

T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BESİN ANALİZLERİ VE BESLENME BİLİM DALI

**ANKARA PİYASASINDA SATIŞA SUNULAN  
BAZI GIDALARDA SENTETİK BOYA  
MİKTARLARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Ecz. Şebnem ERDOĞAN**

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Gülderen YENTÜR

Ankara-2007

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>I. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	1
<b>II. GENEL BİLGİLER .....</b>	4
II.1. Gıda Boyalarının Tarihçesi .....	5
II.2. Gıda Boyalarının Numaralandırılması .....	7
II.3. Gıda Boyalarının Gruplandırılması .....	8
II.3.1. Sertifikalı ve Sertifikasız Gıda Boyaları .....	8
II.3.1.1. Sertifikalı Boya Maddeleri (Certified Color Additives) .....	9
II.3.1.2. Sertifikasız Boya Maddeleri (Uncertified Color Additives) .....	9
II.3.2. Ürüne Sağladıkları Renkler Açısından Gıda Boyaları .....	10
II.3.3. Elde Edildikleri Kaynağa Göre Gıda Boyaları .....	11
II.3.3.1. Doğal Gıda Boyaları .....	11
II.3.3.1.1. Doğal Gıda Boyalarının Özellikleri ve Kullanım Alanları .....	13
II.3.3.1.2. Başlıca Doğal Renk Kaynakları .....	16
II.3.3.2. Yarı Sentetik Gıda Boyaları .....	18
II.3.3.3. Sentetik Gıda Boyaları .....	18
II.3.3.3.1. FD ve C Boyalar .....	19
II.3.3.3.2. FD ve C Lake Boyalar .....	22
II.3.3.3.3. Sentetik Gıda Boyalarının Metabolizması ..	24
II.3.3.3.4. Türkiye’de Gıdalarda Kullanılan Sentetik Gıda Boyaları .....	26
II.3.3.3.4.1. Tartrazin .....	26
II.3.3.3.4.2. Sunset Yellow F.C.F. ....	28
II.3.3.3.4.3. Ponceau 4R .....	30
II.3.3.3.4.4. Indigotin .....	32
II.3.3.3.4.5. Azorubin .....	33

	<b><u>Sayfa No</u></b>
II.3.3.3.4.6. Patent Blue V .....	34
2.3.3.3.4.7. Eritrosin .....	35
II.3.3.3.5. Sentetik Gıda Boyalarının Diyetle Alınabilen Günlük Maksimum Miktarları .....	38
II.3.4. Teknolojik Değerlendirmeler .....	39
II.3.4.1. İçeceklerde .....	40
II.3.4.2. Şekerli Ürünlerde .....	41
II.3.4.3. Pastacılık Ürünlerinde .....	42
II.3.4.4. Süt Ürünlerinde .....	42
II.3.5. Toksikolojik Değerlendirmeler .....	42
II.3.6. Yasal Açıdan Değerlendirmeler .....	44
II.3.6.1. FAO/WHO Ortak Kodeks Alimentarius Komitesi Tarafından Yayınlanmış Listeler .....	45
II.3.6.1.1. A Listesi .....	45
II.3.6.1.2. B Listesi .....	46
II.3.6.1.3. C Listesi .....	46
II.3.6.2. AB'nin Boyalarla İlgili Direktifleri .....	47
II.4. Konu ile İlgili Bazı Bilimsel Çalışmalar .....	49
II.5. Sentetik Gıda Boyalarının Analiz Yöntemleri .....	57
II.5.1. Yün Boyama Yöntemi .....	57
II.5.2. Kağıt Kromatografi Yöntemi .....	58
II.5.3. İnce Tabaka Kromatografisi .....	60
II.5.4. Kolon Kromatografisi .....	60
II.5.5. Gaz Kromatografisi .....	61
II.5.6. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi .....	61
II.5.7. Türev Spektroskopisi Yöntemi .....	62
<b>III. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>71</b>
III.1. Materyal .....	71

	<b><u>Sayfa No</u></b>
III.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	72
III.3. Kullanılan Çözeltiler .....	72
III.4. Kullanılan Alet ve Gereçler .....	73
III.5. Boyaların Kalitatif Tayini .....	74
III.5.1. Yün Boyama Yöntemi ile Boyaların Kalitatif Tayini.....	74
III.5.2. Kağıt Kromatografisi Yöntemi ile Boyaların Kalitatif Tayini.....	75
III.6. Boyaların Kantitatif Tayini .....	75
III.6.1. Tek Boya İçeren Numunelerin Kantitatif Tayini .....	76
III.6.2. Çift Boya İçeren Numunelerin Kantitatif Tayini .....	79
III.7. Boya Tayin Metodunun Tekrarlanabilirliği .....	84
III.8. Metodun Doğruluğu ve Verimin Hesaplanması .....	84
III.9. İstatistiksel Analizler .....	85
<b>IV. BULGULAR .....</b>	<b>87</b>
<b>V. TARTIŞMA .....</b>	<b>96</b>
<b>VI. SONUÇ .....</b>	<b>106</b>
<b>VII. ÖZET .....</b>	<b>108</b>
<b>VIII. SUMMARY .....</b>	<b>110</b>
<b>IX. KAYNAKLAR .....</b>	<b>112</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>120</b>

## TABLolar DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>		<b><u>Sayfa No</u></b>
1.	Doğal Boyaların Gıdalara Sağladıkları Renkler .....	11
2.	Doğal Gıda Boyaları ve Elde Edildikleri Kaynaklar .....	12
3.	Bazı Gıdalara Özgün Karatenoidler .....	15
4.	Sertifikalı FDC Boya Maddelerinin Sınıflandırılması ve Genel Yapıları .....	21
5.	Çeşitli Şekillerdeki Sertifikalı Boya Maddelerinin Kullanımdaki Avantaj ve Dezavantajlar .....	23
6.	Sertifikalı Boyalar ve Lake Boyalar Arasındaki Fiziksel Farklılıklar .....	24
7.	Gıda Boyalarının Çeşitli Özellikleri .....	40
8.	470nm ve 554nm’de Ponceau 4R için Konsantrasyon ve Absorbans Değerleri .....	77
9.	515nm’de Ponceau 4R için Konsantrasyon ve Absorbans Değerleri .....	80
10.	599nm’de Azorubin için Konsantrasyon ve Absorbans Değerleri .	83
11.	Boya Tayin Metodunun Tekrarlanabilirliği .....	84
12.	Standart İlave Edilen Elma şekerlerine Ait Boya Konsantrasyonları ve % Verim Değerleri .....	85
13.	Reçel, Meyve Suyu, Meyveli Yoğurt, Elma Şekeri ve Alkolsüz Aromalı İçecek Numunelerinde Tespit Edilen Sentetik Gıda Boyası Çeşitleri ve Miktarları .....	88
14.	A ve B Pastanesine Ait Elma Şekeri Numunelerinde Tespit Edilen Boya Değerleri (mg/kg) .....	91
15.	C Firmasına Ait Alkolsüz Aromalı İçecek Numunelerinde Tespit Edilen Boya Değerleri (mg/l) .....	92
16.	A ve B Pastanelerine Ait Elma Şekerlerindeki ve C Firmasından Temin Edilen Alkolsüz Aromalı İçecek Numunelerindeki Gıda Boyaları Değerleri .....	92

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
17. İki Ayrı Pastaneden Sağlanan (A,B) Elma Şekeri Numunelerinde Gıda Boyası Değerlerinin Karşılaştırılması (mg/kg).....	93
18. A ve B Pastanelerine Ait Elma Şekeri Örneklerinin Ortalamalarının ve C Firmasına Ait Alkolsüz Aroma İçeceği Numunelerinin Ortalamalarının Standart Değerlerle Karşılaştırılması .....	94

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Sekil</u></b>		<b><u>Sayfa No</u></b>
1.	Çeşitli Şekillerdeki Gauss Diyagramlarının Türev Spektrumları ...	65
2.	Türev Spektrumlarının Değerlendirilmesi .....	67
3.	Ponceau 4R'nin Temel Spektrumu ve Birinci Türev Spektrumu ...	76
4.	Ponceau 4R'nin Kalibrasyon Eğrisi .....	78
5.	(a) Ponceau 4R'nin Temel Spektrumu, (b) Azorubin'in Temel Spektrumu, (c) Ponceau 4R ve Azorubin karışımının Temel Spektrumu, (d) Ponceau 4R ve Azorubin'in Birinci Türev Spektrumlarının bir arada gösterilmesi .....	81
6.	Ponceau 4R'nin 515nm'deki Kalibrasyon Eğrisi .....	82
7.	Azorubin'in 599nm'deki Kalibrasyon Eğrisi .....	83
8.	Elma Şekeri Örneklerinde Saptanan Boya Miktarlarının Pastanelere Göre Dağılımı .....	95
9.	Alkolsüz Aromalı İçecek Örneklerinde Saptanan Boya Miktarları.	95

## **TEŐEKKÖR**

Çalıőmamda bilgi ve katkılarıyla beni yönlendiren, destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Gülderen YENTÖR'e, öğrenimim süresince bilgilerinden faydalandığım Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Sayın Hocam Prof. Dr. Aysel BAYHAN ÖKTEM'e, laboratuvar çalıőmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Uzm. Buket ER'e, Arő.Gör. Burak DEMİRHAN'a, Betöl ÇELİK'e ve aileme içtenlikle teőekkür ederim.



## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya nüfusundaki artışlar, gıda sektörünü besleyen hammadde kaynaklarındaki azalmalar, insanların yaşam standartlarını yükseltme eğilimleri gibi etmenler insanları teknolojik buluşlara yönlendirmiştir. Gıda sektörüne yeni ve üstün teknolojilerin kazandırdığı değişik üretim teknikleri, buna göre ürünlerin çeşitlenmesi, tüketici beğenisinin değişmesi ve bilinçlenmesi, mevsimlik gıdaların yılın her döneminde tüketilme eğilimlerinin artması, ürünlerde raf ömrünün uzatılması ve kalitede standardizasyon zorunluluğu, daralan gıda kaynaklarının rasyonel kullanımı gibi hususlar, gıda endüstrisinde kullanılan tekniklerin yanı sıra "gıda katkı maddeleri"nin kullanımını zorunlu hale getirmiştir.<sup>1,2</sup>

Kendi başına gıda olarak tüketilmeyen, gıdanın tipik bir bileşeni olmayan, besleyici değeri olsun veya olmasın, gıdanın üretilmesi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması ve depolanması aşamalarında beklenen teknolojik amaca yönelik olarak ürün veya bileşenlerine doğrudan veya dolaylı olarak katılan maddelere gıda katkı maddeleri denir.<sup>3,4,5</sup>

Bu tür katkı maddelerini insanlar yüzyıllardır kullanmaktadır. Tuz, şeker ve sirke besinleri uzun süre saklıyabilmek için kullanılan ilk katkı maddeleridir.<sup>6</sup> Bu gün bilinen 2800 madde gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır.<sup>7</sup>

Katkı maddelerinin gıdalarda kullanılabilmesi için etkili olması, analizlerinin yapılabilmesi, sonuçlarının ölçülebilmesi ve çok sıkı bir şekilde

kontrol altına alınmış koşullarda hayvanlar üzerinde emniyetinin sağlanmış olması gerekmektedir.<sup>8</sup>

Bir katkı maddesinin kullanımına yasal olarak izin verilse bile o madde ancak bir takım kriterlere uygun olarak kullanılabilir. Kullanımına izin verilen katkı maddesi;

Yalnızca izin verildiği gıdada, belirlenen en çok doz aşılmadan kullanılmalıdır. Gıdadaki herhangi bir hatayı örtmek veya tüketiciyi yanıltmak için kullanılmamalı ve kullanıldığı gıdanın etiketinde kullanım miktarı yazılmalıdır.<sup>6,7</sup>

Gıda katkı maddelerinin son yıllarda geniş bir şekilde kullanılması ile de, toplumlarda kanser insidansının arttığı, nedeni bilinmeyen hastalıklar ve ölümlerle ilgili olduğu da düşünölmektedir.<sup>8</sup>

Türk Gıda Kodeksi 2002/55 numaralı, Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliğinin EK-2 bölümüne göre reçel, meyve suları ve meyveli yoğurtlara sentetik gıda boyası katılması yasaktır.

Alkolsüz aromalı içeceklerde, Türk Gıda Kodeksi 2002/55 numaralı tebliği EK-5, ikinci bölümünde yer alan renklendiriciler, belirtilen maksimum seviyelere kadar tek veya birlikte kullanılabilir. Alkolsüz aromalı içeceklerde, ilgili çizelgede

belirtilen limite kadar (100 mg/l) kullanılabilir. Fakat E110 (Sunset Yellow FCF), E122 (Azorubin), E124 (Ponceau 4R) ve E155 (Brown HT) kodlu renklendiricilerin hiçbirisinin miktarı 50 mg/l'yi geçemez.

Süsleme ve kaplama materyali olarak gruplandırılan elma şekerlerinde de 2002/55 nolu tebliğin ikinci bölümünde belirtilen boyalar kullanılabilir. Tek veya birlikte kullanılmasına izin verilen maksimum limiti 500 mg/kg'dır.<sup>9</sup>

Bu çalışma, sentetik gıda boyası katılması yasak olan reçel, meyve suları ve meyveli yoğurtlara bu tür boyaların katılıp katılmadığının araştırılması ve alkolsüz aromalı içecekler ile elma şekerlerine katılmasına izin verilen sentetik gıda boyalarının miktarlarının Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olup olmadığının belirlenerek halk sağlığını tehdit edecek düzeylerde olup olmadığının araştırılması amacıyla yapılmıştır.

## II. GENEL BİLGİLER

Gıda boyaları, gıda katkı maddeleri içerisinde önemli bir grubu oluşturmakta ve gıdaların cazibesinin artışında önemli bir rol oynamaktadır.<sup>8, 10</sup>

Boya maddeleri gıdalara şu amaçlarla katılmaktadır.

- a. İşlem ve depolama sırasında gıda maddesinin kaybolan doğal rengini yeniden vermek için,
- b. Zayıf olan doğal rengi kuvvetlendirmek için,
- c. Gerçekte renksiz olan gıdalara renk vermek için,
- d. Düşük kalitelerini gizlememek koşuluyla cazip ve kabul edilebilen ürünler elde etmek için.<sup>8, 11, 12</sup>

Hammaddeden son ürün elde edilinceye kadar değişik aşamalarda kullanılabilen renk maddelerinin tüketici açısından kabul edilebilirliğinde, toplumların sosyal, coğrafi, etnik ve tarihi geçmişlerinin büyük etkisi olmuştur. Örneğin, ileri teknolojik düzeye erişmiş Amerika ve Avrupa ülkelerindeki tüketici, akşam yemeğinde mavi renkli çorba, sarı et, kırmızı patates ve benzeri değişik renkleri ile zevke hitap eden tüketim istekleri içindedir. Ancak bu uygulamalar çoğu kez bazı sağlık sorunlarını da beraberinde getirmektedir.<sup>13, 14</sup> Bu nedenle, gıda boyalarının potansiyel toksik etkileri sebebiyle kullanımlarına sınırlandırmalar getirilmiştir.<sup>15</sup>

Bazı bileşenler gıda boyası olmamasına rağmen beyaz renk oluşturmak için kullanılmaktadır. Benzol peroksit, klorin dioksit, nitrosil klorit ve klorin gibi oksidasyon ajanları üretim sonrasında hafif sarı renkte olan unların beyazlaştırılmasında kullanılarak gıda boyası gibi görev almaktadır.<sup>16</sup>

## **II.1. Gıda Boyalarının Tarihçesi**

Gıdaların boyanması tarih öncesi zamanlara kadar uzanmaktadır. Bu dönemde sadece bitki ve hayvanlardan elde edilen doğal boya maddeleri kullanılmıştır. İlk olarak M.Ö. 5000 yıllarında Mısır'da saç ve deri, M.Ö. 1500 yıllarında ise Hindistan ve Çin'de deriler baharat ve sebze özleri ile boyanmıştır. 18. yy.da tereyağı safranla boyanmış, 19.yy.da bazı boyaların kullanılması ticaret hayatına girmiştir.

İlk sentetik boya Sir William Henry Perkins tarafından siyah anilinden 1856 yılında elde edilmiştir. 1857'de yiyeceklere katılan karışımlarla ilgili araştırmalarda tathıların kurşun kromat, civa sülfat, kurşun oksit, bakır arsenitle, şekerlemelerin ise elbise boya ile boyandığı bulunmuştur. Gıdaların tehlikeli mineral özleri ile boyanması sonucundaki olumsuz izlenimlerden sonra gıda boyalarının kömür katranından elde edilmesi durdurulmuştur.

A.B.D. Tarım Dairesi boyaların gıdalarda kullanımını araştırmış ve bununla ilgili ilk yönetmelik ilkelerini 1900'lerin başında oluşturmuştur. Gıda maddeleriyle ilgili ilk yönetmelik 1906'da çıkarılan "Federal Gıda ve İlaç

Kanunu"dur (Federal Food and Drugs Act). Bu kanunun oluşturulmasından sonra A.B.D. Tarım Dairesi bu renklendiricilerin sadece bileşim ve saflığı bilinen 7 tanesinin dışındaki tüm boyaların kullanımını yasaklamıştır. İzin verilen bu boyalar Orange I, Eritrosin, Ponceau 3R, Amaranth, Naphtol Yellow, Light Green ve Indigotin'dir. 1907 yılında kullanımına izin verilen boyalar için sertifika düzenlenmiştir. 1938 yılında 1906'daki yasanın yerini "Gıda Maddeleri İlaç ve Kozmetik Yasası" almış ve sertifika verilmiş olan boya maddelerinin çeşidi artırılmıştır. Ayrıca bu kanun her gıda boyası grubundan bir örneğin tahlile verilmesini gerektiren zorunlu belgelemeyi getirmiştir. Genel isimlerle daha önce bilinen sentetik boyaların hangilerinin gıdada, ilaç ve kozmetiklerde kullanılacağı belirlenmesi için spesifik isimler verilmiştir. FD&C Gıda ve Kozmetiklerde, D&C İlaç ve Kozmetiklerde, harici D ile harici C ise ilaç ve kozmetiklerde uygun olarak belirtilmiştir.

1960 yılında FD&C kanununa değişiklik getirilmiş ve iki bölümden oluşan bu değişikliğe "Delaney Koşulu" denilmiştir. Birinci koşul; insan ve hayvanlarda kanser oluşumuna yol açan boyanın gıdaya katılmasını yasaklarken, ikinci koşul; mevcut boyaların emniyetinin belirlenmesine kadar geçici liste altında kullanılmasına izin vermektedir.

1963-1970 yılları arasında FAO (Food Agriculture Organization) (Gıda Tarım Örgütü) ve WHO (World Health Organisation) (Dünya Sağlık Teşkilatı) bünyesinde JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) (Gıda Katkıları

Ortak Ekspertler Komitesi) adı verilen bir komite oluşturulmuştur. Bu komite dünyada her çeşit katkı maddeleri üzerinde yürütülen çalışmalarını 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 değişiklikleri yapmaktadır.<sup>8, 11, 17, 18</sup>

## **II.2. Gıda Boyalarının Numaralandırılması**

Her gıda katkı maddesinin uluslararası kabul görmüş bir numarası vardır. Bu numaralandırma INS (International Numbering System) ve E kodu'dur. Örneğin 621: Monosodyum glutamat (MSG), 102 : Tartrazin... gibi. Avrupa Birliği'nde kullanımına izin verilen katkı maddelerine "European" kelimesinin baş harfi olan E kodu verilmiştir. E621: MSG, E102 : Tartrazin gibi. Aroma maddelerine E kodu ve numara verilmemiştir. Çünkü bu grup çok geniştir. Bu kodlar Avrupa Birliği'nin bir alt komitesi olan "Scientific Committee on Food" tarafından belirlenmektedir.<sup>1</sup> Yaklaşık olarak 340 gıda katkı maddesi varken, aroma maddelerinin sayısı 1700 civarındadır. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre, besin etiketinde içindikiler kısmında besine katılmış olan katkı maddesinin fonksiyonu ile birlikte adı veya E kodunun yazılması zorunludur.<sup>19</sup>

E kodlama sistemine göre gıda boyalarının uluslararası numaralandırılması E100 – E180 aralığında belirlenmiştir.<sup>20</sup>

## **II.3. Gıda Boyalarının Gruplandırılması**

### **II.3.1. Sertifikalı ve Sertifikasız Gıda Boyaları**

Sertifikalı ve sertifikasız renk maddeleri adı altında iki ana grupta toplanan renk katkılarının yasal tanımı ve sınıflandırması yapılmıştır. Ayrıca, sertifikalı renk maddelerinin gıdalarda kullanılma miktarlarına göre zararlı ve zararsız olduğu limitler saptanarak gıda endüstrisinde kullanılan renk katkılarına ikinci bir kısıtlama getirilmiştir. Bu çalışmaların sonunda tüketiciler için kullanılmasında sakınca görülmeyen renk katkıları bir liste haline getirilmiştir. Bu konuda yapılan bütün çalışmalarda hareket noktası, renk katkılarının "sıfır toksisite etkisinde" olmaları, yani ne miktarda kullanılırsa kullanılsın hiçbir şekilde toksik etki yaratmayacak nitelikte olmalarıdır. Böylece, 12 Haziran 1960'da yasa haline getirilen renk katkıları listesi, iki bölümden oluşmuştur. Birinci bölüm, her türlü araştırması tamamlanmış, sakıncası görülmemiş ve kullanımına izin verilmiş renk katkılarını içermektedir. İkinci bölümde ise geçici bir liste yer almakta, bu geçici listeye girmiş olan renk katkılarının kullanımı ile ilgili çalışmalar sürdürülmektedir. Ancak şurası bilinmelidir ki herhangi bir renk katkısı, kesin listede yer almasına rağmen bununla ilgili bir sorun ortaya çıktığında derhal ikinci listeye alınarak yeniden araştırmaya kaynak olabilmektedir. Renk katkıları ait oldukları madde grubu içinde sınıflandırıldığı zaman aşağıda görüldüğü şekilde gruplara ayrılmaktadır.



**A. Sertifikalı renk maddeleri (Certified Color Additives)**

**i. Boyalar (Dyes)**

**ii. Lake boyalar (Lakes)**

**B. Sertifikasız renk maddeleri (Uncertified Color Additives)<sup>14</sup>**

**II.3.1.1. Sertifikalı Boya Maddeleri (Certified Color Additives)**

Sertifikalı renk katkılarının hepsi yapay kaynaklı boyalardır. 1959 yılından önce bu grupta yalnızca boyalar yer alırken, daha sonra boyaların lake türünde olanları da bu gruba dahil edilmiştir. Lake boyalar diğer bir deyişle pigmentlerdir. Bilindiği gibi boyalar, renk verme güçlerini çözüldükten sonra, lake boyalar ise çözünmeyen pigmentler olarak dispersiyon yolu ile ortaya koymaktadırlar.

Sertifikalı renk katkıları kullanıldıkları gıdalarda stabil özellik göstermekte, ürüne konuldukları miktarlarda zamana bağlı bir azalma görülmemektedir. Bu konuda yapılan araştırmalara göre 15 yıl süre ile depolanan gıdalara konulan sertifikalı renk katkılarında miktar azalması ve bir değişim saptanmamıştır.<sup>14</sup>

**II.3.1.2. Sertifikasız Boya Maddeleri (Uncertified Color Additives)**

Bu grupta yer alan renk katkılarının hepsi doğal boya maddeleridir. Bu maddeler, 1960 yılında A.B.D. Gıda - İlaç ve Kozmetik Yasası'nda yapılan değişiklik ile sertifikalı boya maddeleri listesinden çıkarılarak, öncelikli ve

sürekli kullanılma olasılığı olan maddeler listesine aktarılmıştır. Boya maddeleri ile ilgili olarak hazırlanmış bir başka liste daha bulunmaktadır ki bu da geçici boya maddelerinin yer aldığı listedir.<sup>14</sup>

### **II.3.2. Ürüne Sağladıkları Renkler Açısından Gıda Boyaları**

Ürüne sağladıkları renkler açısından gıda boyaları şu şekilde gruplandırılabilirler.

- a. Kırmızı Boyalar** : Amarant, Eritrosin, Ponceau 4R, Allura Red, Kantaksantin, Karmoisin
- b. Turuncu Boyalar** :  $\beta$ -Karoten,  $\beta$ -apo-8-karotenol, Annatto, Paprika, Sunset Yellow F.C.F
- c. Sarı Boyalar** : Riboflavin, Curcumin, Tartarazin, Safran, Lutein, Turmerik
- d. Yeşil Boyalar** : Klorofil (bakır kompleksi ve sodyum-potasyum tuzları), Patent green, Brilliant green.
- e. Mavi Boyalar** : Brilliant blue, Indigo Karmen, Patent blue
- f. Menekşe Rengi Boyalar** : Antosiyaninler
- g. Kahverengi Boyalar** : Karamel, Brown FK, Brown HT
- h. Siyah Boyalar** : Brilliant black, bitkisel karbon
- i. Beyaz Boyalar** : Titandioksit, talk, kalsiyum karbonat<sup>12</sup>

### II.3.3. Elde Edildikleri Kaynağa Göre Gıda Boyaları

#### II.3.3.1. Doğal Gıda Boyaları

Doğal boya maddeleri, bitkisel ve hayvansal organizma veya mikroorganizmalar tarafından sentez edilerek bunlarda doğal halde bulunurlar. Bir kısmı da minerallerin doğal yapısında mevcuttur.<sup>12</sup>

Doğal olarak oluşan başlıca pigmentler antosiyaninler, karotenoidler, klorofiller olarak üç grup altında incelenmektedir. Ayrıca, betalainler, antrokinonlar, naftokinonlar, iridoitler, fikosiyaninler, hayvansal pigmentler, karamelizasyon ve maillard reaksiyonları sonucu oluşanlar şeklinde sıralanmaktadır.<sup>21, 22</sup>

**Tablo 1.** Doğal Boyaların Gıdalara Sağladıkları Renkler <sup>8</sup>

Verdiği Renk	Gıda Boyası Adı
Kırmızı ve Menekşe	: Antosiyaninler, Betalain, Cochineal, Kantaksantin
Sarı ve Turuncu	: Beta-Karoten, Beta-apo-8-Karotenal, Annatto, Safran, Turmerik, Paprika, Riboflavin
Yeşil	: Klorofil
Kahverengi	: Karamel, Kakao tanesi ekstraktı
Mavi	: Blueberriesten elde edilen pigment

Doğal gıda boyaları genelde zor çözünürler. Isı, ışık pH'ya oldukça duyarlı ve sentetik boyalara göre daha az renk verme gücüne sahiptirler. Üretim

masrafları nedeni ile daha pahalıdırlar. Doğal boyaların birçoğu, işleme sırasında sentetik boyalar gibi aynı kalıcılığa sahip değildirler. Işığa maruz kaldıklarında kolaylıkla solmakta ve yüksek ısı ile asitliğe karşı düşük direnç göstermektedirler. Örneğin Annatto düşük pH'da portakal sarı renginden pembeye, Klorofil ise yeşilden kahverengine dönüşmektedir.<sup>23</sup> Buna karşılık yapayların sonuç vermediği durumlarda doğal renk maddeleri iş görmektedir (Çedar peynirine annatto katılması gibi). En önemlisi de daha sağlıklı olmaları ve tüketici psikolojisine uymalarıdır.<sup>8, 12, 22</sup>

**Tablo 2.** Doğal Gıda Boyaları ve Elde Edildikleri Kaynaklar<sup>8,22</sup>

<b>Boya</b>	<b>Elde Edildiği Kaynaklar</b>
Antosiyanin	Üzüm kabuğu, mürver
Betalain	Kırmızı pancar, pazı, kaktüs meyvesi
Karamel	Şeker (değiştirilmiş)
Annatto (bixin)	Bixa Orellana çekirdeği
Kantaksantin	Mantar, balık, deniz yosunu
Beta-apo-karotenol	Portakal, yeşil sebzeler
Klorofil	Yeşil sebze
Riboflavin	Süt, tereyağı, peynir
Karmin	Coccus cacti böceği
Turmerik (zerdeçal)	Curcuma longa
Krosetin, Krokin	Safran

Gıda boyaları üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır. Bu konuda 1990-1995 yılları arasında alınmış patent sayısı 1969-1976 yılları arasında edinilenden fazladır. Doğal boyalar ile ilgili patentler ise yapay boyalara ait patent sayısının 5 katı kadardır. Yalnızca klorofile ilişkin 16 adet patent bulunmaktadır.<sup>23</sup>

#### **II.3.3.1.1. Doğal Gıda Boyalarının Özellikleri ve Kullanım Alanları**

Flavonoitler doğada en yaygın pigmentleri içeren, kırmızı, mavi veya menekşe renkler verebilen, suda çözünür, antosiyanidin glikozitleridir. Çeşitli bitkisel materyalin yaprak, çiçek veya meyvelerinde bulunurlar. Renk pH'ya bağlıdır; asit ortamda kırmızı, nötr ve alkali ortamda mor-menekşe renk ortaya çıkar. Avrupa Birliği (AB) ülkelerinde gıda renk katkısı olarak kabul edilmiş olan antosiyaninler, en çok alkolsüz içecek, reçel, dondurma, yoğurt, hazır çorba ve krem peynir gibi gıdalarda kullanılır. Doğal olarak 247 antosiyanin belirlenmiştir.<sup>8,21,22</sup> Antosiyaninler genotoksik değildir. Üzümlerin ve antosiyanin kaynağı olan diğer bitkilerin dünyada çok sıkça yetiştirilen besin maddeleri olduğu ve yıllardır insanlar tarafından tüketildiği düşünülürse, antosiyanin içeren renklendiricilerin toksik etkileri olmadığı görülmektedir.<sup>24</sup>

Karotenoitler sarı, turuncu veya kırmızı renkli olabilen domates, kırmızıbiber, safran, sarı mısır, kayısı, turunçgiller, şeftali, havuç, kadife çiçeği gibi bitkisel, yumurta, som balığı, ıstakoz, tereyağı gibi hayvansal ürünlerde bulunan bileşiklerdir. 200'den fazla karotenoit bilinmesine rağmen, çok azı

renk katkısı olarak elde edilmiş veya sentezlenmiştir:  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -apo-8'-karotenol, kantaksantin, biksin, ksantofiller.<sup>21</sup> Bitki hücrelerindeki doğal ortamda oldukça kararlı olmalarına rağmen izole edildiklerinde önemli oranda bozulmaya uğramaktadırlar. Bazı gıdalara özgü karotenoidler Tablo3'te verilmiştir.<sup>25</sup> Yüksek kaliteli pigmentler margarin, tereyağı, salata sosları, yumurtalı ürünler, unlu mamüller, makarna, peynir, dondurma, yoğurt, balık ürünleri ve meyve jöleleri gibi çok geniş yelpazedeki gıda ürünlerinde kullanım olanaklarına sahiptir.<sup>26</sup>

Klorofiller doğada en yaygın renk maddeleridir. Asit ve ışığa duyarlıdırlar. Yeşil bitkiler klorofil a ve b, diatomeler (tek hücreli deniz algleri) ve kahverengi algler klorofil a ve c, kırmızı algler ise klorofil a ve d içerirler. Peynir çeşitleri, dondurma, alkolsüz içecekler, diş macunu, şekerlemeler, çikolata ve bisküvi dolgularında adı geçen üç ürün renk katkısı olarak kullanılmaktadır.<sup>21</sup>

Betalainler ısı, ışık ve pH'ya duyarlıdırlar. pH 4.0-5.0'de en stabil durumdadırlar ve pancar tadına sahiptirler. Yoğurt, dondurma ve şuruplarda kullanılırlar.<sup>8,22</sup>

Karamel, çeşitli gıda karbonhidratlarının kontrollü olarak ısıtılması ile oluşan koyu kahverengi sıvı veya katıdır. Karamel çoğunlukla bira ve kola gibi alkolsüz içkilerde rengin standardize edilmesi için kullanılmaktadır.<sup>8,22,27</sup>

**Tablo 3.** Bazı Gıdalara Özgün Karotenoitler <sup>25</sup>

<b>Kaynak</b>	<b>Karotenoit</b>
Domates	Likopen
Kırmızıbiber	Kapsantin, Kapsorubin
Havuç	$\beta$ -karoten
Yapraklı Sebzeler	$\beta$ -karoten, lutein, violaksantin, neoksantin
Portakal Suyu	Kriptoksantin, lutein, antoksantin, violaksantin
Som Balığı	Astaksantin
Safran	Krosetin, Krosin
Kahverengi Yosunlar	Fukoksantin

Paprika; portakal sarısı ile parlak kırmızı renkler arasında renk elde etmek için gıdalarda büyük ölçüde kullanılmaktadır. İyi renk verir ama belirli uygulamalarda istenmeyen güçlü bir tada sahiptir.

Karminik asit renk katkısı olarak oldukça pahalı bir madde olduğundan gıda sanayinde kullanılması ekonomik değildir. Gıda sanayinde pembe renkli draje kaplamalarda kullanılır.

Turmerik kurkuma, longa bitkisinden elde edilen sarı ile yeşilimsi sarı arasında bir renklendiricidir. Margarin, dondurma, peynir, turşu, kek, pasta, şeker, çorba, mutfaklık yağ, salata sosu, hardal, baharatın renklendirilmesi için diğer renklendiricilerle kombinasyonlu olarak kullanılabilirler.

Krosetin, kiremit kırmızısı iken krokin sarı-portakal sarısıdır. Krosetin safranın ana rengi olup, oksidasyon, ışık ve pH'ya karşı stabil olup, yüksek boyama gücüne sahiptir.

Annatto'nun sulandırılmış ekstraktı dondurma sanayinde, tereyağı, margarin, mısıryağı ve salatalarda kullanılır. Beta-karotene göre daha ekonomiktir.<sup>8,22</sup>

#### **II.3.3.1.2. Başlıca Doğal Renk Kaynakları**

Kırmızı algler (Rhodophyta); kırmızı pigment olan fikoeritrin, mavi-yeşil algler (Cyanophyta) mavi pigment olan fikosiyanin (linablue A) içerir.

Annatto; tropik bölgelerde yetişen annatto (*Bixa orellana*) çalısının meyve kabuklarından, alkalın sabit yağ veya çözücü ekstraksiyonuyla turuncu renkli boyar madde elde edilir.

Aspir; bir yağ bitkisi olan *Carthamus tinctoria*'nın kurutulmuş çiçekçikleri, sarı (kartamon) ve kırmızı (kartamin) pigmentler içerir.

Bataklık Kızılcığı; *Oxycoccus macrocarpus*'un meyveleri, peonidinden (antosiyanidin) ve karotenoitlerden dolayı yüksek renk değerine sahiptir.



Çiçekler; ticari gıda rengi için potansiyel kaynak olarak en önemlileri kadife çiçeği, haşhaş, gülhatmi, gündüzsefası ve Butea frondosa çiçekleridir.

Gardenya; uzakdoğu'da yetişen süs ağacı (Gardenia jasminoides), son yıllarda en önemli doğal renk kaynağı olarak ele alınmaktadır. İşlem şartlarına göre sarı, kırmızı, yeşil veya mavi olabilmektedir. Kullanıldıkları bazı gıdalar: likör, tatlı, şekerleme, buz, taklit yengeç, şehriye, haşlanmış fasulye vb.

Havacıva; Türkiye'de de doğal olarak yetişen otsu bitki *Alkanna tinctoria*, köklerinde kırmızı pigment alkanin içerir. Koyu mavidir, demirle menekşe renk verir. Birçok ülkede şarap, yağ, peynir gibi gıdalarda kullanımına izin verilmiştir.

Kırmızı; Coccoidea ve Aphidoidea familyalarında birçok böcek cinsi ve türü dünyanın en iyi doğal kırmızı pigmentlerini taşırlar. Yoğurt, dondurma, süt içecekleri, şekerlemeler, fırın ürünleri ve reçellerde kullanılır. Türkiye'de bu tip böceklerden renk maddesi elde edilmemektedir.

Kırmızı Biber; baharat bitkisi olan *Capsicum annum* ile diğer tür ve varyetelerin meyveleri, renk bileşiği olarak sarı, turuncu ve kırmızı birçok karotenoit içerir. Fırın ürünleri, salata sosu, çorba, tavuk, hazır çeşni ürünlerinde kullanılır.

Kırmızı pancar (Beta vulgaris); toz veya sıvı olarak kullanılan renk hammaddesidir. Yoğurt, dondurma, şekerleme, puding, tatlılara katılır.

Monaskus; uzakdoğu'da pirinç üzerinde üretilen Monascus anka veya M. purpureus küfleri, kırmızının çeşitli tonlarını veren başlıca dört pigment içerir: monoaskin, ankaflavin, rubropunktatin, monaskorubin.<sup>21</sup>

### **II.3.3.2. Yarı Sentetik Gıda Boyaları**

Bunlar, doğal kaynaklardan elde edilen maddelere uygulanan çeşitli proseslerle üretilirler. Örneğin klorofilin bakır kompleksi veya sodyum-potasyum tuzları ile, şekerin yaklaşık 150°C'de NaOH, NH<sub>4</sub>OH gibi katalistlerle yakılmasından elde edilen karamel bu tanıma girmektedirler. Bunlardan karamelin Türkiye'de endüstriyel ölçekte üretildiği, ancak diğerlerinin dış-alım yoluyla sağlandığı bilinmektedir.<sup>12</sup>

Yarı sentetik olan kantaksantin en son onaylanmış ve özellikle FD&C Red No.2'nin kullanımının yasaklanmasından beri önem kazanmıştır Çok yüksek dozlarda uzun süre alınan kantaksantin'in göz retinasında değişiklik yaparak, görme bozukluklarına yol açtığı belirtilmiştir.<sup>22</sup>

### **II.3.3.3. Sentetik Gıda Boyaları**

Bunlara "kömür katranı boyalar-coaltar dyes" da denilmektedir. Çünkü hemen hepsinin sentezinde başlama maddesi kömür katranıdır. Büyük çoğunun

yapısında -(N = N)- grubu bulunduğundan bir kısmı azo boyalar olarak da tanınırlar. Bunlara örnek olarak tartrazin, amarant, ve ponceau 4R verilebilir. Tartrazin, fenilhidrazin parasülfonik asidin, dihidroksitartarik asit ile kondensasyonundan üretilmektedir. Sentetik boyaların tümü Türkiye'ye ithal yolu ile girmektedir.<sup>12</sup>

Sentetik gıda boyaları iki grupta incelenir ve hepsi sertifikalıdır. Sentetik boyaların stabilitesini pH, asit, tuz, ışık, ısı ve koruyucular gibi faktörler etkilemektedir.

- a. Gıda İlaç ve Kozmetik Boyalar (FD ve C Boyalar)
- b. Gıda İlaç ve Kozmetik Lake Boyalar (FD ve C Lake Boyalar)<sup>8, 22</sup>

#### **II.3.3.3.1. FD ve C Boyalar**

Bu boyalar 4 grupta incelenmektedir.

**Azo Boyalar** : Ultraviyole ışınları bu bileşiklerin oksidasyonuna sebep olabilir ve renk verme durumunu sağlayabilir. Azo boyaları en büyük gruptur. Nitrojen-nitrojen bağı içerdiğinden metalik iyon veya sülfür dioksit ile kolay indirgenirler. Bunlardan asidik hidroksil grubu içerenlere asidik azo boya maddeleri, amin veya dialkil amin grubu içerenlere ise bazik azo boya maddeleri denilmektedir. Amino azo benzen (anilin sarısı) ilk keşfedilen bazik, alfa ve beta naftol oranj ise asidik azo boya maddeleridir.

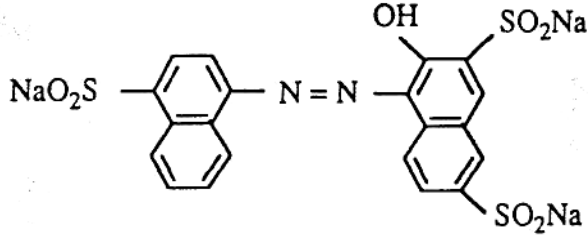
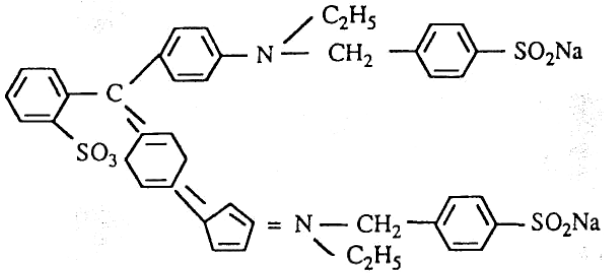
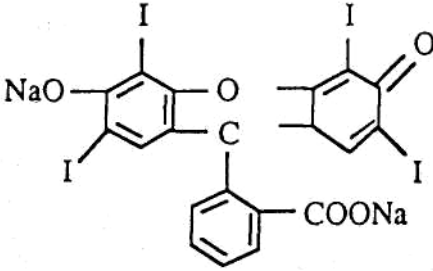
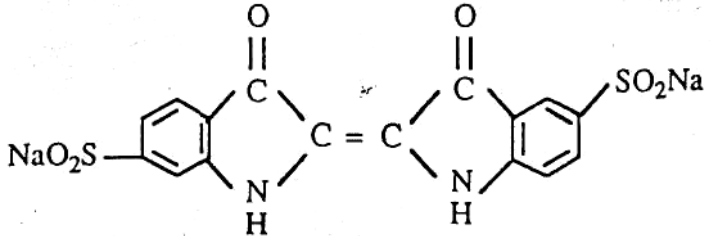
**Trifenilmetan Boyalar :** Sülfonik asit içerdikleri için suda iyi çözünürler. Trifenil metan karbon atomuna bağlanmış iki benzen halkası ve bir p-kinoit grubunun bağlanmasıyla meydana gelmiştir.

**İndigoid Boyalar :** Bazı bitkilerde glikozit olarak bulunmaktadır. Işık, yıkama, baz ve asitlere karşı dayanıklıdır. Bu boya mavi renkli boyar maddelerin en önemli grubunu oluşturur.

**Fluoressein Boyalar :** Bu grup boyar maddeler kırmızı-kahverengi arasında değişen renkler oluştururlar. Fitalik asit ile resorsin'in ısıtılması sonunda elde edilmektedir.<sup>8,22</sup>

FD&C boyalar suda çözündükleri halde organik çözücülerde zor çözünürler. Suda çözünürlükleri çok yüksek olduğu için gıda sanayinde kullanımları çok kolaydır ve kullanımında da sorun çıkarmamaktadır. Bu boyalardan sadece FD&C Blue No.2 (indigotin) ayrıcalıklı bir boyadır. Trifenilmetan, indigo ve fluoressein boyalar kimyasal reaksiyonlara daha dirençlidir. FD&C Blue No.2 ve FD&C Red No.3 ultraviyole ışık ile kolayca okside edilir ve rengi çabuk kaybolur. FD&C boyalarının minimum % 85 saf boya içermesi gerekir, genellikle % 90-93 saf boya içerirler.<sup>8</sup>

**Tablo 4.** Sertifikalı FDC Boya Maddelerinin Sınıflandırılması ve Genel Yapıları <sup>8,22</sup>

<u>Azo Boyaları</u>	<u>Genel Yapısı</u>
FD ve C Kırmızı No. 2	FD ve C Kırmızı No. 2
FD ve C Sarı No. 5	
FD ve C Sarı No. 6	
FD ve C Kırmızı No. 4	
FD ve C Kırmızı No. 40	
Orange B	
	
<u>Trifenilmetan Boyalar</u>	<u>Genel Yapıları</u>
FD ve C Mavi No. 1	FD ve C Mavi No. 1
FD ve C Yeşil No. 3	
FD ve C Viole No. 1	
	
<u>Floressein tipi Boyalar</u>	<u>Genel Yapısı</u>
FD ve C Kırmızı No. 3	
	
<u>Sülfanlanmış İndigo Boyalar</u>	<u>Genel Yapısı</u>
FD ve C Mavi No.2	
	

Bu boyalar toz, taneli, sürülebilir, macunsu, kuru-yaş, likit gibi değişik şekillerde bulunurlar. Bu nedenle boya maddesinin bulunduğu durum kullanılma hacim ve miktarını etkiler. Bu özellik nedeniyle kullanılan boyanın şekli dikkat edilmesi gereken önemli bir noktadır. FD&C boyalarının kullanımları sırasında görülen avantaj ve dezavantajları vardır. Bu özellikler Tablo 5'te gösterilmiştir.<sup>8</sup>

#### **II.3.3.3.2. FD&C Lake Boyalar**

Bu boyalar 1959 yılında sertifikalı gıda boyaları olarak kabul edilmiştir. FD&C Lakeler FD&C boyalarına karşılık gelen alüminyum tuzlarıdır. Alüminyum hidratın hazırlama yöntemi ve boyanın emilişi, boyama gücünü, tonunu, partikül büyüklüğünü ve dağılımını belirler. Lakeler % 1-45 saf boya içeriği ile hazırlanabilir. Ancak bu oran genellikle % 10-40'tır. Lakelerin boyama güçleri boya içeriği ile orantılı değildir. Boyalardan daha iyi ışık, kimyasal yapı ile termal stabiliteye sahiptir ve boyalardan daha pahalıdır. Daha çok yağlı ve FD&C boyaları için uygun olmayan düşük nemli ürünler için uygundur. Şeffaflık açısından da boyalardan daha üstündür. FD&C No.40 lakesi hariç bütün lakeler FDA (Food-Drug Administration, Gıda İlaç Teşkilatı) tarafından geçici olarak belirlenmiştir Sertifikalı boyalar ile lake boyalar arasındaki farklılıklar Tablo 6'da gösterilmiştir.<sup>8,22</sup>

**Tablo 5.** Çeşitli Şekillerdeki Sertifikalı Boya Maddelerinin Kullanımındaki Avantaj ve Dezavantajlar <sup>8</sup>

<b>Boyanın Şekli</b>	<b>Saf Boya (%)</b>	<b>Avantajlar</b>	<b>Dezavantajlar</b>
Toz Boyalar (Powder)	88-93	Kolay çözünür ve kuru karışımlar için uygundur.	Tozlu
Taneli boyalar (Granular)	88-93	Tozsuz ve akışkan değildir.	Daha yavaş çözünür.
Kuru-yaş karışım boyalar (Wet dry blends)	90	Nemli olduğu zaman kuru karışımda yayılmaz.	-
Sulandırılmış likid boyalar (aqueous liquid)	1-6	Kullanıma hazır, doğru ölçümü yapılır ve kolaylık sağlar.	Kuru boyadan pahalıdır.
Kırıklı karışım boyalar (Cut blends)	22-85	Az miktarda kullanılmış olsa bile hassas olarak doğru ölçümü ile tartımı yapılır.	Çok pahalıdır.
Sulandırılmış boyalar (Nonaqueous liquid)	1-8	Yağlı materyallerde kullanılabilir.	Çok pahalıdır.
Macun boyalar (Paste)	4-10	Su içeriği sınırlandırılmış ürünlerde kullanılabilir.	Pahalıdır.
Sürülebilir boyalar (Plating)	88-93	Kuru karışımlarda iyi sonuç verir.	Esas boyamalar için uygun değildir.

**Tablo 6.** Sertifikalı Boyalar ve Lake Boyalar Arasındaki Fiziksel Farklılıklar <sup>8,22</sup>

Özellikler	Lake Boyalar	Boyalar
Çözünürlük	Tüm çözücülerde çözünmez	Suda, propilen glikol ve gliserinde çözünür
Renk verme yöntemi	Dispersiyon ile	Çözünerek
Saf boya içeriği	Genellikle %10-40	%90-93
Kullanılma oranı	% 0.1-0.3	%0.01-0.03
Partikül büyüklüğü	Ortalama 5µm	12-200 mesh (aralık)
Işığa dayanıklılık	Daha iyi	İyi
Isıya dayanıklılık	Daha iyi	İyi
Renk verme gücü	Saf boya içeriği ile orantılı değil	Direkt saf boya içeriği ile orantılı
Renk tonu	Saf boya içeriğine göre değişken	Sabit

#### **II.3.3.3.3. Sentetik Gıda Boyalarının Metabolizması**

Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, boyaların sindirim sistemi, karaciğer ve kanda metabolik değişikliğe uğradığı gözlenmiştir. Bağırsağa alınan boya maddeleri, sindirim sistemi enzimleri ve bağırsak florasının etkisi altında kalırlar. Suda çözünen boyaların azo bağlarının redüktiv bölünmesi ile aminler ortaya çıkmakta, absorbe edilmekte, metabolize olmakta ve aynı şekilde atılmaktadır. Bu yolla ortaya çıkan diğer bir grup sulfonilik asittir. Absorbe edilir ve idrarda serbest asit N-asetil türevleri halinde atılır. Örneğin; tartrazin ağız yoluyla alındığında sulfonilik asit açığa çıkar, fakat serbest halde boya, idrar ve



feçesle atılmaz. Araştırcıların yaptığı çalışmalara göre, bazı suda çözünür azo boyalarının büyük bir kısmı safra ile atılmaktadır.

Yağda çözünen azo boyalan bağırsakta parçalanmazlar, fakat karaciğer azo redüktaz enzimleri ile primer amin haline dönüşür ve absorbe olurlar. Bazı asetillenmiş aminler ve hidroksi aminlerin kanda methemoglobinemi'yi artırdığı bilinmektedir. Ponceau 3R'nin methemoglobinemi yaptığı açıklanmıştır.

Bir grup çalışmalar sonunda sulfonlanmış naftelen azo boyalarının etkilerinin onların indirgenme ürünlerinden (bağırsakta bakteriyel flora yardımı) meydana geldiği ileri sürülmüştür. Bu boyaların sadece küçük bir oranı emilmektedir.

Azo boyası, bir memeliye ağızdan verildiğinde boya metabolizmasındaki ilk aşama bağırsaktaki bakterilerle oluşan azo indirgemesidir. İncelemeler sonunda azo bileşiklerinin hepsinin memelilerin bağırsak sisteminde yeterince azaldığı bulunmuştur.<sup>8,22</sup>

### II.3.3.3.4. Türkiye'de Gıdalarda Kullanılan Sentetik Gıda Boyaları

#### II.3.3.3.4.1. Tartrazin

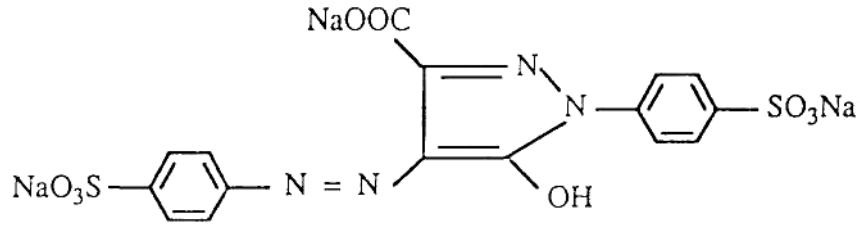
Diğer isimleri \_\_\_\_\_ : C.I. Food Yellow 4;

FD ve C Yellow No. 5

Sınıfı \_\_\_\_\_ : Monoazo

Kimyasal adı \_\_\_\_\_ : Trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulfonato-phenyl)-4-(4-sulfonatophenylazo)-H-pyrazole-3-carboxylate

Yapısal formülü \_\_\_\_\_ :



Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri : Suda çözünen en az miktarı % 85.0 iken suda çözünmeyen madde miktarı en çok % 0.2 dir. Kurutmadaki kayıp en fazla % 15 dir. Toz ve granül halinde portakal rengindedir. % 95'lik alkolde az çözünür. Glikolde ve gliserinde de çözünebilir. Tartrazin çözeltisine kalay klorür ilave edildiğinde rengi 2 dakika içinde kaybolur. Sodyum perborat ve as-korbik asit ilave edildiğinde renk değişmez.<sup>28</sup>

Biyolojik ve Toksikolojik Özellikleri : Tartrazin çeşitli klinik koşullarda incelenmiş, toksik veya patolojik bir etki ve tümör insidansında artış gözlenmemiştir. Yapılan çalışmalarda, bu boyanın kullanılması ile daha çok

astım, çocuklukta hiperaktivite ve ürtiker (deride kaşınma ve yanma), egzema (deri iltihabı), migren, damar ödemleri ortaya çıkmaktadır.

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, içme suyuna belli oranlarda tartrazin konularak verilmiştir. Çalışma sonunda şu sonuçlar ortaya çıkarılmıştır, gelişmeyen veya yeniden oluşmayan toksisite gözlenmiştir. Bu hayvanlarda, vücut ağırlığında azalma, timus ağırlığında ve kırmızı kan hücreleri ve hemoglobinde azalma gözlenmiştir.

Tartrazin ile ilgili olarak yapılan bir kronik toksisite ve karsinojenite çalışması, 104 hafta süresince dişi ve erkek fareler üzerinde yapılmıştır. Çeşitli doz gruplarında farelerin cilt ve saçlarının sarı renk aldığı gözlenmiş, yüksek doz alanlarda vücut ağırlıkları yükselmiştir. Bütün gruplarda hematolojik değerlendirmede önemli istatistiksel farklılıklar görülmemiştir.

Dişi ve erkek ratlara, 2 yıl süreyle içme suyuna çeşitli dozlarda tartrazin eklenerek verilmiştir. % 5 tartrazin katılarak yapılan çalışmada hiç bir fare grubunda ölüme rastlanmamıştır. % 5'den daha fazla doz verilmesi durumunda farelerin ağırlık artışı ile birlikte % 10'dan küçük oranlarda verildiğinde depresyon gözlenmiştir. Çalışmanın sonunda ratlar öldürüldükten sonra otopsi yapıldığında % 5 tartrazin verilen erkek ratların timüs bezlerinde, akciğer, kalp, karaciğer, dalak gibi organlarında önemli oranda ağırlık artışı olduğu bulunmuştur. % 2.5

tartrazin verilen dişi ratların karaciğerlerinde önemli oranda ağırlık kaybı görölmüştür.

Tartrazinin astımlı hastalar üzerinde etkileri olduğu konusunda son yıllarda önemle durulmaktadır. Aspirin intoleransından doğan astımlı hastalarda, tartrazine duyarlılık olduğu konusunda çok sayıda rapor vardır. FDA komitesi, tartrazin içeren yiyeceklerin ve ilaçların yüksek duyarlılığa neden olduğunu tartışmaktadır. 150 aspirin intoleransı olan hastayla yapılan double-blind (çift kör) testlerinde, 25 ve 50 mgr. tartrazin alan hastalarda tek taraflı değişiklik olduğu gözlenmiştir.<sup>8,22</sup>

#### **II.3.3.3.4.2. Sunset Yellow F.C.F.**

Diğer isimleri \_\_\_\_\_ : C.I. Food Yellow 3

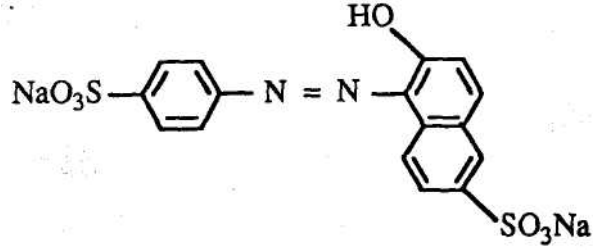
FD ve C Yellow No. 6

Crelboranges

Sınıfı \_\_\_\_\_ : Monoazo

Kimyasal adı \_\_\_\_\_ : Disodium 6-hydroxy-5-(4-sulfonato-phenylazo)-2-naphthalene-sulfonate

Yapısal Formülü :



Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri : Toz ve granül halinde ve kırmızı portakal rengindedir. Asitlerle reaksiyona girdiği zaman rengi değişmez. Kalay klorür ilave edildiği zaman Sunset Yellow F.C.F çözeltisinin rengi 2 dakika içinde açılır. Sodyum perborat eklendiğinde ise çözeltinin portakal rengi koyulaşır. Suda çözünen en az miktarı % 85'dir. Eser miktarda etanolde çözünür. Kurutmadaki kayıp en çok % 15'tir.<sup>28</sup>

Biyolojik ve Toksikolojik Özellikleri : Yapılan bir çalışmada, ratlara 0-20 mg/kg dozda Sunset Yellow F.C.F. içeren diet verilmiş, yüksek dozlarda boya verilenlerin 4'ünde meme tümörü oluştuğu gözlenmiştir.

Sıçanlara, 20-30 mg/kg dozlarda Sunset Yellow F.C.F içeren diet verilmiş ve diare, sekum (kör bağırsak) genişlemesi görülmüştür. Kan veya karaciğer ve böbrek fonksiyonlarına etkisi gözlenmemiştir.

30 dişi ve erkek sıçan gruplarına, 80 hafta süreyle 4-16 mg/kg Sunset Yellow F.C.F içeren diet verilmiştir. 60'ar kontrol grubu ile de karşılaştırılmıştır. Her iki grupta da genel "lyphoma"lar (lenf dokusunda gelişen tümör),

reticulocell neoplasm'lar (reticulum-cell tümörler) ve akciğer adenomları (akciğerde gelişen iyi huylu tümör) geliştiği gözlenmiştir. Kontrol gruplarında tümör, oluşmamıştır ama yüksek doz verilen sıçanlarda malignant (kötü huylu) tümör, yumurtalıklarda granulosa cell tümör (Graaf follikülündeki granülosa hücrelerinden gelişen tümör); düşük verilenlerde ise 1 mamimary carcinoma (göğüsde oluşan kötü huylu tümör) oluştuğu gözlenmiştir.<sup>8,22</sup>

#### II.3.3.3.4.3. Ponceau 4R

Diğer isimleri \_\_\_\_\_ : C.I. Food Red 7

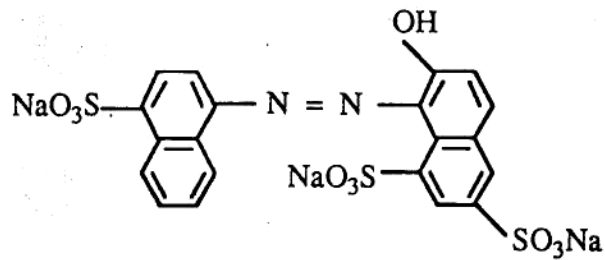
Cochineal Red A

New Coccine

Sınıfı \_\_\_\_\_ : Monoazo

Kimyasal adı \_\_\_\_\_ : Trisodium-2-hydroxy-1-(4-sulfonato-1-naphthylazo)  
naphthalene-6,8-disulfonate-

Yapısal formülü \_\_\_\_\_ :



Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri : Rengi kırmızı ve toz halindedir. Suda kolay çözünür, etanolde eser miktarda çözünür. Kurutmadaki kayıp % 20 dir.<sup>28</sup>

Biyolojik ve Toksikolojik Özellikleri : Yapılan çalışmalar sonucunda tekrar gözden geçirildikten sonra FAO/WHO uzmanlar komitesi tarafından Ponceau 4R için yeni ADI değeri saptanmıştır.

Ratlar üzerinde Ponceau 4R ile yapılan bir üreme çalışmasında, kontrol grubuna 60 rat, deneme grubuna her iki cinsiyetten 36 rat alınmıştır. 0, 50, 500, 1250 mg/kg/gün dozlarında Ponceau 4R verilmiştir. Çalışma sırasında ratların bir kısmı ölürken, ölümlerin büyük çoğunluğunun dişi ratlarda olduğu görülmüştür. Fetüs iskeletleri incelendiğinde hayvanların hepsinde erken kemikleşmeye doğru bir yönelim olduğu rapor edilmiştir. Ölümler sonucunda deneme grubundaki hayvanlarda kontrol grubundaki hayvanlardan daha sık olarak yaralar olduğu gözlenmiştir. Deneme gruplarında küçük benekli timüs, böbrek taşları, genişlemiş kör barsak, benekli karaciğer daha sık oluşan bulgular olarak saptanmıştır.

Fareler üzerinde uzun süreli Ponceau 4R ile toksisite çalışması yapılmıştır. Her iki cinsiyetten 66 deneme ve 114 kontrol grupları alınmıştır. 60 gün süresince 0, 50, 500, 1250 mg/kg Ponceau 4R verilmiştir. Çalışma sonunda her hayvana otopsi yapılmıştır. 500 ve 1250 mg/kg Ponceau 4R alan erkeklerin beyin ağırlıklarının kontrol gruplarındakinden daha fazla olduğu saptanmıştır. 500 mg/ kg Ponceau 4R alan erkeklerde böbrek taşlarının daha fazla oluştuğu

gözlenmiştir. 500 ve 1250 mg/kg Ponceau 4R alanlarda ise körbarsakta ağırlık artışı olmuştur.<sup>8,22</sup>

#### **II.3.3.3.4.4. İndigotin**

Diğer isimleri : C.I. Food Blue 1

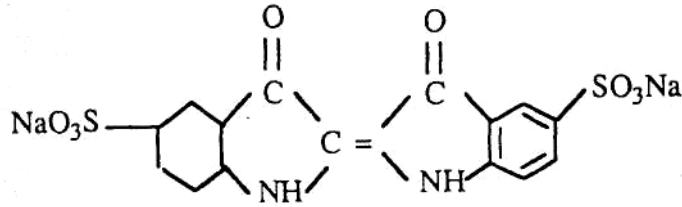
FD ve C Blue No. 2

Indigo Carmine

Sınıfı : Indigoid

Kimyasal adı : Dissodium 3,3'-dioxo-2,2'-bi-indolyli=dene-5-5'-disulfonate

Yapısal formülü :



Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri : Mavi renkli ve toz halindedir. Kurutmadaki kayıp maksimum % 15 tir. Suda çözünür, etanolde eser miktarda çözünür.<sup>28</sup>

Biyolojik ve Toksikolojik Özellikleri : Bu boya ile ilgili olarak yapılan deneylerde karaciğer hasarı, serumda albümin ve beta-globulin yükselmesi yaptığı anlaşılmıştır. 2 yıl süren rat ve köpekler üzerindeki çalışmalarda, deneklerde



90 gün boyunca yüksek seviyelerde verilen indigotin'in zararsız olduğu saptanmıştır.<sup>8,22</sup>

#### II.3.3.3.4.5. Azorubin

Diğer isimleri : Carmoisine

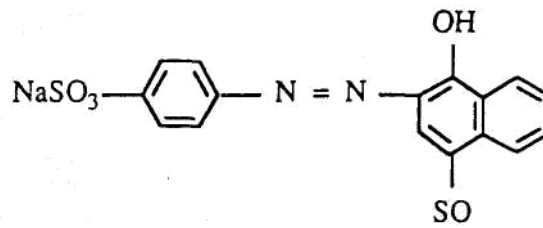
C.I. Acid Red 14

Food Red 3 C.I. No. 14720

Sınıfı : Monoazo

Kimyasal adı : 2-(4-sulfo-1-Naphthyazo)-1-Naphthol-4-Sulfonic acid disodium salt

Yapısal formülü :



Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri : Suda çözünür. Eser miktarda etanolde çözünür.

Kurutmadaki kayıp 135°C de maksimum % 15 tir. Kırmızı toz veya granül haldedir.<sup>28</sup>

Biyolojik ve Toksikolojik Özellikleri : 28 gün süresince 0, 5, 50 mg/kg dozlarında Azorubin, fare, rat ve kobaylara verilmiştir. Herhangi bir dokuda kayda değer radyoaktivite birikimi bulunamamıştır.

Ratlara 90 gün süresince 250 mg/kg dozda Azorubin verilmiş ve sonunda olumsuz bir etki görülmemiştir.

Yapılan bir çalışmada, % 0.35, 0.8 ve 2.0 düzeylerinde Azorubin anne-baba ratlara 52 hafta süresince uygulanmıştır. Hiç bir etkiye rastlanmamıştır.

Tek hücreli sistem olan Tetrahymena pyriformis üzerinde yapılan bir çalışmada Azorubin'in toksik etkisinin olmadığı saptanmıştır.<sup>8,22</sup>

#### **II.3.3.3.4.6. Patent Blue V**

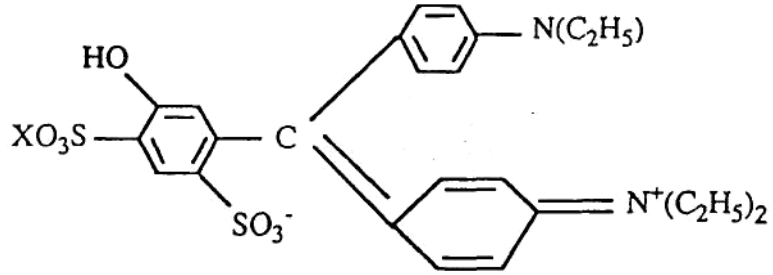
Diğer isimleri : C.I. Acid Blue 5

Blue Patente V

Sınıfı : Triarylmethane

Kimyasal adı : (4-(alfa-(4-diethyl-amhophenyl)-5 hydro = xy-2,4-disulfophenyl-methylidene) 2,5-cyclohexadien-1 -ylidene) diethylammonium hydroxiden kalsiyum veya sodyum iç tuzu

Yapısal formülü :



x = 1/2 kalsiyum tuzu ve sodyum tuzu

Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri : Suda çözünür. Etanolde az çözünür.

Kurutmadaki kayıp maksimum 135°C de % 15 tir. <sup>8, 22, 28</sup>

#### **II.3.3.3.4.7. Eritrosin**

Diğer isimleri : C.I. Food Red 14

FDC RedNo. 3

EEC No. E 127

Sınıfı : Xanthene

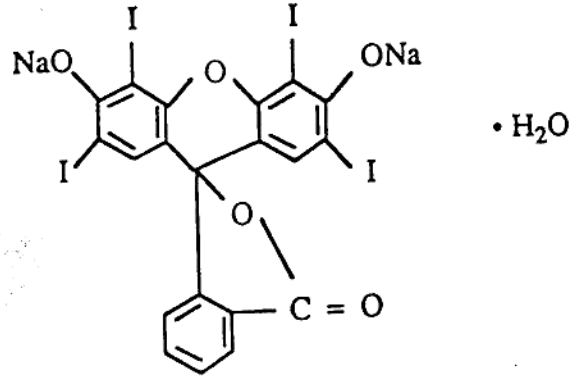
Kimyasal adı : Disodium 2', 4', 5', 7'-tetraido-3'-6'-dioxidospiro-

[isobenzofuran-1 (3H), 9'-(9H) xanthen]-3-onehydrate

Monohydrate ot 9-(0-carboxyphenyl)-6-hydroxy-2,4,5,7-

tetraido-3H-xanthen 3-one, disodium salt

Yapısal formülü :



Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri : Etanolde ve suda çözünür. Kırmızı renkli toz ve granül halindedir. pH 7.0 ve pH 10.0 da mor renk verir. pH 2.5 da çöker. Kurutmadaki kayıp % 13 tür. Sülfürik asit, nitrik asit ve hidroklorik asitteki çözeltileri sarı renktedir, asetik asitteki çözeltisi sarı-turuncu renktedir.<sup>28</sup>

Biyolojik ve Toksikolojik Özellikleri : Ağız yoluyla verilen Eritrosin'in, insanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, normal erkeklerin tiroit fonksiyonu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Denekler eşit üç gruba ayrılmıştır. Her birisine 20-60 ve 200 mg/gün dozlarında, 14 gün oral yoldan Eritrosin verilmiştir. Serum tiroksin (T4), tiroit uyarıcı hormon (TSH) seviyeleri 1., 8. ve 15. günlerde ölçülmüştür. 20-60 mg/gün Eritrosin alan erkeklerde TSH cevaplarında anlamlı değişiklikler olmamıştır. 200 mg/gün Eritrosin alan erkeklerde ise TSH seviyesinde anlamlı olarak artış görülmüştür.

Eritrosin ile ilgili olarak yapılan diğer bir çalışmada, olgun erkek farelere Eritrosin, tatbik edilmiş ve beyin bölgelerindeki radyoaktivite bir çok kez

ölçülmüştür. Sonuç olarak Eritrosinin beyine kandan girmediği ama şahdamar bölgesine verilirse kan proteini eksikliğinde, kan-beyin bariyerini delip girebileceği bulunmuştur.<sup>8,22</sup>

Başka bir çalışmada, Eritrosinin sinir uçlarının frekansını artırdığı, sinir sistemi ve hormonlar üzerinde etkili olduğu, erbezlerdeki ve beyindeki sinir aktarımlarını engellediği gözlenmiştir.<sup>8,22,29</sup>

Erkek ratlarda yapılan uzun dönemli toksisite-karsinojenite çalışması sonucunda tiroit ağırlıklarının arttığı, hiperplasia, adenoma ve tiroit foliküler hücrelerinde hypertrophy (dokuyu oluşturan hücrelerin hacimce artış göstermesi) olduğu görülmüştür.

Eritrosin ile ilgili başka bir çalışmada, Eritrosin'in genotoksik olmadığı öne sürülmüştür.

Yapılan araştırmalarda, Eritrosinin genotoksik olmadığı, bundan dolayı tümör ortaya çıkaramayacağı, ancak var olan tümörü hızlandıracağı görüşü ağırlık kazanmıştır.<sup>8,22</sup>

### **II.3.3.3.5. Sentetik Gıda Boyalarının Diyetle Alınabilen Günlük Maksimum Miktarları (ADI)**

FAO/WHO Eksperler Komitesi sentetik gıda boyaları ile ilgili yapılmış çalışmalarını değerlendirerek ADI değerlerini belirlemektedirler.

Komite, üreme çalışmaları ve uzun dönem yapılan çalışmalar sonunda Ponceau 4R'yi en son olarak 1981 yılında değerlendirmiş ve ADI değerini 0-0,125 mg/kg olarak belirlemiştir.

Patent Blue V için geçici ADI değeri tayin edilmiş, fakat 1974 yılında yapılan toplantıda çalışmalar yetersiz bulunduğu için geçici ADI değeri kaldırılmıştır. Son olarak 1982 değerlendirmelerine göre de ADI değeri tespit edilememiştir.

Eritrosin 1990 yılında en son olarak değerlendirilmiş ve ADI değeri 0-0,1 mg/kg olarak belirtilmiştir. Azorubin için ADI değeri 1983 değerlendirmelerine göre 0-4 mg/kg, Sunset Yellow için ADI değeri 1983 değerlendirmesine göre 0-2,5 mg/kg olarak tayin edilmiştir. Tartrazinin son değerlendirilmesi 1964 yılında yapılmış ve ADI değeri 0-7,5 mg/kg, Indigotin için ADI değeri 1974'deki değerlendirmelere göre 0-5 mg/kg olarak belirtilmiştir.<sup>8,22</sup>

### **II.3.4. Teknolojik Değerlendirmeler**

Boyaların piyasaya arzı da değişik biçimlerde olmaktadır. Bilindiği gibi gıda ürünlerinin bileşimleri geniş farklılıklar göstermektedir. Bu denli değişik her tür gıda matriksinde başarı sağlanabilmesi için, boyaların suda veya yağda çözünme özellikleri kazandırılmış emülsifiye şekillerinin yanı sıra, maltodekstrin gibi taşıyıcılar üzerinde püskürterek kurutmaya elde olunan pudra halinde veya granüler preparatlar, sıvı veya macun kıvamlarında hazırlanmış şekilleri de geliştirilmiştir. Bir diğer özel ürün de, boyaların alüminyum oksit bir substrat üzerine yedirilmesi ile hazırlanan laklardır. Lak üretiminde, boyaların sudaki çözeltileri, suda çözülmez özellikte olan alüminyum oksit hidrat üzerine verilerek, boya alümina üzerinde çöktürülmekte, boyanın suda çözünürlük özelliği böylece ortadan kaldırılmaktadır. Laklar, çok küçük partikül ebatlı mikropulverize pudra şeklinde piyasaya verilmektedir.

Laklarla elde olunan boyama etkinliği, ilave şekli ve karıştırma gibi koşullardan daha çok etkilenmektedir. Fakat bu dezavantajına rağmen bazı durumlarda tercih edilmelerinin nedeni, inert özellikleri sebebiyle ekstrem pH derecelerinde, düşük rutubetli ürünlerde, ortamda metal iyonları varlığında ve son ürünün ışığa maruz kalmasının kaçınılmaz olduğu durumlarda daha güvenilir sonuçlar vermeleridir.

Ayrıca iki değişik rengin bir arada arzu edildiği durumlarda (örneğin iki renkli çizgili şekerler), ürün rutubetlendiğinde boyaların migrasyonla birbirine karışması riski, lak kullanıldığında ortadan kalkmaktadır.<sup>12</sup>

**Tablo 7.** Gıda Boyalarının Çeşitli Özellikleri<sup>12</sup>

Boyalar	Safiyet	Avantajları	Dezavantajları	Tipik Uygulamalar
Pudra Boyalar	88-93	Ucuzluk Kolayca Çözünme Kuru karışımlarda homojenite	Potansiyel “tozlanma” problemi Zayıf akıcılık kabiliyeti	Kuru içecek karışımları: ekstrüde gıdalar
Granüler Boyalar	88-93	Daha az “tozlanma” Daha fazla akıcılık	Daha pahalı Kuru karışımlarda uygun değil Daha yavaş çözünme	Kullanımında önce karışım yapılan ürünler
Sıvı Boyalar	1-8	Derhal kullanıma hazır Tozlanma problemi yok Hassas dozaj olanağı	Daha fazla depo yeri gereksinimi Daha pahalı	Süt ürünleri Şekerler Fırıncılık ürünleri
Macum Boyalar	4-10	Renk stabilitesi üstün	Daha pahalı Sınırlı uygulama	Çikletler Akide şekerleri

Çeşitli gıda gruplarında rastlanan belli başlı teknolojik sorunlar ise aşağıda özetlenmiştir.

#### **II.3.4.1. İçeceklerde**

Renk solması: İçeceklere katılan askorbik asit, kimyasal tepkimeler sonucu renkte açılmaya yol açabilmektedir. Buna karşın önlem, şişe boşluğu azaltmak, askorbik asit gereksinimini ve ilave miktarını azaltmak veya onu tamamıyla formülden çıkararak yerine glukoz-oksidaz-kalataz enzimi ilave etmektir.



Korozyon: Teneke ambalajlarda boya, ambalaj içindekilerin kimyasal yapısını değiştirerek, karbon dioksit ve asitlerin metalik ambalajlarla reaksiyona girmesine yol açabilmektedir. Burada çözüm, boya ilavesini 50 ppm'nin altında tutmaktır.

Çözünmezlik: Aynı anda ürüne hem tatlandırıcılar hemde boya katılımı, çözünmezlik problemlerini ortaya çıkarabilmektedir. Her katkıının ayrı ayrı ilavesi, boya konsantrasyonunun azaltılması, tatlandırıcıların gliserinde çözündürülerek ilavesi önlem olabilmektedir.<sup>12</sup>

#### **II.3.4.2. Şekerli Ürünlerde**

Bunlardan akide şekerlerinde rutubet %1-2 civarında olduğundan, macun kıvamında boya tercih edilmelidir. Üretim işlemlerinde ulaşılan yüksek sıcaklıklar, boyalarda solma ve donuklaşmaya yol açabildiğinden boyalar mümkün mertebe prosesin en son aşamasında katılmalıdırlar. İki renk kullanıldığında, migrasyonla birbirine karışmasının önlenmesi amacıyla laklar tercih edilmelidir.

Çikletlerde de, boyaların ağızda renk bırakmaları nedeniyle, suda çözülmez lakların tercihi daha uygundur. Bonibon tipi şekerli tablet ve drajelerde ağırlıkça %0.1 oranında lakların kullanımı önerilmektedir. Ayrıca laklara bir miktar TiO<sub>2</sub> ilavesiyle, normal boya kullanımında 25-40 katla sağlanabilen renk intensitesi, lakların 5-10 katıyla sağlanabilmektedir.<sup>12</sup>

### **II.3.4.3. Pastacılık Ürünlerinde**

Kekunlara, unun bir kısmına lak katılarak bu ürünlerde arzu olunan uçuk renkler kazandırılabilir. Pasta içleri ve kaplamalarına da gliserin veya propilen glikolde eritilmiş boyaların ilavesi mümkündür. Yağ oranı yüksek karışımlarda, çözünürlüğü artırmak amacıyla az bir miktar lesitin de konulmaktadır. Yine pasta süslemede kullanılan renkli şekerler, pudra şekerine lakların kuru halde katılmasıyla elde olmaktadır.<sup>12</sup>

### **II.3.4.4. Süt Ürünlerinde**

Dondurmalara, mümkün mertebe son anda, yani pastörizasyondan hemen sonra, sıvı boyaların ilavesi yapılmaktadır. Bazı peynirler ve margarinler Beta-Karoten ve anatto gibi sertifikasız boyalarla renklendirilmektedir. Yine bazı peynir kaplamalarında, buz kremlerde, süt içeren bazı soslarda, meyveli yoğurtlarda renklendirme amacıyla lakların kullanımı önerilmektedir.<sup>12</sup>

### **II.3.5. Toksikolojik Değerlendirmeler**

Genel bir kanı olarak, "kimyasal maddelerin çoğu sağlığa zararlıdır", "gıda boyaları da kimyasal maddelerdir", dolayısıyla "gıda boyaları sağlığa zararlıdır" mantığıyla, boyalar toksikolojik açıdan yapılan değerlendirmelerde her zaman önemli bir yer tutmuşlardır. Bunlarda esas tutulan, herhangi bir boyanın insan tarafından yenilerek tüketilecek gıdalara katılan düzeyinin, o boya ile yürütülen farmakolojik deneylerde, en hassas laboratuvar hayvanında hiç bir toksik etki gözlenmeyen en yüksek dozun (NOEL - No Effect Level) 1/100'ünün

altında, hatta bazen 1/200'ünün altında olması gereğidir. Bu nedenle herhangi bir boyanın yasal statü kazanabilmesi için onun üzerinde akut, subakut, kronik bir çok farmakolojik deneyin, en az biri memeli hayvan olmak üzere fare dışında 2 değişik laboratuvar hayvanı üzerinde yürütülmüş olması zorunlu tutulmaktadır.

Bunlara ilaveten, insanlar üzerinde de o boya ile emilim, dağılım, atılım ve biyotransformasyon oranlarını saptamak amacıyla metabolik çalışmaların da yapılması gerekmektedir. Bu deneyler doğal olarak çok yüklü parasal kaynaklara ve uzun yıllara malolmaktadır. Bu nedenle daha ziyade zengin ülkelerce gerçekleştirilmektedir. Türkiye gibi araştırmaya çok kısıtlı kaynak ayırabilen ülkelerin bilimcilerine düşen ise, bu tür çalışmalara zaman ve para tahsis ederek bir fiil girişmek yerine, her yıl bu tür çalışmaları periyodik toplantılarında etraflıca değerlendirerek yayınlayan Kodeks Alimentarius Komitesinin "Gıda Katı Maddelerinin Toksikolojik Değerlendirmeleri" ve "Food Additives Data Systems" adlı seri raporlarını yakından takip etmektir. Çünkü bunlarda, o güne kadar bilinenler ışığında, her katkı için her türlü risk boyutu etraflıca incelenmekte ve sonuçları özetlenerek, o maddeye ilişkin önerilen ADI değeri revize edilmektedir.

Öte yandan günümüzde bir akım olarak doğal boyalara doğru yönelim gerçeği göz önüne alındığında, maalesef bu maddeler üzerindeki toksikolojik

çalışmaların, yapay boyaların aksine, henüz çok yetersiz kaldığı görülmektedir.

Bu konudaki yeni bazı araştırmalar doğal boyaların da bazı riskler arz edebildiği, örneğin çok yüksek dozlarda uzun süre kantaksantin tüketiminin göz retinasında kristallenme şeklinde görme bozukluklarına yol açabileceği savını getirmektedir. Bu hususlarda Kodeks Alimentarius Komitesinin yeni değerlendirmeleri ivedilikle beklenmektedir.<sup>12, 17</sup>

### **II.3.6. Yasal Açıdan Değerlendirmeler**

Gıda katkıları mevzuatı, günümüzde ulusal bir kavram olmaktan çıkmış, komplike enternasyonal boyutlar kazanmıştır. Bu konuda en yetkin uluslararası kuruluşların başında FAO ve WHO gelmektedir. Bu kuruluşlar mevzuat hazırlamazlar, fakat her ikisinin müştereken oluşturdukları Kodeks Alimentarius Komisyonunda hemen her ülkeden temsilciler bulunmakta, ve JECFA adlı Gıda Katkıları Ortak Ekspertler Komitesi, tüm ülkelere tavsiye niteliğinde standartlar hazırlamaktadırlar. Bu komite periyodik toplantılarla, her gıda katkı maddesi için son yıllarda yürütülen toksikolojik ve teknolojik araştırmaları inceleyerek değerlendirmekte ve o katkı için önerilen "sakıncasızca alınabilecek dozlar" ile, çeşitli gıda ürünlerine katılım için önerilen oranlarda, o ürünlerin günlük tüketilebilecek miktarlarını da göz önüne alarak, gerekli gördükleri revizyonları yapmaktadır.

Bu komitenin tüm gıda katkıları ile ilgili önerilerinin yer aldığı yayının gıda boyaları ile ilgili maddeleri Kodeks Alimentarius'da verilmiştir.

Bir ülkenin yetkili sağlık mercileri, gerek halklarının sağlığını korumak gerekse uluslararası ticarete rekabet sağlayabilmek amaçları ile, kendi ulusal katkı mevzuatlarını hazırlamakla yükümlüdürler. Bunlar hazırlanırken yukarıda değinilen FAO/WHO Ortak Kodeks Alimentarius Komitesi tarafından yayınlanmış listeler esas alınmaktadır.<sup>8, 12, 22</sup>

### **II.3.6.1. FAO/WHO Ortak Kodeks Alimentarius Komitesi Tarafından Yayınlanmış Listeler**

#### **II.3.6.1.1. A Listesi**

**A-1:** FAO/WHO tarafından etraflıca incelenmiş, ADI değerleri ve tavsiye olunacak katılım oranları belirlenmiş katkılar bu listede yer alır. A-1 listesinde mevcut 15 boyadan 6'sı sertifikalı (sentetik), dokuzu sertifikasız (doğal) boyalardır.

**A-2:** Bu listede yer alan katkılar üzerinde nihai karar henüz verilmemiştir. Ancak geçici olarak gıdalara katılımına müsaade edilmiştir. Halen bu listedeki boyalara turmerik (curcumin), annatto ve pancar kırmızısı dahildir.

### **II.3.6.1.2. B Listesi**

Bu listeye belirli bir ülkenin özel müracaatı üzerine FAO/WHO tarafından incelenmeye alınan katkılar dahildir. Bu katkıların, belirli yargılara varılana kadar gıdalara katılımı tavsiye edilmemekte, değerlendirmeler sonuçlandığında varılan yargıları müteakip duruma göre bunlar A veya C listelerine aktarılmaktadırlar.

### **II.3.6.1.3. C Listesi**

**C-1:** FAO/WHO eksperlerince gıdalara katıldıkları takdirde sağlık açısından sakıncalı olacağına kanaat getirilen katkılar bu listede yer alır. ADI değerleri yoktur. Halen bu listedeki boyalar Ponceau 3R, Oil Yellow AB, Citrus Red 2'dir.

**C-2:** Bu listede de kullanımlarına çok kısıtlı düzeyde müsaade edilen katkılar yer almaktadır. Söz konusu listeler, yukarıda da değinildiği gibi sadece tavsiye niteliği taşımaktadırlar.

Bu konuda etkin diğer uluslararası bir kuruluş da, AB(Avrupa Birliği)'dir. Ancak AB katkı eksperleri FAO/WHO gibi tavsiye niteliğinde değil, topluluk ülkeleri için direktif niteliğinde yasalar hazırlamaktadırlar. Bunların hazırlanışında ve yürürlüğe konulmasında Topluluğa üye ülkelerin ulusal mevzuatları ile harmonizasyon sağlanması amaçlanmaktadır. AB gıda

mevzuatı, yatay (katkıya göre) ve dikey (ürüne göre) direktiflerden oluşmaktadır. Boyalarla ilgili direktifler ise 3 grupta ele alınmaktadır.<sup>8, 12, 22</sup>

### **II.3.6.2. AB'nin Boyalarla İlgili Direktifleri**

**A.** ADI değeri belirlenmiş ve genelde gıdalarda kullanımına müsaade edilen boyalar (Bu liste FAO/WHO A-1 listesiyle benzerlik taşır).

**B.** Sadece özel amaçlarla (yüzey boyamalar v.b.) kullanımına müsaade edilen boyalar (CaCO<sub>3</sub>, Alüminyum, Gümüş, Altın).

**C.** Kullanımlarına sadece özel bazı gıdalara katılım kısıtlamasıyla müsaade edilen boyalar (Titandioksit, bitkisel karbon, pancar kırmızısı v.b.). Bu listelerin dışında kalan boyaların kullanımı ise yasaklanmaktadır.

Avrupa topluluğu direktiflerinin yasakladığı bir diğer husus da, maden suları, süt, un, ekmek, şeker, salça gibi bazı ürünlere hiçbir şekilde boya katılamayacağıdır.

Bunların dışında ulusal mevzuatlara bakıldığında çok değişik uygulamalarla karşılaşılmaktadır. Örneğin İskandinav ülkelerinden Norveç, 1978'de; İsveç 1980'de her türlü sertifikalı (sentetik) boyanın gıda maddelerine katılımını tamamen yasaklamışlardır. Avusturya, 8'i sentetik olmak üzere toplam 27 boyaya müsaade etmektedir. İsviçre 1978'de gıda boyalarını A (doğal:

karotenoitler, kantaksantin, riboflavin, antosiyaninler, klorofiller) ve B (Sentetik: amarant, tartarazin, eritrosin) olmak üzere ikiye ayırmıştır. ABD'de ise gıdalarda kullanılacak boyalar belirtilerek, sertifikalı (yapay) ve sertifikasız (doğal) ayırımı ile iki grupta toplanmakta, bunların dışında kalan boyaların gıdalara katılımına müsaade edilmemektedir. Ayrıca çeşitli mevzuatlar gıda ürünlerine katılacak boyaların uyması gereken teknik spesifikasyonları da (örneğin ağır metal içerikleri, safiyet oranları v.b.) belirtmektedir. Bu çok yararlı uygulamanın ülkemizde takipçiliği, boyaları bizzat ithal etmekle ve ürünlerinde kullanmakta olan gıda sanayicilerimize düşmektedir.<sup>8,12,22</sup>

Türkiye'de Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı'nca oluşturulmuş Gıda Katkıları Teknik Komisyonunun, gerek Kodeks Alimentarius Komisyonu raporları, gerek AB mevzuatı, gerekse çeşitli ulusal gıda yasalarını değerlendirerek 1988 yılında hazırlamış olduğu Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği ve son olarak da 25 Ağustos 2002 tarih, 24857 numaralı Resmi Gazetede revize edilerek Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığınca yayınlanan Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği (Tebliğ No:2002/55) ile Türkiye için gıdalara katılımına müsaade edilecek boyaları hükme bağlamıştır.<sup>9</sup> Gıdalarda kullanılan Renklendiriciler Tebliğinin bir diğer özelliği, hangi boyaların hangi ürünlere ve ne düzeyde katılmaları üzerinde de öneriler getirmesidir ki, bu husus ülkemiz üreticilerini bağlamak, kısıtlamak amacıyla değil, teknolojik açıdan aydınlatarak, doğruya yönlendirmek hedefine yöneliktir.



Bir diğerk deyişle, Gıdalarda kullanılan Renklendiriciler Tebliğinde yer alan boyalar, tebliğde ön görüldükleri dozlarda kullanıldıkları taktirde, kişilerin bir günde sakıncasızca alabilecekleri düzeylerde kalmaktadırlar. Bu sebeple bugünkü bilinenler ışığında kanımız, Türkiye'de Tebliğe uygun olarak kullanılan boya ların oluşturabileceği riskin sadece hassas gruplar üzerinde olabileceği şeklindedir ki, bu gruplar alerjik bünyeye sahip kişiler ve de çocuklardır. Gerekl i etiket ve ambalaj uyarılarına uyulması ve tüketicilerin bu konularda bilinçlendirilmesi, bu riskin boyutunu en aza indirebilecektir. <sup>8, 12, 22</sup>

#### **II.4. Konu ile İlgili Bazı Bilimsel Çalışmalar**

Altınığne'nin<sup>30</sup> yaptığı bir çalışmada, bazı şekerlemeler ve toz içeceklerle katılmış olan Sunset Yellow FCF ve Tartrazin boyar maddelerinin analizleri, voltametrik (DPP) ve spektrofotometrik metotlarla yapılarak karşılaştırılmıştır. Şekerlemelerde ve sentetik toz içeceklerde, boyar maddenin yalnız bir tanesi bulunduğunda, doğru, hassas ve güvenilir sonuçlar elde edilebilmektedir. Uygulanan her iki metodun kolerasyon sayısı  $r=0,995$  ve tayin sınırları 0,8 mg/ml olarak saptanmıştır. Bu çalışma, nitel ve nicel tayinlerin, spektrofotometrik metot yanında voltametri metoduyla da yapılabildiğini göstermiştir.

Yentür ve Bayhan<sup>31</sup> yaptıkları çalışmada, Gıda Tüzüğüne göre sentetik boya katılmasına izin verilmeyen tereyağlarında, özellikle aromatik azo yapısındaki bazı sentetik boya ların varlığını araştırmışlardır. Sonuçta 30 tereyağ

örneğin 5'inde P-dimetilaminoazo benzen olmak üzere gıdalarda kullanılması yasaklanmış olan boyanın varlığını saptamışlardır.

Yentür ve Karakaya<sup>32</sup> yaptıkları çalışmada, Türkiye'de gıdalarda kullanılmasına izin verilen (Eritrosin, Indigotin, Tartrazin, Sunset Yellow FCF, Ponceau 4R) ve kullanımı yasaklanan (Ponceau 3R, Ponceau SX, Brillant Blue FCF, Amarant) gıda boya larını ince tabaka kromatografisi yöntemiyle araştırmışlardır. Sonuçta 25 şeker örneğinin 11'inde Ponceau 3R, Ponceau SX, Brillant Blue FCF, Amarant olmak üzere kullanımı yasaklanmış boyalar; Gıda Tüzüğü'ne göre boya katılmasına izin verilmeyen dondurmalarda ise 29 örneğin 16'sında çeşitli sentetik boya ların (Tartrazin, Sunset Yellow FCF, Ponceau 4R, Ponceau SX) varlığını saptamışlardır.

Egginger'in<sup>33</sup> yaptığı çalışmada, et ürünlerinde kullanılan, suda çözünebilir doğal organik gıda boya larının teşhisi yapılmıştır. (Karminik asit, kırmızı pancar pigmentleri, indigotin, sumak, santalin gibi) Almanya'da bu boya ların bazılarının gıda katkısı olarak kullanımı yasaktır. Suda çözünebilir bu pigmentler, ince tabaka kromatografisi yöntemi (TLC) ile silika jel kullanılarak teşhis edilmiştir. Her biri için Rf verileri toplanmıştır. Bu yöntemle, boya maddelerin yalnız veya kombine halde ayrılmaları güvenilir bir şekilde sağlanmıştır. Boya maddelerin teşhisinde İTK yönteminin, diğer yöntemlere göre avantajları tartışılmıştır.

Wilska-Jeszka ve Zajac<sup>34</sup> yaptıkları çalışmada, gıda endüstrisinde doğal gıda boyası olarak kullanılan antosiyaninleri incelemiştir. Daha çok antosiyanin pigmentlerinin yapısı, sulu çözeltilerdeki durumu, antosiyaninlerin renk üzerindeki etkisi, pigmentlerin kökeni, siyah kuş üzümünden gıda boyası olarak eldesi, antosiyaninlerin stabilitesi ve uygulamalardaki mevcut imkanlarını araştırmışlardır.

Kajimoto ve arkadaşları<sup>35</sup> sentetik gıda boyalarının, soya yağının oksidatif bozulması üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta, Fast Green, İndigo Karmine ve Phloksin'in oksidatif bozulmayı hızlandırdığı görülmüştür. Soya yağlarının oksidatif bozulması ve tokeferolün dekompozisyonu, Phloksin kullanımı ve güneş ışığında depolama ile maksimum düzeye çıkmıştır. Ponceau 4R, Amarant, Tartrazine ve Sunset Yellow F.C.F kullanıldığında oksidatif bozulmaya rastlamamışlardır.

Özcan ve Akgül<sup>21</sup> yaptıkları çalışmada, Türkiye'de kullanılan doğal gıda boyalarını incelemiştir. Algler, annatto, aspir (yalancı safran), çiçekler, gardenya, kırmızı pancar, safran ve üzüm gibi bir çok gıda boyası kaynağının yapısı, karakteristik özellikleri, kullanımı ve yasal statüsünü incelemiştir. Bunların dışında gıda boyası olarak kullanılan bir çok bitkisel materyali de aynı şekilde araştırmışlardır.

Lau ve arkadaşları<sup>36</sup>, alkolsüz içeceklerdeki suda çözünebilen sentetik gıda boya larını tayin etmek için basit bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, pH 5.6'da %0.5'lik oktadesil-trimetilamonyum bromid kullanılarak iyon çifti oluşturmaya dayanmaktadır. Önerilen bu metot Amarant, Karmoisin, Green 5, Orange 6, Patent blue V, Ponceau 4R, Sunset yellow F.C.F ve Tartrazin içeren içeceklerde yapılan tayinlerde kullanılmıştır. Green 5 dışındaki diğer renk maddeleri optimum sınırın altında çıkmıştır.

Hallagan ve arkadaşları<sup>37</sup> yaptıkları çalışmada, Amerika'da gıda, ilaç ve kozmetikte kullanılan sertifikasız boya maddelerini (doğal boyar maddeler) incelemiştirlerdir. FDA, bu maddelerle ilgili düzenlemeleri yapmış ve bu maddeleri içeren ürünleri de sınıflandırmıştır. Gıda boya larının güvenilirliği, güvenlik testi programları ile toksikolojik veriler şeklinde sonuçlandırılmıştır. Bu incelemeler; beta-karoten, karmine, annatto, turmerik, kantaksantin, antosiyaninler, üzüm ekstreleri, karamel, titanyum dioksit ve paprikayı içermektedir. Bu maddelerin güvenilirlikleri elde edilebilir verilerle desteklenerek ispatlanmıştır.

Yentür ve arkadaşları<sup>38</sup> yaptıkları çalışmada, Sentetik boya katılması yasak olan reçellere boya katılıp, katılmadığını, boya katılmasına izin verilen pudingler, şekerler ve içecek tozlarında kullanılan boya ların miktarlarının GKMY(Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği)'ne uygun olup olmadığını araştırmışlardır. Araştırmada kullanılan tüm örnekler Ankara piyasasından sağlanmış ve toplam 263 örnek üzerinde çalışılmıştır. Bütün örneklerin ekstraksiyonu yün boyama

yöntemi ile yapılmış, ekstre edilen boyalar TLC (İnce Tabaka Kromatografisi) ile kalitatif olarak incelenmiştir. Reçeller ve pudinglerin kalitatif incelenmesi sonunda sentetik boya saptanmamıştır. Şekerler ve içecek tozlarında saptanan boyalara C<sub>18</sub> Sep-pak kartuş ve spektrofotometrik yöntemler uygulanarak miktar tayinleri yapılmıştır. Ponceau 4R miktarının şekerlerde GKYM'ne uygun olmadığı; Tartarzin miktarının şekerlerde GKMY'ne uygun olmadığı, içecek tozlarında uygun olduğu; Sunset Yellow F.C.F miktarının Şekerlerde ve içecek tozlarında GKYM'ne uygun olmadığı; içecek tozlarında karışık boya miktarının GKMY'ye uygun olmadığı; şekerlerde saptanan Azorubin miktarının GKMY'ye uygun olduğu saptanmıştır.

Üstün ve Tosun<sup>39</sup> yaptıkları çalışmada, reçellerde yapay boya kullanımı yasak olduğu halde; Samsun piyasasından özellikle toplu tüketimin fazla olduğu market ve bakkallardan alınan, beş değişik firmaya ait vişne, çilek, kayısı ve gülden oluşan toplam 19 adet reçel örneğinden 10 adedinde yapay boya varlığı saptamışlardır. Bunlardan 3 tanesi vişne reçeli, 3 tanesi çilek reçeli, 1 tanesi kayısı reçeli ve 3 tanesi de gül reçelidir.

İngiltere Southampton kentinde gıda katkı maddeleri hakkında, 3 yaşındaki çocuklar üzerinde yapılan bir araştırmada 277 çocuğun, 75'inde hiperaktivite, 79'unda alerji ve 36'sında hiperaktivite ve alerji birlikte bulunmuştur. Araştırma, çeşitli cips, şekerlemeler ve gazozlarda çok sık kullanılan Tartrazin (E102), Azorubin (E122), Sunset Yellow F.C.F (E110) ve

Ponceau4R (E124) gibi renk verici maddelerin ve koruyucu bir madde olan Sodyum Benzoat'ın (E211) çocukların davranışları üzerindeki etkilerini saptamak için düzenlenmiştir. Araştırmada, çocukların diyetinden yapay renklendiriciler ve Sodyum Benzoat çıkarıldığında, çocuklardaki davranış bozuklarının düzeldiği, bu maddeleri içeren içeceklerin verilmesiyle davranış bozukluklarının tekrar ortaya çıktığı belirlenmiştir.<sup>40</sup>

Jonnalgadda ve arkadaşları<sup>41</sup>, sokakta satılan tüketime hazır gıdalarda tip, boyut ve kullanılan renkler üzerine yaptıkları araştırmada 545 numune incelemişlerdir. Bu numunelerin % 90'ında izin verilen boyalar, %8'inde kullanımı yasak olan boyalar ve %2'sinde izin verilen ve kullanımı yasak boyaların karışımları tespit edilmiştir. Ancak bu %90'luk dilimdeki numunelerin %27'sinde yerel yönetimce belirlenmiş oranlarda gıda boyası kullanıldığını, diğer %73'lük kısmında izin verilen oranları aştığını saptamışlardır. En çok kullanılan gıda boyası olarak Tartrazin ve Sunset Yellow F.C.F'ye rastlanmıştır.

Garcia-Falcon ve Simal-Gandara<sup>42</sup> yaptıkları çalışmada, alkolsüz aromalı içeceklerde doğal renklendiriciler ile birlikte kullanılan Tartrazin, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow F.C.F, Azorubin ve Ponceau4R sentetik gıda boyası miktarlarının belirlenmesi amacıyla 9 adet numuneyi HPLC kromatografi yöntemi ile analiz etmişlerdir. Yapılan analizlerde numunelerde bulunan sentetik gıda boyası miktarlarının 1994 Avrupa Birliği Direktiflerinde (94/36/EC), belirtilen maksimum miktardan düşük olduğunu saptamışlardır.

Biswas ve arkadaşları<sup>43</sup> yaptıkları çalışmada, Kalkuta ve çevresinde satılmakta olan 430 ayrı noktadan bir yılı aşkın sürede temin edilen 445 adet numuneyi, Pearson(1990) ve APA(1960) standard metodlarını kullanarak incelemişlerdir. İncelenen numunelerin 59 adedinde kullanımına izin verilmeyen sentetik renklendiricilerin olduğu saptanmıştır. Ayrıca yapılan çalışmada bu boyaların, 58 adet gıda maddesinde PFA(1992)'de belirtilen sınır değerlere göre yüksek olduğunu saptamışlardır.

Özdemir ve Akkan'ın<sup>44</sup> yaptıkları çalışmada toksik ve kanserojen etkileri bulunan, jölelerde kullanımı yasak olan Azorubin ve Patent Blue V karışımlarının miktar tayininde kullanılmak üzere birinci derece türev spektrofotometrisi ile C<sub>18</sub> Kartuş ve birinci derece türev yöntemleri kullanılmıştır. Her iki yöntemin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışma sonunda Azorubin ve Patent Blue V içeren karışımlar için C<sub>18</sub> Kartuş birinci derece türev yönteminin birinci derece türev spektrofotometrisine göre daha hızlı, doğru ve ekonomik olduğunu görmüşlerdir.

Ni ve Bai<sup>45</sup> tarafından Çin'de yapılan çalışmada, alkolsüz içeceklerde Amarant ve Sunset Yellow F.C.F sentetik gıda boyası içeren numunelerin kalitatif analizleri oransal türev voltametri yöntemi ile yapılmıştır. Çalışma sonucunda 0,03-0,16 µg/ml arasındaki oranlarda gıda boyası içeren

numunelerde spektrofotometrik yöntemlere göre çok daha hassas sonuç verdiği saptanmıştır.

Rao ve Arkadaşlarının<sup>46</sup> Hyderabad-Hindistan'da, çeşitli yaş grupları ve değişik gelir düzeyleri arasından seçilmiş toplam 1020 çocuk ile gıda boyası kullanımı üzerine yaptıkları istatistiksel çalışmada alınan gıda boyası miktarlarının mevsimsel olarak değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca Hindistan'da kişi başına alınan gıda boyası miktarının ortalama 17,2 mg olduğu ve bu değer 77,1 mg olan Amerika'dan çok daha düşük olduğu görülmüştür. Hindistan'da alınan gıda boyası miktarının düşük olması işlenmiş gıda ürünlerine olan talebin düşüklüğünden kaynaklanmaktadır.



## **II.5. Sentetik Gıda Boyalarının Analiz Yöntemleri**

Gıda boyalarının kullanımlarının mevzuatlarla yasallaştırılması, bu maddelerin tayinleriyle ilgili yöntemlerin geliştirilmesi gereğini ortaya çıkarmıştır. Suda çözünen sentetik organik boyaların analizlerinde yün boyama yöntemi, kağıt kromatografisi (PC), ince tabaka kromatografisi (TLC), kolon kromatografisi (CC), gaz kromatografisi (GC), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), spektrofotometrik tekniklerden yararlanılmaktadır.<sup>22</sup>

### **II.5.1. Yün Boyama Yöntemi**

Bu yöntem, asidik boyaların sulu asetik asit çözeltisinde, bazik boyaların amonyak çözeltisinde yağı alınmış beyaz renkli yünü boyaması ilkesine dayanmaktadır.

**Yün İpliklerinin Hazırlanması :** Ham yün ipliklerinin yağı sokselet cihazında petrol eter ile birkaç kez ekstre edilerek alınır. Kuruduktan sonra %5'lik NH<sub>3</sub> solüsyonu ilave edilerek 80 °C'deki su banyosunda 1 saat tutulur. En son aşamada saf su ile bolca yıkanarak kurumaya bırakılır. Temiz ve kuru yünler cam kap içerisinde muhafaza edilir.<sup>47</sup>

**Yün Boyamanın Yapılması :** Boyalı gıda numunesi bir beherde distile su ile çözülür. Birkaç damla asetik asit çözeltisi ile ortam asitlendirilerek yukarıdaki şekilde yağı alınmış yün ipliklerden bir miktar konur. Beher 60 °C'deki su banyosuna konarak ortamdaki boyaların yün iplikleri tarafından absorblanması

için yarım saat kadar tutulur. Daha sonra yün iplikleri beherden alınarak distile su ile yıkanır.

Boyalar yün tarafından tutulmuş, su ile yıkama sonucu akıyor ise sentetik boya, akarak yünü terk ediyor ise doğal boya olduğu anlaşılır.<sup>48</sup>

Boyalı yün iplikleri bir behere konur. Üzerine 10 ml. % 5'lik  $\text{NH}_3$  çözeltisi ilave edilerek su banyosunda 30 dakika ısıtılır. Sentetik boyalar amonyaklı ortamda yün ipliklerden ayrılırlar. Boyalar kuruluğa kadar su banyosunda tutulur.

### **II.5.2. Kağıt Kromatografi Yöntemi**

Bu yöntem gıda maddelerinden izole edilen boyaların teşhisinde kolayca uygulanabilmekte ve çok kısa sürede olumlu netice vermektedir. Kağıt kromatografi yönteminde Whatman No.1 yürütme kağıdı kullanılmaktadır.<sup>49</sup>

Kağıdın alt kenarından 2 cm mesafeyle kurşun kalemle bir çizgi çizilir. Standard boyaların % 0.2'lik çözeltileri su ile hazırlanır. Numunelerdeki boyalar ve Standard boyalar bu noktalara damlatılır. Damlanın çapının 5-6 mm'yi geçmemesine dikkat edilir.<sup>50</sup>

Yürütme tankları analizinde kullanılmadan önce en az 2-3 saat süreyle solvante doymuş hale getirilir. Solventin tazeliği boyaların Rf (yürüme) değerine etki etmektedir. Yürütme süresi solventin cinsine göre 45 – 120 dakika arasında

değişebilmektedir. Boyaların teşhisinde kullanılacak pek çok yürütme çözelti karışımları vardır. Bu yöntemde kullanılacak bazı yürütme çözelti karışımları aşağıda verilmiştir.

#### Yürütme Çözeltileri <sup>51</sup>

- n-Butanol + Su + Glacial Asetik Asit (40 + 24 + 10) v/v
- Iso-Butanol + Etil Alkol + Su + Amonyak (Öz.Ağ: 0.88) (30 + 20 + 20 + 0.7) v/v
- Fenol + Su (80 + 30) g/g
- Etil – Metil Keton + Aseton + Su + Amonyak (Öz.Ağ: 0.88) (35 + 15 + 15 + 0.1) v/v
- Etil – Metil Keton + Aseton + Su (35 + 10 + 20) v/v
- Etil Asetat + Pridin + Su (33 + 15 + 12) v/v
- Trisodyum Sitrat + Su + Amonyak (Öz.Ağ: 0.88) (2g + 95ml + 5ml)
- n-Butanol + Etil Alkol + Su (30 + 30 + 30) v/v

Numune ve standard boyalara ait beneklerin Rf değerleri karşılaştırılarak boyaların cinsi saptanır.<sup>52</sup>

Rf değeri = Boya renklerinin kağıt üzerindeki mesafesi (cm)

Solventin kağıt üzerindeki mesafesi (cm)

### **II.5.3. İnce Tabaka Kromatografisi**

Bu yöntem kağıt kromatografisinden daha hızlı ve daha iyi sonuç vermektedir. Sabit faz bir cam veya plastik levha üzerine serpilmiş birleşik tabakalanmış tozdur. Sistemin kapasitesi tabakanın 0.1 mm ile 2.0 mm arasında değişen kalınlığına bağlıdır. Kaplama maddeleri olarak silikajel veya selüloz kaplı cam plaklar kullanılır.

Boya numuneleri ekstrakte edildikten sonra mikro pipetle, kapiler yada mikro şırınga ile plakanın ucundan 1-2 cm mesafede spotlanır. Kurutulduktan sonra kromatografi kabına konur. Kabın içindeki kromatografi eriyiği buharlarının çabuk denge haline gelmesi için kabın bir veya her iki tarafından bir filtre kağıdı eriyiğin içine batacak kadar sarkıtılır. Kapağı kapatılır. Eriyik kapiler kuvvetle ince tabakada yükselirken numunedeki maddeler fraksiyonlara ayrılır. Kromatografi kabına konmadan önce numuneler spotlanırken, referans boyalar da spotlanmaktadır. Buna dayanılarak Rf değeri ölçülür ve tanımlama yapılır.<sup>22</sup>

### **II.5.4. Kolon Kromatografisi**

Bu yöntem gıdalardaki suda çözünen sentetik organik boyaların gıda numunelerinden ekstraksiyonuna dayanmaktadır. Yağ içeren numunelerden, gıda maddesinin yapısına uygun bir çözgen sistemi kullanılarak numunedeki başka maddeler ekstrakte edilir ve boyalar poliamid kolonda adsorbe edilirler. Kolon

değişik çözümler kullanılarak yıkanır ve daha sonra boyalar aseton/amonyak karışımı ile elue edilirler.<sup>22</sup>

### **II.5.5. Gaz Kromatografisi**

Bu kromatografiyi diğerlerinden ayıran özellik, değişken fazın gaz olmasıdır. Uçar maddelerin analizinde kullanılır. Bu nedenle numuneler sütundan doğru hareketi sağlamak amacıyla buharlaştırılır. Kullanılan sabit evreler katıda veya katının üstüne veya sütunun duvarlarına ince bir tabaka olarak kaplanan sıvılardır.

Kimyasal yöntemler ile analizi mümkün olmayan çok az miktar ve orandaki uçucu maddeler bu cihazla litrede desimiligrama kadar hem de oldukça kısa bir zamanda tayin edilebilmektedir. Son zamanlarda amino asitleri ve malt şıralarında karbon hidratları yani uçmayan maddeleri de uygun kimyasal işlemlerle uçabilir bileşik haline getirmek suretiyle tayini mümkün olmaktadır.<sup>22</sup>

### **II.5.6. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi**

Hareketli faz yanal bir kolona yüksek basınçla basılan bir sıvıdır. Sabit faz küçük ebatla olup geniş yüzey alanındaki katı parçalardır. Teorikte, klasik kolon kromatografisi ile aynıdır. Bütün kromatografik tekniklerden daha fazla ayırma etkisi vardır. Kolon kromatografisindeki dezavantajları ortadan kaldırır.<sup>22</sup>

### II.5.7. Türev Spektroskopisi Yöntemi

Yöntemin ilkesi saf referans boyaların, nötral ortamda (pH:7 olan fosfat tampon çözeltisinde) hazırlanmış konsantrasyonu bilinen değişik çözeltilerinin, maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunda, tampon çözeltiye karşı, nötral ortamdaki gıda örneğiyle karşılaştırılması esasına dayanır.<sup>53</sup>

Türev Spektroskopisi prensibi klasik absorpsiyon spektrumlarının yerine türev spektrumlarının kullanılmasıdır. Temel amaç ayırım gücünü arttırarak iyi ayırt edilemeyen pikleri ayırt etmek ve değişik özelliği olan zemin spektrumunun etkisini düşürmektir. Bandın genişliğini düşürüp daha keskin bir hale dönüştürdüğünden bantların daha iyi ayrılmasına sebep olur ki bu da bantların kalitatif ve kantitatif tayinini kolaylaştırır.

Türev Spektroskopisi ile analiz edilecek olan maddelerin, belirli dalga boyları arasında dalga boylarına karşı gelen absorbans değerlerinin birinci ve daha yüksek türevleri kaydedilerek grafiğe geçirilir. Normal spektrumda çok küçük olan pikler bile türev spektrumunda büyük pikler haline gelir.

Bilindiği gibi bir fonksiyonun herhangi bir noktasındaki türevi  $dA/dx$ 'tir. Absorpsiyon spektrumları söz konusu olduğunda ise türev  $dA/d\lambda$  olacaktır. Spektrumun her bir noktasındaki türev değerleri hesaplanıp dalga boyunun fonksiyonu olarak grafik edildiğinde birinci türev absorpsiyon spektrumu elde

edilir. Buna benzer şekilde 2., 3., ..., n. Türev spektrumları sırasıyla  $d^2A/d^2\lambda$ ,  $d^3A/d^3\lambda$ , ...,  $d^nA/d^n\lambda$  değerleri ile dalga boyu arasında oluşturulabilir.

Orijinal spektrumda absorpsiyonun maksimum bulunduğu dalga boyunda 2. türev spektrumunda bir minimum, 4. türev spektrumunda bir maksimum ortaya çıkmakta, 1. ve 3. derece türev spektrumları ise bu dalga boyunda sıfırdan geçmektedir (Şekil 1).

Türev derecesi arttıkça piklerin keskinleşmesi ve daralmasıyla rezolüsyon artmaktadır. Bundan spektrumların ince yapısının aydınlatılmasında yararlanır ki bu durum saflık testleri ve tanımlamada önemlidir.

Basit bir absorpsiyon bandının 1 ..... 4. türevleri Şekil 1’de görüldüğü gibi pikin birinci derece türevi alındığında yükselen bölgeler pozitif, inen bölgeler negatif pikler oluşturmakta, dönüm noktalarının bulunduğu dalga boylarında ekstrenumlar oluşmakta, orijinal pikteki ekstrenumların karşılığı olan dalga boylarında ise türev eğrisi sıfırdan geçmektedir. 1. türev her dalga boyunda konsantrasyon ile orantılıdır.  $dA/d\lambda$ 'nın uç değerlere sahip olduğu yerdeki ölçümlerde hassasiyet en fazladır. 2. türev, türevin sıfır olduğu noktalarda konsantrasyon ile orantılıdır. 2. türevin de uç değerlerinde hassasiyet daha fazladır.<sup>54</sup>

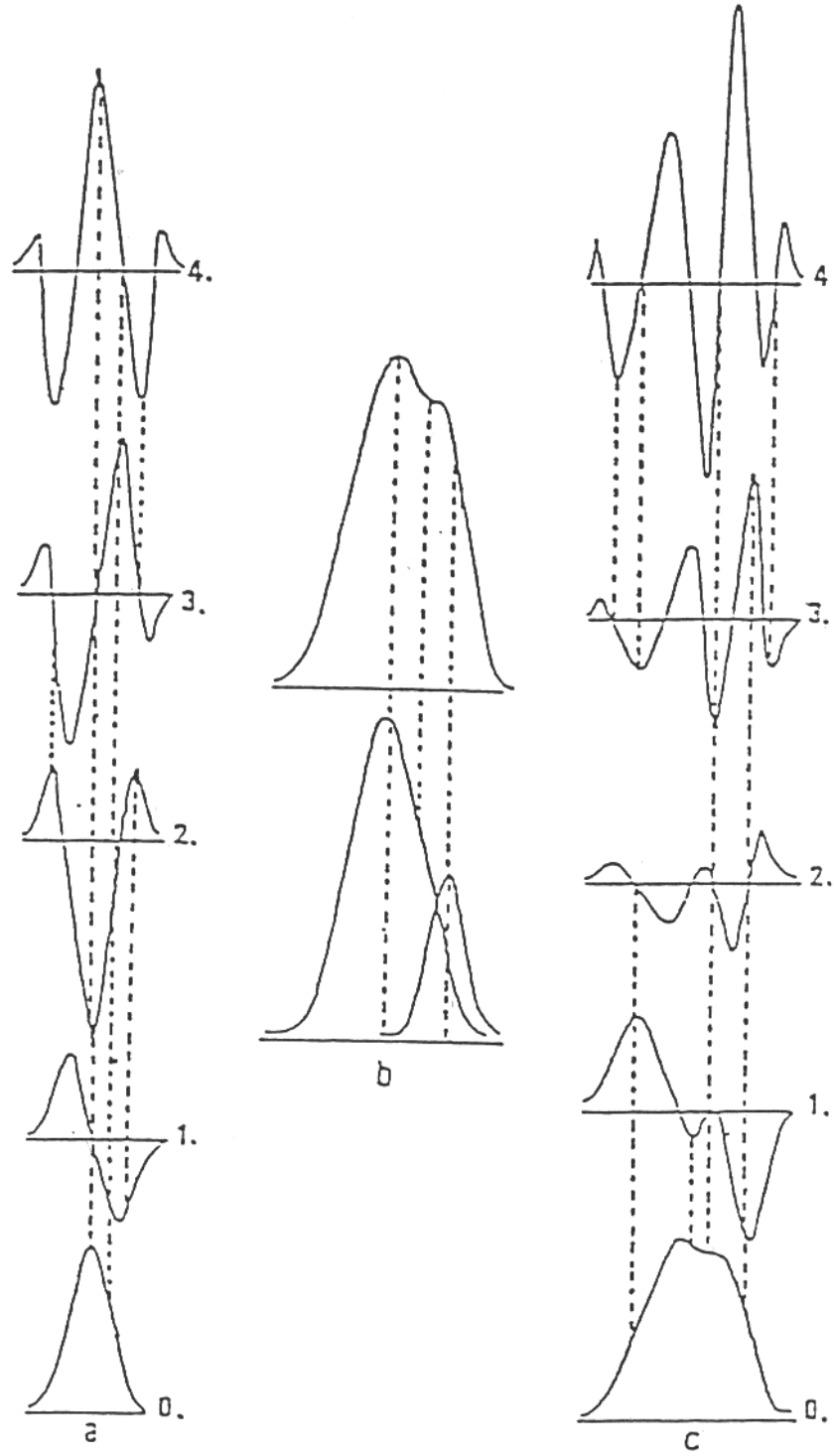
**Türev Spektrumunun Alınması :**Türev spektrumu değişik yöntemlerle elde edilebilir. Çıkış sinyalinin elektronik veya nümerik olarak diferansiyelinin alınması veya elektronik takometrelerle işleme tabi tutulması, yayımda çift dalga boyu sinyal taraması veya dalga boyu modülasyonu yapabilen özel optik sistemi olan spektrofotometreler ile optik türev spektrumu elde edilir.

Bu tekniklerin her birinde avantaj ve dezavantaj vardır. Pratikte elektronik farklılaştırma ile çift dalga boyu taraması ve 1. türev alınarak diğer türevlerin elektronik hesabı en çok kullanılan tekniklerdir. Elektronik farklılaştırma ile türev alan cihazların daha ucuz oluşu ve istenen dereceden türevi anında verebilmesi gibi üstünlükleri vardır.

Her iki teknikte uygulamaya iki değişken katar; türev derecesi (n) ve spektrumun uygulanacağı dalga boyu aralığı. Dalga boyu modülasyonu, gazların tek ışınli spektrumuna uygundur ve ışık kaynağının düşük frekans gürültüsünün yarattığı sinyal/gürültü oranı açısından üstünlük sağlar. Elektronik yöntem ise özellikle çift ışınli UV-VİS spektrofotometresinde biyokimya, klinik, çevre ve ilaç analizlerinde sıvı örnekler için uygundur.

Türev hesap birimi, dedektör, elektronik birimi ile kaydedici, basıcı, ekran gibi gösterge birimleri arasında yer alır. Türev spektrumunda hem (+), hem (-) sinyaller alacağından kaydedici birimin x eksenli skalasının ortasında yer almalıdır.<sup>55</sup>





**Şekil 1.** Çeşitli şekillerdeki Gauss Diyagramlarının türev spektrumları <sup>54, 56</sup>

- a. Gauss diyagramının temel, 1, 2, 3, 4. türevleri
- b. Eşit olmayan iki gauss diyagramının temel spektrumu
- c. Üst üste çakışmış ve eşit olmayan iki Gauss diyagramının temel, 1, 2, 3, 4. türevleri

**Türev Spektrumuna Etki Eden Faktörler :** Türev uygulamasının teorik fonksiyon eğrisi üzerinde değil, gerçek bir optik elektronik spektrum üzerinde yapılması nedeniyle gelecek olan pik kayması ve şekil bozulmaları göz önüne alınmalıdır.

Optik ve elektronik gürültülerin verdiği piklerin gerçek spektrum pikleri ile benzer özelliklere sahip oluşu spektrumun genelde detaylandırılmasına bağlı olarak, büyümelerine ve yanlış değerlendirmelere yol açabilir. Gerçek piklerin türev eğrilerinin dalga boyu eksenine doğrultusunda çarpılmalarının, şekil değiştirmelerinin türev derecesi ile artacağı göz önüne alınmalıdır. Gürültü pikleri, spektrum ortalamalarının alınıp değerlendirilmesi ile yok edilir.

Sadece 1. türev eğrisi doğrudan optik olarak elde edilebilir. Diğer türevler ise bu veya orijinal spektrumdan elektronik olarak elde edilebilir. Uygulamada bilinmesi gereken temel ilişki aynı cihaz programında 2. türevin 1.sine göre daha detaylı bilgi ve daha iyi duyarlılık ile ayırım gücü sağladığı buna karşılık sinyal-türev derecesi artışı ile gürültü oranı azalışa ve band kayması oluşudur.<sup>55</sup>

**Türev Spektrumunun Değerlendirilmesi :** Birinci ve ikinci türev spektrumunda ordinat değişimleri normal spektrumdaki ordinat değerinin büyüklüğü ile değil, eğim değişimi ile ilişkili oluşu nedeniyle türev eğrisinin absisteki konumu ile dönüm noktalarının birbirine karşı durumları karakteristik olur. Nicel analizlerde yalnızca bitişik, peşpeşe ekstrum noktaları değerlendirilerek bu iki noktanın



uzaklığı ölçülür. Özellikle geri zemin absorpsiyonunun belirlenemediği bulanık örneklere uygulanır. Uzaklık yine standartların eşdeğer piklerine çizilen teğete karşı değerlendirilerek sonuca gidilir.

- c. Pikten Sıfıra Ölçüm Yöntemi : Ölçümü yapılacak olan pikin maksimumu ile sıfır arası veya minimumu ile sıfır arası uzaklığı ölçülür. Özellikle apse göre simetrik sinyaller içeren yüksek derece türevler için üst üste çakışan eğrilerden biri sıfırdan geçtiğinde kullanılır. Bulanık örneklerde bulanıklık genellikle spektrumun kısa dalga boyu tarafına doğru artar. 1. ve 2. türevde nicel analiz için kullanılan yukarıdaki yöntemler bu artışın etkisini ortadan kaldırır.<sup>55</sup>

Türev spektrometresi ile tek boya içeren numunelerdeki boyanın kantitatif tayininde bir karışımda türev alma yoluyla bileşenlerden birine ait bir pik elde edilmesi durumunda, aynı bileşene ait bir dizi standard çözeltiden hareketle, elde edilen aynı türev dereceli spekturumlarında, aynı pik değerlendirilerek çizilmiş kalibrasyon doğruları yardımıyla karışımdaki söz konusu bileşenin nicel analizi yapılmaktadır.<sup>55</sup>

Türev spektrometresi ile çift boya içeren numunelerdeki boyanın kantitatif tayininde analizi yapılan numune iki boya maddesi içeriyor ve bu maddelerden birinin absorpsiyon yaptığı bölgede öteki yapmıyorsa, maddeleri ayırmaksızın yan yana tayin etmek mümkündür.<sup>53</sup>

## **Türev Spekturumunun Avantajları ve Dezavantajları :**

### **Avantajları**

- a. Türev çalışması orijinal spektrumun eğimleri hakkında bilgi verir ve bunun omuz noktaları ile dönüm noktalarının daha belirgin hale gelmesine neden olur. Böylece bir bileşik daha kolay ve kesin olarak tanınabilir.
- b. Çoğunlukla orijinal spektrumda elde edilen eğriler bir çok pikin üst üste gelmesi ile meydana gelmiştir. Türev alma ile bu absorpsiyon eğrileri daha şekle girer ve böylece bir arada bulunan piklerin tek tek görülmesi sağlanır.
- c. Spektrofotometrede bulanık çözeltiler ile çalışılırken çökme hızı, tanecik büyüklüğü gibi etkenlere bağlı olarak büyük oranda hata yapılırken, türev eğrilerinin hazırlanması ile bulanıklığın oluşturduğu bu olumsuz etki ortadan kaldırılabilir ve bulanık ortamlarda da çalışılabilir.
- d. Birden fazla maddenin karışım halinde bulunduğu ortamlarda ekstraksiyon ve kromatografi gibi her hangibi bir ayırma işlemine başvurulmaksızın tek tek miktarları tayin edilebilir.
- e. Reaksiyon ortamından kaynaklanan gürültü piklerinin yok edilmesini sağlar.

### **Dezavantajları**

- a. Kullanımı çok kolay olmasına karşılık pahalı spektrofotometrelere ve oldukça karmaşık bir elektronik yapıya ihtiyaç vardır.
- b. Türev spektrumlarında çok sayıda uydu pikleri görülür. Bu pikler, bir karışım ile çalışılır iken başka bileşenlerin de varlığını gösterir. Türev derecesi arttıkça bu cins piklerin sayısı da artacağı için karışıklık daha da fazla olacaktır.<sup>55, 57</sup>

### **III. MATERYAL VE METOT**

#### **III.1. Materyal**

Araştırmada, Ankara piyasasından sağlanan dört ayrı firmaya ait 10’ar adet olmak üzere 40 adet reçel, 40 adet meyve suyu, 40 adet meyveli yoğurt, bir firmaya ait 20 adet alkolsüz aromalı içecek ve iki ayrı pastaneye ait 10’ar adet olmak üzere 20 adet elma şekeri kullanıldı.

Dört ayrı firmaya ait 40 adet reçel, 40 adet meyve suyu, 40 adet meyveli yoğurt ve 20 adet alkolsüz aromalı içecek süpermarketlerden, 20 adet elma şekeri iki ayrı pastaneden olmak üzere toplam 160 numune temin edildi. Numunelerin farklı zamanlarda ve farklı seri numaralı olmalarına dikkat edildi. Meyveli yoğurt numuneleri laboratuara getirilerek hemen analiz edildi. Diğer numuneler oda sıcaklığında muhafaza edilerek en kısa sürede analiz edildi.

Seçilen numuneler Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı, Besin Analizleri Bilim Dalı araştırma laboratuarı ve Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Gıda Laboratuarında analiz edildi.

### III.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Petrol Eter	(Aldrich K No: 26,173-4)
Amonyak	(Merck K No: K1 602922)
Asetik asit (% 99)	(Merck K No: K2 94156)
Glacial asetik asit (% 99)	(Sigma K No: A-0808)
n-butanol (% 99.5, spektrometrik grade)	(Merck K No: K1 9611088)
Etanol	(Aldrich K No: 24,511-9)
Distile su	
Potasyum dihidrojen fosfat	(Merck K No: A325071 135)
Sodyum hidroksit	(Merck K No: C2 63662)
Orijinal boya standartları (% 99 saflıkta) :	Ponceau 4R, Tartrazin, Sunset Yellow F.C.F., İndigotin, Azorubin (karmoisin), Kinolin Sarısı

### III.3. Kullanılan Çözeltiler

**Stok Çözeltiler :** Her bir boya için 10 mg referans boya hassas olarak tartıldı ve 100 ml tampon çözeltide (pH:7) çözüldü. Konsantrasyonu 0.1 mg/ml'dir.

**Fosfat Tampon Çözeltisi:** 6.8 gr potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), distile su ile 500 ml'ye, 2 gr sodyum hidroksit (NaOH) distile su ile 500 ml'ye tamamlandı. 500 ml  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 291 ml NaOH karıştırıldı ve 1000 ml'ye distile su ile tamamlandı (pH:7).



Asetik Asit Çözeltisi : % 1'lik (suda)

Amonyak Çözeltisi : % 5'lik (suda)

Glacial asetik asit + n-butanol + su (30 + 30 + 30) v / v

#### **III.4. Kullanılan Alet ve Gereçler**

Balon jöjeler (50, 100, 1000, 2000 ml)

Beherler

Erlenler

Pipetler (1, 2, 5, 10 ml)

Mikropipet

Süzgeç kağıtları

Su banyosu (Memmert)

Terazi (Sartorius)

Spektrofotometre (UV-2101PC Shimadzu)

Spektrofotometre küvetleri

pH metre (Hana pH 211)

Whatman No.1 yürütme kağıdı

Yürütme tankları

Yün (yağı alınmış)

Civalı termometre

Kılcal cam boru

### **III.5. Boyaların Kalitatif Tayini**

Bütün örneklerdeki boya maddelerinin kalitatif tayininde yün boyama ve kağıt kromatografisi yöntemleri kullanıldı.<sup>48, 50</sup>

#### **III.5.1. Yün Boyama Yöntemi ile Boyaların Kalitatif Tayini**

25 gr reçel, meyveli yoğurt ve elma şekeri, 25 ml meyve suyu ve alkolsüz aromalı içecek 50 ml distile suda çözüldü. Birkaç damla asetik asit çözeltisi ile ortam asitlendirilerek yağı alınmış yün ipliklerinden bir miktar kondu. Beher 60 °C'deki su banyosuna konarak ortamdaki boyaların yün iplikleri tarafından absorblanması için yarım saat kadar tutuldu. Daha sonra yün iplikleri beherden alınarak distile su ile yıkandı.

Reçel, meyveli yoğurt, meyve suları ve sarı renkli alkolsüz aromalı içeceklerde boyalar su ile yıkama sonucu akarak yünü terk etti.

Kırmızı renkli alkolsüz aromalı içecekler ve elma şekerlerinde, boyalar su ile yıkama sonucu yünü terk etmeyerek yün tarafından tutuldu. Boyalı yün iplikleri bir behere kondu ve üzerine 10 ml % 5'lik NH<sub>3</sub> çözeltisi ilave edilerek su banyosunda 30 dk ısıtıldı. Sentetik boyalar amonyaklı ortamda yün ipliklerinden ayrıldı. Boyalar kuruluğa kadar su banyosunda tutuldu ve cinsi kağıt kromatografi yöntemi ile tespit edildi.

### **III.5.2. Kağıt Kromatografisi Yöntemi ile Boyaların Kalitatif Tayini**

Yürütme tankları analizde kullanılmadan önce 2-3 saat süre ile n-butanol, etanol ve su (30 + 30 + 30) v/v karışımından oluşan yürütme çözeltisi ile doymuş hale getirildi.

Yün boyama yöntemi sonunda sentetik boya varlığı tespit edilen ve kuruluğa kadar su banyosunda tutulan boyalar kılcal borular ile alınıp Whatman No.1 kağıtlarına 2 cm aralıklarla spotlandı. Standard boyaların %0.2'lik çözeltileri de spotlanarak havada 1-2 dk kurutuldu. Kurutma işlemini takiben hazırlanan kromatografi kağıdı yürütme tankına yerleştirildi. Yürütme tamamlandıktan sonra numune ve Standard boyalara ait beneklerin Rf değerleri karşılaştırılarak boyaların cinsi tespit edildi.

Kalitatif olarak yapılan kağıt kromatografisi sonucunda elma şekerlerinde sentetik boya olan Ponceau 4R'nin tek başına; alkolsüz aromalı içeceklerin 11 adedinde Ponceau 4R ve Azorubin adlı boyaların birlikte kullanıldığı tespit edildi. Cinsi saptanan boyalara ait numuneler miktar tayini için türev spektroskopisi yöntemi ile analiz edildi.

### **III.6. Boyaların Kantitatif Tayini**

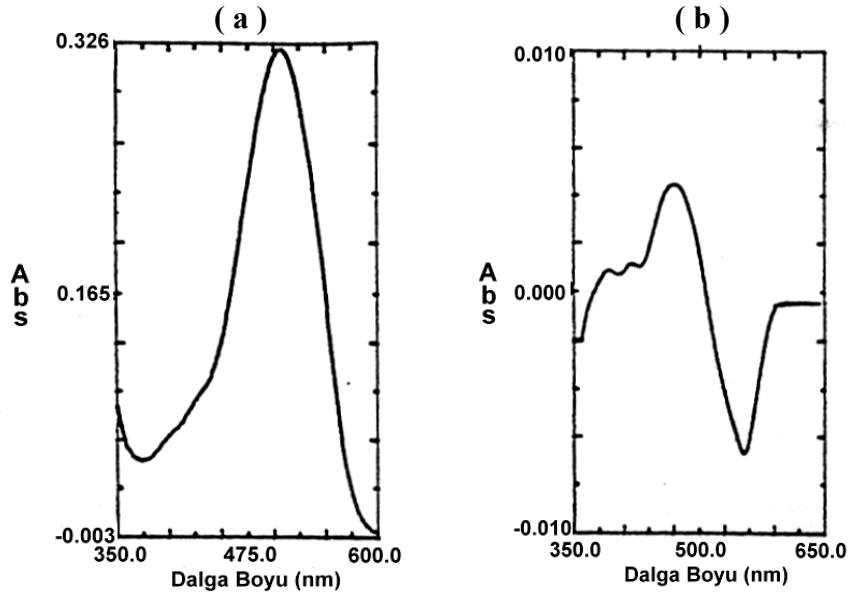
Tek boya içeren numunelerin kantitatif analizinde Fell ve Allan'ın<sup>58</sup>, birden fazla boya içeren örneklerde Nevado ve arkadaşlarının<sup>59</sup> uyguladığı birinci derece türev spektroskopisi yöntemleri kullanıldı.

### III.6.1. Tek Boya İçeren Numunelerin Kantitatif Tayini

Kalitatif tayinler sonucunda elma şekerlerinde Ponceau 4R adlı gıda boyasının bulunduğu tespit edildi.

Ponceau 4R için Standard Kalibrasyon Eğrisinin hazırlanmasında yöntemine göre, referans boyadan 0.01gr tartıldı ve tampon çözelti ile 100ml'ye tamamlandı. Hazırlanan 0.1 mg/ml'lik stok çözeltisinden 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml alındı ve 50 ml'lik balon jöjelerde hacme tamponla tamamlandı.

Hazırlanan bu çözeltilerin her biri için türev spektrumları alındı. Ponceau 4R'nin 470nm'de maksimum, 554nm'de minimum karakteristik pik verdiği noktalarda absorbans değerleri ölçüldü. Ölçülen değerler pikten pike ölçüm yöntemi kullanılarak hesaplandı. Bulunan değerler ve hesaplanan absorbans değerleri Tablo 8'de verildi.



Şekil 3. Ponceau 4R'nin (a) Temel Spektrumu ve (b) Birinci Türev Spektrumu

**Tablo 8.** 470nm ve 554nm’de Ponceau 4R için Konsantrasyon ve Absorbans Değerleri

<b>Konsantrasyon (mg/ml)</b>	<b>470 nm’de Abs. Değeri   a  </b>	<b>554 nm’de Abs. Değeri   b  </b>	<b>Hesaplanan Abs. Değeri   a   +   b  </b>
0,0	0,0000	0,000	0,0000
0,1	0,0010	-0,001	0,0020
0,2	0,0020	-0,002	0,0040
0,3	0,0024	-0,003	0,0054
0,4	0,0030	-0,004	0,0070
0,5	0,0040	-0,005	0,0090

Hesaplanan absorbans değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizildi. (Şekil 4). Alet, kalibrasyonu otomatik olarak yaptığından Denklem 3.1’deki sabitleri hesaplayarak direkt olarak verdi.

$$\text{Con} = k_1 * \text{Abs} + k_0 \dots\dots\dots\text{Denklem 3.1}$$

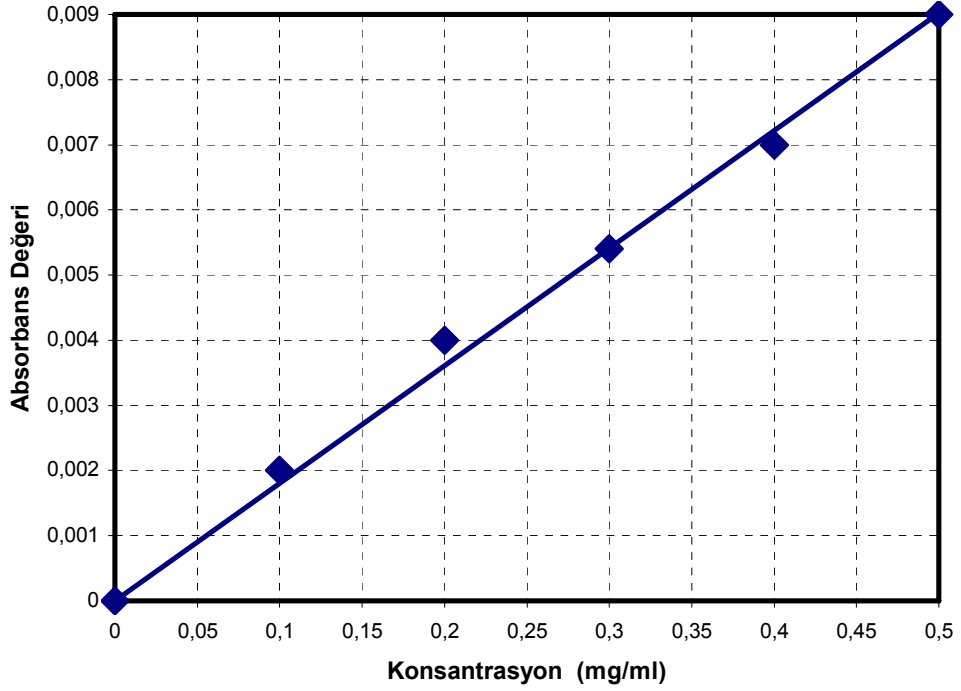
Con : Konsantrasyon değeri

Abs : Absorbans değeri

$k_1$  : Curve sabiti

$k_0$  : Hata payı

### Ponceau 4R Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 4. Ponceau 4R Kalibrasyon Eğrisi

Ponceau 4R için yukarıdaki değerler şu şekilde bulundu.

$$k_1 = 55,4 \text{ ve } k_0 = 0$$

$$\text{Cons} = 55,4 * \text{Abs} \dots\dots\dots \text{Denklem 3.2}$$

Çalışmada kullanılan numunelerin her birinden 1 gr tartıldı. Tampon çözelti ile 50 ml'ye tamamlandı. Ponceau 4R'nin maksimum ve minimum karakteristik pik verdiği 470 ve 554 nm'lerde absorbans değerleri ölçüldü. Ölçülen değerler pikten pike ölçüm yöntemi kullanılarak hesaplandı. Denklem 3.2'e göre konsantrasyon değerleri bulundu. Bulunan değerler 1gr örnekteki boya konsantrasyonları olduğundan 1000 ile çarpılarak kg'daki boya miktarları tespit edildi.

### III.6.2. Çift Boya İçeren Numunelerin Kantitatif Tayini

Kalitatif tayinler sonucunda alkolsüz aromalı içeceklerde Ponceau 4R ve Azorubin adlı gıda boyalarının birlikte bulunduğu tespit edildi.

Ponceau 4R ve Azorubin için Denklem 3.1'de verilen curve sabiti ve hata payının bulunabilmesi amacıyla referans boyalardan 0.01gr tartıldı ve tampon çözelti ile 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan 0.1 mg/ml'lik stok çözeltilerden 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml alındı ve 50 ml'lik balon jöjelerde hacme tamponla tamamlandı.

Ponceau 4R ve Azorubin'i ikili karışımlarının normal UV-VIS Spektrumları alındığında birbirine çakışan ve omuz veren pikleri elde edildi. (Şekil 5- a, b, c). Dolayısıyla bu boyaların miktar tayini bu şartlarda sağlıklı olmamaktadır.

Normal spektrumları alınan bu ikili karışımların türev modunda tek tek birinci dereceden türev spektrumları alındı. Elde edilen türev eğrileri birbirine çakıştırıldı. (Şekil 5- d) Normal spektrumlarında omuz vererek veya üst üste çakışarak pik veren bu ikili boya karışımlarının türev eğrileri birbirinden ayrı olarak elde edildi.

Kantitatif tayinlerde dikkat edilmesi gereken husus, boyalardan birinin türev spektrumu sıfırdan geçerken diğer boyanın maksimum pik verdiği noktanın tespit edilmesidir.<sup>55</sup>

Ponceau 4R ve Azorubin içeren ikili boya karışımının standart çalışma solüsyonlarına ait birinci dereceden türev eğrileri alındığında 515nm'de Azorubin'nin 0'dan geçtiği, Ponceau 4R'in değer aldığı görüldü. Aynı şekilde 599nm'de Ponceau 4R'nin 0'dan geçtiği, Azorubin'nin değer aldığı görüldü. (Şekil 5- d)

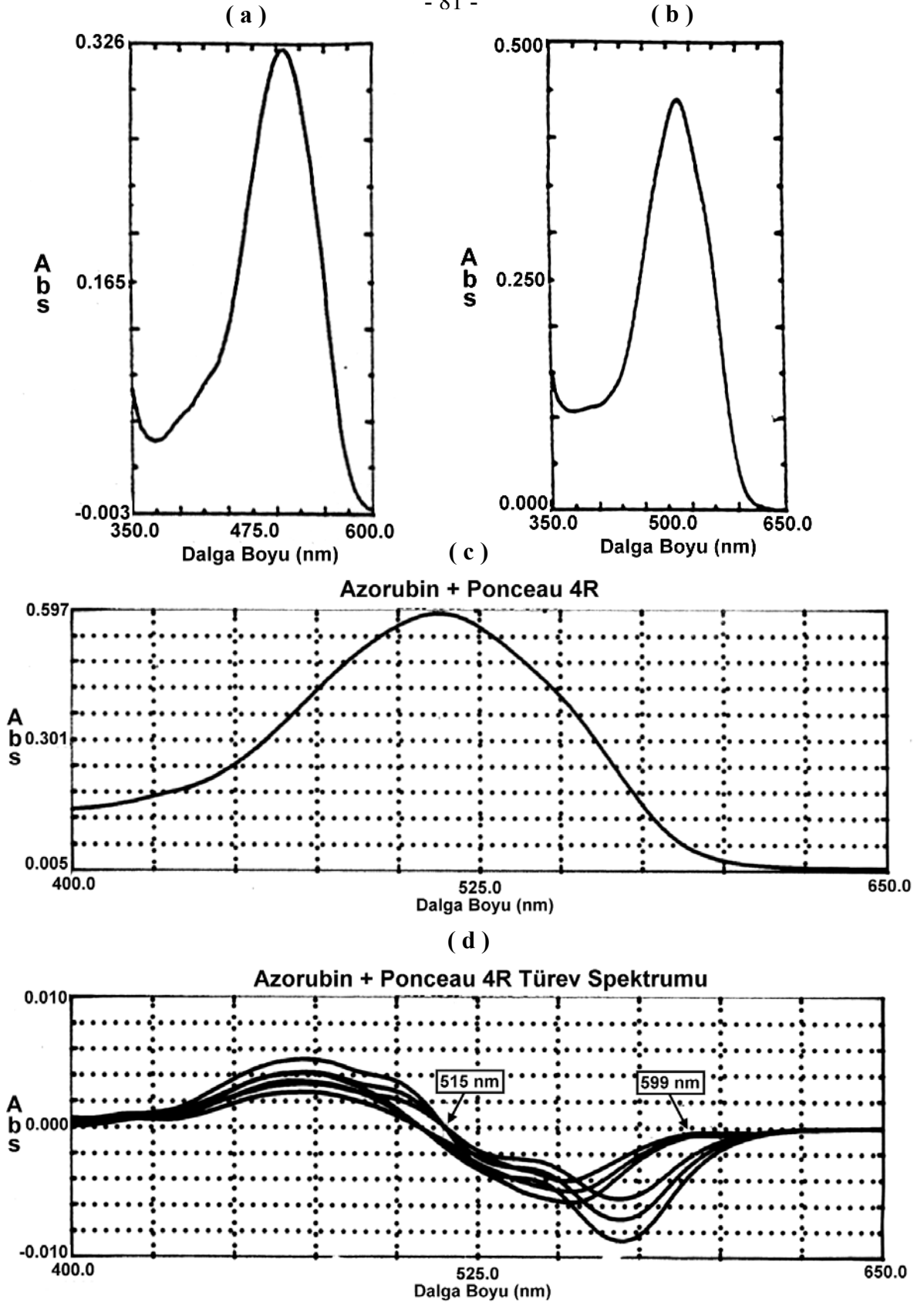
Ponceau 4R için 515 nm'de okunan absorbans değerleri Tablo 9'da verilmiştir. Bu değerler kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizildi. (Şekil 6). Alet, kalibrasyonu otomatik olarak yaptığından Denklem 3.1'deki sabitleri hesaplayarak direkt olarak verdi.  $k_1 = 267$  ve  $k_0 = 0$

$$\text{Cons} = 267 * \text{abs} \dots\dots\dots \text{Denklem 3.3}$$

**Tablo 9.** 515nm'de Ponceau 4R için Konsantrasyon ve Absorbans Değerleri

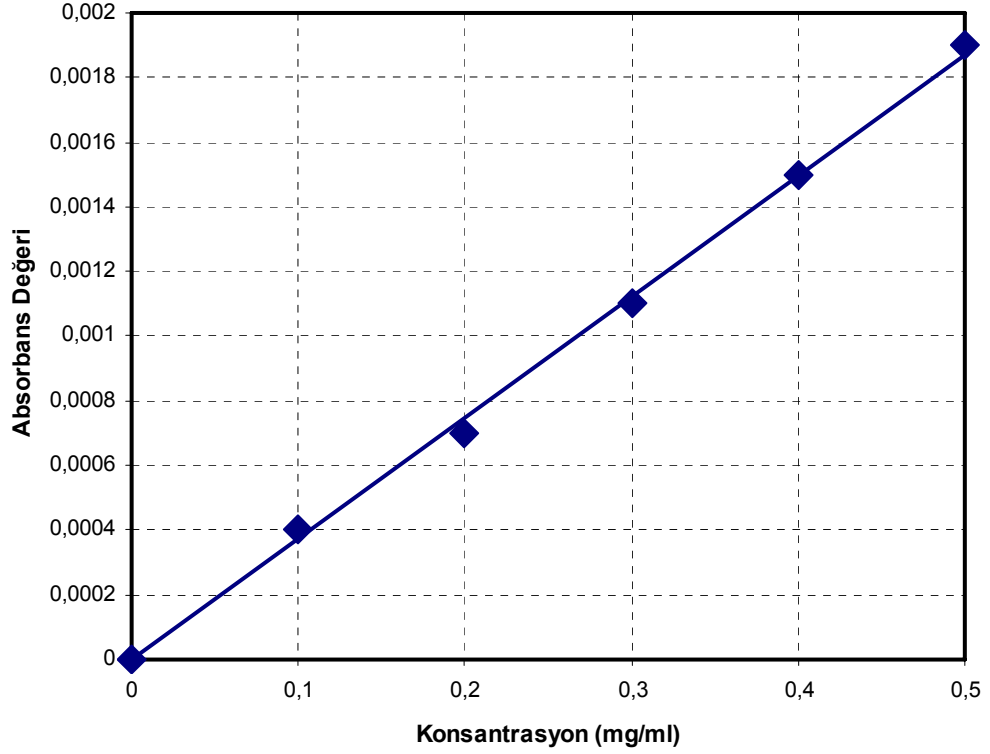
<b>Konsantrasyon (mg/ml)</b>	<b>Abs. Değeri</b>
0,0	0,0000
0,1	0,0004
0,2	0,0007
0,3	0,0011
0,4	0,0015
0,5	0,0019





Şekil 5. (a) Ponceau 4R'nin Temel Spektrumu, (b) Azorubin'in Temel Spektrumu, (c) Ponceau 4R ve Azorubin karışımının Temel Spektrumu, (d) Ponceau 4R ve Azorubin'in Birinci Türev Spektrumlarının bir arada gösterilmesi.

**Ponceau 4R'nin 515nm'deki Kalibrasyon Eğrisi**



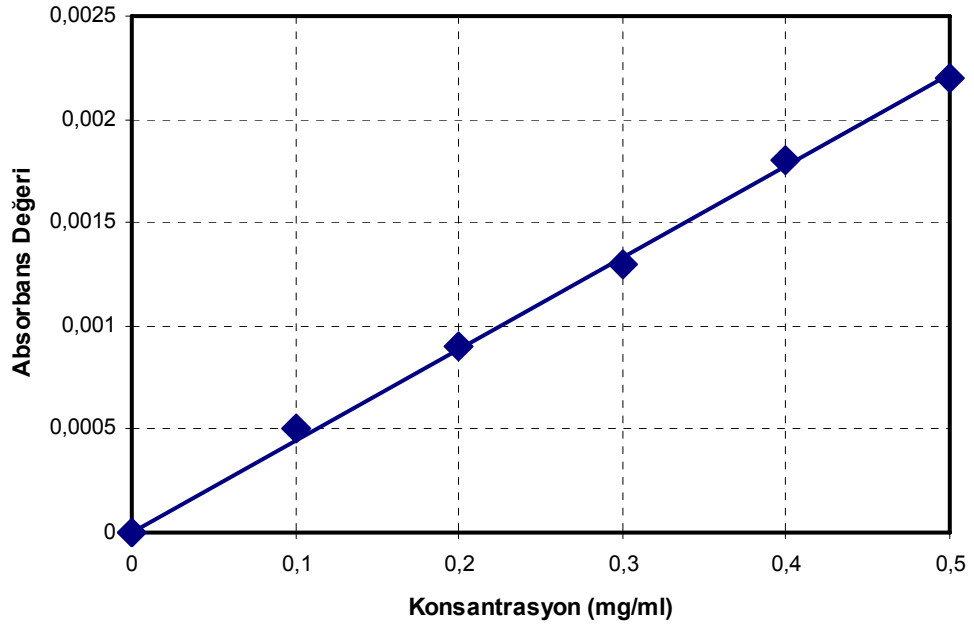
Azorubin için 599 nm'de okunan absorbans değerleri Tablo 10'da verilmiştir. Bu değerler kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizildi. (Şekil 7). Alet, kalibrasyonu otomatik olarak yaptığından Denklem 3.1'deki sabitleri hesaplayarak direkt olarak verdi.  $k_1 = 225,4$  ve  $k_0 = 0$

$$\text{Cons} = 225,4 * \text{abs} \dots\dots\dots \text{Denklem 3.4}$$

**Tablo 10.** 599nm’de Azorubin için Konsantrasyon ve Absorbans Değerleri

<b>Konsantrasyon (mg/ml)</b>	<b>Abs. Değeri</b>
0,0	0,0000
0,1	0,0005
0,2	0,0009
0,3	0,0013
0,4	0,0018
0,5	0,0022

**Azorubin'in 599nm'deki Kalibrasyon Eğrisi**



**Şekil 7.** Azorubin’in 599nm’deki kalibrasyon eğrisi.

Çalışmada kullanılan numunelerin her birinden 1 ml alındı. Tampon çözelti ile 50 ml’ye tamamlandı. Ponceau 4R için 515nm, Azorubin için 599nm’de absorbans değerleri ölçüldü.

Ponceau 4R için Denklem 3.2, Azorubin için Denklem 3.3 kullanılarak konsantrasyon değerleri bulundu. Bulunan değerler 1ml örnekteki boya konsantrasyonları olduğundan 1000 ile çarpılarak litre'deki boya miktarları tespit edildi.

Bulunan değerler toplanarak numunelerdeki boya miktarı tespit edildi.

### III.7. Boya Tayin Metodunun Tekrarlanabilirliği

Kullanılan metodun tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla aynı gün içerisinde, çok kısa aralıklarla 3 ayrı elma şekeri numunesi üzerinde çalışıldı. Kullanılan metot kantitatif boya tayin metodunun aynısı olup sonuçlar Tablo 11'de verildi.

**Tablo 11.** Boya Tayin Metodunun Tekrarlanabilirliği

	<b>1. Örnek Boya Miktarı (mg/kg)</b>	<b>2. Örnek Boya Miktarı (mg/kg)</b>	<b>3. Örnek Boya Miktarı (mg/kg)</b>
<b>1. Analiz</b>	2205	2249	2188
<b>2. Analiz</b>	2199	2233	2177

### III.8. Metodun Doğruluğu ve Verimin Hesaplanması

Kullanılan metodun doğruluğunu ispatlamak için bilinen miktarlarda boya ilave edilen elma şekeri numuneleri kullanıldı. 3 farklı numunede çalışma yapıldı. Kullanılan metot boya tayini için kullanılan metodun aynısıdır. Elma şekeri

numunelerine 0.1, 0.2, 0.3 mg/ml standart boyalardan 1'er ml ilave edilerek ölçüm yapıldı.

**Tablo 12.** Standart İlave Edilen Elma şekerlerine Ait Boya Konsantrasyonları ve % Verim Değerleri

<b>Elma Şekerlerindeki Boya Miktarı (mg / kg)</b>	<b>İlave Edilen Boya Miktarı (mg / kg)</b>	<b>Ölçülen Boya Miktarı (mg / kg)</b>	<b>% Verim</b>
2238	100	2337	99.96
2238	200	2471	101.35
2238	300	2601	102.48
Ortalama : 101.26			

### III.9. İstatistiksel Analizler

Ankara bölgesindeki iki ayrı pastaneden (A,B) sağlanan elma şekerlerinde ve C firmasına ait alkolsüz aromalı içeceklerin her numunesinde ve standartlarda çift ölçüm yapılarak çalışıldı. İki ayrı pastaneden sağlanan (A,B) elma şekerlerindeki boya miktarları mg/kg ve marketlerden sağlanan bir firmaya ait (C) alkolsüz aromalı içecek örneklerindeki boya miktarları mg/l cinsinden hesaplandı. İstatistiksel değerlendirmeler bilgisayarda SPSS 13.0 versiyon istatistiksel programda yapıldı.

Pastaneler arası kontroller Student-t testi ile yapıldı. A ve B pastanelerine ait elma şekerlerindeki boya miktarları ortalamalarının ve C firmasına ait alkolsüz

aromalı içecek numunelerindeki boya miktarlarının standart değerlerle karşılaştırılmasında One Sample-t testi uygulandı.<sup>60</sup>

Numunelerin analiz sonuçlarının dağılımı ve diğer grafikler Excel-5.0 bilgisayar paket programında hazırlandı.

#### **IV. BULGULAR**

Çalışmada kullanılan 4 ayrı firmadan sağlanan meyve suları, reçeller ve meyveli yoğurtlar olmak üzere 120 adet numunede, kalitatif analizler sonucu sentetik gıda boyası varlığına rastlanmamıştır.

2 ayrı pastaneden temin edilen toplam 20 adet elma şekerinde kalitatif analizler sonucu Ponceau 4R adlı gıda boyasının olduğu tespit edilmiştir.

Aynı firmaya ait 20 adet alkolsüz aromalı içeceğin portakal ve şeftali aromalı 9 adedinde sentetik gıda boyasına rastlanmamıştır. Diğer çilek ve vişne aromalı 11 adet alkolsüz aromalı içecek numunesinde, kalitatif analizler sonucu Ponceau 4R ve Azorubin adlı sentetik gıda boyalarının bir arada bulunduğu tespit edilmiştir.

Araştırmada Ankara piyasasından sağlanan reçel, meyve suyu, meyveli yoğurt, elma şekeri ve alkolsüz aromalı içecek olmak üzere toplam 160 gıda numunesindeki boya çeşit ve miktarları Tablo 13'te, elma şekeri ve alkolsüz aromalı içecek numunelerinde tespit edilen boya değerleri Tablo 14 ve Tablo 15'te, numunelerde tespit edilen gıda boyası miktarlarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 16'da, pastanelerden temin edilen elma şekeri numunelerindeki gıda boyası değerlerinin karşılaştırılması Tablo 17'de, numunelerdeki ortalama gıda boyası miktarlarının standart değerlerle

karşılaştırılması Tablo 18’de, Numunelerde tespit edilen boya miktarlarının dağılım grafikleri Şekil 8 ve Şekil 9’da verilmiştir.

**Tablo 13.** Reçel, Meyve Suyu, Meyveli Yoğurt, Elma Şekeri ve Alkolsüz Aromalı İçecek Numunelerinde Tespit Edilen Sentetik Gıda Boyası Çeşitleri ve Miktarları

Türü	Numune Cinsi	Ponceau 4R	Azorubin	Sunset Yellow F.C.F	Indigotin	Tartrazin	Kinolin Sarısı
Reçel	Ayva Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Çilek Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Vişne Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Gül Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Ahududu Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Kayısı Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Şeftali Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	İncir Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Böğürtlen Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Karadut Reçeli	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
Meyve Suyu	Portakal Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Portakal Suyu	-	-	-	-	-	-



Meyve Suyu	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Kayısı Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Kayısı Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Şeftali Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Elma Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Vişne Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Karışık Meyve Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Kuşburnu Suyu	-	-	-	-	-	-
"	Üzüm Suyu	-	-	-	-	-	-
"	Ananas Suyu	-	-	-	-	-	-
Meyveli Yoğurt	Armut - Elma Bögürtlen	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Çilek	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Frambuaz	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-

Meyveli Yoğurt	Frambuaz	-	-	-	-	-	-
"	Karışık	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Kayısı	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Muz	-	-	-	-	-	-
"	Muz	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Şeftali	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Şeftali - Armut	-	-	-	-	-	-
"	Şeftali - Kayısı	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
Elma Şekeri	Elma Şekeri	2227,00 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2238,16 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2221,54 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2199,38 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2227,08 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2249,40 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2232,62 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2243,70 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2227,08 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	2587,18 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	598,32 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	581,70 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	592,78 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	587,24 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	587,24 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	598,32 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	570,62 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	576,16 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	565,08 mg/kg	-	-	-	-	-
"	"	587,24 mg/kg	-	-	-	-	-
Alkolsüz Aromalı İçecek	Portakal Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Şeftali Suyu	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	"	-	-	-	-	-	-
"	Çilek	49,240 mg/l	-	-	-	-	-
"	"	49,240 mg/l	-	-	-	-	-
"	"	49,240 mg/l	-	-	-	-	-
"	"	49,240 mg/l	-	-	-	-	-
"	"	49,240 mg/l	-	-	-	-	-
"	"	49,241 mg/l	-	-	-	-	-

"	Vişne	49,241 mg/l	-	-	-	-
"	"	49,241 mg/l	-	-	-	-
"	"	49,241 mg/l	-	-	-	-
"	"	49,241 mg/l	-	-	-	-
"	"	49,241 mg/l	-	-	-	-

Çalışmada kullanılan ve 2 ayrı pastaneden sağlanan (A ve B pastanesi) toplam 20 adet elma şekerlerinde tespit edilen boya değerleri Tablo 14'de verilmiştir.

Çalışmada kullanılan C firmasından temin edilen ve kalitatif analizlerde gıda boyası içerdiği saptanan toplam 11 adet vişne ve çilek aromalı alkolsüz aromalı içeceklerde saptanan boya değerleri Tablo 15'te verilmiştir.

**Tablo 14.** A ve B Pastanesine Ait Elma Şekeri Numunelerinde Tespit Edilen Boya Değerleri (mg/kg)

<b>Örnek No</b>	<b>A (mg / kg)</b>	<b>B (mg / kg)</b>
1	2227.00	598.32
2	2238.16	581.70
3	2221.54	592.78
4	2199.38	587.24
5	2227.08	587.24
6	2249.40	598.32
7	2232.62	570.62
8	2243.70	576.16
9	2227.08	565.08
10	2587.18	587.24

A ve B pastanelerinden temin edilen 20 adet elma şekerinde ve C firmasından temin edilen 11 adet alkolsüz aromalı içecek numunelerinde tespit edilmiş olan boya miktarlarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 16’da verilmiştir.

**Tablo 15.** C Firmasına Ait Alkolsüz Aromalı İçecek Numunelerinde Tespit Edilen Boya Değerleri (mg/l)

Örnek No	C (mg / l)
1	49.240
2	49.240
3	49.240
4	49.240
5	49.240
6	49.241
7	49.241
8	49.241
9	49.241
10	49.241
11	49.241

**Tablo 16.** A ve B Pastanelerine Ait Elma Şekerlerindeki ve C Firmasından Temin Edilen Alkolsüz Aromalı İçecek Numunelerindeki Gıda Boyaları Değerleri

	n	$\bar{X} \pm S.H$	Min.	Max.
A	10	2265.3140 $\pm$ 36.0215	2199.38	2587.18
B	10	584.4700 $\pm$ 3.5281	565.08	598.32
C	11	49.2405 $\pm$ 0.0002	49.240	49.241

Tablo 16 incelendiğinde, A, B pastanelerine ait en düşük ve en yüksek değerler bakımından boya değerlerinin sırasıyla 2199.38-2587.18 mg/kg ve 565.08-598.32 mg/kg sınırları içerisinde, marketlerden sağlanan firmaya ait (C) alkolsüz aromalı içecek numunelerinde değerlerin 49.240-49.241 mg/l sınırları içerisinde değiştiği görülmüştür.

A, B pastanelerine ait elma şekeri numunelerine ve C firmasının alkolsüz aromalı içecek numunelerine ait ortalama boya değerleri ise sırasıyla  $2265.3140 \pm 36.0215$  mg/kg,  $584.4700 \pm 3.5281$  mg/kg ve  $49.2405 \pm 0.0002$  ml/lt olarak bulunmuştur.

**Tablo 17.** İki Ayrı Pastaneden Sağlanan (A,B) Elma Şekeri Numunelerinde Gıda Boyası Değerlerinin Karşılaştırılması (mg/kg)

Grup	n	$\bar{X} \pm S.H$	Min	Max
A	10	$2265.3140 \pm 36.0215$	2199.38	2587.18
B	10	$584.4700 \pm 3.5281$	565.08	598.32
t:-46.440***				

\*\*\*:  $p < 0.001$

Tablo 17 incelendiğinde boya için A ile B firmaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.001$ ).

**Tablo 18.** A ve B Pastanelerine Ait Elma Şekeri Numunelerinin Ortalamalarının ve C Firmasına Ait Alkolsüz Aroma İçeceği Numunelerinin Ortalamalarının Standart Değerlerle Karşılaştırılması

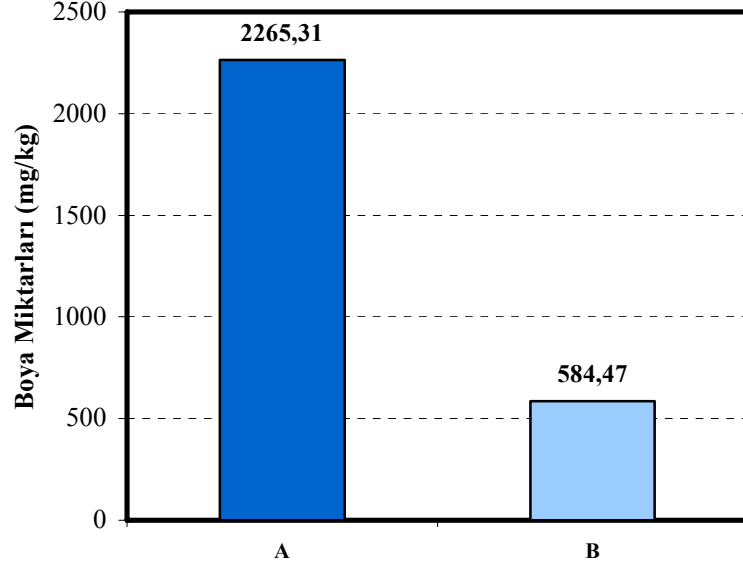
Grup	n	$\bar{X} \pm S.H$	t
A	10	2265.3140 $\pm$ 36.0215	49.007***
B	10	584.4700 $\pm$ 3.5281	23.942***
C	11	49.2405 $\pm$ 0.0002	-4823,184***

\*\*\*: p<0.001

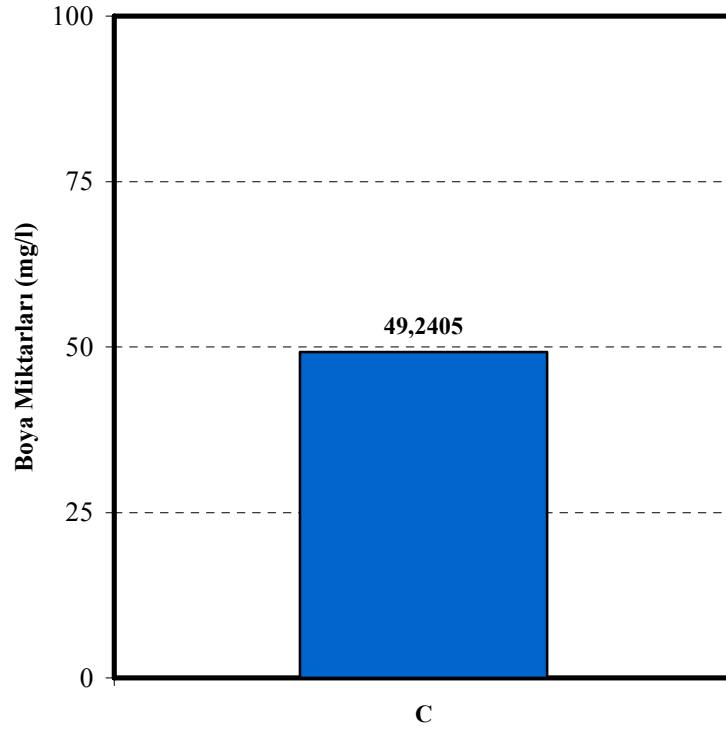
Tablo 18 incelendiğinde, iki ayrı pastaneden sağlanan (A, B) ve C firmasına ait alkolsüz aromalı içecek numunelerindeki boya değerlerinin sırasıyla A pastanesi için 2265.3140  $\pm$  36.0215 mg/kg, B pastanesi için 584.4700  $\pm$  3.5281 mg/kg ve C firmasına ait alkolsüz aromalı içecekler için 49.2405  $\pm$  0.0002 mg/l olduğu görülmektedir.

A, B pastanelerinden alınan elma şekeri numunelerindeki ortalama boya değerleri, maksimum değer olarak belirtilen 500 mg/kg'dan daha yüksektir ve fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.001).

C firmasına ait alkolsüz aromalı içecek numunelerinin ortalamaları standart değerle (50 mg/l) karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak önemlidir. (p< 0.001).



Şekil 8. Elma Şekeri Numunelerinde Tespit Edilen Boya Miktarlarının Pastanelere Göre Dağılımı



Şekil 9. Alkolsüz Aromalı İçecek Numunelerinde Tespit Edilen Boya Miktarları.

## V. TARTIŞMA

Araştırmada, Ankara piyasasından sağlanan dört ayrı firmaya ait, her firmadan 10'ar adet olmak üzere 40'ar adet meyve suyu, reçel ve meyveli yoğurt olmak üzere toplam 120 numunede kalitatif analiz sonucu sentetik gıda boyasına rastlanmamıştır ve kantitatif analizlere geçilmemiştir. İki ayrı pastaneden sağlanan toplam 20 adet elma şekerinde kalitatif ve kantitatif analizler sonucu Ponceau 4R sentetik gıda boyası tespit edilmiştir. Aynı firmaya ait toplam 20 adet alkolsüz aromalı içeceğin portakal ve şeftali aromalı olanlarında kalitatif analizler sonucu sentetik gıda boyalarına rastlanmamıştır. Diğer 11 adet çilek ve vişne aromalı numunede kalitatif ve kantitatif analizler sonucu Ponceau 4R ve Azorubin adlı sentetik gıda boyalarının her ikisi de tespit edilmiştir.

Analizi yapılan gıda maddelerindeki sentetik gıda boyası miktarları Tablo 13'te, elma şekeri numunelerinde tespit edilen Ponceau 4R sentetik gıda boyasının miktarları Tablo 14'de, alkolsüz aromalı içeceklerde tespit edilen Ponceau 4R ve Azorubin sentetik gıda boyaları miktarları Tablo 15'de, numunelerde tespit edilmiş olan sentetik gıda boyalarına ilişkin ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değerler Tablo 16'da, iki ayrı pastaneden sağlanan elma şekeri numunelerindeki boya değerlerinin karşılaştırılması Tablo 17'de, elma şekeri numunelerindeki sentetik boya miktarlarının (mg/kg) ortalama değerlerinin standart değerle (500 mg/kg) karşılaştırılması ve alkolsüz aromalı içecek numunelerindeki sentetik boya miktarlarının (mg/l) ortalama değerlerinin standart değerle (50 mg/l) karşılaştırılması Tablo 18'de, elma şekeri numunelerindeki boya



miktarlarının dağılım grafikleri Şekil 8’de, alkolsüz aromalı içecek numunelerindeki boya miktarlarının dağılım grafikleri Şekil 9’da verilmiştir.

Belirli konsantrasyonlarda standartların numunelere ilavesiyle yapılan geri elde etme denemeleri olumlu sonuç vermiştir. Çalışmada elma şekeri numunelerine 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg konsantrasyonlarındaki standart boya ilave edilerek hesaplanan geri kazanım ortalama %101.26 olarak bulunmuştur.

Ankara piyasasından temin edilen elma şekerleri, meyve suları, meyveli yoğurtlar, reçeller ve alkolsüz aromalı içeceklerde sentetik boya varlığının ve miktarlarının belirlenmesi amacıyla, kalitatif tayinde yün boyama ve kağıt kromatografisi yöntemi, kantitatif tayinde ise birinci derece türev spektrofotometri yöntemi kullanılmıştır. Türev Spektroskopisinin prensibi klasik absorpsiyon spektrumlarının yerine türev spektrumlarının kullanılmasıdır. Türev çalışması orijinal spektrum hakkında bilgi verir ve bir bileşiğin daha kolay ve kesin olarak tanınmasını sağlayabilir<sup>33,34</sup>.

Araştırma sonuçları pastanelere göre incelendiğinde; A pastanesine ait elma şekeri numunelerinin minimum 2199.38 mg/kg, maksimum 2587.18 mg/kg ve ortalama  $2265.3140 \pm 36.0215$  mg/kg Ponceau 4R gıda boyası içerdiği görülmektedir (Tablo 16). Bu pastaneye ait elma şekeri numunelerindeki ortalama boya miktarı standart değer (500 mg/kg) ile karşılaştırıldığında (Tablo 18) istatistiksel olarak fark önemli ( $p < 0.001$ ) bulunmuştur.

B pastanesine ait elma şekeri numuneleri minimum 565.08 mg/kg, maksimum 598.32 mg/kg ve ortalama  $584.4700 \pm 3.5281$  mg/kg Ponceau 4R gıda boyası içermektedir (Tablo 16). Bu pastaneye ait elma şekeri numunelerindeki ortalama boya miktarı standart değer (500 mg/kg) ile karşılaştırıldığında (Tablo 18) istatistiksel olarak fark önemli ( $p < 0.001$ ) bulunmuştur.

C firmasına ait alkolsüz aromalı içecek numuneleri minimum 49.240 mg/l, maksimum 49.241 mg/l ve ortalama  $49.2405 \pm 0.0002$  mg/l Ponceau 4R ve Azorubin gıda boyası içermektedir (Tablo 16). Bu firmaya ait alkolsüz aromalı içecek numunelerindeki ortalama boya miktarı değerlerinin standart değerden (50 mg/l) düşük olduğu görülmüştür (Tablo 18) ve istatistiksel olarak fark önemli ( $p < 0.001$ ) bulunmuştur.

A ve B pastanelerinden temin edilen elma şekeri numunelerine ait gıda boyası ortalama değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında (Tablo 17) aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.001$ ) bulunmuştur.

A pastanesinin gıda boyası değerleri B pastanesinin gıda boyası değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunan fark, üreticilerin bilinçsizce boya kullanımından kaynaklanmaktadır.

Reçeller, meyve suları ve meyveli yoğurtlarda gıda boyası tespit edilememiştir. Bu gıdalardaki renkler meyvelerin kendi doğal boyalarından kaynaklanabilir. Türk Gıda Kodeksi'nde<sup>9</sup> Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler

Tebliğine göre, bu gıda maddelerine sentetik gıda boyası katılmasının yasak olduğu belirtilmektedir ve üretici firmaların bunu dikkate alarak sentetik gıda boyası kullanmadıkları görülmüştür.

A ve B pastanelerinden temin edilen elma şekeri numunelerinde ortalama boya değerlerinin Türk Gıda Kodeksinde belirtilen sınır değerden yüksek olduğu ve farklılığın önemli olduğu görülmüştür. Bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olması üretim aşamasında bilinçsizce gıda boyası kullanımından kaynaklanabilir.

C firmasından temin edilen alkolsüz aromalı içecek numunelerinde boya ortalama değerlerinin Türk Gıda Kodeksinde belirtilen standart değerden düşük olduğu ve bu farklılığın önemli olduğu görülmüştür. Türk Gıda Kodeksi'nde<sup>9</sup>; alkolsüz aromalı içeceklerde Azorubin ve Ponceau 4R adlı gıda boyalarının tek başına veya birlikte kullanımlarına izin verilen maksimum düzeyi 50 mg /l olarak belirtilmiştir. Alkolsüz aromalı içeceklerde kullanılan gıda boyalarının Türk Gıda Kodeksinde belirtilen miktarları geçmeyecek şekilde kullanıldığı görülmüştür.

Yentür ve Karakaya<sup>32</sup> 1985 yılında bazı gıda boyalarında yaptıkları araştırmada, 25 şeker örneğinin 11'inde kullanımı yasaklanan Ponceau 3R, Ponceau SX, Brilliant Blue F.C.F ve Amaranth gıda boyalarını tespit ettiklerini belirtmişlerdir. 29 dondurma numunesinin 16 adedinde çeşitli sentetik boyaların varlığını bildirmişlerdir.

Topsoy<sup>51</sup> 1990 yılında akide şekerleri, kuru içecek tozları ve meyveli dondurmalar olmak üzere toplam 190 numunede boya varlığını araştırmıştır. 80 akide şekerinden 25 tanesinde Tartrazin, 20 adedinde Ponceau 4R, 15 tanesinde Eritrosin 19 tanesinde Sunset Yellow 5 tanesinde İndigotin 3 tanesindedede Patent Blue 5 bulduğunu bildirmiştir. 60 adet yapay içecek tozundan 24 tanesinde Tartrazin, 21 tanesinde Sunset Yellow, 18 tanesinde Ponceau 4R ve 5 tanesinde İndigotin tespit etmiştir. Ayrıca 50 adet dondurma numunesinin 11 tanesinde Tartrazin 20 tanesinde Ponceau 4R 6 tanesinde Eritrosin ve 2 tanesinde Tartrazin+İndigotin bulunduğunu belirtmiştir.

Yaman<sup>8</sup> 1996 yılında toplam 263 adet reçel, puding, şeker ve yapay içecek tozu numunesinde sentetik gıda boyası varlığını araştırmıştır. Reçel ve pudinglerin kalitatif analizlerinde sentetik boya varlığına rastlamamıştır. 89 Şeker numunesinin 3 adedinde şekerlerde kullanımı yasaklanan Eritrosinin varlığına rastlamıştır. Ayrıca şekerlerin 8 adedinde Ponceau 4R ,14 adedinde Tartrazin ve 1 numunede Azorubin miktarının sınır değerlerin üzerinde olduğunu belirtmiştir. 74 içecek tozu numunesinin 7 adedinde Ponceau 4R, 4 adedinde Tartrazin miktarlarının sınır değerlerin üzerinde kullanıldığını tespit etmiştir. Sunset Yellow F.C.F gıda boyasının şeker ve içecek tozlarında sınır değerlerinin üstünde olduğunu ve karışık boya içeren 6 adet içecek tozu numunesinde de tüm boyaların sınır değerlerinin üzerinde olduğunu belirtmiştir.

Ekşi<sup>22</sup> 1996 yılında Ankara piyasasından temin ettiği toplam 100 adet pasta süsü, pamuk şeker, elma ve yalama şekerlerde sentetik boya varlığını

araştırmıştır. Elma ve yalama şekerlerde 138-742 mg/kg arasında Ponceau 4R tespit ettiğini bildirmiştir. Pamuklu şekerlerde 91-128 mg/kg arasında Tartrazin ve 2.4 ile 6.08 mg/kg arasında Sunset Yellow F.C.F bulunduğunu belirtmiştir. Pasta süslerinde 11-487 mg/kg arasında Tartrazin, 74-867 mg/kg arasında Ponceau 4R ve 34-165 mg/kg arasında İndigotin varlığını belirtmiştir.

Üstün ve Tosun<sup>39</sup> 1998 yılında yaptıkları çalışmada, reçellerde sentetik boya kullanımı yasak olduğu halde; Samsun piyasasından özellikle toplu tüketimin fazla olduğu market ve bakkallardan alınan, beş değişik firmaya ait vişne, çilek, kayısı ve gülден oluşan toplam 19 adet reçel örneğinden 10 adedinde yapay boya varlığını saptamışlardır.

Topsoy<sup>55</sup> 1998 yılında şekerleme, içecek tozları, pasta süsü, jöle, dondurma, puding ve reçel olmak üzere toplam 250 numunede boya varlığını araştırmıştır. Analize alınan şekerlemelerin %84'ünde, içecek tozlarının %94'ünde pasta süslerinin %100'ünde, jölelerin %80'inde dondurmaların %72'sinde, pudinglerin %76'sında ve reçellerin %8'inde boya tespit etmiştir.

Lau ve arkadaşları<sup>36</sup>, alkolsüz içeceklerdeki suda çözünebilen sentetik gıda boyalarını tayin etmek için basit bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, pH 5.6'da %0.5'lik oktadesil-trimetilamonyum bromid kullanılarak iyon çifti oluşturmaya dayanmaktadır. Önerilen bu metot Amarant, Azorubin, Green 5, Orange 6, Patent blue V, Ponceau 4R, Sunset Yellow F.C.F ve Tartrazin içeren

içeceklerde yapılan tayinlerde kullanılmıştır. Green 5 dışındaki diğer renk maddeleri optimum sınırın altında çıkmıştır.

Jonnalgadda ve arkadaşlarının<sup>41</sup> 2004 yılında Hindistan'da yaptıkları çalışmada, toplam 545 gıda numunesinin analizi yapılmıştır. Araştırmacılar gıda numunelerinin %90'ında (Tartrazin, Azorubin, Eritrosin, Ponceau 4R, Brillant blue FCF ve Sunset yellow F.C.F) izin verilen boyalar, %8'inde izin verilmeyen boyalar (Rodamin, Orange G, Amarant, Fast red, Metanil yellow) ve %2'sinde izin verilen ve verilmeyen boya ları saptamışlardır.

Garcia-Falcon ve Simal-Gandara'nın<sup>42</sup> 2005'te yaptıkları çalışmada, alkolsüz aromalı içeceklerde doğal renklendiriciler ile birlikte kullanılan Tartrazin, Kinolin Sarısı, Sunset Yellow, Azorubin ve Ponceau4R sentetik gıda boyası miktarlarının belirlenmesi amacıyla 9 adet numune HPLC kromatografi yöntemi ile analiz edilmiştir. Yapılan analizlerde numunelerde bulunan sentetik gıda boyası miktarlarının izin verilen maksimum miktardan düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Biswas ve arkadaşlarının<sup>43</sup> 1994 yılında Hindistanda yaptıkları çalışmada, toplam 445 adet numune gıda boya ları açısından incelenmiştir. Numunelerin 59 adedinde kullanımına izin verilmeyen sentetik renklendiricilerin (Rodamin, Orange G, Amarant, Fast Red, Metanil Yellow) olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca yapılan çalışmada 58 adet gıda maddesinde

kullanımına izin verilen boyaların (Tartrazin, Azorubin, Eritrosin, Ponceau 4R, Brillant Blue FCF ve Sunset Yellow F.C.F) maksimum miktardan yüksek olduğunu saptamışlardır.

Yaman'ın<sup>8</sup> yaptığı çalışmada şekerlerde tespit ettiği bulgular çalışmamızdaki bulgulardan daha düşüktür. Yaman reçel numunelerinde sentetik gıda boyası tespit edilmediğini bildirmiştir ve bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Ekşi'nin<sup>22</sup> Ankara piyasasında yaptığı çalışmada elma şekerlerinde tespit ettiği sonuçlar çalışmamızdaki bulgulardan daha yüksektir.

Üstün ve Tosun<sup>39</sup> Samsun piyasasında yaptığı çalışmada, reçel numunelerinde sentetik boya varlığı tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda reçellerde sentetik gıda boyası varlığına rastlanmamıştır.

Topsoy<sup>51</sup> Ankara piyasasında yaptığı çalışmada, reçel numunelerinde sentetik boya varlığı tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda reçellerde sentetik gıda boyası varlığına rastlanmamıştır.

Lau ve arkadaşları<sup>36</sup>, alkolsüz içeceklerde yaptıkları çalışmalarında Ponceau 4R ve Azorubin miktarlarını optimum sınırın altında tespit etmişlerdir ve bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Jonnalgadda ve arkadaşlarının<sup>41</sup> yaptıkları çalışmada alkolsüz içecek, reçel ve meyve sularında bulguların sınır değerin altında olduğunu belirtmişlerdir. Bizim alışmamızda alkolsüz aromalı içecek numunelerinde bulgular sınır değerin altındadır. Fakat reçel ve meyve sularında sentetik gıda boyası tespit edilmemiştir.

Garcia-Falcon ve Simal-Gandara<sup>42</sup> yaptıkları çalışmada alkolsüz aromalı içeceklerde Azorubin ve Ponceau 4R sentetik gıda boyası miktarlarının izin verilen maksimum miktardan dūřuk olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızın bulguları da sınır değerin altında tespit edilmiştir.

Biswas ve arkadaşları<sup>43</sup> yaptıkları çalışmada reçel, şekerlerde ve içeceklerde sentetik gıda boyası tespit etmişlerdir. İçeceklerde Ponceau 4R ve Azorubin miktarlarının sınır değerlerin üzerinde, şeker numunelerinin 2'si hariç diğerlerinde sınır değerlerin üzerinde olduğunu belirtmişlerdir. Bizim alışmamızda reçellerde sentetik gıda boyası tespit edilememiştir. Alkolsüz içeceklerde sentetik gıda boyası miktarları sınır değerlerin altında bulunmuştur. Elma şeker numunelerimizin hepsi sınır değerin ūstünde sentetik gıda boyası içermektedir.

Elde ettiğimiz bulguları daha ūnceki yıllarda yapılan çalışmaların sonuçları ile karşılaştırdığımızda bizim sonuçlarımızdan farklı olarak reçeller ve meyve suyu numunelerinde sentetik gıda boyası tespit edildiğini gūrmekteyiz. Bu sonuçlar zamanla gıda ūreticilerinin sentetik gıda boyası konusunda daha bilinçli



davrandıklarını göstermektedir. Meyveli yoğurtlarla ilgili literatüre rastlanmamıştır ve bu konudaki sonuçlar ilk olması açısından önem taşımaktadır. Elma şekeri numunelerindeki bulgularımız ise diğerlerine göre oldukça yüksektir. Bu sonuçlar da elma şekerlerinin standart bir yapım tekniği ile yapılmadığını ve üreticilerin bilinçsizce sentetik gıda boyası kullandığını göstermektedir.

## VII. SONUÇ

Araştırmamızda Ankara Bölgesi marketlerinden temin edilen toplam 120 adet reçel, meyve suyu ve meyveli yoğurt numunesinde sentetik gıda boyası tespit edilememiştir. Türk Gıda Kodeksinin gıdalarda kullanılan renklendiriciler tebliğine göre bu gıdalara sentetik gıda boyası katılması yasaktır. Analizini yaptığımız reçel, meyve suyu ve meyveli yoğurt numunelerinin Türk Gıda Kodeksine uygun ve tüketiminin sağlıklı olduğu görülmektedir.

Araştırmamızda, Ankara Bölgesindeki iki pastaneden temin edilen toplam 20 adet elma şekerinde yüksek miktarlarda Ponceau 4R sentetik gıda boyası tespit edilmiştir. Bu numuneler Türk Gıda Kodeksine uygun değildir. Türk Gıda Kodeksinin gıdalarda kullanılan renklendiriciler tebliğine göre bu gıdalar için izin verilen miktar 500 mg/kg'dır.

Yapılan çalışmada, Ankara Bölgesindeki marketlerden temin edilen aynı firmaya ait 20 adet alkolsüz aromalı içeceğin Ponceau 4R ve Azorubin sentetik gıda boyaalarını bir arada içerdiği görülmektedir. Bu numunelerdeki her iki gıda boyasının toplam miktarlarının Türk Gıda Kodeksi sınır değerini geçmediği görülmüştür. Fakat numunelerin etiket bilgilerinde Ponceau 4R sentetik gıda boyasını içerdiği belirtilmemiştir. Türk Gıda Kodeksinin gıdalarda kullanılan renklendiriciler tebliğine göre alkolsüz içecekler için izin verilen miktar 50 mg/l'dir.

Sonuç olarak özellikle çocuklar tarafından çok sevilen ve tüketilen elma şekerlerinde tespit edilen Ponceau 4R gıda boyası miktarının fazlalığı dikkat çekicidir. Buda sağlığın korunmasında gıda katkı maddeleri açısından bazı önlemlerin alınması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu önlemler:

- Özellikle üretici firmaların çalışan elemanlarının ve tüketicilerin gıda boya ve yaratacağı risk konularında eğitilmeleri ve bilinçlendirilmeleri gerekmektedir.
- Gıda maddelerinin etiketleri üzerinde, kullanılan gıda boyasının ticari ismi ve kullanılan miktarı yazılmalıdır. Kullanılan gıda boyalarına karşı duyarlı olan kişilerin dikkatini çekecek uyarıların da etiket üzerinde belirtilmesi gerekmektedir.
- Bilinçsizce üretilen ve Türk Gıda Kodeksi sınırları üzerinde gıda boyası içeren gıda maddelerinin üretildiği yerlerin denetim altında tutulması gerekmektedir. Bu tür imalathanelerde üretilen gıdalarda firma adı olmalı ve rahat kontrol mekanizmaları geliştirilmesine olanak tanınmalıdır.
- İnsan sağlığının korunabilmesi için doğru, çabuk ve hassas ölçüm yapılabilen rutin analizlerin geliştirilerek gıda katkı maddeleri üzerindeki kontrollerin artırılması gerekmektedir.
- Tüketiciler, açıkta satılan ürünleri kesinlikle almamalı ve ambalajlı ürünleri tercih etmelidir. Ambalajlı ürünlerde etiket bilgilerini dikkatlice okumaları, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'ndan alınmış üretim iznini gösteren tarih ve sayıyı kontrol etmeleri gerekir.

## VII. ÖZET

Bu araştırmada, Ankara piyasasından sağlanan, sentetik boya ilave edilmesi yasak olan reçellere, meyve sularına, meyveli yoğurtlara boya katılıp katılmadığının; boya katılmasına izin verilen alkolsüz aromalı içecekler ve elma şekerlerinde kullanılan boya miktarlarının Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Marketlerden alınan 40 adet reçel, 40 adet meyve suyu, 40 adet meyveli yoğurt, 20 adet alkolsüz aromalı içecek ve iki ayrı pastaneden sağlanan 20 adet elma şekeri olmak üzere toplam 160 adet numune analiz edilmiştir.

Numunelerin ekstraksiyonu yün boyama yöntemi ile yapılmıştır. Ekstrakte edilen boyalar kağıt kromatografisi ile kalitatif olarak incelenmiştir. Elma şekerleri ve alkolsüz aromalı içeceklerdeki boyaların miktar tayinleri türev spektrofotometrisi yöntemi uygulanarak yapılmıştır.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre, reçeller, meyve suları, meyveli yoğurtlar sentetik gıda boyası içermemektedir ve Türk Gıda Kodeksi'ne uygundur.

A pastanesine ait numunelerde saptanan ortalama Ponceau 4R miktarı  $2265.3140 \pm 36.0215$  mg/kg'dır. B pastanesine ait numunelerde saptanan ortalama Ponceau 4R miktarı  $584.4700 \pm 3.5281$  mg/kg'dır. Her iki pastaneden temin edilen numunelerde saptanan gıda boyası miktarlarının Türk Gıda Kodeksi'nde öngörölen sınır değerlerin üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Alkolsüz aromalı içeceklerdeki boya ortalama değeri  $49.2405 \pm 0.0002$  mg/l olarak bulunmuştur. Ponceau 4R ve Azorubin'nin birlikte bulunduğu alkolsüz aromalı içeceklerde tespit edilen ortalama gıda boyası miktarının sınır değerlerinin altında olduğu belirlenmiştir.

## VIII. SUMMARY

Purposes of this study are establishing existence of the the synthetic dyes which is not allowed to add into jams, fruit yogurt, fruit juices and determining the kind and amount of synthetic dyes which are allowed to add in sugar-coated apples, nonalcoholic drinks according to the Turkish Food Regulations.

In this study 40 jam samples, 40 fruit juice samples, 40 fruit yogurt samples, 20 non-alcoholic drink samples supplied from Ankara market and 20 sugar-coated apples supplied from 2 different pastry-shop have been analysed. Total 160 samples have been analysed.

Wool coloring method has been used for the extraction of all samples. Paper Chromatography method has been used for the qualitative analysis of the extracted dyes. Derivative Spectrometer method has been applied to synthetic dyes determined in the sugar-coated apples and non-alcoholic drinks with aroma for the quantity analysis.

According to this study, it established that Jams, fruit juice and fruit yogurt samples does not contain any synthetic dyes and suitable for Turkish Food Regulation.

Average amount of the Ponceau 4R in the sugar-coated apple samples supplied from the pastry-shop "A" was determined as  $2265.3140 \pm 36.0215$  mg/kg. Average amount of the Ponceau 4R in the sugar-coated apple samples supplied from the pastry-shop "B" was determined as  $584.47 \pm 3.5281$  mg/kg. In

this study it has been determined that amount of the synthetic dyes in the sugar-coated apples supplied from two different pastry-shop are higher than the maximum limit suggested in the Turkish Food Regulation.

In this study, total average amount of synthetic dyes in non-alcoholic drink with aroma samples which contains Ponceau 4R together with Azorubin is determined as  $49.2404 \pm 0.0002$  ml/l. And this amount is remains under the maximum limit suggested in the Turkish Food Regulation.

### VIII. K A Y N A K L A R

1. SALDAMLI, İ., UYGUN, Ü.: Gıda Katkı Maddeleri ve Kanser, Erişim:<http://www.afiyetle.com/index.php?id=16&mid=778&d=Gıda+Katkı+Maddeleri+ve+Kanser&func=makaleoku>, Erişim tarihi : 16.07.2006
2. JACOBS, M.B. : The Chemical Analysis of Foods and Food Products, Third Ed., 102, D.Van Nostrand Company-Inc., New Jersey, (1958).
3. ANON: Gıda katkı maddeleri nelerdir? E ile başlayan bu maddeler zararlı ise neden kullanılmaktadır. Erişim: <http://www.populermedikal.com/gidakatki> alerji, Erişim Tarihi: 16.07.2006
4. ANON: Gıda katkı maddeleri gerçeği, Erişim: <http://www.afiyetle.com/index.php?id=16&mid=777&d=Gıda+Katkı+Maddeleri+Gerçeği&func=makaleoku>, Erişim Tarihi: 16.08.2006
5. ALAIS, C., LINDEN, G.: Food Biochemistry, 214, Ellis Horwood Limited, England, (1991).
6. YILMAZ, E.: Etiketlerde “E”leri Görmeye Alıştık, Bilim Teknik, 94-97, (1999).
7. ANON: Katkı Maddesi mi zehir mi?, Erişim : <http://www.evrensel.net/02/09/07/medya.html>, Erişim tarihi : 16.07.2006
8. YAMAN, M.: Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boyaların Miktarlarının Araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı, Ankara, (1996).



9. ANON: Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi, Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği, (No:2002/55), Resmi Gazete, (2002)
10. BROWNSSELL, V.L., GRIFFITH, C.J., JONES, E.: Applied Science for Studies, Second Ed., 127, Longman Scientific & Technical, UK, (1992).
11. YENTÜR, G.: Bazı Gıda Boyalarının Toksikite Yönünden Değerlendirilmesi, Farmasötik Bilimler Dergisi, 13. 332-338, (1998).
12. KARAALİ, A., ÖZÇELİK B.: Gıda Katkısı Olarak Doğal ve Sentetik Boyalar, Gıda, 18 (6), 389-396, (1993).
13. ANON: Erişim: [http://www.food.itu.edu.tr/gida\\_analizleri.html](http://www.food.itu.edu.tr/gida_analizleri.html), Erişim tarihi : 16.07.2006
14. SALDAMLI, İ.: Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler, 1-28, Ankara, (1985).
15. HUANG, H.Y. SHIH, Y.C., CHEN, Y.C.: Determining Eight Colorants in Milk Beverages by Capillary Electrophoresis, Journal of Chromatography, 959 (1-2), 317-325, (2002).
16. VIEIRA, E.R.: Elementary Food Science, Fourth Ed., 204-205, Chapman - Hall, New York, (1996).
17. BAYHAN, A., YENTÜR, G.: Research on The Existence of Synthetic Dyes in Some Samples of Çemen, Sumac and Red Pepper Collected from Local Markets in Ankara, Gazi Ecz.Fak.Der., 5(2), 175-183, (1988).
18. VACLAVIK, V.A., CHRISTIAN, E.W.: Essentials of Food Science, 349-351, Chapman - Hall, New York, (1998).

19. YURDAGÜL, M.: Gıda katkı maddeleri kullanımı hakkında geniş kapsamlı bir araştırma, Erişim : <http://www.afiyetle.com/index.php?id=16&mid=779&d=Gıda+Katkı+Maddeleri+Kullanımı+Hakkında+Geniş+Kapsamlı+Bir+Araştırma&func=makaleoku>, Erişim Tarihi : 09.07.2006
20. GAMAN, P.M., SHERRINGTON, K.B.: The Science of Food – An Introduction to Food Science – Nutrition and Microbiology, Third Ed., 246, Pergamon Press, U.K., (1990).
21. ÖZCAN, M., AKGÜL, A.: Gıdalar için Doğal Renk Maddeleri-I, Gıda, 20(4), 209-213, (1995).
22. EKŞİ, A.: Ankara Piyasasından Sağlanan Pasta Süsleri ve Bazı Şekerlemelerde Sentetik Boya Miktarlarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı, Ankara, (1996).
23. ÖZÇELİK, B.: Yeşil Bitkilerden Elde Olunacak Klorofilin Kompozisyon ve Stabilite Açısından Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, (1995).
24. ÖZDEŞ, O.: Türkiye Kökenli Kırmızı Lahanadan Boyar Madde Eldesi Üzerine Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, (1999).
25. BEIS, S.H.: Kırmızıbiberden Gıda Boyası Eldesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniv., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Eskişehir, (1990).

26. ÇINAR, İ., ÇOLAKOĞLU, A.S.: Ön İşlem ve Depolama Koşullarının Portakal Kabuğu Karotenoidlerinin Stabilitesi Üzerine Etkileri, Gıda, 30(1), 17-23, (2005).
27. DEMAN, J.M.: Principles of Food Chemistry, Second Ed., 239, An Avi Book, Canada, (1990).
28. ANON: Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi, Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiricilerin Saflık Kriterleri Tebliği, (No:2001/27), Resmi Gazete, (2002).
29. ANON : Kanser yapan gıdalara dikkat, Erişim : [http://www.sevde.de/e\\_maddeler/kanser\\_yapan.htm](http://www.sevde.de/e_maddeler/kanser_yapan.htm), Erişim Tarihi : 09.07.2006
30. ALTINIĞNE, N.: Bazı Şekerlemeler ve Yapay Toz İçeceklerdeki Diazo Boyar Madde Olan Sunset Yellow FCF ile Tartrazin Miktar Tayinlerinin Voltametrik ve Spektrofotometrik Metod Karşılaştırması, Gıda, 24(2), 139-143, (1999).
31. YENTÜR, G., BAYHAN, A.: Ankara Piyasasında Açıkta Satılan ve Pastörize Tereyağlarında Aromatik Azo Yapısındaki Gıda Boyalarının Araştırılması, Gıda, 13(6), 389-392, (1988).
32. YENTÜR, G., KARAKAYA, A.E.: Kullanımı Yasaklanan Aromatik Azo Yapısındaki Gıda Boyalarının Bazı Gıda Maddelerinde Araştırılması, Gıda, 10(6), 371-376, (1985).
33. EGGINGER, R.: Qualitative Identifizierung von Natuerlichen, Organischen Farbstoffen Mittels Duennschichtchromatographic Mitterlungsblartt Der Bundesanstalt Fuer Fleischforschung Kulmbach, 113, 308-315, (1991).

34. WILSKA-JESZKA, J., ZAJAC, K.: Anthocyanins as Natural Food Colourants, *International Food Ingredients*, 3, 10-15, (1991).
35. KAJIMOTO, G., YAMAGUCHI, M., KASUTANI, S., YOSHIDA, H., SHIBAHARA, A.: Influence of Synthetic Food Colorants on Oxidative Deterioration of Oil, *Journal of Japanese Society of Food Science and Technology*, 41(11), 793-796, (1994).
36. LAU, O., POON, M.M.K., SIU-CHEUNG, M., WONG, F.M.Y.: Spectrophotometric Determination of Single Synthetic Food Colour In Soft Drinks, Using Ion-Pair Formation and Extraction, *International Journal of Food Science and Technology*, 30(6), 793-798, (1996).
37. HALLAGAN, J.B., ALLEN, D.C., BORZELLECA, J.F.: The Safety and Regulatory Status of Food, Drug and Cosmetics Colour Additives Exempt from Certification, *Food and Chemical Toxicology*, 33(6), 515-528, (1995).
38. YENTÜR, G., YAMAN, M., BAYHAN, A.: Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boyaların Miktarlarının Araştırılması, *Gıda*, 23(3), 195-199, (1998).
39. ÜSTÜN, N.Ş., TOSUN, İ.: Çeşitli Reçellerin Bileşimi Üzerine Bir Araştırma, *Gıda* 23(2), 125-131, (1998).
40. ANON: Katkı maddeleri ve neden olan rahatsızlıklar, Erişim : <http://www.cosmoturk.com/detay.asp?ID=3788&Cat=ANNE> Erişim Tarihi : 09.07.2006

41. JONNALAGADDA, P.R., RAO, P., BHAT, R.V., NAIDU, A.N.: Type, Extend and Use of Colours in Ready-to-Eat Foods Prepared in the Non-industrial Sector – A Case Study from Hyderabad, India, *International Journal of Food Science and Technology*, 39(2), 125-131, (2004).
42. GARCIA-FALCON, M.S., SIMAL-GANDARA, J.: Determination of Food Dyes in Soft Drinks Containing Natural Pigments by Liquid Chromatography with Minimal Clean-Up, *Food Control*, 16(3), 293-297, (2005).
43. BISWAS, G., SARKAR, S., CHATTERJEE, T.K.: Surveillance on Artificial Colours in Food Products Marketed in Calcuta and Adjoining Areas, *Journal of Food Science and Technology*, 31(1), 66-67, (1994).
44. ÖZDEMİR, Y., AKKAN, A.: Determination of Patent Blue V and Carmoisin in Gelatine Desserts by Derivative Spectrophotometry, *Turk J Chem*, 23, 221-229, (1999).
45. NI, Y., BAI, J.: Simultaneous Determination of Amaranth and Sunset Yellow by Ratio Derivative Voltammetry, *Talanta*, 44(1), 105-105, (1997).
46. RAO, P., BHAT, R.V., SUDERSHAN, R.V., KRISHNA, T.P., NAIDU, N.: Exposure Assessment to Synthetic Food Colours of a Selected Population in Hyderabad-India, *Food Additives and Contaminants*, 21(5), 415-421, (2004).
47. KESKİN, H.: *Besin Kimyası*, Cilt II, 277-294, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, (1982).
48. WOODMAN, A.G. : *Food Analysis – Typical Methods and the Interpretation of Results.*, Fourth Ed. 70 – 72, McGraw-Hill Book Company, London, (1941).

49. HART, F.L., FISHER, H.J. : Modern Food Analysis, 442 – 446, Springer-Verlag, New York, (1971).
50. LEES, R. : Laboratory Handbook of Methods of Food Analysis, 102 – 103, Croc Press, Cleveland, (1968).
51. TOPSOY, H.: Bazı Şekerli Gıdalara Katılan Sentetik Boyaların Miktar Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Ankara (1990)
52. COX, H.E. : The Chemical Analysis of Foods, 101, Chemical Publishing Co, New York, (1962).
53. GÜNDÜZ, T.: Instrumental Analiz Ders Notları, Ankara Üniv. Fen Fakültesi Matbaası, Ankara, (1983).
54. AKGÜN, M. K.: Gıda Boyalarının Türev Spektrofotometrik Yöntem ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü Anorganik Kimya Dalı, İstanbul, (2001).
55. TOPSOY, H.: Ankara Piyasasında Satılan Bazı Şeker ve Şekerli Gıda maddelerine Katılan Gıda Boyalarının Türev Spektroskopi Yöntemi ile Kantitatif Tayini, Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Ankara (1998).
56. TALSKY G., MAYRING, L., KREUZER H.: High-Resolution, Higher-Order UV/VIS Derivative Spectrophotometry, Angewandte Chemie, 17(11), 785-799, (1978).
57. CHADBURN, B.P.: Derivative Spectroscopy in the Laboratory – Advantages and Trading Rules, Analytical Communications, 42-43, (1982).

- 58.** FELL, A.F., ALLAN, J.G. : Analysis of Colouring Agents in Pharmaceuticals by Derivative Ultraviolet – Visible Spectroscopy, *Analytical Communications*, 291-296, (1981).
- 59.** NEVADO, J.J.B., FLORES, J.R., LLERENA, M.J.V. : Simultaneous Determination of Tartrazine and Sunset Yellow by Derivative Spectrophotometry and Ratio Spectra Derivative, *Talanta*, 40(9), 1391-1396,(1993).
- 60.** DANIEL, N. W.: *Biostatistics, A Foundation for Analysis in the Health Sciences*, 5th Ed., 740, John Wiley and Sons, New York, (1987).

## **ÖZGEÇMİŞ**

23.05.1979 yılında Bursa'da doğdum. İlköğrenimimi Ağrı İbrahim Çeçen İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimimi ise Tekirdağ Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1998 yılında Lisans öğrenimime başladığım Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 2003 yılında mezun oldum. Özel sektörde eczacı olarak çalışmaktayım.