

پایش رنگ‌های خوراکی مورداستفاده در شیرینی‌های عرضه شده در شهر مشهد

- فاطمه اکبرنژاد^۱، امیر سالاری^{۲*}، یگانه کاربخش^۳، مهناز شریعت زاده^۴، مرضیه خوری^۵
- 1- دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد، رشته بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - 2- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی و آبیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - 3- دانشجوی مقطع کارشناسی، رشته بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - 4- دانشجوی مقطع کارشناسی، رشته بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - 5- دانشجوی مقطع دکتری، رشته بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
- ایمیل نویسنده مسئول: a-salari@um.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف:

امروزه با توجه به توسعه استفاده از رنگ های سنتزی در مواد غذایی، نگرانی‌های عدیده ای در خصوص مکانیسم نظارت و ارزیابی و همچنین عوارض سوء این مواد بر سلامت عمومی جامعه افزایش یافته است. در طی چند دهه گذشته به کرات لیست رنگ‌های خوراکی مجاز توسط سازمان جهانی استاندارد و سازمان های مربوطه در کشورهای مختلف مورد تجدیدنظر و و ویرایش قرار گرفته است و رنگ‌هایی که اثرات زیان‌آور آنها اثبات شده است از این لیست حذف گردیده اند. در این مطالعه سعی شده است تا وضعیت موجود در خصوص مصرف رنگ های مجاز و غیر مجاز در فراورده های قنادی در سطح شهر مشهد بررسی شده تا پروفایلی جامع و مستند در اختیار دستگاه های نظارتی و سیاست گذاری قرار داده شود.

روش کار: روش کار مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۶۳۴ با عنوان "افزودنی های خوراکی مجاز- رنگ های مصنوعی در مواد خوراکی- شناسایی به روش کروماتوگرافی لایه نازک- روش آزمون" انجام گردید. به این صورت که رنگ از ماده غذایی به روش پشم در محیط اسیدی استخراج گردید و سپس بر روی پلیت سیلیکاژل لکه گذاری شده و بعد از قرار دادن در تانک TLC با توجه به فاکتور RF نسبت به نمونه استاندارد، نوع رنگ مشخص گردید.

یافته‌ها: با توجه به مطالعات انجام شده بیشترین رنگ استفاده شده در شیرینی ها رنگ زرد تارترازین می باشد که جزو رنگ های مصنوعی غیرمجاز اعلام شده توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران است. پس از تارترازین، بیشترین مصرف را به ترتیب رنگ های سان ست یلو و کارموئیزین به خود اختصاص داده اند. این رنگ ها جزو رنگ های مصنوعی بوده و در محدوده مجاز مصرف استفاده شده بودند.

نتیجه‌گیری: تارترازین به تنهایی برای ایجاد رنگ زرد و یا در ترکیب با سایر رنگ ها برای ایجاد رنگ سبز استفاده می شود، ارزانی، پایداری و شباهت زیاد تارترازین به زعفران و فروش تقلبی آن به جای زعفران باعث شده تا در فراورده های غذایی بیشتر از سایر رنگ های مصنوعی دیگر مورد استفاده قرار گیرد. این دسته از رنگ ها باعث بروز اثرات نامطلوب بر سلامتی انسان می شود که در این زمینه می توان به کاهش فلور میکروبی روده، بروز سرطان و آلرژی اشاره کرد طی مطالعات انجام شده، تارترازین در روده تجزیه شده و با تبدیل شدن به آمین های آروماتیک موجب واکنش های آلرژیک (آسم ، اغزما، پورپورا در بیماران دارای آسم و حساسیت به آسپیرین و میگرن در بزرگسالان و بیش فعالی در کودکان می شود. طبق استانداردهای جهانی میزان دریافت مجاز روزانه تعیین شده برای تارترازین ۰.۵ تا ۷ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن است، با این حال طبق استاندارد ملی ایران تارترازین جزو رنگ های غیر مجاز اعلام شده و استفاده از آن به هر مقدار در مواد غذایی ممنوع است.

واژگان کلیدی: بامیه، تارترازین، رنگ مصنوعی، زولبیا، شیرینی، مشهد

مقدمه

افزودنی‌های غذایی¹ یک واژه کلی برای ترکیباتی است که به‌منظور دوام یا بهتر نمودن ظاهر غذا، ترکیب، طعم، ارزش غذایی آن و یا حفاظت از فساد میکروبی به مواد غذایی اضافه می‌شوند؛ (1)، (2) رنگ‌ها جزو این دسته از مواد هستند. به‌طور کلی رنگ‌ها برای افزایش جذابیت مواد غذایی به آنها افزوده می‌شوند. (3)، (4) با توجه به این که رنگ‌ها نه تنها دارای خاصیت انرژی‌زایی نمی‌باشند بلکه می‌توانند دارای اثرات سوء مستقیم، به دلیل سمیت بالقوه که دارند، یا غیرمستقیم، به دلیل برهم‌زدن تعادل رژیم غذایی، بر سلامتی انسان داشته باشند. (5)، (6)

رنگ‌های خوراکی می‌توانند منشأ طبیعی و یا مصنوعی داشته باشند. رنگ‌های طبیعی معمولاً با منشأ گیاهی مانند کلروفیل و آنتی‌سیانین و یا معدنی هستند و رنگ‌های مصنوعی یا سنتتیک مانند کینولین یلو، سانست یلو، آلواراد و آزوروبین هستند. (7)

از مهم‌ترین و شناخته‌شده‌ترین گروه ترکیبات طبیعی ایجادکننده رنگ در مواد غذایی می‌توان به زعفران اشاره کرد. ماده‌ای که در گذشته تنها عنوان عامل ایجادکننده رنگ و طعم در مواد غذایی مورد مصرف قرار می‌گرفت؛ اما مطالعاتی که طی دهه‌های اخیر انجام شده نشان می‌دهد که ترکیبات تشکیل‌دهنده زعفران نقش مهمی در سلامتی افراد ایفا می‌کنند؛ اما تولید محدود و قیمت بالای زعفران منجر به انجام تقلبات گسترده با افزودن رنگ‌های مصنوعی به جای آن در مواد غذایی شده این ماده غذایی شده است (8). رنگ‌های مصنوعی خوراکی به دلیل تنوع، ثبات، ارزانی قابل‌دسترس بودن و از بین رفتن رنگ‌های طبیعی حین فراوری غذا، بسیار بیشتر از رنگ‌های طبیعی استفاده می‌شوند. (9)

هر چند مصرف بسیاری از رنگ‌های مصنوعی به دلیل مشاهده آثار منفی بر حیوانات آزمایشگاهی ممنوع شده؛ (10) اما به دلایل اقتصادی، ثبات پایداری در حین فرایند قابلیت ایجاد رنگ یکنواخت و تنوع بسیار رنگ‌های مصنوعی خوراکی به تدریج جایگزین رنگ‌های طبیعی شده‌اند و با به میزان قابل‌توجهی بیش از رنگ‌های طبیعی مورد مصرف قرار می‌گیرند، به‌طوری‌که بر اساس آمار سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) مصرف رنگ‌های خوراکی مصنوعی در فرآورده‌های غذایی در سال ۲۰۱۰ نسبت به سال ۱۹۵۵ پنج برابر افزایش داشته است. (11) این آمار با توجه به آثار شناخته شده منفی این مواد بر سلامت انسان نگران‌کننده بوده و می‌تواند زنگ خطری برای سازمان‌های مرتبط باشد (12). امروزه شواهد فراوانی در مورد آثار نامطلوب مواجهه با رنگ‌های خوراکی مصنوعی بر ارگان‌های مختلف انسان در منابع علمی گزارش شده. است در این رابطه یکی از خطرناک‌ترین گروه رنگ‌های مصنوعی دارای ساختار شیمیایی آزو معرفی شده‌اند. (13) این گروه می‌توانند توسط فلور میکروبی روده تجزیه شده و پس از تبدیل شدن به آمین‌های آروماتیک موجب سردردهای ممتد در بزرگسالان، پیش‌فعالی در کودکان و همچنین آسم و یا سایر واکنش‌های آلرژیک شوند. (5) رنگ زرد تارترازین (E102) یک مونوازو است که به طور گسترده در محصولات قنادی، آشامیدنی‌ها، ژله‌ها، آب‌نبات‌ها و بسیاری از مواد غذایی دیگر و همچنین مواد دارویی و آرایشی - بهداشتی استفاده می‌شود. برابر مطالعات اخیر، تارترازین پس از رنگ قرمز آلوارا رد پرمصرف‌ترین رنگ مصنوعی است. (7)

از آنجاکه رنگ زرد تارترازین از گروه رنگ‌های آزو بوده، می‌تواند اثرات ذکر شده فوق را در مصرف‌کنندگان ایجاد کند همچنین حضور برخی رنگ‌های مصنوعی در مواد غذایی از جمله تارترازین در تداخل با برخی داروها مانند آسپیرین و یا برخی افزودنی‌ها مانند بنزوئیک‌اسید و یا سایر ترکیبات آلرژیک می‌تواند منجر به تشدید واکنش‌های ناشی از حساسیت مانند آسم در افراد شود (14)، (15). هر چند طبق استانداردهای جهانی میزان دریافت مجاز روزانه تعیین شده برای تارترازین تا ۵/۷ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن است؛ (16) اما طبق دستورالعمل مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران این رنگ جز رنگ‌های غیرمجاز بوده که استفاده از آن به هر مقدار در ماده غذایی ممنوع است. (7) اما همان گونه که اشاره شد قیمت بالای زعفران شرایط استفاده از این رنگ را در محصولات زعفرانی فراهم کرده است. (12)

هم‌زمان با آغاز و توسعه استفاده از رنگ در مواد غذایی نگرانی‌های بهداشتی در خصوص اثرات این مواد بر سلامت مصرف‌کنندگان نیز افزایش یافت. هر ساله دانشمندان تحقیقاتی را در مورد اثرات رنگ‌ها بر سلامت مصرف‌کنندگان انجام داده و با استفاده از نتایج این تحقیقات هر چند سال یک‌بار لیست رنگ‌های خوراکی مجاز و برپایش شده و رنگ‌هایی که اثرات زیان‌آور آنها ثابت شده از این لیست حذف می‌گردد. (17)

باتوجه به افزایش روزافزون مصرف رنگ در صنف قنادان برای جلب نظر بیشتر مشتریان به فرآورده‌های قنادی، عدم توجه این صنف به نوع رنگ مصرفی و پیامدهای حاصله از مصرف آن، این مطالعه انجام گردیده است.

باتوجه به مطالعات انجام شده در مطالعات ملی به بررسی ۳۹۸ نمونه شیرینی خشک و تر، انواع نبات و پولکی، گز، سوهان، زولبیا و بامیه در سال‌های ۸۶-۸۸ نشان داد که ۴۸ درصد از نمونه‌ها غیرقابل‌مصرف بوده‌اند، به‌طوری‌که ۲۶.۷ درصد از نمونه‌ها حاوی رنگ‌های غیرمجاز خوراکی و ۲۱.۳ درصد حاوی رنگ

¹ Additive Food

مجاز خوراکی بودند که فنادان اجازه مصرف آنها را نداشتند. در مطالعات فوق بیشترین مصرف رنگ‌های خوراکی مربوط به رنگ زرد تارترازین بوده است. در سال ۹۲ بررسی‌های نشان داده که ۲۳.۶۵ درصد مواد غذایی مورد بررسی به رنگ تارترازین آلوده بوده‌اند. در مطالعاتی در قم و اراک نشان داده شده ۴۸ تا ۸۰ درصد از انواع مختلف شیرینی‌ها حاوی رنگ مصنوعی بوده‌اند و رنگ زرد از شایع‌ترین آنها است. این مطالعه نشان داد رنگ تارترازین شایع‌ترین آنها است به طوری که یک‌چهارم از مواد غذایی مورد بررسی حاوی آن بوده‌اند و ۶۷.۸ درصد نمونه‌های مثبت حاوی رنگ‌های مصنوعی، تنها با تارترازین رنگ شده بودند. مطالعات قم و اراک نیز نشان دادند که ۲۶ تا ۸۰ درصد از انواع شیرینی‌ها حاوی تارترازین بودند. (رفرنس نخورده از فایل دوستان احتمالاً از نتایج غذا و دارو)

روش کار

در این مطالعه تعداد ۹۰ نمونه شیرینی خشک، تر، زولبیا و بامیه از مراکز تولید و توزیع شهر مشهد نمونه‌برداری و جهت آنالیز نوع رنگ به آزمایشگاه ارسال شد. نمونه‌های ارسالی از نظر رنگ طبیعی، رنگ مصنوعی مجاز خوراکی و رنگ مصنوعی غیرمجاز خوراکی مورد بررسی قرار گرفتند.

انجام آزمایش طبق دستورالعمل استاندارد ملی به شماره ۲۶۳۴ طی مراحل زیر صورت گرفت: (18)،(19)

۱. **آماده‌سازی نمونه:** برای استخراج رنگ از ماده غذایی حاوی رنگ، ابتدا ۱۰ تا ۱۵ گرم از نمونه را توزین و در ارن مایر ریخته و با ۱۰۰ میلی‌لیتر آمونیاک ۲ درصد مخلوط نموده و پس از ۲۴ ساعت محلول رویی برداشته شد. سپس محلول رویی را به بشر منتقل کرده و با استفاده از حمام بخار، عمل جوشاندن به‌منظور تبخیر آن، انجام شد.

۲. **تخلیص:** مقدار ۵-۲ میلی‌لیتر از محلول به‌دست‌آمده در مرحله قبل را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و سپس یک میلی‌لیتر اسیدکلریدریک غلیظ (مرک، ۳۷ درصد) و یا اسید استیک (مرک، ۶۵ درصد) به‌منظور اسیدی کردن محیط به آن اضافه شد. سپس ظرف را روی بخار آب جوش قرار داده و تکه‌ای پشم سفید داخل محلول قرار داده شد. پس از یک ساعت در شرایط اسیدی، رنگ‌های مصنوعی جذب الیاف پشم شده و محلول تقریباً بی‌رنگ شد. سپس پشم را داخل یک ظرف وارد کرده و حدود ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر آمونیاک غلیظ (مرک، ۶۵ درصد) اضافه گردید و در بن ماری جوش قرار داده شد. پس از حدود ۳۰ تا ۶۰ دقیقه، رنگی که جذب الیاف پشم شده بود از آن جدا و به محیط قلیایی وارد گردید. در این هنگام پشم که تمام‌رنگ خود را پس داده بود از محلول خارج و محلول رنگین تا زمان خشک‌شدن کامل روی بن ماری جوش قرار داده شد.

۳. **کروماتوگرافی:** کروماتوگرافی روی پلیت سیلیکاژل با ابعاد ۲۰ در ۲۰ سانتی‌متر در سه مرحله انجام گرفت.

۳.۱. **آماده‌سازی پلیت سیلیکاژل:** برای انجام کروماتوگرافی ابتدا سیلیکاژل روی پلیت فعال می‌گردد. بدین صورت که پلیت را به مدت ۱۰-۸ دقیقه در آون ۱۰۰ - ۹۰ درجه سانتیگراد قرار داده تا رطوبت آن گرفته و سیلیکاژل فعال گردد.

۳.۲. **لکه‌گذاری:** پلیت آماده شده را از یک‌جهت و به فاصله ۳ سانتی‌متر از پایین، به طور افقی با مداد خط‌کشی کرده و فواصلی به طول ۳ سانتی‌متر با مداد روی این خط‌کشی مشخص گردید. از محلول رنگی استخراج شده به‌وسیله لوله سدیمان‌تاسیون مقدار کم و در تماس کوتاه‌مدت با پلیت لکه‌گذاری گردید. سپس مشخصات هر نمونه را در زیر لکه علامت‌گذاری شده نوشته و به‌وسیله سشوار خشک شد. اگر میزان رنگ هر لکه کم باشد، لکه‌گذاری تا به‌دست‌آوردن غلظت رنگ مناسب تکرار گردید. همراه لکه رنگ استخراج شده، از رنگ‌های استاندارد به فاصله ۳ سانتی‌متر از آن قرار داده شد. این کار برای تشخیص نوع رنگ نمونه انجام گردید در این مرحله همه لکه‌ها شناسایی شدند یا به عبارتی تعداد لکه‌ها با استانداردها برابر بود.

۳.۳. **آماده‌سازی تانک TLC:** در مورد کروماتوگرافی غشای نازک که به‌صورت بالارونده است، حلال در ته تانک قرار داده شد. برای این منظور ابتدا تانک را شستشو داده و سپس از حلال‌های بوتانول، آب مقطر و اسید استیک در تانک به‌صورت مخلوط با یکدیگر استفاده شد.

بعد از آماده‌سازی تانک، پلیت لکه‌گذاری شده در درون تانک قرار داده شد. هنگامی که حلال تا حدود ارتفاع ۴ سانتی‌متری صفحه بالا آمد، پلیت را از درون تانک بیرون آورده و زیر هود قرار داده تا کاملاً خشک شود.

۳.۴. **مرحله تشخیص رنگ و اندازه‌گیری RF (Retention factor):** در این مرحله حرکت رنگ‌های نمونه (RF) نسبت به حرکت لکه رنگ‌های استاندارد سنجیده شد.

شرایط محیطی مانند درجه حرارت، فشار هوا، جریان هوا، و تازگی حلال‌های مورد استفاده نیز در اندازه حرکت رنگ‌ها دخالت دارند. باتوجه به اندازه حرکت رنگ‌ها، رنگ مورد نظر تشخیص داده شد.

یافته‌ها و بحث

از تعداد کل ۹۰ نمونه ای که مورد آزمایش قرار گرفت؛ ۳۰ مورد آنها (۳۳.۳۳ درصد) شامل رنگ طبیعی بودند و ۶۰ مورد آنها (۶۶.۶۷ درصد) دارای رنگ مصنوعی بودند (جدول ۱). از این تعداد ۳۵ (۳۸.۸۹ درصد) نمونه شامل تارترازین، ۳۱ (۳۴.۴۴ درصد) مورد شامل سان ست یلو، ۱۶ (۱۷.۷۸ درصد) مورد شامل کارموئیزین، ۱۳ (۱۴.۴۴ درصد) مورد بریلیانت بلو، ۸ (۸.۸۹ درصد) مورد کینولین یلو، ۵ (۵.۵۶ درصد) مورد آلورا رد و ۱ (۱.۱۱ درصد) مورد پونسیو آر هستند (جدول ۲). در این ۹۰ نمونه در ۱۶ (۱۷.۷۸ درصد) مورد از یک رنگ مصنوعی، ۳۹ (۴۳.۳۳ درصد) مورد دو رنگ مصنوعی و ۵ (۵.۵۶ درصد) مورد سه رنگ مصنوعی استفاده شده بود (جدول ۳).

در مطالعه‌ای که سلطان دلال و همکاران در سال ۸۵ روی رنگ‌های مصرفی در شیرینی‌های خشک تهران انجام دادند مشخص شد که ۹۳.۲ درصد کل نمونه‌های برداشتی حاوی رنگ بوده و از این مقدار ۷۰.۵ درصد نمونه‌ها حاوی رنگ‌های مصنوعی بودند (6). در مطالعه سکار و همکاران ۶۵.۵ درصد بیسکویت‌ها، ۷۸.۵ درصد کیک‌ها، ۷۱ درصد شیرینی‌ها حاوی رنگ مصنوعی هستند (20). خسروی و همکاران نشان دادند ۴۸ درصد نمونه شیرینی شهر قم حاوی رنگ مصنوعی است (21). در مطالعه رضایی و همکاران، ۲۰ نمونه شیرینی و ۳۰ نمونه مایعات زعفرانی از قنادی‌ها و رستوران‌ها جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد که مطابق استاندارد‌های برآورده عمل نمی‌شود. ۸۶.۶۶ درصد نمونه‌های مایعات زعفرانی و ۱۰۰ درصد نمونه‌های شیرینی حاوی رنگ مصنوعی و ۱۳.۳۳ درصد نمونه‌های مایعات زعفرانی بدون رنگ بودند (22). در یافته‌های عالی‌پور و همکاران در ۳۳.۸ درصد نمونه‌های مورد بررسی که شامل نبات، پولکی، چای قنادی، انواع شیرینی‌های خامه‌ای و غیر خامه‌ای، بستنی، جوجه‌کباب و مایعات زعفرانی از رنگ‌های مصنوعی استفاده شده بود و رنگ تارترازین ۶۷.۸ درصد از رنگ‌های مصنوعی مصرف شده را تشکیل می‌داد (23). همچنین در مطالعه‌ای که ملایی توانی و همکاران در سال ۱۳۹۶ در خصوص وجود رنگ‌های مصنوعی در شیرینی‌های خشک داشتند ۸۸ درصد نمونه‌ها دارای رنگ غیرمجاز خوراکی و ۱۲ درصد نمونه‌ها دارای رنگ مصنوعی مجاز بودند (24).

جدول ۱. وضعیت رنگ مصرفی در شیرینی‌های شهر مشهد

نوع رنگ	تعداد نمونه	درصد
رنگ مصنوعی خوراکی	۲۵	۲۷.۷۸
رنگ مصنوعی غیر مجاز تارترازین	۳۵	۳۸.۸۹
فاقد رنگ	۳۰	۳۳.۳۳
جمع کل	۹۰	۱۰۰

جدول ۲. توزیع فراوانی رنگ‌های مصنوعی در شیرینی‌های مصرفی

نوع رنگ	تعداد	درصد (فراوانی هر یک از رنگ‌ها در ۹۰ نمونه)
تارترازین	۳۵	۳۸.۸۹
سان ست یلو	۳۱	۳۴.۴۴
کارموئیزین	۱۶	۱۷.۷۸
بریلیانت بلو	۱۳	۱۴.۴۴
کینولین یلو	۸	۸.۸۹
آلوراد	۵	۵.۵۶
پونسیو آر	۱	۱.۱۱

جدول ۳. فراوانی انواع نمونه ها

نوع نمونه	تعداد	تارترازین	سان ست یلو	کارموئیزین	برلیانت بلو	کینولین یلو	آلورا رد	پونسیو ۴آر	فاقد رنگ
شیرینی خامه ای و لطیفه	۱۸	۳	۷	۵	۷	۱	۳	—	۵
شیرینی خشک	۱۸	۱۰	۹	۳	۲	—	—	—	۵
شیرینی زبان	۱۷	۷	۴	۳	۱	۳	۲	—	۵
شیرینی ناپلثونی	۷	۴	۳	۴	۲	—	—	۱	۱
شیرینی باقلوا	۵	۲	۳	۱	۱	۲	—	—	—
زولبیا و بامیه	۲۵	۹	۵	—	—	۲	—	—	۱۴

نتیجه گیری کلی

علاوه بر نظارت‌های موجود همچنان از تارترازین به‌عنوان یک رنگ‌دهنده مصنوعی استفاده می‌شود. با توجه به مطالعه انجام شده درصد زیادی از فرآورده‌های قنادی دارای رنگ سنتزی می‌باشند و نیاز جدی وجود دارد که سازمان‌های نظارتی علاوه بر تشخیص نوع رنگ، از نظر کمی نیز رنگ‌ها رو مورد بررسی قرار دهند زیرا که به‌هیچ‌وجه بدون دانستن مقدار رنگ نمی‌توان در مورد مجاز یا غیر مجاز بودن قضاوت کنیم که آیا مقدار رنگ استفاده شده در محدوده مجاز می‌باشد و یا از حد مجاز عبور کرده است و غیر مجاز است و چه‌بسا رنگ‌هایی مانند سان ست یلو، کارموئیزین و... که حضور آن بلامانع است اما مقدار آن در حد غیر مجاز باشد. نکته دیگری که مورد توجه است؛ اثر ترکیبی رنگ‌ها می‌باشد که در استاندارد ملی باید مورد بازبینی قرار بگیرد چرا که مقدار حد مجاز رنگ به‌صورت تکی در استاندارد قید شده است و به حد مجاز استفاده از رنگ‌ها به‌صورت ترکیبی اشاره نشده است درحالی‌که با توجه به تحقیق انجام شده، در بسیاری از نمونه‌های مورد آزمایش رنگ‌ها به‌صورت ترکیبی استفاده شده‌اند

منابع

1. Joint Fao Who Expert Committee on Food A (JECFA). 1995. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminant.. 44th Report (Technical Report Series). *World Health Organization*; p:15.
2. Hinton DM. US FDA. 2000. "Redbook II" immunotoxicity testing guidelines and research in immunotoxicity evaluations of food chemicals and new food proteins. *Toxicol Pathol.*; 28(3):467- 78.
3. Collins TF ،Sprando RL ،Shackelford ME ،Hansen DK ،Welsh JJ. Food and Drug Administration proposed testing guidelines for reproduction studies. Revision Committee. FDA Guidelines for Developmental Toxicity and Reproduction ،*Food and Drug Administrati*.
4. Lin CS ،Shoaf SE ،Griffiths JC. 1992. Pharmacokinetic data in the evaluation of the safety of food and color additives. *Regul Toxicol Pharmacol*;15(1):62-72.
5. Kokoski CJ. 1992. Overview of FDA's Redbook guidelines. *Crit Rev Food Sci Nutr.*;32(2):161-163.
6. Sultan Dalal M, Mohammadi H, Aqeel D, Vahedi S. Status of color consumption in dry sweets in the south of Tehran using thin layer chromatography method . *Scientific journal of Gorgan University of Medical Sciences.* :73-78.
7. National I. 2013. Permitted additives- Food colors- List and general specifications. No 740.;5.
8. Melnyk JP, Wang S MM. 2010. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Res Int.*;3(8):1981-.
9. Kiple, KF. and Ornelas K. 2000. Contemporary food related issues United Kingdom, UK. The Cambridge University Press.;2:1667-1676.

10. Ryan A, Welling P WS. 1969. Further studies on the metabolism of tartrazine and related compounds in the intact rat. *Food Cosmet Toxicol*;7:287.
11. Kobylewski S J. 2010. Food Dyes: A Rainbow of Risks: *Center for Science in the Public Interest*;
12. Rezaei R, Mirlohi M, Maracy MR, Dastjerdi MV. Exposure Estimation to Tartrazine through Traditional Hard Candies (Nabat and Poulaki) in Iran, Isfahan Province .
13. Kucharska M GJ.2010. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes. *Talanta*;80(3):1045-51.
14. Dean D. Metcalfe M, Hugh A.2003. Sampson M RASM. Food allergy:adverse reactions to foods and food additives. *Third Ed ed Blackwell Publ.*
15. Combes R H-SR.1982. A review of the genotoxicity of food, drug and cosmetic colours and other azo, arch/Reviews in Genetic Toxicology. triphenylmethane xanthene Dye Mutat Rese243.;98(2)101.
16. Scientific Opinion on the re-evaluation Tartrazine (E 102). 2009. *EFSA Journal*.;7.
17. Farzianpour, F., JaheadKhaniki, Gh., Younesian, M., Banaei Ghahferkhi, B., Sadeghi M and, Hosseini S.2013. Evaluation of food color consumption and determining color type by thin layer chromatography. *Am J Appl Sci* 10 172-178.;
18. National I. 2013. Permitted food additives-Synthetic food colors in foods -Identification by tin layer chromatography – Test method. No 2634.
19. Avazpour M, Seifipour F, Abdi J, Nabavi T Z-AM. Detection of dyes in confectionery products using thin-layer chromatography. *Iran J Nutr Sci Food Technol*. 8.
20. M. Sekar, F. M. KM UR, and P. Raja.2017. “Surveillance and quantification of synthetic food colorants in selected confectionary products in chennai,” *Int. Educ. Res. J.*, vol. 3, no. 6.
21. R. Khosravi Mashizi, M. Yunesian, and E. Galavi. 2012. “Evaluation of Knowledge and Attitude of Confectionery Workers towards Usage of Artificial Food Dyes in Bardsir,” *J. Heal.* vol. 3, no. 2, pp. 32–41.
22. M. Rezaei et al.2015. “Assessment of synthetic dyes in food stuffs produced in confectioneries and restaurants in Arak, Iran,” *Thrita*, vol. 4, no. 1, pp. 1–5.
23. F. Aalipour and farangis Mahdavi. 2016. “Determine the prevalence contamination foods to synthetic colors with thin layer chromatography in Shahrekourd,” *Shahrekord Univ. Med. Sci. J.*, vol. 17, no. 6, pp. 103–112.
24. Molaei Tavani S, Nobari S, Ghasemi R, Mazloomi S. 2017. Survey the Authorized and Unauthorized Food Colorings Consumption in the Food Supply of Nazarabad Township in 1395. *Environmental Health Engineering*.; 4 (4): 299-306.