alınmıştır. 45 mL çözelti azot gazı altında kuruluğa kadar uçurma

işlemi yapılmış ve 1 mL asetonitril ilave edilerek seyreltme faktörü 0.9'a ayarlanmıştır. Hazırlanan örnek 0.45 µm'lik gözenekli şırınga filtresinden geçirilerek analize alınmıştır. 0.25, 0.50, 1, 2.50, 5, 10, 25, 50 ve 100 mg/L konsantrasyonlarında boya maddelerinin standart çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur [15].

HPLC Çalışma Şartları

İntersil ODS 3V 4- 5µm 4.6x250 mm (GL sciences Inc./Japan) kolonlu ve DAD Dedektörlü HPLC (Shimadzu LC 20A) cihazı 1 mL/dk Akış Hızına, 30°C Kolon Sıcaklığına şartlandırılmıştır. Taşıyıcı izokrotik A fazı; 0.34 g KH₂PO₄ ile 1.01 g Tetrabütül Amonyum Bromid tartılmış ve 1000 mL'lik balon jöjeye konularak su ile 1000 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Taşıyıcı izokrotik B fazı; metanoldur (HPLC derecesinde). 20 µl hacminde örnek enjekte edilmiştir. Deneyin tamamlanmasının ardından kolon, asetonitril:su (%50-%50) karışımı ile yaklaşık 10 dk. Yıkanmıştır. Gradient akış programı analiz süresi boyunca %95 B %5 A'dır [15].

Kalibrasyon çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak Sudan Boyası miktarı, mg/kg cinsinden

seyreltme faktörü (SF:9) ile çarpılarak hesaplanmıştır. Metodun analitik verileri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 2. Suda Çözünen Sentetik Boyaların HPLC Verileri

Sentetik Boya	TS	D	G	B	λ	Kalibrasyon fonksiyonu
Tartrazin	3.36	0.25-20	91	0.08	426	$y = 49622x + 1567.2$ $r^2 = 0.9999$
Kinolin Sarısı	4.61	0.25-20	91	0.07	414	$y = 43336x + 1881.7$ $r^2 = 0.9999$
Sunset Yellow FCF	4.39	0.25-20	94	0.06	483	$y = 49732x + 3661.9$ $r^2 = 0.9999$
Azorubin	5.04	0.25-20	84	0.11	522	$y = 43336x + 1881.7$ $r^2 = 0.9999$
Amarant	5.02	0.25-20	91	0.07	524	$y = 46892x - 2797.5$ $r^2 = 0.9999$
Ponceau 4R	5.27	0.25-20	93	0.07	510	$y = 55359x + 802.98$ $r^2 = 1$
Eritrosin	4.77	0.25-20	86	0.12	531	$y = 122967x - 1011.3$ $r^2 = 0.99999$
Allura Red AC	3.67	0.25-20	94	0.07	510	$y = 63443x + 6471.3$ $r^2 = 0.9998$
Patent Blue V	5.77	0.25-20	90	0.09	643	$y = 208295x - 70607$ $r^2 = 0.9954$
İndigotin	3.58	0.25-20	90	0.07	643	$y = 141594x - 9841.8$ $r^2 = 0.9992$
Brillant Blue FCF	3.42	0.20-16	85	0.10	643	$y = 145994x - 8595.8$ $r^2 = 0.9995$

TS: Tayin alt sınırı; D: Doğrusallık (mg/kg); G: Geri Kazanım (%); B: Belirsizlik (mg/kg); λ : Dalga Boyu (nm)

Tablo 3. Yağda Çözünen Sentetik Boyaların HPLC Verileri

Sentetik Boya	TS	D	G	B	λ	Kalibrasyon fonksiyonu
Sudan Red B	1.12	0.25-100	93	0.10	511	$y = 77066x + 1424.1$ $r^2 = 0.9997$
Para Red	0.74	0.25-100	92	0.14	481	$y = 102046x - 3220.5$ $r^2 = 0.9996$
Sudan I	0.53	0.25-100	95	0.11	482	$y = 26757x - 634.01$ $r^2 = 0.9975$
Sudan II	0.86	0.25-100	89	0.13	498	$y = 26757x - 424.01$ $r^2 = 0.9921$
Sudan III	1.03	0.25-100	90	0.14	510	$y = 26451x - 621.01$ $r^2 = 0.9983$
Sudan IV	1.33	0.25-100	96	0.10	515	$y = 24511x - 4511.01$ $r^2 = 0.9981$

TS: Tayin alt sınırı; D: Doğrusallık (mg/kg); G: Geri Kazanım (%); B: Belirsizlik (mg/kg); λ : Dalga Boyu (nm)

İstatistiksel Analizler

Örnek ortalamalarının arasında istatistiksel farklılıkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi yapılmıştır. Farklılıkların hangi örnekler arasında olduğunu belirlemek için Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistiksel farklılıklar %5 önem seviyesine göre belirlenmiştir. Analizler 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Veriler SPSS Statistics 23 paket programı (IBM, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Suda Çözünen Sentetik Boyalar

Dökme ve ambalajlı kırmızıbiberlerin suda çözünen sentetik boya maddesi miktarları Tablo 4'de verilmiştir. 5 dökme örnekte suda çözünen sentetik boyalardan sadece Ponceau 4R tespit edilirken 1 örnekte Ponceau 4R ve Tartrazin bir arada tespit edilmiştir. 19 örnekte tespit edilebilir düzeyde suda çözünen sentetik boya bulunmamıştır. 16 nolu örnekte suda çözünen sentetik boyalardan tartrazin 4.66 mg/kg olarak tespit edilmiştir. 4, 8, 9, 10, 16 ve 21 nolu örneklerde Ponceau 4R miktarları sırasıyla 103.18, 61.39, 28.43, 110.62, 7.59 ve 21.61 mg/kg olarak bulunmuştur.

Ambalajlı kırmızıbiber örneklerinden 1 örnekte suda çözünen sentetik boyalardan Ponceau 4R tespit edilirken 24 örnekte tespit edilebilir düzeyde suda çözünen sentetik boyaya rastlanılmamıştır. 37 nolu örnekte Ponceau 4R 15.59 mg/kg miktarda tespit edilmiştir.

İstatistiksel olarak; suda çözünen sentetik boyalardan Tartrazin sadece 1 örnekte 4.66 mg/kg miktarda tespit edildiğinden, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow, Azorubin, Amarant, Eritrosin, Allura Red, Patent Blue, İndigotin, Brilliant Blue hiçbir örnekte tespit edilebilir düzeyde bulunmadığından istatistik olarak değerlendirme yapılmamıştır. Ponceau 4R için istatistik değerlendirme yapılmış ve örnekler arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.001$).

Suda çözünen sentetik boyalı kırmızıbiber örneklerinin yüzdeleri kıyaslandığında, farklı 50 örnekte aranan suda çözünen renklendiricilerden Kinolin Sarısı, Sunset Yellow, Azorubin, Amarant, Eritrosin, Allura Red, Patent Blue, İndigotin, Brilliant Blue tespit edilebilir düzeyde bulunmamıştır. Dökme kırmızıbiber örneklerinin %4'ünde Tartrazin ve %24'ünde de Ponceau 4R tespit edilmiştir. Ambalajlı kırmızıbiber örneklerinin ise %4'ünde Ponceau 4R tespit edilmiştir (Şekil 1).

Kırmızıbiberlerle ilgili literatürde suda çözünen sentetik boya çalışmalarına rastlanılmamıştır. Bu çalışmada araştırılan suda çözünen sentetik boyalardan Tartrazin ve Ponceau 4R hariç diğer boyalarla aynı sonuçları Yentür ve ark. [16] alkolsüz içeceklerde tespit etmiş, iki çalışmada da Türk Gıda Kodeksinde belirtilen yasal limitlere uygun sonuçlar bulunmuştur. Garcia ve Gandara [17] ise farklı olarak 9 adet alkolsüz aromalı içecekde Tartrazin ve Ponceau 4R de dahil olmak üzere, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow FCF ve Azorubin sentetik gıda boyası miktarlarını Türk Gıda Kodeksinde belirtilen yasal limitlere değil de 1994 Avrupa Birliği Direktiflerinde belirtilen limitlere uygun bulmuştur. Ayrıca bu çalışmadan farklı olarak Erdoğan [2] yaptığı çalışmada alkolsüz aromalı içeceklerin %55'de sentetik

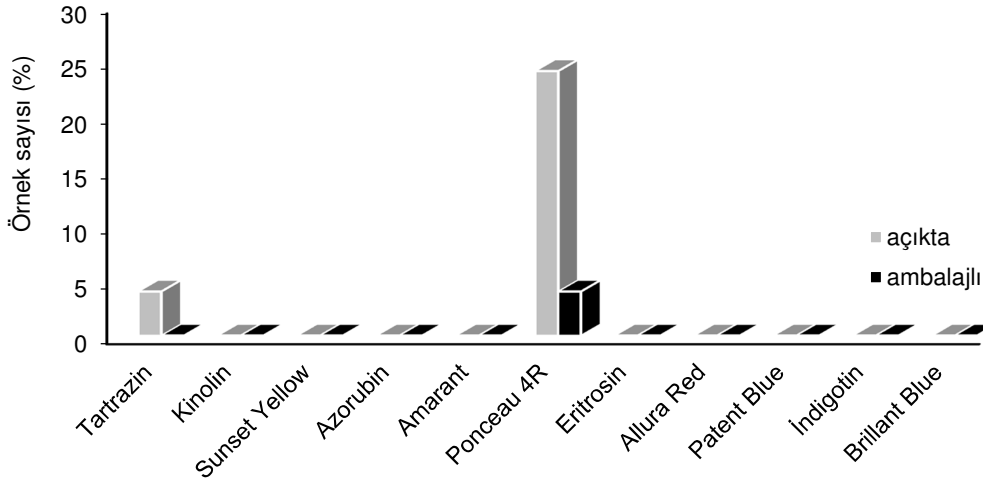
gıda boyasına rastlamışken Güler [18] yaptığı çalışmada, 96 adet içecek tozunun tamamında (%100) Türk Gıda Kodeksinde belirtilen değerlerin üzerine gıda boyası olduğunu tespit etmiştir. Şekerlemelerde yapılan çalışmalardan Dinç ve Arıcı'nın [19] yaptıkları çalışmada elde edilen suda çözünen sentetik boya sonuçları, kırmızıbiberlerde yapılan bu çalışma sonuçları ile Tartrazin ve Ponceau 4R hariç benzerlik göstermekte ve

yasal limitlere uygun sonuçlar elde edilmektedir. Fakat Güler'in [18] yaptığı çalışmada, bu çalışma ve Dinç ve Arıcı'nın [19] yaptıkları çalışmadan farklı olarak 140 adet şekerlemenin 135 adedinde (%96.40) Türk Gıda Kodeksinde belirtilen değerlerin üzerinde gıda boyası olduğunu tespit etmiştir.

Tablo 4. Kırmızıbiberlerde tespit edilen suda çözünen sentetik boya miktarları (ortalama \pm standart sapma mg/kg)

Örnek	Tartrazin	Ponceau 4R
4	<TS	103.18 \pm 0.37
8	<TS	61.39 \pm 1.99
9	<TS	28.43 \pm 2.32
10	<TS	110.62 \pm 0.92
16	4.66 \pm 0.13	7.59 \pm 1.38
21	<TS	21.61 \pm 3.46
37	<TS	15.59 \pm 0.26

<TS: Tespit edilebilir düzeyde bulunamamıştır.



Şekil 1. Suda çözünen sentetik boyalı kırmızıbiber örneklerinin yüzdeleri

Yentür ve ark. [16] reçel, meyveli yoğurt ve meyve suyu örneklerinde bu çalışmada kırmızıbiberlerde elde edilen suda çözünen sentetik boya sonuçları (Tartrazin ve Ponceau 4R sonuçları hariç) ile benzer sonuçları elde etmiş ve suda çözünen sentetik boya varlığına rastlanmamıştır. Yenilebilir buzlarda Dinç ve Arıcı'nın [19] yaptıkları çalışmada suda çözünen sentetik boyalardan Tartrazin miktarı ile bu çalışmada elde edilen tartrazin miktarı sonuçlarında birer örnek yasal limitlerin üzerinde bulunarak benzer sonuçlar elde edilmiştir. Fakat Dinç ve Arıcı'nın [19] yaptıkları çalışmada bu oran %11.10 ile bu çalışmadan farklı olmuştur. Alkolsüz aromalı içeceklerde yasal limitin üzerinde olan Ponceau 4R %3.69 tespit edilerek bu çalışmadan farklı bir sonuç elde edilmiştir [19]. Erdoğan [2] ise alkolsüz aromalı içeceklerden 11 adet örnekte, suda çözünen sentetik boyalardan Ponceau 4R ve Azorubin'i bir arada belirlemiştir. Bu çalışmada da 1 örnekte Tartrazin ve Ponceau 4R bir arada tespit edilmiştir.

Yağda Çözünen Sentetik Boyalar

Kırmızıbiber örneklerinde bulunan yağda çözünen sentetik boya maddelerin miktarları Tablo 5'da gösterilmiştir. Dökme kırmızıbiber örnekler arasında 5 örnekte yağda çözünen sentetik boyalardan Sudan I 7, 12, 17, 18 ve 24 nolu örneklerde sırasıyla 5.18, 0.81, 7.16, 50.20 ve 996.77 mg/kg miktarda tespit edilmiştir. 20 örnekte tespit edilebilir düzeyde Sudan I bulunmamıştır. 25 örnekten 1 örnekte yağda çözünen sentetik boyalardan Sudan II 18 nolu örnekte 4.62 mg/kg miktarda tespit edilmiştir. 24 örnekte tespit edilebilir düzeyde Sudan II'ye rastlanılmamıştır. 25 örnekten 3 örnekte yağda çözünen sentetik boyalardan Sudan Para Red 7. 17 ve 18 nolu örneklerde sırasıyla 7.62, 8.05 ve 2.13 mg/kg miktarda tespit edilmiştir. 22 örnekte tespit edilebilir düzeyde Sudan para red bulunmamıştır. 25 örneğin tamamında tespit edilebilir düzeyde Sudan III, Sudan IV ve Sudan red B'ye rastlanılmamıştır.

Tablo 5 Kırmızıbiberlerde tespit edilen yağda çözünen sentetik boya miktarları (ortalama \pm standart sapma mg/kg)

Örnek	Sudan I	Sudan II	Sudan IV	Sudan para red
7	5.18 \pm 0.16	<TS	<TS	7.62 \pm 0.022
12	0.81 \pm 0.05	<TS	<TS	<TS
17	7.16 \pm 0.91	<TS	<TS	8.05 \pm 1.23
18	50.20 \pm 0.95	4.62 \pm 1.38	<TS	2.13 \pm 0.04
24	996.77 \pm 0.81	<TS	<TS	<TS
28	1.23 \pm 0.08	1.86 \pm 0.11	<TS	<TS
33	<TS	<TS	<TS	0.89 \pm 0.06
35	<TS	<TS	<TS	2.230 \pm 0.09
36	1.15 \pm 0.55	<TS	8.34 \pm 0.93	13.31 \pm 0.46
41	0.91 \pm 0.04	<TS	<TS	<TS

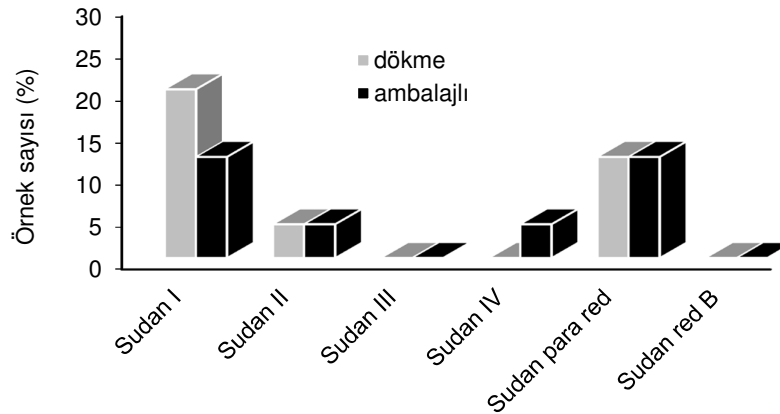
<TS: Tespit edilebilir düzeyde bulunamamıştır.

Ambalajlı kırmızıbiber örnekleri içerisinde 3 örnekte yağda çözünen sentetik boyalardan Sudan I; 28, 36 ve 41 nolu örneklerde sırasıyla 1.23, 1.15 ve 0.91 mg/kg miktarda tespit edilmiştir. 22 örnekte tespit edilebilir düzeyde Sudan I bulunmamıştır. 1 örnekte yağda çözünen sentetik boyalardan Sudan II 28 nolu örnekte 1.88 mg/kg miktarda tespit edilmiştir. 24 örnekte tespit edilebilir düzeyde Sudan II'ye rastlanılmamıştır. 25 örnekte 1 örnekte yağda çözünen sentetik boyalardan Sudan IV 36 nolu örnekte 8.34 mg/kg miktarda tespit edilmiştir. 24 örnekte tespit edilebilir düzeyde Sudan IV bulunmamıştır. 3 örnekte yağda çözünen sentetik boyalardan Sudan Para Red 33, 35 ve 36 nolu örneklerde sırasıyla 0.89, 2.23 ve 13.31 mg/kg miktarda tespit edilmiştir. 22 örnekte tespit edilebilir düzeyde Sudan Para Red bulunmamıştır. 25 örneğin tamamında tespit edilebilir düzeyde Sudan III ve Sudan red B'ye rastlanılmamıştır.

Kırmızıbiberlerdeki Sudan I miktarları arasındaki farklar $P < 0.001$ düzeyinde önemli bulunmuştur. 12, 41, 36, 28 nolu örnekler arasında Sudan I boya miktarları bakımından fark bulunmamıştır. 7, 17, 18 ve 24 nolu örnekler arasında ise istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Sudan para red değerleri ise 4 farklı grup oluşmuştur. 9 ve 35 nolu örneklerde Sudan para red boya miktarları 2. grupta ve aynı çıkmıştır. 17 ve 18 nolu örneklerde Sudan para red boya miktarları 3.

grupta ve aynı bulunmuştur. En çok Sudan para red boyası ihtiva eden 36 nolu örnek olmuştur.

Farklı 50 adet kırmızıbiber örneğinde aranan yağda çözünen sentetik renklendiriciden Sudan III ve Sudan red B hiçbir örnekte tespit edilebilir düzeyde bulunmazken, dökme kırmızıbiber örneklerinin %20'sinde Sudan I, %4'ünde Sudan II, %12'sinde Sudan para red tespit edilmiştir. Ambalajlı kırmızıbiber örneklerinin %12'sinde Sudan I, %4'ünde Sudan II, %4'ünde Sudan IV, %12'sinde Sudan para red tespit edilmiştir (Şekil 2). Fakat Kılınçer [20] ise yaptığı çalışmada bu çalışmadan farklı olarak kırmızı pul biber örneklerinde Sudan (I-IV) boyalarına rastlamamıştır. Zhang ve ark. [21] yaptıkları çalışmada bir adet toz biber örneğinde Sudan III boyasını 6.79 μ g/kg ve Sudan II boyasını 8.30 μ g/kg olarak tespit etmişlerdir. Ertaş ve ark. [22] 80 adet kırmızıbiber örneğinde sadece bir tanesinde Sudan IV tespit ederken Sudan II boyası bulunmamıştır. Mustafa ve ark. [23] toz biber örneklerinde Sudan I boyasına rastlamışlardır. Botek ve ark. [24] tatlı biber, köri, ve acı biber örneklerinde Sudan Para red miktarını 35-40 mg/kg tespit etmiştir. Sudan para red boyasına rastlanılma oranı %15 olurken yapılan bu çalışmada bu oran %12 olmuştur. Sun ve ark. [25] bu çalışmadan farklı olarak kırmızıbiber gibi gıda ürünlerinde Sudan (I-IV), Sudan Red B ve Sudan Para Red varlığına rastlamamışlardır.



Şekil 2. Yağda çözünen sentetik boyalı kırmızıbiber örneklerinin yüzdeleri

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi BAP Müdürlüğü "Kırmızıbiberlerde Suda ve Yağda Çözünen Sentetik Boyaların Varlığının Araştırılması" başlıklı projesi (2014/4-7 YLS) tarafından desteklenmiştir.

SONUÇ

Çalışmada iki farklı tarzda satışa sunulan kırmızıbiberlerde suda çözünen sentetik boyalardan Ponceau 4R ve Tartrazine, yağda çözünen sentetik boyalardan Sudan I, Sudan II ve Sudan para red varlığı araştırılmıştır.

Suda çözünen sentetik boyalardan Ponceau 4R'nin ambalajlı örneklerle kıyasla dökme örneklerde daha fazla olduğu görülmüştür. Tartrazine, toplam 50 örnekten yalnızca dökme biberlerin bir tanesinde tespit edilmiştir. Yağda çözünen sentetik boyalarda ise Sudan I dökme kırmızıbiberlerin %20'sinde ve ambalajlı olanların %12'sinde tespit edilmiştir. Sudan II ve Sudan IV boyar maddesi sadece 1 örnekte (ambalajlı) tespit edilebilir düzeyde bulunmuştur. Suda çözünen sentetik boya içeren kırmızıbiber örneklerinin hiçbirinde tespit edilebilir düzeyde yağda çözünen sentetik boya varlığına rastlanılmamıştır. Aynı şekilde yağda çözünen sentetik boya içeren kırmızıbiber örneklerinin hiçbirinde de suda çözünen sentetik boya varlığı tespit edilmemiştir. Araştırma sonuçlarına göre açıkta satılan kırmızıbiberlerdeki sentetik renk maddesi ilavesi ambalajlı ürünlere göre daha yüksek çıkmıştır. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği kapsamında yer alan ürünlerden kırmızıbiberlere Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğinde yer alan hükümlere göre boyar madde kullanılmaması gerekmektedir [26]. Kırmızıbiberlerin ticari değerini düşürmemek, tüketicilere sağlıklı ürün ulaştırmak, taşış ve taklidi önlemek için ambalajlı (paketli) kırmızıbiber üretimi yaygınlaştırılmalı, ürün etiket bilgileri olmayan açıkta kırmızıbiber satışı sıkı denetlenmeli ve tüketiciler açıkta satılan ve markasız olan ürünleri almama ve tüketmeme konusunda bilinçlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] Yetim, H., Kesmen, Z., 2009. Gıda Analizleri. Erciyes Üniversitesi Yayınları No: 163. Erciyes Üniversitesi Matbaası, Kayseri, 346 s.
- [2] Erdoğan, Ş., 2007. Ankara piyasasında satışa sunulan bazı gıdalarda sentetik boya miktarlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı, Ankara.
- [3] Madhava Naidu, M., Sowbhagya, H., 2012. Technological advances in food colours. *Chemical Industry Digest* 79-88.
- [4] Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., Nigam, P., 2001. Remediation of dyes in textile effluent: A critical review on current treatment technologies

- with a proposed alternative. *Bioresource Technology* 77(3): 247-255.
- [5] Bayhan, A., Yentür, G., 1988. Research on the existence of synthetic dyes in some samples of çemen, sumac and red pepper collected from local markets in Ankara. *Gazi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 5(2): 175-183.
- [6] Yaman, M., 1996. Bazı gıda maddelerine katılan sentetik boyaların miktarlarının araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı, Ankara.
- [7] Özcan, G., Artık, N., Üner, Y., 1997. Gıda katkı maddelerinin tüketici bilinci ve insan sağlığı açısından irdelenmesi, TMMOB, Eylül, s.31.
- [8] Omaye, S.T., 2004. *Food and nutritional toxicology*. New York: CRC Press.
- [9] Kucharska, M., Grabka, J., 2010. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes. *Talanta* 80(3): 1045-1051.
- [10] Altuğ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri, Meta Basım, İzmir.
- [11] McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., 2007. 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. *The Lancet* 370(9598): 1560-1567.
- [12] Avrupa Komisyonu, 1994. European Parliament and Council Directive 94/36/EC of 30 June 1994 on colours for use in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L237/13, 10.9.94
- [13] Belitz, H., Grosch, W., Schieberle, P., 2004. *Food Chemistry*, Berlin: Springer.
- [14] NMKL, 1989. Nordic Committee on Food Analysis: Colours, synthetic water soluble, liquid chromatographic determination in foods. UDC 667.28:543.544 130.
- [15] FSA, 2003. Collaborative trial 145 of a method for the detection and determination of Sudan I in chili products by HPLC, Method 145b, Food Standards Agency.
- [16] Yentür, G., Erdoğan, Ş., Er, B., Demirhan, B., Bayhan, A., 2009. Ankara bölgesinde tüketime sunulan bazı gıda maddelerinde sentetik boya düzeylerinin araştırılması. *Gıda* 20(3): 1-5.
- [17] Garcia, M.S., Gandara, J., 2005. Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid chromatography with minimal clean-up, *Food Control* 16(3): 293-297.
- [18] Güler, Z., 2005. Determination of synthetic colorants in confectionery and instant drink powders consumed in Turkey using UV/VIS spectrophotometry. *Journal of Food Quality* 28(1): 98-108.
- [19] Dinç, M., Arıcı, M., 2008. Gıdalara katılan suda çözünen bazı sentetik boyaların belirlenmesi. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- [20] Kılınçer, M., 2014. Gıda Ürünlerinde Sudan Boyalarının Analizinde Yeni Sıvı Ekstraksiyonu Tekniklerinin Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.

- [21] Zhang, C., Li, G., Zhang, Z., 2015. A hydrazone covalent organic polymer based micro-solid phase extraction for online analysis of trace Sudan dyes in food samples. *Journal of Chromatography A* 1419: 1–9.
- [22] Ertaş, E., Özer, H., Alasalvar, C., 2007. A rapid HPLC method for determination of Sudan dyes and Para Red in red chilli pepper. *Food Chemistry* 105: 756–760.
- [23] Mustafa, S., Nasir, N., Mahmood, T., Mahmood, I., 2013. Spectrophotometric determination of Sudan I-IV dyes in selected chili samples: A Survey of Karachi City, Pakistan. *European Academic Research* 1(6): 1-14.
- [24] Botek, P., Poustka, J., Hajšlová J., 2007. Determination of banned dyes in spices by liquid chromatography mass spectrometry. *Czech J. Food Sci.* 25(1): 17–24.
- [25] Sun, H.W., Wang, F.C., Ai, L.F., 2007. Determination of banned 10 azo-dyes in hot chili products by gel permeation chromatography-liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1164(1-2): 120-128.
- [26] TKG, 2013. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Resmî Gazete, Sayı 28693.
-