

اندازه گیری رنگ زرد سانست در فرآورده های حجیم شده بر پایه غلات به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

فرزانه افروغ^۱، محمد فرجی*^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی گرایش میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده علوم و فناوریهای نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

^۲ استادیار پژوهشکده صنایع غذایی و کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۲۲

چکیده

در این مقاله روشی ساده بر پایه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای شناسایی و اندازه گیری رنگ مصنوعی سانست یلو در فراورده های حجیم شده بر پایه ذرت با دستگاه HPLC مجهز به ستون کروماتوگرافی C-18 (250mm×4/6mm, 5µm) ارائه گردید. ابتدا به بررسی پایداری رنگ در اثر ماندگاری در محیط های جداگانه حاوی آب، متانول آمونیاکی و متانول اسیدی توسط دستگاه اسپکتروفتومتری پرداخته شد. سپس پارامترهای جداسازی و آشکارسازی بررسی و بهینه شدند که مقادیر بهینه به این صورت بدست آمدند: ترکیب فاز متحرک شامل بفر استات (pH = ۶/۷): استونیتریل به نسبت ۲۵:۷۵ سرعت جریان ۱ ml/min و طول موج ۴۸۲ nm. سپس تحت شرایط بهینه ارقام شایستگی روش مانند گستره خطی (۰/۲۵-۴۰ mg L⁻¹) ضریب همبستگی (۰/۹۹۹)، حد تشخیص (۰/۲۵ mg L⁻¹)، تکرار پذیری روش (%RSD) در یک روز ۴/۷٪ و در چند روز ۱۰/۴٪ بررسی و محاسبه شد. در نهایت کارایی روش ارائه شده با شناسایی و اندازه گیری رنگ سانست یلو در تعدادی از فرآورده های حجیم شده بر پایه ذرت به کار رفت و نتایج رضایت بخشی با درصد بازیابی < ۹۰٪ به دست آمد.

واژه های کلیدی: سانست یلو، افزودنی های غذایی، رنگ های مصنوعی، کروماتوگرافی مایع.

۱- مقدمه

پایداری بالا هنوز هم به صورت گسترده در دنیا استفاده می شوند (۲، ۱۳ و ۱۴). در ایران رنگ سانست یلو مصرف گسترده ای را در صنایع تولید کننده فرآورده های حجیم شده بر پایه ذرت مانند انواع پفک ها و کرانچی ها دارد. گرچه حد مجاز رنگ سانست یلو در فرآورده های حجیم شده بر پایه ذرت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد (۳) ولی گزارشات زیادی مبنی بر استفاده بیش از حد مجاز این رنگ وجود دارد. مروری بر منابع نشان دهنده این موضوع می باشد که تاکنون روش آزمون معتبری برای اندازه گیری این رنگ در فرآورده های مذکور وجود ندارد. بنابراین راه اندازی روشی ساده و معتبر برای پایش این رنگ در فرآورده های مذکور از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. لازم به ذکر است که یکی از موارد تقلب در این زمینه، استفاده بیش از حد رنگ سانست یلو در فرآورده های حجیم شده می باشد. از این رو به دلیل امکان استفاده بیش از حد مجاز از رنگ در فرآورده های حجیم شده، ارایه روشی که بتواند این رنگ را شناسایی و تعیین مقدار کند، از اهمیت دو چندان برخوردار می باشد. بنابراین با توجه به اهمیت موضوع هدف از این تحقیق، راه اندازی روش آزمونی بر پایه کروماتوگرافی مایع برای اندازه گیری ساده و سریع رنگ سانست یلو در پفک می باشد.

۲- مواد و روش ها

پودر رنگ سانست یلو با خلوص ۹۳ درصد از شرکت سیگما خریداری شد. اتانول، متانول، آمونیاک، استونیتریل، هگزان، پتاسیم هگزاسیانوفرات و استات روی از شرکت مرک خریداری شد. جهت تهیه محلول استاندارد رنگ سانست یلو ۰/۰۵۴ گرم از پودر رنگ سانست یلو درون ارلن با آب دیونیزه به حجم رسیده سپس برای رسم نمودار کالیبراسیون طی رقیق سازی، رقت های مختلف از محلول پایه تهیه و به دستگاه تزریق شدند. جهت تهیه محلول پتاسیم هگزاسیانوفرات (کارز ۱)، ۱۵ گرم پتاسیم هگزاسیانوفرات در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد و جهت تهیه محلول استات روی (کارز ۲)، ۲۲ گرم استات روی و ۳ml اسید استیک به یک بالن ژوژه ۱۰۰ml منتقل شده و با آب مقطر به حجم رسانده شد. بافر استات تهیه شده از انحلال ۲/۳ml اسید استیک ۱۰۰٪ در بالن ۵۰۰ml که با آب دیونیزه به حجم رسانده و با آمونیاک در pH = ۶/۷ تنظیم شد.

افزودنی مواد غذایی به هر ماده ای اطلاق می شود که به طور معمول برای انجام عملکردهای تکنولوژیکی مختلف نظیر بهبود شرایط تولید، فرآیند و ماندگاری به غذا افزوده می شود (۱). افزودنی های مواد غذایی یک واژه کلی برای ترکیباتی است که به منظور دوام یا بهتر نمودن ظاهر غذا، ترکیب، طعم و ارزش غذایی به مواد غذایی اضافه می شود (۲). رنگ ها در یک دسته بسیار مهم از افزودنی های مواد غذایی هستند که برای ایجاد، بهبود پیدایش رنگ و افزایش جذابیت مواد غذایی به آنها افزوده می شوند و در مخلوط با مواد غذایی واکنش شیمیایی نداده و بدون تغییر باقی می مانند (۳، ۱). رنگ های خوراکی مجاز به دو دسته طبیعی و مصنوعی تقسیم می شوند که رنگ های مصنوعی یا سنتتیک خوراکی مجاز در ایران شامل هفت رنگ: کینولین یلو، سانست یلو، کارمویزین (آزوروبین)، پونسو ۴ آر، آلورا رد، ایندیگوتین و بریلیانت بلو می باشند (۴، ۵). بسیاری از رنگ های طبیعی در شرایطی مانند نور، اکسیژن و pH ناپایدار می شوند و نیز گران تر از رنگ های مصنوعی هستند. استفاده از رنگ های مصنوعی به عنوان روشی قابل اطمینان و مقرون به صرفه جهت فراهم کردن رنگ در محصول شناخته شده است (۶). رنگ های مصنوعی به طور گسترده ای برای جبران از دست دادن رنگ های طبیعی مواد غذایی که در طول فرآوری و نگهداری از بین می روند استفاده می شوند. استفاده از رنگ های مصنوعی به شدت توسط قوانین موجود در سراسر جهان کنترل می شود (۷، ۸). لیست رنگ های مواد غذایی مجاز از کشوری به کشور دیگر متفاوت است (۹). مزیت رنگ های سنتتیک این است که از دوام رنگ، روشنی و پایداری بهتر از رنگ های طبیعی برخوردار هستند، با این حال برخی از این مواد نه تنها دارای خاصیت انرژی زایی نمی باشند بلکه می توانند اثرات سوء برای سلامتی انسان و حتی سرطان زایی، به ویژه هنگامی که بیش از حد مصرف می شوند را به دنبال داشته باشند. این امکان وجود دارد که رنگ های افزوده شده به مواد غذایی و نوشیدنی ها بیشتر از حد مجاز باشند که استفاده از این رنگ ها می تواند اثرات سمی و عوارضی نظیر آسم، آلرژی، تضعیف سیستم ایمنی را برای انسان به دنبال داشته باشد (۱۰، ۱۱). اگرچه حد مجاز رنگ های مصنوعی در سال های اخیر به منظور سلامتی مصرف کننده ها کاهش یافته است اما به دلیل قیمت کم، کارایی و

۱-۲- تجهیزات دستگاهی

دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مورد استفاده KNAUER مدل EuroChrom ساخت کشور آلمان مجهز به پمپ چهار کاناله مدل K-1001 و آشکارساز UV-Vis و degasser مدل K-2600 بود. جداسازی ها در ستون کروماتوگرافی C-18 (250mm×4/6mm, 5µm) انجام شد. حجم تزریقی 20µl و دمای ستون، دمای محیط بودند. همچنین سرعت جریان فاز متحرک 1ml/min بود. همچنین، طول موج بهینه نیز توسط دستگاه اسپکتروفتومتری 482nm تعیین شد. دستگاه اسپکتروفتومتری ساخت شرکت Varian آلمان بود. دستگاه آب دیونیزه مدل LAN SHAN ساخت کشور تایوان بود. دستگاه سانتریفوژ مدل PEco ساخت ایران بود. سرنگ تزریق SGE با حجم 100 µl ساخت کشور اندونزی بود.

۱-۲- آماده سازی نمونه ها

تعداد ۱۰ بسته نمونه پفک با برندهای مختلف خریداری شد. جهت آماده سازی نمونه ها ابتدا آسیاب و یکنواخت شدند. سپس ۰/۵ گرم از هریک از نمونه های آسیاب شده درون بشر ریخته شد و برای چربی زدایی دو مرتبه و هر بار مقدار ۵ml هگزان به آنها اضافه شد و پس از زمان ۲ دقیقه خیس خوردن به مدت ۵ دقیقه هم زده شدند. سپس محلول روپی حاوی چربی از روی نمونه ها خالی شد، سپس مقدار ۱۰ml از محلول اتانول آمونیاکی (حاوی ۹ml آب + ۲ml آمونیاک + ۱۴ml اتانول) درون بشرهای محتوی نمونه ریخته و به مدت ۵ دقیقه نمونه ها در سانتریفوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند تا فاز مایع حاوی رنگ کاملا از فاز جامد بلغور جدا شود. در پایان محلول شفاف روپی توسط فیلتر سرسرنگی صاف شده و مقدار ۲۰µl به دستگاه HPLC تزریق شد. برای بررسی صحت نتایج نمونه های کنترلی (Spike Samples) نیز طبق روش ذکر شده تهیه شد، سپس از محلول استاندارد ۱۰۰ppm رنگ، مقدار ۱ml روی نمونه ها ریخته و مخلوط شد و بعد از آن ۱۰ml محلول اتانول آمونیاکی به آن افزوده و نمونه ها سانتریفوژ شدند در انتها با فیلتر سرسرنگی صاف و از محلول شفاف روپی ۲۰µl به دستگاه تزریق شد.

۴-۲- روش آماری

با توجه به ماهیت این پژوهش که بر مبنای توسعه و بهینه سازی روش آزمون معتبری بر پایه کروماتوگرافی مایع می باشد، از روشهای تحلیل آماری استفاده نشد و تنها از مفهیم آماری مانند میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات برای معتبر سازی روش استفاده شد.

۳- نتایج و بحث**۳-۱- بهینه سازی شرایط جداسازی و آشکارسازی**

شرایط بهینه جداسازی رنگ سانست یلو با تنظیم نسبت بافر استات و استونیتریل فراهم شد به این صورت که در این مرحله ابتدا دو فاز جداگانه بافر استات با pH=۶/۷ و استونیتریل را به عنوان فازهای متحرک انتخاب کرده و نسبت های مختلف ۲۰:۸۰، ۴۰:۶۰، ۳۰:۷۰، ۲۲:۷۸، ۲۳:۷۷، ۲۵:۷۵ و ۱۵:۸۵ تهیه و بررسی شدند. در این میان فاز متحرک مخلوط بافر استات و استونیتریل با نسبت 25:75 بود زمانهای بازداری مناسبی را ارائه کرد. در نسبت های بالای استونیتریل زمانهای بازداری بسیار کوتاه بود و بالعکس در نسبت های کم استونیتریل زمانهای بازداری بالای ۱۰ دقیقه بود. در آزمایشها، سرعت جریان 1ml/min و طول موج نیز 482nm بود. در ادامه در گستره 475 تا 490 نانومتر، طول موجهای مختلف بررسی شدند که در این میان طول موج 480 نانومتر بیشترین سیگنال را داشت. این نتیجه در توافق با ماکزیمم جذب گزارش شده در مراجع برای سانست یلو می باشد (۱۴).

۳-۲- بهینه سازی شرایط استخراج

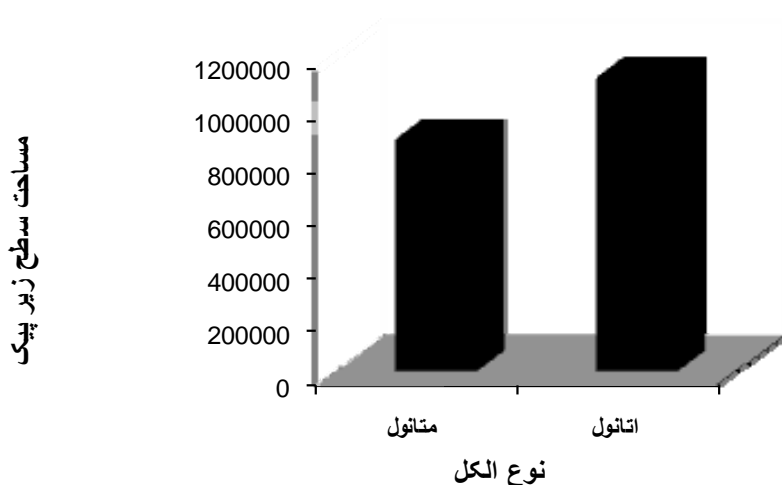
در این پژوهش از روش One at a time (یک متغیر در یک زمان) برای بهینه سازی پارامترهای موثر بر فرآیند استخراج و اندازه گیری استفاده شده است، به این ترتیب که همه متغیرها به جز متغیر مورد بررسی را ثابت گرفته و سطوح متغیر مورد نظر را تغییر داده و مورد بررسی قرار می دهند و سطحی از متغیر که بیشترین پاسخ را ایجاد نماید به عنوان سطح بهینه متغیر انتخاب می شود. این تکنیک به طور گسترده ای در منابع علمی جهت بهینه سازی روش های آزمون به کار گرفته شده است (۱۵، ۱۶).

۳-۳- بررسی استفاده از اتانول و متانول

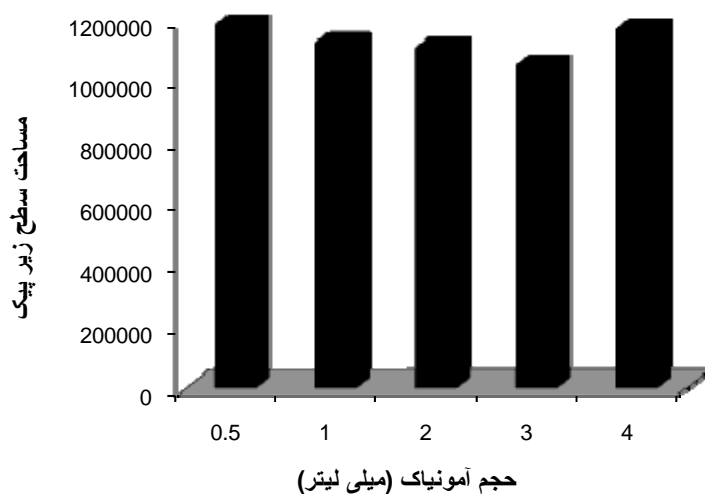
جهت بازیابی رنگ از بافت نمونه ها با ثابت بودن سایر شرایط به طور جداگانه به بررسی استفاده از اتانول و نیز متانول پرداخته شد

ذرت کارایی بالاتری داشته و رنگ را بهتر آزاد می کند. نتایج در شکل ۱ نشان داده شده است.

که نتایج این گونه نشان داد که در صورت استفاده از متانول مقداری از رنگ در بافت نمونه باقی مانده و به طور کامل خارج نمی شود اما استفاده از اتانول جهت استخراج رنگ از بافت بلغور



شکل ۱- بررسی استفاده از اتانول و متانول



شکل ۲- بررسی مقدار آمونیاک

محسوسی بر میزان بازیابی رنگ ندارد. بنابراین برای آزمایشهای بعدی ۱ میلی لیتر از آمونیاک انتخاب شد.

۳-۴- بررسی مقدار آمونیاک

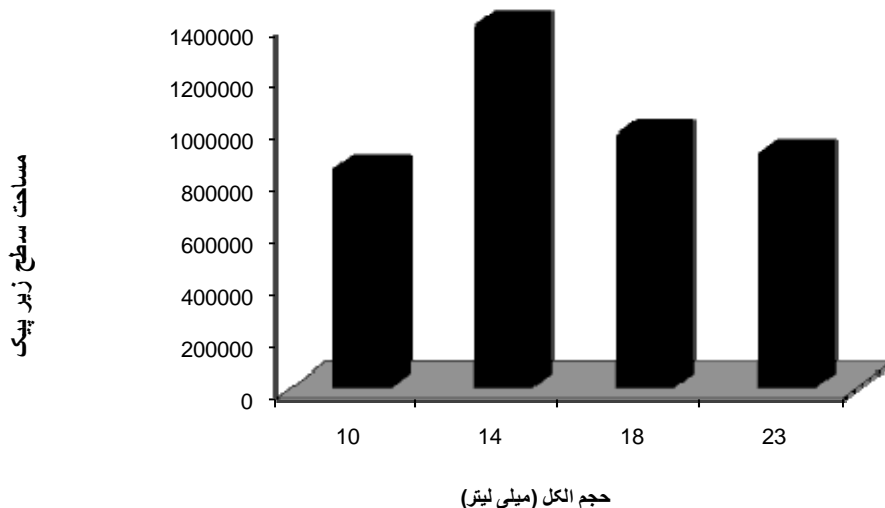
علت استفاده از آمونیاک جهت استخراج رنگ این است که آمونیاک بافت بلغور ذرت را در خود حل کرده و رنگ افزوده شده به بلغور راحت تر رهاسازی می شود به همین دلیل جهت دستیابی به مقدار بهینه آمونیاک حجم های مختلف ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴ میلی لیتر از آمونیاک با ثابت نگه داشتن سایر موارد، مورد آزمایش قرار گرفتند که پس از بررسی نتایج همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده، مشخص شد که مقدار آمونیاک تاثیر

۳-۵- بررسی مقدار اتانول

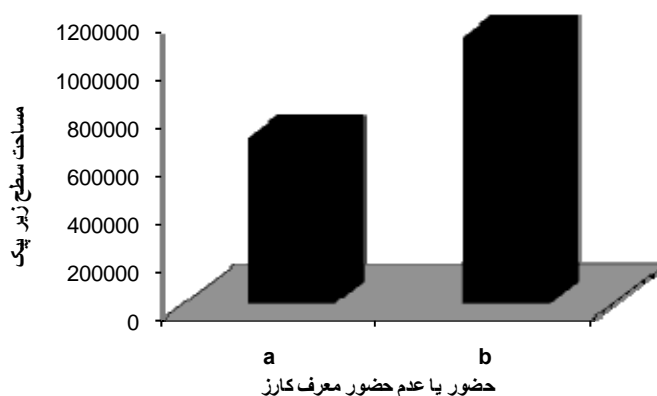
آزمایشات متعددی جهت دستیابی به مقدار مناسب اتانول جهت استخراج رنگ از نمونه های بلغور ذرت (طی ثابت بودن سایر شرایط) انجام گرفت که مقادیر مختلف اتانول مورد استفاده قرار گرفتند و همان گونه که در شکل ۳ آورده شده است، در حجم

حلالیت مناسبی در آب دارند (۱۴). لذا حجم ۱۴ میلی لیتر الکل به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

های کم الکل، نمونه های استخراجی کدر بوده و جداسازی و استخراج رنگ از بافت به خوبی صورت نمی گرفت. در حجم های بالا نیز ممکن است به دلیل کاهش حلالیت رنگ در فاز استخراجی، راندمان استخراج کاهش یابد چون رنگهای مصنوعی



شکل ۳- بررسی مقدار اتانول



شکل ۴- بررسی حضور (a) و عدم حضور معرف کارز (b)

تزریق و نتایج بررسی شد. همان طور که در شکل ۴ نشان داده شده بازیابی رنگ طی استفاده از این معرف ها کاهش می یابد. متأسفانه علیرغم ساده سازی بافت نمونه ها در حضور استفاده از معرف های کارز، میزان مساحت سطح زیر منحنی سانست یلو کاهش می یابد که این امر می تواند به دلیل همسویی رنگ اتفاق بیافتد (۷، ۱۱). بنابراین آزمایشهای بعدی بدون افزودن محلول های کارز انجام شد.

۳-۶- بررسی حضور و عدم حضور معرف های کارز ۲و۱
جهت خالص سازی فاز استخراجی و ترسیب پروتئین ها و کربو هیدرات های نمونه و آماده سازی نمونه ها جهت تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع، قبل از تزریق به میزان ۰/۲۵ میلی لیتر از شفاف کننده های پتاسیم هگزاآسیانوفرات و استات روی به نمونه ها اضافه شدند که سبب جداسازی و رسوب بهتر کربوهیدرات های موجود در بافت نمونه های بلغور ذرت شد، بعد از سانتریفوژ کردن نمونه ها، از محلول شفاف به دستگاه

۳-۷- معتبر سازی روش آزمون

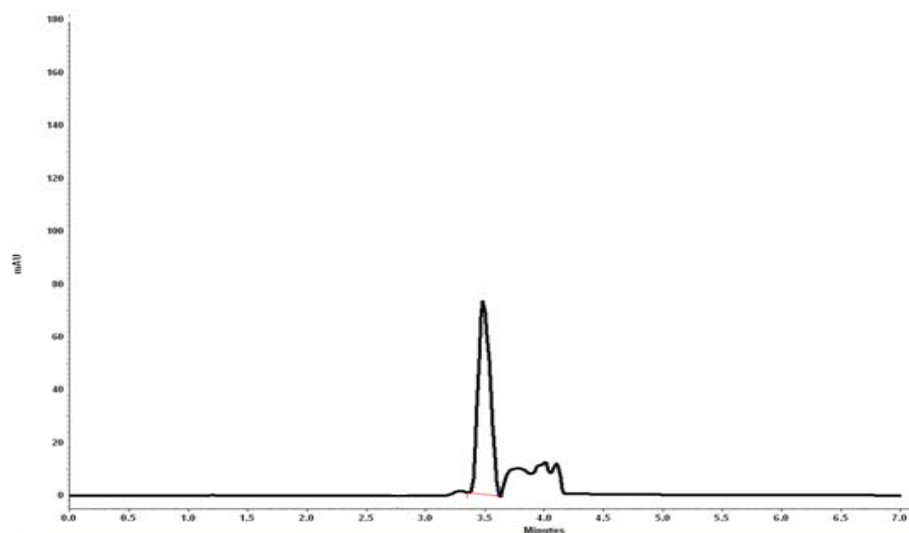
- جهت تعیین گستره خطی، غلظت های متخلف رنگ سانست یلو با مقادیر ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر تهیه و به دستگاه تزریق شدند که اولین پیک تشخیص رنگ در غلظت ۰/۲۵ که پیک بسیار کوچکی بود قابل مشاهده بود و پس از آن با افزایش غلظت، پیک های واضح تر و بلندتری مشاهده شد که به این ترتیب گستره خطی به دست آمده ۴۰-۰/۲۵ میلی گرم بر لیتر تعیین شد.
- برای تعیین ضریب همبستگی، از رسم نمودار حاصل از غلظت های مختلف رنگ و مساحت زیر سطح پیک های حاصل، معادله خط به صورت $y = 47915x + 36433$ به دست آمد که ضریب همبستگی $R^2 = 0/999$ به دست آمد.
- جهت تعیین تکرار پذیری روش در یک روز، ۱۰ نمونه رنگ استخراج شده به دستگاه تزریق شدند که میزان تکرار پذیری ۴/۷٪ به دست آمد.

جدول ۱- نتایج حاصل از معتبر سازی و ارقام شایستگی

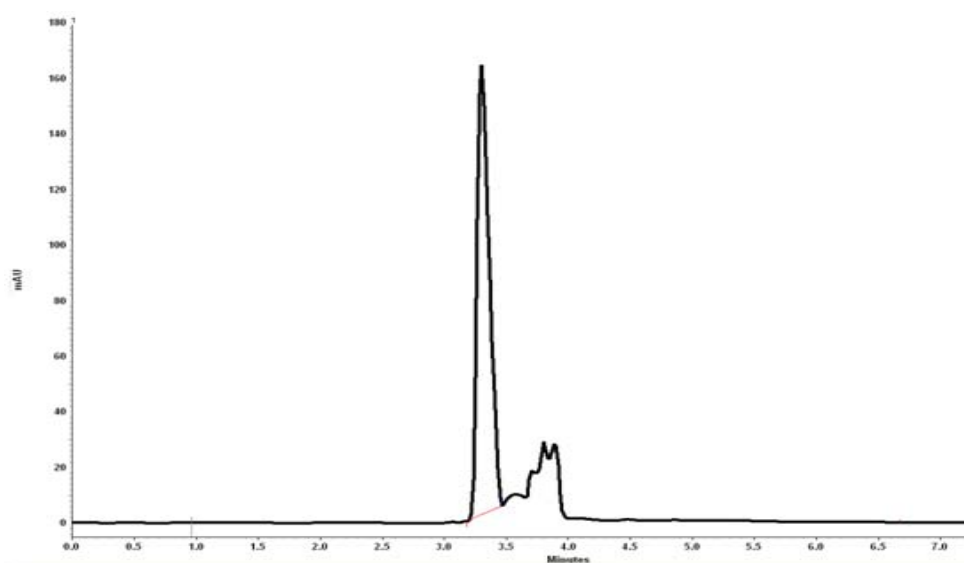
آنالیت	گستره خطی (mg/L)	ضریب همبستگی (R^2)	حد تشخیص روش (mg/L)	تکرار پذیری روش در یک روز (n=10)	تکرار پذیری روش در چند روز (n=6)
سانست یلو	۴۰-۰/۲۵	۰/۹۹۹	۰/۲۵	۴/۷	۱۰/۴

جدول ۲- نتایج درصد بازیابی برای نمونه های واقعی و کنترلی سانست یلو

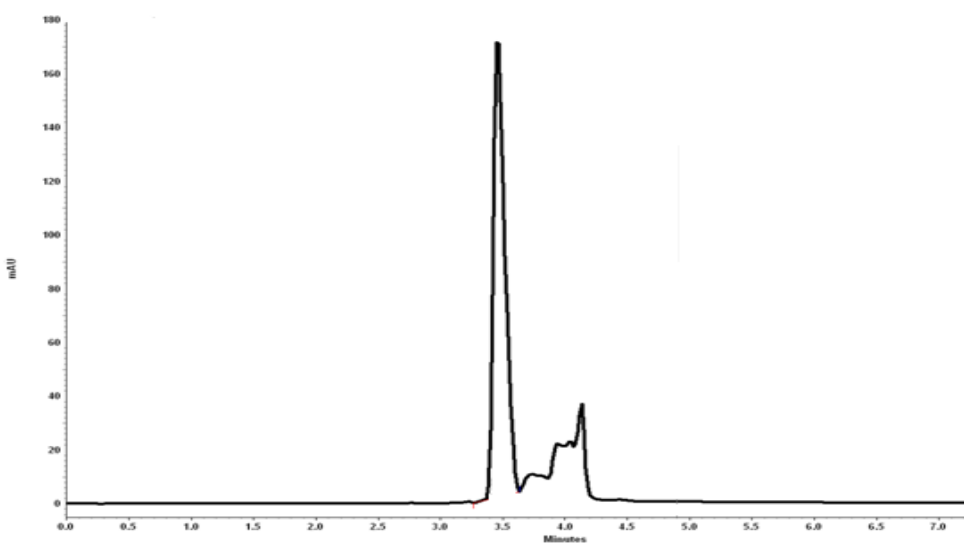
شماره نمونه	مقدار اضافه شده (mg/kg)	مقدار اندازه گیری شده (mg/kg)	درصد بازیابی
۱	-	۲۲/۳	
	۱۰	۳۵/۳	۱۰۹/۲
۲	-	۱۵/۴	
	۱۰	۲۷/۹	۱۰۹/۰
۳	-	۲۶/۵	
	۱۰	۳۵/۷	۹۷/۸
۴	-	۱۲/۶	
	۱۰	۲۱/۰	۹۲/۹
۵	-	۱۴/۶	
	۱۰	۲۲/۷	۹۲/۲
۶	-	۲۴/۵	
	۱۰	۳۷/۷	۱۰۹/۰
۷	-	۹/۹	
	۱۰	۲۱/۹	۱۱۰/۰
۸	-	۲۳/۵	
	۱۰	۳۰/۳	۹۰/۴
۹	-	۱۰	
	۱۰	۲۰/۸	۱۰۴/۰
۱۰	-	۲۲/۵	
	۱۰	۲۹/۶	۹۱/۰



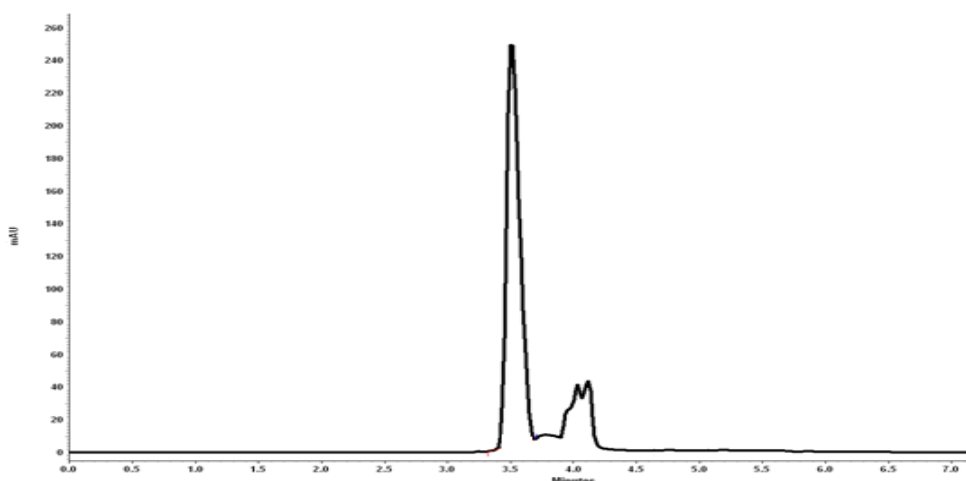
(a)



(b)



(c)



(d)

شکل ۵- کروماتوگرام HPLC برای نمونه پفک دارای حد مجاز رنگ سانست یلو قبل (a) و بعد از افزودن مقدار کنترلی (b). کروماتوگرام HPLC برای نمونه پفک دارای حد غیرمجاز رنگ سانست یلو قبل (c) و بعد از افزودن مقدار کنترلی (d).

حجمیم شده، با در نظر گرفتن رقت ها، غلظت واقعی رنگ سانست یلو در نمونه های پفک محاسبه و نتایج در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳- غلظت رنگ به کار رفته در هر یک از نمونه های پفک

مقدار مجاز رنگ سانست یلو ۲۰۰mg/kg		
شماره نمونه	غلظت سانست یلو	مجاز/غیرمجاز
۱	۴۴۰	غیرمجاز
۲	۳۰۰	غیرمجاز
۳	۵۲۰	غیرمجاز
۴	۲۴۰	غیرمجاز
۵	۲۸۰	غیرمجاز
۶	۴۸۰	غیرمجاز
۷	۱۸۰	مجاز
۸	۴۶۰	غیرمجاز
۹	۲۰۰	مجاز
۱۰	۴۴۰	غیرمجاز

آنالیز ۱۰ نمونه مختلف پفک نشان داد که مقدار رنگ اضافه شده سانست یلو به جز در دو نمونه شماره ۷ و ۹ بسیار بیشتر از حد مجاز می باشد به طوریکه طبق استاندارد سازمان ملی ایران به شماره ۲۸۸۰ مقدار مجاز رنگ سانست یلو در فراورده های حجمیم شده بر پایه غلات ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد.

جهت تعیین تکرارپذیری روش در چند روز، طی ۶ روز متوالی نمونه رنگ ها استخراج و به دستگاه تزریق شد که تکرار پذیری ۱۰/۱٪ به دست آمد.

نتایج حاصل از معتبر سازی و ارقام شایستگی روش در جدول ۱ نشان داده شده است.

۳-۸- آنالیز نمونه های پفک

۱۰ نمونه از برندهای مختلف پفک، تحت شرایط بهینه مورد آنالیز قرار گرفتند که نتایج مربوط به بازیابی برای نمونه های واقعی و کنترلی سانست یلو در جدول شماره ۲ آورده شده است. طی نتایج حاصل از بازیابی رنگ سانست یلو عدد ۹۰-۱۱۰ به دست آمد که نشان دهنده صحت روش در اندازه گیری رنگ سانست یلو در نمونه های پفک می باشد.

در شکل های ۵ کروماتوگرام های حاصل از دو نمونه از پفک ها که دارای رنگ سانست یلو اضافه شده در حد مجاز و بیش از حد مجاز بودند، آورده شده است.

منظور از مقدار کنترلی، مقدار مشخصی از محلول استاندارد می باشد که جهت ارزیابی صحت روش به صورت دستی به نمونه های مورد آزمایش اضافه می شود و بر اساس متون علمی در صورتی که درصد بازیابی بین ۹۰ تا ۱۱۰ باشد نشان دهنده معتبر بودن روش بوده و مشخص می کند که روش از صحت نتایج مناسبی برخوردار است (۱۵).

پس از راه اندازی و آنالیز نمونه های مختلف پفک، جهت بررسی میزان استفاده از رنگ و رعایت حد مجاز رنگ در فرآورده های

۴- نتیجه گیری

برندهای مختلف پفک تهیه و پس از چربی زدایی و استخراج رنگ آنها با اتانول آمونیاکی و پس از سانتریفوژ کردن و صاف کردن توسط فیلتر سرسرنگی به میزان $20 \mu\text{l}$ به دستگاه کروماتوگرافی مایع تزریق شدند. سپس برای بهینه سازی فاز متحرک غلظت های مختلفی از دو فاز جداگانه و مخلوط بافر استات و استونیتریل انتخاب و با نسبت های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند که در پایان تنها از یک فاز متحرک مخلوط بافر استات و استونیتریل با نسبت ۲۵:۷۵ استفاده شد که نتایج رضایت بخش بود. پس از بررسی نهایی روی نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و به دست آمدن درصد بازیابی های بین ۹۰-۱۱۰، روش از صحت و دقت خوبی برخوردار است. گرچه تعداد زیادی از روش های آنالیزی برای جداسازی و شناسایی رنگ مواد غذایی پیشنهاد شده اند، مانند کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، ولتامتری، پلاروگرافی، روش اسپکتروفوتومتری، الکتروفورز موئن (CE)، کروماتوگرافی یونی، با این حال روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به علت قابل استفاده بودن برای حجم تزریق بسیار کوچک و داشتن حساسیت، دقت و تفکیک پذیری بالای رنگ مواد غذایی می تواند به عنوان روشی معتبر مورد استفاده قرار گیرد. ضمن اینکه نتایج حاصل از میزان غلظت رنگ سانست یلو به کار رفته در نمونه های پفک نشان داد که در اکثر نمونه ها حد مجاز این رنگ رعایت نشده است که این موضوع بسیار قابل توجه و مهم می باشد چراکه اثرات سوء مصرف رنگ های مصنوعی به ویژه برای کودکان در خصوص ایجاد اثرات سمی و عوارضی نظیر آسم، آلرژی، تضعیف سیستم ایمنی بسیار حائز اهمیت می باشد و مسئولان و متخصصان صنایع غذایی باید به این موضوع توجه بیشتری داشته باشند.

۵- سپاس گذاری

این مقاله استخراج شده از پایان نامه ی دانشجوی کارشناسی ارشد شعبه ی فناوری های نوین دانشگاه علوم دارویی تهران است که در پژوهشکده صنایع غذایی پژوهشگاه استاندارد سازمان ملی ایران انجام گرفته است، بدین وسیله از سرپرست محترم گروه پژوهشی مواد غذایی، به خاطر حمایت های انجام شده صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی می شود.

۶- منابع

- ۱- سلطان دلال، م.م.، محمدی، ح.، دستباز، ع.، واحدی، س.، صلصالی، م.، آراسته، م. و دیگران. ۱۳۸۶. وضعیت رنگ های مصرفی در شیرینی های جنوب شهر تهران با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با لایه نازک. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ۷۸-۷۳.
- ۲- سلطان دلال، م.م.، واحدی، س.، نجاریان، الف.، دستباز، ع.، کفاشی، ت.، پیرهادی، الف. و دیگران. ۱۳۸۷. بررسی میزان فراوانی رنگ های مصرفی غیرمجاز در آب آلبالو و آب زرشک عرضه شده در سطح شهر تهران. مجله دانشکده پیراپزشکی علوم پزشکی تهران، ۶۲-۵۵.
- ۳- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۹۰. فرآورده های حجیم شده بر پایه بلغور و آرد غلات - ویژگی ها و روش های آزمون، استاندارد ملی ایران، شماره ۲۸۸۰، اصلاحیه شماره ۱.
- ۴- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۹۲. افزودنی های خوراکی مجاز-رنگ های خوراکی. استاندارد ملی ایران، شماره ۷۴۰، تجدید نظر پنجم.
- 5- Farzianpour, F., JaheadKhaniki, Gh., Younesian, M., BanaeiGhahferkhi, B., Sadeghi, M., Hosseini, Sh. 2013. Evaluation of food color consumption and determining color type by thin layer chromatography. American Journal of Applied Sciences, 10(2):72-178.
- 6- Fuh, M. R., Chia, K. J. 2002. Determination of sulphonatedazo dyes in food by ion-pair liquid chromatography with photodiode array and electrospray mass spectrometry detection. Talanta, 56:663-671.
- 7- Long, Ch., Mai, Zh., Yang, X., Zhu, B., Xu, X., Huang, X., et al. 2011. A new liquid-liquid extraction method for determination of 6 azo-dyes in chilli products by high-performance liquid chromatography. Food Chemistry, 126:1324-1329.
- 8-Minioti, S. K., Sakellariou, F.C., Thomaidis, S.N. 2007. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. AnalyticaChimicaActa, 583:103-110.
- 9-Simal-Gandara, J., Garcia-Falcon, M.S. 2005. Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid

chromatography with minimal clean-up. Food Control, 16:293–297.

10- Yoshioka, N., 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, 74:1408–1413.

11- Zou, T., He, P., Yasen, A., Li, Zh. 2013. Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with diode array and tandem mass detectors. Food Chemistry, 138:1742–1748.

12- Wood, R., Foster, L., Damant, A., Key, P. 2004. Analytical methods for food additives. Woodhead Publishing Ltd, pp.35-72.

13- Wu, H., Guo, J.B., Du, L.M., Tian, H., Hao, C.X., Wang, ZH.F., et al. 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, 141:182–186.

14- Committee on Food Chemicals Codex (2003). Food chemicals codex (5th ed. ed.). Washington, DC: National Academy Press. Page 463. ISBN 9780309088664.

15- Yu, P., Wang, Q., Zhang, X., Zhang, X., Shen, S., Wang, Y. 2010. Development of superparamagnetic high-magnetization C18-functionalized magnetic silica nanoparticles as sorbents for enrichment and determination of methylprednisolone in rat plasma by high performance liquid chromatography. Anal. Chim. Acta, 678:50-55.

16- Zhao, XL., Shi YL., Cai, YQ., Mou, SF. 2008. Cetyltrimethylammonium Bromide-coated magnetic nanoparticles for the preconcentration of phenolic compounds from environmental water samples. Environ. Sci. Technol, 42:1201-1206.