الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

جامعة تشرين

كلية الصيدلة

قسم الكيمياء التحليلية والغذائية

مراقبة الملونات الاصطناعية في المشروبات الغازية المسوّقة محلياً في المنطقة الساحلية

(دراسة أُعدّت لنيل شهادة الماجستير في العلوم الصيدلانية /اختصاص مراقبة الأغذية/

قسم الكيمياء التحليلية والغذائية كلية الصيدلة)

إعداد الطالب

نزار انطون داوود

إشراف

أ.د. مفيد ياسين

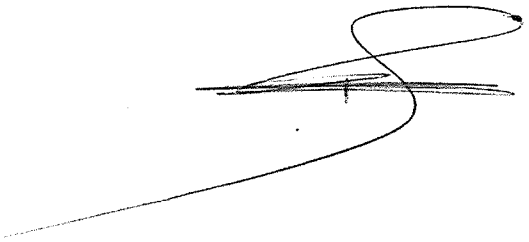
اللاذقية العام الدراسي 2015 -2016

قدمت هذه الدراسة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الماجستير في مراقبة الأغذية في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية – كلية الصيدلة – جامعة تشرين.

This thesis has been submitted as a partial fulfillment of requirement for the degree of master in Food Control at Analytical Chemistry and Food control Department – Faculty of pharmacy – Tishreen University.

المرشّح

نزار انطون داوود



-تصريح-

أصرّح بأن هذا البحث" مراقبة الملونات الاصطناعية في المشروبات الغازية المسوّقة محلياً في المنطقة الساحلية " لم يسبق أن قبل للحصول على شهادة، ولا هو مقدم حالياً للحصول على أية شهادة أخرى.

المرشح

نزار انطون داوود

تاريخ: ١١/1/2016

-Declaration-

I declare that this work **"Control of synthetic colorants in the soft drinks in the local coastal market " has not been submitted, nor being submitted concurrently for any another degree.**

Candidate

Nizar Anton Daood

Date: 11/1/2016

- شهادة-

نشهد بأن البحث في هذه الأطروحة "**مراقبة الملونات الاصطناعية في المشروبات الغازية المسوّقة محلياً في المنطقة الساحلية**" هو نتيجة لدراسة أجراها طالب الدراسات العليا (نزار انطون داوود) لصالح قسم الكيمياء التحليلية والغذائية، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، لنيل درجة الماجستير اختصاص مراقبة الأغذية بإشراف

الأستاذ الدكتور مفيد ياسين الأستاذ في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية بكلية الصيدلة في جامعة تشرين اختصاص/ كيمياء الأغذية/.

إن البحث لم يقدم سابقاً، وهو غير مقدم حالياً للحصول على أية شهادة أو درجة علمية أخرى، كما أن الرجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المرشح	الدكتور المشرف
نزار انطون داوود	أ.د. مفيد ياسين

نوقشت هذه الدراسة بتاريخ ١١ / 1 / ٢٠١٦ وأجيزت

لجنة الحكم:

الأستاذ الدكتور مفيد ياسين

أستاذ في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين

الدكتورة آيات عبود

مدرسة في قسم الكيمياء والصيدلة والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين

الدكتورة ديمة الدياب

مدرسة في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين

بعد الاطلاع والقيام بالتصويبات المطلوبة:

لجنة الحكم:

الأستاذ الدكتور مفيد ياسين

أستاذ في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية – كلية الصيدلة- جامعة تشرين

الدكتورة آيات عبود

مدرسة في قسم الكيمياء والصيدلة والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين

الدكتورة ديمة الدياب

مدرسة في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية- كلية الصيدلة - جامعة تشرين

كلمة شكر

أتوجّه بالشكر إلى:

الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

جامعة تشرين

كلية الصيدلة ممثلة بكادرها التدريسي والإداري

السادة أعضاء لجنة الحكم على ملاحظاتهم القيمة

الأستاذ الدكتور **مفيد ياسين** على إشرافه وتقديمه الدعم لإنجاز هذا البحث

كل الشكر والامتنان لكل من ساندني وكان لي داعماً خلال سنوات التحصيل العلمي

عائلتي وأصدقائي وزملائي

المرشح

نزار انطون داوود

فهرس المحتويات

الموضوع	الصفحة
قائمة الرموز	III
قائمة الأشكال	IV
قائمة الجداول	V
الملخص	VII
الدراسة النظرية	
مقدمة	2
الفصل الأول: استخدام الملونات في الأغذية	3
1.1. مقدمة عن المواد الملونة	3
2.1. أهمية استخدام الملونات في الأغذية	4
1.2.1. تعريف الملونات الغذائية	4
2.2.1. الهدف من استخدام المواد الملونة	4
3.1. تصنيف المواد الملونة	4
1.3.1. الملونات الطبيعية	5
2.3.1. الملونات الاصطناعية	5
4.1. مجالات استخدام الملونات الاصطناعية	6
5.1. التأثيرات الصحية لاستخدام الملونات الاصطناعية	7
6.1. تشريعات استخدام الملونات الاصطناعية	7
7.1. مراقبة الملونات الاصطناعية	10
الفصل الثاني: مراقبة الملونات الاصطناعية المستخدمة في المشروبات الغازية	13
1.2. مقدمة	13
2.2. استخدام الملونات الاصطناعية في المشروبات الغازية	14
3.2. مراقبة الملونات الاصطناعية في المشروبات الغازية	14
الدراسة العملية	
الفصل الثالث: المواد والأجهزة والطرائق التحليلية المستخدمة	18
1.3. المواد والأجهزة المستخدمة	18
1.1.3. الأجهزة والأدوات	18
2.1.3. المواد المستخدمة	18

3.1.3. العينات المدروسة.....18
2.3. التحاليل الكيميائية المجراة.....19
1.2.3. تحديد المحتوى الكلي من الملونات بالطريقة الوزنية.....20
2.2.3. تحديد المحتوى الكلي من الملونات بطريقة كيلداهل.....20
3.2.3. تحديد الملونات بالطريقة الطيفية.....21
1.3.2.3. السلاسل العيارية.....21
2.3.2.3. تحديد ملون الـ Sunset Yellow في المنتج A, B بالطريقة الطيفية.....21
1.2.3.2.3.الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي.....21
2.2.3.2.3.الاستخلاص بالصوف.....22
3.3.2.3. تحديد مزائج الملونات في المنتج C, D بطريقة العمود الكروماتوغرافي.....22
4.3.2.3. تحديد مزائج الملونات في المنتج C, D بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.....22
الفصل الرابع: نتائج دراسة الملونات الاصطناعية في عينات المشروبات الغازية المحلية.....24
1.4. تحديد المحتوى الكلي من الملونات بالطريقة الوزنية.....25
2.4. تحديد المحتوى الكلي من الملونات بطرقة كيلداهل.....27
3.4. التحديد الكيفي والكمي للملونات بالطريقة الطيفية.....29
1.3.4. تحديد ملون Sunset yellow في المنتج A والمنتج B بالطريقة الطيفية.....29
2.3.4. تحديد مزائج الملونات في المنتج C, D بطريقة العمود الكروماتوغرافي.....32
3.3.4. تحديد مزائج الملونات في المنتج C, D بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.....36
5. الاستنتاجات.....44
6. المقترحات والتوصيات.....46
7. المراجع.....47
ملحق(1).....51
ملحق(2).....55
ملحق(3).....57
ملخص باللغة الإنكليزية.....61

قائمة الرموز

الرمز	الاسم الكامل	الاسم الكامل باللغة الإنكليزية
G	غرام	Gram
Mg	ميلي غرام	Milligram
µG	ميكروغرام	Microgram
L	لتر	Liter
Ml	ميلي لتر	Milliliter
HPLC	الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء	High-Performance Liquid Chromatography
TLC	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة	Thin-Layer Chromatography
UV	الأشعة فوق البنفسجية	Ultra Violet
VIS	الأشعة المرئية	Visible
Nt%	الآزوت العام	Total Nitrogen
N	النظامية	Normality
pH	درجة حموضة الوسط	

قائمة الأشكال

الشكل	الصفحة
الشكل (1): الصيغ الكيميائية للملونات الاصطناعية المدروسة (Sunset yellow, Tartrazine, Brilliant Blue FCF)	15
الشكل (2): الطيف والسلسلة العيارية لملون الـ Sunset yellow	24
الشكل (3): الطيف والسلسلة العيارية لملون الـ Tartrazine	25
الشكل (4): الطيف والسلسلة العيارية لملون الـ Brilliant Blue FCF	25
الشكل (5): مخطط يبين المحتوى الكلي من الملونات الاصطناعية (mg/kg) في العينات المدروسة باستخدام الطريقة الوزنية	26
الشكل (6): مخطط يبين المحتوى الكلي من الملونات الاصطناعية(mg/kg) في العينات المدروسة باستخدام طريقة كيلداهل	28
الشكل (7): مخطط يبين متوسط محتوى عينات المنتج A, B من ملون الـ Sunset yellow(mg/L) باستخدام طريقة العمود الكروماتوغرافي	30
الشكل (8): مخطط يبين متوسط محتوى عينات المنتج A, B من ملون الـ Sunset yellow(mg/L) باستخدام طريقة الصوف	31
الشكل (9): الملونات المفصولة في المنتج C	34
الشكل (10): الملونات المفصولة في المنتج D	34
الشكل (11): مخطط يبين متوسط محتوى عينات المنتج C من الملونات الاصطناعية بعد فصلها بطريقة العمود الكروماتوغرافي	34
الشكل (12): مخطط يبين متوسط محتوى عينات المنتج D من الملونات الاصطناعية بعد فصلها بطريقة العمود الكروماتوغرافي	35
الشكل (13): كروماتوغرام الملونات المفصولة في المنتج C بطريقة الـ TLC (كشف كيفي)	38
الشكل (14): كروماتوغرام الملونات المفصولة في المنتج D بطريقة الـ TLC (كشف كيفي)	38
الشكل (15): طيف الملونات المضافة على العينات مقارنة مع طيف الملونات العيارية	39
الشكل (16): كروماتوغرام الملونات المفصولة في المنتج C بطريقة الـ TLC (كشف كمي)	39
الشكل (17): كروماتوغرام الملونات المفصولة في المنتج D بطريقة الـ TLC (كشف كمي)	39
الشكل (18): مخطط يبين محتوى المنتج C من الملونات الاصطناعية بعد فصلها بطريقة الـ TLC	40
الشكل (19): مخطط يبين محتوى المنتج D من الملونات الاصطناعية بعد فصلها بطريقة الـ TLC	41

قائمة الجداول

الجدول	الصفحة
جدول (1): تصنيف الملونات الاصطناعية بحسب بنيتها الكيميائية	5
جدول (2): المضافات الملونة الاصطناعية واستخداماتها الشائعة	6
جدول (3): قائمة بالملونات الاصطناعية بحسب تصنيف الاتحاد الأوروبي، والملونات الممنوعة والمسموحة في كل من الاتحاد الأوروبي والولايات المتحدة الأمريكية وباكستان	8
جدول (4): الملونات الاصطناعية المسموحة والمشمولة في الدراسة، ADI لكل منها، والحدود القصوى المسموح بها في المشروبات الغازية	10
جدول (5): العينات المدروسة، الملونات الاصطناعية المضافة، الشركة، تاريخ الإنتاج وتاريخ انتهاء الصلاحية	19
جدول (6): معامل التحويل لبعض المواد الملونة المستخدمة بشكلها الملحي	20
جدول (7): المحتوى الكلي(mg/kg) من الملونات الاصطناعية في العينات المدروسة باستخدام الطريقة الوزنية	26
جدول(8): قيم N% المحسوبة على أساس الصيغ الكيميائية للمواد الملونة	27
جدول (9): المحتوى الكلي(mg/kg) من الملونات الاصطناعية في العينات المدروسة باستخدام طريقة كيلداهل	28
جدول (10): النسبة المئوية لاسترداد الـ Sunset yellow بطريقة الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي والصوف	29
جدول (11): محتوى عينات المنتج A, B من ملون الـ Sunset yellow(mg/L) باستخدام طريقة العمود الكروماتوغرافي	31
جدول (12): محتوى عينات المنتج A, B من ملون الـ Sunset yellow(mg/L) باستخدام طريقة الصوف	32
جدول (13): النسبة المئوية للاسترداد عند فصل مزيج الملونات بطريقة العمود الكروماتوغرافي	33
جدول(14): محتوى عينات المنتج C من مزيج المواد الملونة بعد فصلها بطريقة العمود الكروماتوغرافي	35
جدول(15): محتوى عينات المنتج D من مزيج المواد الملونة بعد فصلها بطريقة العمود الكروماتوغرافي	36
جدول (16): النسبة المئوية للاسترداد عند فصل مزيج الملونات بطريقة الـ TLC	37
جدول (17): قيم الـ Rf للمواد الملونة في العينات مقارنة مع قيم Rf الملونات العيارية	38

جدول (18): محتوى عينات المنتج C من الملونات الاصطناعية بطريقة الـ TLC.....40
جدول (19): محتوى عينات المنتج D من الملونات الاصطناعية بطريقة الـ TLC.....41
جدول (20): محتوى العينات المدروسة من الملونات الاصطناعية ومقارنتها مع المواصفات القياسية السورية والعالمية 42

الملخص

تستخدم الملونات الغذائية بشكل شائع في المنتجات الغذائية وخاصة في المشروبات الغازية نظراً لخواصها الهامة في تعزيز مظهر المنتج وجعله أكثر جذباً من قبل المستهلكين سواء كانت ملونات طبيعية أم اصطناعية. الملونات الاصطناعية تسبب العديد من التأثيرات الجانبية السمية، لذلك كان من المهم دراسة تلك المواد ومراقبتها في المنتجات الغذائية ولا سيما المشروبات الغازية. تم إجراء هذه الدراسة للتأكد من مطابقة عينات المشروبات الغازية المتوفرة محلياً والحاوية على ملونات اصطناعية لما تتطلبه المواصفات القياسية السورية الخاصة بالملونات الغذائية. إن الهدف الأساسي في هذه الدراسة كان التحديد الكيفي والكمي لثلاثة ملونات اصطناعية مسموحة هي ملونات الـ Sunset yellow, Tartrazine, Brilliant Blue FCF، وكذلك تحديد أية ملونات ممنوعة محتمل تواجدها في بعض عينات المشروبات الغازية المسوّقة محلياً باستخدام عدة طرق تحليلية كالطريقة الوزنية، وطريقة كيلداهل، الطرق الطيفية بعد الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي أو الصوف، فصل مزيج الملونات الاصطناعية المضافة باستخدام طريقة العمود الكروماتوغرافي وطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

تبين من الدراسة أن جميع العينات المدروسة آمنة وصالحة للاستهلاك؛ إذ لم يتم استخدام أية ملونات ممنوعة حيث كانت جميع الملونات المستخدمة مسموحة ومضافة بتراكيز أقل من الحدود القصوى المسموح بها في المواصفات القياسية السورية والعالمية.

الكلمات المفتاحية: الملونات الاصطناعية، المشروبات الغازية، مراقبة الأغذية، أصفر غروب الشمس، الترترازين، الأزرق البراق.

الدراسة النظرية

Theoretical Study

مقدمة

تلعب الملونات الغذائية دورها المهم في تقديم منتج غذائي جذاب ومقبول، كما تفيد في التأثير على عنصر النكهة وتصحيح التغيرات التي يتعرض لها اللون الطبيعي للمنتج نتيجة عوامل التصنيع الغذائي، كما أنها تفيد في الحكم على جودة المنتج وتؤثر في اختياره من قبل المستهلك، بالإضافة إلى تقديم اللون للمنتجات غير الملونة مثل المشروبات الغازية والتي كانت موضوع هذه الدراسة، نظراً لانتشار هذا النوع من المشروبات بكثرة في السوق المحلية وتزايد معدلات استهلاكها.

تكمن عوامل الخطورة عند استخدام الملونات الاصطناعية الممنوعة أو عند استخدام تراكيز زائدة من الملونات الاصطناعية المسموحة. فالملونات الاصطناعية تعد مواداً تسبب العديد من التأثيرات الجانبية غير المرغوبة وخاصة إذا ما تم استهلاكها بشكل متكرر.

في هذه الدراسة تمت مراقبة الملونات الاصطناعية في بعض عينات المشروبات الغازية التي تباع بشكل شائع في السوق المحلية، سواء كانت منتجات مصنعة محلياً أو مستوردة. شملت الدراسة اختبارات تحديد الملونات الاصطناعية بعدة طرق تحليلية وفقاً لما تتطلبه المواصفات القياسية السورية وبعض المرجعيات العالمية.

أهمية البحث:

تعد مراقبة سويات المواد الملونة الاصطناعية في المشروبات الغازية، والكشف عن أية ملونات ممنوعة أمراً هاماً وذلك نظراً للتأثيرات السمية التي تسببها وخاصة بعد تزايد معدلات استهلاك هذه المشروبات.

أهداف البحث:

- التحديد الكيفي والكمي للملونات الاصطناعية المضافة إلى بعض منتجات المشروبات الغازية المسوقة محلياً.
- مقارنة النتائج مع المواصفات القياسية السورية وبعض المواصفات العالمية.

الفصل الأول

استخدام الملونات في الأغذية

1.1.مقدمة

قدمت المضافات الغذائية لسنوات طويلة العديد من الوظائف الهامة والمفيدة في مختلف أنواع الأغذية، وساهمت تلك المضافات في تحقيق غذاء سليم ومغذي ذي نكهة ولون. إن المضافات الغذائية هي أي مادة تساهم بشكل مباشر أو غير مباشر في التأثير على خواص المادة الغذائية أو المنتج الغذائي، وتشمل أي مادة تضاف خلال المراحل التصنيعية للغذاء، أو خلال عمليات التخزين والتعبئة والنقل (FDA/IFIC, 2010). تصنف المضافات الغذائية بحسب (FDA/IFIC, 2010; FOOD additives,2012) إلى:

- المواد الحافظة التي تمنع تخرب الغذاء بالبكتريا أو الفطور أو الخمائر وبالتالي تحافظ على لون ونكهة وقوام المادة الغذائية.
- المحليات التي تضيف المذاق الحلو سواء كانت محليات تغذوية أو غير تغذوية.
- المنكهات التي تعطي نكهات محددة سواء نكهات طبيعية أو اصطناعية.
- مضادات الأكسدة التي تمنع التزنخ التأكسدي وتزيد من العمر التخزيني للغذاء.
- منظمات الحموضة التي تضاف للتحكم بحموضة الغذاء أو قلويته.
- مضادات التكتل التي تقلل من ميل مكونات الغذاء للالتصاق مع بعضها.
- مضادات الرغوة التي تمنع من تشكل الرغوة.
- المستحلبات التي تشكل أو تحافظ على المستحلب المكون من طورين أو أكثر.
- الملونات التي تلون أو تعيد تلوين الغذاء.

وبحسب (Kaur and Gupta, 2011) فإن المواد الملونة تعد من أهم المضافات الغذائية، وهي تلعب دوراً كبيراً في عمليات التصنيع الغذائي، إن جودة الغذاء ونكهته مفاهيم مرتبطة بشكل وثيق مع استخدام المواد الملونة في المنتج الغذائي، أشار الباحث (Naidu and Sowbhagya, 2012) إلى أن أول ملون اصطناعي والمسمى (mauvine) يعود إلى مكتشفه (Perkine) ومن بعدها تم اكتشاف المزيد من الملونات الاصطناعية وشاع استخدامها في مختلف الصناعات الغذائية. مع بداية القرن التاسع عشر تم اكتشاف الملونات الاصطناعية المشتقة من قطران الفحم الحجري وساعد على انتشارها قدرتها على مقاومة تغيرات الأوساط وثباتيتها العالية التي تفوق ثباتية الملونات الطبيعية.

2.1.أهمية استخدام الملونات في الأغذية

يعد لون الغذاء أو لون المنتج الغذائي من العناصر الهامة للمستهلكين (FSA, 2011)، وذلك لأن اللون هو الخاصية الأولى الملاحظة في الغذاء وطريقة أساسية للحكم والتقييم الحسي للمنتج الغذائي قبل تسويقه، كما أنه يلعب دوراً إيجابياً أو سلبياً في التأثير على مزاج المستهلك، وله تأثير في عملية اختيار المنتج. إن عملية تسويق المنتج تعتمد على لونه بنسبة تفوق 60% (Akacy, 2012). كما أشار الباحث (Diacu and Ene,2009) أن النواحي المرئية تلعب دوراً مهماً في عملية اختيار المستهلك للمنتج. لذلك كانت المواد الملونة من أكثر المضافات الغذائية استخداماً بسبب خصائصها في الإبقاء على أو تطوير النكهة واللون المحسوس للأغذية والمشروبات أو المستحضرات التجميلية.

1.2.1.تعريف الملونات الغذائية

تعرف المضافات الملونة (Color Additives) حسب (FDA/IFIC, 2010) على أنها أي مادة صباغية (Dye or Pigment) أو أي مادة عندما تضاف أو تطبق على المنتجات الغذائية أو المنتجات الدوائية أو المستحضرات التجميلية أو على جسم الإنسان، فإنها تكون قادرة لوحدها أو من خلال تفاعلها مع غيرها من المواد على منح أو إعطاء اللون. وفقاً الباحث (Khodjaeva, 2013) فإن الملون الغذائي هو أي مادة صباغية تكون سائلة أو مسحوق أو معجون أو جل، تمنح اللون عندما تضاف إلى الغذاء أو المشروب، تستخدم تلك المواد في عمليات تصنيع الأغذية وكذلك في عمليات الطهي المحلي.

2.2.1.الهدف من استخدام المواد الملونة

تضاف الملونات من أجل تقديم منتج غذائي مقبول وجذاب من الناحية الحسية والنفسية (Sawaya, 2008)، وهي تسهم في تحسين مظهر المنتج ويزيد من جماليته كما يدعم تسويقه (Huang, 2002). وتعزز من قرار المستهلك لشراء المنتج (Troiano, 2008)، ودعم الإحساس بنكهة المنتج (Von Elbe and Schwartz,1996). كما أنها تعزز من عناصر الطعم والنكهة للمنتج (Graber, 2000). إن لون المنتجات الغذائية يعد من العوامل المساعدة في الحكم المسبق على جودتها (Griffiths, 2005). كما أنها تساهم في إعطاء اللون للمنتجات غير الملونة كالمشروبات الغازية والمارغرين، بالإضافة إلى استخدامها في أغذية المرح والتسلية الموجهة للأطفال مثل السكاكر والمعجنات (FDA/IFIC,2010)، تستخدم الملونات أيضاً لتعزيز اللون الطبيعي للمنتج وتقليل التغيرات التي يتعرض لها اللون الطبيعي الناتجة عن التعرض للهواء والرطوبة والضوء والحرارة العالية وشروط التخزين (Troiano, 2008; Pedjie, 2012).

3.1.تصنيف المواد الملونة

1. 3. 1.الملونات الطبيعية

الملونات الطبيعية هي مواد يستحصل عليها بطرائق الاستخلاص التقليدية من الأجزاء النباتية كالخضار والفواكه والبذور والجذور والمتعضيات الميكروية أو ما يسمى بالملونات الحيوية، وقد تكون أيضاً حيوانية المصدر (Naidu and Sowbhagya, 2012). تسمى هذه المجموعة من الملونات بـ Exempt from certification colors (FDA / IFIC, 2010). تتضمن هذه المجموعة الملونات المشتقة من أصلها الطبيعي كالخضروات والحيوانات والمعادن، وهي ملونات أغلى ثمناً كما أنها تضيف نكهات غير مقصودة إلى المنتج الغذائي، بحسب الباحث (Scotter, 2011) يمكن تصنيف الملونات الطبيعية إلى المجموعات التسع التالية:

- Curcumine (E100)
- Riboflavine (E101i,E101ii)
- Cochenial-including carminic acid (E120)
- Chlrophill-including chlorophillins and copper analogue s(E140,E141)
- Caramel class i,ii,iii,iv (E150a,E150b,E150c,E150d)
- Carotenoids (E160a,E160b,E160c,E160d,E160e,E160f,E161b,E160g)
- Beet root, betain (E162)
- Anthocyanins (E163)
- Others:
  - Vegetable carbon(E153)
  - Calcium carbonate(E170)
  - Titanium dioxide(E171)
  - Iron oxides and hydroxides(E172)

2.3.1. الملونات الاصطناعية

بحسب تصنيف الـ FDA تسمى Certified colors وهي ملونات ناتجة عن تفاعلات الاصطناع الكيميائي، واسعة الانتشار والاستخدام ومفضلة لدى المصنعين وذلك كونها تعطي ألواناً شديدة وموحدة، تتمتع بثباتية جيدة، رخيصة الثمن، عادة لا تعطي نكهات غير مرغوبة، و قابلة للمزج مع غيرها لتعطي تدرجات مختلفة من الظلال والألوان (FDA/IFIC, 2010; Sorouraddin, 2011; Kaur and Gumpta, 2012).

تصنف الملونات الاصطناعية تبعاً إلى:

- **بنيتها الكيميائية:** حيث تقسم إلى خمسة صفوف أساسية كما في الجدول(1) (Zatar, 2007).

الجدول1: تصنيف الملونات الاصطناعية بحسب بنيتها الكيميائية (Zatar, 2007)

Azo compounds	Triphenylmetan group	Quinophtalone derivatives	Xanthenes	Indigo colorants
E102, E110, E122, E123, E124, E128, E129	E133, E131, E142	Quinoline yellow E104	Erythrosine E127	Indigo carmine E132

- **انحلاليتها:** تصنف الملونات أيضاً تبعاً لانحلاليتها فهناك ملونات منحلة بالماء Water soluble dye (Direct Dyes)، تتوافر على شكل صلب أو سائل أو حثيرات، تستخدم هذه الملونات في المنتجات مثل المشروبات والمنتجات المخبوزة ومنتجات الألبان، وهناك الملونات غير المنحلة بالماء Water insoluble dyes or (Lakes)، تعطي هذه المواد اللون عبر خاصية الانتشار أو التبعثر، وهذه المواد غير ذوابة في الدسم ولكنها قابلة للتبعثر في الجمل الزيتية، تعد هذه المواد أكثر ثبات من المواد الملونة الذوابة في الماء، وتكون مناسبة للمنتجات الحاوية على نسبة أكبر من الزيوت والدهون. ويمكن أيضاً استخدامها في الجمل الجافة (Kaur and Gupta, 2011).

4.1. مجالات استخدام الملونات الاصطناعية

بين الباحث (Robinson, 2001) أن للملونات خواص أساسية في العديد من الصناعات الغذائية والصيدلانية بنوعيها المواد الملونة الطبيعية والاصطناعية، كما أنها تستخدم في صناعة مواد التعبئة والتغليف(Ergene, 2009). بشكل عام تستخدم الملونات الاصطناعية في المجالات الغذائية التالية: المنتجات المخبوزة، الحبوب ومنتجات الحبوب، المنتجات اللبنية، منتجات الأسماك والمأكولات البحرية، اللحوم ومنتجاتها، منتجات البيض، الفواكه والخضروات والمكسرات ومنتجاتها، المشروبات الغازية، الأغذية المحفوظة والأطعمة السكرية، الحلويات، المشروبات الكحولية، الخل والمخللات والصوص، أغلفة المنتجات وكنوع من الزينة، الحلويات والمثلجات، ومشروبات الحليب المنكهة، الشوربات وأطعمة السناك ومنتجات السمك المدخن (Smith and Shum, 2003). الجدول (2) يبين أهم الملونات الاصطناعية ومجالات استخدامها (Cady, 2011).

الجدول2: المضافات الملونة الاصطناعية واستخداماتها الشائعة(Cady, 2011)

الاسم	اللون	الاستخدام الغذائي الشائع
FD&C Blue No. 1, Brilliant Blue FCF	Bright blue	المشروبات، المثلجات، الجيليه، التوابل،المستخلصات، الحلويات
FD&C Blue No. 2 ,Indigotine	Royal blue	الأيس كريم، الأطعمة السريعة، الحلويات، الحبوب، السلع المخبوزة
FD&C Green No. 3 ,Fast Green FCF	Sea green	المشروبات، الحلويات، الأيس كريم، السلع المخبوزة
FD&C Red No. 40,Allura Red AC	Orange-red	المشروبات، الجيلاتين، الحلويات، التوابل
FD&C Red No. 3, Erythrosine	Cherry-red	كوكتيل فاكهة الكرز، السلع المخبوزة، الأطعمة السريعة، الحلويات
FD&C Yellow No. 5, Tartrazine	Lemon yellow	المشروبات، الأيس كريم، مزائج الحليب والبيض المحلى، الحبوب، الحلويات، المعلبات

FD&C Yellow No. 6 , Sunset Yellow	Orange	المشروبات، السلع المخبوزة، الأطعمة السريعة، الحبوب، الأيس كريم، الحلويات

5.1. التأثيرات الصحية لاستخدام الملونات الاصطناعية

بينت الدراسات تزايد معدلات استهلاك المشروبات في الولايات المتحدة الأمريكية بين عامي 1977-2001 عند مختلف الفئات العمرية للمستهلكين (Nielsen and Popkin , 2004)، كما أن متوسط استهلاك الفرد في المملكة المتحدة من المشروبات غير الكحولية يصل إلى (ml/day 200) في اليوم (Tennant, 2008). أشار الباحث (Stevens, 2013) إلى تزايد الجرعة اليومية المقبولة للملونات الاصطناعية من عام 1950 حتى عام 2012. إن الاستهلاك الزائد لتلك المواد يؤدي إلى العديد من المشاكل الصحية (Shiri, 2013) وأعراض كالقلق، الصداع، القرحة، سرطان رئة، فرط نشاط عند الأطفال وأنيميا (Kaur and Gumpta, 2012). إن دراسة تأثير بعض الملونات الاصطناعية على حيوانات التجربة بين وجود بعض التأثيرات السمية كانخفاض وزن الجسم وانخفاض الهيموغلوبين وتعداد الكريات الحمر (EL_Wahab and Moram, 2013)، وبينت بعض الدراسات ضرورة خفض الجرعة اليومية المقبولة منها، فمثلاً تم اقتراح خفض الجرعة اليومية المقبولة من ملون أصفر غروب الشمس من 2,5 إلى 1 مغ لكل كغ من وزن االجسم خلال اليوم mg/kg bw/day (EFSA, 2009). كما أنه وعلى أساس تلك الدراسات تم منع العديد من الملونات الاصطناعية مثل Auramine, Rhodamine, Lead chromate, Malachite green, Orange2, Sudan3 and 4 (Botek, 2007 ; Saleem, 2013).

6.1. تشريعات استخدام الملونات الاصطناعية

يختلف تشريع استخدام الملونات الاصطناعية بحسب كل دولة ففي النرويج والنمسا مثلاً يعد الـ Tartrazine ملون ممنوع (Li, 2008)، في الاتحاد الأوروبي يسمح باستخدام Tartrazine بحدود قصوى تصل إلىppm100 عندما يضاف كملون وحيد للمنتجات الغذائية. كما يسمح باستخدامSunset yellow بحدود قصوى تصل إلىppm50 عندما يضاف كملون وحيد وppm100 عندما يضاف Tartrazin مع Sunset yellow كمزيج إلى المنتجات الغذائية (Diacu and Ene, 2009). تعد ملونات الـ Amaranth والـ Carmosine ملونات ممنوعة في روسيا أما الحدود القصوى للملونات المسموحة فهي بمجال-mg/kg20 500 (Kiseleva, 2003). ينظم استخدام المواد الملونة في الولايات المتحدة الأمريكية تحت إشراف Food,Drugs and Cosmetic Act of 1938)) واعتماداً عليه أشار الباحث (Senackerib, 2000) إلى منع

العديد من الملونات الاصطناعية مثل Chrome yellow, Lead chromate عند إضافتها إلى منتجات من الحلويات وذلك لما سببته من مشاكل صحية وهضمية مختلفة.

يوضح الجدول (3) أهم الملونات الاصطناعية الممنوعة والمسموحة بالنسبة للاتحاد الأوروبي والولايات المتحدة الأمريكية وباكستان (Saleem *et al*, 2013).

الجدول3: قائمة بالملونات الاصطناعية بحسب تصنيف الاتحاد الأوروبي، والملونات الممنوعة والمسموحة في كل من الاتحاد الأوروبي والولايات المتحدة الأمريكية وباكستان (Saleem *et al*, 2013)

E. Number	Common Name
E102	Tartrazine *
E104	Quinoline Yellow ***
E110	Sunset Yellow *
E122	Carmosine ***
E123	Amaranth **
E124	Ponceau 4R ***
E127	Erythrosine *
E131	Patent Blue V **
E132	Indigo Carmine*
E142	Green S *
E151	Black PN **
E107	Yellow 2G ***
E128	Red 2G ***
E133	Brilliant Blue FCF*
E154	Brown FK ****
E155	Brown HT **
E180	Rubine BK ***

* مسموح في الولايات المتحدة الأمريكية والاتحاد الأوروبي وباكستان.

** مسموح في الاتحاد الأوروبي وباكستان.

*** مسموح في الاتحاد الأوروبي فقط.

**** مسموح في باكستان فقط.

بينت العديد من الدراسات سوء استخدام للمضافات الملونة في المنتجات الغذائية إما من خلال استخدام الملونات الممنوعة أو من خلال استخدام تراكيز زائدة من الملونات المسوحة. بين الباحث (Sawaya, 2008) في دراسته على الملونات المضافة إلى أغذية الأطفال أن 90% من العينات احتوت على مواد ملونة اصطناعية، ومنها ملونات Tartrazine, Sunset yellow, Carmosine, Allura red بحدود تجاوزت الوارد اليومي المقبول Acceptible Daily Intake (ADI) بالإضافة إلى احتواء بعض

العينات على ملونات ممنوعة مثل Orange B و Erythrosine، كما بين الباحث (Saleem, 2013) في دراسته أن أغلب المنتجات الغذائية ذات العلامة التجارية كانت تحتوي على مواد ملونة مسموحة مثل Ponceau 4R, Sunset yellow, Amaranth, Blue FCF, Tartrazine، وأن بعض العينات ذات الإنتاج المحلي احتوت على مواد ملونة ممنوعة مثل Congo Red, Metanil yellow, Orange 11 . بين الباحث (Evans, 2003) في دراسته للملونات المضافة إلى عينات غذائية أن عدد من العينات احتوت على ملونات الـ Sunset yellow أو الكارموزين بتراكيز تجاوزت الحد المسموح به، وأن بعض العينات احتوت على مواد ملونة لم تكن مذكورة على بطاقة البيان الخاصة بالمنتج. بين الباحث (Ma, 2006) في دراسته على أصبغة السودان في المنتجات الغذائية أن ملونات Sudan I, Sudan IV تواجدت في بعض العينات المدروسة علماً أنها ملونات ممنوعة، وفي دراسة أخرى للباحث (Jonnalagadda , 2004) على عينات للأغذية الجاهزة للاستهلاك والمحضرة في المناطق غير الصناعية، تبين من الدراسة أن 90% من العينات احتوت على مواد مضافة ملونة مسموحة ولكن 73% منها تجاوزت الحد المسموح به وأن 27% كانت ضمن المجال المسموح وهو 100ppm ، و2% من العينات احتوت على مزيج من الملونات المسموحة والممنوعة، و8% من العينات احتوت على ملونات ممنوعة.

تتم إضافة الملونات بكميات أقل من تلك المؤدية إلى تأثيرات سلبية، فبعد تقديم المادة على الوكالات المختصة بالمراقبة يتم تحديد طريقة الاستخدام والكميات العظمى للاستخدام وكيفية تعريفها على بطاقة بيان المنتج. وفي حال وجود أي أثر سلبي للمادة أو تزايد في معدلات استهلاكها فعلى هذه الوكالات منع استهلاك المادة أو القيام بدراسات أكثر للتحقق من سلامة المادة (FDA /IFIC, 2010). في الولايات المتحدة الأمريكية يتطلب من تلك المواد الملونة أن تكون مصدق وموافق عليها من قبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية ومفهرسة في الكود الأمريكي (CFR code of federal regulation) وذلك قبل استخدامها في المنتجات المسوقة، ووفقاً لهذا القانون فإن الملونات المضافة لن تفهرس حتى تثبت المعطيات أن استخدام تلك المواد آمن أي إذا كان هناك دليل مقنع أن تلك المواد لا تحمل أي ضرر أو أثر سلبي ناتج من الاستخدام المطلوب منها (FDA/CFSAN, 2011).

قامت هيئة المواصفات القياسية في سورية بإعداد المواصفات القياسية السورية رقم 770- 2011 بجزأيها الأول والثاني الخاصة بالمضافات الغذائية_ملونات الغذاء والتي تتضمن الاشتراطات العامة والحدود القصوى المسموح بها. تتضمن هذه المواصفة القياسية المواد الملونة بأصنافها الطبيعية والصنعية والمماثلة للطبيعية المسموح باستخدامها في المواد الغذائية المعدة للاستهلاك البشري. كما تحدد متطلباتها العامة ونسب استخدامها من خلال تحديد أسماء المجموعات الغذائية والنسب الكمية للملونات المختلفة المسموح باستخدامها في هذه المجموعات، إضافة إلى الجرعة اليومية المقبولة وصفات بعضها كما تتضمن التعبئة والتخزين والنقل والاعتيان وبطاقة البيان. بحسب المواصفات القياسية السورية فإن مصطلح الجرعة اليومية المقبولة (ADI) يعني كمية المضاف الغذائي اللوني الممكن أن يتناولها الإنسان بشكل يومي خلال كامل حياته دون أن تترك أي أثر ملحوظ على صحته ويعبر عنها على أساس وزن

الجسم (bw) (الوزن القياسي 60 كغ). الجدول(4) يوضح الملونات الاصطناعية المشمولة في الدراسة والجرعة اليومية المقبولة لكل منها، وحدودها القصوى المسموح بها في المشروبات الغازية بحسب المواصفات القياسية السورية.

الجدول4: الملونات المسموحة والمشمولة في الدراسة، ADI لكل منها، الحدود القصوى المسموح بها في المشروبات الغازية (SNS, 2011)

الاسم الشائع للملون		ADI mg/Kg(bw)	الحدود القصوى المسموحة في الشرابات الغازية مغ/ل
أزرق براق (إف.سي.إف)	Brilliant blue FCF	1	100
أصفر غروب الشمس (إف.سي.إف)	Sunset yellow FCF	2,5	100
ترترازين	Tartrazine	7,5	100

7.1. مراقبة الملونات الاصطناعية

هناك العديد من الدراسات التي تناولت موضوع الملونات في العينات الغذائية باستخدام عدة طرائق تحليلية إما مباشرة أو بعد استخلاص الملونات بطريقة العمود أو خيط الصوف ومنها:

_ طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء: قام الباحث (Lee, 2011) بدراسة لتحديد سويات بعض الملونات الاصطناعية في العينات الغذائية الموجهة للأطفال، وتبين من الدراسة أن المجال المقاس من الملونات كان دون الجرعة اليومية المسموحة منها. قام الباحث (Hajimahmoody, 2013) في إيران بدراسة لتحديد سويات ثمانية ملونات اصطناعية ومنها Tartrazine, Sunset Yellow, Brilliant Blue في العينات الغذائية، وتبين أن نسبة من العينات الغذائية المدروسة كانت مطابقة للمواصفات الإيرانية، وأن ملون الـTartrazine كان سائداً في العينات المحللة. درس الباحث (Ma, 2006) مجموعة من الملونات الذوابة في الماء مثل الـ Tartrazine, Sunset yellow وملونات أخرى ذوابة في الدسم مثل أصبغة السودان في العينات الغذائية، وتمت الدراسة باستخدام الـDimethylsulfoxide(DMSO) كعامل استخلاص، واستخدام تقنية HPLC الموصولة مع مقياس الطيف الكتلوي للكشف الكيفي والكمي عن الملونات المضافة، وتبين من الدراسة أن الملونات الحلولة بالماء كانت بتراكيز أقل من الحدود القصوى، وأن أصبغة الـSudan I,IV تم تحديدها في بعض العينات. دراسة أخرى للباحث (Minioti, 2007) لتحديد عدد من الملونات الاصطناعية في العينات الغذائية الحلولة بالماء باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا عالية الأداء بالطور العكوس على عمود C18 وباستخدام طور متحرك مؤلف من الأسيتونتريل والميتانول ووقاء من خلات الأمونيوم للوصول إلى pH 7,5، وتبين أن الملونات الاصطناعية المدروسة كانت ضمن مجال

واسع من التراكيز (0,35-125mg/kg). كما قام الباحث (Culzoni, 2009) بتحديد سويات بعض الملونات الاصطناعية في عينات المشروبات غير الكحولية بطريقة الـ HPLC باستخدام الميتانول وخلات الأمونيوم كطور متحرك.

_طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بعد الاستخلاص بالصوف: قام الباحث (Farzianpour, 2013) بدراسة من أجل التحديد الكيفي للملونات المضافة على العينات الغذائية. في هذه الدراسة تم استخلاص الملونات بطريقة الخيط الصوفي ومن ثم تمت عملية فصل للمواد الملونة على صفائح الطبقة الرقيقة، وترحيل الملونات باستخدام طور متحرك مؤلف من البوتانول والماء المقطر وحمض الخل (20:12:5)، ثم مقارنة البقع المفصولة مع بقع الملونات العيارية، تبين من الدراسة أن نسبة من العينات كانت تحتوي على ملونات اصطناعية مسموحة أو ممنوعة وأن ملون الـSunset yellow كان الملون الأكثر استهلاكاً من بين الملونات الاصطناعية المضافة. أيضاً دراسة للباحث (Tripathi, 2004) لتحديد الملونات المضافة إلى العينات الغذائية كيفياً وكمياً حيث تم في هذه الدراسة استخلاص الملونات باستخدام الصوف. تبين من الدراسة أن جميع العينات المدروسة باستثناء عينتين فقط كانت تحتوي على ملونات اصطناعية مسموحة ودون الحدود القصوى المسموحة. بين الباحث (Wall, 2000; Soponar, 2008) أن لطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة العديد من الأفضليات مقارنة مع غيرها من الطرق الكروماتوغرافية عند تحديد الملونات. فالمواد الملونة تميز وترى بسهولة على الطبقة من خلال ألوانها، ونادراً ما يكون إضافة الكواشف لتمييز الملونات على الطبقة ضرورياً باستثناء بعض الحالات التي تكون فيها المادة بأشكالها المرحلية الوسطية والتي تملك صيغ كيميائية غير ملونة في الضوء المرئي. أيضاً في بعض الأحيان تكون هناك اختلافات قليلة في تدرجات اللون يمكن تمييزها على الطبقة الرقيقة أكثر مما تبدو عليه في المحلول، فاختلافات جودة اللون في المنتجات التجارية بين دفعة وأخرى قد تكون ناتجة عن استخدام ملونات مختلفة. لذلك وباستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة يمكن تحليل العديد من العينات ومقارنتها مع اللون العياري أو المرجعي على نفس الطبقة وبنفس الشروط خلال عملية ترحيل واحدة مما يعني توفيراً للوقت والمواد والتكلفة. قام الباحث (Lim, 1987) بدراسة الملونات الاصطناعية في بعض العينات الغذائية. تم استخلاص المواد الملونة بطريقة الخيط الصوفي وفصلها على الكروماتوغرافيا الورقية Whatman No.1 ، تم اقتصاص الأجزاء المفصولة وحلها باستخدام (ethanol 50%, aqueous acetone 20%) بعد تبخير المحلات يتم تحديد المواد الملونة بطيف الامتصاصية للملونات العيارية، وتبين من الدراسة أن معظم العينات الغذائية المدروسة كانت تحتوي على ملون اصطناعي وحيد، وأن قسم آخر من العينات كانت تحتوي على مزيج من الملونات الاصطناعية المسموحة، كما تم تحديد بعض الملونات الاصطناعية الممنوعة في بعض العينات.

_الطرق الطيفية: درس الباحث (Saleem, 2013) المواد الملونة المضافة إلى بعض المنتجات الغذائية. تمت الدراسة على العينات الصلبة و شبه الصلبة بعد تحضيرها وذلك بحلها بالماء النقي، أما العينات السائلة فقد تمت دراستها مباشرة. تم تحديد الملونات المدروسة عند طول موجة الامتصاص الأعظمي

لكل مادة ملونة، وتبين من الدراسة أن بعض العينات بنسبة 44% (والتي لا تحوي على علامة تجارية) احتوت على ملونات اصطناعية ممنوعة، وأن 11% من العينات ذات العلامة التجارية كانت تحتوي على ملونات اصطناعية ممنوعة. كما قام كل من (Liamas, 2009; EL-Shahawi, 2013) بدراسة الملونات الاصطناعية في عينات المشروبات باستخدام الطرق الطيفية.

_طريقة الرحلان الكهربائي: قام الباحث (Huang, 2002) بدراسة سويات بعض الملونات الاصطناعية في مشروبات الحليب. تم في البداية تحضير العينات من خلال تمديدها بالإيتانول بنسبة 1:1 ومن ثم ضبط الـ pH وتثفيل العينات وحقنها ضمن عمود الـ Polyamide ومن ثم شطف الملونات المدمصة على العمود باستخدام مزيج محلول الأمونيا والميتانول بمعدل 1:1 . كما قام الباحث(Giovine and Bucca, 2003) بالتحري عن ملونات الـ Sunset yellow, Carmosine, Ponceau 4R في عينات الأيس كريم باستخدام تقنية الرحلان الكهربائي وفي وسط من وقاء فوسفات الصوديوم وبورات الصوديوم (1:1) للوصول إلى pH حوالي 8.

_الطريقة الكيميائية: قام الباحث (Saharaei, 2013) بدراسة سويات ملون الـ Tartrazine في مشروبات الفواكه والسكاكر والجيلاتين المنكه باستخدام الطريقة الكيميائية متبوعة بالطريقة الطيفية. تمت دراسة المواد الملونة في العينات الغذائية أيضاً باستخدام مقياس الكمون(Medeiros, 2012; Goreishi, 2012).

_طريقة الاستقطاب: قام الباحث (Chanlon, 2005) بالتحري عن ملونات الـ Carmosine, Allura red, Ponceau 4R.

الفصل الثاني
مراقبة الملونات الاصطناعية المستخدمة في المشروبات الغازية

1.2.مقدمة

تقسم المشروبات إلى مجموعتين كبيرتين وهما مجموعة المشروبات الكحولية ومجموعة المشروبات غير الكحولية والتي تضم مجموعة المشروبات الغازية. إن مجموعة المشروبات الغازية تضم المشروبات المنكهة ذات الأساس المائي بالإضافة إلى غاز ثاني أوكسيد الكربون والمحليات المغذية أو غير المغذية مع المضافات الغذائية المسموحة الأخرى. من الأمثلة على هذه المجموعة هي مشروبات الـ Gaseosa (المشروبات ذات الأساس المائي وغاز الكربون والمحليات والمنكهات)، ومشروبات الـ Sodas (كمشروبات الكولا)، وأنماط مشروبات الحمضيات، والمشروبات الطاقية المكربنة الحاوية على مستويات مرتفعة من المغذيات ومكونات أخرى كالكافئين والتورين والكارنيتين، أو تكون كمشروبات للحمية أو مشروبات خفيفة أو عادية المحتوى الطاقي، ذات مظهر رائق أو عكر، ويمكن أن تحتوي على مكونات محددة كأجزاء الفواكه (Codex stan, 1995).

أشار الباحث (EL-Faki and Eisa,2010) إلى أن المشروبات الغازية هي عبارة عن مزيج معقد من المواد المختلفة ومنها المواد الملونة، العوامل المنكهة، المحليات، الحموض، المواد الحافظة والكافئين. تصطنع تلك المشروبات باستخدام الماء مع إضافة 1-3% من غاز ثاني أكسيد الكربون السائل، و3-5% من المحلول السكري، تحمض حتى الوصول إلى pH حوالي 3,5، وإضافة العوامل المستحلبة والملونات والمنكهات و/أو التوابل، الأعشاب، خلاصات الجذور أو الأوراق أو البذور أو الأزهار أو اللحاء. يشار إلى المشروبات الغازية (soft drinks) بمصطلحات مثل Carbonated beverages، Soda water، Soda، Pop، Drinks. تتغير حياة الرف (Shelf life) للمشروبات الغازية تبعاً للشروط التخزينية، ولكن تشير بعض الأدلة القليلة إلى أن حياة الرف في شروط التخزين الطبيعية تصل إلى 12 شهر، ولكنها تقل عند التعرض المفرط لضوء الشمس أو الضوء الاصطناعي القوي أو الحرارة. إن المنتجات المعبأة في العبوات المعدنية تتمتع بحياة رف متشابهة، ولكن المنتجات المعبأة في العبوات البلاستيكية يجب أن تسوق وتباع بسرعة أكبر لتجنب خسارة الغاز من المنتج.

2.2.استخدام الملونات الاصطناعية في المشروبات الغازية

إن المواد الملونة تعد صنفاً هاماً من المضافات الغذائية (Minioti, 2007)، وأهمية تلك المضافات الملونة تأتي من كونها عناصر أساسية في زيادة الجاذبية البصرية للمنتج كما تدعم تسويقه (Ming, 2006). كما أنها تقدم اللون للمنتجات غير الملونة كالمشروبات الغازية (FDA/IFIC,2010). بين الباحث (Garber, 2000) أن استخدام الملونات يعزز من قدرة المستهلك الصحيحة على تمييز النكهة، فبحسب (FSA, 2011) إذا كانت النكهة غير مقترنة باللون الصحيح فإنها ستدرك بشكل غير صحيح. بحسب (Griffits, 2005) فاللون الأصفر مثلاً يلائم مشروبات الليمون واللون الزهري يلائم مشروبات الكريفون.

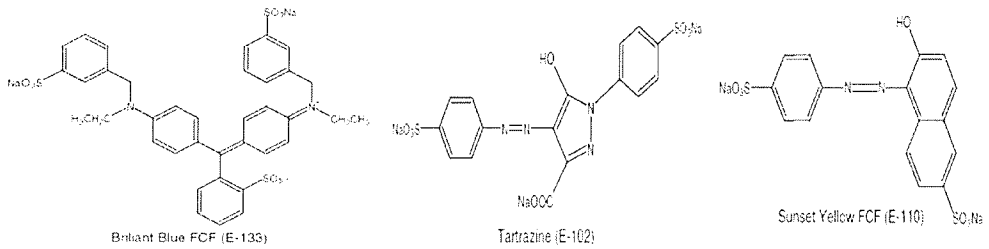
3.2.مراقبة الملونات الاصطناعية في المشروبات الغازية

درس الباحث (Alves, 2008) الملونات الاصطناعية ومنها ملونات الـ Sunset yellow, Tartrazine, Brilliant Blue FCF في العينات الغذائية وعينات من المشروبات الغازية، تم تحضير العينات الصلبة وشبه الصلبة بالماء النقي، أما المشروبات الغازية فقد تم التخلص من غاز الكربون فيها باستخدام حمام الأمواج فوق الصوتية، تمت الدراسة بطريقة الـ HPLC باستخدام طور متحرك مؤلف من مزيج محلولين. المحلول الأول مؤلف من الميتانول وأسيتات الأمونيوم، أما المحلول الثاني فكان مؤلف من الميتانول ومحلول مائي للـEDTA وأسيتات الصوديوم للوصول إلى درجة حموضة 3,5. تم الفصل بعد حقن الطور المتحرك بنسبة(55%:45%) وبمعدل تدفق 1,0 ml/min، تبين من الدراسة أن الملونات المدروسة كانت بتراكيز متوافقة مع التشريع البرازيلي. درس الباحث (Marutoiu, 2011) الملونات الاصطناعية في العينات الغذائية ومنها عينات للمشروبات الغازية باستخدام الطريقة الطيفية للتحديد الكمي وذلك بعد فصل المواد الملونة بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ذات طور ساكن مؤلف من Octysilane(C18) و n-Octadecylsilane(C18) ، وطور متحرك مؤلف من الإيتانول المطلق ومحلول كبريتات البوتاسيوم في الماء 1% بنسبة (40:60V/V)، ومزيج من الإيتانول المطلق مع محلول لكبريتات البوتاسيوم في الماء1% بنسبة (40 :60V/V). تم تسخين العينات للحصول على الرسابة الملونة التي تحل بـ 0,5 ml من الكحول الإيتيلي ثم تطبق على الطبقة الرقيقة. بعد فصل الملونات تمت مقارنة البقع المفصولة مع بقع الملونات العيارية، ثم تمت عملية اقتصاص البقع المفصولة وحلها بمزيج الإيتانول والماء بنسبة (1:1V/V) لتتم بعدها عملية التحديد الكمي لها على جهاز السبيكتروفوتوميتر عند طول موجة الامتصاص الأعظمي لكل مادة ملونة. تبين من الدراسة أن العينات كانت تحتوي على مواد ملونة كالـ Tartrazine, Quinoline yellow, Carmine, Azorubine. قام الباحث(Trandafir, 2009) بدراسة لتحديد بعض الملونات الاصطناعية في العينات الغذائية ومنها عينات للمشروبات الغازية باستخدام تقنية الـ HPLC بالطور العكوس على عمود الـ C18 وباستخدام طور متحرك مؤلف من الأسيتونتريل ووقاء أسيتات الصوديوم،

وتمت الدراسة في درجة حرارة 30 °C ومعدل تدفق 1 ml/min. وفي دراسة أخرى للباحث (Yan, 2013) على بعض المضافات الملونة في المشروبات الغازية تم تحديد ملوني Sunset yellow و Tartrazine في العينات باستخدام تقنية الـHPLC على عمود الـ C18 وبطور متحرك مؤلف من الميتانول وأسيتات الأمونيوم (30:70 V/V) في درجة حرارة الغرفة و بمعدل تدفق 0,7 ml/min. قام الباحث (Vachirapatama, 2008) بدراسة لتحديد سبعة ملونات اصطناعية في العينات الغذائية ومنها عينات لمشروبات غازية بطريقة الـ HPLC على عمود C18 وباستخدام الميتانول والماء كطور متحرك في وقاء من الأسيتات وتبين من الدراسة أن بعض العينات الغذائية المدروسة كانت تحتوي على ملونات اصطناعية بحدود تجاوزت المجال المسموح به في تايلاند.

تمت دراسة المواد الملونة كمياً في العينات الغذائية والمشروبات الغازية باستخدام الطرق الطيفية، ومنها دراسة للباحث (Shiri, 2012) على ملون الـ Brilliant Blue عند طول موجة 634nm بعد استخلاصه بالبولي إيتلين غليكول. كما تمت دراسة الملونات الاصطناعية في المشروبات الغازية بالطريقة الطيفية بعد الاشتقاق (Sayar and Ozdemir, 1997; EL_Sheikh and AL_Degs, 2013; Antakli, 2015). أيضاً من الدراسات الطيفية دراسة للباحث (Mustafa, 2013) على ملونات السودان الممنوعة لتحديدها كمياً. أيضاً دراسة للباحث (Yan, 2011) لتحديد ملوني الـ Tartrazine والـ Ponceau 4R المضافة بالطريقة الكهركيميائية باستخدام مقياس الكمون.

تعد ملونات الـTartrazine (E102) والـSunset yellow (E110) من الملونات الاصطناعية التي تنتمي لمجموعة ملونات الـAzo، تضاف هذه الملونات إما بشكل منفصل أو بشكل مزيج لتحقيق جميع تدرجات اللون الأصفر المختلفة (Diacu and Ene, 2009)، أما ملون الـBrilliant Blue FCF (E133) فهو ملون اصطناعي ينتمي لمجموعة الـTriarylmethane ويمكن أن يضاف بالمشاركة مع الـTartrazine لتحقيق تدرجات من اللون الأخضر (Li, 2008; Trandafir, 2009). والشكل(1) يوضح الصيغ الكيميائية لملونات الـSunset yellow, Tratrazine, Brilliant Blue FCF



الشكل1: الصيغ الكيميائية لملونات الـ Sunset yellow, Tartrazine, Brilliant Blue FCF

في هذه الدراسة التي تمت في مخابر كلية الصيدلة بجامعة تشرين تم تحديد مجال البحث بأهم الملونات الاصناعية والأكثر انتشاراً في عينات المشروبات الغازية في السوق المحلية في المنطقة الساحلية. شملت الدراسة ملونات Sunset yellow, Tartrazine, Brilliant Blue FCF من خلال القيام باختبارات الكشف الكيفية والكمية عن هذه الملونات المسموحة، ومقارنة نتائج الطرق التحليلية فيما بينها، ومن ثم مقارنتها مع المواصفات القياسية السورية وبعض المواصفات العالمية.

الدراسة العملية

Practical Study

الفصل الثالث

المواد والأجهزة والطرائق التحليلية المستخدمة

1.3.المواد والأجهزة المستخدمة

3. 1.1.الأجهزة والأدوات Equipments and Materials:

استخدمت مجموعة من الأدوات المخبرية التالية: عمود كروماتوغرافي Chromatographic column، بيشر Beaker سعة 50, 100, 250 مل، أرلنماير Erlenmeyer، دورق حجمي Volumetric flask سعة 25 ,50 ,100 مل، أسطوانة مدرجة Gratuated cylinder سعة 25 ,50 ,100 مل، أنابيب اختبار Experiment tubes، ممصات معايرة Pipette سعة 1, 5, 10, 20 مل، MicroPipette سعة 5 ميكرو ليتر، أنابيب شعرية Capillarity tubes، زجاجات ساعة Watch glasses، جفنات Crucibles، مبرد.

كما تم استخدام مجموعة الأجهزة التالية: ميزان حساس ذو حساسية 0.0001 غ (Precisa XB 220 A)، جهاز كيلداهل المؤلف من وحدة التهضيم (Buchi, Digest system K-437) ووحدة التقطير (Distillation unit B-324) ومضخة نوع (Jasco Pu-2089 Plus) ، الكاشف (Jasco Fp-2020 Plus)، مقياس الطيف الضوئي (Jasco v-530 UV)، صفائح الطبقة الرقيقة (Macherey-Nagel)، حمام أمواج فوق صوتية (EMKO ESM37-H)، حمام مائي، فرن كهربائي (Janat).

2.1.3.المواد المستخدمة

ملونات (Sunset yellow, Tartrazine, Brilliant Blue FCF) عيارية، بوتانول (TEKKIM)، حمض الخل الثلجي (BDH)، صوف خام، حمض البور (TITANBIOTECH)، حمض الكبريت المركز 95%-97% (CHEMLAB)، وسائط كيلداهل المؤلفة من كبريتات النحاس98% (TEKKIM) وكبريتات البوتاسيوم 99% (TEKKIM) وأوكسيد الزنك (QUALIKEM) ، ماءات الصوديوم (TEKKIM)، حمض كلور الماء 37% (CHEMLAB)، نشادر(BDH)، أكسيد الألمنيوم (BDH)، ميتانول (BDH) ، ماء مقطر.

3.1.3.العينات المدروسة

تم جمع 48 عينة عشوائياً خلال عامي (2014-2015)، العينات كانت لأربعة أنواع من المشروبات الغازية ذات علامة تجارية تباع في المحال التجارية في السوق المحلية، النوع الأول (A) كان لمشروب

غازي منكه بنكهة البرتقال مصنع محلياً حاوي على ملون الـ Sunset yellow فقط. النوع الثاني (B) كان لمشروب غازي منكه بنكهة البرتقال مستورد حاوي على ملون الـ Sunset yellow فقط. النوع الثالث (C) كان لمشروب غازي منكه بنكهة البرتقال مصنع محلياً حاوي على مزيج من ملونات الـ Sunset yellow, Tartrazine. النوع الرابع (D) من العينات كان لمشروب غازي منكه بنكهة التفاح مصنع محلياً حاوي على مزيج من ملونات الـ Tartrazine, Brilliant Blue FCF. تمت الدراسة في كل نوع من العينات على طبختين مخلفتين، جدول (5).

الجدول5: عينات المشروبات الغازية المدروسة، الملونات الاصطناعية المضافة، الشركة، تاريخ الإنتاج وانتهاء الصلاحية

المنتج	مصدر العينات	الملونات المضافة	الطبخة	عدد العينات	تاريخ الإنتاج/تاريخ انتهاء الصلاحية
A	محلي	Sunset yellow	الطبخة الأولى	6	08/08/14 B368X 07/12/14 L14220
			الطبخة الثانية	6	11/09/14 B477X 10/01/15 L14254
B	مستورد	Sunset yellow	الطبخة الأولى	6	03/03/14 YJC صالحة لمدة عام من تاريخ الإنتاج
			الطبخة الثانية	6	08/09/14 XJC صالحة لمدة عام من تاريخ الإنتاج
C	محلي	Sunset yellow Tartrazine	الطبخة الأولى	6	07/09/14 B2 06/09/15 SP45L
			الطبخة الثانية	6	04/01/15 B3 03/07/15 SP40
D	محلي	Tartrazine Brilliant Blue FCF	الطبخة الأولى	6	16/10/2014 B455X 15/10/2015 L14289
			الطبخة الثانية	6	13/11/2014 B492X 12/11/2015 L14317

2.3.التحاليل الكيميائية المجراة

في البداية تم تخليص العينات من الغاز وذلك بوضعها في حمام الأمواج فوق الصوتية مدة 15 دقيقة (Antakli, 2015)، ليتم بعدها تطبيق بعض الاختبارات لتحديد الملونات الاصطناعية في عينات المشروبات الغازية وهي:

1.2.3.تحديد المحتوى الكلي من الملونات بالطريقة الوزنية (AOAC,2002)

يتم تحضير محلول للعينة 50% في الماء المقطر، ينقل 50 مل منها إلى بيشر سعة 500 مل، ثم يتم التسخين حتى درجة الغليان ويضاف 25 مل من حمض كلور الماء والممدد بنسبة (1+49) في الماء المقطر، لتعاد عملية التسخين مرة أخرى حتى درجة الغليان، وتغسل جدران البيشر بكمية صغيرة من الماء ويغطى بزجاجة ساعة ويترك في الحمام المائي عدة ساعات ثم يبرد حتى درجة حرارة الغرفة، وتنقل الرسابة إلى الصوف المحمض بحمض كلور الماء والممدد بنسبة (1+199) في الماء المقطر، وتغسل باستخدام حجوم 10_15 مل من الماء. تجفف الرسابة مدة 3 ساعات في درجة حرارة 135 C° ثم يتم تعديل درجة حرارتها في المجفف ثم توزن ويحسب المحتوى الكلي من الملون وفق:

$$\text{Total color\%} = \frac{\qquad\qquad}{\qquad\qquad}$$

إن معامل التحويل مهم فقط في حالة المحاليل الملحية للمواد الملونة، ولا حاجة لاستخدامه إذا كانت المادة الملونة مستخدمة بشكلها غير الملحي. جدول(6).

الجدول6: معامل التحويل لبعض المواد الملونة المستخدمة بشكلها الملحي (AOAC,2002)

Color	Factor
FD&C Red No.3	1,074*
D&C Red No.22	1,068
D&C Red No.28	1,056
D&C Orange No.11	1,075

*Includes 1 molecule H_2O of crystallization.

2.2.3.تحديد المحتوى الكلي من الملونات بطريقة كيلداهل (AOAC,2002)

بعد استخلاص المواد الملونة من العينات بطريقة العمود الكروماتوغرافي تمت عملية التهضيم باستخدام 20 مل من حمض الكبريت المركز وأكاسيد معدنية مختلفة كمحفزات، ثم التسخين لدرجة حرارة 510 درجة مئوية لمدة 5 ساعات للحصول على محلول رائق شفاف. تتشكل في هذه المرحلة كبريتات الأمونيوم، ثم يتم تحرير الأمونيا باستخدام 75مل من هيدروكسيد الصوديوم (تركيزه 33%) و50 مل من الماء المقطر واستقبال الأمونيا في دورق حاوي على حمض البور وكاشف من أحمر الفينيل وأزرق البروموكريزول، يتشكل في هذه المرحلة بورات الأمونيوم التي تتم معايرتها حجمياً باستخدام حمض كلور الماء 0,1 N. يتم حساب المحتوى الكلي من الآزوت وفق المعادلة:

$$N\% = \frac{\qquad\qquad}{\qquad\qquad}$$

أو من المعادلة:

$$N\% = V.\ 0{,}0014.\ 100/g$$

حيث

V هي الحجم المستهلك من حمض كلور الماء.

g هي وزن العينة المأخوذ.

يتم حساب المحتوى الكلي من الملونات وفق المعادلة:

$$\text{Pure dye\%} = \frac{\qquad\qquad\qquad\qquad}{\qquad\qquad\qquad\qquad}$$

حيث

N% هي النسبة المئوية للآزوت محسوبة من المعادلات السابقة.

N% calculated from formula of color هي النسبة المئوية للآزوت محسوبة على أساس الصيغ الكيميائية لكل ملون.

3.2.3. التحديد الكيفي والكمي للملونات بالطريقة الطيفية

1.3.2.3. السلاسل العيارية للملونات الاصطناعية

تم تحضير السلاسل العيارية لملون الـ Sunset yellow والـ Tartrazine بتحضير خمسة محاليل من المادة العيارية في حمض كلور الماء N 0,1 بتراكيز (1-3 مغ/100مل)، أما الـ Brilliant Blue فتم تحضير المحاليل من المادة العيارية في حمض كلور الماء N 0,1 بتراكيز (0,3-0,1 مغ/100مل). تم أخذ متوسط قيم الامتصاصية لثلاثة مكررات ثم مثلت العلاقة بيانياً مع قيم التراكيز المستخدمة، ليتم الحصول على معادلة الخط المستقيم الممثل للخطية حيث Y تمثل الامتصاصية، وX تمثل التركيز (قيست الامتصاصية للملونات الاصطناعية عند طول موجة nm482 لـSunset yellow و nm 427 لـTartrazine و nm 630 لـ Brilliant Blue).

2.3.2.3. تحديد ملون Sunset yellow في المنتج A والمنتج B

1.2.3.2.3. الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي (Column Chromatography)(Food Additives,2012

يتم نقل وزن معلوم من العينة(5_10 gr ويمرر عبر عمود (45×2,1 cm) حاو على أكسيد الألمنيوم المحمض بحمض كلور الماء1% ، ويفصل الملون المدمص باستخدام محلول الأمونيا 1%. يتم تبخير الجزء المفصول حتى الجفاف على حمام مائي ساخن، ثم تحل البقية بحمض كلور الماء N 0,1 وتنقل إلى بالون معايرة 100 مل ويكمل الحجم بالحمض ويتم قياس الامتصاصية عند طول موجة الامتصاص

الأعظمي الخاص بالمادة الملونة، ثم يحسب التركيز بتعويض القيم في معادلة الخط المستقيم المنحني للمادة الملونة.

2.2.3.2.3. الاستخلاص بالصوف (Wool Dyeing) (SNS 47/1996; Farzianpour *et al* , 2013)

يتم اتباع نفس خطوات العمل في الطريقة الوزنية(1.2.3) حتى مرحلة ادمصاص اللون على قطعة الصوف، ليتم بعدها فصل الملون باستخدام محلول الأمونيا 1%، ثم التسخين حتى الحصول على الرسابة التي تحل بحجم من حمض كلور الماء N 0,1 ،ليكمل الحجم بعدها حتى 100 مل، لتقاس الامتصاصية على جهاز السبيكتروفوتوميتر عند طول موجة الامتصاص الأعظمي لملون الـ Sunset yellow .

2.3.2.3. تحديد مزائج الملونات في المنتج C, D بطريقة العمود الكروماتوغرافي (Food Additives,2012)

يتم في البداية فصل مزيج المواد الملونة على العمود الحاوي على أوكسيد الألمنيوم باستخدام طور متحرك من البوتانول والماء المقطر وحمض الخل الثلجي بنسبة (20:12:5)، ثم شطفها باستخدام نفس الطور المتحرك، وتبخير المحلات المستخدمة في حمام مائي حتى الحصول على الرسابات الملونة، ثم حل تلك الرسابات باستخدام مزيج من الميتانول والماء المقطر(v/v1:1) ومن ثم قياس امتصاصية المتحللات المفصولة عند طول موجة الامتصاص الأعظمي لكل منها.

3.3.2.3. تحديد مزائج الملونات في عينات المنتج C, D بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC-Thin Layer Chromatography)

(Marutoiu, 2011; Tripathi, 2004)

يتم في البداية تنشيط صفائح الطبقة الرقيقة الحاوية على السيليكاجيل كطور ثابت بوضعها في الحاضنة بدرجة حرارة (C°100_90) لمدة 8_10 دقائق للتخلص من الرطوبة وتفعل السيليكاجيل. تخرج الصفائح من الحاضنة وتعدل حرارتها. يتم تحديد خط أفقي باستخدام قلم رصاص يبعد عن نهاية الطبقة مقدار cm3، يتم بعدها تطبيق قطرات من المواد الملونة المستخلصة بالصوف على الطبقة الرقيقة، وترحل باستخدام طور متحرك مؤلف من البوتانول والماء المقطر وحمض الخل بنسبة (20:12:5). تنتهي عملية الترحيل عدما يصل مستوى الطور المتحرك إلى حوالي 4 cm تحت النهاية العلوية للطبقة ثم تؤخذ بعدها لتجفف. تتم عملية تحديد الملونات المفصولة في هذه المرحلة بقياس الـRf (المسافة التي تقطعها بقعة عينة الملون منسوبة إلى المسافة التي يقطعها الطور المتحرك). أما عند التحديد الكمي للمواد الملونة يتم تطبيق القطرات على الطبقة الرقيقة بحجم معلوم 10 µl ، لتتم بعدها عملية الترحيل باستخدام

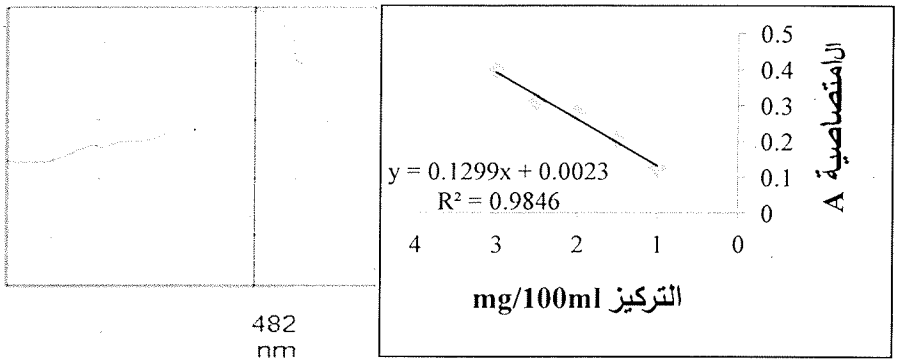
الطور المتحرك. بعد عملية الفصل تجفف الصفائح ويتم قص البقع المفصولة وحلها باستخدام مزيج الميثانول والماء(1:1 v/v) لتقاس بعدها الامتصاصية على جهاز السبيكتروفوتوميتر.

الفصل الرابع

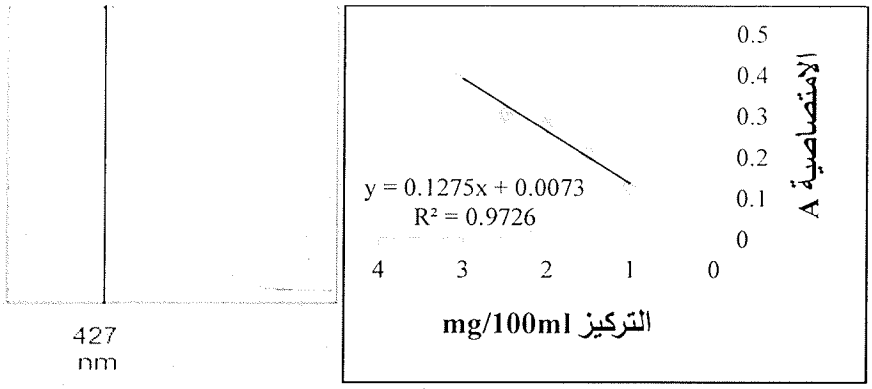
نتائج دراسة الملونات الاصطناعية في عينات المشروبات الغازية المحلية

تمت دراسة عينات المشروبات الغازية الحاوية على الملونات الاصطناعية وفق الاختبارات الدستورية وما تتطلبه المواصفات القياسية السورية. تم في هذه الدراسة استخدام مجموعة من الطرائق التحليلية المرجعية على مرحلتين. تم في المرحلة الأولى التحديد الكيفي للملونات الاصطناعية المسموحة أو الممنوعة ومقارنتها مع محتويات المشروب الغازي من المواد الملونة المذكورة في بطاقة بيان المنتج، ثم الانتقال إلى المرحلة الثانية من خلال التحديد الكمي للملونات المضافة ومقارنتها مع المواصفات القياسية السورية وبعض المواصفات العالمية.

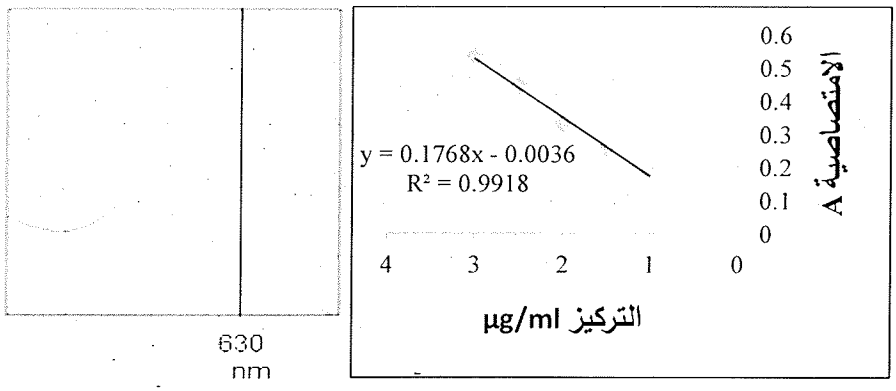
الشكل(2) و(3) و(4) بمثل السلاسل العيارية للمونات المدروسة وأطيافها، وقمة الطيف عند طول موجة الامتصاص الأعظمي لكل منها، حيث المحور الأفقي يمثل قيم التراكيز والمحور-العمودي يمثل قيم الامتصاصية.



الشكل2: الطيف والسلسلة العيارية لـ Sunset yellow



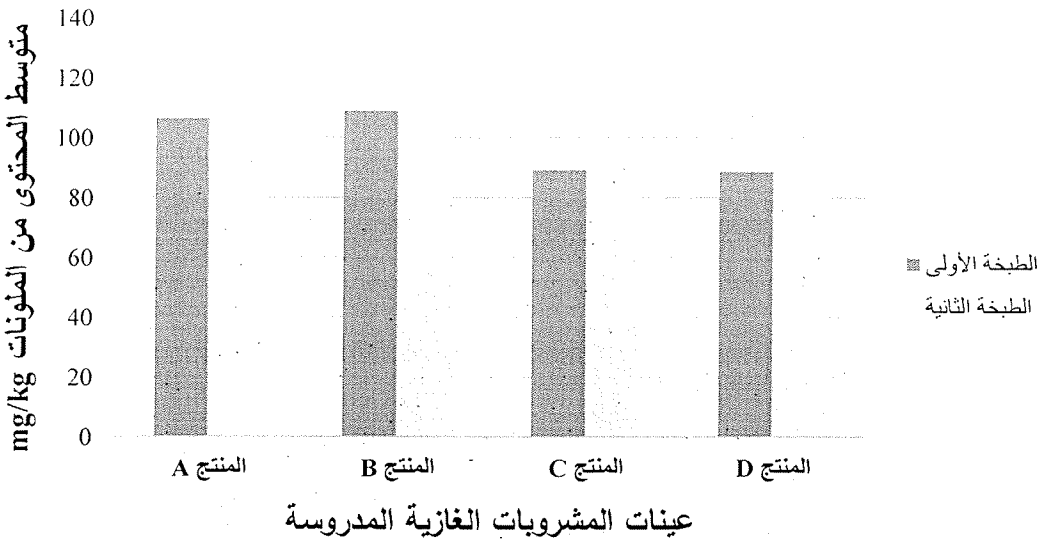
الشكل3: الطيف والسلسلة العيارية لـ Tartrazine



الشكل4: الطيف والسلسلة العيارية لـ B. Blue

1.4. تحديد المحتوى الكلي من المواد الملونة بالطريقة الوزنية

تم إجراء هذا الاختبار على بعض عينات المشروبات الغازية المشمولة بالبحث لقياس المحتوى الكلي من المواد الملونة الاصطناعية. تم تحضير محلول 50% من العينة في الماء المقطر ثم القيام بعملية استخلاص للمواد الملونة على الخيط الصوفي، تم قياس متوسط المحتوى من الملونات وكانت النتائج كما في الشكل(5) والجدول(7).



الشكل5: متوسط المحتوى الكلي من الملونات الاصطناعية (mg/Kg) في العينات المدروسة باستخدام الطريقة الوزنية

الجدول7: المحتوى الكلي من الملونات الاصطناعية في العينات المدروسة المقاس بالطريقة الوزنية

Soft drink product	Colorants	Lot	Total color%	Mean Total color%	Mean Total color mg/kg
A	Sunset yellow	1	0,0110	0,0106	106,6
			0,0102		
			0,0108		
		2	0,0114	0,0116	116,6
			0,0116		
			0,0120		
B	Sunset yellow	1	0,0108	0,0109	109
			0,0102		
			0,0118		
		2	0,0104	0,0116	116,6
			0,0124		
			0,0122		
C	Sunset yellow Tartrazine	1	0,0098	0,0089	89,3
			0,0082		
			0,0088		
		2	0,0098	0,0093	93,3
			0,0086		
			0,0096		
D	Tartrazine Brilliant Blue FCF	1	0,0088	0,0088	88,6
			0,0078		
			0,01		

		2	0,0080	0,0092	92,6
			0,0092		
			0,0106		

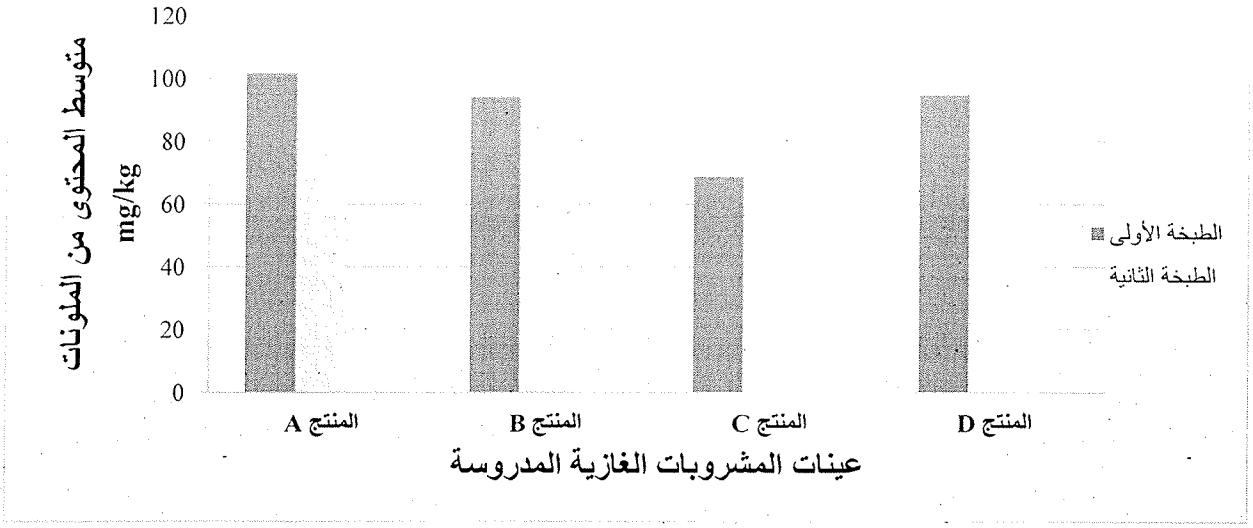
إن المحتوى الكلي من الملونات المحدد بالطريقة الوزنية كان كبيراً في جميع القياسات، وبحدود تجاوزت القيم القصوى المسموحة (mg/kg100) لملون الـ Sunset yellow في المنتج A والمنتج B، كما أن قيم تراكيز مزائج الملونات كانت كبيرة أيضاً ولكن دون الحدود القصوى المسموحة لمزائج الملونات في المواصفات القياسية السورية (mg/kg 200).

2.4.تحديد المحتوى الكلي من المواد الملونة بطريقة كيلداهل

تمت دراسة المواد الملونة الاصطناعية باستخدام طريقة كيلداهل على بعض عينات المشروبات الغازية المشمولة بالبحث. وتم حساب نسبة الآزوت العام في العينات المدروسة بالاعتماد على الحجم المستهلك من حمض كلور الماء 0,1N بعد استخلاص المواد الملونة بطريقة العمود الكروماتوغرافي من 30 gr (وزن الأخيذة) من العينات. تم حساب النسبة المئوية للملونات بالاعتماد على نسبة الآزوت N% المحسوبة على أساس الصيغ الكيميائية من الملونات كما في الجدول(8). تم قياس متوسط المحتوى من الملونات وكانت النتائج كما في الشكل(6) والجدول(9).

الجدول8: قيم N% المحسوبة على أساس الصيغ الكيمائية للمواد الملونة

Colorant	Chemical formula	Molar Mass gr/mol	N%
Sunset Yellow	C16H10N2Na2O7S2	452,36374	6,1926
Tartrazine	C16H9N4Na3O9S2	534,35781	2,6212
Brilliant Blue FCF	C37H34N2Na2O9S3	792,84314	3,5332



الشكل6: متوسط المحتوى الكلي من الملونات الاصطناعية (mg/Kg) باستخدام طريقة كيلداهل

الجدول9: المحتوى الكلي من الملونات الاصطناعية في العينات المدروسة المقاس بطريقة كيلداهل

Soft drink product	Colorants	Sample number	N%	Pure dye%	Mean Pure dye mg/Kg	Mean Pure dye mg/Kg
A	Sunset yellow	1	0,00065	0,0105	105,5022	101,7342
			0,00060	0,0097	97,9663	
		2	0,00060	0,0097	97,9663	94,1984
			0,00070	0,0113	90,4305	
B	Sunset yellow	1	0,00056	0,0090	90,4305	94,1984
			0,00060	0,0097	97,9663	
		2	0,00060	0,0097	97,9663	90,4304
			0,00051	0,0082	82,8946	
C	Sunset yellow Tartrazine	1	0,00056	0,0063	63,5367	68,8314
			0,00065	0,0074	74,1261	
		2	0,00065	0,0074	74,1261	66,1840
			0,00051	0,0058	58,2419	
D	Tartrazine Brilliant Blue FCF	1	0,00060	0,0098	98,5744	94,7831
			0,00056	0,0090	90,9918	
		2	0,00056	0,0090	90,9918	87,2004
			0,00051	0,0083	83,4091	

إن المحتوى الكلي من الملونات المحدد بطريقة كيلداهل كان كبيراً في جميع القياسات، وبحدود تجاوزت القيم القصوى المسموحة لملون الـ Sunset yellow في المنتج A في الطبخة الأولى. أما بالنسبة للطبخة الثانية من المنتج A وعينات المنتج B فقد كانت قيم تراكيز ملون الـSunset yellow فيها قريبة من

الحدود القصوى المسموحة في المواصفات القياسية السورية. إن قيم تراكيز مزائج الملونات كانت دون الحدود القصوى المسموحة لمزائج الملونات في المواصفات القياسية السورية (200 mg/kg).

تمت الدراسة باستخدام الطريقة الوزنية وطريقة كيلداهل على بعض عينات المشروبات الغازية إذ أن نوعية هذه الطرق كانت قليلة تجاه المتحللات المدروسة.

3.4. التحديد الكيفي والكمي للملونات بالطريقة الطيفية

1.3.4. تحديد ملون Sunset yellow في المنتج A والمنتج B بالطريقة الطيفية

تم في البداية حساب معامل الاسترداد لطريقة الادمصاص على الخيط الصوفي ومقارنته مع مردود الاستخلاص لطريقة العمود الكروماتوغرافي. في البداية تم تحضير محلول عياري لملون الـ Sunset yellow بتركيز 2,5 mg/100 ml ذو امتصاصية قدرها 0,3091 ، تم فصل اللون المضاف بطريقة الخيط الصوفي وطريقة العمود الكروماتوغرافي. تم قياس الامتصاصية على جهاز السبيكتروفوتوميتر عند طول موجة الامتصاص الأعظمي للمادة الملونة ليتم بعدها حساب النسبة المئوية بين الكمية التي وجدت عملياً والكمية التي تمت إضافتها نظرياً، فكانت النتائج كما هو مبين في الجدول(10).

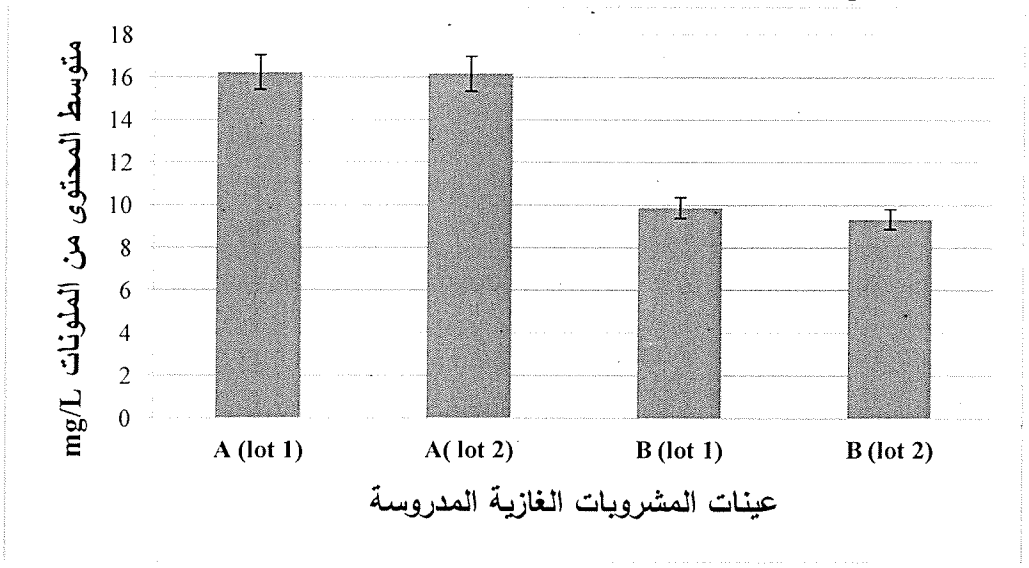
الجدول10: النسبة المئوية للاسترداد لطريقة الخيط الصوفي وطريقة العمود الكروماتوغرافي

		الخيط الصوفي	العمود الكروماتوغرافي
		التركيز mg/100ml	التركيز mg/100ml
القياس	القياس الأول	2,3802	2,3156
	القياس الثاني	2,3687	2,3033
	القياس الثالث	2,3456	2,3548
	القياس الرابع	2,3017	2,3102
	القياس الخامس	2,4526	2,2771
	القياس السادس	2,2355	2,2848
المتوسط الحسابي X		2,3473	2,3076
الانحراف المعياري S		0,0728	0,0264
الانحراف المعياري النسبي RSD%		3,1014	1,1440

القيمة الحقيقية Xr	2,5	2,5
النسبة المئوية للاسترداد Recovery %	93,892	92,304

إن النسبة المئوية للاستدراد في طريقة الصوف كانت أكبر مما هي عليه في طريقة العمود الكروماتوغرافي، كما أن طريقة الصوف كانت أقل دقة من طريقة العمود الكروماتوغرافي وذلك عند مقارنة قيم الانحراف المعياري النسبي لكل من الطريقتين.

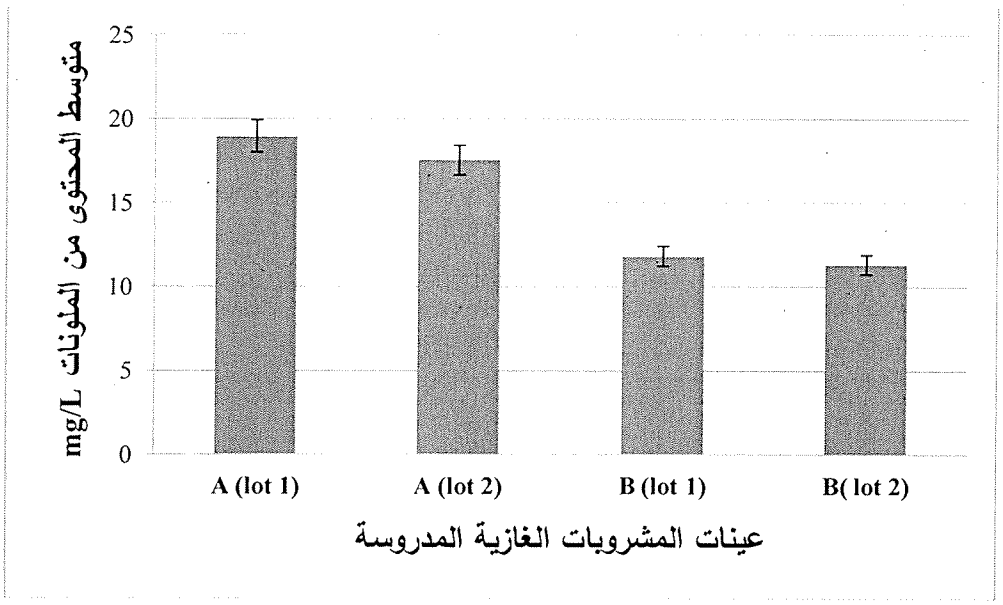
تمت دراسة ملون Sunset yellow في جميع عينات المنتج A والمنتج B بالطريقة الطيفية بعد الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي والصوف، وتبين أن ملون الـ Sunset yellow كان الملون الوحيد المضاف إلى العينات مثل ما هو مذكور على بطاقة بيان المنتج من خلال مقارنة طيف الملون الذي تم استخلاصه مع طيف الـ Sunset yellow العياري. تم القياس من أجل جميع عينات المنتج المحلي والمستورد. تم حساب تركيز الملون بعد التعويض في معادلة الخط المستقيم فكانت التراكيز موضحة كما في الشكل(7) والجدول(11) لطريقة الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي، والشكل(8) والجدول(12) لطريقة الاستخلاص بالصوف.



الشكل7: متوسط محتوى عينات المنتج A, B من ملون الـ Sunset Yellow(mg/L) المحدد بالطريقة الطيفية بعد الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي

الجدول11: محتوى عينات المنتج A, B من Sunset Yellow المحدد بالطريقة الطيفية بعد الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي

Soft drink product	Labeled Colorantes	Determined Colorants	Concentration mg/L		Mean Concentration mg/L		RSD%	
			Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
A	Sunset yellow	Sunset yellow	16,1354	16,0662	16,2457	16,1752	1,0279	1,2284
			16,2124	16,1354				
			16,5050	16,0508				
			16,0662	16,5742				
			16,3895	16,0816				
			16,1662	16,1431				
B	Sunset yellow	Sunset yellow	9,8999	9,2917	9,8960	9,3584	1,1782	1,6787
			9,9923	9,4996				
			9,7921	9,2070				
			9,7228	9,5842				
			9,9461	9,3687				
			10,0230	9,1993				



الشكل8: متوسط محتوى عينات المنتج A, B من ملون الـ Sunset Yellow(mg/L) المحددة بالطريقة الطيفية بعد الاستخلاص بالصوف

الجدول12: محتوى عينات المنتج A, B من Sunset Yellow المحدد بالطريقة الطيفية بعد الاستخلاص بالصوف

Soft drink product	Labeled Colorantes	Determined Colorants	Concentration mg/L		Mean Concentration mg/L		RSD%	
			Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
A	Sunset yellow	Sunset yellow	19,1993	18,0754	18,9607	17,5493	3,5647	2,0889
			19,3456	17,7213				
			19,0531	17,5365				
			19,8460	17,6366				
			18,2140	17,3364				
			18,1062	16,9899				
B	Sunset yellow	Sunset yellow	11,6012	11,2779	11,8218	11,3202	2,8718	3,0485
			11,9630	11,0007				
			12,1632	11,9861				
			11,5550	11,1162				
			12,2247	11,2394				
			11,4241	11,3010				

إن ملون الـ Sunset yellow كان الملون الوحيد المسموح المضاف إلى العينات مثل ما هو مذكور على بطاقة بيان المنتج، وبتراكيز كانت أقل من الحدود القصوى المسموحة له في المواصفات القياسية السورية (100 mg/L) والعالمية، علماً أن قيم التراكيز في طريقة الاستخلاص بالصوف كانت أكبر مما هي عليه عند الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي.

2.3.4. تحديد مزائج الملونات في المنتج C, D بالعمود الكروماتوغرافي

تم حساب النسبة المئوية للاسترداد لطريقة العمود الكروماتوغرافي بالنسبة لمزائج الملونات، حيث تم تحضير محلول عياري من الـ Sunset yellow بتركيز 2,5 mg/100ml امتصاصيته 0,3091. ومحلول عياري من الـ Tartrazine تركيزه 2,5 mg/100ml امتصاصيته 0,3008. تم مزج حجوم من المحلولين السابقين ثم أضيف 5 مل من المزيج (وليكن المزيج *C) إلى العمود الكروماتوغرافي ثم طبق الطور المتحرك وتم الحصول على المتحللات ثم حساب تراكيزها والنسبة المئوية لاسترداد كل منها، كما تم تحضير محلول عياري لـBrilliant Blue FCF بتركيز 1,5 µg/ml امتصاصيته 0,2572 تم مزج حجم من هذا المحلول مع حجم من محلول عياري للترترازين تركيزه 2,5 mg/100ml امتصاصيته 0,3006. وأضيف 5 مل من المزيج (وليكن المزيج *D) إلى العمود الكروماتوغرافي ثم طبق الطور المتحرك وتم الحصول

على المتحللات ثم حساب تراكيزها والنسبة المئوية لاسترداد كل منها فكانت النتائج موضحة كما في الجدول(13).

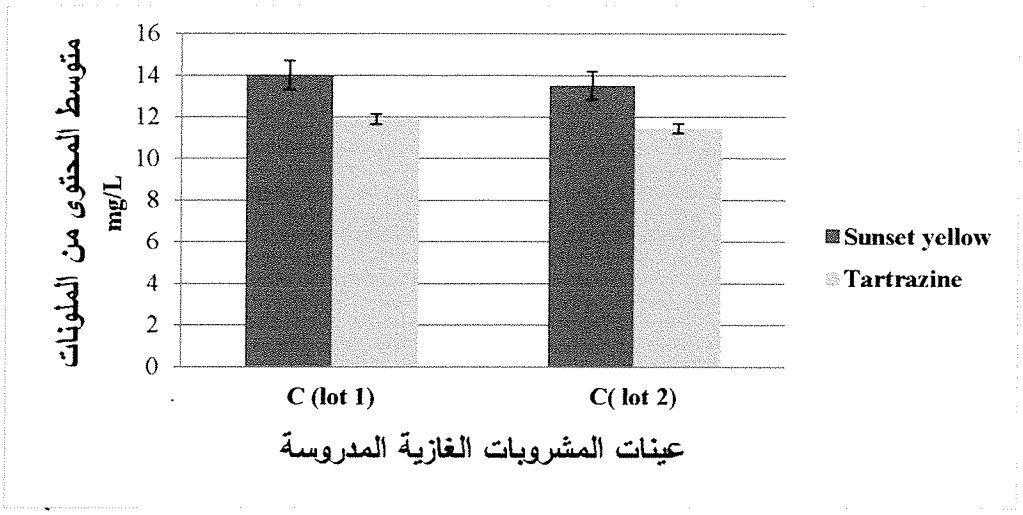
الجدول13: النسبة المئوية للاسترداد عند فصل مزيج الملونات بطريقة العمود الكروماتوغرافي

		العمود الكروماتوغرافي		العمود الكروماتوغرافي	
		المزيج *C		المزيج *D	
		Sunset yellow التركيز mg/100ml	Tartrazine التركيز mg/100ml	Brilliant Blue FCF التركيز µg/ml	Tartrazine التركيز mg/100ml
القياس	القياس الأول	2,3156	2,1976	1,3964	2,2886
	القياس الثاني	2,3533	2,2909	1,3218	2,3035
	القياس الثالث	2,2994	2,2979	1,3563	2,2070
المتوسط الحسابي X		2,3227	2,2619	1,3581	2,2663
الانحراف المعياري S		0,0374	0,0547	0,036	0,0692
RSD%		1,6101	2,41	2,6507	3,0534
القيمة الحقيقية Xr		2,5	2,5	1,5	2,5
Recovery%		92,908	90,476	90,54	90,652

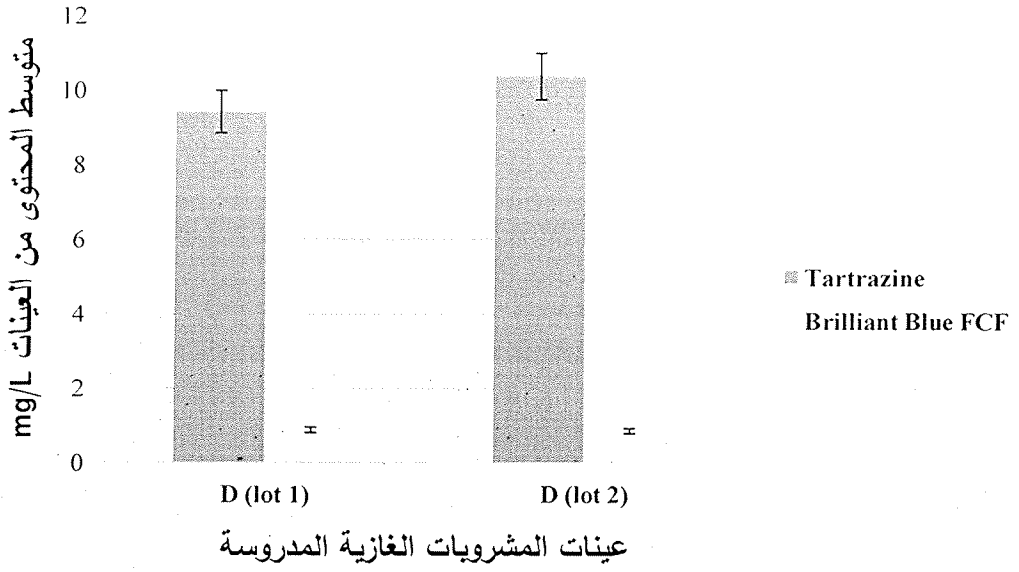
إن النسبة المئوية للاسترداد عند فصل مزيج المواد الملونة كانت أكبر من 90% وبقيم انحراف معياري نسبي أقل من 10%.

تم في البداية فصل مزيج المواد الملونة على العمود باستخدام طور متحرك من البوتانول والماء المقطر وحمض الخل الثلجي بنسبة (20:12:5) ، ثم شطفها باستخدام نفس الطور المتحرك. تم جمع ملونات الـ Sunset yellow والـ Tartrazine في عينات المنتج C كل على حدة، وملونات الـ Tartrazine والـ Brilliant Blue FCF في عينات المنتج D كل على حدة، الشكل(9) و(10). تم تبخير المحلات المستخدمة على حمام مائي حتى الحصول على رسابتين ملونتين، تم حل تلك الرسابات باستخدام مزيج من الميتانول والماء المقطر(v/v1:1) ومن ثم قياس امتصاصية كل مادة ملونة عند طول موجة الامتصاص الأعظمي لكل منها. تم القياس على ثلاثة مكررات من أجل جميع عينات المنتجات C, D. كانت التراكيز موضحة كما في الشكل (11) و(12) والجدول (14) و(15) بالنسبة للمنتج C, D.

الشكل9: يبين الملونات المفصولة في المنتجC الشكل10: يبين الملونات المفصولة في المنتج D



الشكل11: متوسط محتوى المنتج C من الملونات المحددة بطريقة العمود الكروماتوغرافي



الشكل12: متوسط محتوى المنتج D من الملونات المحددة بطريقة العمود الكروماتوغرافي

الجدول14: محتوى عينات المنتج C من مزيج الملونات بعد فصلها بطريقة العمود الكروماتوغرافي

Soft drink product	Labeled Colorants	Determined Colorants	Concentration mg/L		Concentration mg/L X		RSD%	
			Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
C	Sunset yellow	Sunset yellow	13,7644	13,6874	13,9786	13,4898	2,4852	2,3476
			13,9414	13,6566				
			13,6874	13,4719				
			14,2802	13,8722				
			13,6797	13,0177				
			14,5188	\13,2332				
	Tartrazine	Tartrazine	12,1490	11,3725	11,8548	11,4287	2,6866	3,8762
			11,9843	11,2862				
			11,9058	11,0431				
			11,6784	11,8352				
			11,3019	10,9568				
			12,1098	12,0774				

الجدول15: محتوى عينات المنتج D من مزيج الملونات بعد فصلها بطريقة العمود الكروماتوغرافي

Soft drink product	Labeled Colorants	Determined Colorants	Concentration mg/L		Concentration mg/L X		RSD%	
			Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
D	Tartrazine	Tartrazine	9,4509	10,0156	9,4300	10,3908	4,2269	2,4069
			9,0823	10,2117				
			8,8470	10,4				
			9,7098	10,6039				
			9,9137	10,4156				
			9,5764	10,6980				
	Brilliant Blue FCF	Brilliant Blue FCF	0,8817	0,8693	0,8964	0,8790	3,3467	3,2081
			0,8959	0,8998				
			0,9202	0,8817				
			0,9292	0,9230				
			0,8421	0,8614				
			0,9095	0,8993				

عند مقارنة أطياف المتحللات مع أطياف الملونات العيارية تبين أن المنتجات C, D احتوت على الملونات المسموحة المذكورة على بطاقة بيان المنتج وبتراكيز كانت أقل من الحدود القصوى المسموحة في المواصفات القياسية السورية والعالمية.

3.3.4. تحديد مزائج الملونات في المنتج C, D بطريقة الـ TLC

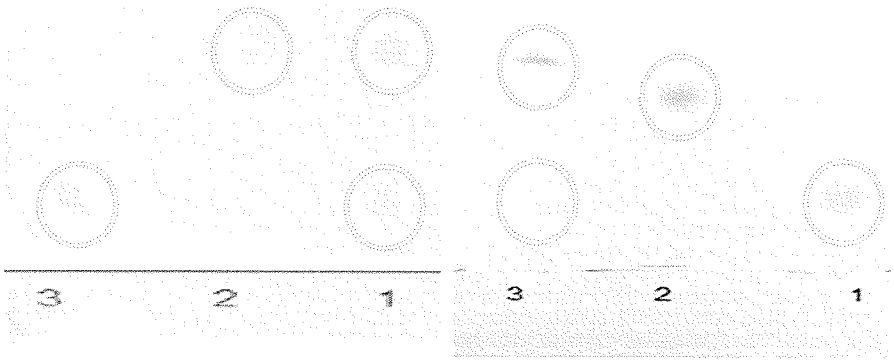
تم حساب النسبة المئوية للاسترداد لطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بالنسبة لمزائج الملونات. حيث تم تحضير محلول عياري من الـ Sunset yellow بتركيز 2,5 mg/100ml امتصاصيته 0,3091. ومحلول عياري من الـ Tartrazine تركيزه 2,5 mg/100ml امتصاصيته 0,3010. تم مزج حجوم من المحلولين السابقين ثم أضيف 5 مل من المزيج (وليكن المزيج **C) إلى الطبقة الرقيقة ثم طبق الطور المتحرك وتم الحصول على المتحللات ثم حساب تراكيزها والنسبة المئوية لاسترداد كل منها. كما تم تحضير محلول عياري لـBrilliant Blue FCF بتركيز 1,5 µg/ml امتصاصيته 0,2573 تم مزج حجم من هذا المحلول مع حجم من محلول عياري للترترازين تركيزه 2,5 mg/100ml امتصاصيته 0,3012، وأضيف 5 مل من المزيج (وليكن المزيج **D) إلى الطبقة الرقيقة ثم طبق الطور المتحرك وتم الحصول على المتحللات ثم قمنا بحساب تراكيزها والنسبة المئوية لاسترداد كل منها فكانت النتائج موضحة كما في الجدول(16).

الجدول16: النسبة المئوية للاسترداد عند فصل مزيج الملونات بطريقة الـ TLC

		TLC		TLC	
		المزيج **C		المزيج **D	
		Sunset yellow التركيز mg/100ml	Tartrazine التركيز mg/100ml	Brilliant Blue FCF التركيز µg/ml	Tartrazine التركيز mg/100ml
القياس	القياس الأول	2,3382	2,3903	1,3979	2,3779
	القياس الثاني	2,3333	2,3355	1,3490	2,2717
	القياس الثالث	2,3997	2,3164	1,4049	2,3165
المتوسط الحسابي X		2,3570	2,3474	1,3839	2,3220
الانحراف المعياري S		0,0346	0,0374	0,0282	0,0529
RSD%		1,4679	1,5932	2,0377	2,2782
القيمة الحقيقية Xr		2,5	2,5	1,5	2,5
Recovery%		94,28	93,896	92,26	92,88

إن النسبة المئوية للاسترداد عند فصل مزيج المواد الملونة كانت أكبر من 90% وبقيم انحراف معياري نسبي أقل من 10%. عند مقارنة النسبة المئوية للاسترداد والانحراف المعياري النسبي في طريقتي العمودالكروماتوغرافي والـ TLC تبين أن الأخيرة كانت بنسبة استرداد أكبر كما أنها كانت طريقة أكثر دقة.

تم إجراء هذا الاختبار على جميع عينات المشروبات الغازية لمنتجات C, D المشمولة بالبحث، حيث تم في البداية استخلاص المواد الملونة من العينات بطريقة العمود الكروماتوغرافي، وبعد الحصول على الرسابة الملونة تم تطبيق قطرات منها باستخدام الأنابيب الشعرية على صفائح السليكاجيل وباستخدام البوتانول والماء المقطر وحمض الخل الثلجي (20:12:5) كطور متحرك. تمت عملية الفصل الكامل للملونات خلال ساعة من الزمن، ثم تمت مقارنة قيم الـ Rf لبقع الملونات الموجودة في العينات مع بقع الملونات العيارية فكانت كما في الشكل(13)و(14) والجدول(17)، تمت بعدها عملية مقارنة أطياف المتحللات مع أطياف الملونات العيارية بعد اقتصاص بقع الملونات المفصولة، الشكل(15).

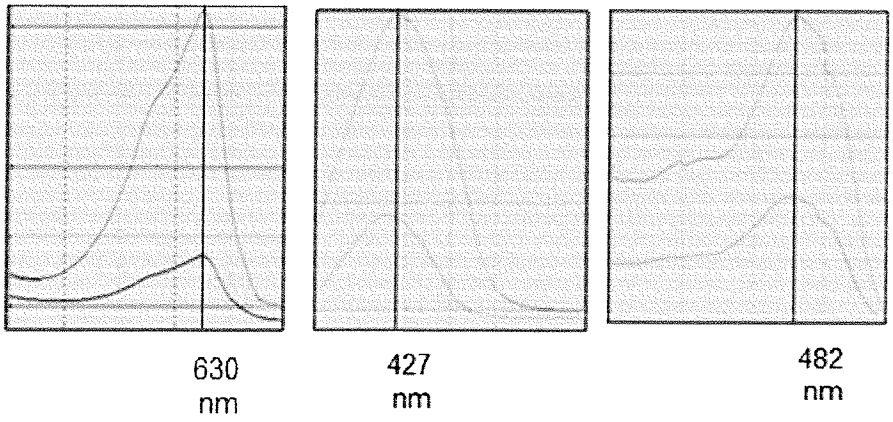


الشكل13: كروماتوغرام الملونات المفصولة في المنتج C (كشف كيفي)، 1.بقعة الـ Tartrazine العياري، 2.بقعة الـ Sunset yellow العياري، 3.(إلى الأسفل) بقعة الـ Tartrazine المفصولة في العينة، 3.(إلى الأعلى) بقعة الـ Sunset yellow المفصولة في العينة.

الشكل14: كروماتوغرام الملونات المفصولة في المنتج D (كشف كيفي)، 1.(في الأسفل) بقعة الـ Tartrazine المفصولة في العينة ، 1.(في الأعلى) بقعة الـ B.Blue المفصولة في العينة، 2. بقعة B.Blue العياري، 3. بقعة الـ Tartrazine العياري.

الجدول17: قيم الـ Rf للمواد الملونة في العينات مقارنة مع قيم الـ Rf للملونات العيارية

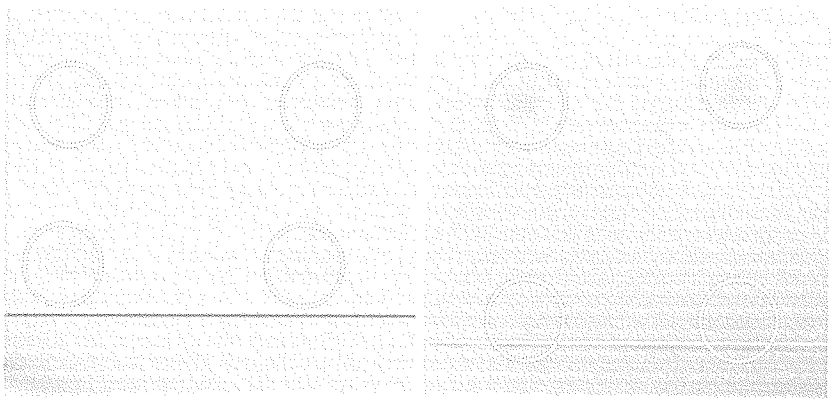
Soft drink Product	Labeled Colorants	Determined colorants	Determined Rf for samples colorants	Determined Rf for standard colorants
C	Sunset yellow	Sunset yellow	0,7692	0,7094
	Tartrazine	Tartrazine	0,4786	,0,4957
D	Tartrazine	Tartrazine	0,4552	0,4390
	B.Blue FCF	B.Blue FCF	0,8455	0.8292



الشكل15: طيف الملونات المضافة إلى العينات مقارنة مع طيف الملونات العيارية

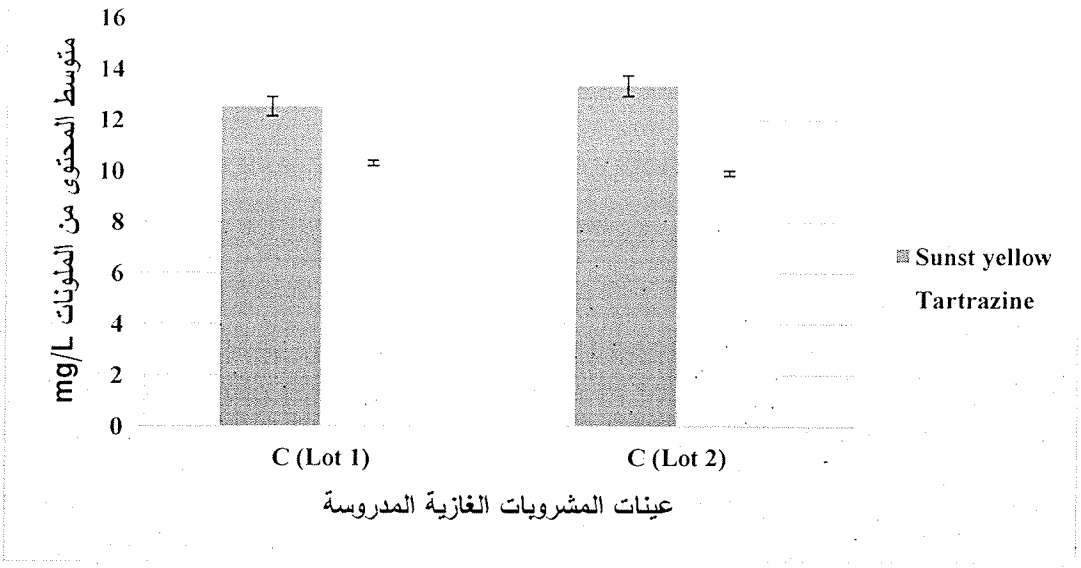
عند مقارنة قيم الـ Rf وطيف المواد الملونة ومقارنتها مع قيم الـ Rf وأطياف الملونات العيارية تبين أن عينات المنتج C المحلي لم تكن حاوية على أي ملونات اصطناعية ممنوعة بل كانت تحتوي على مزيج ملونين مسموحين هي ملونات الـ Tartrazine و Sunset yellow المذكورة على بطاقة البيان. عينات المنتج D المحلي لم تكن حاوية على أي ملونات اصطناعية ممنوعة بل كانت تحتوي على مزيج ملونين مسموحين هي ملونات الـ Tartrazine و Brilliant Blue FCF.

من أجل التحديد الكمي تم اقتصاص البقع الملونة الشكل(16)و(17) وحلها بمزيج الميتانول والماءالمقطر (v/v 1:1) ثم قياس امتصاصيتها على جهاز السبيكتروفوتوميتر عند طول موجة الامتصاص الأعظمي الخاص بكل مادة ملونة. تم القياس على ثلاثة مكررات من أجل جميع عينات المنتج C, D. فكانت النتائج كما في الشكل(18) الجدول(18) بالنسبة للمنتج C. والشكل(19) والجدول(19) بالنسبة للمنتج D.



الشكل16: كروماتوغرام الملونات المفصولة في المنتج C (كشف كمي)، إلى الأسفل بقع الـ Tartrazine وإلى الأعلى بقع الـ Sunset yellow المفصولة في العينة (حجم البقعة 10 µL).

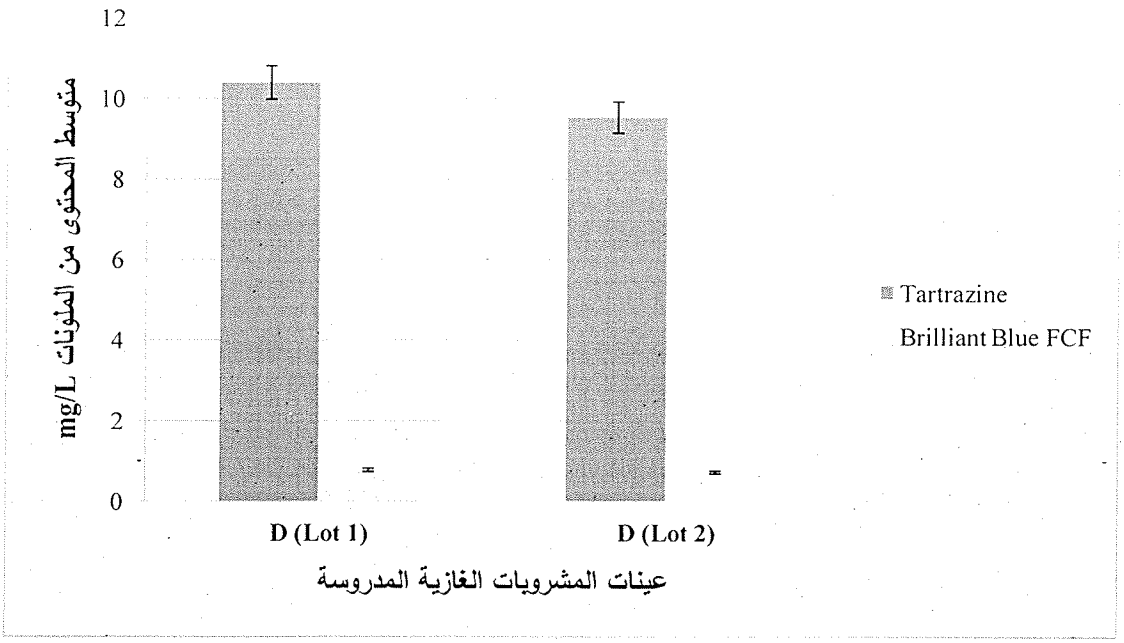
الشكل17: كروماتوغرام الملونات المفصولة في المنتج D (كشف كمي)، إلى الأسفل بقع الـ Tartrazine وإلى الأعلى بقع الـ B.Blue في العينة (حجم البقعة 10 µL).



الشكل18: محتوى المنتج C من الملونات الاصطناعية بعد فصلها بطريقة الـ TLC

الجدول18: محتوى عينات المنتج C من الملونات الاصطناعية المحددة بطريقة الـ TLC

Soft drink product	Labeled Colorants	Determined Colorants	Concentration mg/L		Mean Concentration mg/L		RSD%	
			Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
C	Sunset yellow	Sunset yellow	12,5040	13,5679	12,5323	13,3481	1,9796	2,1785
			12,3501	12,9611				
			12,5526	13,2119				
			12,8522	13,5517				
			12,6336	13,6812				
			12,3015	13,1148				
	Tartrazine	Tartrazine	10,2936	9,9601	10,3198	9,9269	2,4196	2,5949
			10,1443	10,0431				
			10,3682	9,9435				
			10,6751	9,7360				
			9,9618	9,5451				
			10,4761	10,3336				



الشكل19: محتوى المنتج D من الملونات الاصطناعية بعد فصلها بطريقة الـ TLC

الجدول19: محتوى عينات المنتج D من الملونات الاصطناعية المحددة بطريقة الـTLC

Soft drink product	Labeled Colorants	Determined Colorants	Concentration mg/L		Mean Concentration mg/L		RSD%	
			Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
D	Tartrazine	Tartrazine	10,0996	9.6160	10,4041	9,5425	2,2654	2,2352
			10,3405	9,3668				
			10,5481	9,8653				
			10,2657	9,6409				
			10,7807	9,2669				
			10,3303	9,4996				
	Brilliant Blue FCF	Brilliant Blue FCF	0,7891	0,7634	0,7866	0,734	2,1993	2,3569
			0,7710	0,7097				
			0,7640	0,7313				
			0,8019	0,7365				
			0,8118	0,7511				
			0,7821	0,7120				

إن المنتجات C, D احتوت على الملونات المسموحة المذكورة على بطاقة بيان المنتج وبتراكيز كانت أقل من الحدود القصوى المسموحة في المواصفات القياسية السورية والعالمية.

إن نتائج تراكيز الملونات الاصطناعية في عينات المنتج A, B, C, D كانت أكبر مما هي عليه نظراً لأن معامل الاسترداد لطرق الاستخلاص بالصوف أو العمود الكروماتوغرافي أو كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة كانت أكبر من 90%.

إن النتائج التي خلصت إليها هذه الدراسة كانت متوافقة مع نتائج الكثير من الدراسات التي تناولت موضوع الملونات الاصطناعية في العينات الغذائية السائلة. فالملونات الاصطناعية كانت ملونات مسموحة كما في بعض الدراسات(Tripathi,2004; Minioti,2007)، ومضافة إلى العينات بتراكيز دون الحدود القصوى المسموحة كما في بعض الدراسات الأخرى(Ma,2006; Hajimahmoodi,2013). إن ملونات الـ Sunset yellow, Tartrazine المضافة بشكل مزيج تم تحديدها بتراكيز متوافقة مع نتائج دراسة للباحث(Diacu and Ene,2009). كما أن ملونات الـ Tartrazine, Brilliant Blueالمضافة بشكل مزيج تم تحديدها أيضاً بتراكيز متوافقة مع نتائج دراسة للباحث(Antakli, 2015).

تمت مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسة مع المواصفات القياسية السورية وبعض المواصفات العالمية، كما في الجدول (20).

الجدول20: محتوى العينات المدروسة من الملونات الاصطناعية ومقارنتها مع المواصفات السورية والعالمية.

Soft drink product	Analysis method		Range of permitted colours ppm			GMP ppm UK	GMP ppm USA	Permitted Level ppm Australia	Permitted Level ppm India	Permitted level ppm Syria
			E110	E102	E133					
A	Spectrophotometric method	Column Chromatography	16,2104	-	-	1-20	5-200	70	100	100
		Wool dying	18,255	-	-					
B	Spectrophotometric method	Column Chromatography	9,6272	-	-					
		Wool dying	11,571	-	-					
C	Spectrophotometric method	Column Chromatography	13,7342	11,6417	-					
	Spectrophotometric method	Thin layer Chromatography	12,9402	10,1233	-					
D	Spectrophotometric method	Column Chromatography	-	9,9104	0,8877					
	Spectrophotometric method	Thin layer Chromatography	-	9,9733	0,7603					

يتبن من الجدول أن كل الملونات المضافة إما بشكل مفرد أو بشكل مزيج إلى عينات المشروبات الغازية المدروسة كانت متوافقة مع المواصفات القياسية السورية والعالمية. وعلى هذا الأساس تم اعتبار جميع العينات آمنة وصالحة للاستهلاك.

الاستنتاجات

Conclusions

- تم في هذه الدراسة مراقبة بعض الملونات الاصطناعية المضافة إلى عينات لمشروبات غازية متوفرة تجارياً في السوق المحلية. تناولت هذه الدراسة موضوع المراقبة من خلال التحديد الكيفي عن وجود المواد الملونة الاصطناعية الممنوعة والمسموحة، ومن ثم التحديد الكمي للملونات المضافة باستخدام عدة طرائق تحليلية.
- تم تحديد المحتوى الكلي من الملونات المضافة بالطريقة الوزنية وكان متوسط تراكيزها mg/kg كما يلي:

  المنتج (A) 106,6 للطبخة الأولى، 116,6 للطبخة الثانية.

  المنتج (B) 109 للطبخة الأولى، 116,6 للطبخة الثانية.

  المنتج (C) 89,3 للطبخة الأولى، 93,3 للطبخة الثانية.

  المنتج(D) 88,6 للطبخة الأولى، 92,3 للطبخة الثانية.
- تم تحديد المحتوى الكلي من الملونات المضافة بطريقة كيلداهل وكان متوسط تراكيزها mg/kg كما يلي:

  المنتج (A) 101,7342 للطبخة الأولى، 94,1984 للطبخة الثانية.

  المنتج (B) 94,1984 للطبخة الأولى، 90,4304 للطبخة الثانية.

  المنتج (C) 68,8314 للطبخة الأولى، 66,1840 للطبخة الثانية.

  المنتج (D) 94,7831 للطبخة الأولى، 87,2004 للطبخة الثانية.
- تمت دراسة الملونات كيفياً وكمياً في عينات المنتج A المحلي والمنتج B المستورد بطبختين متتاليتين باستخدام طريقة الفصل على العمود الكروماتوغرافي والادمصاص على الخيط الصوفي. تبين بعد عملية الفصل وقياس الامتصاصية أن الملونات المضافة كانت عبارة عن ملون وحيد هو الـ Sunset yellow مثل ما هو مذكور على بطاقة بيان المنتج، وأن تراكيز هذا الملون كانت ضمن مجال الحدود المسموحة له في المواصفات السورية القياسية والعالمية. كانت التراكيز (mg/L) بالنسبة للمنتج A 16,2457 و 16,1752 محددة بطريقة العمود الكروماتوغرافي للطبختين الأولى والثانية على الترتيب. 18,9607 و 17,5493 محددة بطريقة الخيط الصوفي للطبختين الأولى والثانية على الترتيب. أما التراكيز في المنتج B كانت 9,8960 و 9,3584 محددة

بطريقة العمود الكروماتوغرافي للطبختين الأولى والثانية على الترتيب. 11,8218 و 11,3202 محددة بطريقة الخيط الصوفي للطبختين الأولى والثانية على الترتيب.

- إن النسبة المئوية للاسترداد في طريقة الفصل على العمود الكروماتوغرافي كانت أقل مما هي عليه في طريقة الخيط الصوفي، علماً أن كلتا النسبتين كانت ضمن المجال المقبول(90-110%).
- تم تحديد ذاتية الملونات المضافة على شكل مزائج باستخدام طريقة العمود الكروماتوغرافي. فبعد عملية الفصل يتم تحديد الذاتية من خلال طيف الامتصاصية المميز لكل مادة، وتم التأكد من أن المواد الملونة كانت ملونات مسموحة ومضافة إلى العينات مثل ما هي مذكورة على بطاقة بيان المنتج. باستخدام طريقة العمود الكروماتوغرافي تم تحديد تراكيز (mg/L) الملونات الاصطناعية في عينات المنتج C والمنتج D ، فكانت في المنتج (C) 13,9786 و 13,4898 لملون الـ Sunset yellow في الطبختين الأولى والثانية على الترتيب، 11,8548 و11,4287 لملون الـ Tartrazine في الطبختين الأولى والثانية على الترتيب. أما في المنتج (D) فكانت التراكيز 9,4300 و 10,3908لملون الـ Tartrazine في الطبختين الأولى والثانية على الترتيب، 0,8964 و 0,8790لملون الـ Brilliant Blue FCF في الطبختين الأولى والثانية على الترتيب.
- تم تحديد ذاتية الملونات المضافة على شكل مزائج بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة. من خلال مقارنة قيم الـ Rf لبقع المواد الملونة في العينات المدروسة مع قيم الـ Rf لبقع الملونات العيارية وتم التأكد من أنها نفس الملونات المسموحة والمذكورة على بطاقة البيان. ثم تم الانتقال إلى مرحلة تحديد تراكيز الملونات الاصطناعية (mg/L) فكانت في المنتج (C) 12,5323 و 13,3418 لملون الـ Sunset yellow في الطبختين الأولى والثانية على الترتيب، 10,3198 و 9,9269لملون الـ Tartrazine في الطبختين الأولى والثانية على الترتيب. أما في المنتج (D) فكانت التراكيز 10,4041 و 9,5425 لملون الـ Tartrazine في الطبختين الأولى والثانية على الترتيب، 0,7866 و 0,734 لملون الـ Brilliant Blue FCF في الطبختين الأولى والثانية على الترتيب.
- إن نتائج قياس المحتوى الكلي من الملونات بالطريقة الوزنية وطريقة كيلداهل وعند مقارنتها مع نتائج الطريقة الطيفية(بعد الاستخلاص بالعمود الكروماتوغرافي و الـ TLC) تبين أنها كانت غير حساسة لقياس المواد الملونة الاصطناعية عندما تضاف إلى العينات بكميات قليلة.
- تم اعتبار جميع العينات آمنة وصالحة للاستهلاك؛ إذ أنها كانت تحتوي على ملونات اصطناعية مسموحة وبتراكيز أقل من الحدود المسموحة في المواصفات القياسية السورية والعالمية.

التوصيات

Recommendations

خلص هذا البحث لمجموعة من المقترحات والتوصيات هي:

- متابعة الدراسة في مراقبة الملونات الاصطناعية المضافة إلى مختلف أصناف المنتجات الغذائية السائلة والصلبة وبشكل خاص أغذية الأطفال المتوفرة في السوق المحلية.
- التأكد من تطبيق التشريعات والقوانين الناظمة لجودة الأغذية في السوق المحلية وفق ما تتطلبه المواصفات القياسية السورية.
- توعية المواطنين للمخاطر الصحية التي قد تنجم عن الاستهلاك الزائد للملونات الاصطناعية.

المراجع

References

- Akacy. O., Sable. P., Dalgin. MH. The importance of color in product choice among young Hispanic, Caucasian and African-American groups in the USA. International Journal of Business and Social Science Vol. 3 No. 6; [Special Issue -March 2012].
- Alves. P. S., Brum. M. D., Branco de Andrade. C. E., Pereira Netto. D. A. *Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection*. Food Chemistry 107 (2008) 489–496.
- AOAC International, *Official Methods of Analysis*, 17th edition, Current through revision,1, 2002.
- Babu, S. and Shenoliker, I. S. 1995. *"Health and nutritional implications of food colours." Ind. J. Med. Res.* 102: 245-249.
- Botek. P. Poutsca. J., Hajslova. J. *Determination of Banned Dyes in Spices by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*. Czech J. Food Sci. Vol. 25, No. 1: 17–24, 2007.
- Cady. SS. *Visible spectrophotometry analysis of a food dye in a commercial beverage: skill building lab*. 2013.
- Chanlon. S., Joly-Pottuz. L., Chatelut. M., Vittori. O., Cretier. JL. *Determination of Carmoisin, Allura red and Ponceau 4R in sweets and soft drinks by differential pulse polarography*. Journal of food composition and analysis. Vol 18, Issue 6, September 2005, Pages 503-515.
- Codex General Standard For Food Additives, Codex Stan 192-1995.
- Culzoni. MJ., Schenone. AV., Liamas. NE., Garrido. M., Di Nezio. MS., Fernandes Band. BS., Goicoechea. HC. *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. Vol 1216, Issue 42, 16 October 2009, Pages 7063-7070.
- Diacu. E., Ene. CE. *Simultaneous Determination of Tartrazine and Sunset Yellow in Soft Drinks by Liquid Chromatography*. REV. CHIM. (Bucuresti), 60, Nr 8, 2009.
- European Food Safty Authority (EFSA). *Scientific Opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive*. EFSA Journal 2009; 7(11):1330.
- EL-Faki. AE., Eisa. ES. *Physico-Chemical Characteristics of Some Soft Drinks of Sudan During Shelf Life*. Journal of Science and Technology 11 (2) March 2010.
- EL-Shahawi. MS., Hamza. A., AL-Sibaai. AA., Bashammakh. AS., AL-Saidi. HM. *A new method for analysis of Sunset yellow in food samples based on cloud point extraction prior to spectrophotometric determination.* Journal of industrial and engineering chemistry. Vol 19, Issue 2, 25 march 2013, Pages 529-535.
- EL_Sheikh. H.A., AL_Deges. S. Y. *Spectrophotometric determination of food dyes in soft drinks by second order multivariate calibration of the absorbance spectra-pH data matrices*. Dyes and Pigments 97 (2013) 330-339.
- EL_Wahab. HM., Moram. GS. *Toxic effects of some synthetic colorants and/or flavor additives on male rats*. Toxicol Ind Health. 2013 Mar;29(2):224-32.
- Ergene. A., Ada. K., Tan. S., Katirciolu. H, *"Removal of Remazol Brilliant Blue R dye from aqueous solutions by adsorption onto immobilized Scenedesmus quadricauda: equilibrium and kinetic modeling studies," Desalination*, vol. 249, no. 3, pp.1308–1314, 2009.
- European food safty authority (EFSA). *Scientific Opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive*. EFSA Journal 2009; 7(11):1330.

- Evans. R. *Survey of colours in soft drinks*. Food standards agency, No37/03, May 2003.
- Farzianpour. F., Khaniki. J. H., Younesian. M., Ghahferkhi. B.B., Sadeghi. M., Hosseini. S. *Evaluation of food color consumption and determinating color type by thin layer chromatography*. American Journal of Applied Sciences, 10 (2): 172-178, 2013.
- FDA/CFSAN. *Background Document for the Food Advisory Committee: Certified Color Additives in Food and Possible Association with Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Children*. March 30-31, 2011 Food Advisory Committee.
- FI, 2010. Food ingredients and colors. Food Insight.
- Food standards agency. *Guidelines on approaches to the replacement of Tartrazine, Allura Red, Ponceau 4R, Quinoline Yellow, Sunset Yellow and Carmoisine in food and beverages*, March 2011.
- Garber. L.L., Hyatt. E.M., Starr. R.G., *The effect of food color on perceived flavor*. Journal of mareting Theory and Practice, Fall 2000.
- Ghoreishi. SM., Behpour. M., Golestaneh. M. *Simultaneuos determination of Sunset yellow and Tartrazine in soft drinks using gold nanoparticles carbon paste electrode*. Food Chemisrty. Vol 132, Issue 1, 1 May 2012, Pages 637-641.
- Giovine.DL., Bocca. PA. *Determination of synthetic dyes in ice-cream by capiilary electrophoresis*. Food Control. Vol 14, Issue 3, Aprill 2003, Pages 131-135.
- Griffiths. JC. *Coloring food and beverages*. Food technology. May 2005. Vol. 59, No.5.
- Hajimahmoodi. M., Afshariamanesh. M., Moghaddam. G., Sadeghi. N., Oveisi.MR., Jannat. B., Pirhadi. E., Zamani Mazdeh. F., Kanan. H. *Determination of eight synthetic dyes in food stuffs by green liquid chromatograph*. Food addit contam part A, Chem anal control expo risk assess. 2013;30(5):780-5.
- Huang. Y. H., Shih. C. Y., Chen. C. Y. *Determining eight colorants in milk beverages by capillaryelectrophoresis*. Journal of Chromatography A, 959 (2002) 317–325.
- International food information council(IFIC) foundation, US food and drug administration(FDA). *Food ingredients and colors*, 2010.
- Jonnalagadda, P. R., Rao, P., Bhat, R. V., & Naidu, A. N. (2004). *Type, extent and use of colours in ready-to-eat (RTE) foods prepared in thenon-industrial sector: A case study from Hyderabad, India*. InternationalJournal of Food Science and Technology, 39, 125–131.
- Kaur. A., Gumpta. U. *The review on spectrophotometric determination of synthetic food dyes and lakes*, 25(3):579-588 (2012).
- Khodjaeva. U., Bojnanska. T., Vietoris. V., Sytar. O., Singh. R. *Food additives as important part of functional food*. International research Journal of biological sciences. Vol.2(4), 74-86, April(2013).
- Kiseleva. MG., Pimenova. VV., Eller. KI. *Optimization of Conditions for the HPLC Determination of Synthetic Dyes in Food*. Journal of Analytical Chemistry, Vol. 58, No. 7, 2003, pp. 685–690. Translated from Zhurnal Analiticheskoi Khimii, Vol. 58, No. 7, 2003, pp. 766–772.
- Lee. YM., Na. BJ., Lee. YS., Kim. SC., Lee. DH., Seo. IW., Choi. SH., Ha. SD. *Monitoring of Tar Color Content in Children's snack and Its Exposure Assessment*. Journal of food hygiene and safty, March 2011.
- Li. R., Jiang. ZT., Liu YH. *Direct Solid-phase Spectrophotometric Determination of Tartrazine in Soft Drinks Using β-Cyclodextrin Polymer as Support*. Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 16, No. 5, 2008, Pages 91-96.
- Liamas. NE., Garrido M., Di Nezio. MS., Fernandez Band. *Second order advantage in the determination of Amaranth, Sunset yellow FCF and Tartrazine by UV-vis and*

multivariate curve resolution-alternating least squares. Analytica chemical acta. Vol 665, Issues 1-2, 23 November 2009, Pages 38-42.

- Lim. T. B. *Synthetic colours in some locally available foods*. MARDI Res. Bull., (1987) 15, 1 (31-35).
- Ma. M., Luo. X., Chen. B., Su. S., Yao. S. *Simultaneous determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in food stuff by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray mass spectrometry*. Journal of chromatograph A, 1103 (2006) 170–176.
- Manual of methods of analysis of foods, Food additives. Food safty and standards authority of India, Ministy of health and famly welfare, Government of india, New Delhi. 2012.
- Marutoiu. F. O.,Gogoasa.. I., Marutoiu. C., Tofana. M., Moigradean. D., Gregen. I. *Separation and identification of some synthetic food colorants from foods through thin-layer chromatography-'' UV-VIS'' spectrometry*. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies 2011, *17*(1), 46-53.
- Medeiros. RA., Lourencao. BC., Rocha-Filho. RC., Fatibello-Filho. O. *Simultaneous voltammetric determination of synthetic dyes colorants in food using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode*. Talanta. Vol 97, 15 August 2012, Pages 291-297.
- Minioti. S. K., Sakellariou. F. C., Thomaidis.S. N. *Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foodsby reversed-phase highperformance liquid chromatographycoupled with diode-array detector*. Analytica Chimica Acta 583 (2007) 103–110.
- Mustafa. S., Nasir. N., Mahmood. T., Mahmood. I. *Spectrophotometric Determination of Sudan I-IV Dyes in Selected Chili Samples: A Survey of Karachi City, Pakistan*. European academic research, Vol. I., Issue 6/ September 2013
- Naidu. M. M., Sowbhagya. B. H. *Technological advances in food colours*. Chemical industry digest, March 2012.
- Nielsen. SJ., Popkin. BM. *Changes in Beverage Intake Between 1977 and 2001*. American Journal of Preventive Medicine, 2004;27(3):205–210.
- Pedjie. N. *Analysis of Color Additives in Beverages with the PerkinElmer Flexar FX-15 System Equipped with aPDA Detector*. PerkinElmer,Inc. 2012.
- Robinson. T., McMullan. G., Marchant. R., Nigam. P. *"Remediationof dyes in textile effluent: a critical review on currenttreatment technologies with a proposed alternative," BioresourceTechnology*, vol. 77, no. 3, pp. 247–255, 2001.
- Saeed. SM., Abdullah. SU., Sayeed. SA., Ali. R. *Food Protein: Food Colour Interactions and its Application in Rapid Protein Assay*. Czech J. Food Sci. Vol. 28, 2010, No. 6: 506–513.
- Sahraei. R., Farmany. A., Mortazavi. SS. *A nanosilver-based spectrophotometry method for sensitive determination of Tartrazine in food samples*. Food Chem. 2013 June 1, 138(2-3): 1239-42.
- Saleem. N. Umar. N. Z.,Khan. I. S. *Survey on the use of synthetic foogd colors in food samples procured from different educational institutes of Karachi city*. The Journal of tropical life science, Vol. 3, No. 1, pp. 1-7, January, 2013.
- Sawaya. W., Husain. A., AL_Otaibi. J., AL_Foudari. M., Hajji. A. *Colour additive levels in food stuffs commonly consumed by children in Kuwait*. Food control, 19 (2008) 98–105.
- Sayar. S. Ozdemir. Y. *Determination of Ponceau 4R and Tartrazine in various food samples by derivative spectrophotometric methods*. Tr. J. of chemistry, 21 (1997), 182-187 .

- Scotter. MJ. *Methods for determination of EU-prmitted added natural colours in foods: a review*. Journal of food additives and contaminants, 2011.
- Senackerib. JF. *Color Additives for Foods, Drugs, and Cosmetics*. Colorants for Non-Textile Applications. 2000 Elsevier Science.
- Shiri. S., Khezeli. T., Lotfi. S., Shiri. S. *Aqueous Two-Phase Systems: A New Approach for the Determination of Brilliant Blue FCF in Water and Food Samples*. Journal of Chemistry. Volume 2013, Article ID 236196, 6 pages.
- Smith. J., Hong-shum, L. *Food additives data book*. Blackwell science Ltd, 2002.
- Soponar. F., Mot. AC., Sarbu. C. *Quantitative determination of some food dyes using digital processing of images obtained by thin-layer chromatography*. Journal of Chromatography A, 1188 (2008) 295–300.
- Sorouraddin MH., Rostami. A., Saadati M. *"A simple and portable multi-colour light emitting diode based photocolourimeter for the analysis of mixtures of ve common food dyes," Food Chemistry*, vol. 127, no. 1, pp. 308–313, 2011.
- Stevens. L. J., Burgess. J. R., Stochelski. M. A., Kuczek. T. *Amounts of artificial food colors in commonly concumed beverages and potential behavioral implications for consumption in children*. 2013.
- Syrian arab organization for standarisation and metrology, SNS 47/1996, Non - Alcoholic - Carbonated beverages, Firsta rivew.
- Syrian National Standard, SNS 770:2011, Food additives-Food colorant, Part 1: General requirements.
- Syrian National Standard, SNS 770-2:2011, Food additives – Food colorants, Part two: Maximum limits.
- Tennant. DR. *Screening potential intakes of colour additives used in non-alcoholic beverages*. Food and Chemical Toxicology 46 (2008) 1985–1993.
- Trandafir. I., Nour. V., Ionica. E.M. *The liquid-chromatographic quantification of some synthetic colorants in soft drinks*. Scientific study and research, Vol. X(1). 2009.
- Tripathi. M., Khanna SK., Das. M. *Anovel method for the determination of synthetic colors in ice cream samples*. J AOAC Int. 2004 May-Jun: 87(3):657-63.
- Troiano. R., Piatti. L., Denoyer. E. *Increased Throughput for the Determination of Synthetic Dyes in Beverages Using HRes Fast-LC Technology*. Liqid chromatography, Application note. PerkinElmer,Inc. 2008.
- Vachirapatama. N., Mahajaroensiri. J., Visessanguan. W. *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, Vol. 16, No. 5, 2008, Pages 77-82.
- Von Elbe. JH., Schwartz SJ. *Colorantes*. Food chemistry, Third edition. 1996.
- Wall. PE. *Thin-layer (Planar) Chromatography*. Merck Limited. III/ Dyes, 2000.
- Yan. Q., Yang. L., Ma. X., Feng. H. *Simultaneous Determination of Six Food Additives in Drinks by High Performance Liquid Chromatography Coupled to Diode Array Detector Detection*. J. Chem. Soc. Pak., Vol. 35, No.4, 2013.
- Yang. X., Qin. H., Gao. H., Zhang. H. Simultanious detection of ponceat 4R and tartrazine in food using adsorptive stripping Voltammetry on an acetylene black nanoparticle-modified electrode. J Sci Food Agric. 2011 Dec;91(15):2821-5. doi: 10.1002/jsfa.4527. Epub 2011 Jul 1.
- Zatar NA. *Simultanious determination of seven synthetic water-soluble food colorants by ion–pair reversed-phase high- performance liquid chromatography*. Journal of food technology 5 (3): 220-224, 2007.

ISSN: 0975-8216

The Pharma Research

Publication Certificate

This certificate confirms that "**Daood Nizar**" affiliated to "**Department of Food Chemistry, college of Pharmacy, Tishreen University, Latakia, Syria**" has published manuscript titled "**Control of the synthetic colorants in carbonated soft drinks in the local market**".

Details of Published Article as follow

Volume	:	**11**
Issue	:	**1**
Year	:	**2015**
Page Number	:	**1-15**

Certificate No.: 4-9-9
Date: **16-Dec-2015**

Yours Sincerely,

Akhil Gupta

Akhil Gupta
Manager
The Pharma Research
E-mail: info@thepharmaresearch.info

The Pharma Research
Ghaziabad, Uttar Pradesh, India
Website: www.s-epub.in/ojs/

Gmail by Google

JEZS Books <zoology.journal@gmail.com>

Fwd: Scopus Search alert : the pharma research

1 message

Akhil Gupta <akhil686@gmail.com> Sun, Dec 27, 2015 at 5:28 PM
To: zoology.journal@gmail.com

---------- Forwarded message ----------
From: **T-ANU-J Mittal** <tanumittal8040@gmail.com>
Date: Sun, Dec 27, 2015 at 9:49 AM
Subject: Fwd: Scopus Search alert : the pharma research
To: akhil686@gmail.com

---------- Forwarded message ----------
From: <alert@scopus.com>
Date: 21 Jul 2013 15:51
Subject: Scopus Search alert : the pharma research
To: <tak2anuj@yahoo.co.in>
Cc:

SciVerse Scopus

Search Alert: 5 new results
Your search alert called "the pharma research" has found 5 new results on Scopus. | View all new results in Scopus

5 results

	Document	Author(s)	Date	Source Title	Citations
1.	Determination of total phenolic content of the stem bark of bauhinia variegata Linn.; an approach to standardization	Negi, A., Sharma, N., Pant, R., Singh, M.F.	2012	*Pharma Research*, 7 (2) pp. 16 - 22.	0
2.	Effect of process parameters on formulation of solid lipid nanoparticles of protease inhibitor, Atazanavir	Singh, B., Diwan, A.	2012	*Pharma Research*, 7 (2) pp. 1 - 15.	0
3.	Recent trends in formulation technology for mouth dissolving tablet: An overview	Ghodake, C.A., Rane, B.R., Gujarathi, N.A., Bakliwal, S.R., Pawar, S.P.	2012	*Pharma Research*, 7 (2) pp. 34 - 45.	0
4.	FLoating drug delivery system: An approach to oral controlled drug delivery	Mansi, S., Kumar, C.A., Kumar, S.U., Dayal, G.R., Ashwini, G., Prateek, S.	2012	*Pharma Research*, 7 (1) pp. 1 - 14.	0
5.	Formulation &evaluation of orodispersible tablets of diazepam	Gupta, A., Jain, A.K., Vikran, Patel, N.N., Parmar, J., Chaudhary, R.	2012	*Pharma Research*, 7 (2) pp. 23 - 33.	0

View all new results in Scopus

This alert is based on the following query: the pharma research AND (LIMIT-TO(EXACTSRCTITLE, "Pharma Research"))

Note: Results from CSA Illumina are not included in this e-mail alert. Your results list on Scopus for this e-mail alert can contain not only newly published documents, but also newly added archive material with an earlier publication date.

To manage your alerts, go to Alerts in Scopus. If this alert was set by someone else and you do not wish to receive it, please click here.
If you have questions about this or other features of Scopus,please visit our Info site.

This email has been sent to you by Scopus ®, a product of Elsevier B.V., Radarweg 29, 1043NX Amsterdam, The Netherlands, Tel.+31 20 485 3911.

Elsevier respects your privacy and does not disclose, rent or sell your personal information to any non-affiliated third parties without your consent, except as may be stated in the Scopus Online Privacy Policy . By using the Scopus alerts, you are agreeing to abide by the Scopus Terms and Conditions.

Copyright © 2013 Elsevier B.V. SciVerse® is a registered trademark of Elsevier Properties S.A., used under license. Scopus ® is a registered trademark of Elsevier B.V.

Delivery Job ID: 1996:019288139:22259:019694715 Webuser ID: 7561329

Gmail

JEZS Books <zoology.journal@gmail.com>

Fwd: the pharma research

1 message

Akhil Gupta <akhil686@gmail.com> Sun, Dec 27, 2015 at 5:28 PM
To: zoology.journal@gmail.com

---------- Forwarded message ----------
From: **T-ANU-J Mittal** <tanumittal8040@gmail.com>
Date: Sun, Dec 27, 2015 at 9:50 AM
Subject: Fwd: the pharma research
To: akhil686@gmail.com

---------- Forwarded message ----------
From: <alert@scopus.com>
Date: 17 Jul 2013 15:44
Subject: the pharma research
To: <tak2anuj@yahoo.co.in>
Cc:

SciVerse Scopus

Search alert
A new Search alert called **"the pharma research"** has been set up:
Your query : the pharma research AND (LIMIT-TO(EXACTSRCTITLE, "Pharma Research"))[ ]
View results in Scopus
Alert will check Every day for new results and send mail in HTML format. It is presently active.
The alerts will be sent to the following recipients:
- tak2anuj@yahoo.co.in

To manage your alerts, go to Alerts in Scopus.

This email has been sent to you by Scopus ®, a product of Elsevier B.V., Radarweg 29, 1043NX Amsterdam, The Netherlands, Tel.+31 20 485 3911.

Elsevier respects your privacy and does not disclose, rent or sell your personal information to any non-affiliated third parties without your consent, except as may be stated in the Online Privacy Policy . By using the Scopus alerts, you are agreeing to abide by the Terms and Conditions .

Copyright © 2013 Elsevier B.V. All rights reserved. SciVerse ® is a registered trademark of Elsevier Properties S.A., used under license. Scopus ® is a registered trademark of Elsevier B.V.

Sudarshan Publication

Available online at S-epub.in/ojs/

THE PHARMA RESEARCH
An International Journal of Pharmacy Research

CONTROL OF THE SYNTHETIC COLORANTS IN CARBONATED SOFT DRINKS IN THE LOCAL MARKET

Yassine Moufid [*1] and Daood Nizar [1]

1. **Department of Food Chemistry, college of Pharmacy, Tishreen University, Latakia, Syria**

ARTICLE INFO

Published on: 15-12-2015
ISSN: 0975-8216

Keywords:
Synthetic colorants; carbonated Soft drinks; fizzy drinks; Food control; Sunset Yellow; SY; Tartrazine; TAR; Brilliant Blue; BB.

Corresponding author:
Dr. Moufid Yassine
Professor
Department of Food Chemistry, college of Pharmacy, Tishreen University, Latakia, Syria

ABSTRACT

Synthetic colorants are commonly used in soft drinks. Since synthetic colorants can cause several adverse side effects, study and make them come under control is very important. Identification and quantification of three permitted synthetic colorants (Sunset Yellow, Tartrazine and Brilliant Blue FCF) and determination of any potential banned colorants in some soft drinks samples in the Syrian local market was carried out in this work. The results obtained showed that column chromatography, wool dyeing and thin layer chromatography (TLC) methods were precise to determine the synthetic colorants added either individually or in binary combination. The whole samples are considered to be safe for consumption since they were contained permitted colorants at a concentration lower than the max permitted level in Syrian standards.

INTRODUCTION

Food coloring, or color additive, is any dye, pigment or substance that imparts color when it is added to food or drink. They come in many forms consisting in liquids, powders, gels and pastes [1]. Artificial colors are added to food products that are aesthetically and psychologically attractive[2] to enhance their taste, to promote sales [3] to influence consumer purchasing decisions [4]and to provide color to colorless and "fun" foods [5]. People use color to identify a food and to predetermine its quality [6]. Synthetic colorants are a very important class of food additives. However some of these substances are potentially risky to human health, especially if they are excessively consumed [7]. The use of non-permitted colors is known to cause

adverse effects in experimental animals and in humans. Repeated exposure to even the permitted synthetic colors may be hazardous) [8]. To protect public health, many countries have established strict regulations for the allowable kinds and concentrations of dyes [9]. In Syria the use of colorants is organized by the national standards No.770-2011 which include synthetic, natural and nature identical food colors that are permitted to consume by humans at the recommended intakes. Thus, there are various methods have been proposed to detect the colorants in food and soft drink samples such as High Performance Liquid chromatography-HPLC [10,11], capillary electrophoresis-CE [3-12], differential pulse polarography [13], differential pulse voltammetry method (Medeiros et al, 2012)14, cyclic and differential pulse voltammetry method [15], spectrophotometric method [16,17], chemometric method followed by spectrophotometric method [18], derivative spectrophotometric method [19-20], Thin Layer Chromatography-TLC[21,22]. Tartrazine(TAR) and Sunset yellow(SY) are two synthetic azo dyes among the widest additives used in food and especially in soft drinks. TAR and SY are added either individually or in binary combination In order to realize all diverse yellow-shades to different food, drinks and drugs [23]. Brilliant Blue FCF(BB) is a triarylmethane dye and can be used with Tartrazine to produce various green shades[14,24], fig.1. SUN, TAR and BB are permitted synthetic colorants with maximum permitted level 100mg/L in soft drinks according to Syrian national standards.[25-26]

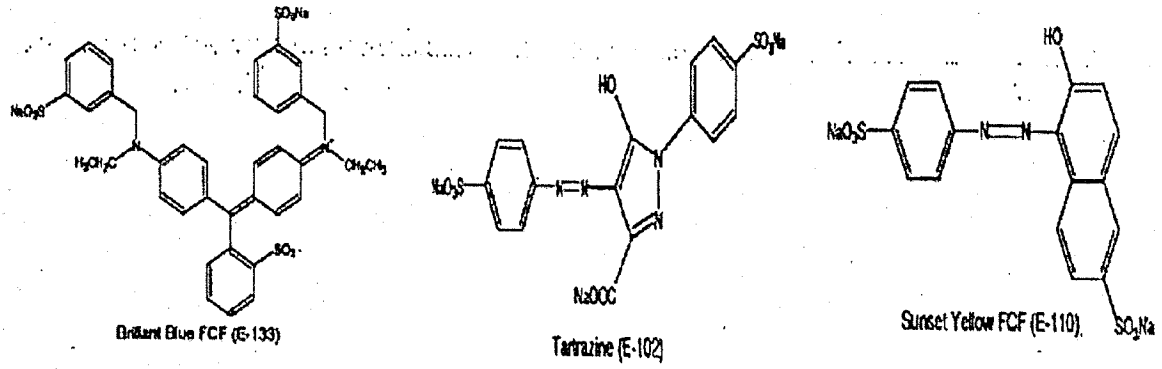


Figure 1 Structural formula of Sunset yellow, Brilliant Blue, Tartrazine

The aim of this study was to quantitatively and qualitatively detect three common colorants TAR, SY, BB and any potential banned colorants [27] in the local soft drink samples. Different analytical techniques were used such as Wool dyeing, Column chromatography followed by spectrophotometric method to determine Sunset yellow content in the samples with *single synthetic* food *colorant*. Samples that contained synthetic colorants in binary combination were analyzed by TLC (Thin layer chromatography) method to determine the type of colorants and their concentrations. [28,29,30]

A total of 48 soft drink samples containing synthetic colorants were collected during 2014-2015. Four brand samples of carbonated soft drinks were categorized as A, B, C, D each category samples were of 2 different qualities. A and B brand Samples contained Sunset yellow as a labeled colorant. C brand Samples contained combined Sunset yellow and Tartrazine as labeled colorants. D brand Samples contained combined Tartrazine and Brilliant Blue FCF as labeled colorants. The samples were purchased from Syrian local markets.Table,1.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. SAMPLES

Table.1: Fizzy drink samples

Soft drink brand	Flavor	Labeled colorants	Number of samples
A	Orange	SY	12(6 for each lot)
B	Orange	SY	12(6 for each lot)
C	Orange	SY+TAR	12(6 for each lot)
D	Green apple	TAR+BB	12(6 for each lot)

2.2. CHEMICALS AND APPARATUS

- Standard synthetic colorants(Sunset yellow, Tartrazine, Brilliant Blue FCF),
- Hydrochloric acid(CHEMLAB),
- Ammonia(BDH),
- Methanol(BDH),
- Butanol (TEKKIM),
- Aluminum oxide(BDH),
- Glacial acetic acid(BDH),
- Distilled water,
- Chromatographic column(2,1×45 cm),
- white wool,
- silica gel plates(Macherey-Nagel),

- micropipette(10 l),
- capillary tubes,
- solvent tank,
- ultrasonic bath,
- UV-VIS spectrophotometer(Jasco v-530 UV).

2.3. STANDARD SOLUTIONS

Individually, a standard stock solution containing Tartrazine1-3 mg/100 ml , Sunset Yellow1-3 mg/100 ml, Brilliant Blue FCF 1 - 3 g/ml, was prepared by dissolving 100 mg standard colorant in 100mL hydrochloric acid 0.1N. Each working standard solution of colorants was prepared by appropriate dilution of 100 mg of standard colorant in 100mL hydrochloric acid 0,1N to obtain the concentration range for each standard as mentioned above taking into consideration the purity of the colorants. The wavelength of peak absorbance for each of these dyes was achieved at wavelength of 482nm for Sunset Yellow, 427nm for Tartrazine and 630nm for Brilliant Blue FCF.

2.4. METHODS

2.4.1. SAMPLE PREPARATION

Samples of fizzy drinks were previously degassed for 15 min in ultrasonic bath and directly analyzed without any dilution.

2.4.2. WOOL DYEING

An appropriate volume 5-10 ml of the sample was taken in beaker and acidified with 1% hydrochloric acid. Then, a piece of white wool was immersed in the solution that was boiled for 60 minutes using water bath. After the wool has taken up the color, it was removed from the beaker, washed with distilled water. The wool was transferred to a beaker and the color was stripped from the dyed wool by boiling in a dilute solution of ammonia (1 part of strong ammonia to 50 ml of water). The used wool was discarded and the colored solution was concentrated by evaporation on water bath. After the removal of ammonia the colored solution was evaporated to a small volume for pure spotting. The colored concentrate was diluted with a small volume of 0.1N HCl and transferred to a 100 ml volumetric flask and the volume was made up the *volume* to *100ml* with 0,1 N HCl. the optical density was determined at different wavelength to obtain a plot of optical density versus wavelength. The wavelength corresponding to the maximum optical density was 482 nm for SY as determined from this plot, was noted and the wavelength was used for the preparation of the calibration curve used in the determination of Sun yellow concentration

2.4.3. COLUMN CHROMATOGRAPHY

An appropriate volume of the Sample was passed through a column(2,1 × 45 cm) containing aluminum oxide acidified with 1% HCl. The adsorbed color was eluted with 1% ammonia. The eluted then was evaporated to dryness on a hot water bath dissolved the residue in 0.1 N HCl, transferred quantitatively to a 100 ml volumetric

flask and made up to the volume with 0.1N HCl. The optical density was determined at different wavelength to obtain a plot of optical density versus wavelength. The wavelength corresponding to the maximum optical density was 482 nm for SUN as determined from this plot, was noted and the wavelength was used for the preparation of the calibration curve used in the determination of Sun yellow concentration.

2.4.4.TLC

The uptake of color is carried out by a wool-dyeing technique. The silica gel was firstly activated at 100° C for 4-8 minutes . Solutions of colorants as well as their references were spotted in the plate by means of capillary tubes. They were applied 3 cm from the bottom of the plate. Butanol, distilled water and glacial acetic acid (20:12:5) were used as a mobile phase. The stationary phase used was silica gel. The colorant spots from the plates were cut and eluted with methanol-water (1:1,v/v). The TLC plates were placed in the chromatographic chamber containing the appropriate solvent and the solvent was allowed to run for a certain distance from the base line. Plates were allowed for air drying and the Rf-values were calculated. Colorants identification was carried out by comparing the Rf values of the sample colorants with Rf values of standard colorants and by the absorption spectra with that of standard colorants. Colorants quantification was carried as described previously but the standard colorant solutions in hydrochloric acid (2.5 mg/100ml for SY and TAR, 1.5 g/ml for BB) and the sample colorant solutions were stained at 10 l/spot. The separated colorants in the studied samples were quantified as the colored spots were scratched from the sample and the colorants were extracted with a mixture of methanol-water (1:1, v/v) and analyzed through UV-VIS spectrophotometry

3 Results and Discussion

3.1Calibration curves

Linearity of calibration curve for HPLC method was checked on the basis of the chromatographic peak areas using fizzy drink samples fortified with various concentrations of mixed standard solutions Sun set yellow, Tartrazine and Brilliant Blue in a concentration range 0-100 mg/L. The calibration curve was linear for all the ranges of interest, with a good regression coefficient, of 0.9846 for SY and 0.9726for Tar and0.9918 for BB respectively as shown in Figs2, 3, 4 where Y is the absorption value and X is the concentration value (mg/100ml for SY and TAR, g/ml for BB).

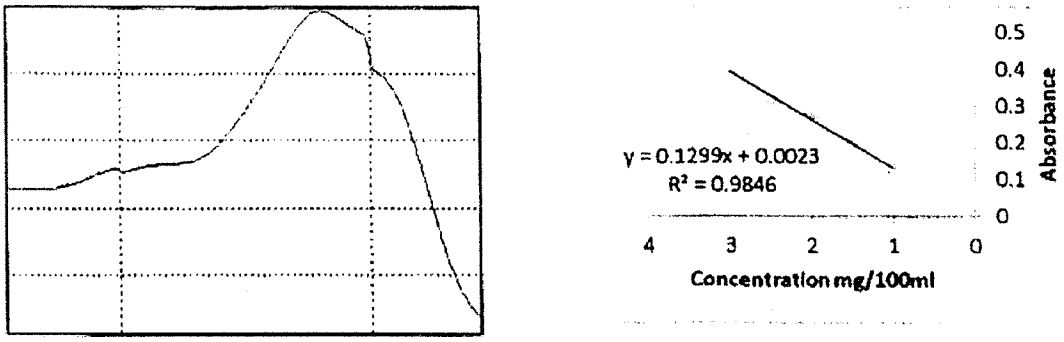


Figure 2 Calibration curve and spectrum of SUN at 482 nm

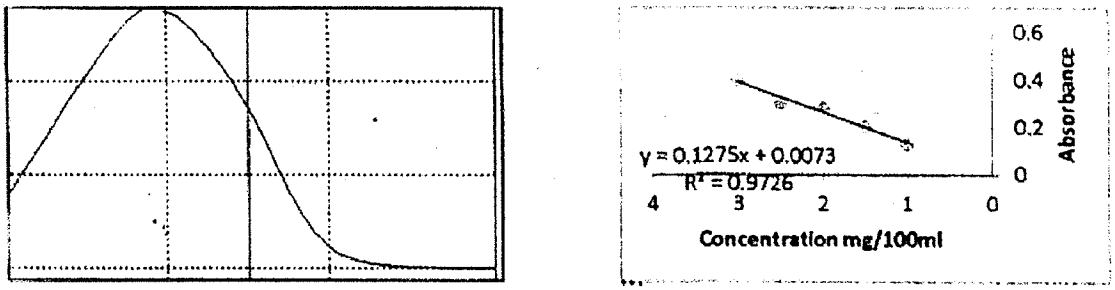


Figure 3 Calibration curve and spectrum of TAR at 427 nm

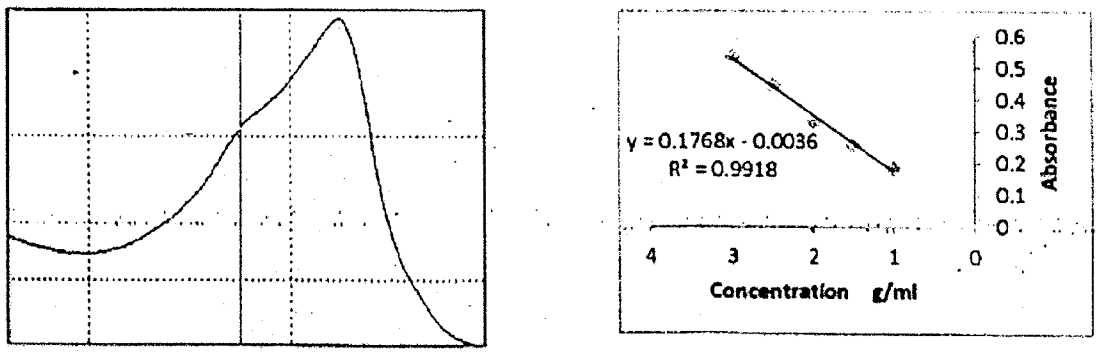


Fig.4Calibration curve and spectrum of BB at 630 nm

3.2. Comparative Sunset yellow determination using Wool dyeing and Column chromatography techniques

Comparing the spectra of the detected colorants in the studied sample and SY standard spectrum, it was found that A and B samples contained single added colorant as labeled on the product at a

concentration below the maximum level as set by Syrian standards. Wool dyeing technique showed that SY colorant was higher than it was detected by column chromatography as shown in Table 2,3.

Table. 2: Colorant content (mg/L) determined by column chromatography method

Fizzy drink product	Labeled Colorants	Determined Colorants	Lot	Mean Concentration mg/L	RSD%
A	SY	SY	1	16.2457	
			2	16.1752	
B	SY	SY	1	9.8960	
			2	9.3584	

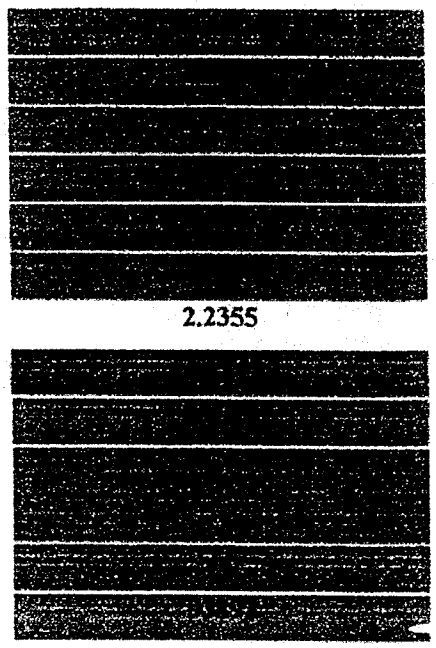
Table. 3: Colorant content (mg/L) products determined by Wool dyeing method

Fizzy drink Product	Labeled Colorants	Determined Colorants	Lot	Mean Concentration mg/L	RSD%
A	SY	SY	1	18.9607	
			2	17.5493	
B	SY	SY	1	11.8218	
			2	11.3202	

To comparatively evaluate the recoveries between column chromatography and wool dyeing techniques, a spiked solution of SY colorant standard (0.25 mg/100 ml solution in 0.1 HCl) was prepared. Recoveries about 92% and 93% were determined based on column chromatography and wool dyeing respectively where Relative standard deviations were closer to 1% and 3% for column chromatography and wool dyeing respectively. Table 4.

Table.4: Recoveries for column chromatography and wool dyeing methods

		Column chromatography	Wool dyeing
		Concentration mg/100ml	
Record	1st record	2.3156	
	2nd record	2.3033	
	3rd record	2.3548	
	4th record	2.3102	
	5th record	2.2771	
	6th record	2.2848	2.2355
Mean average		2.3076	
Standard Deviation		0.0264	
Relative Standard Deviation%		1.1440	
Real value		2.5	
Recovery %		92.304	



III. Binary combined colorants determination by TLC

Identification and quantification of synthetic colorants added to C (SY+TAR) and D(TAR+BB) products were determined by TLC technique. TLC based confirmation of colorants identity was carried out by spectral and Rf comparison where the Rf values of spots of sample's dye and of standard's dye were compared Table 5. Besides, after separation, spectra of sample's dye and that of standard dye were compared. Then, quantification of analytes was measured. The results showed that C samples contained two permitted synthetic colorants of SY and TAR, as well as D samples contained two permitted synthetic colorants of TAR and BB as labeled on the product's batch with concentration under the max permitted level in Syrian national standards, Table 6.

RSD of 2.2 respectively for TLC technique (Table 7)

Table.7: Recoveries determined using TLC technique

		TLC C*		TLC
		SY Content mg/100ml	TAR Content mg/100ml	BB Content mg/100ml
Record	1st record	2.3382	2.3903	1.3979
	2nd record	2.3333	2.3355	1.3490
	3rd record	2.3997	2.3164	1.4049
Mean average		2.3570	2.3474	1.3839
Standard Deviation		0.0346	0.0374	0.0282
Relative Standard Deviation%		1.4679	1.5932	2.0377
Real value		2.5	2.5	1.5
Recovery%		94.28	93.896	92.26

Thus, the findings suggest that all studied samples of fizzy drink can be considered safe for consumption because they were contained permitted synthetic dyes at concentration lower than the max levels which were set in Syrian national standards for soft drink products[31] Fig.5.

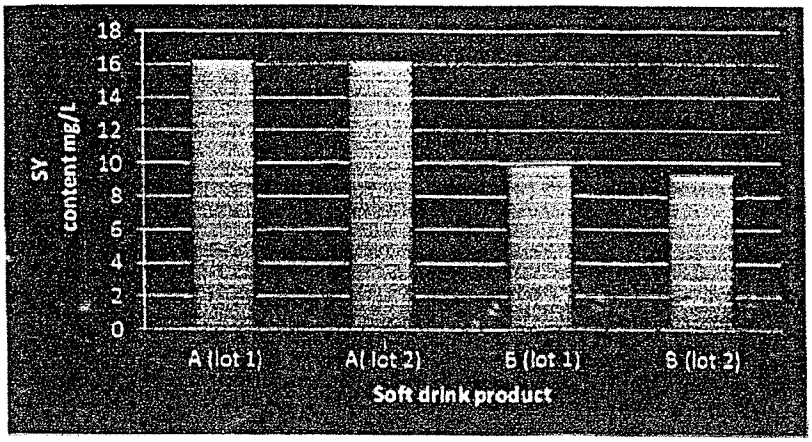


Figure 4 SY contents in the studied samples of Fizzy drink using Column chromatography

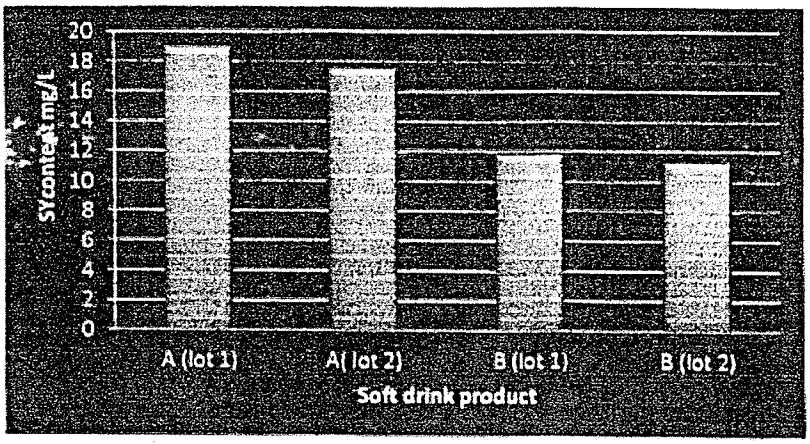


Figure 5 SY contents in the studied samples of Fizzy drink using Wool dyeing

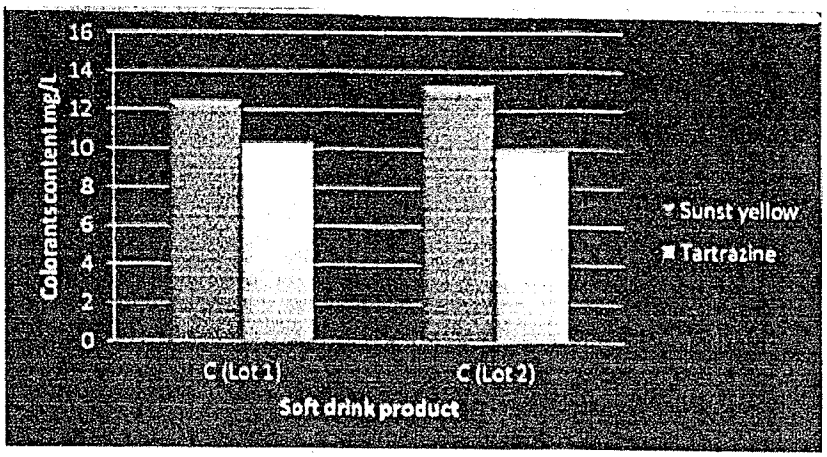


Figure 6 SY and TAR contents in the studied samples of Fizzy drink using TLC

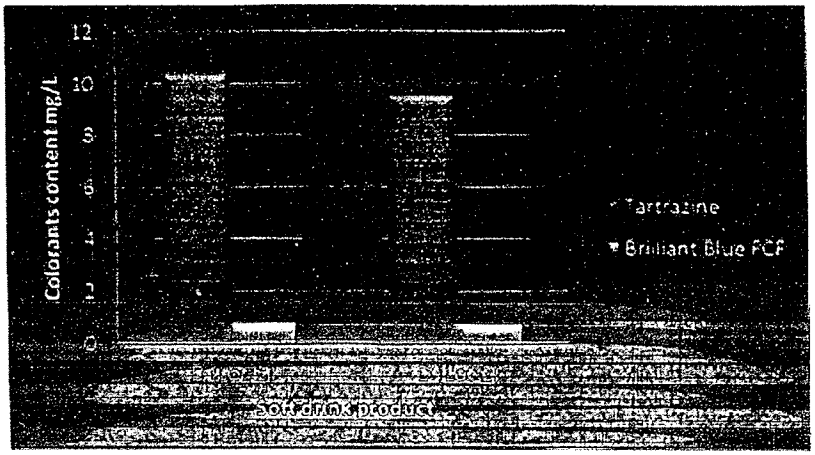


Figure 7: SY and BB contents in the studied samples of Fizzy drink using TLC

CONCLUSION

In this work, the levels of three common synthetic dyes of Tartrazine (T) Sunset Yellow (SY) and Brilliant Blue (BB) were detected and evaluated in commercial fizzy drinks of different qualities by different analytical methods. Two techniques of Wool dyeing and HPLC combined with UV detector were applied to determine SY as an individual additive dye. However, it was found that column chromatography technique was more precise than wool dyeing method with recoveries at 92% and 93% respectively. TLC separation and determination of binary mixtures of the studied colorants revealed precise findings with recovery more than 90%. In general, all studied samples of fizzy drink can be considered safe for consumption because they were contained permitted synthetic dyes at concentration lower than the max levels which were set in Syrian national standards for soft drink products.

ACKNOWLEDGMENTS

The co-author is indebted to ***Prof. Dr. Moufid Yassine***, Dean, college of pharmacy Tishreen university for his constant assistance, encouragement, guidance and the tremendous support and opportunities he provided throughout the period of research at Tishreen University, they must also appreciate Tishreen university's technical support.

REFERENCES

1. KHODJAEVA, U.; BOJNASKA, T.; VIETORIS, V.; SYTAR, O.; SINGH, R. Food additives as important part of functional food. International research Journal of biological sciences Vol.2(4). 74-86.

April(2013)AOAC International, Official Methods of Analysis. 17th edition, Current through revision,1, 2002

2. SAWAYA, W.; HUSAIN, A.; AL_OTAIBI, J.; AL_FOUDARI, M.; HAJJI, A. Color additive levels in food stuffs commonly consumed by children in Kuwait. Food control, 19 (2008) 98–105DIACU, E.; ENE. C. P. Simultaneous Determination of Tartrazine and Sunset Yellow in Soft Drinks by Liquid Chromatography. REV. CHIM. (Bucuresti), 60, Nr 8, 2009
3. HUANG, H. Y.; SHIH, Y. C; CHEN, Y. C. Determining eight colorants in milk beverages by capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, 959 (2002) 317–
4. TROIANO, R.; PIATTI, L.; DENOYER, E. Increased Throughput for the Determination of Synthetic Dyes in Beverages Using H Res Fast-LC Technology. Liquid chromatography, Application note. Perkin Elmer, Inc. 2008
5. International food information council(IFIC) foundation, US food and drug administration (FDA). Food ingredients and colors, 2010
6. GRIFFITHS, J. C. Coloring food and beverages. Food technology. May 2005. Vol. 59, No.5
7. MINIOTI, K. S.; SAKELLARIOU, C. F.; THOMAIDIS, N. S. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. Analytica Chimica Acta 583 (2007) 103–110
8. SALEEM, N.; UMAR, Z. N.; KHAN, S. N. Survey on the use of synthetic food colors in food samples procured from different educational institutes of Karachi city. The Journal of tropical life science, Vol. 3, No. 1, pp. 1-7, January, 2013
9. FENG, F.; ZHAO, Y.; YONG, W.; SUN, L.; JIANG, G.; CHU, X. Highly sensitive and accurate screening of 40 dyes in soft drinks by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography B, 879 (2011) 1813– 1818)
10. VACHIRAPATAMA, N.; MAHAJAROENSIRI, J.; VISESSANGUAN, W. 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, Vol. 16, No. 5, 2008, Pages 77-82
11. HAJIMAHMOODI, M.; AFSHARIMANESH, M.; MOGHADDAM. G.; SADEGHI, N.; OVEISI, M. R.; JANNAT, B.; PIRHADI, E.; ZAMANI MAZDEH, F.; KANAN, H.. Determination of eight synthetic dyes in food stuffs by green liquid chromatography. Food addit contam

22. FARZIANPOUR, F.; KHANIKI, G. J.; YOUNESIAN, M.; GHAHFERKHI, B. B.; SADEGHI, M.; HOSSEINI, S. Evaluation of food color consumption and determining color type by thin layer chromatography. American Journal of Applied Sciences, 10 (2): 172-178, 2013
23. DIACU, E.; ENE, C. P. Simultaneous Determination of Tartrazine and Sunset Yellow in Soft Drinks by Liquid Chromatography. REV. CHIM. (Bucuresti), 60, Nr 8, 2009
24. TRANDAFIR, I.; NOUR, V.; IONICA, M. E. The liquid-chromatographic quantification of some synthetic colorants in soft drinks. Scientific study and research, Vol. X(1). 2009
25. Syrian National Standard, SNS 770:2011, Food additives-Food colorant, Part 1: General requirements
26. Syrian National Standard, SNS 770-2:2011, Food additives – Food colorants, Part two: Maximum limits
27. AOAC International, Official Methods of Analysis. 17th edition, Current through revision,1, 2002
28. MA, M.; LUO, X.; CHEN, B.; SU, S.; YAO, S. Simultaneous determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in food stuff by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray mass spectrometry. Journal of chromatograph A, 1103 (2006) 170–176
29. Manual of Methods of Analysis of Foods, *Food additives*. Food safety and standards authority of India, Ministry of health and family welfare, Government of India, New Delhi, 2012
30. TRIPATHI, M.; KHANNA, S. K.; DAS, M. A novel method for the determination of synthetic colors in ice cream samples. J AOAC Int. 2004 May-Jun: 87(3):657-63
31. Syrian Arab Organization for Standardization and Metrology, SNS 47/1996, Non - Alcoholic - Carbonated beverages, Firsta rivew

الملحق(1)

بعض المصطلحات والتعاريف والاشتراطات العامة بحسب المواصفات القياسية السورية الخاصة بملونات الغذاء

الملونات الغذائية الطبيعية:

هي مواد تستخلص و/أو تفصل أو تشتق من مصادر طبيعية (نباتية أو حيوانية) باستخدام مادة وسيطة أو بدونها أو تضاف إلى الغذاء منفردة أو من خلال خلطها مع مع مادة طبيعية أخرى لإكسابها لوناً مميزاً.

الملونات الغذائية الصنعية:

هي مواد ملونة كيميائية تركيبية يتم الحصول عليها صنعياً وتضاف إلى الغذاء منفردة أو كخليط أو من خلال تفاعلها مع مادة أخرى لإكسابها لوناً مميزاً..

الاشتراطات العامة:

يجب أن يتوفر في المادة الملونة الشروط التالية:

- أن تكون درجة النقاوة مناسبة للاستعمال الغذائي.
- ألا تتفاعل مع مكونات المادة الغذائية أو عبواتها.
- أن تكون قابلة للانحلال أو الانتشار.
- ألا تزيد نسبة العناصر المعدنية السامة فيها أو في المواد المخففة أو المحلات المستعملة معها على القيم المذكورة في الجدول(1)(مع أخذ المواصفات الخاصة بكل ملون في الاعتبار)، باستثناء ملون أكسيد التيتانيوم(171) حيث يسمح بنسبة الرصاص فيه بـ 10مغ/كغ:

الجدول 1 :الحدود القصوى المسموحة للملوثات المعدنية

الملوثات المعدنية	الحدود القصوى(مغ/كغ)
الزرنيخ	3
الرصاص	5
الزئبق	1
المعادن الثقيلة	40

- يمنع استخدام أي مادة مخففة للألوان الغذائية عدا المواد التالية:

الماء، الغلوكوز، اللاكتوز، السكروز، الديكسترينات، النشاء، السوربيتول، الزيوت والدسم المعدنية، شمع النحل، حمض الليمون، حمض الطرطير، حمض اللبن، البكتينات، الهلام، كربونات الصوديوم، ثاني كربونات الصوديوم (بيكربونات الصوديوم أو البوتاسيوم أو الألمنيوم)ن كلور الصوديوم، كبريتات الصوديوم.

- يمنع استخدام أي مادة محلة للملونات الغذائية عدا المواد التالية:

الماء، هيدروكسيد الصوديوم، هيدروكسيد الأمونيوم، غليكول البروبلين، خلات الإيتيل، حمض الخل، أحادي وثنائي وثلاثي خلات الغليسيرين، الكحول الإيتيلي، الغليسيرول، الغليكول، ثنائي إيتيل الإيتر، الكحول الإيزوبروبيلي.

- يمنع استخدام أي مادة ملونة طبيعية عدا تلك الواردة في الجدول(2).
- يمنع استخدام أي مادة ملونة صنعية عدا تلك الواردة في الجدول(3).
- يمنع استخدام أي مادة ملونة مماثلة للطبيعية عدا تلك الواردة في الجدول(4).
- يمنع استخدام أي ملون كتلك الملونات التي تستعمل لصنع النسيج أو الجلود أو صناعات أخلرى مماثلة حتى ولو كانت من أنواع الملونات المذكورة في الجدول (2)،(3)،(4).
- يمنع إدخال أي مادة ملونة غذائية إلى القطر تحتوي على ملونات لا تتضمنها الجداول (2)،(3)،(4)،(5) من هذه المواصفة.
- يجب أن ترفق المادة الملونة المستوردة بشهادة صحية أصولاً من بلد المنشأ تثبت أن المادة من نقاء الاستعمال الغذائي بالإضافة إلى تقرير مخبري رسمي معتمد يثبت مطابقة المادة للمتطلبات المنصوص عنها في هذه المواصفة.
- يسمح باستخدام المواد الملونة الملامسة للغذاء وفقاً للجدول رقم (5).
- يسمح باستخدام مزائج الملونات وفقاً للسماحية الموجودة في كل مجموعة غذائية وبشرط ألا يزيد مجموع تراكيزها في الغذاء على 200 مغ/كغ.

الجدول 2 :الملونات الطبيعية المسموح بها في الأغذية

الاسم الشائع للملون		رقم الدليل اللوني	رقم النظام العالمي INS	الجرعة اليومية المقبولة ADI Mg/kg (bw)
باللغة العربية	باللغة الأجنبية			
أناتو(مستخلصات)	Annatto extract	75120	160b	0.065
مصدار أنتوسيانينات من	Anthocyanins	–	163	غير محددة

				نباتية متعددة
غير محددة	162	–	Beet red	مستخلص الشمندر الأحمر
غير محددة	170i	–	Calcium carbonate	كربونات الكالسيوم
0.03	161g	40850	Canthaxanthin	كانتا كزانتين
غير محددة	160 c	–	Capsanthin Paprika extract	مستخلصات الفليفلة الحمراء الحلوة
غير محددة	150a	–	Caramel colour Class I	الكراميل(البسيطة)
160	150b	–	Caramel colour Class II	الكراميل (المحضرة بطريقة الأمونيا القلوية)
200 أو 150 بالنسبة للأساس الجاف	150c	–	Caramel colour Class III	الكراميل (المحضرة بطريقة الأمونيا)
200	150d	–	Caramel colour Class IV	الكراميل (المحضرة بطريقة كبريتيت الأمونيا)
5	120	75470	Carmines	كارمن
5	160ai,e,f	40820	Carmines	الكاروتينونيد
غير محددة	160aii	40800	Carotens (vegetable)	الكاروتين النباتي
غير محددة	140	75810	Chlorophylls	الكلوروفيل
- 15	141i,ii	75810	Chlorophylls, copper complexes	معقد الكلوروفيل مع النحاس
3	100i	75300	Curcumin	الكركم
2.5	163ii	–	Grape skin extract	مستخلصات قشور العنب(أنتوسيانات)
غير محددة	160 d	75125	Lycopene	الليكوبين
غير محددة	–	75100	Saffron	مستخلص الزعفران
غير محددة	–	75300	Turmeric extract	العصفر و مستخلصاته

الجدول 3 :الملونات الصنعية المسموح بها في الأغذية

الجرعة اليومية المقبولة ADI Mg/kg (bw)	رقم النظام العالمي INS	رقم الدليل اللوني	الاسم الشائع للملون	
			باللغة الأجنبية	باللغة العربية
7.	129	16035	Allura red ac	أحمر الألورا(آ.سي)
4	122	14720	Azorubine	أزوربين
1	151	28840	Brilliant black PN	أسود براق(بي.إن)
1	133	42090	Brilliant blue FCF	أزرق براق(إف.سي.إف)
0.1	127	45430	Erythrosine	أريتروزين
25	143	42053	Fast green FCF	اخضر ثابت(إف.سي.إف)
5	132	73015	Indigotine	إنديغوتين
4	124	16255	Ponceau 4 R	بونسو 4 آر
2.5	110	15985	Sun set yellow FCF	أصفر غروب الشمس(إف.سي.إف)
7.5	102	19140	Tartrazine	ترترازين

ثنائي أكسيد التيتانيوم	Titanium dioxide	77891	171	غير محددة
الفضة	Silver	–	174	–
الذهب	Color	–	175	–

الجدول 4: المواد الملونة المماثلة للطبيعي المسموح باستخدامها في الأغذية

الاسم الشائع للملون		رقم الدليل اللوني	رقم النظام العالمي INS	الجرعة اليومية المقبولة ADI Mg/kg (bw)
باللغة العربية	باللغة الأجنبية			
بيتا كاروتين	Beta carotene	40800	160a	5
ريبوفلافين	Riboflavines	–	101i,ii	5

الجدول 5 :المواد الملونة الملامسة للأغذية

الاسم الشائع للملون		رقم الدليل اللوني	مجموعة الأغذية المسموح بتلامسه معها
باللغة العربية	باللغة الأجنبية		
ميتيل فيوليت	Methyl violet	42535	في الأختام على سطوح اللحم و البيض و الجبن و النقانق
فيولامين آر	Violamine R	45190	في الأختام وسطوح الأغذية وعبواتها

الملحق(2)
النقل والتعبئة والتخزين بالنسبة للمواد الملونة بحسب المواصفات القياسية السورية

يجب عند التعبئة والنقل والتخزين مراعاة ما يلي:

- التعبئة:
  - أن تعبأ المواد الملونة الطبيعية في عبوات عاتمة أو أي أوعية صحية مناسبة مقفولة بإحكام في جو من غاز خامل بقدر الإمكان بحيث يمنع اتصالها بالجو الخارجي أو تلوثها.
  - أن تعبأ الملونات الصنعية في أوعية صحية مناسبة ذات أغطية محكمة تمنع اتصال المادة مع الجو الخارجي أو تلوثها.
  - أن تملأ الأوعية بحيث تشغل المادة الملونة أكبر حيز ممكن من حجم الوعاء.
- النقل:

أن تنقل الأوعية الحاوية على المواد الملونة بطريقة تمنع تهشمها او تلفها.

- التخزين:

أن تخزن الأوعية الحاوية على المواد الملونة في أماكن مبردة وجافة بعيداً عن مصادر الضوء المباشر والتلوث.

- الاعتيان:

تسحب الأوعية عشوائياً طبقاً لمل هو محدد في الجدول:

حجم الدفعة(عدد الأوعية)	عدد الوعية المسحوبة
2 – 15	2
16 – 40	3
41 – 65	4
66 – 110	7
أكبر من 110	10

يؤخذ من كل وعاء مسحوب مقدار صغير من المادة ومن اماكن مختلفة. ثم تمزج الكميات الناتجة لتشكيل عينة مركبة لا يقل وزنها عن 150غ. تقسم بعدها العينة المركبة إلى ثلاث أقسام متساوية إحداها للبائع والثانية للمشتري، وتحفظ الثالثة في حال الخلاف بين البائع والمشتري.

- بطاقة البيان:

مع عدم الإخلال بما نصت عليه المواصفة القياسية السورية رقم 2307 لعام 2000 الخاصةببطاقة بيان المضافات الغذائية، يجب أن تتضمن بطاقة البيان المعلومات التالية باللغة العربية ويجوز كتابتها بلغة أجنبية أخرى.

- اسم الصانع وعنوانه وبلد الصنع والعلامة الفارقة.
- اسم المعبئ وعنوانه إن وجد أو اسم المستورد.
- الاسم الشائع للملون حسبما هو وارد في الجداول (2)،(3)،(4)،(5).
- المحتوى الصافي للوعاء بالوحدات الدولية.
- رقم النظام العالمي INS.
- اسم المحل المستعمل أو المادة المخففة للون.
- عبارة مادة ملونة(طبيعية أو صنعية) للاستعمال الغذائي.
- قائمة بمكونات المادة ونسبها المئوية عندما تكون مركبة من عدة مواد ملونة.
- درجة نقاء المادة.
- تاريخ الإنتاج وانتهاء الصلاحية(باليوم والشهر والسنة) وبطريقة غير رمزية لا تمحى.
- عبارة منتج وفق المواصفة القياسية رقم(770) لعام (2011) في حالة الإنتاج المحلي.

الملحق(3)
الحدود القصوى المسموح بها للمواد الملونة في مجموعة المشروبات الغازية المنكهة وبعض المجموعات الغذائية الأخرى بحسب المواصفات القياسية السورية

جدول1: الملونات المسموح بها في مجموعة المشروبات الغازية المنكهة والحدود القصوى لكل منها

رمز الملونات المسموح بها	اسم الملون	الحدود القصوى(مغ/ل)
129	Allura red ac	100
160 b *	Annatto extract	50
122	Azorubine	100
151	Brilliant black PN	100
133	Brilliant blue FCF	100
150 b	Caramel colour Class II	GMP
150 c	Caramel colour Class III	GMP
150 d	Caramel colour Class IV	GMP50000
120	Carmines	1000 100
160 aii	Carotens	2000
160 ai,aii,e,f	Carotenoids	100
161g	Canthaxanthin	GMP
141 i,ii	Chlorophylls, copper complexes	300
100 i	Curcumin	100
143	Fast green FCF	100
163 ii	Grape skin extract	500 300
132	Indigotine	100
124	Ponceau 4 R	100
101 i,ii	Riboflavines	50
110	Sun set yellow FCF	100
102	Tartrazine	100

*يعبر عنه كبيكسن أو نوربيكسين الكلي

جدول_2: الملونات المسموح بها في بعض المجموعات الغذائية والحدود القصوى لكل منها

اسم المجموعة الغذائية	رمز الملونات المسموح بها	الحدود القصوى(مغ/ل)
شرابات الألبان المنكهة و/أو المتخمرة(مثال:حليب الشوكولا، حليب الكاكاو، اللبن العيران، شرابات مصل اللبن) Dairy –based drink,flaoured and /or fermented(e.g.chocolate milk,cocoa,eggnog,drink	129 160 b 122 151 133 161 g 150 b 150 c	100 50 100 100 100 GMP GMP 2000

150 150 1000 150 50 150 100 300 100 150 300 135 100	150 d 120 160 aii 160i, ai,aii,e,f 141 i,ii 100 i 143 163 ii 132 124 101 i,ii 110 102	yoghurt,whey-based drinks)
150 150	150 c 150 d	الحليب المتخمر السادة Fermented mik(Plain)
الحدود القصوى(مع/كغ)	**رمز الملونات المسموح بها**	**اسم المجموعة الغذائية**
GMP GMP GMP 300	161 g 150 b 141 i,ii 101 i,ii	الزيوت والدهون ومستحلباتها Fats and oils, and fat emulsions
GMP	120	مستحلبات الدسم من نمط(الماء في الزيت) Fat emulsions mainly of type(water in oil) الملونات المسموحة في مجموعة الزيوت والدهون ومستحلباتها تعت مسموحة في هذه المجموعة
10 100 GMP GMP 500 1000 200 500 300	160 b 133 150 c 150 d 120 160 aii 160 ai,aii,e,f 100 i 101i,ii	مستحلبات الدسم من نمط(الزيت في الماء) وتتضمن المنتجات الممزوجة و/أو المنكهة المصنوعة من مستحلبات الدسم Fat emulsions mainly of type(oil in water) including mixed and/or flavoured products based on fat emulsions
الحدود القصوى مغ/كغ	**رمز الملونات المسموح بها**	**اسم المجموعة الغذائية**
100 100 100 100 100 GMP GMP 1000 1000	129 160 b * 122 151 133 161 g 150 b 150 c 150 d	البوظة والمثلوجات متضمنة الشرابات والعصائر المثلجة Ice cream and edible ices, including sherbet and sorbet *يعبر عنها كبيكسين أو نوربيكسين الكلي **تستخدم فقط في المنتجات الحاوية على خشافات الكرز

150 1000 200 500 150 200 100 100 100 50 500 50 100	120 160 aii 160 ai,aii,e,f 141 i,ii 100 i 127 ** 143 163 ii 132 124 101 i,ii 110 102	
100 10 100 100 100 200 GMP 1500 200 1000 200 200 500 200 400 500 100 250 200 135 100	129 160 b 122 151 133 161 g 150 c 150 d 120 160 aii 160 ai,aii,e,f 141 i,ii 100 i 127* 143 163 ii 132 124 101 i,ii 110 102	المربيات،الجيلي،المرملاد Jams,Jellies,marmalades *تستخدم فقط في منتجات الكرز
GMP GMP GMP	150 b 150 c 150 d	الحلويات Confectionery
100 500 100 100 100 300 GMP GMP 500 500 100 700 700 300 500	129 160 b * 122 151 133 161 g 150 c 150 d 120 160 aii 160 ai,aii,e,f 141 i-ii 100 i 143 163 ii	العلك Chewing gum *يعبر عنها كبيكسين أو نوربيكسين الكلي

100 100 1000 135 100 200	132 124 101 i,ii 110 102 171	
100 1000 100 100 100 GMP GMP GMP 500 GMP 100 100 500 100 500 100 50 1000 135 100 100 100	129 160 b 122 151 133 161 g 150 c 150 d 120 160 aii 160 ai,aii,e,f 141 i,ii 100 i 143 163 ii 132 124 101 i,ii 110 102 174 175	مواد التزيين(كالمستخدمة في المنتجات المخبوزة عالية الرطوبة)،مواد التغطية(بدون فواكه)، الصلصات الحلوة. Dicorations(e.g.for fine bakery wares),toppings(non-fruit) and sweet sauces
GMP GMP 100 GMP 100 100 GMP 135 100	161 g 150 b 143 163 ii 132 124 101 i,ii 110 102	المنتجات المخبوزة Bakery wares
GMP GMP GMP GMP 1000	150 b * 150 c ** 150 d * 141 i,ii * 101 i,ii	اللحوم ومنتجاتها متضمنة الدواجن والطرائد Meat and meat products including poultry and game *تستخدم في طبقة التغطية والتزيين **تستخدم للمعالجة السطحية
الحدود القصوى(مغ/ل)	**رمز الملونات المسموح بها**	**اسم المجموعة الغذائية**
GMP GMP GMP	150b 150 c 150 d	المشروبات الكحولية،تتضمن المشروبات منخفضة أو خالية الكحول Alcoholic beverages, including alcohol-free and low-alcoholic counterparts

Abstract

Food colorants are commonly used in food products espically in soft drinks because of their important properties to reinforce the product appearance and make it more attractive to the consumers either synthethic or natural colorants. Since synthetic colorants can cause several adverse side effects, make these substances come under control and study is very important. This study has been performed to ensure the compatibility of local soft drinks samples that contain synthetic colorants to the requirements of Syrian and international standards for food colorants. The main aim of this study was identification and quantification of three permitted synthetic colorants, Sunset Yellow, Tartrazine and Brilliant Blue FCF and determination of any potential banned colorants in some soft drinks samples in the local market by several analytical methods such as Gravimetric method, Kjeldahl method, Spectrophotometric method after extraction with wool or column chromatography and separation of colorants with column chromatography and Thin layer chromatography. The whole samples are considered to be safe and available for consumption since they were contained only permitted colorants at a lower concentration than the max permitted level in Syrian and international standards.

Key words: Synthetic colorants, Soft drinks, Food control, Sunset Yellow, Tartrazine, Brilliant Blue FCF.

Syrian Arab Republic
Tishreen University
Faculty of Pharmacy
Analytical and Food chemistry Department

Control of the synthetic colorants in the soft drinks in the loacal coastal market

(A thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Master of Food Control at Department of Analytical and Food Chemistry. Faculty of Pharmacy)

Prepared by
Nizar Anton Daood

Supervised by
Pr.Moufid Yassin

Faculty of Pharmacy

Lattakia 2015- 2016