

BAZI ŞEKERLEMELER VE YAPAY TOZ İÇECEKLERDEKİ DIAZO BOYAR MADDE OLAN SUNSET YELLOW FCF İLE TARTRAZİN MİKTAR TAYİNLERİNİN VOLTAMETRİK VE SPEKTROFOTOMETRİK METOD KARŞILAŞTIRMASI*

COMPARISON BETWEEN VOLTAMMETRIC AND SPECTROPHOTOMETRIC METHODS FOR THE DETERMINATION OF FOOD COLORING DIAZOCOMPOUNDS SUNSET YELLOW FCF AND TARTRAZIN IN SOME CANDIES AND SYNTHETIC POWDER FORM DRINKS

Nejat ALTINIĞNE**

**Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü, Bornova, İZMİR

ÖZET: Bazı şekerlemeler ve toz içeceklere katımlı olan sunset yellow FCF ve tartrazın boyar maddelerin analizleri, voltametrik (DPP) ve spektrofotometrik metodlarla yapılarak karşılaştırılmıştır.

Şekerlemelerde ve sentetik toz içeceklere boyar maddenin yalnız bir tanesi bulunduğu, doğru, hassas ve güvenilir sonuçlar elde edilebilmektedir. Uygulanan her iki metodun korelasyon sayısı $r = 0,995$ ve tayin sınırları $0,8 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır.

Bu çalışma nitel ve nicel tayinlerin, spektrofotometrik metod yanında voltametri metoduyla da yapılabilirliğini göstermiştir.

ABSTRACT: The determination and comparison of food coloring materials Sunset Yellow FCF and Tartrazine in some candies and powder form drinks has been made by using voltammetric and spectrophotometric methods. Accurate, sensitive comparable results can be obtained in candies and synthetic powder drinks, only one type of food coloring material is present.

The correlation coefficient was $r = 0.995$ for both of the methods. The detection limit was $0.8 \mu\text{g/ml}$ ($S/N = 3$) for both of the food coloring material.

This study pointed out that qualitative and quantitative determinations can be made by spectrophotometrically as well as voltammetric methods.

GİRİŞ

Son zamanlarda gıda teknolojisinde yiyecek ve içeceklerin çeşitlenmesi ile korunmasında bir çok doğal ve sentetik katkı maddesi kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan organik ve sentetik boyar maddelerden olan azo boyar maddeleri, katkı maddesi olarak hem gıda hem de ilaç sanayisine geniş bir şekilde girmiş bulunmaktadır.

Sentetik boyar maddeler, yüksek boyama güçleri ve düşük maliyetle elde edilmeleri, teknolojik işlemlere dayanıklı olmaları nedenleriyle doğal boyar maddelerden daha fazla kullanılırlar. Sentetik organik boyar maddelerin çok geniş kullanımı sonucunda çeşitlerinin ve miktarlarının saptanmasında Ülkeler ve Uluslararası koordinasyona gidilmiştir.

1963-1970 yılları arasında organik sentetik boyar maddelerin kullanılması FAO/WHO uzmanlar komisyonu tarafından incelenmiş ve onların ADI-miktarları saptanmış (CHICHESTER ve Ark., 1972) ve önerileri sonucunda organik ve sentetik boyar maddeler üzerinde toksikolojik kronik testler yapılmıştır (GOLDBERG, 1967; LIENE, 1969; RADOMSKI, 1974; MARMION, 1979; CHUNG ve Ark., 1992).

Günümüzde gıdalarda bulunan çok çeşitli boyar maddelerin nitelik ve niceliklerinin saptanması önem kazanmıştır. Yurdumuzda Boyar maddelerle ilgili Ülke ve Uluslararası yönetmeliklerin uygulanması 1983 yılında başlamış ve 1984 ile 1990 yıllarında iki ek yönetmelik yayınlanmıştır (ANONYMUS, 1983; 1984; 1990).

Suda çözünen sentetik organik boyar maddelerin tayinlerinde; kağıt kromatografisi (KK), ince tabaka kromatografisi (ITK), sütun kromatografisi (SK), yüksek basınç sıvı kromatografisi (YBSK) ve spektrofotometrik metodlar kullanılmaktadır (PEARSON, 1970; HOODLESS ve ark., 1971; A.O.A.C., 1975; YENTÜR ve ark., 1985; DEMİRAĞ ve ark., 1988; GÜNGÖR ve ark., 1990; TOPSOY ve ark., 1991). Bu projede bazı şekerlemeler ve sentetik toz içeceklere katılan sentetik organik gıda boyar maddelerden diazo boyar madde olan sunset yellow FCF ve tartrazin miktarları, voltametrik metod ile saptanarak spektrofotometrik metod ile karşılaştırılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Araştırmada materyal olarak, 22 adet şekerleme ve 12 adet yapay meyve tozu olmak üzere toplam 34 adet İzmir piyasasından tesadüf örneklemeyle satın alınan örnekler kullanılmıştır. Bu örneklerin 20 adedinde sunset yellow FCF ve tartrazin saptanmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda, ısı ve ışığın sunset yellow FCF ve tartrazini etkileyerek bozduklarının saptanması (FOGG ve ark., 1983; TOPSOY ve ark., 1991) nedeniyle, toplanan örnekler analizleri yapıncaya kadar serin ve karanlık yerde saklanmıştır.

Metod

I. Voltametrik Metod (DPP-Difrensiyel Puls Polarografi)

Çalışmadaki kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, tartrazin (Sigma) ve sunset yellow FCF (Naarden) standartları kullanılmıştır.

Polarografik ölçüm Metrohm (E 505; 626 Polarecord) cihazı ile yapılmıştır. Çalışma elektrotu damlayan cıva, yardımcı elektrot platin ve referans elektrod kalomel elektrot, destek elektrolit olarak fosfat tampon çözeltisidir.

Deneyler 50 ml'lik elektrokimyasal hücrede oluşturulmuş, ayrıca NEL-Mod pH-metre ile Ingold elektrod kullanılmıştır.

Deneyin Yürütülmesi

Örneklerin hazırlanmasında; toz edilen şekerlemeler ile sentetik toz içeceklerden 10 g tartılarak fosfat tampon çözeltisi (pH = 7,0) ile çözülmüş ve daha sonra balonjojede 100 ml'ye tamamlanmıştır. Çözeltinin renk şiddetine göre ölçüm hücresine doğrudan doğruya 25 ml örnek alınmış veya 10 ml örneğe 15 ml fosfat tampon çözeltisi ilave edilmiştir. (Bu işlemlerin hesaplamalarında seyrelmeler dikkate alınmalıdır.)

İşlem öncesi örneğin pH'sı ölçülerek 4N NaOH ile (7,0)'ye ayarlanarak, elde edilen piklerin doğruluğunu saptamak için bilinen konsantrasyonlu kontrol standartlar katılmıştır. Çalışma sırasında ortamdaki oksijeni uzaklaştırmak için 10 dakika azot verilerek, ölçümler $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de saptanmıştır.

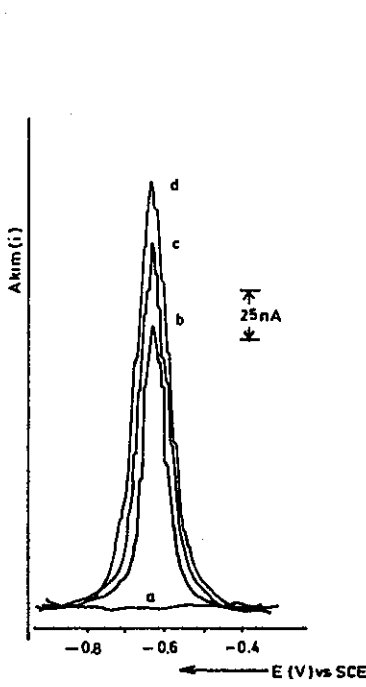
Bu destek elektrolit ile yapılan çalışma koşulları, damla büyüklüğü (orta), damlama süresi (0,5 s), tarama hızı 100 V/mV cm^{-1} ve puls yüksekliği 10 mV olarak seçilmiştir. DPP'de (-) 0,2 V ile (-) 1,0 V arasında tarama yapılmış, kağıt hızı 1,2 cm/dak. olarak ayarlanmıştır.

Daha önceki yapılan çalışmalara (FOGG ve Ark., 1979; FOGG ve ark., 1980; FOGG ve ark., 1981; BARROS, 1987) dayandırılarak sonuçlandırılmış olan bir çalışmada; Britton-Robinson tampon çözeltisi kullanılarak sunset yellow FCF ve tartrazin polarografi aygıtında ayrı ayrı ve karışımları halinde çeşitli pH'lardaki davranışları ile ilgili DC ve DP polarografik özellikleri incelenmiştir (ÖZSÖZ ve ark., 1989). Bu projede adı geçen çalışmalar esas alınmış ve bazı modifikasyonlar yapılarak uygulanmıştır.

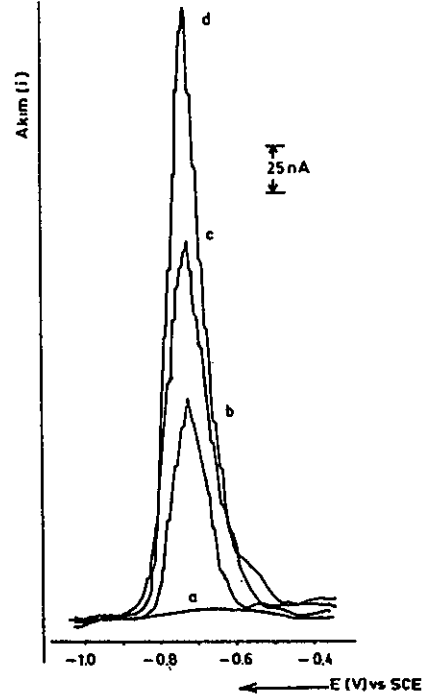
Standart ve örneklerin uygulanmasında oluşan piklerin potansiyelleri, sunset yellow FCF için -0.65 V ve tartrazin için -0.74 V olarak saptanmış ve standartların elde edilen polarogramları şekil 1 ve şekil 2'de standartların grafikleri ise şekil 3'te gösterilmiştir.

Voltametric metodun sunset yellow FCF ile yapılan çalışmasında elde edilen grafiğin denklemi $y = 12,55x + 0,094$ ve korelasyon katsayısı $r = 0,987$, tartarazinin grafik denklemi ise $y = 13,65x + 0,015$ ve korelasyon katsayısı $r = 0,987$ bulunmuştur.

Projede standart boyalar ile yapılan % geri kazanma denemelerinin sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Fosfat tampon çözeltisinde (pH = 7.2) sunset yellow FCF standardının Diferensiyel Puls Polarogramı; (a) fosfat tamponu, (b) $20 \mu\text{gml}^{-1}$, (c) $30 \mu\text{gml}^{-1}$, (d) $40 \mu\text{gml}^{-1}$



Şekil 2. Fosfat tampon çözeltisinde (pH=7.2) tartarazin standardının Diferensiyel Puls Polarogramı; (a) fosfat tamponu, (b) $40 \mu\text{gml}^{-1}$, (c) $50 \mu\text{gml}^{-1}$, (d) $70 \mu\text{gml}^{-1}$

Çizelge 1. Şekerlemelerde ve Yapay Toz İçeceklerde Mevcut Boyaların Geri Kazanım %'leri

Örnekler	Mevcut Boya (mg/kg)	Katılan Boya (mg/kg)	Toplam Miktarı (mg/kg)	Geri Kazanılan (mg/kg)	Geri Kazanılan (%)
Toz 1*	69,38	97,2	166,58	157,32	% 94,42± 0,28
Toz 2**	79,86	98,9	178,76	170,22	% 95,18± 0,14
Şekerleme 8*	47,37	98,6	145,97	135,53	% 92,77±0,63
Şekerleme 30**	162,38	99,0	261,38	252,08	% 96,30±0,11

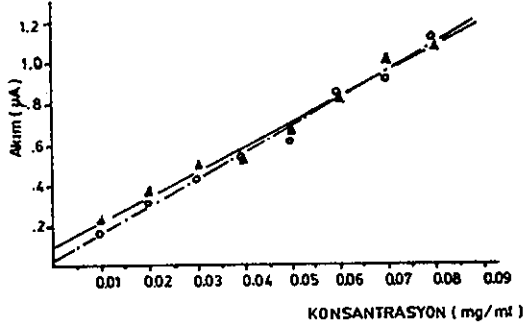
* Sunset yellow FCF boyar madde içeren örnekler,

** Tartarazin boyar madde içeren örnekler.

Not: Her örneğin 5'er deneme sonuçlarının ortalama değerleri alınmıştır.

Burada iki örnek çeşidi üzerinde sunset yellow FCF ve tartrazin boyar maddeleri denenmiştir. Geri kazanım yüzdeleri iki boyar maddenin her iki çeşit ortalaması olarak sunset yellow FCF için %93,00±0,46 tartrazin için %95,74±0,13 bulunmuştur.

Her iki boyanın tayin edilebilir sınırı (S/N = 3) sunset yellow FCF ve tartrazin için 0,8 µg/ml olarak saptanmıştır. Bu değer besinlerde mevcut olan ve saptanması istenen miktardan çok düşük değerdedir.



Şekil 3. Fosfat tampon çözeltisinde (pH=7.2) sunset yellow FCF (- -) ve tartrazin (-.-) standartlarının Diferensiyel Puls Polarografisi konsantrasyon eğrileri

II. Spektrofotometrik Metod

Projede uygulanan bu metoda; besin maddelerinin etanol ile ekstrakte edilen boyalarının ince tabaka kromatografisinde yürütüldükten sonra silikajel tabakası ile birlikte kazanarak, kolonda elüe edildikten sonra eluat spektrofotometrede ölçülerek miktarlar tayin edilmiştir (DEMİRAĞ ve ark., 1988).

Çalışmada Shimadzu UV-1208 spektrofotometresi kullanılmış, ölçümler sunset yellow için 485 nm ve tartrazin için 430 nm dalga boylarında yapılmıştır.

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bir metod çalışması olan bu projede DPP ile ilgili nitel ve nicel değerlerin tartışmaları metod bölümünde geniş şekilde ele alınmıştır. Aşağıda şekerlemelerde ve toz içeceklerdeki gıda boyar maddelerinin DPP ve spektrofotometrik metodlar ile saptanan miktarları üzerinde tartışılmıştır.

Proje örneklerindeki voltametrik (DPP) ve spektrofotometrik metodlar ile saptanan değerler, sunset yellow FCF için Çizelge 2'deki ve tartrazin için Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 2. Şekerleme ve Yapay Toz İçecek Örneklerinde Voltametrik (Dpp) ve Spektrofotometri Metodları ile Sunset Yellow Fcf'in Saptanan Miktarları

Örnek No.	Örnek Çeşidi	Boya Miktarı (mg/kg)	
		Volt. (DPP)	Spektrofot.
1	Toz	69,38	68,00
3	Toz	45,75	52,00
5	Toz	61,88	68,00
7	Toz	79,50	76,80
8	Toz	47,37	58,40
20	Şekerleme	178,25	182,60
25	Şekerleme	136,00	138,00
27	Şekerleme	47,25	55,60
33	Toz	73,65	72,00
34	Toz	150,09	148,00

Çizelge 3. Şekerleme ve Yapay Toz İçecek Örneklerinde Voltametrik (Dpp) ve Spektrofotometrik Metodları ile Tartrazin'in Saptanan Miktarları

Örnek No.	Örnek Çeşidi	Boya Miktarı (mg/kg)	
		Volt.(DPP)	Spektrofot.
2	Toz	79,86	74,00
4	Toz	64,95	64,00
6	Toz	113,82	117,00
16	Şekerleme	76,48	69,50
19	Şekerleme	188,24	177,94
23	Şekerleme	54,41	48,80
24	Şekerleme	113,24	112,00
30	Şekerleme	162,38	166,00
31	Şekerleme	174,74	178,00
32	Şekerleme	160,62	164,00

Değişik metodlar ile saptanan sunset yellow FCF ve tartrazin miktarları arasındaki bağıntıyı saptamak için "t-Student" testi uygulanmıştır (DÜZGÜNEŞ, 1963). Sunset yellow FCF ve tartrazin için cetvelden 9 serbestlik derecesine göre %5 için kritik değer $t_1 = 1,833$ ve % 1 için kritik değer $t_2 = 2,821$ bulunmuştur.

Her iki metod ile çalışmada saptanan sunset yellow FCF ve tartrazin miktarlarının arasındaki korelasyonun hesaplanmasında değer $r = 0,995$ bulunmuş ve aralarında güvenilir bir ilişki olduğu ortaya çıkmıştır.

Gıda Maddeleri Yönetmeliğine göre yapay toz içeceklerde sunset yellow FCF ve tartrazin boyar maddelerinin, izin verilen değerlerin altında olduğu gözlenmiştir. Fakat bazı şekerleme örneklerinde sunset yellow FCF ve tartrazin miktarları izin verilen değerlerin üzerinde bulunmuştur. Bu değerlerin Çizelge 5 ve 6'da sunset yellow FCF için 20 ve 25 nolu örnekler, tartrazin için 19, 24, 30, 31 ve 32 nolu örnekler olduğu görülmektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda da örneklerdeki sunset yellow FCF ve tartrazin miktarlarının izin verilen değerlerin çok üzerinde olduğu saptanmıştır (BİRİCİK ve Ark., 1990; TOPSOY ve Ark., 1991).

Araştırma örneklerindeki boyar maddeler (sunset yellow FCF ve tartrazin), şekerlemeler ve sentetik içeceklerde karışım halinde ise, tam bir nicel ayırımın yapılamaması metodun tek olumsuz yönü olarak görülmektedir.

Voltametik (DPP) metod ile spektrofotometrik metod arasında fark bulunmadığı gözlenmiştir. Bu çalışmada voltametik metodun hassas, kesin ve güvenilir olduğu polarografi tekniğinin uygulanabilirliği gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- ANONYMOUS, 1975. Color Additives. A O A C- Official Methods of Analysis, 12 th edition, 629, Washington DC, USA
- ANONYMOUS, 1983. T.C. Resmi Gazete, Sayı: 18097, 4 Temmuz
- ANONYMOUS, 1984. T.C. Resmi Gazete, Sayı: 18381, 24 Nisan
- ANONYMOUS, 1990. T.C. Resmi Gazete, Sayı: 20541, 7 Haziran
- BARROS, A.A., 1987. Differential-pulse Polarographic Determination of Synthetic Colouring Matters in Drugs and Cosmetics, *Analyst*, 112, 1359-1364
- BİRİCİK, G., BAŞOĞLU F., 1990. Şekerlemelerde kullanılan boyalar ile mikroorganizma yüklerinin saptanması üzerine bir araştırma. *Gıda*, 15 (2) 67-62.
- CHICHESTER, D.F., TANNER, F.W., 1972. "Food Colours" Furia, T.E. (Ed). "Handbook of Food Additives", 2 nd Ed., ohio, CRC Press, 587-596.
- CHUNG, K-T., EDWARD, Jr.S, CERNIGLIA, C.E., 1992. *Critical Reviews in Microbiology*, 18, 3, 175-190
- DEMİRAG, K., ALTUĞ, T., GÖNÜL, M., 1988. Suda Çözünen Sentetik Organik Boyaların İnce Tabaka Kromatografisi-Spektrofotometre Tekniği ile Kantitatif Analizleri Üzerine Bir Çalışma, E.Ü. Mühendislik Fakültesi, B-Gıda Mühendisliği, 6, 2, 15-23
- DÜZGÜNEŞ, O., 1963. Bilimsel Araştırmalarda İstatistik Prensipleri ve Metodları. E.Ü. Matbaası, 375, İzmir
- FOGG, A., G., YOO, K.S, 1979. Direct Differential-pulse Polarographic Determination of Mixtures of the Food Colouring Matters Tartrazine-Sunset Yellow FCF, Tartrazine-Green S and Amaranth-Green S in Soft Drinks, *Analyst*, 104, 723-729
- FOGG, A.G., BHANOT, D., 1980. Effect of Tetraphenylphosphonium Chloride on D.C. and Differential-pulse Polarograms of Synthetic Food Colouring Matters. *Analyst*, vol. 105, 234-240
- FOGG, A.G., BHANOT D., 1981. Further Voltammetric Studies of Synthetic Food Colouring Matters at Glassy Carbon and Carbon Paste Electrodes Using Static and Flowing Systems, *Analyst*, 106, 883-889
- FOGG, A.G., SUMMAN A.M, 1983. Further Differential-pulse Polarographic and Visible Spectrophotometric Studies of the Degradation of Permitted Synthetic Food Coloring Matters With and Without the Addition of Ascorbic Acid: Degradation in the Dark and in the Light Without the Stabilising Action of EDTA. *Analyst*, 108, 1339-1344
- GOLDBERG, L., 1967. The Toxicology of Artificial Colouring Materials, *J. Soc. Cosmetic Chemists*, 18, 421-432
- GÜNGÖR, G., GÜRAY, Ö., DEMİR, L., 1990 Sentetik organik gıda boyalarının İstanbul piyasasında satılan çeşitli şekerlerde araştırılması. *Türk Hij. Der. Biyol. Derg.*, 4, 2, 217-223
- HOODLESS, R.A., PITMAN, K.G., STEWART, T.E., THOMSON, J., ARNOLD, J.E., 1972. Separation and Identification of Food Colours Using Thin-Layer Chromatography. *J. of Chromatography*, 54, 393-404
- LIENER, E.I., 1969. "Toxic Constituents of Plant Foodstuffs". Food Science and Technology A Series Monographs, New York, 357-359
- MARMION, H.D., 1979. "Handbook of U.S. Colorants for Foods, Drugs and Cosmetic, Wiley-Interscience Publishing Co, Inc., 3, New York
- ÖZSÖZ, M.E.Ş., ALTINIĞNE, N., 1989. Bazı Sentetik Boyar Maddelerin Polarografik Olarak İncelenmesi, *Kimya* 89, VI. Kimya ve Kimya Mühendisliği Sempozyumu, 9-14 Kuşadası 1989, İzmir, 230 s.
- PEARSON, P., 1970. The Chemical Analysis of Foods, Sixth Edition. J. and A. Churchill, London, 56-59
- RADOMSKI, J.L., 1974 Toxicology of Food Colours. *Annu-Rev. Pharmacol.*, 14, 127-137
- TOPSOY, H., DEMİRER, M.A., BOZKURT, M., 1991. Bazı şekerli gıdalara katılan sentetik organik gıda boyalarının miktar tayini. *Türk Hij. Derm. Biyol. Derg.*, 48 (1) 21-37
- YENTÜR, G., KARAKAYA, A.E., 1985. Kullanımı yasaklanan aromatik azo yapısındaki gıda boyalarının bazı gıda maddelerinde araştırılması. *Gıda*, 10, 6, 371-376