

بررسی میزان فراوانی رنگ های مصرفی غیر مجاز در آب آلبالو و آب زرشک عرضه شده در سطح شهر تهران

دکتر محمد مهدی سلطان دلال^{۱*}، دکتر سعید واحدی^۲، دکتر ابوالفضل نجاریان^۳
عقیل دستباز^۴، تاج الملوک کفاشی^۵، الهام پیر هادی^۶، آناهیتا کامکار^۷،
دکتر طاهره فرامرزی^۸، مهندس وحید مهدوی^۹

چکیده

زمینه و هدف: افزودنی های مواد غذایی یک واژه کلی برای ترکیباتی است که به منظور دوام یا بهتر نمودن ظاهر غذا، ترکیب، طعم، ارزش غذایی به مواد غذایی اضافه می شود. رنگ ها نیز جزو این دسته از مواد بوده که برای افزایش جذابیت مواد غذایی به آنها افزوده می شوند. هدف از این مطالعه، بررسی وضعیت نوع رنگ های مصرفی در آب آلبالو و آب زرشک تولیدی شهر تهران بود.

روش بررسی: تعداد ۳۳۶ نمونه آب آلبالو و آب زرشک سستی از مناطق مختلف شهر تهران بصورت تصادفی نمونه برداری شد. نمونه ها پس از استخراج رنگ با اسیدکلریدریک و تخلیص با روش کروماتوگرافی با لایه نازک *Thin Layer Chromatography* (T.L.C) مورد آنالیز قرار گرفتند. نمونه ها با توجه به فاکتور نگهداری (Rf) مورد شناسایی قرار گرفتند. **یافته ها:** ۸۹ درصد از کل نمونه ها حاوی رنگ بودند از میان کل نمونه های رنگی، ۶۲ نمونه (۱۸/۵ درصد) حاوی رنگ مصنوعی غیر مجاز خوراکی، ۲۳۷ نمونه (۷۰/۵ درصد) حاوی رنگ مصنوعی مجاز خوراکی برای تولید کننده های صنعتی و ۳۷ نمونه (۱۱ درصد) حاوی رنگ طبیعی بود. رنگ کارمیزین (CARMOSINE) بیشترین مورد مصرف در میان رنگ های مورد استفاده در آب آلبالو و آب زرشک بررسی شده بود.

نتیجه گیری: دارا بودن هزینه پایین، پایداری، pH خلوص و شرایط محیطی سبب شده است که مصرف رنگ های خوراکی بدون توجه به عوارض آنها و یا بدون توجه به کیفیت خوراکی آنها رو به فزونی یابد. بنا براین پیشنهاد می گردد که افزایش آگاهی تولید کنندگان و مصرف کنندگان می تواند راه حلی جهت کاهش مصرف اینگونه رنگ ها در آب آلبالو و آب زرشک باشد.

واژه های کلیدی: رنگ- آب آلبالو- آب زرشک- کروماتوگرافی- تهران

* نویسنده مسئول:

دکتر محمد مهدی سلطان دلال؛
دانشکده بهداشت دانشگاه علوم
پزشکی تهران

Email: soltandall@tums.ac.ir

- دریافت مقاله: مهرماه ۱۳۸۶- پذیرش مقاله: اردیبهشت ماه ۱۳۸۷

مقدمه

افزودنی های غذایی (Food Additive) یک واژه کلی برای ترکیباتی است که به منظور دوام یا بهتر نمودن ظاهر غذا، ترکیب، طعم ارزش غذایی آن و یا حفاظت از فساد میکروبی به مواد غذایی اضافه می شوند. بنابراین تعریف هر ماده ای راکه در جریان ساخت، عمل آوری، آماده سازی، بسته بندی، حمل و نقل و یا نگهداری غذا به آن اضافه می شود را شامل

- استاد میکروبی شناسی دانشکده بهداشت و مدیر آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی تهران
- عضو هیئت علمی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
- مدیر اداره غذا معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی تهران
- کارشناس آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی تهران
- مدیر آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی ایران
- مدیر آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- کارشناس آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی تهران
- کارشناس آزمایشگاه مواد غذایی و بهداشتی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی تهران
- کارشناس ارشد آزمایشگاه مواد غذایی و بهداشتی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی تهران

با توجه به افزایش روز افزون آرمیوه های سنتی بویژه در فصل تابستان و بکارگیری رنگ ها برای جلب نظر بیشتر مشتریان وعدم توجه این صنف به نوع رنگ مصرفی و پیامد های حاصله از مصرف آن، این مطالعه در آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید.

روش بررسی

در این مطالعه تعداد ۳۳۶ نمونه آب آلبالو و آب زرشک تهیه شده بصورت سنتی از مراکز تولید و توزیع شهر تهران نمونه برداری و از نظر نوع رنگ بکار برده شده مورد آنالیز قرار گرفتند.

نمونه های ارسالی از نظر شاخص رنگ طبیعی، رنگ مجاز مصنوعی که در صنایع غذایی مجاز ولی در تولید محصولات غذایی سنتی غیر قابل مصرف است و رنگ غیر مجاز مصنوعی مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه های قابل مصرف شامل آب آلبالو و آب زرشک هایی است که دارای رنگ طبیعی می باشد و نمونه های غیر قابل مصرف شامل آب آلبالو و آب زرشک هایی است که دارای رنگ مصنوعی مجاز خوراکی و یا غیر مجاز خوراکی می باشد.

به دلیل محلول در آب بودن رنگ ها، استفاده روز افزونی از آنها می شود. رنگ های مصنوعی خوراکی که در مواد غذایی به کار می روند، همگی در آب محلول بوده واصطلاحاً به آنها رنگ های اسیدی می گویند. لذا انجام آزمایش طبق دستورالعمل اداره کل امور آزمایشگاه ها شامل مراحل زیرصورت گرفت (۱۱).

مواد و محلول های شیمیایی

تمام مواد و محلولهای شیمیایی مورد مصرف در آزمایش از شرکت مرک تهیه و مورد استفاده قرار گرفت

می گردد (۲،۱). رنگ ها جزو این دسته از مواد می باشند که می توانند اثرات سوئی را بر سلامتی انسان داشته باشند. به طور کلی رنگ ها برای افزایش جذابیت مواد غذایی به آنها افزوده می شوند(۳). با توجه به اینکه رنگ ها نه تنها دارای خاصیت انرژی زایی نمی باشند، بلکه می توانند دارای اثرات سوء مستقیم (بدلیل سمیت بالقوه ای که دارند) یا غیر مستقیم (به دلیل برهم زدن تعادل رژیم غذایی) بر سلامتی انسان داشته باشند. البته اثرات طولانی مدت این ترکیبات حائز اهمیت می باشند. رنگ های طبیعی یا تایید شده معمولاً با منشاء گیاهی مانند: کلروفیل، کارتنوئید، آنتوسیانین، میوگلوپین و غیره هستند و رنگ های مصنوعی یا سنتتیک مانند: کینولین یلو، سانست یلو، آزوروبین، پونسو 4R، آلورارد، ایندیگوکارمین و بریلیانت یلو هستند(۴-۶).

مزیت رنگ های سنتتیک این است که از نظر دوام رنگ، روشنی و پایداری بهتر از رنگ های طبیعی هستند، اما استفاده از این رنگ ها می تواند اثرات سمی بر روی انسان داشته باشد (۷و۸).

شرایط تهیه ماده غذایی و خوراکی هنگام پخت می تواند سبب از بین رفتن رنگ های طبیعی و یا کم رنگ شدن رنگ طبیعی بکار رفته گردد و از جذابیت ماده غذایی بکاهد. در صورتی که رنگ های سنتتیک این خاصیت را نداشته و حرارت پخت را به خوبی تحمل می نمایند. بنابراین وجود چنین شرایطی باعث گردیده است که استفاده از رنگ های سنتتیک و مصنوعی بدون اطلاع از عوارض سوء آنها مورد استفاده بیشتری قرار گیرند (۹و۱۰). همچنین عدم اطلاع به کارگیرنده های این چنین رنگ ها از نوع رنگ (خوراکی یا غیر خوراکی بودن) عامل مهم دیگری است که می تواند باعث ایجاد مشکلات زیادی در مصرف این گونه رنگ ها شود.

که شامل اسید کلریدریک یا اسید سولفوریک، آمونیاک و صفحات 20×20 با پوشش آلومینیوم به صورت آماده، سرنگ هاملتون، لوله همتوکریت، پشم سفید چربی گرفته شده بود.

جامعه مورد بررسی

تعداد ۱۶۸ نمونه آب آلبالو سنتی و ۱۶۸ نمونه آب زرشک سنتی از سطح تولید و عرضه چهار منطقه شمال، جنوب، غرب، شرق در شهر تهران به صورت تصادفی نمونه برداری و برای انجام آزمایش به آزمایشگاه کنترل مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال گردید.

روش آزمایش

مرحله استخراج رنگ

با توجه به محلول بودن مواد غذایی رنگ شده در آب و با استفاده از این خاصیت مرحله استخراج رنگ از نمونه ماده غذایی انجام گرفت.

مرحله تخلیص و استخراج رنگ از مواد غذایی

محلول در آب

جهت اسیدی شدن نمونه های آب آلبالو و آب زرشک به ۱۰۰ سی سی از نمونه، یک میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ و یا اسید استیک اضافه می شد. سپس ظرف را روی بخار آب جوش قرار داده و تکه ای پشم سفید داخل محلول انداخته می شد.

پس از یک ساعت در شرایط محیط اسیدی رنگهای مصنوعی جذب الیاف پشم شده و محلول تقریباً بی رنگ می شد. سپس پشم را با آب سرد بخوبی شستشو داده و داخل یک ظرف انداخته و حدود ۵۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱ ml آمونیاک غلیظ نیز به

محیط اضافه نموده و ظرف را روی بن ماری جوش قرار داده می شد. پس از حدود ۳۰ تا ۶۰ دقیقه رنگی که جذب الیاف پشم شده بود، از آن جدا و به محیط قلبیابی وارد می شد. در این هنگام پشم را که یا تمام رنگ خود را پس داده و یا هنوز مقدار کمی رنگین بود، دور انداخته و محلول رنگین را در روی بن ماری جوش تا زمانی که خشک شود، نگه داشته می شد. پس از تبخیر مایع درون ظرف فقط رنگ و احتمالاً مقدار کمی از آب آلبالو و یا آب زرشک در ته آن خشک می شد.

مرحله کروماتوگرافی

کروماتوگرافی روی پلیت سلیکاژل (آماده شده به وسیله شرکت Merck) با ابعاد 20×20 انجام گرفت.

آماده سازی پلیت سلیکاژل

برای انجام کروماتوگرافی ابتدا سلیکاژل روی پلیت را فعال نموده، بدین صورت که پلیت را به مدت ۸-۱۰ دقیقه در اتو ۹۰-۱۰۰ درجه سانتی گراد گذاشته تا رطوبت آن گرفته شده و سلیکاژل فعال گردد، سپس آن را بیرون آورده، تاخنک شود.

مرحله لکه گذاری

پلیت آماده شده را از یک جهت و به فاصله ۳ سانتی متر از پایین بطور افقی با مداد خط کشی نموده و فواصلی به طول ۳ سانتی متر را با مداد بر روی این خط کشی مشخص می شد. از محلول رنگی استخراج شده به وسیله لوله سدیمانتاسیون مقدار کم و در تماس کوتاه مدت با پلیت لکه گذاری می شد (قطر هر لکه رنگی از ۲ تا ۳ میلی متر نباید بیشتر باشد). مشخصات هر نمونه را در زیر لکه علامت گذاری شده، نوشته و به وسیله سشوار به خشک شدن هر لکه کمک می شد. اگر میزان رنگ

انتهای صفحه بالا می آمد، پلیت را از درون تانک بیرون آورده و تا خشک شدن کام زیر هود قرار داده می شد.

مرحله تشخیص رنگ و اندازه گیری Rf

در این مرحله اندازه حرکت لکه رنگ های نمونه (Rf) نسبت به حرکت لکه رنگ های استاندارد سنجیده می شد. البته جداول مختلفی از حرکت رنگهای مختلف بر روی پلیت در حلال های مختلف موجود است، ولی این مساله را باید در نظر داشت که شرایط محیطی مانند درجه حرارت، فشار هوا، جریان هوا و تازگی حلال های مورد استفاده نیز در اندازه حرکت رنگ ها دخالت دارند. بدین جهت تکیه نمودن بر جداول در کتاب های مختلف، نمی تواند اساس سنجش و تأیید باشد. با توجه به اندازه حرکت رنگها، رنگ مورد نظر تشخیص داده می شد.

هر لکه کم بود، لکه گذاری را تا بدست آوردن غلظت رنگ مناسب تکرار می شد. برای تشخیص نوع رنگ، نمونه همراه لکه رنگ استخراج شده از رنگ های استاندارد به فاصله ۳ سانتی متر قرار داده می شد.

آماده سازی تانک T.L.C

برای کروماتوگرافی غشای نازک یا T.L.C که روی پلیت سلیکاژل استفاده شد. این نوع کروماتوگرافی بالا رونده بوده و حلال در ته تانک ریخته می شد. برای این منظور تانک را ابتدا خوب شستشو داده و سپس از حلال های بوتان نرمال + آب مقطر + اسید استیک به نسبت (۵+۶+۱۰) در تانک ریخته و تا مخلوط شدن کامل بهم زده می شد. بعد از آماده سازی تانک پلیت لکه گذاری شده را در درون تانک قرارداده و در تانک را گذاشته می شد. هنگامی که جبهه حلال تا حدود ۴ سانتی متر به

یافته ها

مصنوعی غیر مجاز خوراکی و تعداد ۲۳۷ نمونه (۷۰/۵٪) نمونه ها، حاوی رنگ مصنوعی مجاز خوراکی و تعداد ۳۷ نمونه (۱۱٪) نمونه ها، حاوی رنگ طبیعی بودند (جدول شماره ۱)

در این تحقیق پس از آنالیز و تشخیص رنگها در نمونه ها مشخص شد که تعداد ۲۹۹ نمونه (۸۹٪) از کل نمونه غیر قابل مصرف بودند. همچنین از کل نمونه های مورد بررسی، تعداد ۶۲ نمونه (۱۸/۵٪) از رنگ

جدول شماره ۱: وضعیت نوع رنگ های موجود در نمونه های آب آلبالو و آب زرشک

N=۳۳۶		نوع رنگ
تعداد	درصد	
۲۳۷	۷۰/۵	رنگ مصنوعی مجاز خوراکی
۶۲	۱۸/۵	رنگ مصنوعی غیر مجاز خوراکی
۳۷	۱۱	رنگ طبیعی

کاربرد رنگ های مصنوعی غیر مجاز در نمونه های آب زرشک به آب آلبالو به نسبت ۱/۵ به ۱ بوده است. بطوریکه در برابر ۳۷ نمونه آب زرشک، ۲۵ نمونه آب آلبالو از رنگ های مصنوعی غیر مجاز استفاده نمودند. بیشترین میزان آلودگی در نمونه های آب زرشک مشاهده شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی نمونه های آب آلبالو و آب زرشک از نظر وضعیت مصرفی

وضعیت نمونه	قابل مصرف n=۳۷		غیر قابل مصرف n=۲۹۹		کل n=۳۳۶
	تعداد	(درصد)	تعداد	(درصد)	
آب آلبالو	۲۸	(۱۶/۷)	۱۴۰	(۸۳/۳)	۱۶۸
آب زرشک	۹	(۵/۳)	۱۵۹	(۹۴/۶)	۱۶۸

بیشترین رنگ مورد استفاده در آب آلبالو و آب زرشک کارمیوزین و در مرحله بعد استفاده از رنگ های غیر مجاز مصنوعی دیگر بوده است. همچنین ۶۴ نمونه آب آلبالو (۴۵/۷٪) و ۸۰ نمونه آب زرشک (۵۰/۳٪) به بیش از یک رنگ آلوده بودند (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی نمونه های مورد آزمایش از نظر نوع رنگ غیر مجاز

نوع رنگ	برلیانیت بلو	کارمیوزین	پونسیو 4R	سانست یلو	کینولین یلو	رنگ غیر مجاز مصنوعی	کل نمونه
آب آلبالو	۱۸(۱۲/۹)	۷۰(۵۰)	۲۹(۲۰/۷)	۱۸(۱۲/۹)	۶(۴/۳)	۵۳(۳۷/۹)	۱۴۰
آب زرشک	۶۰(۳۷/۷)	۸۰(۵۰/۳)	۵۹(۳۷/۱)	۴۰(۲۵/۲)	۳۲(۲۰/۱)	۸۰(۵۰/۳)	۱۵۹

از نظر پراکندگی جغرافیایی تفاوت معنی داری از نظر بکارگیری رنگ مصنوعی غیر مجاز و یا مجاز خوراکی در نقاط مختلف شهر مشاهده نگردید (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۴: توزیع فراوانی نمونه های مورد آزمایش از نظر منطقه جغرافیایی

نوع نمونه منطقه جغرافیایی	آب آلبالو		آب زرشک	
	قابل مصرف (درصد)	غیر قابل مصرف (درصد)	قابل مصرف (درصد)	غیر قابل مصرف (درصد)
شمال	۱۲ (۲۸/۶)	۳۰ (۷۱/۴)	۲ (۲/۴)	۴۰ (۹۷/۶)
جنوب	۳ (۷/۱)	۳۹ (۹۲/۹)	۲ (۲/۴)	۴۰ (۹۷/۶)
غرب	۸ (۱۹)	۳۴ (۸۱)	۳ (۳/۶)	۳۹ (۹۶/۴)
شرق	۵ (۱۱/۹)	۳۷ (۸۸/۱)	۲ (۲/۴)	۴۰ (۹۷/۶)
جمع	۲۸ (۱۶/۷)	۱۴۰ (۸۳/۳)	۹ (۵/۴)	۱۵۹ (۹۴/۶)

بحث و نتیجه گیری

نتایج ما نشان می دهد که ۸۹٪ از کل نمونه ها به دلیل استفاده از رنگ مصنوعی غیر قابل مصرف بودند. در ایران تاکنون تحقیقی بر روی نوع رنگهای بکاررفته در آب آلبالو و آب زرشک های مصرفی انجام نگرفته است. مطالعات انجام شده بیانگر این موضوع است که حتی رنگ های طبیعی (منشاء طبیعی) می توانند اثرات سوء و سمی برای انسان داشته باشند. بنابراین ایمنی مطلق هیچ ماده ای، خصوصاً در مورد رنگ ها به اثبات نرسیده است (۱۵-۱۲). بالا بودن هزینه استخراج و بازدهی کم، ناپایداری با تغییر شرایط محیطی، pH و ارزش رنگی کم رنگ های طبیعی سبب گردیده که بیشتر از رنگ های مصنوعی استفاده شود، اما عامل مهم دیگر عدم اطلاع از نوع رنگ مصنوعی (خوراکی بودن یا غیر خوراکی بودن) توسط افراد بکارگیرنده این رنگها می باشد (۷، ۱۰). در کشور ما نوشیدنی ها و آب میوه های سنتی از زمان های قدیم جایگاه خاصی برای خانواده ها داشته، بطوریکه امروزه کارخانه های متعددی که مجهز به دستگاه های اتوماتیک هستند فعالیت می نمایند، اما در کنار این کارخانه ها، کارگاه ها و گاهاً در منازل و اماکن نامناسب، متاسفانه افرادی به صورت دستی و جهت سود جویی بیشتر و عدم استفاده کمتر از میوه

طبیعی، از رنگ هایی هم رنگ با رنگ طبیعی میوه استفاده می نمایند، که به دلیل تهیه در اماکن نامناسب، نداشتن مسئول فنی، عدم اطلاع و آگاهی لازم از دستورالعمل های تولید، نداشتن مجوز های بهداشتی، صرفاً بر اساس سلیقه و ذائقه فردی اقدام به تهیه آب میوه های غیر طبیعی با عنوان طبیعی و فریب مشتری می نمایند، که این مسئله نه تنها از نظر بهداشت و سلامت، جامعه را با مشکلاتی روبرو می نماید، بلکه از نظر قضایی بار حقوقی داشته و تقلب محسوب می شود، در حالیکه میوه هایی همچون آلبالو و زرشک با توجه به وجود مقادیر قابل توجهی از عناصر معدنی مانند کلسیم، آهن، پتاسیم، منیزیم و مقادیر زیادی ویتامین های C, A, B1, B2, B3 و با رنگ طبیعی خود می توانند به عنوان یک نوشیدنی مناسب و گوارا بویژه در فصل تابستان مورد مصرف قرار گیرند (۱۸-۱۶، ۲، ۱). در فراورده های سنتی آب میوه با توجه به نبودن مسئول فنی در واحد تولیدی و نداشتن پروانه ساخت و کد بهداشتی، حتی در صورت استفاده از رنگهای مصنوعی مجاز، غیر قابل عرضه و مصرف اعلام می گردد. بنابراین اینگونه واحد های تولیدی صرفاً مجاز به استفاده از رنگ های طبیعی و گیاهی می باشند (۱۱).

بردی در این زمینه افزایش آگاهی مصرف کننده گان و صنف تولید کنندگان این ماده غذایی نسبت به عوارض بکارگیری رنگ های مصنوعی از طریق رسانه های عمومی و سازمان های حمایت از مصرف کننده (NGO) می باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی جهت تامین هزینه های مالی و مهیا نمودن شرایط اجرایی طرح تشکر و قدردانی می شود.

با توجه به نتایج بدست آمده از آنالیز رنگ های موجود در آب آلبالو و آب زرشک های مصرفی شهر تهران می توان نتیجه گرفت که استفاده از رنگ های مصنوعی جهت افزایش جذابیت این نوشیدنی ها و سودجویی بیشتر در حال افزایش می باشد و این یک اعلام هشدار برای مصرف کنندگان این گونه نوشیدنی ها می باشد همچنین بالا بودن درصد مصرفی رنگ های غیر مجاز خوارکی (رنگ های غیر استاندارد بیانگر این مطلب بوده که صنف بکار برنده اینگونه رنگ ها فاقد هرگونه اطلاع از عوارض سوء مصرف این گونه رنگ ها بوده و تنها به دنبال کسب درآمد و سودجویی می باشند . بنابراین مهم ترین پیشنهاد راه

منابع

- 1-Moore L. Black Cherry. Natural Resources Conservation Service. Plant Guide.2006.
- 2-Kenneth.J.,Black Cherry, Prunes serotina.www.pub.med.2006.
- 3-JECFA. Report of the 44th joint FAO/WHO. Expert committee. on food additives TRS859,Geneva.P.15.1995.
- 4-US. Food and Drug Administration. Toxicological principles for the Safety assessment of food ingredients. Office of food additive safety red book 2004.
- 5-US. Food and Drug Administration. Toxicological testing of Food Additives. Office of remarket approval. Center for food Safety and applied nutrition.1997.
- 6- 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 Administration. Regul Toxicol Pharmacol.1999;30(1):29-38.
- 7- Revision C, Tomes FX, Collins C, Robert L, Sprado M, Shackelford D. Food and Drug Administration. Proposed Testing Guidelines for Developmental Toxicity Studies. Journal of Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2002;30:39-44.
- 8-CSPI S. Guide to Food Additives. Introduction to food Additives, Chemical Cuisine. 2004.
- 9- 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 Administration. Regul Toxicol Pharmacol.1999;30(1):29-38.

- 10- Kokoski CJ. Overview of FDA's Redbook guidelines. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1992;32(2):161-163.
- 11- Institute of standards and industrial research of Iran ISIR no 740. 4th revision. 5th edition. 2008 .
- 12- 10-FDA/IFIC. Food Color Facts, US. Food and Drug Administration, Brochure. 1993.
- 13- UFIC. Backgrounder on food additives. Nutrition and Health. Journalist access. 2004.
- 14- Ardenn GB, Backer FM. Canthaxanthin and eye. A critical toxicological assessment. *Journal of Toxicology, CUT and Ocular Toxicol.* 1991;10:115-135.
- 15- Opinion on toxicological data coloring agents for medical products: Canthaxanthin adopted by the scientific committee on medicinal products and medical devices on 21 October 1998.
- 16 -Tehranifar A. Barberry growing in Iran. www.actahort.org. 2006.
- 17- Grieve M. Barberry, Common. www.botanical.com. 2006.
- 18- Jazayeri G. Foods language, Second edition. Amir Kabir publication, 2006.