

## **DRAJE YÜZEYİNDE KULLANILAN RENKLENDİRİCİLERİN UV/VIS SPEKTROFOTOMETRE İLE KALİTATİF VE KANTİTATİF OLARAK BELİRLENMESİ\***

### **DETERMINATION OF COLORANTS ON COATED CANDIES (DRAGE) USING UV/VIS SPECTROPHOTOMETRY AS QUALITATIVE AND QUANTITATIVE**

**Zehra GÜLER<sup>1</sup>, Hilal ENECÜR**

Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Hatay

**ÖZET:** Çalışmamızda UV/VIS spektrofotometre kullanılarak, drajelerin yüzeyindeki yapay renklendiricileri kalitatif ve kantitatif olarak belirlemek için 40 adet örnek, Ankara'daki farklı süpermarketlerden toplanmıştır. Sonuçta drajelerde 5 çeşit sentetik renklendirici belirlenmiş ve her bir renklendiricinin miktarı örnekler arası geniş bir varyasyon göstermiştir. Drajelerdeki Tartrazin, Sunset yellow, Ponce 4R, Azorubin ve İndigotin renklendiricilerinin ortalama miktarları sırasıyla 188 mg/kg, 226 mg/kg, 381 mg/kg, 374 mg/kg ve 204 mg/kg çıkmıştır. Anılan sonuçlar Türk Gıda Kodeksinde belirtilen maksimum değerden az tespit edilmiştir

**ABSTRACT:** In this study, the colorants on coated candies (drage), both quantitatively and qualitatively, were tested by using UV/VIS spectrophotometer. Fourty samples of coated candy were purchased from different supermarkets in Ankara. Five synthetic food colorants were determined in coated candies. The amount of colorant on coated candies-colored with a single colorant was showed a wide variation from sample to sample. The mean values for colorant on coated candies were found as follows: 188 mg/kg for Tartrazine; 226 mg /kg for Sunset Yellow; 381 mg/kg for Ponceu 4R; 374 mg/kg for Carmoisine; 204 mg/kg for Indigotine. These results were consisted with values stated by Legal Codex.

### **GİRİŞ**

Renk, gıdanın tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğinde en önemli duyuşsal kalite niteliğinden biridir. Ancak gıdaların üretiminde uygulanan teknolojik işlemler sırasında ürünlerde renk solmaları, işlendiği hammaddeye bağlı olarak renk dalgalanmaları ya da depolama sırasında ısı, ışık, pH ve oksijen gibi fiziksel ve kimyasal koşullara bağlı olarak renk kayıpları görülebilmektedir. Bunlara benzer sorunları önlemek dolayısıyla ürün görünüşünü düzeltmek, daha parlak ve yeknesak renkler elde etmek için renklendirici katkı maddeleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Adams ve Langley 1995).

Her yaş grubunu beslenme ve sağlık açısından ilgilendiren gıda katkı maddelerinin kullanımı hemen hemen insanlık tarihi kadar eskidir. Örneğin Mısır'lılar 3500 yıl önce gıdaları çekici hale getirmek için renklendiriciler kullanmışlar ve 'Khad' adı verilen boyanmış şekeri ilk kez Büyük İskender'e Hindistan'dan Avrupa'ya döndüğünde hediye etmişlerdir (Saldamlı 1998).

İlk zamanlarda gıdalarda, bitki, hayvan ve minerallerden elde edilen doğal renklendiriciler kullanılmıştır. Ancak bunların ışığa, ısıya hassasiyeti, renk verme güçlerinin çok iyi olmaması, pahalı olmasından dolayı araştırmacılar farklı alternatifler aramışlardır. İngiliz kimyacı William Perkin 1856 yılında yapay renklendiriciler-

\* Türkiye 8. Gıda Kongresinde sunulmuştur.

<sup>1</sup> E-posta: zguler@mku.edu.tr

ri keşfetmiş ve onlar önce tekstil sanayiinde daha sonraları da (1900'li yıllar) USA'de gıdalarda kullanılmışlardır (Ghorpade vd 1995).

Yapay renklendiricilerin doğal olanlara oranla renk verme güçlerinin ve çözünürlüklerinin iyi olması, ısı, ışığa ve farklı pH düzeylerine karşı iyi bir stabilite göstermeleri, uygulama kolaylığı ve fiyatlarının ucuz olmasından dolayı kullanımları hızla yaygınlaşmıştır (Lepree 1994).

Yapay renklendiriciler kullanılmaya başlandığı yıllarda bunların büyük bir bölümü kömür katranından elde edildiği için kömür katranı renklendiricileri olarak adlandırılmıştır (Altuğ 2001). Ancak daha sonraları kimyasal yapılarına ve elde edildikleri kaynağa göre renklendiriciler sınıflandırılmışlardır. Örneğin suda çözünebilir FD&C renklendiricileri kimyasal yapılarına göre azo, triaril metan, ksanten, kinolin ve indigoid olarak ayrılmaktadır. Azo grup, aromatik di-azo bileşiklerin fenol ya da aminlerle verdiği reaksiyon sonucu oluşmaktadır. İndigo karmin ise kömür katranı orijinli suda çözünebilir renklendiricidir. İndigo aslında doğal bir mavi renklendirici olup bazı bitkilerde glikozit yapıda bulunmaktadır (Noonan ve Meggos 1980). Anılan boya hem gıda ve kozmetik endüstrisinde hem de bazı biyokimyasal uygulamalarda belirteç olarak kullanılmaktadır.

Yapılan klinik çalışmalarda azo grubu boyaların (Tartrazin, Sunset yellow, Ponce 4R ve Azorubin) insanlarda özellikle çocuklarda hiperaktiviteye neden olduğu, astımlı ve aspirine duyarlı bireylerde arzulanan reaksiyonlar (migren, deride kızarıklıklar ve kabarmalar, nezle, bulanık görme, öğrenme güçlüğü) meydana getirdikleri saptanmıştır (Jublin 1981, Egger 1985, Monoret 1986, Booth 1993, Ring vd 2001). Azo boyalara karşı duyarlı olan insanlarda aşırı derece de barsak rahatsızlığı sendromu da görülmektedir (Webber 1993). Tartrazinin alerjik eksama neden olup-olmadığının araştırıldığı bir çalışmada, 1-6 yaş arası 12 çocuğun diyetlerine 50 mg/kg düzeyinde Tartrazin ilave edildiğinde 11 çocuğun Tartrazine karşı intorelanslı oldukları ve hepsinde alerjik eksama görüldüğü belirlenmiştir (Devlin ve David 1993)

Çeşitli gıdalarda kullanımına izin verilen yapay renklendiriciler ve miktarları ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir. Hatta bazı ülkeler sağlık üzerine olumsuz etkilerinden dolayı bunları yasaklamışlardır. Yapay renklendiricilerin ülkemizde kontrolsüz bir şekilde kullanımı sürekli artış göstermekte ve Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde 1997 yılında yapılan düzenlemenin de bu eğilimi teşvik edici yönde olduğu düşünülmektedir. Çünkü anılan yasal düzenlemede (Anonim 1997) daha önce kullanılan katkı maddeleri yönetmeliğine göre (Anonim 1990) hem renklendirici kullanılmasına izin verilen gıda çeşitliliği artmış hem de bazı gıdaların içermesi gereken maksimum renklendirici miktarı yükseltilmiştir. Bunun yanı sıra en çok kullanılan renklendiricilerden biri olan Eritrosin ise Sağlık Bakanlığı'nın 17.08.1993 gün ve 53336 sayılı onayı ile Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nden çıkarılmış olmasına rağmen günümüzde uygulanan Kodeks'te kiraz şekerlemeleri v.d. kullanımına izin verilerek tekrar uygulamada yer almıştır.

Renklendiricilerin sağlık üzerine olumsuz etkilerinden dolayı miktarlarının doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Instrümental analiz tekniklerinin gelişmediği dönemlerde renklendiriciler genellikle kalitatif olarak belirlenmiştir. Ancak son zamanlarda yüksek performanslı sıvı kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, UV-VIS spektrofotometresi, elektrokinetik kapiler kromatografi (MERKC) ve kapilar zon elektroforezi (CZE) yöntemleri kullanılarak kantitatif olarak da çeşitli gıdalardaki renklendirici katkı maddeleri tespit edilebilmektedir (Lawrence vd 1981, Chator ve Heal 1986, Ohto vd 1988, Ni ve Gong 1997, Capitan vd 1998, Berzas vd 1999, Chou vd 2002).

Ülkemizde gıdalarda kullanılan renklendiricilerin belirlenmesi konusundaki çalışmalar genellikle belirli bir grup gıdayı (şekerlemeler, içecek tozları) kapsamaktadır (Demirağ ve Altuğ 1990, Büyükpamukçu 1995, Topsoy 1998). Ancak drajeler (kaplama maddelerinde) üzerinde çalışmalar yapılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın amacı, basit bir spektrofotometrik metot kullanarak ön işlemsiz tek boya ile renklendirilmiş drajelerde-

ki renklendiricileri kalitatif ve kantitatif olarak belirlemek; Türk Gıda Kodeksine göre renklendiricileri değerlendirmek; drajelerde kullanılan renklendiriciler konusunda bilgilenmek olmaktadır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Araştırma materyali olarak kullanılan 40 adet draje örneği orijinal ambalajlarında Ankara'da bulunan süpermarketlerden temin edilmiştir.

### Yöntem

Drajelerin kaplama maddesinde bulunan renklendiriciler, kalibrasyon kurvesi kullanılarak UV-spektrofotometre ile tespit edilmiştir.

### Kimyasallar ve Çözeltiler

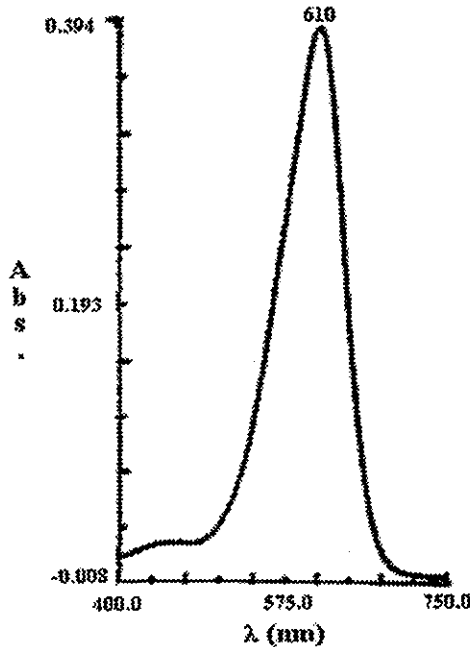
En az % 88-90 saflıkta olan standart renklendiriciler (Sigma) sağlanmıştır. Fosfat tampon çözeltisi (pH =7) hazırlanması, 500 ml  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (500 ml'lik bir balon joje içerisinde 6,8 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  bidestile suda çözdürülmüş ve hacim 500 ml'ye tamamlanmıştır) + 291 ml NaOH (2g NaOH 500 ml suda çözdürülmüştür) 1000 ml'lik bir balon joje içerisinde karıştırılmış ve hacim bidestile su ile tamamlanmıştır. Daha sonra da pH'sı Orion 420 pH-metre ile kontrol edilmiştir.

### Stok çözeltilerin hazırlanması

Her bir standart renklendiricininin 10 mg'ı 250 ml'lik balon joje içerisine tartılmış ve hacim fosfat tampon ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Stok çözeltiden 0 ml (kör), 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml ve 5 ml, 50 ml'lik balon jojelere alınarak hacim yine fosfat tampon ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Bu şekilde her bir renklendirici için standart çalışma çözeltileri hazırlanmıştır.

### Renklendiricilerin tanımlanması

Çift kuvetli UV-VIS Jasco 7800 spektrofotometre (Japan) kullanılarak 330 –750 nm dalga boyu aralığında standart renklendiricilerin maksimum absorpsiyon dalga boyu tanımlanması yapılmıştır (Şekil1).



Şekil 1. İndigotin renklendiricisine ait maksimum absorpsiyon spektrumu (610 nm).

**Çizelge 1. Standart renklendiricilerin maksimum dalga boyları ve kalibrasyon eşitlikleri, regresyon katsayıları**

Renklendiriciler	$\lambda$ max (nm) <sup>1</sup>	Kalibrasyon eşitliği <sup>2</sup>	Regresyon katsayısı
Tartrazin (E 102)	425	$K_T = 1.0000 \times \text{ABS} + 0.0024$	1.0000
Sunset yellow (E 110)	482	$K_{SY} = 1.0010 \times \text{ABS} + 0.0052$	0.9999
Ponse 4R (E 124)	505	$K_P = 1.1080 \times \text{ABS} + 0.0229$	0.9993
Azorubin (E 122)	515	$K_A = 1.1052 \times \text{ABS} + 0.0033$	0.9998
İndigotin (E 132)	610	$K_I = 1.1300 \times \text{ABS} - 0.0037$	0.9996

<sup>1</sup> Renklendiricilerin fosfat tampon çözeltisinde maksimum dalga boyları

<sup>2</sup>  $K_T$ ,  $K_{SY}$ ,  $K_P$ ,  $K_A$ , and  $K_I$  renklendiricilerin miktarları,  $\text{mg g}^{-1}$

Bunu takiben drajelerdeki renklendiricilerin maksimum dalga boyu belirlenmiştir. Renklendiricilerin maksimum absorpsiyonları daha önce yapılan çalışmalara benzerlik göstermiştir (Chen vd 1997, Berzas vd 1998). Daha sonra da çalışma çözeltileri kullanılarak her bir boyanın kalibrasyonu yapılmıştır (Çizelge 1). Elde edilen eşitliğe göre örneklerdeki renklendirici miktarları hesaplanmıştır. Standart renklendiriciler kullanılarak elde edilen maksimum absorbans değerleri, kalibrasyon eşitlikleri Çizelge 1'de belirtilmiştir. Çizelge değerleri incelendiğinde her bir renklendirici için 1 ve 1'e çok yakın regresyon katsayısı elde edildiği görülmüştür.

#### Örnek hazırlama

Drajelerin yüzeyinde bulunan kaplama tabakasından 1 g alınmış ve fosfat tampon çözeltisine renklendiricinin geçmesi sağlandıktan sonra adi filtre kağıdından 50 ml'lik bir balon jöjeye süzölmüş ve hacim aynı çözelti ile tamamlanarak hemen spektrofotometrede absorbans değeri belirlenmiştir. Kalibrasyon eşitliğinden, 386 Software Package ver. 2.1 programı kullanılarak renklendirici miktarı  $\text{mg/g}$  olarak tespit edilmiştir. Daha sonra  $\text{mg/kg}$ 'a dönüştürölmüştür. Gerek kalitatif gerekse kantitatif ölçömlerde örnekten önce spektrofotometrenin her iki küvetine fosfat tampon konularak cihazın sıfır ayarı yapılmış ve renklendiricilerin absorbans değeri, fosfat tampona (kör) karşı belirlenmiştir. Tüm örnekler oda koşullarında paralelli çalışılmıştır.

#### ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Draje renklendiricilerini belirlemek için uyguladığımız yöntemde Çizelge 1'den de göröldüğü üzere iyi bir regresyon katsayısı elde edilmiştir. Gıdalardaki renklendiricileri belirlemek için bazı araştırmacılar türev spektrofotometresi ya da kromatografik yöntemler kullanmışlardır. Ancak bu metotlar iki yada daha fazla renklendirici içeren gıdalar için daha uygun olmaktadır. Bunun yanı sıra çok sayıda örnekle çalışıldığında pratik olmamaktadırlar.

Çalışmamızda sarı, turuncu, kırmızı- pembe ve mavi renkli drajelerde sırasıyla Türk Gıda Kodeksi'nde izin verilen Tartrazin, Sunset yellow, Ponse 4R- Azorubin ve İndigotin renklendiricilerinin kullanıldığı belirlenmiştir. Çizelge 2'den de göröldüğü üzere en fazla kullanılan renklendiriciler Ponse 4R ve Sunset yellow olmuştur. Akide şekerlerinde yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar tespit edilmiştir (Büyökpamukçu ve Saldamlı 1995). Üç adet kırmızı draje ve 1 adet turuncu draje örneğinde Ponse 4R ve Sunset yellow'un miktarı kodekste belirtilen sınırdan (maksimum 500  $\text{mg/kg}$ ) fazla tespit edilmiştir. Tüm draje örneklerinde kullanılan renklendiricilerin ortalama değeri Türk Gıda Kodeksinde belirtilen maksimum miktardan az belirlenmiştir. Drajelerde kullanılan her bir renklendirici geniş bir varyasyon göstermiştir (Çizelge 2). Bu sonuç standart kullanım tekniğinin geliştirilmemiş olmasından kaynaklanabilir.

Çizelge 2. Draje yüzeyinde bulunan renklendiricilerin miktarı (mg/kg)

Renklendiriciler	Örnek sayısı	Ortalama	En az	En çok	SD	CV(%)	Standart değer (en çok) <sup>1</sup>
Tartrazin	6	188,33	85	420	138,84	73,72	500 mg/kg
Sunset Yellow	12	226,15	90	560	176,40	78,00	500 mg/kg
Ponse 4R	13	381,15	100	770	225,24	59,09	500 mg/kg
Azorubin	3	374,46	204	489	116,56	31,12	500 mg/kg
İndigotin	6	204,66	50	410	153,00	74,75	500 mg/kg

<sup>1</sup>Türk Gıda Kodeksinde belirtilen üst limit (Anonim 1997)

Sonuç olarak drajelerin yüzeyinde kullanılan renklendiriciler çoğunlukla azo grup (Sunset yellow, Tartrazine vb) olup; ortalama miktarları Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen sınırın altında tespit edilmiştir. Ancak bunlar fazla miktarda kullanıldığında ve çok tüketildiğinde sağlık üzerine olan olumsuz etkilerinden dolayı üreticilerin sıklıkla kontrol edilmesi, gıda ambalajları üzerinde gerekli uyarıların (allerji yapabilir vb) yer alması ve tüketicilerin bilinçlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Adams JB and Langley FM. 1995. Interaction between additives in food systems. *Food Res. Assoc.*, 20: 72-74.
- Altuğ T. 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım, 286 s., Bornova, İzmir.
- Anonim. 1990. Gıda katkı maddeleri yönetmeliği, Resmi Gazete, 7 Haziran, sayı: 20541, 2-41.
- Anonim. 1997. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Sayı: 23172. 224s., Ankara.
- Berzas-Navado JJ, Flores JR, Cabanillas CG, Ilerana MJV and Salcedo AC. 1998. Resolution of ternary mixtures of Tartrazine, Sunset yellow and Ponceu 4R by derivate spectrophotometric ratio spectrum-zero crossing method in commercial foods. *Talanta*, 46: 933-942.
- Booth J. 1993. Food intolerance in a child with urticaria. *J. Human Nut. And Diet*, 6: 377-380.
- Büyükpamukçu E ve Saldamlı İ. 1995. Ankara piyasasında satışı sunulan şekerlemelerin renk maddesi içeriklerinin belirlenmesi. *Gıda*, 20: 397-404.
- Capitan-Vallvey LF, Fernandez MD, Orbe I and Avidad R. 1998. Simultaneous determination of the colorants tartrazine, ponceu 4R and sunset yellow FCF in foodstuffs by solid phase spectrophotometry using partial least squares multivariate calibration. *Talanta*, 47: 861-868.
- Chator JC and Heal RL. 1986. Separation of synthetic dyes by high-performance liquid chromatography on 3 µm column. *J. Chromatog*, 368: 450-455.
- Chen QC, Mou SF, Liu KN, Yang ZY and Ni Z. 1997. Separation and determination of four artificial sweeteners and citric acid by high-performance anion-exchange chromatography. *J. Chromatog.*, 771: 135-143.
- Chou SS, Lin YH, Cheng CC and Hwang DF. 2002. Determination of synthetic colors in soft drinks and confectioneries by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Food Sci.*, 67:1314-1318.
- Demirağ K ve Altuğ T. 1990. İzmir ve çevresinde satılan bazı gıdalardaki sentetik organik boyaların saptanması. *Gıda San.*, 19 : 353-357.
- Devlin J and David TJ. 1992. Tartrazine in atopic eczema. *Arch. Dis. Childhood*, 67: 709-711.
- Dipalma JR. 1990. Tartrazine sensitive. *Am fam physician*. 1347-50 PMID, 42: 5.
- Egger J. 1985. Controlled trial of alligo antigenic treatment in the hyperkinetic syndrome. *Lancet*, 540.
- Jublin L. 1981. Recurrent urticaria cilinical investigation of 330 patients. *Brit. J. derm.*, 104-363.
- Lawrence JF, Lancaster FE and Conacher HB. 1981. Separation and detection of synthetic food colors by ion-pair high performance liquid chromatography. *J. Chromatog*, 210: 168-173.
- Lepree J. 1994. Natural food colors flourish in wake of buyer's demand. *Chem. Market reporter*, 11: 16-17.
- Monoret-Vautrin DA. 1986. Food antigens and additives. *J. Allergy Clin. Immuno.*, 78: 1039-1046.
- Ni Y and Gong X. 1997. Simultaneous spectrophotometric determination of mixtures of food colorants. *Analy. Chim. Acta.*, 354: 163-171.

- Noonan JE and Meggos H. 1980. Synthetic food colours. Eds Furia, T.E., Handbook of Food Additives., C. R. C. Pres. Second Edition. 339-382.
- Ohto M, Matsunaga A, Yamamoto A, Saitou Y and Mizukami E. 1988. Simultaneous determination of food coal-tar dyes by ion-pair high performance liquid Chromatography. J. Food Hyg Soc Japan, 29: 192-198.
- Ring J, Brockow K and Behrendt H. 2001. Adverse reactions to foods. J. Chromatog, 756: 3-10.
- Saldamlı I. 1998. Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 527 s., Ankara.
- Tanaka T. 2000. Reproductive and neurobehavioral effects of Sunset Yellow FCF administered to mice in the diet. PMID: 8713715 Pub-Med –indexed for Medline. Tokyo, Japan.
- Topsoy H. 1998. Ankara piyasasında satılan bazı şeker ve şekerli gıda maddelerine katılan gıda boyalarının türev spektroskopisi yöntemiyle kantitatif tayini. Doktora Tezi, A. Ü. Sağlık Bilim. Ens. 91 s., Ankara.
- Weber RW. 1993. Food additives and allergy. J. Allergy Clin. Immun., 70: 183-190.