

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI

Bazı Meyveli Toz İçeceklerde Tartrazin ve Sunset
Yellow Renklendiricilerinin HPLC/ DAD Yöntemi İle
Araştırılması

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİLAL İMRE

Danışman: Prof. Dr. Bülent NAZLI

İSTANBUL

Haziran 2017

Her hakkı saklıdır.


ONAY SAYFASI

Hilal İMRE tarafından hazırlanan “Bazı Meyveli Toz İçeceklerde Tartrazin ve Sunset Yellow Renklendiricilerinin HPLC/ DAD Yöntemi İle Araştırılması” adlı çalışma aşağıda ismi geçen jüri üyeleri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilip, onaylanmıştır.

Danışman Prof.Dr. Bülent NAZLI

Üye Prof.Dr. Hilal ÇOLAK

Üye Yrd.Doç.Dr. Mustafa YAMAN



BEYAN

İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi FEN BİLİMLERİ Enstitüsü GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI/GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ'ndeki öğrenciliğim döneminde hazırlanmış olan bu YÜKSEK LİSANS TEZİ tarafımdan yapılmış ve kaleme alınmış olan tamamen özgün bir çalışma olup çalışmanın başından sonuna kadar bilimsel ahlak kurallarına uyulmuştur. Bu çalışmam süresince elde ettiğim ve tezimde kullanmış olduğum bütün bilgiler ve yorumlar için atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi, patent ve telif haklarını ihlal edici davranışta bulunmadığımı beyan ederim.



Hilal İMRE

TEŞEKKÜR

Bu tezin laboratuvar çalışmalarını gerçekleştirme imkanını sunan İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Rektörü Sayın Prof.Dr. Mehmet BULUT'a ve İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Genel Sekreteri değerli Yrd.Doç.Dr. Ömer Faruk ÖZBEK'e,

Yüksek lisans öğrenim süresince kıymetli bilgi ve sabrıyla yanımda olan, aynı zamanda tez konusunun yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında rehberlik eden tez danışmanım İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Bülent NAZLI'ya,

Laboratuvar çalışmalarının gerçekleştirilmesi için kendi öğrencilerinden ayırmadan yardımlarını esirgemeyen, derin bilgi ve tecrübelerinin yanı sıra pozitif enerjisiyle destek sağlayan ikinci tez danışmanım Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof.Dr. Türkan YURDUN'a,

Hayatımın her evresinde yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İstanbul, 2017

Hilal İMRE

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	2
BEYAN.....	3
TEŞEKKÜR	4
TABLolar LİSTESİ.....	7
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	8
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	9
ÖZET.....	11
ABSTRACT.....	12
1.GİRİŞ	13
2. GENEL BİLGİLER.....	15
2.1. Toz İçecekler	15
2.2. Gıda Katkı Maddeleri	16
2.2.1. Gıda Boyaları	18
2.2.1.1. Sunset Yellow (E110).....	20
2.2.1.2. Tartrazin (E102).....	22
2.3. Gıda Boyalarının Sağlık Açısından Önemi	24
2.4. Toz İçeceklerde Renk Maddelerinin Tespit Yöntemleri.....	26
2.4.1. HPLC/ DAD Yöntemi.....	31
2.4.1.1. HPLC Kısımları	32
2.4.1.1.1. Solvent Dağıtım Sistemleri	33
2.4.1.1.2. Enjektörler	33
2.4.1.1.3. Kolonlar	33
2.4.1.1.4. Dedektörler	34
3. MATERYAL ve METOT	36
3.1. Materyal	36
3.2. Metot.....	37
3.2.1. Numunelerin Hazırlanması	37
3.2.2. Toz içecek örneklerinde sentetik boyar madde analizleri	37
3.2.3. Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzemeler.....	42

4. BULGULAR ve TARTIŞMA	43
5. SONUÇ	51
KAYNAKÇA	53

TABLÖLAR LİSTESİ

TABLO 1. Gıda Boyaları ve Gıdaya Sağladığı Renkleri.....	19
TABLO 2. Renklendirici İçeren Gıdaların Etiketlerinde Yer Alması Gereken İlave Bilgi.....	19
TABLO 3. Sunset Yellow Yapısı ve Özellikleri.....	21
TABLO 4. Tartrazin Yapısı ve Özellikleri.....	22
TABLO 5. Tartrazin ve Sunset Yellow Gıda Boyalarının Kullanıldığı Potansiyel Ürün Grupları ve Tespit Metotları Üzerine Yapılmış Çalışmalar.....	28
TABLO 6. Materyal Hakkında Bilgi.....	36
TABLO 7. HPLC Gradient Programı.....	38
TABLO 8. Yöntemin Geçerliliği.....	43
TABLO 9. Toz İçecek Örneklerinde Saptanan Renklendirici Madde Miktarları.....	44
TABLO 10. Toz İçecek Numune Sonuçlarının Aroma Açısından Değerlendirilmesi.....	49

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 1. Analitlerin Taşıyıcı Sistemler İle Eşleştirilmesi.....	31
ŞEKİL 2. HPLC Kısımları.....	32
ŞEKİL 3. HPLC/ DAD Çalışma Prensibi.....	35
ŞEKİL 4. Tartrazin Kalibrasyon Doğrusu.....	38
ŞEKİL 5. Sunset Yellow Kalibrasyon Doğrusu.....	38
ŞEKİL 6. Sunset Yellow Standart Madde Kromatogramı (100 ng'lık pik).....	39
ŞEKİL 7. Tartrazin Standart Madde Kromatogramı (75 ng lık pik).....	39
ŞEKİL 8. Tartrazin ve Sunset Yellow Boyar Madde Standart Karışımının Kromatogramı.....	39
ŞEKİL 9. Tartrazinin HPLC/ DAD İle Elde Edilen Kromatogramdaki Pikin Spektrumu.....	39
ŞEKİL 10. Sunset Yellowun HPLC/ DAD İle Elde Edilen Kromatogramdaki Pikin Spektrumu.....	40
ŞEKİL 11. Sunset Yellow İçeren Toz İçecek Örneğinin Kromatogramı (Şeftali)	40
ŞEKİL 12. Tartrazin İçeren Toz İçecek Örneğinin Kromatogramı (Limon).....	40
ŞEKİL 13. Sunset Yellow ve Tartrazin İçeren Toz İçecek Örneğinin (Portakal).	40
ŞEKİL 14. Boyar Madde İçermeyen Toz İçecek Örneğinin 260 nm Dalga Boyunda Elde Edilen Kromatogramı (Limon).....	41
ŞEKİL 15. Boyar Madde İçermeye Toz İçecek Örneğinin 485 nm Dalga Boyunda Elde Edilen Kromatogramı (Limon).....	41
ŞEKİL 16. Renklendiricilerin Aromalar Bazında Ortalamaları	49

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
E 102	Tartrazin
E 110	Sunset Yellow
g	Gram
k	Kapasite Faktörü
kg	Kilogram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
nm	Nanometre
ppm	Parts Per Million/ Milyonda Bir Birim
psi	Pound Force Per Square Inch/ Pound-Kuvvet Bölü İnçkare
rpm	Rotation Per Minute/ Dakikadaki Dönüş Sayısı
μ	Mikron
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre

Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADI	Acceptable Daily İntake/ Günlük Maksimum Alınabilecek Miktar
CAC	Uluslararası Gıda Komisyonu

CPE	Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu
CSPI	Kamu Yararı Bilim Merkezi
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EC	Avrupa Topluluğu
EFSA	European Food Safety Authority/ Avrupa Gıda Güvenliği Derneği
FAO	Gıda Tarım Örgütü
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
GC	Gaz Kromatografisi
HPLC/ DAD	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/ Diyot Dizisi
JECFA	Birleşik Gıda Katkı Uzman Komitesi
LLE	Sıvı- Sıvı Ekstraksiyonu
LOD	Limit Of Detection/ Tespit Limiti
LOQ	Limit Of Quantitation/ Ölçüm Limiti
M.Ö.	Milattan Önce
MAE	Mikroalga Yardımlı Ekstraksiyon
Max.	Maksimum
MeOH	Metanol
Min.	Minimum
NH ₄ Ac	Amonyum asetat
PDA	Foto Diyot Dizisi/ Photo Diode Array
RI	Reaktif İndeks Dedektörleri
SEC	Boyut Eleme Kromatografisi
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
TBAHS	Tetra-N-Bütülamonyum-Hidrojen Sülfat
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
UAE	Ultrason Yardımlı Ekstraksiyon
UV	Ultra Viyole
WHO	Dünya Sağlık Teşkilatı
yy	Yüzyıl

ÖZET

Bazı Meyveli Toz İçeceklerde Sunset Yellow ve Tartrazin Renklendiricilerinin HPLC/ DAD Yöntemi İle Araştırılması

Tüketici beğenisini arttırmaya yönelik olarak üretim süreçlerinin farklı aşamalarında gıda ürünlerine katkı maddesi olarak renklendiriciler ilave edilmektedir. Gıdalarda kullanımına izin verilen renklendiricilere resmi otoriteler tarafından yasal limitler getirilmiştir. Bu çalışma gıda ürünlerinde yoğun olarak kullanılan tartrazin ve sunset yellow renklendiricilerinin bazı meyveli toz içeceklerde tespiti amacı ile yapılmıştır.

Bu amaçla piyasada satışa sunulmuş farklı firmalara ait 22 adet meyveli toz içecek örneği çalışmada materyal olarak kullanılmıştır. Meyveli toz içecek numuneleri ön işlemlerden geçirildikten sonra tartrazin ve sunset yellow renklendiricilerinin tespiti için HPLC/DAD (yüksek performanslı sıvı kromatografisi / Diyod Array Dedektörü) ile analize tabi tutulmuştur.

Yapılan analizler sonucunda toplam 22 adet örneğin % 99,9'unda (20 adet) renklendirici madde saptanırken; % 0,99'unda (2 adet) saptanmadı. Tartrazin örneklerin % 59'unda (13 adet) ortalama 332 ppm miktarında, sunset yellow ise % 50'sinde (11 adet) ortalama 604 ppm miktarında saptandı. TGK'ya göre tartrazin miktarları 11 adet örnekte, sunset yellow ise tümünde limitlerin üstünde saptanırken, JECFA'ya göre ise tartrazin 4 adet örnekte, sunset yellow ise 7 adet örnekte limitlerin üstünde saptanmıştır.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre ülkemizde piyasaya sunulan meyveli toz içeceklerin hemen hemen hepsinde tartrazin ve sunset yellow renklendiricilerinin özensiz ve yüksek miktarlarda kullanıldığı ve bu nedenle bu tür içeceklerin başta çocuklar olmak üzere tüm tüketicilerde çeşitli sağlık sorunlarına neden olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Alkolsüz Toz İçecekler, Gıda Katkı Maddeleri, HPLC/ DAD, Sunset Yellow, Tartrazin.

ABSTRACT

Investigation of Tartrazine and Sunset Yellow Colorants in Fruit Powdered Drinks with HPLC / DAD Method

Colorants are added to food products as additive on the different stages of the production with the aim of increasing the consumer satisfaction. The public authorities have legally limited the colorants added to foods. This study has been made for the detection of tartrazine and sunset yellow colorants, which are used very commonly in food productions, in fruit powdered drinks.

Therefore, the samples of 22 pieces of fruit powdered drinks from different companies that are commercially available at the market were used as material in this study. After pre-treatment process, the fruit powdered drink samples were analysed with high performance liquid chromatography (HPLC) combined with Diode Array Detector (DAD) for the detection of tartrazine and sunset yellow colorants.

The analysis results in 99.9% (20 pieces) of 22 samples the coloring agent was detected and in 0.99% (2 pieces) of 22 samples the coloring agent was not detected. The tartrazine was detected about 332 ppm in 59% (13 pieces) of the samples, and sunset yellow was detected about 604 ppm in 50% (11 pieces) of the samples. According to the data from TKG, tartrazine was detected over the limits in 11 samples and sunset yellow was detected over the limits in all samples. According to JECFA, tartrazine was detected over the limits in 4 samples and sunset yellow was detected over the limits in 7 samples.

According to the findings obtained in this study, it was concluded that tartrazine and sunset yellow colorants are used in high and unregulated amounts in almost all of the fruit powdered drinks at the market, in our country, and therefore these drinks can cause all consumers, particularly children, to have a variety of health problems.

Keywords: Fruit Powdered Drinks, Food Additives, HPLC / DAD, Sunset Yellow, Tartrazine.

1.GİRİŞ

Hızlı endüstrileşme, kentleşme, yoğun iş temposu, yalnız yaşama gibi faktörler hazır yiyeceklere olan talebi arttırmaktadır. Bu talep, gelişen ve yenilenen teknoloji sonucunda gıdalara birçok kimyasal maddenin ilavesini başlatmıştır. Gıdaların görünüm ve lezzetlerini tüketicinin istediği duruma getirmek, uzun süre saklanmasını ya da depolanmasını sağlayabilmek için ürüne yasal düzenlemeler doğrultusunda çeşitli kombinasyonlarda kimyasal maddeler ilave edilmektedir.

Gıda katkı maddelerinin tarihsel gelişimine bakıldığında M.Ö. 3000 ve M.Ö. 900'lü yıllarda tuz ve odun tütsülerinin gıda saklama yöntemi olarak kullanıldıkları bilinmektedir. 19.yy itibariyle gıdaların besleyici değerini koruyabilmek, dayanıklılık süresini arttırmak, çeşitlilik sağlamak, özel diyet ihtiyacına yönelik, gıdanın rengini ve lezzetini çekici hale getirmek için kullanımları hızla artmıştır.

Son yıllarda sayıları gittikçe artış gösteren gıda katkı maddelerinin kullanımına yasalarla sınırlamalar getirilmiştir. Bu sınırlamalar; Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ve Gıda Tarım Örgütü (FAO)'nün oluşturmuş olduğu Uluslararası Gıda Komisyonu (CAC) ve bu komisyonun gıda katkı maddeleri ile alt komitesi olan Birleşik Gıda Katkı Uzman Komitesi (JECFA) tarafından sağlık açısından güvenilir dozları oluşturacak şekilde hazırlanmıştır. Belirlenen değerler toksikolojik testler sonucu ortaya çıkmıştır. CAC tarafından önerilen listeler Avrupa Topluluğu (EC) tarafından kabul görmektedir. Kullanıma sunulan katkı maddelerinin birikim yapıcı ve tüketici sağlığına zarar verici etkisi bulunmamalıdır.

Gıda katkı maddelerinden biri olan gıda boyaları ise günümüzden yaklaşık 3.500 yıl kadar öncesinde Mısırlılar tarafından renklendirici olarak kullanılmaya başlandığı ve hala üretilip tüketilmeye devam edildiği bilinmektedir. Gıdada kullanılan renklendiriciler için yasal düzenlemeler getirilerek günlük alım miktarları belirlenmiştir. Gıda katkı maddelerinin hepsinde olduğu gibi renklendiricileride tanımlamak için E kodları bulunmaktadır.

Gıda tüketiminde tüketici alımını etkileyen ve duyuşal değerlendirmelerde ister istemez ön yargı oluşmasına sebep olan kriterlerden biri renklendiricilerdir. Günlük diyetimizin hemen hemen her aşamasında bulunan renklendiriciler tez çalışmamızın materyalini oluşturan toz meyve sularının içindedede bulunmaktadır. Toz

meyve suları kullanım kolaylığı, renklerinin cezbedici özelliği nedeniyle asitli içecekler tüketmeyen gruplar tarafından tercih edilmektedir. Tez çalışmamızda, seçilen sentetik gıda boyalarının (tartrazin ve sunset yellow) piyasadaki farklı markalara ait alkosüz toz meyve suyu numunelerindeki mevcudiyeti HPLC/DAD yöntemiyle belirlenmiştir.

Gıda içindeki renklendiricileri tespit etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Burada önemli olan gıda boyalarının özelliklerini, gıdayı ve boyanın gıdadaki etkileşimini doğru belirlemek ve buna göre yöntem seçmektir.

Toz meyveli içecekler; direkt tüketime hazır olarak pastahaneler, kafeler ve açık büfelerde, ayrıca marketler ve bakkallarda kolaylıkla ulaşılabilir haldedir. Her yaş grubundan bireylerin özellikle çocukların tüketmeyi tercih ettikleri bu içeceklerde, gıda katkı maddelerinin sağlık açısından olumsuzlukları yönünde genel kuşku bulunmaktadır.

Bu çalışma tüketicilerde toksikolojik etkilere sebep olabilecek tartrazin ve sunset yellow gibi renklendiricilerin meyveli toz içeceklerde HPLC/DAD yöntemiyle kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Toz İçecekler

Türk Gıda Kodeksi (TGK) Alkolsüz İçecekler Tebliği'ndeki meyveli içecek tozu tanımı; "Meyve suyu ve/veya meyve püresi ve/veya bunların konsantresi ve/veya meyve tozu ve/veya diğer bileşenler ile şeker ilave edilerek veya edilmeden tekniğine göre üretilen ve meyveli içecek hazırlanmasında kullanılan toz ürünü" şeklinde yapılmaktadır (Anonim, 2007).

Toz şeklindeki gıdalar genellikle kristal yada amorf yapıda bulunmaktadır. Toz haline getirilmiş gıdalar raf ömrünün uzunluğunun yanı sıra, karışımındaki kolaylık, istenilen dozu ayarlayabilme, paketlenme ve depolama kolaylığı, taşıma maliyetinin düşük oluşu ve mikrobiyolojik açıdan stabil olması sebebiyle daha çok talep görmektedir (Koç ve ark., 2011, Jinapong ve ark., 2008, Edwards ve Instone, 2001, Forny ve ark., 2011). Toz içeceklerin fiziksel özellikleri, gıdanın kurutulma koşulları ve yapısal özellikleri açısından etkilendiğinden; kullanılan üretim şeması, proses kontrolü ve saklanma koşulları elde edilecek son ürün kalitesi bakımından önem taşımaktadır (Martinelli ve ark., 2007). Gıda tozlarının kendisine has olan parçacık yüzey özellikleri, üretim ve uygulamalarda verecekleri tepkilerde önem taşıdığından çevresel etkileri ile birlikte parçacık yüzey bileşenleri, özellikleri, fiziksel ve kimyasal tepkimelerinin bilinmesi ve uygun formlarda değerlendirilmesi gerekmektedir (Ermiş, 2015).

Meyveler ise değerli vitamin ve mineral kaynaklarıdır. Dengeli ve besleyici bir diyet sağlamak için çeşitli gıda uygulamalarında kullanılmaktadır. Taze meyvelerin büyük bir yüzdesi sudan oluşmaktadır. Bu sebeple çok kolay bozulabilen ve farklı mikrobik kontaminasyona eğilimli gıdalar olarak kabul edilmektedir. Amilazlar, fenoloksidazlar ve peroksidazlar gibi meyveleri etkileyen enzimlerin çoğu düşük nem içeriğinde engellendiği gibi etkinlikleri nem içeriği ile hızla artmaktadır. Ürüne bağlı olarak, farklı su aktivite değerlerinde farklı bozulma mekanizmaları oluşmaktadır. Bu nedenle raf ömrüne kadar bozulmadan kalabilmesi için su aktivitesi seviyesi düşürülmelidir (Phisut, 2012, Feguš ve ark., 2015).

Toz içecek üretimleri, kontrollü ve düşük nemli alanlarda yapılması gerekmektedir. Boya ile eker kuru halde karıştırmalı ve karışımın tekrar ayrılmaması için, tüm bileşenlerin partikül boyutu ve hacim yoğunluğu olabildiğince benzer olması gerekmektedir. Kullanılan eker ince ve saf granr halinde olmalıdır. eker ve boya topaklanmaması için karışım daha önceden belirlenmiş olan bir optimum devir ve hızda karıştırmalıdır. İstenildiği takdirde boyanın bir kısmı diğer işlem basamaklarında da eklenebilmektedir. Katkı maddeleri eklenmeden önce elekten geçirilmelidir. Daha küçük kütledeki ürünlerin eklenmesini ve karıştırmaya işleminin daha kolay yapılması için ön karışım hazırlanması çoğunlukla tercih edilmektedir. Sitrik asit, askorbik asit, trisodyum sitrat ve çeşitli aroma vericiler n karışımaya eklenerek karıştırmalıdır. Karıştırmaya işlemi şerit karıştırmacılar ile sürekli ya da kesikli karıştırmalar ile gerçekleştirilmektedir. Trikalsiyum fosfat, ortamdaki suyu çekerek kuru karışım oluşmasını sağlamaktadır. Son üründe kuru ve serbest hareketli tanecikler elde edilmektedir. Karışımın paketlenmeleri ise kontrollü şartlarda yapılmaktadır (stn ve Tosun, 1997, Ashurst, 2016).

Toz halindeki meyve suları ise piyasada bulunan sanayileşmiş meyve sularına göre düşük maliyettedir. Çeşitli kompleks formülasyonlar içermektedirler. ekici renk, koku, tat gibi duyuşsal kalite faktörlerinin yanı sıra suda kolayca seyreltilmektedir. Son zamanlarda toz içeceklere renklendirici, tatlandırıcı, antimikrobiyal maddeler, asitlik düzenleyici, köpürme faktörleri, çeşitli antioksidan uygulanmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Bezerra ve ark., 2016).

2.2. Gıda Katkı Maddeleri

İnsanlık için yiyeceklerin önemi tartışılamaz. Yaşamak için gıdaya ihtiyaç vardır. Üreticiden tüketicie olan zincirde herhangi bir aksama olması ise istenmemektedir. Ürünün sınıfına göre koruma yöntemleri geliştirilir ve rekabetçi küresel pazarda kurallar çerçevesinde en ucuz yol her zaman tercih nedeni olmaktadır. Bu yöntemlerin içinde en çok tercih edileni ise gıda katkı maddeleridir (Carocho ve ark., 2015).

TGK, Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde, gıda katkı maddelerinin tanımı "besleyici değeri olsun veya olmasın, tek başına gıda olarak tketicimiyen ve gıdanın karakteristik bileşeni olarak kullanılmıyan, teknolojik bir amaç doğrultusunda üretim, muamele, işleme, hazırlama, ambalajlama, taşıma veya depolama

aşamalarında gıdaya ilave edilmesi sonucu kendisinin ya da yan ürünlerinin, doğrudan ya da dolaylı olarak o gıdanın bileşeni olması beklenen maddeleri” şeklinde yapılmaktadır (Anonim, 2013).

Gıda katkı maddelerinin güvenli kullanımları ve tüketimleri için çalışmakta olan farklı ülkelerde farklı kuruluşlar bulunmaktadır. Bu sağlık otoriteleri, katkı maddelerinin insan sağlığı üzerine etkilerini ve kullanım dozlarını belirlemektedir. Diğer yetkili birimler ise belirlenen çıktılar neticesinde yasal düzenlemeler yapmaktadır. Yasalar ve ihtiyaçlar doğrultusunda isteğe bağlı olarak ilave edilen bu maddeler ile ürün geliştirmede iyi bir sonuç isteniyorsa mutlaka maddelerin fonksiyonlarının iyi bilinmesi gerekmektedir (Küçüköner, 2006).

Avrupa birliği ülkelerinde, kullanım amaçlarına göre gıda ambalajlarının üzerlerinde her bir gıda maddesi için E kodları bulunmaktadır. Gıda katkı maddelerinin ana işlevlerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır (Çalışır ve Çalışkan, 2003, Küçüköner, 2006):

- 1) Renk maddeleri (E100-180)
- 2) Koruyucu maddeler (E200-297)
- 3) Antioksidan maddeler (E300-321)
- 4) Emülsifiyerler ve stabilizörler (E322-500)
- 5) Asit veya baz yapıcılar ve nötralize ediciler (E500-578)
- 6) Tat, koku vericiler ve arttırıcılar (E620-637)
- 7) Geniş amaçlılar (E900-927)

Kullanım amaçlarına göre ise katkı maddeleri, raf ömrünü uzatanlar, duyuşal özellikleri modifiye edenler, beslenme değerini düzenleyenler ve işleme yardım edenler şeklinde de gruplandırılmaktadır (Nazlı, 2016).

Gıda katkı maddelerinin günlük maksimum alınabilecek miktarları (ADI) kişinin vücut ağırlığının kilogramı başına miligram olarak belirlenir (Türker, 2011).

Gıda katkı maddelerinin kullanım izinleri için uluslararası olarak kabul edilmiş laboratuvarlarda uygulama sonuçları baz alınmaktadır. Toksikite sonuçlarının ulusal ya da uluslararası kurum ve kuruluşlarca oluşturulmuş olan akademik komitelerin değerlendirmeleriyle güvenli kullanım için gerekli olan kullanım miktarları belirlenmektedir (Sarıkaya ve Çakır, 2005).

2.2.1. Gıda Boyaları

Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde gıda boyalarının tanımı "gıdalara renk veren veya rengini geri kazandıran, gıdaların doğal bileşenlerini ve genel olarak olduğu gibi gıda olarak tüketilmeyen doğal kaynakları içeren ve genellikle gıdanın karakteristik bir bileşeni olarak kullanılmayan maddeler ve ayrıca; gıda maddelerinden ve diğer yenilebilir doğal kaynaklardan fiziksel ve/veya kimyasal ekstraksiyonla elde edilen diğer besleyici veya aromatik bileşenleri içermeyecek şekilde pigmentlerin selektif ekstraksiyonuyla oluşturulan preparatlar" şeklinde yapılmaktadır (Anonim, 2013).

Boyalar, besleyici değeri olmayan, renk sunma amacı taşıyan, gıdalara ilave edilen ve ürünün daha cazip hale getirilmesiyle tüketicinin kabul edilebilirliğini arttıran bir katkı maddesi sınıfıdır. Sağlık açısından bakıldığında, başta sentetik boyalar olmak üzere, gıda üretiminde boya kullanımı önerilmemektedir (Gomes ve ark., 2013). Sentetik boyalar, pH, ışık, oksijen, düşük maliyetli üretimi, renk tek düzeliliği ve düşük mikrobik kontaminasyona kararlı oldukları için doğal renklere alternatif oluşturmaktadır (Rovina ve ark., 2016).

Gıda katkı maddelerinin ana gruplarından biri olan boyaların çoğunluğu asidik ve suda çözünür niteliktedir. Tüketiciler gıdalarda alışık oldukları renkleri görmek istemektedir. Yeni ürün üretimlerinde, üretimin herhangi bir aşamasında ya da depolama esnasında meydana gelebilecek olan tazelik, olgunluk, lezzet kusurlarını belirli ölçülerde telafi etmek için oldukça yaygın kullanılmaktadır. Boyar maddeler yasal düzenlemelere göre sertifikalı ve sertifikasız renk maddeleri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Sertifikalı renk maddeleri kendi içinde, boyar maddeler ve boyalar olarak ikiye ayrılmakta olup sertifikasız olanlar ise büyük ölçüde doğal renk maddelerinden oluşmaktadır. Boyalar suda veya yağda çözünme durumlarına göre gıdalara ilave edilir. Alüminyum veya kalsiyum hidroksit içeren boyar maddeler ise suda çözünmemektedir. Sertifikasız boya maddeleri bitkisel, hayvansal, mikrobiyal ve mineral orijinlidir (Wilson ve Bahna, 2005, Küçüköner, 2006).

Doğal renkler uzun bir süre boyunca gıdalarda kullanılmıştır. Farklı formlarda bulunabilecekleri gibi toz haline getirilmiş bitki özütü yıllar boyunca renklendirici maddeler olarak kullanılmaktadır (Anonim, 2011).

Boyalar, gıdalara sağladıkları renkler açısından değerlendirildiğinde Tablo 1.'de görüldüğü gibi dokuz grupta toplanmaktadır (Karaali ve Özçelik, 1993).

Tablo 1. Gıda Boyaları ve Gıdaya Sağladığı Renkleri

Sarı boyalar	:Tartrazin, Riboflavin, Curcumin, Safran, Lutein, Turmerik
Turuncu boyalar	:Sunset yellow, β -Karoten, β -apo-8-karotenol, Annatto, Paprika
Kırmızı boyalar	:Amarant, Eritrosin, Ponceau 4R, Allura Red, Kantaksantin, Karmoisin
Yeşil boyalar	:Klorofil (bakır kompleksi ve sodyum-potasyum tuzları), Patent green, Birillant green
Mavi boyalar	:Birillant blue, Indigo Karmen, Patent blue
Menekşe rengi boyalar	:Antosiyaninler
Kahverengi boyalar	:Karamel, Brown FK, Brown HT
Siyah boyalar	:Birillant black, bitkisel karbon
Beyaz boyalar	:Titandioksit, talk, kalsiyum karbonat

TGK'ya göre renklendirici içeren gıdaların etiketlerinde yer alması gereken ilave bilgi aşağıdaki gibi verilmektedir (Anonim, 2013):

Tablo 2. Renklendirici İçeren Gıdaların Etiketlerinde Yer Alması Gereken İlave Bilgi

Aşağıdaki renklendiricilerin bir veya daha fazlasını içeren gıdalar	Bilgi
Sunset yellow (E 110) (*)	'Renklendirici(ler)nin adı veya E kodu': çocukların aktivite ve dikkatleri üzerine olumsuz etkileri bulunabilir.
Kinolin Sarısı (E 104) (*)	
Karmosin (E 122) (*)	
Allura red (E 129) (*)	
Tartrazin (E 102) (*)	
Ponzo 4R (E 124) (*)	

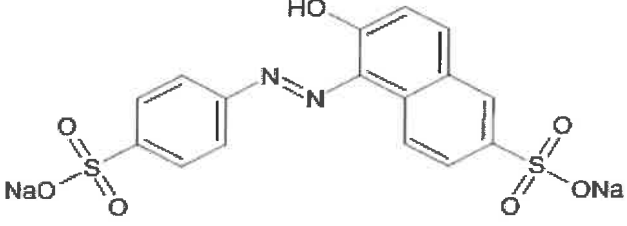
Gıda endüstrisi tarafından en çok kullanılan boyalar arasında sunset yellow, bordeaux red ve tartrazin içeren bir azo grubu (-N = N-) boyalar bulunmaktadır. Bu boyalar hububat, şekerleme, süt ürünleri, jöle, dondurma, dolgu, likör, toz meyve suları, alkolsüz içeceklerde yoğun şekilde kullanılmaktadır (Gomes ve ark., 2013).

2.2.1.1. Sunset Yellow (E110)

Farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrisi alanında kullanılan sentetik bir azo boyasıdır. *Dactylopius Coccus* böceğinden ekstrakte edilen karminik asitin rengine eşdeğer renge sahiptir. Suda ve etanolde çözünmektedir (Tablo 3.). Fakat etanolde suda çözündüğünden daha az çözünür. Su, nötr ve asidik çözeltilerde çözüldükten sonraki rengi sarı-turuncu, alkalinde kırmızı-kahverengidir. Konsantre sülfirik asitte ise turuncu bir solüsyon verir ve suyla seyreltikçe rengi sarıya dönmektedir (Rovina ve ark., 2016).

E110 kodlu sunset yellow gıda renklendiricisi sentetik gıda boyalarındandır. JECFA tarafından yapılan sekizinci toplantıda sunset yellow renklendiricisinin, vücut ağırlığının günlük alım miktarı için 0.5 mg/kg miktarın yeterli toksikolojik veri oluşturduğu değerlendirilmiştir. Komitenin yirmi altıncı toplantısında bu miktar 0- 2.5 mg/ kg ve 2011 yılındaki değerlendirmede ise hala kullanılmakta olan 0- 4 mg / kg olarak belirlenmiştir. (Anonim, 2011).

Tablo 3. Sunset Yellow Yapısı ve Özellikleri

Adları ve Kodları	Sunset Yellow FCF (E110) CI 15985, Orange Yellow S, FD&C Yellow 6/disodium 6-hydroxy-5-[(4-sulfophenyl)azo]-2-naphthalenesulfonate
Kimyasal formülü	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$
Yapısı	
Rengi	Sarı
Çözünürlük	Su ve ethanol
MW (g/mol)	452.37

Kaynak: Yamjala, ve ark., 2016

Tüketici sağlığının güvencesi, gıda güvenliği ve insan sağlığı için basit, ekonomik ve hızlı bir analitik yöntem geliştirerek sunset yellowu, gıda maddelerinde kontrollü olarak kullanmak önemlidir. Son yıllarda, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), ince tabaka kromatografisi, görünür spektrofotometri, floresans emisyon spektrometresi gibi sunset yellowun tayini için çeşitli analitik yöntemler geliştirilmiştir (Rovina ve ark., 2016).

Bu renklendirici maddeye yüksek konsantrasyonlarda maruz kalınması, tüketiciyi rahatsız eden hassasiyet şikâyetleri gibi etkileriyle rapor edilmiştir. Özellikle hassasiyet reaksiyonlu alerjik hastalıklara sahip olan bireylerde daha sık gözlemlenmektedir. Bu şekilde sentetik renk maddelerin alınımı ürtikel, kaşıntı ve hiperaktiviteye sebep olabilmektedir (Rovina ve ark., 2016).

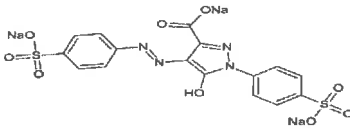
Sunset yellow, 1500 mg/ kg/ vücut ağırlığına eşit ve daha yüksek dozlarda ishal ve bağırsaklarda distansiyona (genişlemeye) neden olduğu bildirilmektedir. Köpek deneklerde 1250 mg/ kg/ vücut ağırlığına eşdeğer bir dozda sunset yellowa maruz kaldıklarında ishal görülmektedir. Farelerde ve sıçanlarda üreme performansı üzerinde herhangi bir olumsuz etkisine rastlanılmamıştır (Anonim, 2011).

Sunset yellowun, EFSA tarafından bildirilen ADI değerinin 0–4 mg/ kg/ vücut ağırlığı/ gün olması sıçanlar üzerinde 28 günlük çalışma ve toksikolojik veri tabanına dayanılarak yapılmıştır (Rovina ve ark., 2016).

2.2.1.2. Tartrazin (E102)

Tartrazinin, WHO ve FAO'nun oluşturduğu ve gıda katkı maddeleri ile alt komitesi olan Birleşik Gıda Katkı Uzman Komitesi (JECFA) tarafından belirlenmiş olan ADI değeri 0- 7.5 insan mg/kg/gün'dür (Anonim, 2011).

Tablo 4. Tartrazin Yapısı ve Özellikleri

Adları ve Kodları	Tartrazine (E102), CI 19140, FD&C Yellow 5, Acid Yellow 23, Trisodium (4E)-5-oxo-1-(4-sulfonatophenyl)-4-[(4 sulfonatophenyl)hydrazono]-3-pyrazolecarboxylate
Kimyasal formülü	C ₁₆ H ₉ N ₄ Na ₃ O ₉ S ₂
Yapısı	
Rengi	Limon Sarısı
Çözünürlük	Su
MW (g/mol)	534.36

Kaynak: Yamjala ve ark., 2016, Mendoza-Huizar, 2014

Tartrazin absorpsiyonu, dağılımı, metabolizması ve atılımı hayvanlarda ve insanlarda incelenmiştir. Bu çalışmaların çoğu ilk olarak JECFA (1966) tarafından değerlendirilmiştir. Laboratuvar hayvanlarına ve insan ağızdan verildikleri saf tartrazinin absorpsiyonu % 5'ten az olmaktadır. Emilen tartrazin idrarda büyük oranda değişmeden salgılanmaktadır. Kalan tartrazin, bağırsak mikroflorası tarafından geniş ölçüde metabolize edilirken bazı metabolitler bağırsak yoluyla emilmektedir. Bu metabolitlerden sülfanilik asit çoğunlukla idrarla salgılanmaktadır (Anonim, 2014).

Tartrazin indirgemesi, kolonun anaerobik ortamında elektron taşıyıcılarını serbest bırakan bağırsak bakterileri tarafından kolaylaştırılmaktadır. Tartrazinin metabolik yan ürünlerinin vücutta hassasiyet ve karşı reaksiyonlara neden olan maddeler olduğuna inanılmaktadır. Tartrazinin zararlı doğası, gastrointestinal mikrobiyotik tarafından sindirildikten sonra kimyasalın aromatik bir sülfanilik asit haline dönüşmesinden kaynaklanmaktadır. Sülfanilik asit, tartrazinin ana metabolitidir ve yapısı da bir azot türevidir yani yan üründür. Goldenring ve ark. (1981), tarafından yapılan çalışmada, sıçanlara davranış üzerindeki etkisini incelemek üzere, sülfanilik asit uygulanmıştır. Araştırmacılar, sülfanilik asitin sıçanlarda hiperaktivite ve performans bozukluğuna yol açtığını gözlemlemiştir. ABD'de Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tartrazine izin verirken, Avrupa Parlamentosu tartrazini tüm gıda üretiminden yasaklamıştır. Buna ek olarak, Kamu Yararı Bilim Merkezi (CSPI) ve Avrupa gıda güvenliği yetkilileri, gıda boyalarını çocukların hiperaktivitesine ve davranış problemlerine bağlayan çalışmaları, bazı gıda boyalarını yasaklamak için yeterli delil olarak garanti etmişlerdir. CSPI, FDA'yı bazı gıda boyaları üzerindeki yasaklarını takip etmeye çağırmıştır (Bloom ve ark., 2016).

Mevcut kanıtlar, tartrazinin, çalışmaların çoğunda mutajenik bir potansiyele sahip olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, diğer çalışmalar, tartrazinin potansiyel bir DNA / kromozom yapısında hasara yol açan faktörlere sahip olduğunu göstermiştir. Sasaki ve ark. (2002), Comet tahlili ile tartrazinin, ADI'nin biraz üzerindeki dozlarda farelerin kolonunda geçici DNA hasarına neden olabileceğini göstermiştir. EFSA (2009) bu son çalışmaları inceleyerek, geçici DNA hasarının kısmen boyanın lokal sitotoksitesine bağlanabileceği sonucuna varmıştır. Bununla birlikte, daha yeni bir çalışmada, tartrazin, 2000 mg / kg vücut ağırlığına kadar olan dozlarda farelerde mikronukleus tahlilinde herhangi bir genotoksik etki ortaya koymamaktadır. JECFA (1964) tarafından gözden geçirilen çalışmalarda, fare ve sıçanlarda yapılan son araştırmalarda kanserojenlik bulgular gözlenmemektedir. Reprodüktif çalışmalar, tartrazinin sıçanlarda veya tavşanlarda teratojenik etkilere sahip olmadığını ve diyetin % 2'ye kadar olan dozlarda bir nesil çalışmada üreme parametreleri üzerinde olumsuz etkileri olmadığını göstermektedir (Anonim, 2014).

2.3. Gıda Boyalarının Sağlık Açısından Önemi

Gıda katkı maddeleri kullanılarak gıdalarda duyu kalite ve raf ömrünün uzatılması sağlanmaktadır. Fakat aynı şekilde bunların kullanımının sindirim sisteminin işleyişinde, alerji, kanser gibi tüketicilerin sağlıklarına zararlı etkilerini inceleyen çalışmalarda bulunmaktadır. Diyetlerde kullanılan katkı maddesi ilave edilmiş meyve suları özellikle çocuklar için çeşitli etkilere sebep olmaktadır. Bunlardan bazıları aşırı kilo alma, kardiyovasküler hastalıklar, hiperaktivite, kanser gelişimini teşvik edici, alerjik ve astımlı reaksiyonlara sebep olmaktadır (Bezerra ve ark., 2016, Wilson ve Bahna, 2005). Bu sebeple son yıllarda toksik boyaların tüketimini kontrol etmek ve kullanım miktarlarını sınırlamak için girişimlerde bulunulmaktadır (Eliane C. ve ark., 2006).

Sentetik boyar maddeler, hem insan sağlığına hem de çevresel olarak negatif etkilerinden dolayı kaygı uyandırmaktadır (Balakrishnan ve ark., 2016).

WHO'nun gıda boyalarındaki toksikolojik değerlendirmelerine göre renk sınıflandırılmasında tartrazin ve sunset yellow, A kategorisine girmektedir. Kategorinin tanımına göre; bu renkler yiyeceklerde kullanım için kabul edilebilir durumdadır. Renklendiriciler için kabul edilebilir maksimum günlük alım miktarı belirlenmiştir. Fakat bu kategoride renk sınıflandırılması üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Özellikle üreme ve fetüs üzerindeki etkiler için ek araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Anonim, 1964).

Son yıllarda sunset yellow, the bordeaux red ve tartrazin boyalarının toksik etkileri tartışmalara neden olmuş ve bu renklendiricilerin kullanımı Birleşik Devletler ve Japonya gibi bazı ülkelerde yasaklanmıştır. Memeliler ile yapılan biyolojik tahlil sonuçlarına göre mutajenik hatta kanserojen olduğu bildirilmiştir. Fakat İngiltere ve Brezilya gibi diğer ülkelerdeki toksikolojik değerlendirmelerde, kemirgenlerle yapılan test sonuçlarına göre önemli sitotoksikite göstermemekte ve serbestçe pazarlanmaya devam edilmektedir (Gomes ve ark., 2013).

Gao ve ark. (2011) toksikolojik açıdan yaptıkları çalışmalarda, ayrıca Giri ve ark. (1989), Durnev ve ark. (1994) kemik iliği hücrelerinde yaptığı çalışmalarında artış ya da hasarın olmadığını bildirmektedir. Fakat buna ek olarak tartrazin alımından sonra anksiyete, migren, astım, tiroit kanseri, lipus, klinik depresyon, bulanık görme, kaşıntı, genel zayıflık, ısı dalgaları, boğulma hissi, mor cilt yamaları

ve uyku bozukluğuna sebep olabileceği bildirilmektedir. Çocuklarda astım ataklarının yanı sıra, tiroid tümörlerine, kromozom hasarına ve aşırı hareketliliğe sebep olacağı iddia edilmektedir (Moutinho ve ark., 2007).

Doksan gün boyunca oral olarak yapılmış bir çalışmanın verilerine göre tartrazinin ciddi karaciğer bozukluğunda değişiklikler oluşturmadığı aynı zamanda yüksek radyasyon dozlarında etkileri daha riskli hale geldiğini, bunun sebebinin de serbest radikal oluşumu ile oksidatif stres oluşturabileceği yönündedir. Bu nedenlerden dolayı insanların, tüketilmeye devam edilen tartrazinin etkileri konusunda bilinçli olmaları gerektiği bildirilmektedir (Hımrı ve ark., 2011). Benzer şekilde 2014 yılında yapılan bir araştırmada son on iki yıl içinde yapılan inceleme ve çalışmalar derlenmiş ve tartrazin için belirlenmiş olan dozun üzerine çıkılmadığı takdirde çocukların tartrazine maruz kalma ile hiperaktivite arasında nedensel bir ilişkinin kurulamayacağı kanaatine varılmıştır (Anonim, 2014).

Rovina ve ark., 2016, sunset yellowun özellikle astım, egzama ve aşırı kullanılması durumunda anksiyete, migrene yol açan sentetik boyalardan olduğunu, Sarıkaya ve ark. (2012) ise sentetik bir boya sınıfından olan sunset yellowun kansere neden olan potansiyel şüpheli bir kimyasal olduğunu bildirmektedir.

Sentetik boyalar, yapılarında aromatik halka ve azo-fonksiyonel grupların (- N = N-) varlığı nedeniyle insan sağlığı üzerinde potansiyel bir risk etkisine sahip olmaktadır (Rovina ve ark., 2016). Sentetik boyaların fazla tüketilmesi; alerjiler, solunum problemleri, tiroid tümörleri, kromozomal hasar, ürtiker, hiperaktivite, karın ağrısı gibi insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilen rahatsızlıklara yol açabilmektedir. Sentetik boyalar genellikle kurşun, civa, arsenik ve benzidin gibi insan sağlığını, özellikle de vücut işlevlerini etkileyebilecek çeşitli zararlı bileşiklerle birleştirilmektedir. Dolayısı ile bu bileşikler ürtiker, rinit, burun tıkanıklığı, bronkokonstriksiyon, anafloktoid reaksiyon, purpura (ürükler), alerjiler, böbrek tümörleri, kromozomal hasar, karın ağrısı, kusma, hazımsızlık gibi olumsuzluklara neden olabilmektedir (Rovina ve ark., 2016).

Doğal kaynaklardan elde edilen boyalar ise kararsızdır ve kolayca bozulabilirler. Yüksek stabilite, üretim maliyetinin düşük olması nedeniyle sentetik gıda boyaları tercih edilmektedir. Gıda endüstrisinde kullanılan sentetik boyalardan azo boyaları boya piyasasının % 65'ini kapsamaktadır. Azo boyaları, aerobik

koşullara genellikle dayanıklıdır. Fakat yetişkinlerde sık baş ağrılarında sebep olmasının yanı sıra nörotoksisite, genotoksisite ve kanserojen etkileri de bulunmaktadır. Bu tür sorunlardan dolayı bir çok ülkede, azo boyalarının kullanımı yasaklanmıştır yada yeni düzenlemelere gidilmektedir (Yamjala ve ark., 2016).

2.4. Toz İçeceklerde Renk Maddelerinin Tespit Yöntemleri

Özel sentetik renklerin saptanması için önce gıda numunelerinin ön işleme tabi tutulması gerekmektedir. Sonrasında ise farklı yiyecek matrislerinde analiz etmek için çeşitli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Rovina ve ark., 2016). Bu ekstraksiyon yöntemlerinden biri membran filtrasyondur. Bir membran, zar boyunca harici bir itici güç uygulandığında maddeleri ayıran ince bir yarı geçirgen madde tabakasıdır. Gıda örnekleri direkt olarak filtrelenebilmekte veya seyreltilebilmektedir. Filtrelerin seçimi zar türünü ve gözenek boyutunu, filtre boyutunu ve hedef analitlerin özelliklerini vurgulamalıdır (Rovina ve ark., 2016).

Diğer bir ekstraksiyon yöntemi olan katı faz ekstraksiyonu (SPE) tekniği, hızlı ve basit hazırlama prosedürüne bağlı olarak azo boyalarının tayini için yaygın olarak kullanılmaktadır. SPE metodu, gıda boyalarının daha az kontaminasyonla ve yüksek geri kazanım değeriyle ölçülmesini sağlamaktadır. İşlemlerde uygun çözücünün seçilmesinde zorluk çekildiği için, azo boyalarının analizinde farklı organik çözücüler kullanılmaktadır. Analitik matrisin yapısı ve bileşenleri, ekstraksiyon için uygun bir çözücüyü seçmede önemli rol oynamaktadır. Örneğin azo boyalarının ekstraksiyonu için metanol, asetik asit, etanol, aseton, etil asetat ve tetra-n-bütül amonyum fosfat daha uygun olmaktadır (Rovina ve ark., 2016).

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) ise, pH, tuzlar veya iyon eşleştirme reaktifleri gibi çok seçici düzenleyicilere sahip basit bir ekstraksiyon yöntemidir ve bir maddenin, sıvıdan başka bir sıvı faza çıkarılmasıdır (Rovina ve ark., 2016). Mikrodalga yardımcı ekstraksiyon (MAE) ve ultrason yardımcı ekstraksiyon (UAE) gibi diğer ekstraksiyon yöntemleride kullanılmaktadır ve bunlar daha çevre dostu yöntemler olarak kabul görmektedir. Analiz sonuçları genellikle düşük geri kazanım değeri, daha az seçicilik ve hassasiyet göstermektedir (Rovina ve ark., 2016).

Bulutlanma noktası ekstraksiyonu (CPE), basınç veya sıcaklıkta bir değişiklik olduğunda veya herhangi bir katkı maddesinin eklenmesinde, misel oluşturan yüzey aktif cisimciklerin faz ayırma davranışına dayanmaktadır. CPE, kısa analiz süresi, düşük maliyet, çevre güvenliği, yüksek kapasite ve çok sayıda analit için yüksek geri kazanım gerektiren LLE'nin yerini alabilen yeşil bir yöntemdir (Rovina ve ark., 2016). Son zamanlarda, gıda renklendiricilerin tüketimdeki hassasiyetine karşı endişe yaşanması sebebiyle detaylı çalışmalar yapabilmek için analitik tespit teknikleri geliştirilmektedir. İnce tabaka kromatografisi (TLC), düşük maliyetli aparatlardan dolayı basit kromatografik yöntemlerden biridir. TLC, gıda ürünleri ve içeceklerde boyalar düzeyinde ayırıştırma ve belirleme için sıklıkla kullanılmaktadır. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi, iyi tekrarlanabilirlik ve yüksek hassasiyete sahip olduğu için, sentetik gıda boylarının varlığını belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, çoğu HPLC yöntemiyle özellikle geniş bir yelpazedeki gıda renklendiricilerinin aynı anda belirlenmesinde zaman almaktadır. Temel olarak, HPLC yöntemi, homojenliği hesaplamak için boya konsantrasyonuna karşı çizilen kromatografik tepe alanı ve kalibrasyon grafiği pik alanı üzerinden kullanılmaktadır. Bu yöntemde zamandan tasarruf yapılabilmesi adına diod dizisi dedektörü (DAD) gibi dedektörler ile desteklenmektedir (Rovina ve ark., 2016).

Geliştirilmiş analiz metotlarından biri de elektrokimyasal sensördür. Elektrokimyasal sensör, sinyal transdüserleri kullanarak element veya hedef bileşik örneklerini tespit veya tanımda kullanılan bir elektrokimyasal hücredir. Ölçümlerinin geçici veya sabit durumda yapılabil-diği üç elektrotdan oluşmaktadır. Bunlar; alışma, referanslar ve sayaç/yardımcı elektrotlarıdır. Voltametrik sensörler, potansiyometrik, iletkenlik ve amperometrik sensörler olarak sınıflandırılabilir. Spektrofotometrik yöntem, ışık absorpsiyonuna dayalı olarak çalışmaktadır. Enstrümantel maliyetinin düşük olması nedeniyle çoğunlukla bileşik tayininde kullanılan analitik tekniktir ve çalıştırmak için herhangi bir eğitimli veya nitelikli kullanıcıya ihtiyaç bulunmamaktadır. Karışım hedef bileşiğinde oluşan spektral örtüşme, görünür absorpsiyon özgülüğünün bulunmaması nedeniyle bu yöntemi sınırlandırmış, bu nedenle uygulamayı engellemiştir (Rovina ve ark., 2016). Sentetik boyların tespiti için geliştirilmiş algılama yöntemleri, çalışılan ürün grubu ve renklendiricileri aşağıdaki Tablo 5.'te verilmektedir.

Tablo 5. Tartrazin ve Sunset Yellow Gıda Boyalarının Kullanıldığı Potansiyel Ürün Grupları ve Tespit Metotları Üzerine Yapılmış Çalışmalar

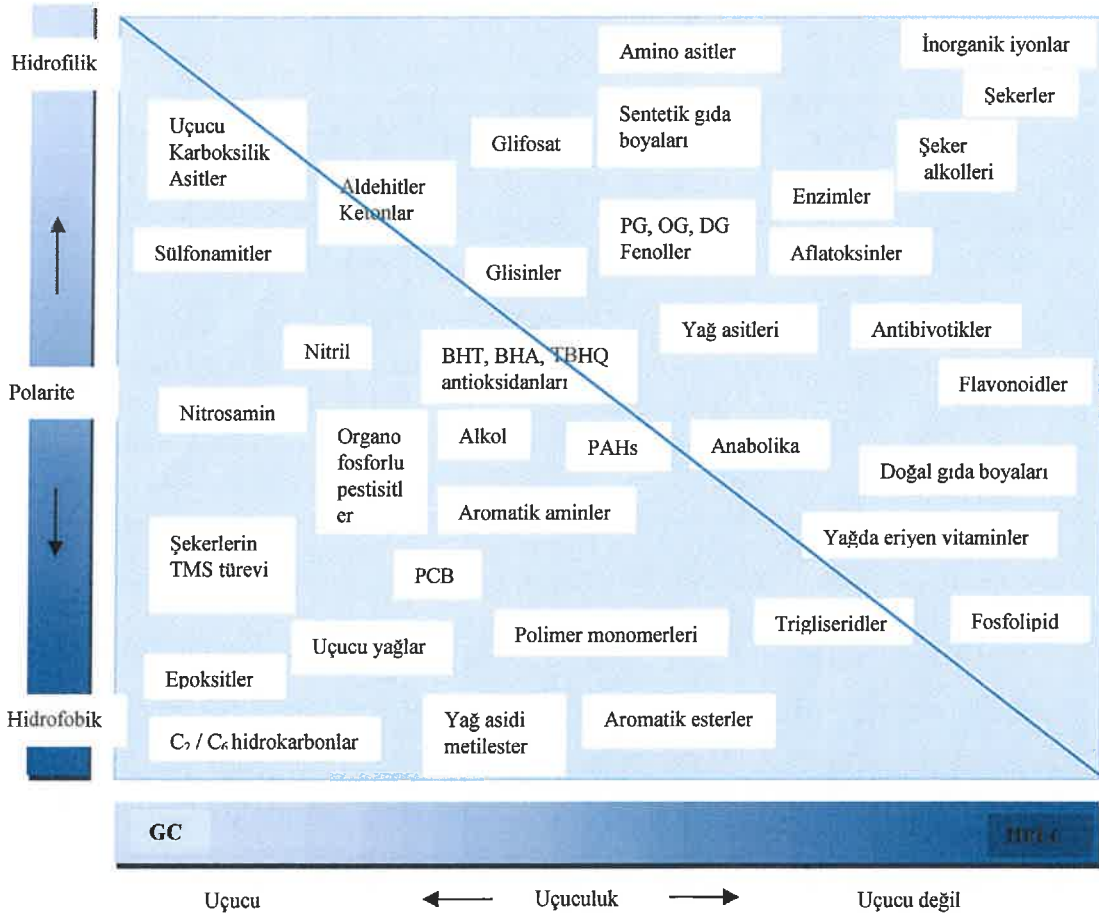
Tespit Yöntemi	Ürün Grubu	Azo Boyaları	Referans
Elektrokimyasal Sensör (CPE)	Alkolsüz içecek	sunset yellow	(Li ve ark., 2016, Chen ve ark., 2013)
Elektrokimyasal Sensör (CPE)	Alkolsüz içecek	sunset yellow ve tartrazin	(Ji ve ark., 2016, Qiu ve ark., 2016)
UFLC-MS/MS-ESI (-) ODS II	Şarap ve alkolsüz içecekler	tartrazin, amaranth, karmin, sunset yellow, alura kırmızısı, brilliant blue ve eritrosin	(Chen ve ark., 2014)
UV- VIS	Toz içecekler	atrazin, alura kırmızısı ve sunset yellow	(El-Sheikh ve Al-Degs, 2013)
HLA/ GO	Alkolsüz içecekler	alura kırmızısı, sunset yellow ve tartrazin	(Al-Degs, 2009)
IP-LC-PDA	İçecekler ve yemekler	tartrazin, kinolin sarısı, sunset yellow, carmoisine, ponceau 4r, eritrosin, karmin ve brilliant blue	(Zatar, 2007)
UV- VIS	Toz içecekler	sunset yellow, tartrazin ve alura kırmızısı	(Dinç ve ark., 2002)
HPLC/ DAD	İçecek numuneleri	amaranth, ponceau 4r, sunset yellow ve alura kırmızısı	(Chai ve ark., 2016)

HPLC/ DAD	Gıda maddeleri ve içecekler	18 farklı gıda renklendiricisi	(Bonan ve ark., 2013)
HPLC/ DAD	Alkolsüz içecekler	tartrazin ve sunset yellow	(Diacu ve Ene, 2010)
HPLC/ DAD	Alkolsüz içecekler	fd&c yellow 5 ve orange yellow s	(Diacu ve Ene, 2009)
HPLC/ DAD- (MCR-ALS ve U-PLS / RBL)	Alkolsüz içecekler	amaranth, sunset yellow fcf ve tartrazin	(Culzoni ve ark., 2009)
HPLC-UV-DAD	Katı meyve suyu tozu, katı	sunset yellow, tartrazin, amaranth,	(Alves ve ark., 2008)
HPLC/Ultrason Destekli	Toz içecek karışımı ve 14	tartrazin, sunset yellow, amaranth,	(Shen ve ark., 2014)
HPLC/ DAD	Suni meyve suyu ve jelatin numuneleri	tartrazin, brilliant blue ve sunset yellow	(Eliane C. ve ark., 2006)
LC-DAD	İçecekler, şuruplar ve	40 farklı sentetik gıda boyası	(Yoshioka ve Ichihashi , 2008)
LC-UV	Alkolsüz içecekler, şeker ve	tartrazin, amaranth, sunset yellow,	(Wu ve ark., 2013)
LC-UV/ VIS	Alkolsüz içecekler	tartrazin, sunset yellow, ponceau 4r, asesülfam, aspartam, sakarin, sodium benzoat, sorbik asit	(Dossi ve ark., 2006)
LC-MS	Alkolsüz içecekler, lezzetli zencefil ve biber baharatı	tartrazin, amaranth, ponceau 4r, sunset yellow fcf ve sudan (I-IV)	(Ma ve ark., 2006)
LC-MS / MS	Biber tozları ve şurupla korunan meyveler	20 sentetik boya	(Tsai ve ark., 2015)

LC-PDA Nucleosil	Alkolsüz içecekler	alura kırmızısı ac ve ponceau 4r	(Yamjala ve ark., 2016)
UHPLC-MS/MS-DuoSpray/(-) HSS-T3	İçecek	alura kırmızısı ac	(Gosetti ve ark., 2012, 2013)
HPLC-DAD-MS/MS-ESI	İçecek	sunset yellow ve karmosin	(Gosetti ve ark., 2008)
HPLC-MS-ESI (-)	İçecek	sunset yellow	(Gosetti ve ark., 2005)
UV- VIS/ DAD	İçecek	amaranth, sunset yellow fcf ve	(Llamas ve ark., 2009)
CE-UV/ VIS	İçecek	karminik asit, tartrazin, sunset yellow ve brilliant blue	(Liu ve ark.2015)
TLC ve HPLC-IP-PDA	Alkolsüz içecekler	tartrazin, amaranth, sunset yellow ve brilliant blue	(de Andrade ve ark., 2014)
HP-TLC	5 farklı konsantre meyve suyu	tartrazin, azorubin ve sunset yellow	(Soponar ve ark., 2008)

2.4.1. HPLC/ DAD Yöntemi

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gıda numunelerinde katkı maddelerinin ve kirletici analitlerin ayrılması ve tespiti için kullanılan bir analiz yöntemidir. Bu yöntem kompleks karışımları münferit bileşikler haline getirmekte ve bunlar da uygun dedektörler ve veri taşıma sistemleri tarafından tanımlanmakta ve miktar olarak ölçülmektedir. Büyük numune miktarlarını (enjeksiyon başına 1-2 ml'ye kadar) enjekte edebilme özelliği ve farklı saptama teknikleri bileşiklerin çok hassas, aynı zamanda çok seçici analizini sağlamaktadır. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) gibi kurumlar, termal olarak kararsız, uçucu olmayan, yüksek derecede kutupsal bileşiklerin analizi için HPLC'yi kabul ederek, önermektedir. HPLC, uçucu olmayan organik bileşiklerin analizi için gaz kromatografisine göre belirgin avantajlara sahiptir. Analitlerin HPLC ve GC cihazlarında eşleşmesi Şekil 1.'de gösterilmektedir (Agilent Technologies, 2001).

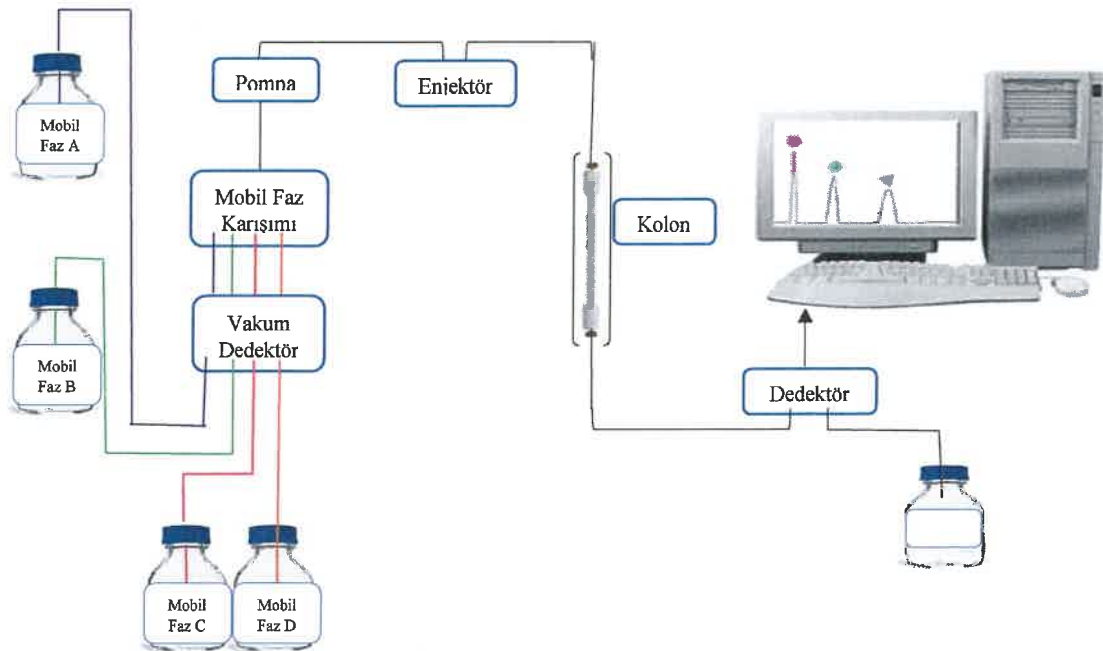


Şekil 1. Analitlerin Taşıyıcı Sistemler İle Eşleştirilmesi

HPLC katı durağan faz ve sıvı mobil fazı temel alan bir ayırma tekniğidir. Bu karışımdaki bileşenlerin ayrılmasında sıvı hareketli faz kullanılmaktadır. Bileşenler ilk çözgünde çözündürülerek ardından yüksek basınçta kolondan geçirilmektedir. Ayırma işlemleri, kullanılan sabit fazın türüne bağlı olarak gerçekleştirilmektedir. Bir bileşimin elüsyon süresi, gaz kromatografisinde olduğu gibi, bileşimin kimyasal doğasına ve fazın akış oranına bağlı olan kapasite faktörüyle (k) ve durağan fazın yüzey alanı ve bileşimiyle açıklanabilmektedir. Kolon uzunluğu, çözünürlüğün önemli bir belirleyicisidir. HPLC, normal faz kromatografisi ve ters faz kromatografisi olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Ters faz kromatografisinde; sabit faz apolar, hareketli faz polar olup, normal faz sıvı kromatografisinde ise sabit faz polar ve hareketli faz apolar veya düşük polaritelidir (Anonim, 2005).

2.4.1.1. HPLC Kısımları

HPLC kısımları genelde; hareketli faz rezervuarı, pompa, enjektör, kolon, dedektör ve kaydedici olmak üzere altı kısımdan oluşmaktadır. Proses kolona numunenin enjeksiyonu ile başlamaktadır. Analit ve hareketli fazın kolona pompalanmasıyla elue olan yani yüzeye tutunan komponentlerin pikleri oluşmakta ve her bir komponente ait dedektör cevapları kromotogram olarak görüntülenmektedir (Anonim,2005).



Şekil 2. HPLC Kısımları (Anonim, 2009)

2.4.1.1.1. Solvent Dağıtım Sistemleri

Bir yada birden fazla 6000 psi basınca dayanıklı pompalar bulunmaktadır. Pompalar mobil fazın yüksek basınç ile HPLC içinde hareket etmesini sağlamaktadır. Analitik pompalar genellikle 0.1 ml / dakika'lık artışlarla 10 ml / dakikaya kadar olan akış hızı arasında kullanılmaktadır. Pompalar degazörden mobil fazı çekerek, örnekleme ve kolon ünitesine göndermektedir. Mobil faz adedi ve karıştırma kabiliyetlerine göre dizayn edilmektedir. İzokratik çalışmalarda mobil faz önceden karıştırılıp hazırlanmakta olup, gradient çalışmalarda karışım değişik zamanlarda değişik oranlarda yapılabilmektedir (Anonim, 2005).

2.4.1.1.2. Enjektörler

Bileşikler manuel yada otomatik olarak enjekte edilmektedir. Manuel enjektör/ örnekleyiciler örneği şırıngaya çekerek valf yardımı ile cihaza aktarmakta olup otomatik örnekleyiciler ise bu işlemi cihazın kendisi yapabilmektedir. Otomatik enjeksiyonlarda enjeksiyon sayısı, enjeksiyonlar arasındaki süre gibi işlemleri kontrol edecek şekilde programlanmıştır.

2.4.1.1.3. Kolonlar

Maddelerin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden yararlanarak birbirinden ayırt edilmesini sağlayan kolonlar genellikle paslanmaz çelikten ve yüksek basınçlara dayanıklı olmalıdır. Kolonlar genellikle 2- 4.6 mm iç çaplara ve 5- 30 cm arası uzunluklara sahiptir. Ters faz kromatografilerde sabit faz, silikajele veya diğer maddelere kimyasal olarak bağlanmış organik fazdan oluşmaktadır. Yüksek polariteye sahip analit kolondan ilk önce çıkmaktadır (Anonim, 2005).

Ters faz kromatografide sabit fazlar apolar, mobil faz ise polardır. Yüksek polariteye sahip fazlarda alıkonma süreleri uzun, polaritesi azaltılmış mobil fazda alıkonma süreleri ise kısa olmaktadır. Normal faz kromatografisi için kullanılan sabit faz polardır. Mobil faz apolar ya da düşük polariteye sahiptir. Kolondaki alıkonma süresi uzun olan düşük polariteye sahip olan fazlardır. Polaritesi arttırılmış mobil fazda alıkonma süreleri kısa olmaktadır (Anonim, 2005).

Normal ve ters fazlı kolonlar için farklı boyutlarda (0.5- 5.0 cm uzunluklarında) kolonlar mevcuttur. Kolon firmı kolonu saklamak ve sabit sıcaklıkta tutmak için kolon gövdesine yerleştirilmektedir. Aksi belirtilmediği sürece kolonlar ortam sıcaklığında kullanılmaktadır. İyon değiştirme kromatografisi, 2000 den daha düşük molekül ağırlıkta iyonik bileşikleri ayırdığı gibi, suda çözünen organik maddelerin analizinde de kullanılmaktadır. Anyonlar için pozitif yüklü fonksiyonel gruplu dolgu maddeleri kolonlar kullanılmakta olduğu gibi katyonlar için ise negatif yüklü fonksiyonel gruplu dolgu maddeli kolonlar kullanılmaktadır. Boyut eleme (SEC) kromatografisinde porlu bir polimer sabit fazın doldurulduğu bir kolon kullanılmakta olup, hareketli faz karışım bileşenleri sabit fazdan geçirilmektedir. Kromatografik bileşiklerin molekülleri boyutlara göre filtrelenmektedir. Küçük moleküller tüm ufak porlara girip çıktıkları, büyük moleküllerde porlara girmeden devam ettikleri için farklı zamanlarda kolonu terk etmektedirler. Bu şekilde büyük moleküller kolondan erken çıkarken, küçük moleküller geç çıkmaktadır. Bu tip kolonlar daha çok protein ve polimer analizlerinde kullanılmaktadır (Anonim, 2005).

2.4.1.1.4. Dedektörler

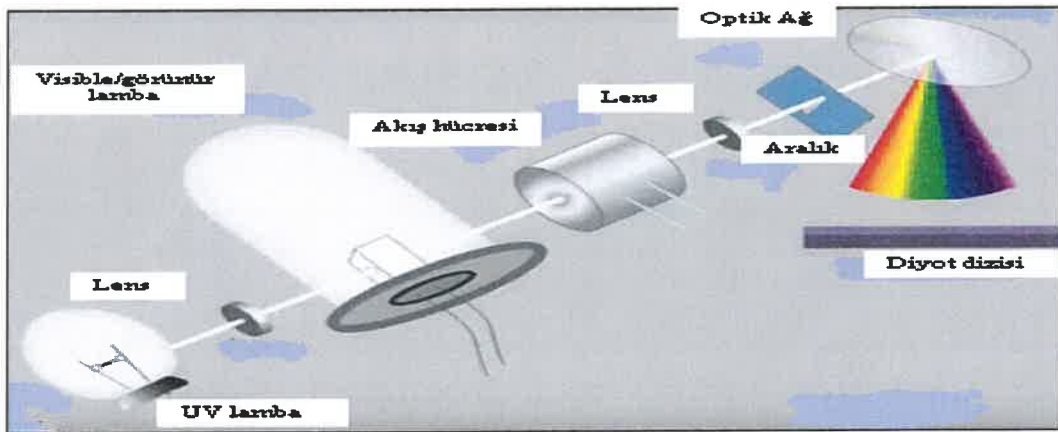
Dedektörler kolonda tutunan bileşiklerden alınan cevap doğrultusunda sinyallerin kromatogram üzerinde pikler şeklinde ifade edilmesini sağlamaktadır.

HPLC sistemlerinde en çok kullanılan dedektör türleri spektrofotometrik, florometrik, refraktometrik, potansiyometrik, voltametrik veya polarografik, elektrokimyasal ve kütle dedektörleridir. Sabit, değişken ve diyot dizisi dedektörleri (DAD), daha spesifik olarak fotodiyot dizi (PDA) dedektörleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Sabit dalga boylu dedektörler, 254 nm'lik tek bir dalga boyunda çalışmaktadırlar. Değişken dalga boylu dedektörlerin ışık kaynağı, bir döteryum veya ksenon deşarj lambası gibi, dalga boyu aralığında olan bir kaynaktır. Modern değişken dalgaboyu dedektörleri, analiz yapılırken dalga boyunu değiştirmek üzere programlanabilmektedir. Değişken veya çoklu dalga boylu dedektörler aynı anda iki veya daha fazla dalga boylarındaki absorbanları ölçmektedir (Anonim, 2005).

Diferansiyel refraktometre dedektörleri, kolondan çıkarken yalnızca hareketli fazın refraktif indeksi ile kromatografik bileşik içeren hareketli fazın refraktif indeksi

arasındaki farkı ölçmektedir. Refraktif indeks dedektörleri (RI), UV absorbe edici olmayan bileşikler tespit etmek için kullanılmaktadır. Ancak UV dedektörlerinden daha az duyarlıdır. Solvent bileşimi, akış hızı ve sıcaklıktaki küçük değişikliklere karşı hassastırlar. Güvenilir, masrafsız, kullanımı kolay ve HPLC için orijinal dedektör çeşidi olmalıdır. Florometrik, potansiyometrik, voltametrik veya polarografik elektrokimyasal dedektörler, kütle spektrometrik dedektörler de kullanılan mevcut dedektörler arasındadır (Swartz, 2010, Anonim, 2005).

Diyot dizisi dedektörler, sürekli radyasyon numune hücrelerinden geçirilmekte ve daha sonra, fotodiyot dizisi tarafından tek tek algılanan kendi oluşturduğu dalga boylarına dönüştürülmektedir. Her bir dioda karşılık gelen UV dalga boyundaki kromatogram çizilmektedir. Diyodlu dizi dedektörleri genellikle sabit veya değişken dalga boyu dedektörlerinden daha düşük sinyal/ gürültü oranlarına sahiptir ve bu nedenle düşük konsantrasyonlarda bulunan bileşiklerin analizi için daha az uygun olmaktadır (Anonim, 2005). PDA(Foto Diyot Dizisi), değişken dalga boyu dedektörlerine benzer bir optik yola sahiptir, yansıtıcıya gelmeden önce akış hücresinden geçer ve spektrumu, fotodiyot dizisinin üzerine düşmektedir. Her diyodun çıkışı bilgisayar tarafından algılandıktan sonra kromatogram olarak çizilmektedir (Swartz, 2010). HPLC/ DAD çalışma akışı Şekil 3.'te



gösterilmektedir.

Şekil 3. HPLC/ DAD Çalışma Prensipleri (Anonim, 2016)

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada piyasadan temin edilen toplam 22 adet aromalı toz içecek numunesi materyal olarak kullanılmıştır. Materyal hakkında detaylı bilgiler Tablo 6.'da verilmiştir.

Tablo 6. Materyal Hakkında Bilgi

Firmalar	Miktar	Numunelerin Aroma Çeşidi	Toplam Numune Sayısı
A	3 p	Limon	6
	2 p	Şeftali	6
B	1 p	Portakal	2
	1 p	Limon	2
C	1 kt	Şeftali	2
	1 kt	Portakal	1
	1 kt	Limon	1
D	1 kv	Portakal	1
	1 kv	Limon	1
Toplam			22

p: paket kt: kutu kv: kavanoz

3.2. Metot

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Hassas terazide yaklaşık 1 g olarak tartılan toz içecek örnekleri 25 ml lik balon jodede su ile tamamlanarak 15 dakika ultrasonik banyoda çalkalandı. Çözelti 23 °C de, 10.000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Berrak üst kısımdan alınan örnekler HPLC/ DAD cihazı ile analiz edildi.

3.2.2. Toz içecek örneklerinde sentetik boyar madde analizleri

Örneklerde sentetik boyar madde analizi, Agilent 1100 Serisi (Agilent Technologies, Hewlett-Packard, Germany) HPLC cihazı ile yapıldı.

Dedektör: G1315A diyot dizi. (Kromotogram piklerinin spektrumları, 2 nm'lik bir çözünürlükte 191-799 nm aralığında taranmasıyla elde edilmiş ve kromotografik pikler 260, 430, 485 nm'de görüntülenmiştir.)

Pompa: G1315A gradient pompa

Kolon: Nova-Pak C18 analitik kolon (3.9x150 mm, 4 µm, Part No WAT 086344, Waters) ve aynı dolgu materyalini içeren Waters guard kolon.

Kolon Fırını: Agilent Chemstation G1316A

Vakum Degazer: G1316A

Çalışma Koşulları:

Hareketli Faz: A=6 mM TBAHS+ 0,1 M NH₄Ac suda; B=6 mM TBAHS metanolde hazırlandı. Çalışmada gradient elüsyon sistemi kullanıldı (Tablo 7.).

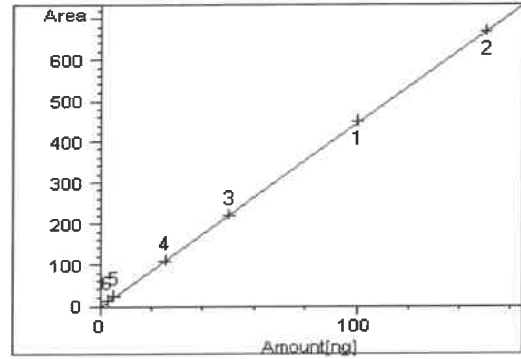
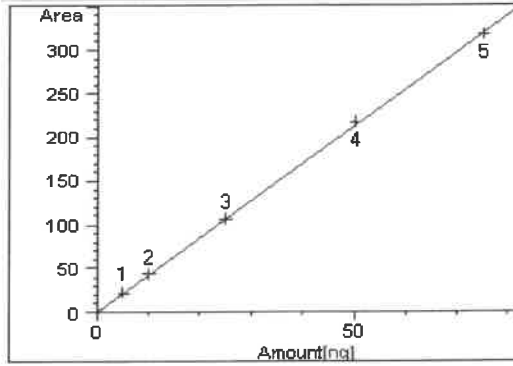
Akış Hızı: 0,5 ml /dak

Kolon Sıcaklığı: 30 °C

Tablo 7. HPLC Gradient Programı

Zaman (dk)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0	85	15
5	50	50
20	0	100
23	85	15
38	85	15

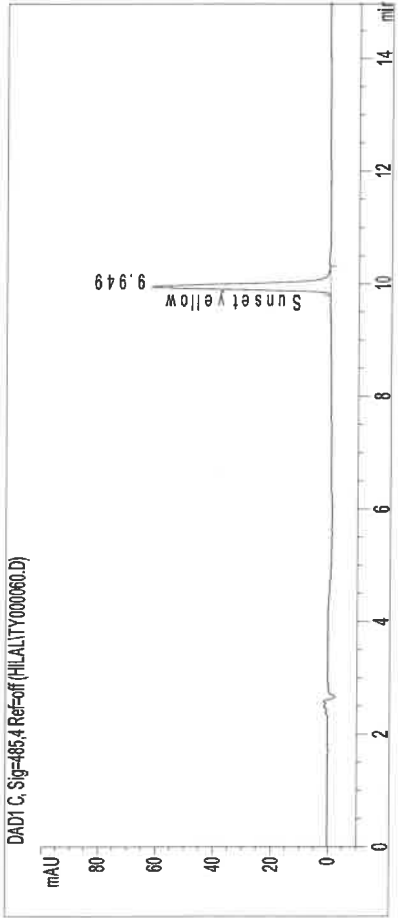
Tartrazin ve sunset yellowun standart madde çözeltilerinden hazırlanan kalibrasyon doğruları aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir (Şekil 4, 5).



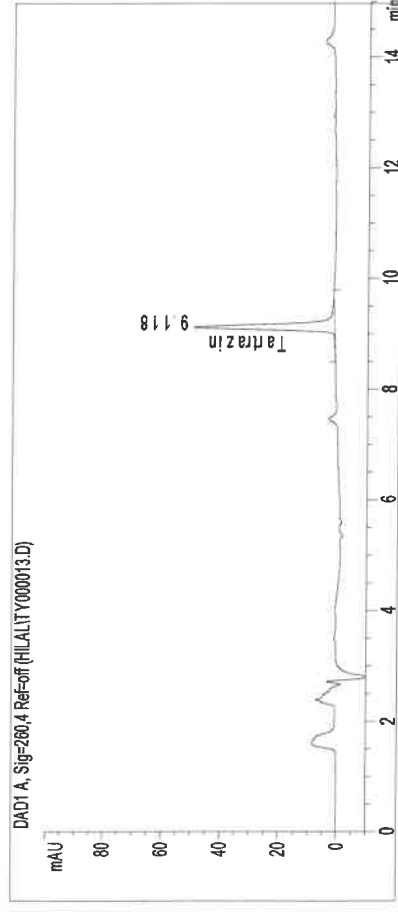
Şekil 4. Tartrazin kalibrasyon doğrusu

Şekil 5. Sunset yellow kalibrasyon doğrusu

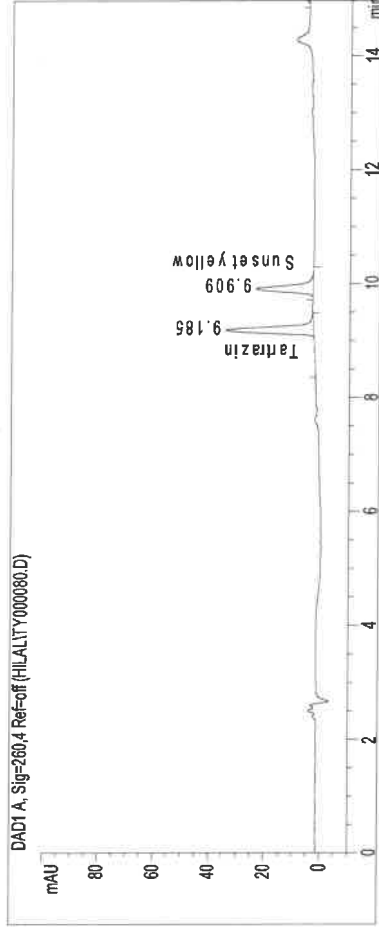
Toz içeceklerde boyar maddelerin HPLC ile analizinde iki ayrı dalga boyu kullanılmıştır. Tartrazin için 260 nm ve sunset yellow için 485 nm dalga boyları kullanılarak kromatogramlar elde edilmiştir (Şekil 6,7). Daha sonra standart maddelerden karışım standart hazırlanarak çalışma yürütülmüştür (Şekil 8). Tartrazin ve sunset yellow boyar maddelerinin spektumları, sırasıyla Şekil 9 ve 10 da verilmiştir. Tartrazin ve sunset yellow boyar maddelerini içeren toz içeceklerin kromatogramları ise şekil 11, 12, 13 te gösterilmiştir.



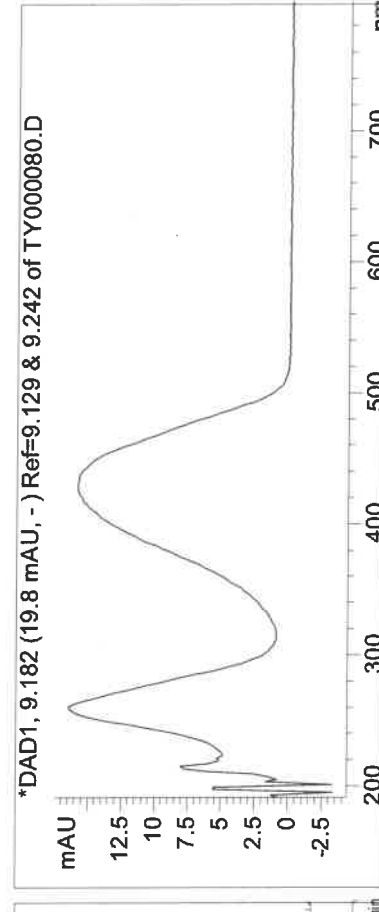
Şekil 6. Sunset yellow standart madde kromatogramı (100 ng lık pik)



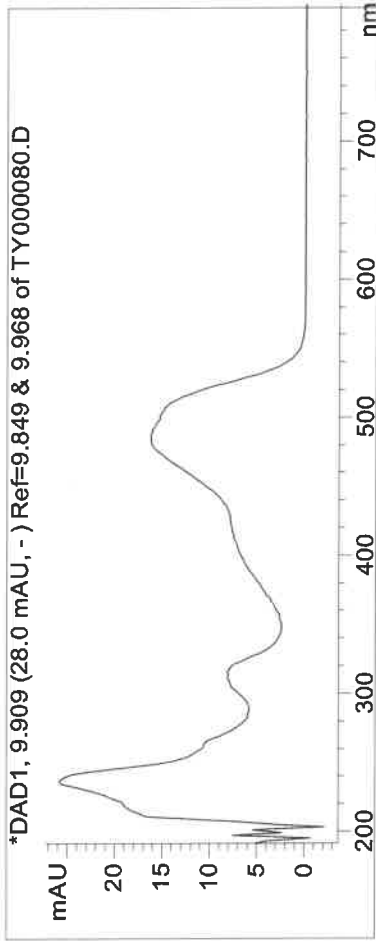
Şekil 7. Tartrazin standart madde kromatogramı (75 ng lık pik)



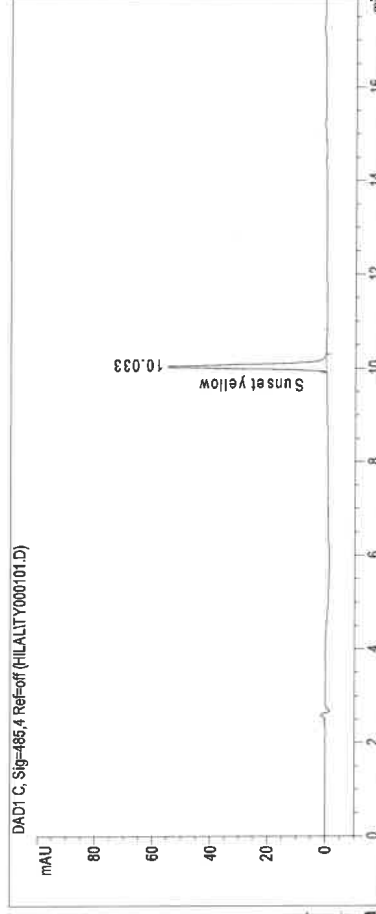
Şekil 8. Tartrazin ve sunset yellow boyar madde standart karışımının kromatogramı



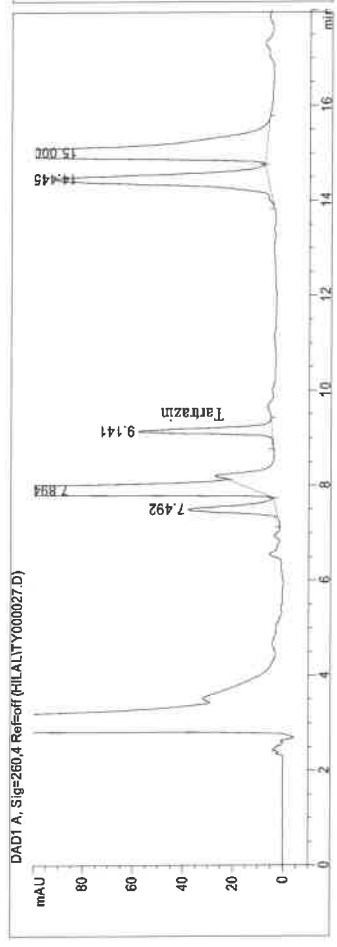
Şekil 9. Tartrazin HPLC/ DAD ile elde edilen kromatogramdaki pikin spektrumu



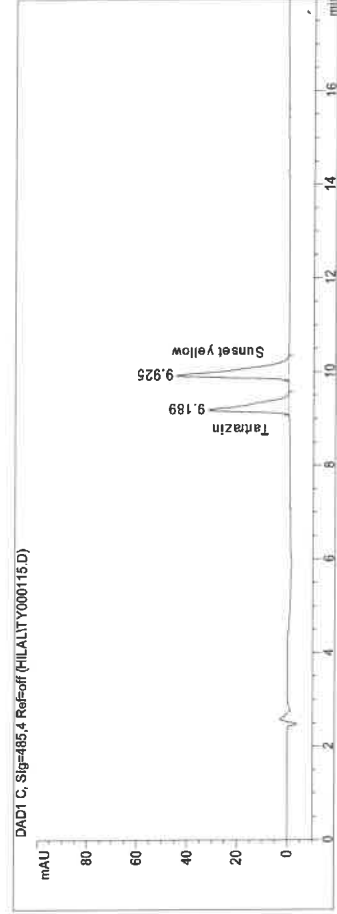
Şekil 10. Sunset yellowun HPLC/ DAD ile elde edilen kromatogramdaki pikin spektrumu



Şekil 11. Sunset yellow içeren toz içecek örneğinin kromatogramı (Şeftali)

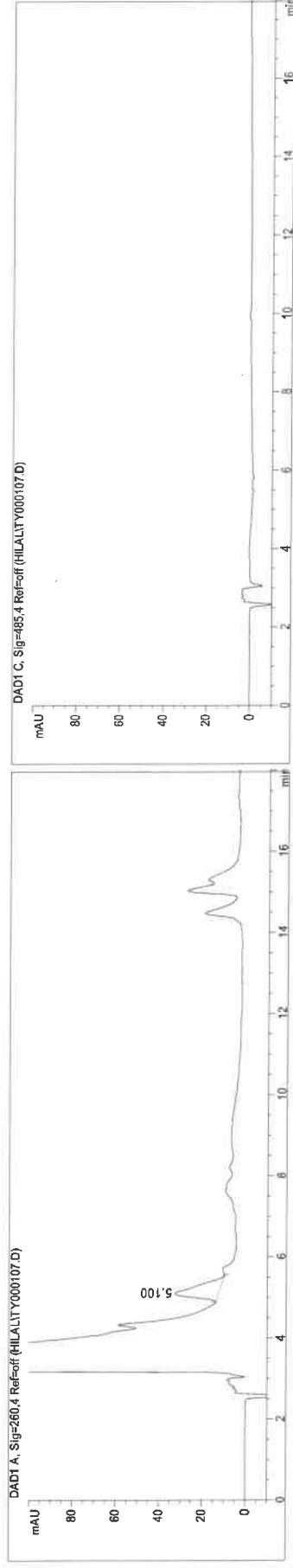


Şekil 12. Tartrazin içeren toz içecek örneğinin kromatogramı (Limon)



Şekil 13. Sunset yellow ve tartrazin içeren toz içecek örneğinin (Portakal)

Boyar madde içermeyen toz içecekler de çalışmada analiz edilmiş olup, Şekil 14., 15. 'te kromatogramları görülmektedir.



Şekil 14. Boyar madde içermeyen toz içecek örneğinin 260 nm dalga boyunda elde edilen kromatogramı (Limon)

Şekil 15. Boyar madde içermeyen toz içecek örneğinin 485 nm dalga boyunda elde edilen kromatogramı (Limon)

3.2.3. Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzemeler

- Hassas terazi (0,0001 g hassasiyette)
- Diode Array Dedektör (DAD)
- Santrifüj
- Vorteks
- Ultrasonik banyo
- Otomatik pipet 10-100 µL, 100-1000 µL
- Süzgeç kâğıdı
- Balon joje
- HPLC kalite su yüksek saflıkta 0,2 µ 'dan süzölmüş
- Mobil Faz A (6 mM TBARS + 0,1 M NH₄AC + Su)
- Mobil Faz B Metanol (6 mM TBARS + MeOH)
- Sunset yellow FCF (90 % – ALDRICH Chemistry)
- Tartrazin (≥85 %– ALDRICH Chemistry)

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada piyasadan temin edilen bazı aromalı toz içeceklerde renklendirici olarak kullanılan tartrazin (E102) ve sunset yellow (E110)'un mevcudiyeti HPLC/DAD yöntemiyle araştırılmış, miktarları tespit edilmiş ve bildirilen yasal limitler içinde olup olmadığı tartışılmıştır.

Yöntemin geçerliliğini saptamak için içecek örneklerine 50 ppm tartrazin ve sunset yellow standart maddelerinden ilave edilerek ekstraksiyon işlemi yapılmış ve HPLC metoduyla analiz edilerek renklendirici maddelerin ortalama geri kazanım oranları ile belirleme sınırı (LOD-LOQ) hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Yöntemin Geçerliliği

Renklendiriciler ve kodları	Korelasyon Katsayısı (r)	Doğru denklemi	*Ortalama geri kazanım \pm %RSD	Belirleme sınırı (LOD-LOQ) (ppm)
Tartrazin (E 102)	0,99984	$y = 4,25694x + 0,6$	96,19 \pm 9,26	3,6 – 10,8
Sunset Yellow (E 110)	0,99997	$y = 4,47088x - 0,8$	96,71 \pm 13,71	2,1 – 6,3

*n=6

Buna göre, ortalama geri kazanım her iki renklendirici için yaklaşık % 96 olarak, belirleme sınırı (LOD-LOQ) ise tartrazin için 4 – 11 ppm ve sunset yellow için 2 – 6 ppm olarak saptanmıştır.

Kalibrasyon eğrileri, tartrazin için 5-75 ppm; sunset yellow için 2-150 ppm arasında doğrusal olarak belirlenmiştir. Kalibrasyon denklemlerinde pik alanları kullanılarak örneklerdeki boyar madde miktarı saptanmıştır.

Piyasadan temin edilen farklı firmalara ait aromalı toz içecek örneklerinde HPLC/ DAD yöntemiyle saptanan tartrazin (E102) ve sunset yellow (E110) renklendiricilerinin miktarları Tablo 9.'da verilmiştir.

Tablo 9. Toz içecek örneklerinde saptanan renklendirici madde miktarları

Nuunelerin Aroma eşidi	rnek No	Renklendirici Mevcudiyeti	Tartrazin (ppm)	Sunset Yellow (ppm)
Limon	01	Pozitif	517	-
Limon	02	Pozitif	517	-
Limon	03	Pozitif	420	-
Limon	04	Pozitif	344	-
Limon	05	Pozitif	528	-
Limon	06	Pozitif	497	-
Limon	07	Pozitif	58	-
Limon	08	Pozitif	45	-
Limon	09	Pozitif	291	-
Limon	10	Negatif	-	-
şeftali	11	Pozitif	-	798
şeftali	12	Pozitif	-	896
şeftali	13	Pozitif	-	892
şeftali	14	Pozitif	-	887
şeftali	15	Pozitif	-	895
şeftali	16	Pozitif	-	765
şeftali	17	Pozitif	403	385
şeftali	18	Pozitif	403	578
Portakal	19	Pozitif	131	126
Portakal	20	Pozitif	154	148
Portakal	21	Pozitif	-	276
Portakal	22	Negatif	-	-
Min. ve Max			45-528	126-896
Ortalama			332	604

Buna göre, çalışmamızda incelenen 10 adedi limon, 8 adedi şeftali ve 4 adedi portakal aromalı olmak üzere toplam 22 adet aromalı toz içecek örneğinin 20 adedinde (% 99,9) renklendirici madde tespit edilirken; 2 adet örnek (% 0,99) saptanmadı. Ayrıca, 4 adet örnek (% 17. 18. 19. ve 20. numuneler) her iki renklendiricinin birlikte kullanıldığı görüldü (Tablo 9.).

Tartrazin toplam 22 adet örneğin 13 adedinde (%59,9) tespit edilirken, 9 adedinde (%40,9) saptanmadı. Sunset yellow ise toplam 22 adet örneğin 11 adedinde (%50) tespit edilirken, 11 adedinde (%50) saptanmadı. Pozitif 13 adet örnekteki

ortalama tartrazin miktarı 332 ppm (min.45 ve max.528 ppm), pozitif 11 adet örnekteki ortalama sunset yellow miktarı ise 604 ppm (min.126 ve max. 896 ppm) olarak hesaplandı (Tablo 9).

Elde edilen bulgular, tartrazin ve sunset yellow renklendiricilerinin tek olarak veya ikisi birden hemen hemen bütün aromalı toz içeceklerde kullanıldığını gösterdi. Renklendiricilerin kullanım miktarları TGK Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği'nde ve FAO/ WHO Gıda Katkıları Ortak Uzmanlar Komitesi JECFA tarafından bildirilen limitlere göre değerlendirildi.

Buna göre, TGK Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği'nde alkolsüz toz içecekler için belirlenen kullanılabilir en yüksek miktar belirtilmemekle birlikte, alkolsüz aromalı sıvı içecekler için limit 100 mg/L olarak verilmektedir (Anonim, 2007).

Buna karşılık, FAO/ WHO Gıda katkıları Ortak Uzmanlar Komitesi JECFA (The Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives) tarafından insanlarda tartrazin için günlük ADI değeri 0-7.5 mg/kg olarak bildirilmiş, sunset yellow için ise, 0-2.5 mg/kg olan günlük alım değeri 2011 yılında yapılan toplantıda 0-4 mg/kg olarak belirlenmiştir (Anonim, 2011). Buna göre JECFA kriterleri açısından, 60 kg ağırlığına kadar olan bireyler daha riskli gruba girdiğinden tartrazin için 0-450 mg/kg ve sunset yellow için 0-240 mg/kg günlük alınabilecek sınır değer olarak kabul edilmiştir (Karakaya, 2017).

TGK Yönetmeliği açısından yapılan değerlendirmede alkolsüz aromalı sıvı içecekler için bildirilen 100 ppm değeri kriter olarak alınmış ve tartrazin ortalama miktarı pozitif 13 adet örneğin 2 adedinde (7 ve 8. örnekler) bildirilen limitlerin altında, 2 adedinde (19 ve 20. örnekler) limitlere yakın ve diğer 9 adet örnekte ise limitlerin üstünde olarak değerlendirilmiştir. Sunset yellow ortalama miktarı ise pozitif bulunan 11 adet örneğin 2 adedinde (19 ve 20. örnekler) bildirilen limitlere yakın, diğer 9 adet örnekte ise bildirilen limitlerin çok üstünde olarak değerlendirilmiştir.

JECFA açısından yapılan değerlendirmede ise günlük alınabilecek maksimum miktarlar tartrazin için 0-450 ppm ve sunset yellow için 0-240 ppm olarak hesaplanan değerler kriter olarak alınmıştır ve tartrazin ortalama miktarı pozitif 13 adet örneğin 4 adedinde (1, 2, 5, ve 6. örnekler) bildirilen limitlerin üstünde, diğer 9

adet örnekte ise limitlerin altında olarak değerlendirilmiştir. Sunset yellow ortalama miktarları ise pozitif 11 adet örneğin 2 adedinde (19 ve 20. örnekler) limitlerin altında, 2 adet örnekte (17 ve 21. örnekler) limitlere yakın ve diğer 7 adet örnekte ise limitlerin üstünde olarak değerlendirilmiştir (Tablo 9).

Buna göre, örneklerde saptanan renklendirici ortalama miktarlarının Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler Tebliğinde bildirilen değerlerin çok üzerinde olduğu ve dolayısıyla ülkemizde üretilen alkolsüz aromalı toz içeceklerde renklendirici kullanımının kontrol altına alınmadığı ve bu durumun tüketici sağlığı açısından sakınca oluşturabileceği sonucuna varıldı.

Çalışmada incelenen örneklerde saptanan ortalama tartrazin miktarı 332 ppm ve sunset yellow miktarı 604 ppm olduğundan 60 kg ağırlığında ki bireyler için (özellikle çocuklar) tartrazin miktarı JECFA kriterlerinin altında kalmış sunset yellow miktarı ise bu kriterleri yaklaşık üç kat aşmıştır. Bu durumda JECFA kriterlerine göre çalışmada elde edilen sunset yellow ortalama miktarları tüketici sağlığı açısından sakıncalı olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada elde edilen bulgular TGK ve JECFA kriterlerine göre ayrı ayrı değerlendirildiğinde, ülkemizde üretilen aromalı toz içecek güvenliği ve tüketici sağlığı açısından farklı sonuçlara varılmaktadır. Örneğin, incelenen aromalı toz içecek örnekleri TGK'ya göre her iki renklendirici açısından sakıncalı bulunmuş, JECFA kriterlerine göre ise tartrazin sonuçları uygun bulunurken sunset yellow miktarları sakıncalı bulunmuştur. Bu durum ülkemizdeki aromalı toz içecekler ile ilgili mevzuatın yeterince detaylı olmadığı sonucunu göstermektedir. İçecek tanımlamalarının net olarak yapılması ve gıdalarda kullanılan renklendiriciler ile ilgili kapsam daha genişletilmesi yararlı olacaktır.

Tartrazin ve sunset yellow renklendiricilerinin çeşitli içeceklerde mevcudiyetinin saptanması üzerine yapılan çalışmalarda birbirine yakın sonuçların elde edildiği görülmektedir. Örneğin, Dinç ve Arıcı (2008), tarafından farklı 27 alkolsüz içecek ve içecek tozu numunesinde yapılan bir çalışmada 15 numunede 2- 44 ppm arasında tartrazin, 12 numunede 4- 18 ppm arasında sunset yellow tespit edilmiştir.

Ma ve ark. (2006), tarafından gıda maddelerinde suda ve yağda çözünen sentetik renk vericileri yüksek performanslı sıvı kromatografi ve elektrosprey kütle

spektrometresi ile eşzamanlı olarak araştırmıştır. Buna göre, alkolsüz içeceklerde tartrazin ortalama 10,52 µg/ml miktarında ve sunset yellow ise ortalama 11.71 µg/ml miktarında saptanmıştır.

Feng ve ark. (2011), tarafından alkolsüz içeceklerde sıvı kromatografi elektrosprey kütle spektrometresi ile 40 boya aranmış ve numunelerde 158 µg/g miktarında tartrazin ile 13.3 µg/g miktarında sunset yellow saptanmıştır.

Eliane C. ve ark. (2006), tarafından yapılan bir çalışmada gıda numunelerinde renklendiricilerin tespiti için bir kromatografik yöntem geliştirilmiş ve bu yöntemle doğal olmayan meyve sularında 0,2 mg/kg miktarında tartrazin ve 0,16 mg/kg miktarında sunset yellow saptamışlardır.

Alves ve ark. (2008), tarafından yapılan bir çalışmada katı jöle tozu, katı meyve suyu ve alkolsüz içecekler UV-DAD dedektörlü HPLC ile sentetik boyaların mevcudiyeti açısından incelenmiştir. Buna göre, tartrazin incelenen numunelerin % 57'sinde ortalama 100 gramında 0,11- 5,62 mg miktarında, sunset yellow ise incelenen numunelerin % 78'sinde 100 gramında ortalama 0,05- 9,31 mg miktarında saptanmıştır.

Bu çalışmalarda elde edilen tartrazin ve sunset yellow miktarları, bizim çalışmamızda elde edilen miktarlar ile karşılaştırıldığında çalışmamızda elde edilen bulguların çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar ülkemizde alkolsüz toz içecek üretiminde son yıllarda aşırı derecede artan renklendirici madde kullanımının yeterince kontrol altına alınmadığını ve bu durumun sağlık açısından önem arz ettiğini göstermektedir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, aroma açısından değerlendirilmiş ve, Tablo 10. ile Şekil 16.'da gösterilmiştir. Buna göre, toplam 10 adet limon aromalı toz içecek örneğinin 9 adedinde tartrazin saptanırken, bir adet örnekte tespit edilmedi. Sunset yellow ise 10 adet limon aromalı toz içecek örneklerinin hiç birinde saptanmadı.

Tartrazin, renklendiricisinin pozitif olarak bulunduğu 9 adet örnekte min.45- mak.528 ppm ve ortalama 358 ppm olarak saptandı. TKG'sine göre tartrazin miktarı örneklerin 2 adedinde (limon 7. ve 8. örnekler) limitlerin altında ve 7 adedinde ise üstünde olarak değerlendirildi. JECFA'ya göre ise örneklerin 4 adedi

(1.2.5. ve 6. örnekler) limitlerin üstünde ve 5 örnekte ise limitlerin altında olarak değerlendirildi.

Sonuç olarak, limon aromalı toz içeceklerde genellikle tartrazin boyası kullanımının tercih edildiği, ancak TGK'ya göre 7 adedinde ve JECFA'ya göre ise 5 adedinde bildirilen limitlerin çok üstünde bir kullanımın gerçekleştiği kanaatine varıldı.

Toplam 8 adet şeftali aromalı toz içecek örneğinin 2 adedinde tartrazin ortalama 403 ppm miktarında saptanırken; 6 adet örnekte tespit edilemedi. Sunset yellow ise 8 adet örneğin tümünde ortalama 762 ppm ve min.385-mak.896 ppm miktarında saptandı. Ayrıca 2 adet örnekte ise tartrazin ve sunset yellow renklendiricilerinin birlikte kullanıldığı tespit edildi.

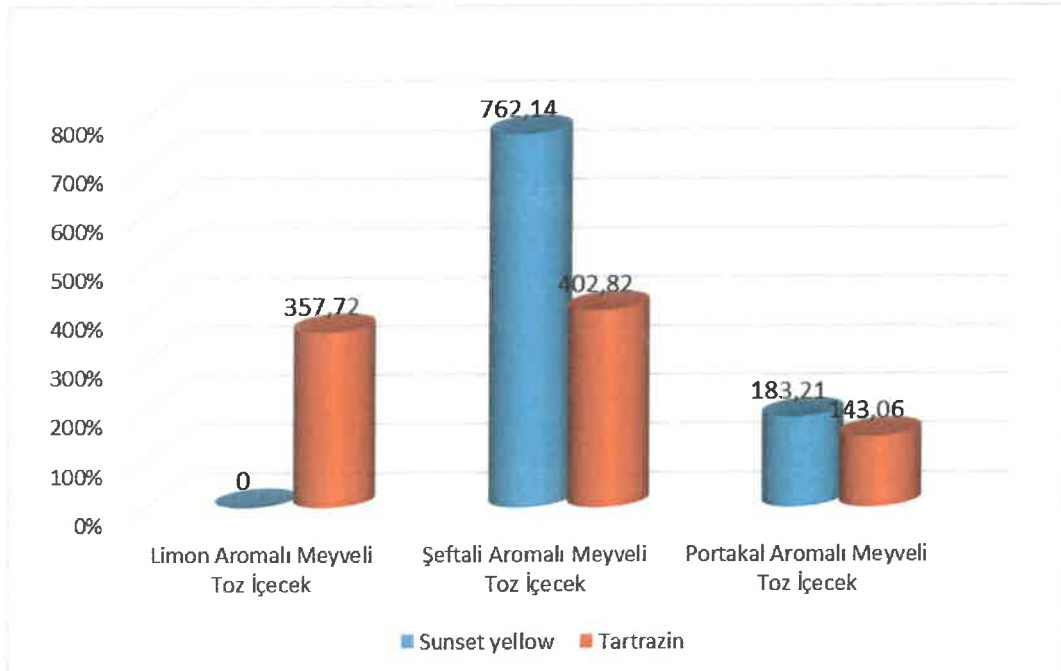
Sonuç olarak, şeftali aromalı toz içeceklerde genellikle sunset yellow renklendiricisi kullanımının tercih edildiği, ancak 2 adet örnekte tartrazin ile birlikte kullanıldığı ve kullanım miktarlarının TGK'ya göre tüm örneklerde limitlerin çok üstünde olduğu, JECFA'ya göre ise tartrazin miktarlarının limitlerin altında, sunset yellow miktarlarının ise limitlerin çok üstünde olduğu görüldü.

Toplam 4 adet portakal aromalı toz içecek örneğinin 2 adedinde tartrazin ortalama 143 ppm miktarında saptanırken; 2 adedinde tespit edilemedi. Sunset yellow ise 3 adet örnekte ortalama 183 ppm miktarında saptanırken; 1 adet örnekte tespit edilmedi. Ayrıca 2 adet örnekte ise tartrazin ve sunset yellow renklendiricileri birlikte saptandı. Sonuç olarak, TGK'ya göre tartrazin ve sunset yellow miktarları limitlerin üstünde JECFA'ya göre ise tartrazin miktarları limitlerin altında, sunset yellow miktarları ise örneklerinin 2 adedinde limitlerin altında ve 1 adedinde ise limitlerin üstünde olarak değerlendirildi.

Tablo 10. Toz İçecek Örnek Sonuçlarının Aroma Açısından Değerlendirilmesi

LİMON AROMALI			ŞEFTALİ AROMALI			PORTAKAL AROMALI		
Ö No	T (ppm)	SY (ppm)	Ö No	T (ppm)	SY (ppm)	Ö No	T (ppm)	SY (ppm)
01	517	-	11	-	798	19	131	126
02	517	-	12	-	896	20	154	148
03	420	-	13	-	892	21	-	276
04	344	-	14	-	887	22	-	-
05	528	-	15	-	895			
06	497	-	16	-	765			
07	58	-	17	403	385			
08	45	-	18	403	578			
09	291	-						
10	-	-						
	9	0	8	2	8	4	2	3
Min-Max	45-528				385-896			126-276
Ort.	358	0		403	762		143	183

N: Örnek T: Tartrazin SY: Sunset Yellow



Şekil 16. Renklendiricilerin Aromalar Bazında Ortalamaları

Farklı aromalı alkolsüz içeceklerde HPLC yöntemi ile renklendirici analizleri üzerine yapılan çalışmalarda birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. García-Falcón ve Simal-Gándara (2005), tarafından doğal pigmentler içeren değişik marka alkolsüz içeceklerde gıda boyaları sıvı kromatografisi ile araştırılmıştır. Buna göre, sunset yellowun (E102) portakal renkli meyve sularında (Radical) 21.5–22.5 mg/l, elmalı meyve suyunda (Radical) 7.6–8.3 mg/ l, ananaslı meyve suyunda (Radical) 5.8-6.1 mg/l, limonlu meyve suyunda (Kas) 2.0–2.1 mg/ l, portakal meyve suyunda (Kas) 11.9-12,3 mg/l ve casera portakal meyve sularında 17.8-18.1 mg/l miktarında, tartrazin (E 110) değerlerini ise portakal renkli meyve sularında (Radical) 3.9–4.1 mg/ l, portakal rengi meyve sularında (Kas) 2,0-2.1 mg/l ve portakal renkli meyve sularında (Casera) 6.0-6.2 mg/l miktarında saptamışlardır.

Çalışmamızda ise tartrazin 9 adet limon aromalı toz içekte ortalama 358 ppm miktarında, 2 adet şeftali aromalı toz içekte ortalama 403 ppm miktarında ve 2 adet portakal aromalı toz içekte ortalama 143 miktarında, benzer şekilde sunset yellow ise 8 adet şeftali aromalı toz içekte ortalama 762 ppm miktarında ve 3 adet portakal aromalı toz içekte ortalama 183 ppm miktarında saptanmıştır. Görüldüğü gibi, portakal ve limon renkli toz içeceklerde García-Falcón ve Simal-Gándara (2005) tarafından saptanan tartrazin ve sunset yellow miktarları çalışmamızda saptanan miktarların çok altındadır.

Vachirapatama ve ark. (2008) tarafından gıda maddeleri ve alkolsüz içeceklerde yapılan bir çalışmada C18 Kolonlu Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile yedi sentetik boya tayini yapılmıştır. Buna göre, alkolsüz içeceklerde sunset yellow portakal renkli konserve ambalajlarda 51,5 mg/kg ve şişe ambalaj turuncu olanlarda 37,3 mg/kg miktarında saptanırken, tartrazin ise konserve ambalaj yeşil olanlarda 84,5 mg/kg miktarında tespit edilmiştir.

Minioti ve ark. 2007, suda çözünen gıdalardaki 13 sentetik gıda renklendirici maddeyi, HPLC/ DAD ile araştırmış ve bunlar içerisinde suda çözünen şekerli buzlarda E102 12,4 mg/kg ve E100 10,1 mg/kg miktarında raporlandırılmıştır. Bu iki çalışmada da elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızda elde edilen sonuçların çok altında bulunmuştur.

5. SONUÇ

Doğal meyve sularının dayanma sürelerinin kısa olması nedeniyle içine meyve aroması ve renklendirici katılmış içecekler üretilmekte ve bunlar raf ömrünü uzatmak amacıyla toz haline getirilerek piyasaya sunulmaktadır.

Gıda tüketiminde renk unsuru ilk seçici özelliklerin arasında gelmektedir. Çeşitli nedenlerle orijinal rengini yitirmiş olan gıda ürünlerine istenilen rengi sağlamak, mevcut rengi korumak, arttırmak, modifiye etmek ve standardize etmek amacıyla farklı formda renklendiriciler kullanılmaktadır.

Ülkelerin gıda renklendiricileri için, özelliklede çocuklar tarafından günlük alım miktarlarının aşılmasını sağlamak için yasal limitler bulunmaktadır. Bu limitlerin doğru saptanabilmesinde, sonuçları doğrulanmış çeşitli analitik yöntemlere gereksinim bulunmaktadır. Gıda katkı maddeleri sınıfından olan renklendiricilerin değişik yelpazedeki gıda matrislerinde belirlenebilmeleri için hassas ve doğrusal analitik metotlar gerekmektedir. Gıda analizlerinde basit, seçici ve çevre dostu yöntemlerin yanı sıra hassas kromatografik ve spektrometrik tekniklerin kombinasyonları kullanılması önemlidir. Çalışmamızda, ülkemizde piyasaya sunulan aromalı toz içeceklerde tartrazin ve sunset yellow renklendiricilerinin mevcudiyeti güvenilir bir metot olan ve yöntem geçerliliği yapılmış HPLC cihazı ile araştırılmıştır.

Sonuç olarak analiz edilen 22 adet örneğin 20 adedinde (% 99,9) söz konusu renklendiriciler tek olarak veya her ikisi birden tespit edilmiş 2 adet (% 0,99) örnekte ise mevcudiyetleri saptanmamıştır. Bu durumda, ülkemizde üretilen ve piyasaya sunulan aromalı toz içeceklerde renklendirici kullanımının yaygın olduğu görülmektedir.

İncelenen 22 adet örneğin 13 adedi (% 59,9) tartrazin pozitif ve 11 adedi (% 50) sunset yellow pozitif olarak saptanmıştır. Ulusal ve uluslararası yasal mevzuat açısından değerlendirildiğinde TGK'ya göre tartrazin pozitif 13 adet örneğin 11 adedi (% 84,6) ile sunset yellow pozitif 11 adet örneğin 11 adedi (% 100) limitlerin üstünde, JECFA'ya göre ise tartrazin pozitif 13 adet örneğin 4 adedi (% 30,7) ile sunset yellow pozitif 11 adet örneğin 7 adedi (% 53,8) limitlerin üstünde bulunmuştur. Aynı şekilde, tartrazin pozitif 13 adet örnekte 332 ppm olarak ve sunset

yellow pozitif 11 adet örnekte 604 ppm olarak saptanan ortalama miktarlar TGK'ya göre her iki renklendiricide limitlerin çok üstünde, JECFA'ya göre ise tartrazin'de günlük alınabilecek maksimum değere çok yakın ve sunset yellow'da bu değerin çok üstünde bulunmuştur. Değerlendirme TGK'de numune içeceği litresinde bulunması gereken maksimum miktara göre, JECFA'da ise ADI değerine yani numune içecek ile günlük alınabilecek maksimum miktara göre yapılmıştır.

Çalışmada elde edilen bulgular TGK ve JECFA kriterlerine göre ayrı ayrı değerlendirildiğinde, ülkemizde üretilen aromalı toz içeceklerde gıda güvenliği ve tüketici sağlığı açısından farklı sonuçlara varılmaktadır. Bu durum ülkemizdeki aromalı toz içecekler ile ilgili mevzuatın yeterince detaylı olmadığını ve bu nedenle içecek tanımlamalarının daha net olarak yapılması ve gıdalarda kullanılan renklendiriciler ile ilgili mevzuatın daha genişletilmesi gerektiğini göstermektedir.

Yapılan çalışma ile ülkemizde üretilen aromalı toz içeceklerde tartrazin ve sunset yellow renklendiricilerinin yaygın olarak kullanıldığı ve kullanım miktarlarının incelenen numunelerin çoğunda yasal mevzuatta bildirilen limitlerin çok üzerinde olduğu ve bu durumun başta çocuklar olmak üzere tüm tüketicilerde sağlık açısından sakıncalı olduğu sonucuna varılmıştır.

Gıdalara renk vermek amacıyla yaygın olarak kullanılan yapay renklendiricilerin kullanım miktarları tüketici sağlığı açısından önem taşımaktadır. Sentetik boyaların çoğunun potansiyel olarak toksik olmaları kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Renk maddeleri düşük kaliteyi yükseltmek ve tüketiciyi yanıltmak amacı ile kullanılmamalı ve sağlığa zararlı olmamalıdır. Renk maddelerinin bu amaçla kullanımı yasal düzenlemeler yoluyla kontrol altına alınmalı, kullanılan renklendiriciler ürün etiketlerinde açık olarak yazılmalı ve piyasaya sürülen aromalı toz içeceklerin kontrolü etkin olarak yapılmalıdır.

KAYNAKÇA

Andrade , F., Guedes , M., Vieira , Í., Mendes , F., Rodrigues , P., Maia , C., Ribeiro , L. (2014). Determination of synthetic food dyes in commercial soft drinks by TLC and ion-pair HPLC. *Food chemistry*(157), 193-198.

Al-Degs , Y. (2009). Determination of three dyes in commercial soft drinks using HPLC and liquid chromatography. *Food Chemistry, 117*(3), 485-490.

Alves, S., Brum, D., de Andrade , É. and Netto, A. (2008). Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection. *Food Chemistry, 107*(1), 489-496.

Anonim (2007). Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği. (26553). Gıda,Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.

Anonim (2007). Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği (Tebliğ No:2002/ 55). (24857). T.C. Gıda,Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.

Anonim (2011). Ulusal Enerji Ar-Ge ve Yenilik Stratejisi TÜBİTAK Bilim,Teknoloji ve Yenilik Politikaları Daire Başkanlığı, Ankara.

Anonim. (2013). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. (28693). T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.

Anonymus (2001). HPLC for Food Analysis. Agilent Technologies. Germany. <https://www.agilent.com/cs/library/primers/Public/59883294.pdf> adresinden alındı

Anonymus (2014). Toxicity of tartrazine. Scientific review report Australian Government Department of Health. Australia, 5-14.

Anonymus.(2016) : Diode Array Detector/ YouTube. Instrumentation 26, <https://www.youtube.com/watch?v=6K7EYMkBbFk> adresinden alındı

- Ashurst, P. (2016). Chemistry and technology of soft drinks and fruit juices. John Wiley & Sons.
- Balakrishnan, V., Shirin, S., Aman, A., de Solla, S., Mathieu Denoncourt, J. and Langlois, V. (2016). Genotoxic and carcinogenic products arising from reductive transformations of the azo dye, Disperse Yellow 7. *Chemosphere* (146), 206-215.
- Bezerra, M., Malaquias, G., Castro E Sousa, J. and Peron, A. (2016). Cytotoxic and genotoxic potential of powdered juices. *Food Science and Technology (Campinas)*, 36(1), 49-55.
- Bloom, S., Chiang, K., Demehri, S., Kreshpanji, S., McCaffrey, E., Patel, K., Sukri, L. (2016). The Effect of Dietary Tartrazine on Brain Dopamine and the Behavioral Symptoms of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *PhD Thesis*.
- Bonan , S., Fedrizzi , G., Menotta , S. and Elisabetta , C. (2013). Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Dyes and Pigments*, 99(1), 36-40.
- Carocho, M., Morales, P. and Ferreira, I. C. (2015). Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 284-295.
- Chai , W., Wang , H., Zhang , Y. and Ding , G. (2016). Preparation of polydopamine-coated magnetic nanoparticles for dispersive solid-phase extraction of water-soluble synthetic colorants in beverage samples with HPLC analysis. *Talanta*(149), 13-20.
- Chen , X., Wu , K., Sun , Y. and Song , X. (2013). Highly sensitive electrochemical sensor for sunset yellow based on the enhancement effect of alumina microfibers. *Sensors and Actuators B: Chemical*(185), 582-586.

- Chen , X.-H., Zhao , Y.-G., Shen , H.-Y., Zhou , L.-X., Pan , S.-D. and Jin , M.-C. (2014). Fast determination of seven synthetic pigments from wine and soft drinks using magnetic dispersive solid-phase extraction followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*(1346), 123-128.
- Culzoni, M., Schenone , A., Llamas , N., Garrido , M., Di Nezio, M., Fernández Band , B. and Goicoechea , H. (2009). Fast chromatographic method for the determination of dyes in beverages by using high performance liquid chromatography-diode array detection data and second order algorithms. *Journal of Chromatography A*, 1216(42), 7063-7070.
- Çalışır, Z. E. ve Çalışkan, D. (2003). Gıda katkı maddeleri ve insan sagligi üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(3), 193-206.
- Diacu, E. and Ene, C. (2009). A rapid HPLC method for the analysis of water soluble synthetic pigments in soft drinks. *Ovidius University Annals of Chemistry*(20), p189-192.
- Diacu, E. and Ene, C. (2010). Study of analytical parameters of the HPLC method for tartrazine and sunset yellow analysis in soft drinks. *Rev. Chim*, 61(12), 1177-1182.
- Dinç , E., Baydan , E., Kanbur , M. and Onur , F. (2002). Spectrophotometric multicomponent determination of sunset yellow, tartrazine and allura red in soft drink powder by double divisor-ratio spectra derivative, inverse least-squares and principal component regression methods. *Talanta*, 58(3), 579-594.
- Dinç, M. and Arıcı, M. (2008). Gıdalara Katılan Suda Çözünen Bazı Sentetik Boyaların Belirlenmesi. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, (s. 1027-1029). Erzurum.

- Dossi, N., Toniolo, R., Susmel, S., Pizzariello, A. and Bontempelli, G. (2006). Simultaneous RP-LC determination of additives in soft drinks. *Chromatographia*, 63(11-12), 557-562.
- Durnev, A., Oreshchenko, A., Kulakova, A. and Beresten, N. (1994). Analysis of cytogenetic activity of food dyes. *Voprosy meditsinskoi khimii*, 41(5), 50-53.
- Edwards, M. And Instone, T. (2001). Particulate products—their manufacture and use. *Powder Technology*, 119(1), 9-13.
- Eliane C., V., Willian F., C. And Cláudio C., O. (2006). Development of a green chromatographic method for determination of colorants in food samples. *Talanta*, 68(3), 516-521.
- El-Sheikh , A. and Al-Degs, Y. (2013). Spectrophotometric determination of food dyes in soft drinks by second order multivariate calibration of the absorbance spectra-pH data matrices. *Dyes and Pigments*, 97(2), 330-339.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2009). *Scientific Opinion on the re-evaluation Tartrazine*, EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 11(7). Italy.
- Ermiş, E. (2015). Gıda Tozları: Özellikleri ve Karakterizasyonu. *Gıda*, 40 (5): 287-294.
- FAO/WHO (1964). *Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: food colours and some antimicrobials and antioxidants*. Expert Committee, Geneva.
- FAO/WHO (2005). Combined compendium of food additive specifications: Volume 1, food additives AD. *Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in the food additive specifications*. Expert Committee, Geneva.

- FAO/WHO (2011). *Evaation Of Certain Food Additives And Contaminants*. Roma, Italya.
- Feguš, U., Zigon, U., Petermann, M. And Knez, Z. (2015). Effect of drying parameters on physiochemical and sensory properties of fruit powders processed by PGSS-, Vacuum-and Spray-drying. *Acta Chimica Slovenica*, 62(2), 479-487.
- Feng, F., Zhao, Y., Yong, W., Sun, L., Jiang, G. And Chu, X. (2011). Highly sensitive and accurate screening of 40 dyes in soft drinks by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 879 (20), 1813-1818.
- Forny , L., Marabi , A. And Palzer , S. (2011). Wetting, disintegration and dissolution of agglomerated water soluble powders. *Powder Technology*, 206(1), 72-78.
- Gao, Y. L. (2011). Effect of food azo dye tartrazine on learning and memory functions in mice and rats, and the possible mechanisms involved. *Journal of food science*, 76(6), T125-T129.
- García-Falcón , M. And Simal-Gándara , J. (2005). Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid chromatography with minimal clean-up. *Food Control*, 16(3), 293-297.
- Giri, A., Das, S., Talukder, G. and Sharma, A. (1989). Sister chromatid exchange and chromosome aberrations induced by curcumin and tartrazine on mammalian cells in vivo. *Cytobios*, 249(62), 111-117.
- Goldenring, J. R., Batter, D. K. and Shaywitz, B. A. (1981). Sulfanilic acid: behavioral change related to azo food dyes in developing rats. *Neurobehavioral toxicology and teratology*, 4(1), 43-49.

- Gomes, K. M. (2013). Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tartrazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. *Food Science and Technology (Campinas)*, 33(1), 218-223.
- Gosetti , F., Chiuminatto , U., Mazzucco , E., Calabrese , G., Gennaro , M. and Marengo , E. (2012). Identification of photodegradation products of Allura Red AC (E129) in a beverage by ultra high performance liquid chromatography–quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Analytica chimica acta*(746), 84-89.
- Gosetti , F., Chiuminatto , U., Mazzucco , E., Calabrese , G., Gennaro , M. and Marengo, E. (2013). Non-target screening of Allura Red AC photodegradation products in a beverage through ultra high performance liquid chromatography coupled with hybrid triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry. *Food chemistry*, 136(2), 617-623.
- Gosetti , F., Frascarolo , P., Mazzucco , E., Gianotti , V., Bottaro , M. and Gennaro , M. (2008). Photodegradation of E110 and E122 dyes in a commercial aperitif: A high performance liquid chromatography–diode array–tandem mass spectrometry study. *Journal of Chromatography A*, 1202(1), 58-63.
- Gosetti, F., Gianotti , V., Polati , S. And Gennaro , M. (2005). HPLC-MS degradation study of E110 Sunset Yellow FCF in a commercial beverage. *Journal of Chromatography A*, 1090(1), 107-115.
- Himri, I., Bellahcen, S., Souna, F., Belmekki, F., Aziz, M., Bnouham, M., Saalaoui, E. (2011). A 90-day oral toxicity study of tartrazine, a synthetic food dye, in wistar rats. *Group*, 159-169.
- Ji, L., Cheng , Q., Wu , K. and Yang , X. (2016). Cu-BTC frameworks-based electrochemical sensing platform for rapid and simple determination of Sunset yellow and Tartrazine. *Sensors and Actuators B: Chemical* (231), 12-17.

- Jinapong , N., Suphantharika , M. and Jamnong , P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2), 194-205.
- Karaali, A. ve Özçelik, B. (1993). Gıda katkısı olarak doğal ve sentetik boyalar. *Gıda*, 18(6), 389-396.
- Karakaya, A.E. (2017). Gıda Katkı Maddeleri ve Gıda Kontaminantları, Limit Değerler, <http://www.turktox.org.tr/gida/index.php?p=limitdegerler>, Erişim Tarihi (03.04.2017).
- Koç, M., Koç, B. and Kaymak Ertekin, F. (2011). Toz Gıdaların Fiziksel Karakterizasyon Özellikleri. *Akademik Gıda*, 9(4), 60-70.
- Küçüköner, E. (2006). Yeni Ürün Geliştirmede Gıda Katkı Maddelerinin Fonksiyonları ve Önemi. *Gıda Dergisi*, 31(3), 175-181.
- Li , J., Wang , X., Duan , H., Wang , Y., Bu , Y. and Luo , C. (2016). Based on magnetic graphene oxide highly sensitive and selective imprinted sensor for determination of sunset yellow. *Talanta*(147), 169-176.
- Liu , F.-J., Liu , C.-T., Li, W. and Tang , A.-N. (2015). Dispersive solid-phase microextraction and capillary electrophoresis separation of food colorants in beverages using diamino moiety functionalized silica nanoparticles as both extractant and pseudostationary phase. *Talanta*(132), 366-372.
- Llamas, N., Garrido, M., Di Nezio, M. and Band, B. (2009). Second order advantage in the determination of amaranth, sunset yellow FCF and tartrazine by UV–vis and multivariate curve resolution-alternating least square. *Analytica chimica acta*, 655(1), 38-42.
- Ma, M., Luo, X., Chen, B., Su, S. and Yao, S. (2006). Simultaneous determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in foodstuff by high-performance liquid chromatography–diode array detection–electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1103(1), 170-176.

- Martinelli , L., Gabas, A. L. and Telis-Romero, J. (2007). Thermodynamic and quality properties of lemon juice powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Drying Technology*, 25(12), 2035-2045.
- Mendoza-Huizar, L. (2014). A Theoretical Study of Chemical Reactivity of Tartrazine Through DFT Reactivity Descriptors. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 58(4), 416-423.
- Moutinho, I., Bertges, L. and Assis, R. (2007). prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C yellow n° 5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. *Brazilian journal of biology*, 67(1), 141-145.
- Nazlı, B. (2016). Gıda Hijyeni ve Sanitasyonu. Gıda Mühendisliği Bölümü Ders Notları, İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Halkalı, Küçükçekmece, İstanbul.
- Phisut, N. (2012). Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *International Food Research Journal*, 19(4), 1297-1306.
- Qiu , X., Lu , L., Leng , J., Yu , Y., Wang , W., Jiang , M. and Bai , L. (2016). An enhanced electrochemical platform based on graphene oxide and multi-walled carbon nanotubes nanocomposite for sensitive determination of Sunset Yellow and Tartrazine. *Food chemistry*(190), 889-895.
- Rovina , K., Prabakaran , P., Siddiquee , S. and Shaarani , S. (2016). Methods for the analysis of Sunset Yellow FCF (E110) in food and beverage products-a review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*.
- Rovina, K., Acung, L., Siddiquee, S., Akanda, J. and Shaarani, S. (2016). Extraction and Analytical Methods for Determination of Sunset Yellow (E110) Review. *Food Analytical Methods*, 1-15.

- Sarıkaya, R. and Çakır, Ş. (2005). Genotoxicity testing of four food preservatives and their combinations in the Drosophila wing spot test. *Environmental toxicology and pharmacology*, 20(3), 424-430.
- Sarıkaya, R. M. (2012). Evaluation of potential genotoxicity of five food dyes using the somatic mutation and recombination test. *Chemosphere*, 88(8), 974-979.
- Sasaki, Y., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K. and Tsuda, S. (2002). The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 519(1), 103-119.
- Shen, Y., Zhang, X., Prinyawiwatkul, W. and Xu, Z. (2014). Simultaneous determination of red and yellow artificial food colourants and carotenoid pigments in food products. *Food chemistry*(157), 553-558.
- Soponar , F., Moç, A. and Sârbu , C. (2008). Quantitative determination of some food dyes using digital processing of images obtained by thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1188(2), 295-300.
- Swartz, M. (2010). HPLC detectors: a brief review. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33(9-12), 1130-1150.
- Tsai , C.-F., Kuo , C.-H. and Shih, D.-C. (2015). Determination of 20 synthetic dyes in chili powders and syrup-preserved fruits by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *journal of food and drug analysis*, 23(3), 453-462.
- Türker, P. D., "Gıda Katkı Maddelerinin Gıdalardaki Kullanım Miktarları", **1. Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi**, 19-20 Kasım 2011, 1.Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi Kitabı 2011, s.145-152.
- Üstün, N. ve Tosun, İ. (1997). Samsun da Üretilen Meyve Tozlarının Bileşimi. *Gıda Dergisi*, 22(2), 165-171.

- Vachirapatama, N., Mahajaroensiri, J. and Visessanguan, W. (2008). Identification and Determination of Seven Synthetic Dyes in Foodstuffs and Soft Drinks on Monolithic C18 Column by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16(5), 77-82.
- Wilson, B. G. and Bahna, S. L. (2005). Annals of Allergy, Asthma & Immunology. *Adverse reactions to food additives*, 95(6), 499-507.
- Wu , H., Guo , J.-b., Du, L.-m., Tian , H., Hao , C.-x., Wang , Z.-f. and Wang , J.-y. (2013). A rapid shaking-based ionic liquid dispersive liquid phase microextraction for the simultaneous determination of six synthetic food colourants in soft drinks, sugar-and gelatin-based confectionery by high-performance liquid chromatography. *Food chemistry*, 141(1), 182-186.
- Yamjala, K., Nainar , M. and Ramiseti , N. (2016). Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry—a review. *Food chemistry*(192), 813-824.
- Yoshioka , N. and Ichihashi , K. (2008). Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. *Talanta*, 74(5), 1408-1413.
- Zatar, N. (2007). Simultaneous determination of seven synthetic water-soluble food colorants by ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Food Technology*(5), 220-224.