



**T.C.  
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA KATKI MADDELERİNİN (BENZOİK ASİT, SODYUM  
NİTRAT, ALLURA RED, TARTRAZİN, SUNSET YELLOW)  
*Caenorhabditis elegans* ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Handan SARAÇ  
(201492042125)**

**Biyoloji Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Musa SARI**

**SIVAS  
HAZİRAN 2019**

**Handan SARAÇ**'ın hazırladığı ve “**GIDA KATKI MADDELERİNİN (BENZOİK ASİT, SODYUM NİTRAT, ALLURA RED, TARTRAZİN, SUNSET YELLOW) *Caenorhabditis elegans* ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

<b>Tez Danışmanı</b>	<b>Doç. Dr. Musa SARİ</b> Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	.....
<b>Jüri Üyesi</b>	<b>Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU</b> Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi	.....
<b>Jüri Üyesi</b>	<b>Prof. Dr. Mehmet Ali AKPINAR</b> Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	.....
<b>Jüri Üyesi</b>	<b>Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ</b> Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	.....
<b>Jüri Üyesi</b>	<b>Dr. Öğr. Üyesi Engin GÜNDOĞDU</b> Gümüşhane Üniversitesi	.....

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

**Prof. Dr. İsmail ÇELİK**

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



*Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından F-554 Nolu proje kapsamında desteklenmiştir.*



Bütün hakları saklıdır.  
Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Handan SARAÇ, 2019

Çalışma sırasında bana destek olan aileme, eşime ve kızıma

## ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

24.06.2019

Handan SARAÇ

## KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, her aşamada beni yönlendiren danışman hocam Doç. Dr. Musa SARİ'ye çok teşekkür ederim.

Tez dönemi süresince yapıcı ve iyimser yaklaşımları ile bana yol gösteren değerli hocalarım; Prof. Dr. Mehmet Ali AKPINAR'a ve Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU'na sonsuz teşekkürler.

Deneyisel çalışmalarım süresince deneyimlerini benimle paylaşan, bütün sorularıma bıkmadan cevap veren, yardımlarını esirgemeyen Sayın Uzm. Veteriner Hekim Necati ÖZPINAR'a ve Dr. Öğr. Üyesi Hülya ÖZPINAR'a teşekkür ederim.

Değerli mesai arkadaşım ve akademik anlamda örnek aldığım insan Dr. Öğr. Üyesi Ahmet DEMİRBAŞ'a verdiği destek ve yaptığı katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca, annem Melahat TİDİN ve babam Halil TİDİN'e bu süreçte yanımda oldukları ve manevi desteklerini hissettirdikleri için sonsuz teşekkürler.

Çalışma süresince bana gerekli vakti sağlamak için elinden geleni yapan, süreci iyi ve sorunsuz geçirmeme vesile olan, desteğini hep hissettiğim sevgili eşim İkrım SARAÇ'a ve tabiki teşekkürü en çok hakeden, doktorayı benimle birlikte yaptığını söyleyebileceğim, yaşı küçük anlayışı büyük canım kızım Elif Ada SARAÇ'a teşekkür ediyorum, sevgilerimi sunuyorum.

## ÖZET

**GIDA KATKI MADDELERİNİN (BENZOİK ASİT, SODYUM NİTRAT,  
ALLURA RED, TARTRAZİN, SUNSET YELLOW)  
*Caenorhabditis elegans* ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Handan SARAÇ**

**Doktora Tezi**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Musa SARI**

**2019, 101 + xix sayfa**

Günümüzde gıda sektöründeki kullanımı oldukça yaygın olan gıda katkı maddeleri, gıdalara bazı özellikler kazandırmak için kullanılan ve başlangıçta zararsız gibi görünen maddeler olmasına rağmen, bu maddelerin zamanla insanların vücudunda birikim gösterebileceği ve belirli dozların üzerinde bu katkı maddelerine maruz kalan insanlarda hayat kalitesini olumsuz etkileyen veya kanser gibi ölümlerle sonuçlanabilen hastalıkların ortaya çıkabileceği tespit edilmiştir. Bu nedenle, gıda katkı maddelerinin genotoksik potansiyellerini ve insan sağlığı açısından olumsuz etkilerini ortaya çıkarabilecek çalışmalar gıda güvenliğinin sağlanması açısından oldukça önemlidir. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), insanlar için toksik ya da toksik etki gösterebilecek maddelerin sebep olabileceği etkilerin ve toksik dozlarının belirlenmesinde oldukça sık kullanılan önemli bir model organizmadır. Bu çalışmada, insanlarda bazı hastalıklara sebep olduğu bilinen sentetik gıda katkı maddelerinden; benzoik asit, sodyum nitrat, allura red, tartrazin ve sunset yellow'un farklı dozlarının; bir model organizma olan *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında; *C. elegans* kültür ortamına her bir katkı maddesinden 5 farklı dozda (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g /10 mL) ekleme yapılmış ve sonrasında katkı maddelerinin bu dozlarına maruz kalan *C. elegans*'ta, yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme değişiklikleri incelenmiştir. Bulgular kontrol gruplarıyla karşılaştırma yapılarak değerlendirilmiştir.



Çalışma sonucunda, benzoik asit'in 0,006 g/10 mL'lik dozu hariç diğer tüm uygulama dozlarının, sodyum nitrat, allura red, tartrazin ve sunset yellow'un ise tüm uygulama dozlarının doz artışı ile birlikte yaşam süresini kısalttığı ve bütün uygulama gruplarının doz artışına bağlı olarak fertilitiyi olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Ayrıca, benzoik asit ve sodyum nitrat dozlarının tamamının, tartrazin dozlarından 0,006 g/10 mL hariç diğerlerinin, sunset yellow'un ise, 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL'lik dozlarının büyüme geriliğine yol açtığı belirlenirken, allura red'in 0,1 g/10 mL'lik dozunun fiziksel büyümeyi artırdığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Benzoik asit, sodyum nitrat, gıda boyaları, *Caenorhabditis elegans*, yaşam süresi, fertilitite, fiziksel büyüme

## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF THE EFFECTS OF FOOD ADDITIVES (BENZOIC ACID, SODIUM NITRATE, ALLURA RED, TARTRAZINE, SUNSET YELLOW) ON *Caenorhabditis elegans***

**Handan SARAÇ**

**PhD Thesis**

**Department of Biology**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Musa SARİ**

**2019, 101 + xix pages**

The food additives, which are widely used in the food sector presently, are targeted at gaining some additional properties to foods, and although initially appearing to be harmless, it has been found that these substances may accumulate in the body of the humans over time, and that exposure to these additives above certain doses may adversely affect the quality of life and cause diseases, such as cancer or may even result in death of the individual. Therefore, studies can reveal that the genotoxic potential of food additives and their negative effects on human health are very vital in ensuring food safety. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) is an important model organism, which is used frequently in the determination of effects and toxic doses caused by substances that are toxic or toxic to humans. The aim of this study is to determine the effects of different doses benzoic acid, sodium nitrate, allura red, tartrazine and sunset yellow which are food substances that cause effects on lifespan, fertility and physical growth in *C. elegans*, a model organism. In this study, 5 different doses (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g /10 mL) of each additive were added to *C. elegans* culture media and then the lifespan, fertility and physical growth changes of *C. elegans* exposed to these doses of additives were examined. Findings were assessed by comparing them to control groups. At the end of the study, it was observed that all application doses except for 0,006 g/10 mL dose of benzoic acid, sodium nitrate, allura red, tartrazine and sunset yellow shortened the lifespan with increasing dose of all

application doses and it was also determined that all application groups negatively affect fertility with the increase in dose. Also, it was found that all doses of benzoic acid and sodium nitrate, all doses of tartrazine doses except 0,006 g/10 mL dose, 0,02 g, 0,05 g and 0,1 g/10 mL doses of sunset yellow were determined to cause growth retardation, and 0,1 g/10 mL dose of allura red was found to increase physical growth.

**Key Words:** Benzoic acid, sodium nitrate, food colorings, *Caenorhabditis elegans*, lifespan, fertility, physical growth



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR</b> .....	vii
<b>ÖZET</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xv
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	xvii
<b>SİMGELER DİZİNİ</b> .....	xviii
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xix
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI</b> .....	4
2.1. Gıda Katkı Maddesi (GKM) Nedir? .....	5
2.2. Gıda Katkı Maddelerinin Tarihi.....	6
2.3. Gıda Katkı Maddelerinin Kullanım Amaçları ve Sınıflandırılması.....	7
2.4. "E" Kodları ve Gıda Etiketleme .....	8
2.5. Gıda Katkı Maddelerinin Sağlık Üzerine Etkileri.....	10
2.6. Çalışmada Kullanılan Gıda Katkı Maddeleri .....	12
2.6.1. Koruyucu Gıda Katkı Maddeleri (Antimikrobiyaller) .....	12
2.6.1.1. Benzoik Asit (E 210).....	13
2.6.1.2. Benzoik Asit'in Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri .....	14
2.6.1.3. Benzoik Asit ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	16
2.6.1.4. Sodyum Nitrat (E 251) .....	17
2.6.1.5. Sodyum Nitrat'ın Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri... ..	18
2.6.1.6. Sodyum Nitrat ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	20
2.6.2. Gıda Boyaları (Renklendiriciler).....	21
2.6.2.1. Allura Red (E 129) .....	25

2.6.2.2. Allura Red'in Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri.....	25
2.6.2.3. Allura Red ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	26
2.6.2.4. Tartrazin (E 102) .....	27
2.6.2.5. Tartrazin'in Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri.....	27
2.6.2.6. Tartrazin ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	28
2.6.2.7. Sunset Yellow (E 110) .....	29
2.6.2.8. Sunset Yellow'un Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri ..	30
2.6.2.9. Sunset Yellow ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	31
2.7. <i>Caenorhabditis elegans</i> ( <i>C. elegans</i> )' in Özellikleri .....	32
2.7.1. <i>C. elegans</i> ' in Model Organizma Olarak Seçilmesinin Sebepleri.....	37
<b>3. ÇALIŞMANIN AMACI .....</b>	<b>39</b>
<b>4. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>41</b>
4.1. <i>E. coli</i> OP50 Suşu İçin TBX Agar Besiyerinin Hazırlanması .....	41
4.2. <i>E. coli</i> OP50 Suşunun Saflaştırılması .....	41
4.2. <i>E. coli</i> OP50 Suşu İçin Sıvı Besiyerinin Hazırlanması.....	42
4.3. Nematod Besiyeri (Nematode Growth Media, NGM)'nin Hazırlanması .....	42
4.4. NGM'de <i>C. elegans</i> 'ların Kültüre Alınması.....	43
4.5. Gıda Katkı Maddelerini İçeren NGM'lerin Hazırlanması.....	43
4.6. <i>C. elegans</i> ' ların Senkronizasyonu .....	44
4.7. Yaşam Süresi Analizi.....	44
4.8. Fertilite Analizi .....	45
4.9. Fiziksel Büyüme Analizi.....	46
4.10. İstatistiksel Analizler.....	46
<b>5. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>47</b>
5.1. Benzoik Asit Araştırma Bulguları.....	47
5.1.1. Benzoik Asit Yaşam Süresi Analizi Bulguları.....	47

5.1.2. Benzoik Asit Fertilite Analizi Bulguları .....	50
5.1.3. Benzoik Asit Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları.....	51
5.2. Sodyum Nitrat Araştırma Bulguları .....	53
5.2.1. Sodyum Nitrat Yaşam Süresi Analizi Bulguları .....	53
5.2.2. Sodyum Nitrat Fertilite Analizi Bulguları.....	56
5.2.3. Sodyum Nitrat Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları .....	57
5.3. Allura Red Araştırma Bulguları .....	60
5.3.1. Allura Red Yaşam Süresi Analizi Bulguları .....	60
5.3.2. Allura Red Fertilite Analizi Bulguları .....	63
5.2.3. Allura Red Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları .....	64
5.4. Tartrazin Araştırma Bulguları .....	66
5.4.1. Tartrazin Yaşam Süresi Analizi Bulguları .....	67
5.4.2. Tartrazin Fertilite Analizi Bulguları.....	69
5.4.3. Tartrazin Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları .....	71
5.5. Sunset yellow Araştırma Bulguları .....	73
5.5.1. Sunset yellow Yaşam Süresi Analizi Bulguları .....	73
5.5.2. Sunset yellow Fertilite Analizi Bulguları.....	76
5.5.3. Sunset yellow Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları .....	78
5.4. Genel Değerlendirme .....	81
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>86</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>88</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>101</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1 Benzoik asit'in kimyasal yapısı .....	14
Şekil 2.2 Benzoik asit ve Sodyum benzoat'ın kimyasal yapısı .....	14
Şekil 2.3 Sodyum nitrat'ın kimyasal formülü .....	18
Şekil 2.4 Allura red'in kimyasal formülü .....	25
Şekil 2.5 Tartrazin'in kimyasal formülü .....	27
Şekil 2.6 Sunset Yellow'un kimyasal formülü .....	29
Şekil 2.7 Nomarski Görüntülemesi (DIC) ile yüksek büyütme gücü altında çekilen <i>C. elegans</i> görüntüleri .....	33
Şekil 2.8 <i>C. elegans</i> 'ın yaşam döngüsü .....	34
Şekil 2.9 Hermafrodit ve erkek <i>C. elegans</i> bireylerinin genel vücut yapısı .....	35
Şekil 2.10 <i>C. elegans</i> 'ta kendi-döllemenin ve çapraz döllemenin gerçekleşmesi .....	36
Şekil 4.1 <i>E. coli</i> OP50 suşunun TBX agar besi yerindeki koloni görüntüsü .....	42
Şekil 4.2 <i>C. elegans</i> 'ların kültür ortamı .....	43
Şekil 4.3 Çalışmada kullanılan gıda boyalarının farklı dozlarını içeren NGM'ler .....	44
Şekil 4.4 <i>C. elegans</i> 'ların stereo mikroskop altındaki aktarım işlemi .....	45
Şekil 4.5 <i>C. elegans</i> 'ların ışık mikroskobu (4x) altındaki yumurta görüntüsü .....	46
Şekil 5.1 Benzoik asit'in farklı dozlarının <i>C. elegans</i> 'ta yaşama yüzdesine olan etkisi .....	49
Şekil 5.2 Benzoik asit'in <i>C. elegans</i> 'ta yumurta verimine olan etkisi ....	51
Şekil 5.3 Benzoik asit'in farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları .....	52
Şekil 5.4 Benzoik asit'in <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi ...	53
Şekil 5.5 Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının <i>C. elegans</i> 'ta yaşama yüzdesine olan etkisi .....	55
Şekil 5.6 Sodyum nitrat'ın <i>C. elegans</i> 'ta yumurta verimine olan etkisi ....	57

<b>Şekil 5.7</b> Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları .....	58
<b>Şekil 5.8</b> Sodyum nitrat'ın <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi ...	59
<b>Şekil 5.9</b> Allura red'in farklı dozlarının <i>C. elegans</i> 'ta yaşama yüzdesine olan etkisi .....	62
<b>Şekil 5.10</b> Allura red'in <i>C. elegans</i> 'ta yumurta verimine olan etkisi .....	64
<b>Şekil 5.11</b> Allura red'in farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları .....	65
<b>Şekil 5.12</b> Allura red'in <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi .....	66
<b>Şekil 5.13</b> Tartrazin'in farklı dozlarının <i>C. elegans</i> 'ta yaşama yüzdesine olan etkisi .....	68
<b>Şekil 5.14</b> Tartrazin'in <i>C. elegans</i> 'ta yumurta verimine olan etkisi .....	70
<b>Şekil 5.15</b> Tartrazin'in farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları .....	71
<b>Şekil 5.16</b> Tartrazin'in <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi .....	72
<b>Şekil 5.17</b> Sunset yellow'un farklı dozlarının <i>C. elegans</i> 'ta yaşama yüzdesine olan etkisi .....	75
<b>Şekil 5.18</b> Sunset yellow'un <i>C. elegans</i> 'ta yumurta verimine olan etkisi	77
<b>Şekil 5.19</b> Sunset yellow'un farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları .....	78
<b>Şekil 5.20</b> Sunset yellow'un <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi	79



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 GKM'lerin temel işlevlerine göre E kodları ile sınıflandırılması .....	10
Çizelge 2.2 Benzoik asit'in kimyasal özellikleri .....	13
Çizelge 2.3 Sodyum nitrat'ın kimyasal özellikleri .....	18
Çizelge 2.4 Çalışmada kullanılan gıda boyaları ve özellikleri .....	24
Çizelge 5.1 Benzoik asit'in <i>C. elegans</i> 'ta yaşam süresine olan etkisi .....	48
Çizelge 5.2 Benzoik asit'in <i>C. elegans</i> 'ta fertiliteye olan etkisi .....	50
Çizelge 5.3 Benzoik asit'in <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi .....	52
Çizelge 5.4 Sodyum nitrat'ın <i>C. elegans</i> 'ta yaşam süresine olan etkisi .....	54
Çizelge 5.5 Sodyum nitrat'ın <i>C. elegans</i> 'ta fertiliteye olan etkisi .....	56
Çizelge 5.6 Sodyum nitrat'ın <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi .....	58
Çizelge 5.7 Allura red'in <i>C. elegans</i> 'ta yaşam süresine olan etkisi .....	61
Çizelge 5.8 Allura red'in <i>C. elegans</i> 'ta fertiliteye olan etkisi .....	63
Çizelge 5.9 Allura red'in <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi .....	65
Çizelge 5.10 Tartrazin'in <i>C. elegans</i> 'ta yaşam süresine olan etkisi .....	67
Çizelge 5.11 Tartrazin'in <i>C. elegans</i> 'ta fertiliteye olan etkisi .....	69
Çizelge 5.12 Tartrazin'in <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi .....	72
Çizelge 5.13 Sunset yellow'un <i>C. elegans</i> 'ta yaşam süresine olan etkisi .....	74
Çizelge 5.14 Sunset yellow'un <i>C. elegans</i> 'ta fertiliteye olan etkisi .....	76
Çizelge 5.15 Sunset yellow'un <i>C. elegans</i> 'ta fiziksel büyümeye olan etkisi ...	79

## SİMGELER DİZİNİ

<b>g</b>	Gram
<b>kg</b>	Kilogram
<b>mL</b>	Mililitre
<b>mm</b>	Milimetre
<b>L</b>	Litre
<b>M</b>	Molar
<b>µm</b>	Mikrometre
<b>%</b>	Yüzde
<b>°C</b>	Santigrat derece
<b>mM</b>	Milimolar
<b>rpm</b>	Revolutions per minute
<b>N = N</b>	Nitroen-Nitrojen bağı
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	Distile su
<b>dk</b>	Dakika

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AB</b>	: Avrupa Birliği
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ADI</b>	: Acceptable Daily Intake - Kabul Edilen Günlük Tüketim Miktarı
<b>BHA</b>	: Bütilendirilmiş hidroksianisol
<b>BHT</b>	: Bütilendirilmiş hidroksitoluen
<b>CAC</b>	: Codex Alimentarius Commission - Gıda Kodeks Komisyonu
<b>CAS</b>	: Chemical Abstract Service
<b><i>C. elegans</i></b>	: <i>Caenorhabditis elegans</i>
<b>CGC</b>	: Caenorhabditis Genetik Merkezi
<b>DEHB</b>	: Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>EC</b>	: European Commission - Avrupa Topluluğu
<b><i>E. coli</i></b>	: <i>Escherichia coli</i>
<b>FDA</b>	: US Food and Drug Administration-Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
<b>FAO</b>	: Food and Agricultural Organization - Gıda ve Tarım Kuruluşu
<b>FUDR</b>	: Fluodeoxuridine
<b>GKM</b>	: Gıda katkı maddesi
<b>GRAS</b>	: Generally Recognized As Safe - Güvenli Kabul Edilen Maddeler
<b>IARC</b>	: Uluslararası Kanser Araştırma Dairesi
<b>INS</b>	: The International Numbering System-Uluslararası Numaralama Sistemi
<b>IRDC</b>	: International Research and Development Corporation
<b>LOEL</b>	: Lowest Observed Adverse Effect Level
<b>LST</b>	: Lauryl Sulfate Broth
<b>MHb</b>	: Methemoglobin
<b>MÖ</b>	: Milattan Önce
<b>MSG</b>	: Monosodyum glutamate
<b>NGM</b>	: Nematode Growth Media – Nematod Besi Yeri
<b>RNAi</b>	: Ribo Nükleik Asit interference
<b>SCF</b>	: Scientific Committee on Food
<b>SMART</b>	: Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
<b>TBX</b>	: Tryptone Bile X-glucuronide
<b>TGK</b>	: Türk Gıda Kodeksi
<b>WHO</b>	: World Health Organization - Dünya Sağlık Organizasyonu

## 1. GİRİŞ

Gıda katkı maddeleri (GKM'ler), gıdalara bazı özellikler kazandırmak için, bir teknoloji veya modernizasyon gereği katılan maddelerdir (Erdem, 2014). Günümüzde dünya nüfusunun hızla artışıyla beraber insanların besin ihtiyacının karşılanabilmesi, gıdaların daha uzun süre bozulmadan korunması, üretim maliyetlerinin düşürülmesi ve kalite nitelikleri ile beslenme alışkanlıkları sürekli değişen tüketici ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde formülize edilmiş yeni gıda üretiminin gerçekleştirilmesi gibi nedenlerle bu maddelerin kullanımı kaçınılmaz bir şekilde artmaktadır (Yörük ve Danyer, 2016). Özellikle ev dışı çalışanların ve hazır gıda tüketiminin yüksek olduğu batı ülkelerinde, alınan gıdaların %75'ini içlerinde çeşitli katkı maddeleri bulunan işlenmiş ürünler teşkil etmektedir ve yapılan hesaplamalar, batı insanının yılda 5-6 kg veya daha fazla katkı maddesi tükettiğini göstermektedir (Cohen vd., 1972; Yurttagün, 2010).

GKM kullanımının sağladığı en önemli avantajlardan biri, gıdanın üretildiği yerden çok daha uzak şehirlere veya ülkelere kadar bozulmadan ulaştırılabilmesine olanak sağlamaktır. Ancak, modern gıda teknolojisinde giderek daha da önemli bir hale gelen GKM'lerin gıda endüstrisi açısından pek çok yararı ve işlevi olmasına rağmen insan sağlığı üzerine olan etkileri halen bir tartışma konusudur (Yetük, 2013; Erdem, 2014). Çünkü, GKM'lerin birçoğunun, insan ve hayvan organizması için metabolize edilemeyen yabancı (toksik) maddeler olduğu bilinmektedir (Giray ve Soysal, 2007; Erkmen ve Bozoğlu, 2008; Yörük ve Danyer, 2016). Bu sebeple, bilinçsiz beslenme ve artan hazır gıda tüketiminin insanların daha fazla katkı maddesi tüketmesine neden olabileceği ve sonuç olarak, sağlık üzerinde bazı sıkıntılara yol açabileceği göz ardı edilmemelidir (Akbulut, 2011; Erdem, 2014).

Sektörel çabaların içinde insanları en fazla ilgilendiren ve yaşamın temeli olan konular gıda ve sağlık konularıdır. Günümüzde bu iki sektör birbirinden ayrılmayan hatta birbirini tamamlayan birimler halinde çalışmaktadır (Saldamlı, 1985; Erdem, 2014; Yaralı, 2014).

Gıda ve sağlık hizmetlerindeki gelişmeler ve son yenilikler eski donemlerde karşılaşılan bazı sorunlara cozmler bulsa da birtakım sorunlarını da beraberinde getirmiştir (Saldamlı, 1985; Atlı, 2010). Bu sorunların başında gelen kanser insidansındaki artışın, nedeni bilinmeyen hastalıkların ve ölümlerin, GKM’lerin son yıllardaki kullanımının artması ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir (Yaman, 1996). Ayrıca yapılan calışmalar sonucunda, GKM’lerin kullanıldığı gıdaların vitamin, mineral ve besin öğeleri bakımından yetersiz olduğu ve bu katkı maddelerinin tktiminin doza bağlı olarak, kardiyovasküler ve psikolojik rahatsızlıklardan, alerjik astım ve ürtikere kadar ceşitli hastalıkların gelişmesine olanak sağladığı tespit edilmiştir (Vincent ve Behbehani, 2001; Batu ve Molla, 2008; Uysal ve Semerdöken, 2011). Bu nedenle; hijyenik ve toksikolojik açıdan ‘‘Gıda Katkı Maddeleri’’ bir sorun olarak ele alınmış, gıda ve sağlık bilimlerinin ana calışma konularından biri haline gelmiştir. İnsan sağlığını ilgilendirmesi sebebiyle de WHO (World Health Organization - Dünya Sağlık Organizasyonu), FAO (Food and Agricultural Organization - Gıda ve Tarım Kuruluşu) ve benzeri uluslararası kuruluşlar konuya büyük oranda ağrılık vermiş ve ceşitli ülkelerde GKM’lerin kullanımı denetim altına alınarak, konuyla ilgili yasal cozmler getirilmiştir (Yaralı, 2014). Ayrıca, laboratuvarlarda uzun süreli ve ayrıntılı olarak deney hayvanları üzerinde yapılan toksikolojik testlerle katkı maddelerinin ADI değerleri (Acceptable Daily Intake – Kabul Edilen Günlük Tktim Miktarı) de belirlenmektedir (Yurttagül ve Ayaz, 2008; Cotra, 2016). ADI değerleri, insanların vücut ağrılıklarına göre hesaplanır ve kg başına mg olarak belirlenir. Bu değer, insanlarda güvenli doz olarak kabul edilmektedir (Arslan, 2011; Türker, 2011; Cotra, 2016).

Bugün ilaç, gıda katkı maddesi, kozmetik, tarım ilacı, endüstri kimyasalı olarak kullanılan her kimyasalın insan sağlığı ve cvreye olan etkisi ayrıntılı olarak incelenmekte, insan sağlığı ve cvre üzerinde kabul edilemez ölçüde risk taşıyanların kullanımına izin verilmemektedir (Karakaya, 2011). Kullanımına izin verilen katkı maddesi; yalnızca izin verildiği gıdada, belirlenen en yüksek doz aşılmadan kullanılmalıdır. Gıdadaki herhangi bir hatayı örtmek veya tüketiciyi yanıltmak için kullanılmamalı ve kullanıldığı gıdanın etiketinde kullanım miktarı mutlaka yazılmalıdır (Erdoğan, 2007; Dinç, 2012; Celik, 2014). Ancak, yapılan tüm bu düzenlemelere rağmen, GKM’lerin cok ceşitli olması, yaygın kullanımları ve cok

küçük miktarlarda bile olsa hayat boyu alınmalarından dolayı sebep oldukları zararları gerçek anlamda tespit etmeye yönelik çalışmalar henüz yetersizdir (Çalışır ve Çalışkan, 2003; Erdem, 2014). Türkiye’de yapılan bir çalışmada; gıda riskinin taşıma, işleme, depolama gibi aşamalarda da olabileceği ve ülkemiz ile Avrupa standartları arasında uyumsuzluk olduğu belirtilmiştir (Giray ve Soysal, 2007). Bu nedenle, özellikle Türkiye gibi kontrollerin yetersiz olduğu, üretici ve tüketicinin bilinçsiz olduğu toplumlarda, GKM’ler daha büyük bir tehlike oluşturmaktadır ve GKM’lerin insan sağlığı açısından olumsuz etkilerini ortaya çıkarabilecek çalışmaların ülkemizde hız kazanması oldukça önemlidir (Çalışır ve Çalışkan, 2003; Erdem, 2014).

Günümüzde, GKM’ler gibi birçok maddenin çevre ve halk sağlığı üzerindeki etkilerini göstermek amacı ile birçok model organizma kullanılmaktadır. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), basitlik, şeffaflık ve kısa yaşam döngüsü gibi temel özelliklere sahip olması nedeniyle yıllardır temel biyolojik çalışmalarda ve toksisite çalışmalarında sıklıkla kullanılan önemli bir model organizmadır (Olsen vd., 2006; Porta de la Riva vd., 2012; Savaş vd., 2018).

Memeli olmayan bir sistem olmasına rağmen, metabolik sendrom, yaşlanma, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, depresyon ve nöral dejenerasyon gibi pek çok insana ait hastalıklarda model organizma olarak kullanılmaktadır (Olsen vd., 2006).

Model organizma olarak seçilmesinin nedenleri arasında; genomunun ve genetiğinin iyi bilinmesi, insan genleri ile %60-80 oranında bir benzerlik göstermesi, ekonomik olması, in-vitro koşullarda yaşamını kolayca sürdürebilmesi ve ortalama 20 günlük kısa bir yaşam süresine sahip olması yer almaktadır (Ségalat, 2006).

Bu çalışmada, gıdalarda katkı maddeleri olarak kullanılan; benzoik asit, sodyum nitrat ve çeşitli gıda boyalarının (allura red, tartazin ve sunset yellow) farklı dozlarının, bir model organizma olan *C. elegans*’ta, yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI

Dünya nüfusunun hızla artışına ve gıda sektöründeki üretim tekniklerinin gelişmesine bağlı olarak, ürünlerin çeşitlenmesi, tüketici beğenisinin ve isteklerinin değişmesi, mevsimlik gıdaların yılın her döneminde tüketilme eğilimlerinin artması, ürünlerde raf ömrünün uzatılması, kalitede standardizasyon zorunluluğu, sınırlı olan gıda kaynaklarının rasyonel kullanımı ve insanların hayat standartlarını yükseltme eğilimi gibi hususlar, gıda endüstrisinde kullanılan tekniklerin yanı sıra GKM'lerin kullanımını da zorunlu hale getirmiştir (Erdoğan, 2007; Atlı, 2010). Bu nedenle; son 30 yıldır gelişmiş ülkeler başta olmak üzere, gıdalarda kullanılan katkı maddelerinde büyük bir artış olmuştur (Sarıkaya ve Solak, 2003; Arslan, 2011; Yörük ve Danyer, 2016).

Günümüzde gıdalarda kullanılan katkı maddeleri oldukça çeşitlidir ve çoğu aroma/lezzetlendirici olmak üzere toplam altı bin civarında gıda katkı maddesi bulunmaktadır (Arslan, 2011; Yörük ve Danyer, 2016). Ancak, iki bin'den fazla gıda katkı maddesinin gıda sanayinde kullanılmasına değişik amaçlarla izin verilerek, kullanımını birçok ülkede yasal düzenlemelerle sınırlandırılmıştır (Çakmakçı ve Çelik 1995). Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (US Food and Drug Administration, FDA) 'nin kullanımına izin verdiği gıda katkı maddesi sayısı üç bin'den fazladır (Randhawa ve Bahna, 2009; Güzel, 2013). Ancak, önemli bölümü uygun alternatifleri bulunduğu için teknik sebeplerle kullanılmamaktadır. Avrupa Birliği (AB)' nde kullanımına onay verilen gıda katkı sayısı ise iki yüz doksan yedi'dir (Boğa ve Binokay, 2010).

GKM'lerin gıdalarda kullanılabilmesi için; etkili olması, analizlerinin yapılabilmesi, sonuçlarının ölçülebilmesi ve çok sıkı bir şekilde kontrol altına alınmış koşullarda hayvanlar üzerinde deneylerinin yapılmış olması gerekmektedir (Yaman, 1996). Çünkü, yapılan çalışmalarla başlangıçta zararsız gibi görünen birtakım GKM'lerin (aspartam, benzoik asit, monosodyum glutamat, gıda boyaları, nitrat ve nitritler, parabenler, sülfidler ve benzeri) sağlığa zararlı oldukları saptanmıştır (Saldamlı, 1985; Atlı, 2010). Bu maddelerin kullanımıyla ilgili 16 aksi tesir belgelenmiştir. Bunlar;

egzama, ürtiker, angioödem, eksfoliyatif dermatit, irritabil barsak sendromu, bulantı, kusma, ishal, rinit, bronkospazm, migren, anafaksi, hiperaktivite ve diğere davranış bozukluklarıdır (Yurttagül ve Ayaz, 2008).

GKM'lerin birçoğunun insan sağığı açısından sebep olduğı zararları gerçekte anlamda tespit etmeye yönelik araştırmalar; bu maddelerin çeşitliliğı, yaygın kullanımları ve çok küçük miktarlarda bile olsa hayat boyu alınmaları ve zararlarının uzun vadede ortaya çıkması nedeniyle henüz yetersizdir (Çalışır ve Çalışkan, 2003). Bu nedenle, GKM'lerin kısa ve uzun vadede vücutta birikme olasılıklarının ve sağık üzerindeki etkilerinin ortaya konulması ve kullanım dozlarının ona göre ayarlanması büyük önem taşımaktadır (Saldamlı ve Uygun, 2005; Yüzbaşıoğlu vd., 2014).

## **2.1. Gıda Katkı Maddesi (GKM) Nedir?**

Katkı maddesi terimi “katmak” kelimesinin Latince karşılığı olan “*addere*” kelimesinden türetilmiştir (Arslan, 2011).

Gıda katkı maddesi, Türk Gıda Kodeksi Mevzuatı'nda; “Besleyici değeri olsun veya olmasın, tek başına gıda olarak tüketilmeyen ve gıdanın karakteristik bileşeni olarak kullanılmayan, teknolojik bir amaç doğrultusunda üretim, muamele, işleme, hazırlama, ambalajlama, taşıma veya depolama aşamalarında gıdaya ilave edilmesi sonucu kendisinin ya da yan ürünlerinin, doğrudan ya da dolaylı olarak o gıdanın bileşeni olması beklenen maddeler” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2013a).

Diğere bir deyişle; tüketime sunulan veya sunulacak olan gıdaların, görünüm ve lezzetlerini tüketicinin arzu ettiğı duruma getirmek, bozulmalarını önleyerek raf ömrünü uzatmak amacıyla tüketime sunulmadan önce bilinçli ve belirli bir amaç doğrultusunda gıdalara ilave edilen maddelere “Gıda Katkı Maddeleri” denilmektedir (EFSA, 2008; Carochó vd., 2015).

Tüketime sunulmadan önce, gıdalara bilinçli ve amaçlı olarak ilave edilen gıda katkı maddeleri, hile amacıyla ve besin değeri yükseltmek için kullanıldıklarında bu tanımın dışında kalırlar (Çakmakçı ve Çelik, 1995; Atlı, 2010).

Gıda maddesi terimi ise; tütün ve sadece ilaç olarak kullanılanlar hariç olmak üzere, içkiler ve sakızlar ile hazırlama ve işleme gereğı kullanılan maddeler dahil insanlar tarafından yenilen ve içilen ham, yarı veya tam işlenmiş her türlü maddeleri



kapsamaktadır (Anonim, 1997). Bu tanım; kontaminantları, yani gıdalara istenilmediği halde bulaşan kimyasal maddeleri içermemektedir. Gıda bulaşanları; bitki, hayvan ve toprak kökenli yabancı maddeler, ilaç kalıntıları, metalik ve biyolojik bulaşmalar, insan sağlığına zararlı olan plastik madde, deterjan, dezenfektan ve radyoaktif madde kalıntılarıdır (Boğa ve Binokay, 2010).

## **2.2. Gıda Katkı Maddelerinin Tarihi**

Gıda katkı maddelerinin kullanımı insanlık tarihi kadar eskilere dayanır. İnsanoğlunun ateşi bulup çevresindeki hammaddeleri pişirerek tüketmeye başladığı dönemde, insanlar tarafından kullanılan ilk doğal gıda katkı maddeleri; tuz, odun tütsüsü ve baharatlar olarak bilinmektedir (Altuğ, 2009). Milattan önce (MÖ) 3000-900 yıllarında; et ürünleri kürlenme amacıyla tuzlanmış, saklamak için odun tütsüsüne tutularak kurutulmuş, peynir ise balmumu ile sıvanarak uzun süre korunabilmiştir (Boğa ve Binokay, 2010). MÖ 50'li yıllarda baharatlardan lezzet verici olarak yararlanılmış, gıda boyaları ise günümüzden yaklaşık 3500 yıl kadar önce Mısırlılar tarafından renklendirici olarak kullanılmışlardır (Atman, 2004; Erdem, 2014).

Orta çağlara gelindiğinde, etlere koruyucu amaçla tuz ve tütsünün yanı sıra nitrat katılarak, etin rengi olumlu yönde değiştirilmiş ve daha sağlıklı bir görüntü kazandırılarak, bozulması önlenmiştir (Altuğ, 1999; Mermer, 2007; Arslan, 2011).

19. yüzyılda ise, insan nüfusunun artması, tüketimin artmasına neden olmuş ve üretilen yeni gıdalarda gıda katkı maddelerinin kullanımı hızla yaygınlaşmıştır. Katkı maddelerin ticari anlamda işlem görmesine dair ilk kayıt ise 1800'lerde kalsiyum fosfatlarla olmuştur. 1856 yılında yapay boya maddelerinin üretimi başlamıştır. Günümüzde, GKM olarak kullanımı çok yaygın olan benzoik asit, sodyum karbonat, sakarin gibi maddeler de bu yüzyılda gıdalara katılmaya başlanmıştır. Bu nedenle, 19. yüzyılda teknolojinin gelişmesi, şehirleşmenin hızlanması ve sanayileşmenin başlamasıyla birlikte GKM'lerin kullanımında artış görülmüştür (Arslan, 2011; Akbulut, 2011; Boğar, 2012; Erdem, 2014)

20. yüzyılda gıda üretiminin artması ile GKM'lerin kullanımı daha da artmıştır. İşlenmiş peynir yapımında sitratlar, fosfatlar gibi emülsifiye edici tuzlar kullanılmış, emülgatör kullanımı ile margarin yapımı giderek kolaylaşmış, gıdaların duyu kalitesini geliştirmek amacıyla lezzet maddeleri ve lezzet/aroma artırıcılardan

yararlanılmaya başlanmıştır (Yılmaz, 2007; Erdem, 2014). Yine bu yüzyılda (1945-1950'li yıllar), GKM'ler hem ticari hem de endüstriyel olarak kullanılmaya başlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) 1956 yılında, 43 ülkeyi kapsayan ve 114 yapay renk maddesi ile 50 doğal renk maddesini içeren bir liste yayımlayarak katkı maddesi kullanımına izin vermiştir ve böylece katkı maddelerinin gıda sektöründe uygulamaya alınmasına yol açmıştır (Saldamlı, 1998; Çelik, 2014)

Günümüzde ise, bilim ve teknolojinin ilerlemesi gıda katkı maddelerinde önemli gelişmelere yol açarak, katkı maddelerinin üretim sektörünün vazgeçilmezi haline gelmesine olanak sağlamış ve buna bağlı olarak da bu maddelerin gıdalarla ilgili neredeyse her alanda kullanımı yaygınlaşmıştır (Yörük ve Danyer, 2016). Nitekim, kullanım amaçlarına göre gıda katkı maddelerinin çeşitleri ve buna bağlı olarak da üretimdeki sayıları artmıştır (Dağoğlu vd., 1995). 1900'lü yıllarda 10 milyar dolar olan bu pazarın 21. yüzyılda daha da büyüdüğü görülmektedir (Yurttagül vd., 2005; Mermer, 2007; Kaya, 2011; Boğar, 2012).

### **2.3. Gıda Katkı Maddelerinin Kullanım Amaçları ve Sınıflandırılması**

Günümüzde GKM'ler; gıdanın besin değerini korumak, özgün diyet ihtiyacı olanlar için özel gıdalar üretmek, gıdanın dayanıklılığını artırarak raf ömrünü uzatmak, gıdanın dokusal özelliğini korumak ve geliştirmek, gıdanın rengini ve lezzetini çekici hale getirmek ve korumak, gıdada hastalık yapan zararlı mikroorganizmaların gelişimini önlemek ve gıdada çeşitliliği artırmak amacıyla kullanılmaktadır (Erişik, 2012; Erdem, 2014).

GKM'leri kullanım amaçlarına göre; 4 temel sınıfa ayırabiliriz (Karaali, 2006; Mermer, 2007; Yurttagül ve Ayaz, 2008):

#### 1. Kaliteyi Koruyarak Raf Ömrünü Uzatanlar (Koruyucular)

- Antimikrobiyaller (nitrit, nitrat, benzoik asit, propiyonik asit, sorbik asit, kükürt dioksit)
- Antioksidanlar (bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), gallatlar)

#### 2. Yapıyı ve Hazırlama, Pişme Özelliğini Geliştirenler

- pH ayarlayıcılar
- Topaklanmayı önleyenler (silikat, magnezyum oksit, magnezyum karbonat)
- Emülsifiyerler (lesitin, mono ve digliseridler)
- Stabilizörler, kıvam artırıcılar, tatlandırıcılar
- Mayalanmayı sağlayıcı ajanlar
- Nem ayarlayıcılar
- Olgunlaştırıcılar
- Ağartıcılar, dolgu maddeleri, köpük ayarlayıcılar, parlaticılar

#### 3. Aromayı ve Rengi Geliştiriciler

- Çeşni artırıcılar (monosodyum glutamat (MSG))
- Çeşni vericiler (aroma maddeleri)
- Renklendiriciler (tartazin, indigotin...vb)

#### 4. Besin Değerini Koruyucu, Geliştiriciler (besin öğeleri)

- İşleme sırasında kaybolan besin öğelerini yerine koyma (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, niasin)
- Diyetle eksik olabilecek besin öğelerini ekleme (A, D vitaminleri)

#### 2.4. "E" Kodları ve Gıda Etiketleme

Gıdalarda GKM'lerin kullanımıyla ilgili olarak, uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (Codex Alimentarius Commission, CAC) tarafından önerilen ilkeler Avrupa Topluluğu (European Commission, EC) tarafından da benimsenen ve yayınlanan bir direktifle yürürlüğe girmiştir. "E" kodları, GKM'leri tanımlamak ve herhangi bir

karışıklığa yol açmamak için kullanımına izin verilen maddelere verilen ve Avrupa Birliği'nin (European Commission, EC) simgesi olarak "European" kelimesinin baş harfi olan "E" harfi ile üç veya dört rakamlı sayıdan oluşturulmuş kodlardır. Bu kodlar Avrupa Birliği'nin bir alt komitesi olan "Scientific Committee on Food (SCF)" tarafından belirlenmektedir. Doğal veya sentetik olsun gıda maddelerinde kullanılan tüm GKM'ler bu kodlama sisteminin içinde yer almaktadır (Saldamlı, 1985; Boğa ve Binokay, 2010; Küçüköner, 2011; Erdem, 2014). E kodu verilen gıda katkı maddeleri, Avrupa Birliği'nin ilgili sağlık/gıda otoritelerinin gerekli güvenlik testlerinden geçmiş ve bu maddelerin tüm spesifikasyonları belirlenmiştir. Bu bir güvenliğin ve denetimin ifadesidir (Arslan, 2011).

Ülkemizde, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nde, E kodları ile belirtilen tüm katkı maddeleri gerek CAC gerekse EC listelerinde yer alan maddelerdir (Boğa ve Binokay, 2010; Küçüköner, 2011; Erdem, 2014). Ancak, bazı ülkeler tarafından kullanımına izin verilen katkı maddeleri için sınırlamalar getirilmiştir. Örneğin, listelerde izin verildiği halde bazı katkı maddelerini Amerika, Avusturya, Avrupa kendi ülke sınırları içerisinde yasaklamışlardır (Anonim, 2013b).

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nde çeşitli amaçlarla kullanılan yaklaşık 370 gıda katkı maddesi yer alırken, aroma maddelerinin sayısı 1700 civarındadır. Aroma maddeleri çok geniş bir grubu kapsadığı için bu maddelere E kodu verilmemiştir (Yurttagül ve Ayaz, 2008; Boğa ve Binokay, 2010; Türker, 2011). Ayrıca, halen kullanılmakta iken zararlı olduğu ortaya çıkan katkı maddeleri iptal edilirken yeni katkı maddeleri de ilave edilebilmektedir. Bu nedenle, E kodu alan katkı maddelerinin sayısı sürekli değişmektedir (Anonim, 2008; Ekici vd., 2008). Bir maddenin E koduna sahip olması, direkt olarak zararlı veya zararsız olduğu hakkında bilgi vermez. Ancak, E kodu olmayanlara göre bir olumlu özellik olarak değerlendirilebilir (Anonim, 2018a).

**Çizelge 2.1** GKM'lerin temel işlevlerine göre E kodları ile sınıflandırılması  
(Küçüköner, 2011).

<b>E Kodları</b>	<b>Gıda Katkı Grupları</b>
E 100-199	Renklendiriciler
E 200-299	Koruyucular, Antimikrobiyaller
E 300-399	Antioksidanlar, Fosfatlar
E 400-499	Kıvam artırıcılar, Emülgatörler, Stabilizörler, Nem Tutucular
E 500-599	İncelticiler, Tuzlar
E 600-699	Lezzet Artırıcılar
E 900-999	Tatlandırıcılar, Yüzey Kaplama Ajanları, Gazlar
E 1000-1399	Değişik Katkılar
E 1400-1499	Modifiye Nişastalar

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre, gıda etiketinde içindikiler kısmında, besine katılmış olan katkı maddesinin fonksiyonu ile birlikte adı veya E kodunun yazılması zorunludur (Yurdagül, 2006). E kodları, gıda etiketlerinde; E 621: MSG, E 102: Tartrazin, E 330: Sitrik asit şeklinde belirtilmektedir (Atman, 2004).

E kodunun yanı sıra, uluslararası geçerliliği olan INS (The International Numbering System) veya CAS (Chemical Abstract Service) numarası gibi daha genel numaralandırma sistemleri de vardır (Gültekin, 2014b; Çayıroğlu, 2015).

Yakında numaralar aynı kalmak şartıyla, E harfi yerine, INS harflerinin getirileceği çalışmalar ise devam etmektedir.

## **2.5. Gıda Katkı Maddelerinin Sağlık Üzerine Etkileri**

Gelişen teknoloji ile birlikte GKM'lerin daha yaygın kullanılması beraberinde bu maddelerin sağlık üzerine olan etkileri hakkında bazı soruları akla getirmiştir (Kaya, 2011). GKM'lerin gıda endüstrisine sağladığı avantajlara rağmen, her gün onlarca farklı GKM ve gıdalara dışarıdan bulaşan diğer kimyasal maddelerin etkisine maruz kalan tüketiciler, GKM'lerin sağlığa zararlı olduğu fikrini taşımaktadırlar. Tüketicinin bu düşüncesine sebep olan faktörlerden başlıcaları; kötü kalitede veya bozulmuş gıdayı maskeleyen, gıdaları hatalı işleme, taklit gıda yapımı, ürünün besleyici değerini

azaltma, istenilen etkiyi oluşturacak teknik miktardan fazla kullanma, işleme ve ambalaj tekniklerine uymamadır (Boğa ve Binokay, 2010; Yurttagün, 2010). Ayrıca, yapılan çalışmalarda bu maddelerin sağlık üzerindeki olumsuz etkileri direkt olarak kullanım miktarıyla ilişkilendirilmiş ve buna bağlı olarak, GKM'lerin yaygın kullanımının özellikle bu maddelere karşı duyarlı kişilerde olumsuz etkiler oluşturabileceği ve çeşitli kronik hastalıkların gelişimine zemin hazırlayacağı konusunda toplumda ve bilim insanlarında duyarlılık gelişmiştir (Kaya, 2011). Avrupa'da nüfusun %0,03-0,1'inin GKM'lere karşı duyarlı olabileceği saptanmıştır (Çalışır ve Çalışkan, 2003).

Kullanımına izin verilen katkı maddelerinin denetiminde değerlendirilmesi gereken en önemli hususlar; bu maddelerin gıda saflığında olmaları, gıdalarda izin verilen sınırı aşmamaları ve insan sağlığına olan etkilerinin tespit edilmiş olmasıdır. Ayrıca, gerek katkı maddeleri kullanımında, gerekse gıda tüketiminde Toksikoloji biliminin öncülerinden Paracelcus (1493- 1541)'un "Her madde toksindir, ancak toksin ile ilacı birbirinden ayıran dozdur" ifadesi de unutulmamalıdır (Kaya, 2011; Erdem, 2014).

GKM'ler tavsiye edilen dozlardan daha yüksek miktarlarda kullanıldıkları zaman toksik etkileri ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, günümüzde GKM'lerin toksikolojik değerlendirmeleri, uluslararası boyutta ele alınmakta olup, söz konusu değerlendirmelerde akut, genetik ve farmakokinetik çalışmalara yer verilmektedir (Akbulut, 2011; Erdem 2014). Toksik ve karsinogenik olarak değerlendirilen GKM'lerin kullanımı yasalarla engellenmektedir (Kaya, 2011). Ancak, GKM'ler sağlığa zarar vermeyecek dozlarda kullanılsalar bile, bir süre sonra bu maddelerin vücutta birikerek zararlı miktarlara ulaşabileceği ve insan sağlığını doğrudan ya da dolaylı olarak tehdit edebileceği göz ardı edilmemelidir (Sarıkaya ve Solak, 2003; Lino ve Pena, 2010; Güzel, 2013; Yüzbaşıoğlu vd., 2014). Ayrıca, GKM'ler eş zamanlı alındıkları bazı durumlarda birbirlerinin etkilerini artırıp azaltabilirler. Özellikle iki katkı maddesi aynı hedef organı etkiliyorsa ve uzun süre alınıyorsa bu etki daha belirgin olabilir (Groten, 2000; Yörük ve Danyer, 2016).

GKM'lerin, ADI değerleri aşıldığında ortaya çıkabilecek rahatsızlıklar içinde en sık görülenleri; egzama, astım, baş ağrısı, kusma, intolerans, alerjik kaşıntılar, gastrik rahatsızlıklar, ishal, titreme, zayıflık, DNA lezyonu, üreme sisteminde olumsuz etkiler, teratojenik ve mutajenik etkiler, hemoglobin yıkımı, merkezi sinir sisteminde geri

dönüşü olmayan hasarlar ve özellikle çocuklarda görülen hiperaktivite ile öğrenme bozukluğudur (Pollock ve Warner, 1990; Çalışır ve Çalışkan, 2003; Edu ve Gaceu, 2010).

## **2.6. Çalışmada Kullanılan Gıda Katkı Maddeleri**

Çalışma kapsamında beş farklı GKM kullanılmıştır. Bunlar; gıda koruyucu maddelerinden Benzoik asit ve Sodyum nitrat; gıda boyalarından ise Allura red, Tartrazin ve Sunset yellow'dur.

### **2.6.1. Koruyucu Gıda Katkı Maddeleri (Antimikrobiyaller)**

GKM'ler içerisinde, yaygın bir şekilde kullanılan koruyucu maddeler, gıdalarda istenmeyen ancak herhangi bir nedenle bulunabilen bakteri, küf ve mayaları, patojen olan veya olmayan her türlü mikroorganizmayı ortamdan yok etmek, çoğalmasını veya faaliyetlerini önlemek için gıdalara katılırlar (Surekha ve Reddy, 2000; Küçüköner, 2006; Altuğ, 2009; Güzel, 2013).

Türk Gıda Kodeksi'nde ise; "Gıdaları, mikroorganizmaların sebep olduğu bozulmalara ve/veya patojen mikroorganizmaların gelişmelerine karşı koruyarak raf ömürlerinin uzatılmasını sağlayan maddeler" olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2013a).

Koruyucu katkı maddelerinin antimikrobiyal özellikleri; maddenin antimikrobiyal spektrumu, kimyasal ve fiziksel özellikleri, konsantrasyonu, etki şekli, gıdanın bileşimi, işlem şartları, pH ve depolama sıcaklığı gibi faktörlere bağlıdır. Bu faktörlerin yanı sıra lipitler, proteinler, mineraller ve diğer gıda bileşenleri de antimikrobiyal etkinliğini büyük oranda değiştirebilmekte ve gıdalarda uygulanabilirliği olumsuz etkileyebilmektedir. Koruyucuların uygulanması sırasında gıdaların içeriği, mikroorganizma tipleri ve miktarları, gıdanın özellikleri, iyi üretim ve hijyen koşulları dikkate alınması gereken diğer önemli noktalardır (Güzel, 2013; Çotra, 2016).

Antimikrobiyallerin etkisi, çoğalmayı durdurucu veya öldürücü olabilir. Koruyucu madde katkısı ile mikroorganizma ölümü; genetik yapıların, protein sentezinin, enzim sisteminin ve hücre duvarlarının etkilenmesi şeklinde görülmektedir (Arslan, 2011; Çotra, 2016).

Gıda endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan koruyucu gıda katkı maddeleri, nitrat ve nitrit bileşikleri, nisin, benzoik asit ve tuzları, kükürtdioksit ve çeşitli sülfidler, sorbik asit ve tuzları, propiyonik asit ve tuzları, asetik asit ve asetatlar gibi bazı antimikrobiyallerdir (Koyuncu, 2006; Küçüköner, 2006; Öztürkcan ve Acar, 2017).

#### 2.6.1.1. Benzoik Asit (E 210)

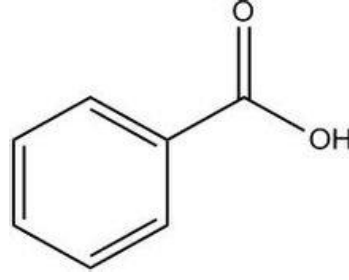
Benzoik asit; çeşitli Asya kökenli ağaçlar tarafından salgılanan bir reçinedir (Güzel, 2013). İlk keşfi 16. yüzyılda olmuştur. Benzoin reçinesinden kuru damıtma işlemiyle elde edilmesi ise, 1556 yılında, eczacı Michel de Nostredame tarafından gerçekleştirilmiştir. 1832’de Justus von Liebig ve Friedrich Wöhler benzoik asit’in kimyasal yapısını belirlemişlerdir. 1875’te ise, Salkowski benzoik asit’in mayalara ve küflere karşı etkisini keşfetmiştir (Güngör, 2010; Çotra, 2016). Benzoik asit, gıdalarda kullanılması için yasal olarak izin verilen ilk kimyasal koruyucular arasındadır (Ogbadu, 1999; Güzel, 2013) ve günümüzde gıdalarda en yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal gıda katkı maddelerindendir (Öztürkcan ve Acar, 2017). Her yıl yaklaşık olarak 638000 ton benzoik asit üretimi yapılmaktadır (WHO, 2000; Güzel, 2013).

Benzoik asit, beyaz renkli, iğne veya yaprakçık görünümünde, benzen halkası içeren, buharda uçma özelliğine sahip bir bileşiktir (Uçar, 2004; Arslan, 2011). Gıdalarda sentetik olarak kullanılmasına rağmen, yaban mersini, kuru erik, kızılıcık, karanfil, tarçın, kimyon, anason ve yoğurt gibi bazı gıdalarda düşük miktarlarda doğal olarak da bulunabilmektedir (Bilau vd., 2008; Arslan, 2011; Güzel, 2013).

**Çizelge 2.2** Benzoik asit’in kimyasal özellikleri (Güzel, 2013)

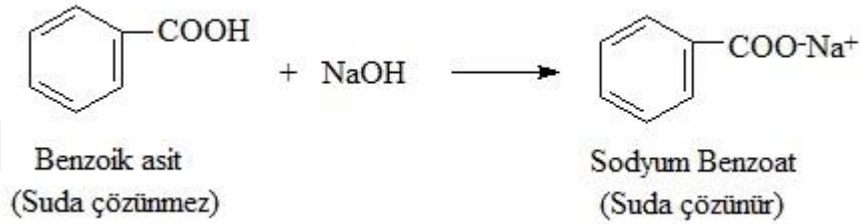
<i><b>Molekül formülü</b></i>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
<i><b>Molekül Ağırlığı</b></i>	122,12 g mol <sup>-1</sup>
<i><b>Fiziksel Görünüş</b></i>	Beyaz, kristal toz
<i><b>Erime Noktası</b></i>	122,4 °C
<i><b>Kaynama Noktası</b></i>	249,2 °C
<i><b>Suda Çözünürlüğü (20 °C)</b></i>	2.9 g/L





**Şekil 2.1** Benzoik asit'in kimyasal yapısı (Anonim, 2014)

Benzoik asit, gıdalarda daha çok sodyum tuzu halinde (sodyum benzoat) kullanılmaktadır (Chayabutra ve Ju, 2000; Fish vd., 2000; Koyuncu, 2006; Arslan, 2011; Güzel, 2013). Sodyum benzoat'ın yaygın olarak kullanılmasının sebebi; benzoik asit'in sudaki çözünürlüğünün düşük olmasıdır (Yıldız, 2010; Öztürkcan ve Acar, 2017). Buna karşın benzoik asit; alkol, eter, kloroform, benzen, karbon disülfid ve karbon tetraklorid gibi çözücüler içerisinde yüksek oranda çözünebilen ve kolay tutuşma özelliği olan bir maddedir (Güngör, 2010; Çotra, 2016).



**Şekil 2.2** Benzoik asit ve Sodyum benzoat'ın kimyasal yapısı (Anonim, 2016)

Benzoik asit'in koruyucu olarak tanımlanmasına, antimikrobiyal olmasının yanı sıra düşük toksisitesi ve renksiz oluşu da katkı sağlamaktadır (Ogbadu, 1999). Antimikrobiyal etkinliği küf ve mayalar üzerinde fazladır, fakat bakterilere karşı kullanılması pek tavsiye edilmez. Çünkü, bakteri gelişiminin yüksek olduğu 4,5'in üzerindeki pH değerleri, benzoik asit'in etki mekanizmasını azaltır (Robach, 1980; Baker vd., 1988; Öztürkcan ve Acar, 2017). Benzoik asit'in mikroorganizmaları inhibe ettiği uygun pH sınırları 2,5–4,0 arasında değişen asidik bir pH'dır (Chichester ve Tanner, 1972; Saldamlı, 1985).

### 2.6.1.2. Benzoik Asit'in Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri

Benzoik asit ve benzoik asit'ten üretilen maddeler; kimya endüstrisi, tarım sektörü, ilaç endüstrisi ve birçok gıda ürünlerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Yılmaz

vd., 2009). Gıda endüstrisinde en çok meyve suyu, marmelat, margarin, reçel, gazlı içecekler, turşular, soslar, ketçap, jöle ve benzeri ürünlerde bulunur ve ilave edildiği gıdanın tadını etkiler (Fish vd., 2000; Chayabutra ve Ju, 2000; Kahraman ve Geçkil, 2005).

Gıda Katkıları Uzman Komitesi (JECFA) tarafından, benzoik asit ve benzoatların ADI değerleri 0–5 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlenmiştir (Güzel, 2013). Avrupa Komisyonu (EC)'nin benzoik asit ve sodyum benzoat için verdiği kullanım limiti ise, %0,015-0,5 arasındadır (Uçar, 2004; Çotra, 2016).

Ülkeler arası beslenme şekline göre, benzoik asit ve tuzlarının alım kaynakları değişebilmektedir. Örneğin, Çin'de benzoik asit ve tuzlarının temel kaynağını soslar oluşturmaktadır (Güzel, 2013).

ABD (Amerika Birleşik Devletleri)'de gıda endüstrisinde, benzoik asit ve sodyum tuzlarının yasalar çerçevesinde kullanılması serbest bırakılmıştır. Buna karşın, en yüksek kullanım miktarı %0,1'i geçmeyecek şekilde sınırlandırılmıştır. Diğer ülkelerde de bu maddenin gıda katkısı olarak kullanılmasına izin verilmektedir. Genellikle öngörülen miktar %0,2–0,3 arasında olup, yalnızca Fransa'da peynir mayasında kullanılmaktadır (Arslan, 2011; Çotra, 2016).

Ülkemizde ise, benzoik asit ve tuzlarının gıdalarda kullanımı ve sınır değerleri Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilmektedir. Kodeks'de, benzoik asit'in kullanımına izin verilen en yüksek değerler farklı gıda maddeleri için, 500–2000 mg/kg veya mg/L aralığında belirtilmektedir. Geleneksel reçellerde ise benzoik asit kullanılmasına izin verilmemektedir (Anonim, 2013a).

Benzoik asit vücutta hızlı bir metabolizma faaliyeti içerisinde işlem görerek vücut tarafından atılmakta ve böylece dokularda birikim göstermemektedir (Saldamlı, 1985). Bu nedenle, gıdalarda kullanımı oldukça yaygın olmakta ve genellikle güvenli kabul edilen maddeler (Generally Recognized As Safe, GRAS) listesinde yer almaktadır. Fakat, yapılan çalışmalarda benzoik asit'in duyarlı kişilerde düşük dozlarda bile beyin zedelenmesi, aşırı duyarlılık, kilo kaybı, astım ve sinirsel bozukluğun tetiklenmesi, çocuklarda hiperaktivite ve ürtiker, deride kızarıklık, şişlik, kaşıntı ve ağrı, östrojen hormonlarını artırarak hormon dengesinin bozulması ve tümör oluşumu gibi yan etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Wibbertmann vd., 2000; Deshpande, 2002; Omaye,

2004; Qi vd., 2009; Erkmen, 2010; Özpınar vd., 2013). Ayrıca, insanlarda, çocukluktaki hiperaktivite ile bağlantılı olarak, tat hücrelerinin trigeminal innervasyonunu uyardığı ve ağız bölgesinde karıncalanma ve deri ile temasında geçici bir irritasyona ve kaşıntıya neden olduğu da bilinmektedir (Otero-Loseda, 2003; Zengin vd., 2011; Güzel, 2013).

### **2.6.1.3. Benzoik Asit ile İlgili Yapılan Çalışmalar**

Sasaki vd. (2002) mide, idrar kesesi, beyin, karaciğer, böbrek, akciğer, kolon, kemik iliği gibi fare organlarında benzoik asit ve tuzlarının genotoksik etkilerini comet test yöntemi ile araştırmışlardır. Araştırmacılar, benzoik asit ve tuzlarının çalışılan fare organlarında DNA hasarına yol açtığını belirlemişlerdir.

Kaboğlu ve Aktaç (2002) benzoik asit'in fare karaciğerinde nekrotik değişikliklere sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Özdemir (2006) yaptığı çalışmada, benzoik asit'in iki farklı dozda mutajenik etkisini incelemiştir. Sonuç olarak, benzoik asit'in 0,1 mg/mL ve 0,3 mg/mL'lik dozları ile kontrol grubu arasındaki farklılığın anlamlı olmadığını, fakat bu iki doz kendi içinde değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılığın gözlemlendiğini bildirmiştir.

Yılmaz vd. (2008) kültüre alınmış insan periferik lenfositlerinde benzoik asit'in etkisini incelemiştir. Sonuç olarak; benzoik asit'in 50, 100, 200 ve 500 µg/mL konsantrasyonlarında; kromozomal anormallik, kardeş kromatid değişimi ve primer DNA hasarını hemen hemen tüm dozlarda kontrole göre anlamlı oranda artırdığını saptamışlardır.

Karakahya ve Koca (2016) yaptıkları bir çalışmada, sodyum benzoatı farklı doz ve sürelerde gelişmekte olan tavuk karaciğerine uygulamışlar ve sonuç olarak sodyum benzoatın, kullanılan doz ve süreye bağlı olarak embriyoların toplam ağırlıklarında anlamlı bir azalmaya sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Benzoik asit ve sorbik asitle ilgili olarak WHO 1997 raporunda, yüksek dozda benzoik asit verilen deney hayvanları ve insanlarda metabolik asidosiz, konvülsiyon ve hyperpnoea gözlemlendiğini ve birkaç çalışmada benzoatların insanlarda alerjik reaksiyonlara yol açtığını belirtmiştir (Çakır, 2011).

Yentür ve Bayhan'ın (1990) yaptığı bir çalışmada, Ankara piyasasından sağlanan sos, ketçap, mayonez, reçel ve peynir numunelerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının izin verilen maksimum sınırın altında olduğu; meyve suyu numunelerinde ise izin verilen maksimum miktarın aşıldığı tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada, Türkiye piyasasında satışı sunulan farklı firmalara ait salça, yoğurt, meyve suyu, çikolata, hazır çorba ve cipten oluşan toplam 109 adet gıda ürünüde benzoik asit ve sorbik asit varlığının tespiti için analiz yapılmıştır. Türk Gıda Kodeksi'ne göre analizi yapılan ürünlerde koruyucu madde kullanımı yasak olmasına rağmen; 11 adet hazır çorba örneğinden 3'ünde benzoik asit, 20 adet çikolata örneğinden 1'inde benzoik asit, 23 adet meyve suyu örneğinden 1'inde benzoik asit, 21 adet yoğurt örneğinden 2'sinde sorbik asit ve 20 tanesinde benzoik asit, 23 adet salça örneğinden 3'ünde sorbik asit ve 6'sında benzoik asit olmak üzere 6 farklı ürün grubundaki 5 farklı ürün grubunda benzoik ve sorbik asit varlığı tespit edilmiştir (Güzel, 2013).

Petkovic vd. (2009) tarafından Sırbistan'da 853 alkolsüz içecek üzerinde yapılan bir çalışmada ise, kullanılan koruyucu madde miktarlarının sağlık açısından güvenli olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada sodyum benzoat ve potasyum sorbat kullanım miktarları yönünden, içeceklerin %8,8'inin sağlık açısından güvenilir olmadığı tespit edilmiştir.

#### **2.6.1.4. Sodyum Nitrat (E 251)**

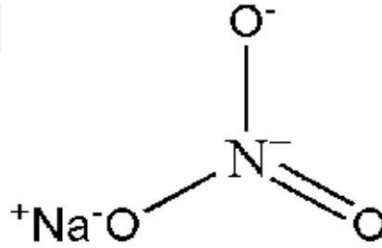
Nitrat ve nitrit tuzları, normal tuz ile birlikte asırlardır et ve balık ürünlerinin kürlenmesinde ve bazı peynirlerin yapımında kullanılmaktadır (Wirth, 1986; Ekici vd., 2008; Sancak vd., 2008).

Günümüzde nitrat ve nitritler; doğal olarak, bazı yeşil yapraklı bitkiler ve sulara bulunurken, yapay katkı maddesi olarak sosis, salam, sucuk, hazır et yemekleri, tütsülenmiş balık ve tuzlanmış biftek gibi ürünlerde de bulunurlar (Gökalp, 1983). Bu nedenle, insanlar için başlıca nitrat ve nitrit kaynakları; işlenmiş et ürünleri, süt ve süt ürünleri, lahanalar, ıspanak gibi sebze çeşitleri ve bazı içme veya kullanma suları olarak sıralanabilir (Şanlı ve Kaya, 1998). Sebze tüketimi fazla olan kişiler için en önemli nitrat ve nitrit kaynağı yeşil yapraklı bitkilerden ıspanak ve marul iken sebze tüketimi az olan kişiler için ana kaynak su olmaktadır (Russell ve Gould, 2003; Kaya, 2011).

Nitrat'ın sodyum tuzu olan, sodyum nitrat ( $\text{NaNO}_3$ ); gıdalarda (özellikle et, et ürünleri ve balıklarda) karakteristik lezzet, doğal rengin korunması ve antimikrobiyal özelliği nedeniyle kullanılan koruyucu gıda katkı maddelerinden biridir (Erkmen, 2010; Arslan, 2011).

**Çizelge 2.3** Sodyum nitrat'ın kimyasal özellikleri (www.makrokim.com)

<b>Molekül formülü</b>	$\text{NaNO}_3$
<b>Molekül Ağırlığı</b>	84,9947 g mol <sup>-1</sup>
<b>Fiziksel Görünüş</b>	Beyaz toz şeklinde renksiz kristal
<b>Erime Noktası</b>	308 °C
<b>Kaynama Noktası</b>	380 °C
<b>Suda Çözünürlüğü (25 °C)</b>	91,2 g/100 mL



**Şekil 2.3** Sodyum nitrat'ın kimyasal formülü (Trivedi vd., 2015)

#### 2.6.1.5. Sodyum Nitrat'ın Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri

Gıdalarda hem koruyucu hem de renklendirici ve lezzet artırıcı olarak kullanılan sodyum nitrat'ın; tarım, inşaat ve seramik gibi sektörlerde de kullanımı oldukça yaygındır. Hatta patlayıcı madde (havai fişek, barut gibi) yapımında bile kullanıldığı bilinmektedir (www.sodyum.gen.tr).

Temel bir gıda katkı maddesi olan nitrat, çoğunlukla sodyum tuzu halinde uzun olgunlaşma süresine sahip, doğal veya organik işlenmiş et ürünlerinin kürlenmesinde kullanılmaktadır (Sindelar ve Milkowski, 2011; Turp ve Sucu, 2016). Çünkü, bu katkı maddesi et ürünlerinde kırmızı rengin korunmasını sağlar, lipidlerin oksidasyonunu

önleyerek oksidatif stabiliteye katkıda bulunur (böylelikle tat ve lezzet bozulmasının önüne geçilmiş olur) ve *Clostridium botulinum* gibi patojenlerin üzerinde inhibitör etki göstererek halk sağlığını korur (Gray vd., 1981; Morries ve Tichivangona, 1985; Gökalp vd., 1987; O'Boyle vd.,1990; Sancak vd., 2008).

Nitrat iyonları doğrudan toksik etkiye sahip değildir (Bories ve Bories, 1995; Özdestand ve Üren, 2010). Ancak, nitratların organizmada ve gıdalarda, nitrite indirgenmesi nedeniyle sağlığı olumsuz etkileme riski göz önünde bulundurulmalıdır (SCF, 1995). Çünkü yapılan çalışmalarda, besinlerle birlikte alınan nitrat'ın, bakteriyel nitrat redüktaz aktivitesi vasıtasıyla nitrit'e indirgenebildiği ve nitrit'in ise, insanlarda ve hayvanlarda tümör oluşumunu indükleyen nitrozamin bileşiklerinin öncü maddesi olması sebebiyle; karaciğer, akciğer, böbrek, gırtlak, mide ve pankreas kanserlerinin oluşumunda rol oynadığı belirtilmiştir (Omaye; 2004; Erkmen ve Bozoğlu, 2008; Erkmen, 2010; Aschebrook vd., 2011). Ayrıca, diyetle alınan nitrat'ın, nitrit'e indirgenmesi veya diyetle fazla alınan nitritin dolaşıma geçmesiyle birlikte, nitritler kanda hemoglobinle birleşerek methemoglobin (MHb) oluşturmakta ve kanın oksijen taşıma kapasitesini düşürmektedir. Bunun sonucunda da bir eritrosit formu hastalığı olan "Methemoglobinemi" meydana gelmektedir (Özçelik, 1982; Bayraktar, 1998; Oruç ve Ceylan, 2001; Palamutoğlu ve Sarıçoban, 2017). Özellikle bebeklerde, MHb'ye bağlı olumsuzluklar genellikle bebeğin hazır mama ile beslendiği ve mamanın nitrat içeren su ile hazırlandığı durumlarda görülmektedir (Shearer vd., 1972; Omaye, 2004; Erkmen, 2010). Bu nedenle, Avrupa'da infantlarda methemoglobinemi gelişim riskine karşı sudaki nitrat konsantrasyonu 50 mg/L ile sabitlenmiştir (Russell ve Gould, 2003). Özellikle, çocuk ve gebelerin nitrat ve nitrit içeren gıdalardan uzak tutulmaları gerekmektedir (Erkmen, 2010).

Yapılan çalışmalarda, nitrat ve nitritlerin tüm bu olumsuzluklarının yanında, nefes daralması, baş dönmesi, hipotansiyon ve dolaşım kollapsına da neden olabildikleri belirtilmiştir (Omaye; 2004; Erkmen, 2010).

Gıdalarda nitrit ve nitrat kullanımı, Belçika, Fransa, Batı Almanya, İrlanda, İtalya, İngiltere, Hollanda, Avusturya, Finlandiya, Lüksemburg, İsveç, Norveç, Danimarka ve İsviçre gibi Avrupa ülkeleri ile Japonya, Kanada, Amerika ve Türkiye gibi ülkelerde yasallaştırılmıştır (Şanlı ve Kaya, 1998; Erkmen, 2010; Kaya, 2011). Ancak, doğal olarak bazı yeşil yapraklı bitkiler ve sular da bulunduğu için, 1995 yılında, JECFA

nitrat ve nitrit için, ADI değerlerini belirlerken, yalnızca katkıdan gelen miktarlar olarak değil doğal olarak alınan nitrit ve nitrat iyonlarını da dikkate alarak belirlemiştir. Çünkü, sularda ve sebzelerde yüksek miktarda nitrat bulunması birçok gelişmiş ve gelişmekte olan ülke için ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Özellikle bazı Avrupa ülkelerinde 75 mg/L'nin altında nitrat içeren su kaynağı bulmak imkânsız hale gelmiştir (Arslan, 2011). Amerika Birleşik Devletleri'nde ise, yetişkin bir insanın günde ortalama 75 mg nitrat aldığı kabul edilmekte; bu miktarın %85'inin yeşil yapraklı sebzelerden geldiği belirtilmektedir (Russell ve Gould, 2003).

JECFA'nın yetişkinler için önerdiği maksimum günlük alım miktarı (ADI) nitrat için 0- 3,7 mg/kg; sodyum nitrat için 0-5 mg/kg; nitrit için 0,06 mg/ kg; sodyum nitrit için ise 0,09 mg/kg'dır. Buna göre, 60 kg ağırlığındaki bir yetişkin için günlük alınması gereken nitrat ve nitrit miktarı sırasıyla 222 ve 3,6 mg düzeyini geçmemelidir (Thomson ve Swallow, 2004; Letha vd., 2008; Çakmak vd., 2009; FAO, 2011).

Ülkemizde ise, nitrat kullanımı yasal düzenlemeler ile önemli ölçüde kısıtlanmıştır. Et ve et ürünleri için kullanımına izin verilen nitrit miktarı, ısıtılmış et ürünlerinde 125 mg/kg, nitrat miktarı da fermente ürünlerde 500 mg/kg, ısıtılmış et ürünlerinde 300 mg/kg olarak belirtilmektedir. Kalıntı nitrat ve nitrit miktarı ise 150 mg/kg'dan fazla olmamalıdır (Anonim, 2013a; Öztürkcan ve Acar, 2017).

Böylece, ülkelere göre farklılık göstererek işlenmiş et ürünlerine 500 ppm (mg/kg) dolayında sodyum nitrat veya 200 ppm kadar sodyum nitrit ya da eşdeğeri bileşiklerin katılması standart haline gelmiştir (Şanlı ve Kaya, 1998; Kaya, 2011).

#### **2.6.1.6. Sodyum Nitrat ile İlgili Yapılan Çalışmalar**

Spiegelhalder vd. (1976) nitrit'in insan vücudunda özel bir mekanizmasının olduğunu tespit etmişlerdir. Buna göre nitrit; ağıza alındığında hızlıca emilmekte ve açıklanamayan bir mekanizma ile tükürük bezlerinde %25 konsantrasyona çıkarak, plazmanın 10 katına ulaşmaktadır. Böylece, tükürükte yüksek miktarlara ulaşan nitrit, normal midede asidifiye edilerek, karsinojen etkisi olduğu düşünülen nitrozaminin potansiyel kaynağı olan nitrous aside dönüştürülmektedir.

Farelerle yapılan bir çalışmada, bir grup fare hayatları boyunca 5000 mg/kg nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) ile kürlenmiş et ile beslenmiştir. Araştırma süresince hayvanlarda herhangi

bir kronik zehirlenme, kanserojenik veya teratojenik durum meydana gelmemiştir (Tannenbaum, 1976).

Möhler ve El-Refai (1981) yaptıkları çalışmada, mısır silajında 10-100 mg/kg değerleri arasında nitrozamin oluştuğunu, ancak bu silajın yedirildiği hayvanların sütlerinde nitrozamin olmadığını tespit etmişlerdir.

Şanlı ve Kaya (1988) Ankara piyasasından sağlanan salam, sosis, sucuk ve pastırma gibi işlenmiş et ürünlerinde nitrat ve nitrit içeriğinin araştırılması ve böyle ürünlerden doğabilecek toksisite ve kanserojenik etki risklerinin değerlendirilmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, Ankara piyasasından sağlanan işlenmiş et ürünü örneklerinin hepsinde insan sağlığı açısından sakıncalı kabul edilebilen düzeylerde nitrat ve nitrit varlığını saptanmışlardır.

Soyutemiz ve Özenir (1996) Bursa'da yaptıkları bir çalışmada, sucukların %28'inin, salamların %60'ının, sosislerin %66,6'sının, pastırma örneklerinin %26,6'sının limitlerin üzerinde kalıntı nitrat ve nitrit içerdiğini tespit etmişlerdir.

Yalçın vd. (2012) tarafından Mersin ilinde yapılan çalışmada, yerel marketlerden rastgele toplanan 50 adet sucuk, salam ve sosis ürünü kalıntı nitrat ve nitrit düzeyi belirlenmeye çalışılmış ve toplanan numuneler içerisindeki kalıntı nitrat ve nitrit değerlerinin, Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen limit değerlerinin altında olduğu bulunmuştur.

Sezer vd. (2013) Kars ilindeki marketlerde satışa sunulan, farklı firmalara ait 15 adet salam ve 11 adet sosis örneklerinin kalıntı nitrat ve nitrit düzeyleri ile yağ içeriklerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, örneklerin 9 tanesinin (%34,6) Türk Gıda Kodeksi'nde izin verilen limitlerden daha fazla kalıntı nitrat içerdiği tespit edilirken, 25 tanesinin (%96) ise, limitlerden fazla kalıntı nitrit içerdiği belirlenmiştir.

### **2.6.2. Gıda Boyaları (Renklendiriciler)**

GKM'lerin önemli bir grubu olan renklendiriciler, Türk Gıda Kodeks Yönetmeliği'nde; "Gıdalara renk veren veya rengini geri kazandıran, gıdaların doğal bileşenlerini ve genel olarak olduğu gibi gıda olarak tüketilmeyen doğal kaynakları içeren ve genellikle gıdanın karakteristik bir bileşeni olarak kullanılmayan maddeler ve ayrıca; Gıda maddelerinden ve diğer yenilebilir doğal kaynaklardan fiziksel



ve/veya kimyasal ekstraksiyonla elde edilen diğer besleyici veya aromatik bileşenleri içermeyecek şekilde pigmentlerin selektif ekstraksiyonuyla oluşturulan preparatlar” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2013a).

Gıdanın albenisini artıran özelliği rengidir. Çünkü, tüketici tarafından fark edilen ilk duyu kalite belirteci gıdanın rengi olmaktadır. Bu nedenle, gıdanın kalite ve aroması renkle yakından ilişkilidir (Amerind vd., 1965; Dinç, 2007). Hemen hemen her gıda maddesi için alışılmış bir renk istenmektedir. Fakat, teknolojik işlemlerden geçmiş gıda maddelerinde renk kaybı mutlaka olmaktadır. Bu nedenle, modern gıda endüstrisi açısından gıda maddelerini çekici hale getirmek ve gıdaların albenisini artırmak için gıdaları renklendirme gereksinimi ortaya çıkmış ve gıda boyalarının kullanımı yaygınlaşmıştır (Karaali ve Özçelik, 1993; Çakmakçı ve Çelik, 1995; Dinç, 2007).

Renklendirici katkı maddeleri gıda endüstrisinde çeşitli amaçlarla kullanılırlar. Bunlar; gıdalarda mevcut rengi koruyarak, artırarak veya modifiye ederek istenilen rengi sağlamak, renk değişimini veya bozulmasını kontrol ederek görünüşü standart kılmak, lezzet değerini artırmak, süsleyici özellik kazandırmak ve yeni ürünler oluşturmaktır. Ancak tüm bunları yaparken, kullanılan renk maddeleri düşük kaliteyi yükseltmek ve tüketiciyi yanıltmak için kullanılmamalı ve sağlığa zararlı olmamalıdır. Bu ve benzeri amaçlarla olan kullanımlar, yasal düzenlemelerle kontrol altına alınmıştır (Yentür vd., 1996; Gül, 2004; Sarıkaya vd., 2010).

Renk verme özelliğine sahip pek çok madde kimyasal yapılarındaki farklılıklar nedeniyle farklı fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklere sahiptirler ve bu özellikler onların hangi tip ürünlerde ve hangi amaçla ne şekilde kullanılacaklarını belirlemektedir (Karaali ve Özçelik, 1993). Gıda endüstrisinde kullanılan renk maddeleri; yapay (sentetik) veya doğal kaynaklı olabilir (Yentür vd., 1996; Sarıkaya vd., 2010).

Yapay (sentetik) renklendiriciler, kimyasal yapıları itibariyle doğada bulunmayan ancak kimyasal sentez yoluyla üretilen renk maddeleridir. Hemen hepsinin sentezinde başlangıç materyali olarak “kömür katranı” kullanılmaktadır. Çoğunun yapısında  $-(N=N)-$  grubu (Nitrojen-Nitrojen bağı) bulunduğu için, azo boyalar olarak da tanınırlar (Erdoğan, 2007; Atlı, 2010). Doğal renklendiricilerle karşılaştırıldığında yapay renklendiricilerin; renk verme güçleri, renk aralıkları, stabiliteyi, kullanım

kolaylıkları ve fiyat uygunlukları gibi faktörler açısından üstünlük sağladıkları bilinmektedir (Saldamlı, 1985). Ayrıca, yapay renklendiriciler çok yüksek oranlarda suda çözünme özelliğine sahiptirler ve pek çoğu ısıya, ışığa, asitlere, alkalilere ve koruyucu maddelere karşı stabildir. Bu nedenle, raf ömürleri de oldukça uzundur (Keskin, 1999; Dinç, 2007). Ancak, tüm bu kullanım avantajlarına rağmen, yapay gıda boyalarının yasalara uygun sınırlamalar içinde kullanılmasına dikkat edilmelidir (Yentür vd., 1996; Sarıkaya vd., 2010). Çünkü, bu maddelerin belirlenen dozların üzerinde; astım, migren, aşırı duyarlılık ve erken doğuma neden olabileceği, toksik ve alerjik etkilerinin görülebileceği, hatta belli şartlar altında karsinojenik olabileceği bildirilmektedir (Karaali ve Özçelik, 1993; Yentür vd., 1998; Poul vd., 2009; Erkmen, 2010). Deney hayvanları üzerinde yapılan araştırmalarda yüksek dozlardaki sentetik boyaların karaciğer, böbrek hasarına neden olduğu gözlenmiş ve uzun süreli denemelerde karaciğer tümörüne dönüştüğü görülmüştür (Sertkaya, 2008; Erdem, 2014).

Dünya Sağlık Örgütü, 1956 yılında 40 ülkeyi kapsayan ve 114 yapay renk maddesi ile 50 doğal renk maddesini içeren listeleri yayınlarak renklendiricilerin kullanımına izin vermiş ve gıda sektöründe uygulamaya alınmasına yol açmıştır (Saldamlı, 1998).

Gıda maddeleri açısından bakıldığında, alkolsüz içecekler endüstrisinde renk maddeleri kullanımı oldukça yaygındır (Özcan vd., 1997; Dinç, 2007). Gıdalarda en sık kullanılan yapay renklendiriciler ise; allura red, amaranth, azorubin, brilliant black, brilliant blue, brown HT, eritrosin, green S, indigotin, kinolin sarısı, litolrubin BK, patent blue V, ponceau 4R, red 2G, sunset yellow ve tartrazin'dir (Dinç, 2007).

Türk Gıda Kodeksi'nde; 43 adet renk maddesinin gıdalarda kullanılmasına izin verilmektedir. Bunlardan 16 tanesi yapay, diğerleri doğal veya doğala özdeş maddelerdir. Tebliğ'de yapay renklendiricilerden; tartrazin, kinolin sarısı, sunset yellow, karmoisin, amaranth, ponceau 4R, eritrosin, red 2G, allura red, patent blue, indigotin, brilliant blue, gren S, black PN, brown FK, brown HT kullanımına belirli limitlere kadar izin verilmektedir (Anonim, 2006; Dinç, 2007). Ayrıca, bazı renklendiricileri içeren gıdaların etiketlerinde "Renklendirici(ler)nin adı veya E kodu ile çocukların aktivite ve dikkatleri üzerine olumsuz etkileri bulunabilir" şeklinde ilave bilginin yer alması mevzuata göre zorunludur. Bu renklendiriciler: sunset yellow

(E110), kinolin sarısı (E104), karmosin (E122), allura red (E129), tartrazin (E102) ve ponzo 4R (E124)'dir (Anonim, 2013a; Büyükdere ve Ayaz, 2016).

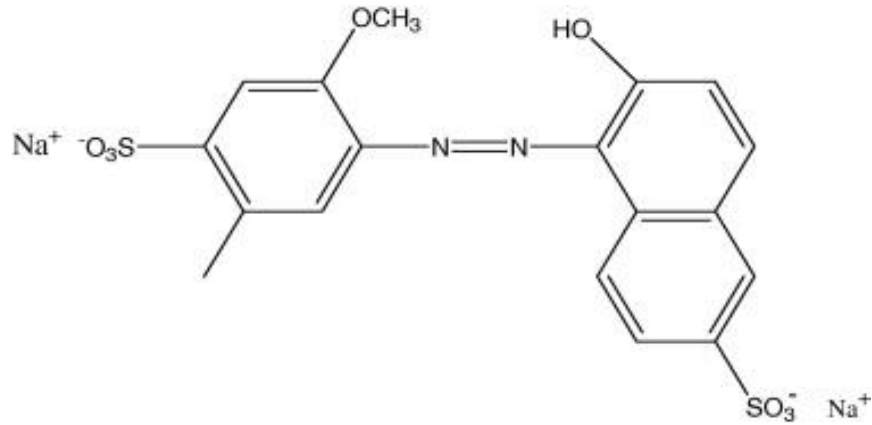
İzin verilen renklendiricilerin yasal limitlerin üzerinde gıda maddelerine katılması veya izin verilmeyen gıdalarda kullanımı, sağlık sorunlarına yol açması nedeniyle kaygıyı artırmaktadır (Bhat ve Mathur, 1998; Padmaja vd., 2003; Pratima ve Bhat, 2003).

Norveç ve İsveç'de katkı maddelerine karşı duyarlılık nedeniyle besinlerde renklendirici kullanımı tamamen yasaklanmıştır (Çalışır ve Çalışkan, 2003). Yapay renklendirici tüketimi açısından, özellikle çocukların potansiyel bir katkı maddesi tüketicileri oldukları ve bu sebeple, en risk altında olan grup oldukları düşünülmektedir (Karaali, 2006; Kaya, 2011). Nitekim çalışmalar, kullanımı yaygın olan bazı renklendiricilerin (tartrazin, patent blue V, brilliant blue, allura red, eritrosin, sunset yellow, ponzo 4R ile karmin, karminik asit, koşinal...vb) özellikle 3-9 yaş arası çocuklarda, Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB)'na sebep olabildiklerini göstermektedir (Boğa ve Binokay, 2010; Erkmén, 2010; Vojdani ve Vojdani, 2015; Büyükdere ve Ayaz, 2016).

**Çizelge 2.4** Çalışmada kullanılan gıda boya ları ve özellikleri

Gıda boyası	E kodu	Renk	Molekül formülü	Kaynağı	Çözüdüğü madde
Allura Red	129	Kırmızı	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$	Sentetik	Su
Tartrazin	102	Sarı	$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$	Sentetik	Su
Sunset Yellow	110	Turuncu	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	Sentetik	Su

### 2.6.2.1. Allura Red (E 129)



**Şekil 2.4** Allura red'in kimyasal formülü (disodium 6-hydroxy-5-((2-methoxy-5-methyl-4-sulfophenyl) azo)-2-naphthalenesulfonate) (Pourreza vd., 2011)

Allura red, kırmızı renkli temel ve yardımcı renk maddelerinden sentetik olarak üretilen ve kullanımı yaygın olan bir azo boyasıdır (Chanlon vd., 2005; Abdullah vd., 2008; Pourreza vd., 2011; Gültekin, 2014). Gıdalarda kırmızı renk vermek amacıyla kullanılır. En çok kullanıldığı gıda ürünleri tatlılar, içecekler, garnitürler, şekerlemeler ve kurabiyelerdir (Pourreza vd., 2011; Gültekin, 2014a).

### 2.6.2.2. Allura Red'in Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri

Allura red (E 129), gıda ürünlerinin yanı sıra eczacılık ve kozmetik ürünlerinde de renklendirici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (www.gidaraporu.com).

Allura red gibi sentetik azo boyalarının güvenliği ve gıda katkı maddesi olarak kullanımı yıllarca sorgulanmıştır (Zetterberg ve Gunnar, 2013). Çünkü, 1970'lerde, GKM olarak kullanılan bazı azo boyalarının aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olabileceği iddia edilmiştir (Mikkelsen vd., 1978; Zetterberg ve Gunnar, 2013). Yapılan araştırmalarda, allura red'in, astım ve aspirin hassasiyeti olan insanlar için riskli olabileceği ve çocuklarda hiperaktivite bulgularını artırabileceği belirtilmektedir (Zetterberg ve Gunnar, 2013; Gültekin, 2014a). Gelişme döneminde bu boyaya fazla maruz kalan sıçanlarda fiziksel ve davranışsal sorunların oluştuğu tespit edilmiştir. Bu boyanın bileşiminde yer alan p-cresidine'in sıçanlarda kanserojen olduğu gösterilmiş, insanlarda ise kanserojen olabileceği Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü'nce rapor edilmiştir. Ancak, Uluslararası Kanser araştırma dairesi (IARC), bu katkı maddesinin hayvanlar için kanserojen olduğunu destekleyen verilerin olduğunu kabul etmesine

rağmen, insanlar için kanserojenik olarak sınıflanması için yeterli olmadığı kanaatine varmıştır. Mevcut kanıtları dikkate alarak, kanserojenlik düzeyini “İnsanlar için şüpheli kanserojen” anlamına gelen “Grup 2B” olarak belirlemiştir (Gültekin, 2014a).

Avrupa'da, allura red'in çocuklar tarafından tüketilmesi tavsiye edilmemekte ve gıda maddelerine allura red eklendiğinde, etiket üzerinde “Çocuklarda aktivite ve dikkat üzerinde olumsuz etki oluşturabilir” şeklinde ek bilgi bulunmaktadır (Zetterberg ve Gunnar, 2013). Danimarka, Belçika, Fransa, Almanya, İsviçre, İsveç, Avusturya ve Norveç'te ise gıdalarda allura red kullanımı yasaklanmıştır (Pourreza vd., 2011).

### **2.6.2.3. Allura Red ile İlgili Yapılan Çalışmalar**

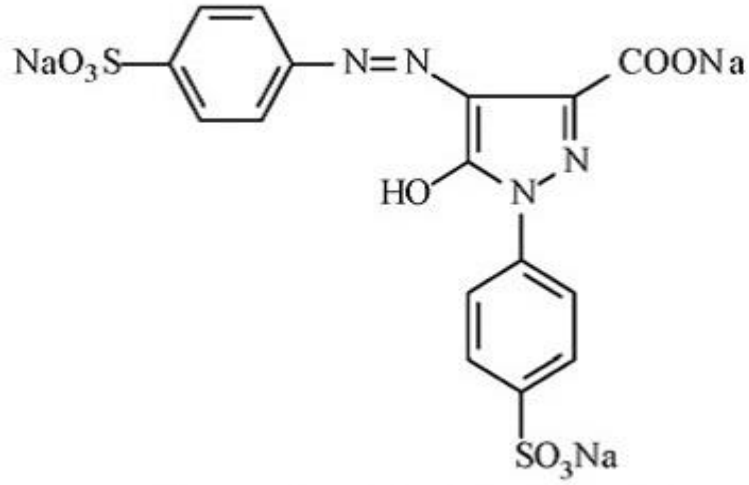
Borzelleca vd.'nin (1991) yaptıkları bir çalışmada, iki farklı fare soyuna yaşamları boyunca allura red'in farklı konsantrasyonlarını besin yoluyla vererek toksisite/kanserojenlik etkisini belirlemeye çalışmışlardır. Çalışma sonucunda allura red konsantrasyonlarının hiçbirinde yan etki gözlenmemiştir.

McCann vd. (2007), allura red de dahil olmak üzere bir azo boya karışımının çocuklarda görülen hiperaktivite etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda, üç ve sekiz-dokuz yaş gruplarında yapay renklendiricilerin hiperaktiviteyi artırdığını saptamışlardır.

Zetterberg ve Gunnar (2013) yaptıkları çalışmada, allura red'in 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1500 ve 2000 mg/kg dozlarını mikronükleus tekniği ile fareler üzerinde deneyerek genotoksik olup olmadığını değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, test koşulları altında, allura red'in genotoksik olmadığını belirlemişlerdir.

Bir başka çalışmada, Sasaki vd. (2002) sentetik olarak kullanılan amarant, allura red, new coccine ve tartrazin gibi azo gıda boyalarının 10 ppm düzeyinde 24 saatte özellikle gastrointestinal organlarda DNA parçalanmasına sebep olduklarını tespit etmişlerdir.

#### 2.6.2.4. Tartrazin (E 102)



**Şekil 2.5** Tartrazin'in kimyasal formülü (Trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulfonatophenyl)-4-(4-sulfonatophenylazo)-H-pyrazole-3-carboxylate)

Tartrazin (E 102), kömür katranından elde edilen sarı renkte sentetik bir azo boyasıdır. En ucuz sentetik boyalardan biridir ve sıklıkla pastacılık sektöründe kek ve şekerleme yapımında, alkolsüz içecekler, hazır pudingler, hazır çorbalar, sakız, çerez, reçel, jöle, jelatin, hardal, ketçap ve pek çok başka gıda maddesinde kullanılmaktadır (Ardern ve Ram, 2001; Yörük ve Danyer, 2016; Yıldız, 2018).

#### 2.6.2.5. Tartrazin'in Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri

Tartrazin yalnızca gıdalarda değil, ilaç sanayinde de renklendirici olarak kullanılmaktadır. Ancak, Hindistan'da yapılan bir araştırmada tartrazin içeren ilaçların 2210 hastanın %13,2'sinde alerjik reaksiyonların oluştuğu gözlenmiştir (Bhatia, 1996; Uysal ve Semerdöken, 2011). Ayrıca başka çalışmalarda, tartrazin'e karşı aşırı duyarlılık reaksiyonları, her 10 bin kişide 1-10 arası insanı etkilediği ve bu boyanın kullanılması ile daha çok astım, çocuklukta hiperaktivite ve ürtiker (deride kaşınma ve yanma), egzama (deri iltihabı), migren, damar ödemlerinin ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Yırtıcı, 2007; Atlı, 2010; Erdem, 2014).

Son yıllarda, tartrazin'in özellikle astımlı hastalar üzerindeki etkileri konusunda durulmaktadır. Çünkü, aspirin intoleransından doğan astımlı hastalarda, tartrazin'e duyarlılık konusunda çok sayıda rapor olmakla birlikte, FDA da, tartrazin içeren yiyeceklerin ve ilaçların yüksek duyarlılığa sebep olduğunu tartışmaktadır. 150 aspirin

intoleransı olan hastayla yapılan double-blind (çift-kör) testlerinde, 25 ve 50 mg tartrazin alan hastalarda tek taraflı değişiklik olduğu gözlenmiştir (Ekşi, 1996; Yaman, 1996; Atlı, 2010).

FDA, tartrazin (E 102) için ADI değerini, 5,0 mg/kg vücut ağırlığı olarak saptamıştır (Edlefsen ve Brewer, 1996; Dinç, 2007).

Norveç ve Avusturya'da gıdalarda tartrazin kullanımı yasaklanmıştır (Çakır, 2013).

#### **2.6.2.6. Tartrazin ile İlgili Yapılan Çalışmalar**

Sasaki vd. (2002) tarafından Japonya'da fareler üzerinde yapılan bir araştırmada, 10 mg/kg vücut ağırlığı düzeyinden başlayarak artan dozlarda oral yoldan verilen amarant ve tartrazin boyalarının 3 haftalık uygulama sonrasında kolonda doza bağlı DNA hasarına yol açtığı, 2000 mg/kg vücut ağırlığı düzeyinde verilen tartrazin ise 24 saatlik uygulamadan sonra kolon hücrelerinin DNA'larına zarar verdiği belirlenmiştir. Sunset yellow boyasının ise kolonik hücrelerin DNA'larında istatistiksel olarak önemli bir zarara yol açmadığı ileri sürülmüştür.

Tartrazin ile ilgili olarak yapılan bir kronik toksisite ve karsinojenite çalışmasında, 104 hafta süresince dişi ve erkek fareler üzerinde tartrazin uygulaması yapılmıştır. Sonuç olarak, çeşitli doz gruplarında farelerin cilt ve saçlarında sarı renk oluşumu, yüksek doz gruplarında ise vücut ağırlıklarında artış görülmüştür. Ancak, bütün gruplarda hematolojik değerlendirmede önemli istatistiksel farklılıklar görülmemiştir (Ekşi, 1996, Yaman, 1996).

Yapılan başka bir çalışmada (Shaywitz, 1997), çocuk yiyeceklerinde kullanılan gıda boyalarından mavi, yeşil, kırmızı, sarı ve turuncu renkler çalışılmıştır. Çalışma sonucunda, gıda boyalarının hiperaktivite oluşturduğu ve doğumun birinci ayında sıçanlarda hiperaktiviteyi artırdığı saptanmıştır. Aynı araştırmacı, dikkat eksikliği ve hiperaktivite davranışı gösteren çocukların diyetlerinden yapay boyalar kaldırıldığında çok belirgin gelişmeler olduğunu ileri sürmektedir.

Gıda boyalarının immunotoksik etkisiyle ilgili Koutsogeorgopoulou vd. (1997) tarafından yapılan araştırmada, tartrazin ve amarantın toksik olmayan düzeylerde bile insanlarda bağışıklık sistemini baskıladığı saptanmıştır.

Reynolds (1982) tarafından yapılan bir araştırmada ise, 122 hastaya ağız yoluyla 50 mg tartrazin verilmiş ve hastalarda kızarıklık, kaşıntı, ödem şeklinde alerjik reaksiyonlar ve genel halsizlik görölmüştür.

Pohl vd. (1987) antidepresan kullanan 170 hasta üzerinde tartrazinin etkisini incelenmiş ve beş çeşit alerji oluşumu tespit etmişlerdir.

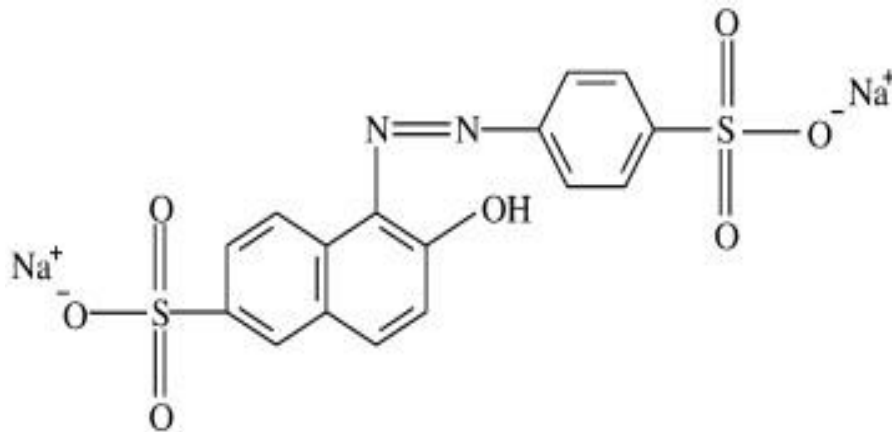
Bhatia'nın (1996) alprazolam tedavisi gören 480 hasta ile yapmış olduğu araştırmaya göre; tartrazinli alprazolam verilen hastalarda alerji görölmürken, tartrazinsiz alprazolam tedavisinde alerji vakasına rastlanmamıştır.

Yapılan bir araştırmada da yaşları 1–6 arasında değişen 12 çocuuğun diyetlerine 50 mg/kg düzeyinde tartrazin eklenmiş ve 12 çocuktan 11'inin tartrazin'e karşı toleranslı olmadıkları ve hepsinde alerjik egzama oluştuğu saptanmıştır (Devlin ve David, 1992).

Memeli hücrelerinde tartrazin'in sebep olduğu kromozomal sapmalarla ilgili yapılan bir çalışmada; 5–20 µg/mL arasında tartrazin, fibroblastlar içerisinde bulunan *Muntiacus muntjac* hücrelerine uygulanmış ve %1'lik kromozomal sapmalar gözlenmiştir (Paterson ve Butler, 1982).

Gıda boyalarından tartrazin'in genotoksik etkisi *Drosophila*'da somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile Niraj vd. (1989) tarafından araştırılmış ve %0,06 ve %0,03'lük tartrazin uygulaması sonucunda tartrazin'in hem mutajenik hem de rekombinojenik etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

#### 2.6.2.7. Sunset Yellow (E 110)



şekil 2.6 Sunset yellow'un kimyasal formölu (Disodium 6-hydroxy-5-(4-sulfonato-phenylazo)-2-naphthalene-sulfonate)



Sunset Yellow (E 110), 1929'dan beri kullanılan sentetik bir azo gıda boyasıdır. Toz ve granül halinde, kırmızımsı sarı veya portakal rengindedir. Yüksek renk verme özelliği yüzünden sadece düşük miktarlarda kullanılmaktadır (Edlefsen ve Brewer, 1996; Dinç, 2007; Atlı, 2010). Kullanıldığı başlıca ürünler; pasta, tatlı gibi unlu gıdalar, çerez, dondurma, içecek, konserve balık, hazır çorba ve bazı şurup cinsi ilaçlardır (Güler ve Koca, 2013).

#### **2.6.2.8. Sunset Yellow'un Kullanıldığı Alanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri**

Sunset yellow (E 110), gıda ürünleri haricinde ilaç, kozmetik, temizlik ürünleri, renkli taş, oyun hamuru... vb insanların temas ettiği birçok ürünün renklendirilmesinde kullanılmaktadır (www.molarkimya.com).

Sunset yellow, önerilen miktarlarda kullanıldığında toksik etkisi olmayan, güvenli bir gıda boyası olarak bilinmesine rağmen, son yıllarda yapılan çalışmalar, sunset yellow'u tüketen ve başka maddelere (aspirin gibi) duyarlı olan kişilerde çapraz reaksiyon sonucu aşırı duyarlılık ve alerjik yanıtların oluştuğunu göstermektedir. Bu nedenle sunset yellow, aspirin intoleransı (duyarlılığı) olanlarda ortaya çıkan alerjik reaksiyonlardan sorumlu tutulmaktadır. Bu reaksiyonlar arasında; ishal, kusma, ürtiker, rinit (burun akması), burun tıkanıklığı ve derinin anjiyo ödemi en önemli olanlarıdır (Berktaş, 2014). Ayrıca, ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, yüksek dozlarda sunset yellow verilen ratların 4'ünde meme tümörü oluştuğu gözlenmiştir (Atlı, 2010). Başka bir çalışmada ise, 30 dişi ve erkek sıçan gruplarına, 80 hafta süreyle 4-16 mg/kg dozlarda sunset yellow içeren diet uygulanmış ve her iki grupta da genel "lyphoma"lar (lenf dokusunda gelişen tümör), reticulocell neoplasm'lar (reticulocell hücre tümörleri) ve akciğer adenomları (akciğerde gelişen iyi huylu tümör) geliştiği gözlenmiştir. Sunset yellow'un verilmediği kontrol gruplarında ise tümör oluşumu gözlenmemiştir. Yüksek doz verilen sıçanlarda malignant (kötü huylu) tümör, yumurtalıklarda granulosa cell tümör (Graaf follikülündeki granulosa hücrelerinden gelişen tümör); düşük verilenlerde ise göğüste kötü huylu tümör oluştuğu gözlenmiştir (Özcan ve Akgül, 1995, Yaman, 1996; Atlı, 2010). Bunların yanı sıra, sunset yellow'un çocuklarda hiperaktiviteye yol açtığını gösteren çalışmalar da yoğunluktadır (Atlı, 2010).

Sunset yellow'un ADI değeri, FDA tarafından 3,4 mg/kg olarak saptanmıştır (Edlefsen ve Brewer, 1996; Dinç, 2007).

Kullanımı ise, Norveç'te yasaklanmıştır (akır, 2013).

#### **2.6.2.9. Sunset Yellow ile İlgili Yapılan alışmalar**

Mathur vd. (2005) yaptıkları çalışmada, 250 ve 500 mg sunset yellow FCF/kg vücut ağırlığı/gün dozlarını 90 gün boyunca sıçanlara vermişlerdir ve sonrasında sıçanların testislerinde önemli etkilerin olduğu gözlemlenmiştir. Bu iki dozdan 250 mg sunset yellow FCF/kg vücut ağırlığı/gün dozunun zararlı etkinin gözlemlendiği en düşük doz (The lowest dose tested is a Lowest Observed Adverse Effect Level, LOAEL) olduğu sonucuna varılmıştır. Bu doz, daha önce JECFA tarafından ADI değeri hesaplanmasında yararlanılan 500 mg/kg vücut ağırlığı olarak kabul edilen yan etki gözlenmeyen doz (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL) seviyesinden daha düşüktür.

Bir başka araştırmada ise, içme suyuyla birlikte, 10 ay süreyle %2'lik sunset yellow FCF verilen 16 sıçan grubunda genç hayvanların büyümesi hızlanmış, yaşama kabiliyetleri artmıştır. Karaciğerde ise, herhangi bir histopatolojik değişiklik gözlenmemiştir (Manchon ve Lowy, 1964).

Ağız yoluyla verilen amaranth, sunset yellow FCF ve tartrazin'in, genotoksik etkisi ve apoptozis üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, söz konusu gıda boyaları 2,000 mg/kg vücut ağırlığı dozunda 24 saat aralıklarla iki kez verilmiştir. Sonuç olarak, kolon epitel hücrelerinin mitoz sıklığı artarken, mikronükleus sıklığı artmamıştır (Sasaki vd., 2002).

Bateman vd. (2004) İngiltere'de 397 çocuk üzerinde yürüttükleri çalışmanın sonunda, renklendirici (sunset yellow FCF, tartrazin, karmosin, ponso 4R) ve koruyucuların diyetten çekilmesiyle hiperaktif davranışlarda belirgin bir azalma, bu maddelerin diyete eklenmesi ile anlamlı bir yükselme ortaya çıktığı ve bu değişikliğin altta yatan hastalıktan bağımsız olduğu tespit edilmiştir.

Hamsterlarda yapılan bir çalışmada ise, derialtı veya periton içi enjeksiyonla verilen 1,0 mg sunset yellow FCF (E110), 330 günlük dönemde mortaliteyi değiştirmemiş ve tümör oluşumuna yol açmamıştır (Price vd., 1978).

Bir başka çalışmada ise, sıçanlara 20-30 mg/kg dozlarda sunset yellow içeren diyet verilmiş ve sıçanlarda diare, sekum (kör bağırsak) genişlemesi görülmüştür. Kan, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında ise herhangi bir olumsuz etki gözlenmemiştir (Atlı, 2010).

Tavşanlarda 100, 300 ve 1,000 mg/kg/gün dozunda ve gebeliğin 6 ve 18. günlerinde ağızdan verilen sunset yellow FCF'nin (E110); vücut ağırlığı, corpus luteum gelişimi, erken ve geç rezorpsiyon, canlı ya da ölü ortalama fetüs canlı ağırlığı, cinsiyet oranı, genel organ ve iskelet anomalileri üzerindeki etkileri incelenmiş ve sadece 1,000 mg/kg/gün sunset yellow FCF'nin (E110) verildiği hayvanlarda tam olmayan yapışik ikizlik oranında artış olduğu görülmüştür (IRDC, 1972).

Güler ve Koca (2013) yapay renklendirici olan sunset yellow'un (2,5 mg/kg) tavuk embriyosu dermal ve mukozal mast hücrelerindeki degranülasyon etkisini histolojik yönden incelemişlerdir. Sonuç olarak, her iki dokuda kısmi degranüle mast hücresi granüllerinin gevşek ve kaba granüller oluşturduğu, ileri degranülasyon gösteren mast hücrelerinin ise daha az granül içerdiklerinden dolayı daha aydınlık sitoplazmaya sahip oldukları görülmüştür.

Poul vd. (2009), gavaj yoluyla farelere amaranth, sunset yellow ve tartrazin adlı gıda boyalarından, 200 ve 1000 mg/kg'lık dozlarda vermişler ve bu gıda boyalarının genotoksik etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak, bu boyaların farelerde DNA hasarına yol açtığını tespit etmişlerdir.

## **2.7. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)' ın Özellikleri**

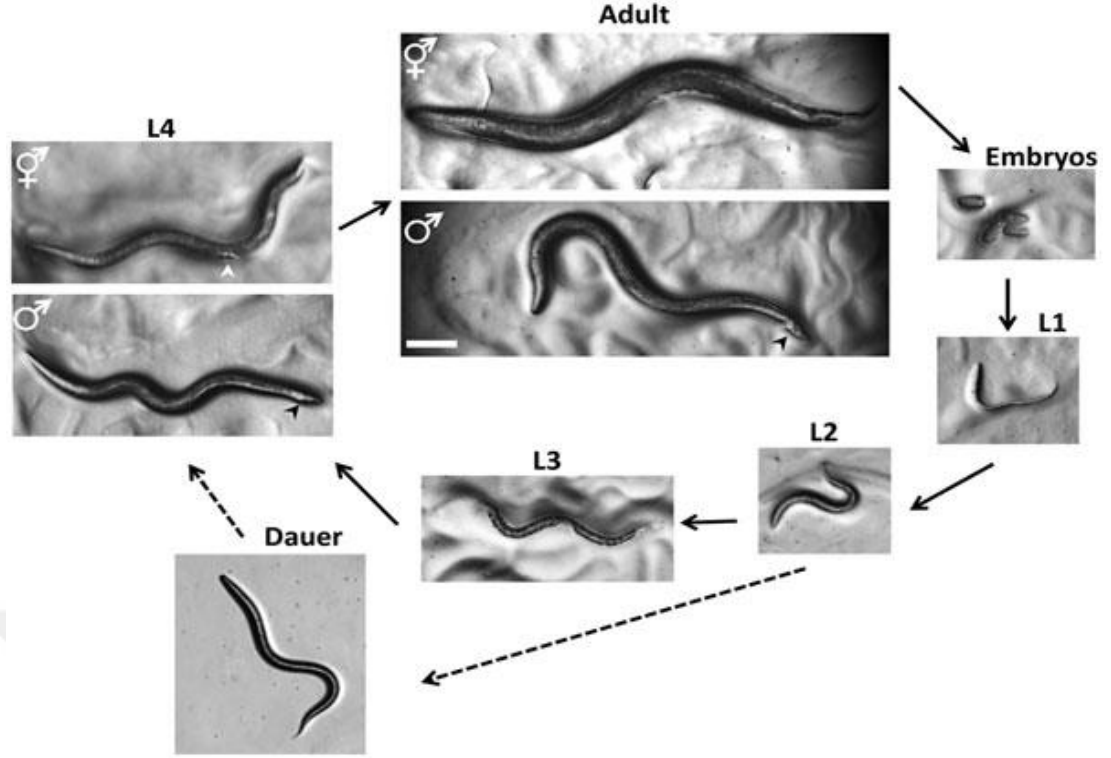
*Caenorhabditis elegans*, yaklaşık olarak 1 mm boyunda, 65 µm kalınlığında, mikroskobik, patojen olmayan, doğada ağaç dipleri gibi organik madde bakımından zengin ortamlarda serbest yaşayan bir toprak nematodudur (ipliksi solucan) (Hertweck vd., 2003; Ünlü, 2010). Laboratuvar koşullarında, bir agar substrat üzerinde, petri kabı içinde, bakteri (*Escherichia coli* OP50 suşu) ile beslenerek yaşamlarını kolayca sürdürebilirler (Ünlü, 2010). Ayrıca; stok olarak, -80°C' de veya sıvı azotta dondurularak süresiz olarak saklanabilirler (Springer, 2005). Vücudu saydam ve gelişimleri stereotypical olduğundan, nesildeki her bir hücrenin yumurtaya kadar izi sürülebilir, 959 (erkek bireylerde 1051) hücresi mikroskop altında kolaylıkla incelenebilir. Bu nedenle, zigottan erişkinine kadar her bir hücrenin akıbeti çok iyi

bilinmektedir (Olsen vd., 2006; Klug vd., 2009; Corsi vd., 2015). 1970 ve 1980 yılları arasında döllenen yumurtadan erişkinine kadar bu nematodun hücre soyu, lazer ablasyonu mikroskobu ile karakterize edilmiştir (Benitez ve Verbel, 2016).



Şekil 2.7 Nomarski görüntülemesi (DIC) ile yüksek büyütme gücü altında çekilen *C. elegans* görüntüleri (Corsi vd., 2015)

*C. elegans*'ın yaşam döngüsü (20°C' de), hayvanlar yetişkinliğe ulaşmadan önce bir embriyonik (yumurta) ve dört larval dönemden (L1-L4) oluşur (Porta de la Riva vd., 2012). Bu larval dönemler yaklaşık 3-4 gün sürmektedir. Sonra embriyo üretebilen erişkin forma gelebilmektedirler (Savaş, 2018). Ömrü laboratuvar koşullarında yaklaşık olarak 2-3 haftadır (20°C' de ortalama 14-20 gün) (Byerly vd., 1976; Olsen vd., 2006). Ancak; olumsuz stres koşullarında (besin yetersizliği, sıcaklık, kuruma gibi), L1-L2 evresinden sonra L3 evresi yerine "Dauer" olarak isimlendirilen alternatif bir gelişim formuna dönüşebilmektedir. Bu formda yaklaşık 4 ay kadar yaşayabilirler. Olumsuz stres koşulları ortadan kalktığında ise, bu formdaki bireyler, hayat döngülerine L4 evresinden devam ederek gelişimlerini tamamlarlar (Finch ve Ruvkun, 2001; Springer, 2005; Savaş, 2018). *C. elegans*'ın yaşam döngüsü Şekil 2.8'de gösterilmiştir.



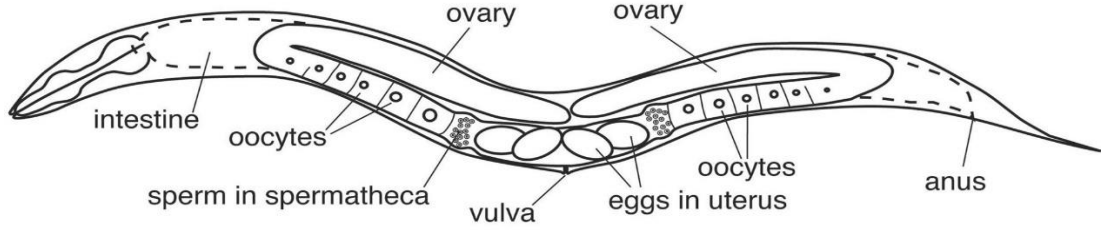
**Şekil 2.8** *C. elegans*'ın yaşam döngüsü (Corsi vd., 2015)

Kısa yaşam süresine sahip oldukları için yaşlanma ve yaşam süresi ile ilgili çalışmalarda, şeffaf bir yapıya sahip oldukları için de, yeşil fluoresanslı bir protein kullanılarak gen ekspresyon çalışmalarında oldukça sık kullanılmaktadırlar (Hortviz, 2003; Özpınar vd., 2014). *C.elegans*'ta şimdiye kadar yaşlanmayı kontrol eden 50'den fazla gen tespit edilmiştir ve bu genlerin çoğu diğer canlı organizmalardaki genlerin homologlarıdır (Tavernarakis ve Driscoll, 2002; Savaş, 2018).

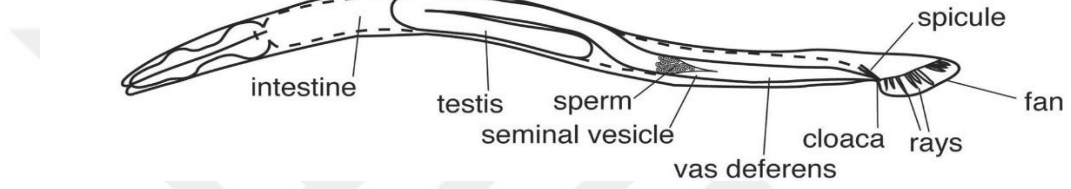
*C.elegans*'ların, hermafrodit (testis ile ovaryum birlikte) ve erkek (sadece testis) olmak üzere iki eşeyssel fenotipi vardır. Hermafrodit olanları XX, erkek olanları ise X0 kromozom yapısındadır. Bu solucanlarda, Y kromozomu yoktur (Brenner, 1973; Klug vd., 2009). Hermafroditlerin larval gelişimleri esnasında testis, sperm üretir hale gelir ve sonra üretilen sperm depo edilir. Aynı zamanda ovaryumlar da oluşturulur, fakat birkaç gün sonraki erişkin safhaya ulaşıncaya kadar oogenez meydana gelmez. Gelişen yumurtalar, kendi-dölleme sürecinde depo edilen spermiler ile döllenir (Klug vd., 2009). Her hermafrodit kendini dölleyerek yaklaşık 300 yavru üretebilir (Olsen vd., 2006). Hermafroditlerin kendini döllemesiyle oluşan oğul dölün %1'inden daha azı (< %1) erkek, %99'unundan fazlası (> %99) ise hermafrodittir (Klug vd., 2009;

Riddle, 2010). Erişkin olan erkekler, hermafroditlerle çiftleştğinde ise, yarısı (%50) erkek yarısı (%50) da hermafrodit oğul döl meydana getirebilirler (Klug vd., 2009).

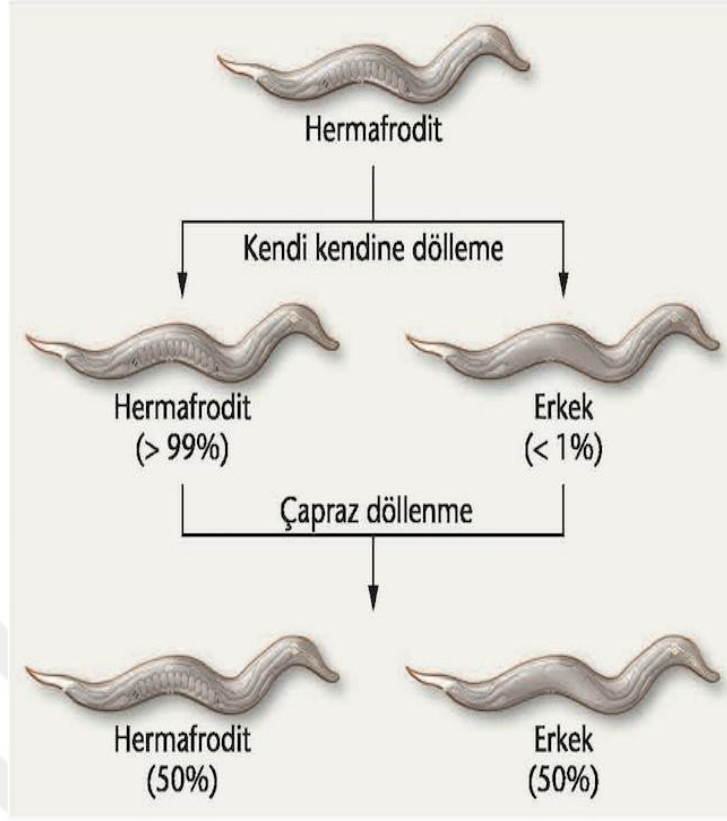
## XX hermaphrodite



## XO male



Şekil 2.9 Hermafrodit ve erkek *C. elegans* bireylerinin genel vücut yapısı (Zarkower, 2006)



**Şekil 2.10** *C. elegans*'ta kendi-döllemenin ve çapraz döllemenin gerçekleşmesi (Klug vd., 2009)

*C. elegans*'ların yaklaşık 20.000 civarında geni ve toplamda 6 kromozomu vardır. Bu genlerin önemli bir kısmının insan genlerine büyük oranda benzerlik gösterdiği saptanmıştır (Olgun vd., 2005). Bu nedenle, *C. elegans*, ökaryotik genlerin keşfi ve fonksiyonel karakterizasyonu için önemli bir organizmadır (Dimitriadi ve Hart, 2010; Benitez ve Verbel, 2016).

*C. elegans* genomu dizilenen ilk çok hücreli, ikinci ökaryotik organizmadır. Genom dizisinin belirlenmiş olması, birçok hastalığın tanımlanmasında ve çeşitli kimyasalların etkisinin incelenmesinde kolaylık sağlamaktadır (Ünal ve Ertam, 2008). Ayrıca, RNAi teknolojisi ve transgenik oluşturma gibi teknikler kolaylıkla uygulanabilmektedir (Ergen, 2012).

Memeli olmayan bir sistem olmasına rağmen, metabolik sendrom, yaşlanma, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, depresyon ve nöral dejenerasyon gibi pek çok insana ait hastalıklarda model organizma olarak kullanılmaktadır (Olsen vd., 2006). Kas

hücreleri, sinir sistemi, hipodermis, bağırsak, gonad, salgı bezleri ve dışkılama sistemi içermektedir (Ergen, 2012).

İlk olarak 1963 yılında Sydney Brenner, sinir sistemi ve gelişimi etkileyen genlerin rolü üzerinde yaptığı çalışmada bu nematodu kullanmıştır. Sydney Brenner, Robert Horvitz ve John Sulston “organ gelişiminin genetik regülasyonu ve programlı hücre ölümleri“ adlı, model organizma olarak *C. elegans*'ın kullanıldığı bir çalışmayla 2002 yılında nobel ödülü almışlardır (Doğan, 2016). Ayrıca apoptozun (programlı hücre ölümü) moleküler temellerinin keşfi de model organizma olarak *C. elegans*'ın kullanılması sayesinde mümkün olmuştur (Singh vd., 2017).

### **2.7.1. *C. elegans*' ın Model Organizma Olarak Seçilmesinin Sebepleri**

Model organizmalar, özellikle insana özgü hastalıkların olası sebepleri ve bunların tedavileri için, bu deneylerin insanlar üzerinde gerçekleştirilemediği ve etik olmadığı durumlarda yaygın olarak kullanılırlar. Bu organizmaları laboratuvar ortamında üretmek ve üretimlerini devam ettirmek kolaydır ve dikkate değer deneysel avantajları vardır. Bu avantajlardan en önemlisi, bu organizmaların genlerinin insan genleriyle yakından ilişkili olmasıdır (Anonim, 2018b).

*C. elegans*'ın genomunun ve genetiğinin iyi bilinmesi, insan genleri ile %60-80'lere varan oranda gen homolojisi göstermesi, ekonomik olması, laboratuvarında (in vitro ortamda) yaşamını kolayca sürdürebilmesi ve ortalama 20 günlük yaşam süresine sahip olması, bu organizmanın birçok çalışmada yaygın olarak kullanılmasına sebep olmaktadır (Ségalat, 2006). Ayrıca, ucuz bir şekilde, bakterilerin ürettiği standart agarlarda çok sayıda üretilebilirler. Dondurulup, saklanabilir ve gerektiğinde tekrar kullanılabilirler. Hermafrodit bireyler erkeklerle çiftleşip genetik çeşitliliği sağlarlar. Bu nedenle, genetik çalışmalar için uygundur (Doğan, 2016).

Genom dizisinin belirlenmiş olması, birçok hastalığın tanımlanmasında ve çeşitli kimyasalların etkisinin incelenmesinde kolaylık sağlamaktadır (Ünal ve Ertam, 2008).

Etik kurul gerektirmeyen çalışma imkanı ile hızlı ve etkin çözümler sunması *C. elegans*'ı toksikolojik çalışmalar için de değerli bir model organizma yapmaktadır. Bu nedenle, mevcut toksisite verileri az olan veya hiç bulunmayan, kimyasal maddelerin, memeli testleri arasında bir ara basamak olarak *C. elegans* üzerinde denendiği birçok



Çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen toksisite verileri ile memeli canlılardaki etkiler öngörülebilmektedir (Savaş, 2018).



### 3. ÇALIŞMANIN AMACI

Günümüzde GKM'ler oldukça çeşitlilik göstermekte ve birçoğunun insan sağlığı üzerine olan etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir. GKM'ler gibi yaygın kullanılan ve toksik ya da toksik olma potansiyeli yüksek olan maddelerin etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla yapılan çalışmalar, insan sağlığını ilgilendirmesi sebebiyle oldukça önem arz etmektedir.

GKM'lerin; kanser, doğum kusurları, sinir sistemi ya da diğer organlar üzerindeki etkilerinin saptanması ve yasalara uygun kullanılabilmesi için akut, kronik ve farmakolojik deneylerinin, fare dışında iki farklı hayvan üzerinde yapılmış olması zorunludur (Çalışır ve Çalışkan, 2003; Kaya, 2011).

Bu çalışma, insanlarda bazı semptomlara ve hastalıklara sebep olduğu bilinen GKM'lerden; benzoik asit, sodyum nitrat ve çeşitli gıda boyalarının (allura red, tartrazin ve sunset yellow) farklı dozlarının; bir model organizma kullanılarak, yaşam süresi, fiziksel büyüme ve fertilité üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla planlanmıştır.

Çalışmada, model organizma olarak, insanlarla %60-80 oranında gen homolojisi gösteren ve özellikle insanlara özgü hastalıkların nedenleri ve tedavi yöntemlerinin belirlenmesine yönelik yapılan birçok bilimsel çalışmada yaygın olarak kullanılan *C. elegans* kullanılmıştır.

Çalışma kapsamında; 5 farklı konsantrasyonda (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) hazırlanan GKM'ler, *C. elegans* standart besiyerine uygulanmıştır. Yaşam süresi analizi için; Sutphin ve Kaerberlein (2009) tarafından tarif edilen standart protokol uygulanarak her gün aynı saatte canlı sayımı yapılmıştır. Bu işlem bütün petriyelerdeki *C. elegans*' lar ölene kadar devam etmiştir. Fertilité analizinde; Koelle (2005) protokolü uygulanarak yumurta sayımı yapılmış ve yumurtadan çıkan birey sayıları da belirlenerek verimlilik analizleri yapılmıştır. Fiziksel büyüme analizinde ise; *C. elegans*'ların yumurtadan çıktıktan 3 gün sonra 4x objektif altında ışık mikroskopundaki görüntüleri alınarak boy uzunlukları ölçülmüştür. Her bir analiz için kontrol grubu ile karşılaştırma yapılmıştır. Analizler, en az 3 kez tekrar edilerek,

ortalamalar belirlenip, yaşam süresi analizi verilerinde OASIS (Online Application for Survival Analysis) yazılımı, fertilite ve fiziksel büyüme analizi verilerinde ise SPSS programı kullanılarak gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

İnsan sağlığını etkileyen GKM'lerin toksik dozlarının, yaşam süresi, fiziksel büyüme ve fertilite gibi parametrelere nasıl etki ettiğinin belirlenmesi oldukça önem teşkil etmektedir ve bu konudaki çalışmaların artırılması da birçok konuya ışık tutması açısından önemlidir. Bu nedenle; konuyla ilgili çeşitli araştırmaların gelecekte daha da yoğunluk kazanacağı kuşkusuzdur. Çalışmadan elde edilen çıktılar daha sonra yapılacak olan çalışmalara yol gösterici olabilecek niteliktedir.



## 4. MATERYAL VE METOD

Çalışmada, N2 yabani tip *C. elegans* ve *Escherichia coli* OP50 suşu kullanılmış olup, stok kültürler Minnesota Üniversitesi'ne bağlı Caenorhabditis Genetik Merkezi'nden (CGC) temin edilmiştir. Stok kültürler, karanlık ortamda ve uygun sıcaklıklarda (*C. elegans* için, 20-25 °C; *Escherichia coli* OP50 suşu için, +4 °C) muhafaza edilmiştir.

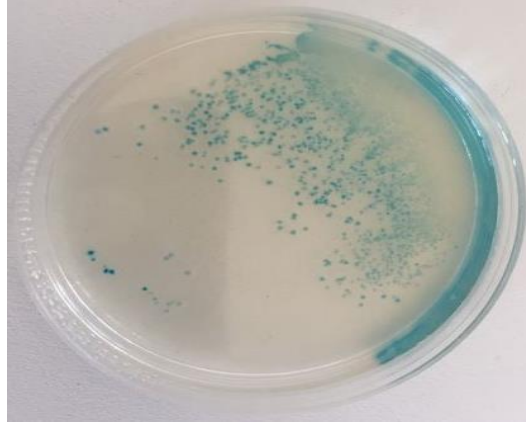
Çalışmada kullanılan GKM'ler için doz belirlemesi yapılırken, daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınmış ve çalışma kapsamında kullanılan bütün katkı maddeleri için aynı dozlar belirlenmiştir (Bazı katkı maddeleri için belirlenen en yüksek doz, Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen değerlerin üzerindedir).

### 4.1. *E. coli* OP50 Suşu İçin TBX Agar Besiyerinin Hazırlanması

9,125 g TBX Agar (Tryptone Bile Glucuronide Agar, Biokar Diagnostics) hassas terazide tartılıp, üzerine 250 mL saf su (distile su, dH<sub>2</sub>O) eklenmiştir. Daha sonra, manyetik karıştırıcıda agarın çözünmesi sağlanmış ve besiyeri sterilizasyonu için 125°C de 15 dk otoklava konulmuştur. Otoklavdan çıkan besiyeri 55 °C'ye kadar soğutulmuştur.

### 4.2. *E. coli* OP50 Suşunun Saflaştırılması

*E. coli* OP50 suşu için hazırlanan TBX Agar besiyerinden, 60 mm'lik petri kaplarına yaklaşık 10 mL dökülüp katılaşması beklenmiştir. Katılaştıktan sonra kullanıma hazır hale gelen TBX Agar besiyerlerine, öze yardımcı ile bek alevi yanında *E. coli* OP50 suşu ekilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Koloni oluşumu gözlemlendikten sonra, *E. coli* OP50 suşuna ait olan spesifik mavi koloniler belirlenmiştir. Bu işlem, *E. coli*'leri sıvı besiyerine aktarım yapmadan önce kontaminasyon olma ihtimaline karşı *E. coli* OP50 suşuna ait olan kolonileri belirleyerek, *E. coli* OP50 suşunu saflaştırmak için yapılmıştır.



**Şekil 4.1** *E. coli* OP50 suşunun TBX Agar besi yerindeki koloni görüntüsü

#### **4.2. *E. coli* OP50 Suşu İçin Sıvı Besiyerinin Hazırlanması**

Saflaştırması yapılan *E. coli* OP50 suşunun sıvı besi ortamına aktarımını yapmak ve çoğaltmak için sıvı besiyeri hazırlanmıştır. Bunun için; 9,125 g Lauryl Sulfate Tryptose Broth (LST Broth, Lab M) hassas terazide tartıldıktan sonra, üzerine 250 mL saf su eklenmiş ve 120 °C de 15 dk otoklavlanmıştır. Otoklavda sterilizasyonu sağlanan besiyeri, 37 °C'ye soğutulmuş ve sonrasında TBX Agar besiyerinden bir kolonilik *E. coli* OP50 suşu öze yardımı ile alınarak, LST Broth'a ekim yapılmıştır. Bu işlem yapılırken kontaminasyon riskine karşılık laminar flow (steril kabin) içerisinde ve bek alevi yanında çalışılmıştır. Sıvı besiyerine aktarım yapıldıktan sonra, 37 °C'deki etüvde 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Üreme gerçekleştikten sonra çalışmada kullanılmak üzere +4°C'ye kaldırılmıştır (Sıvının bulanıklaşması *E. coli*'nin ürediğinin göstergesidir).

#### **4.3. Nematod Besiyeri (Nematode Growth Media, NGM)'nin Hazırlanması**

2,5 g Bacto-peptone (Oxoid), 3 g NaCl (Merck) ve 20 g Agar (Liofilchem) tartıldıktan sonra, 1 L distile su içerisinde kaynama sıcaklığına gelene kadar manyetik karıştırıcıda çözünmesi sağlanmış ve 120 °C'de 15 dk otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıktıktan sonra 55 °C'a kadar soğutulmuştur. Soğutulan NGM'lerin homojenizasyonunu sağlamak için, daha önceden hazırlanan saplementler, 1mL MgSO<sub>4</sub> (1M), 1 mL Cholesterol (5 mg/mL), 1 mL CaCl<sub>2</sub> (1M) ve 25 mL KPO<sub>4</sub> tampon (pH:7) 0,2 µm gözenekli selüloz filtrelerden süzülerek, besiyerine eklenmiştir. Daha sonra, sıcaklığı 55 °C'ye ayarlanmış olan etüve kaldırılmış ve burada kısa sürede tüketilmek kaydıyla muhafaza edilmiştir.

#### 4.4. NGM'de *C. elegans*'ların Kültüre Alınması

Homojenizasyonu sağlanan NGM'ler 60 mm'lik petri kutularına yaklaşık olarak 10 mL dökülüp, katılaşması beklenmiştir. Katılaştıktan sonra NGM'nin ortasına yaklaşık 400 µl *E. coli* OP50 suşu eklenmiş ve *E. coli* eklenen petri kutuları yaklaşık olarak 1-2 gün steril ortamda kurumaya bırakılmıştır. Agar kıvamını koruması için NGM'nin tamamen kurumamasına dikkat edilmiştir. Bakteri solüsyonu kuruyunca, stok besi yerinden küçük bir parça kesilerek, hazırlanan NGM'ye ters bir şekilde yerleştirilmiştir. Böylece, *C. elegans*'lar NGM besiyerinde kültüre alınarak çoğalması sağlanmıştır.

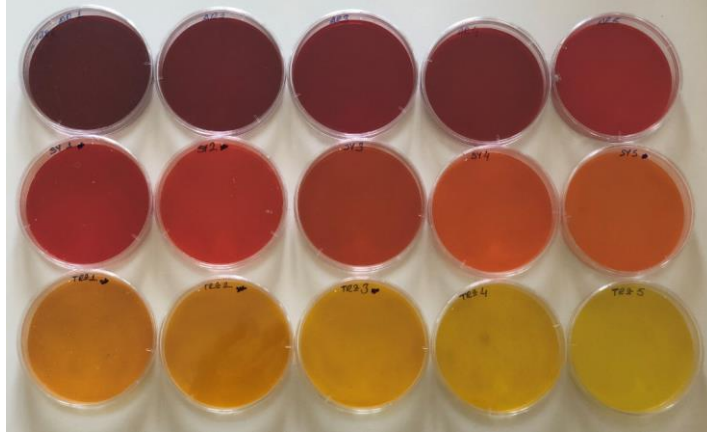


Şekil 4.2 *C. elegans*'ların kültür ortamı

#### 4.5. Gıda Katkı Maddelerini İçeren NGM'lerin Hazırlanması

Yaşam süresi analizi için kullanılacak olan NGM'ler, yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanmış ve homojenizasyonu sağlanmıştır. Ancak, yaşam süresi analizi süresince *C. elegans*'ların yumurta gelişimini önlemek amacıyla NGM'ye fluorodeoxyuridine (FUDR, Sigma Aldrich) eklenmiştir. Daha sonra, NGM'ye çalışmada kullanılan gıda katkı maddeleri (benzoik asit (tekkim), sodyum nitrat (merck), allura red (alfasol), tartrazin (alfasol) ve sunset yellow (alfasol)) farklı dozlarda (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) eklenmiş ve 60 mm'lik petri kutularına (İsolab) yaklaşık olarak 10 mL dökülerek, agar kıvamını alması beklenmiştir. Kontrol grubu için, katkı maddesi eklenmemiş NGM'ler kullanılmıştır.

Fertilite ve fiziksel büyüme analizleri için, içerisinde FUDR eklenmeyen NGM'ler kullanılmıştır. Belirlenen dozlarda gıda katkı maddeleri eklenerek, petri kutularına (60 mm) dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir. Kontrol petrilere herhangi bir katkı maddesi eklenmesi yapılmamıştır. Daha sonra hazırlanan bütün petriler, *C. elegans*'ların senkronizasyonu işleminden sonra kullanılmak üzere, alüminyum folyo ile sarılarak +4 °C'ye kaldırılmıştır.



**Şekil 4.3** Çalışmada kullanılan gıda boyalarının farklı dozlarını içeren NGM'ler (Soldan sağa sırasıyla doz grupları 0,1 g, 0,05 g, 0,02 g, 0,01 g, 0,006 g/10 mL'dir)

#### **4.6. *C. elegans*' ların Senkronizasyonu**

1 g NaOH (Merck) hassas terazide tartılmış ve üzerine 5 mL distile su eklenerek çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra, 1 mL sodyum hipoklorid ve 0,5 mL NaOH çözeltisi santrüfjü tüpüne aktarılmıştır.

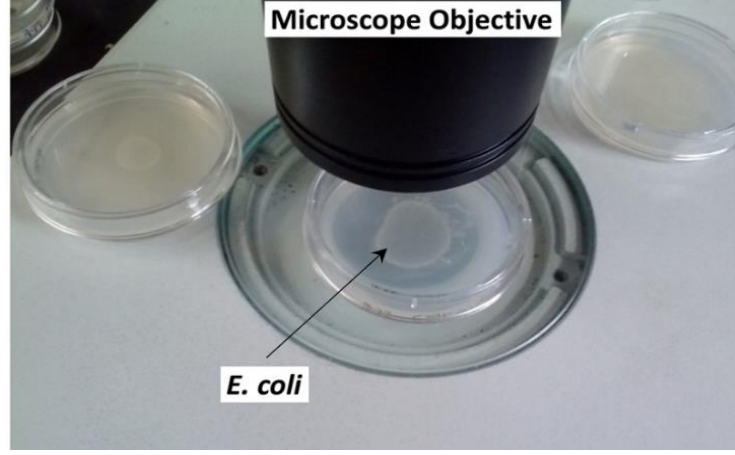
Daha önce hazırlanmış olduğumuz, *C. elegans*' ların kültüre alındığı NGM'lere saf su (yaklaşık 2 mL) yardımıyla pipetaj yapılmış ve böylece yumurtaların yıkanması sağlanmıştır. Yıkanan yumurtalar da mikropipet yardımıyla santrüfjü tüpüne aktarılmış ve 3000 rpm'de 10 dk santrüfjü edilmiştir. Santrifjü işleminden sonra süpernatant kısmı atılarak, kalan kısım yeni NGM' lere aktarılmıştır.

Aktarımı yapılan yumurtalar senkronize olmuş yavruları oluşturmaktadır ve 3. günün sonunda yetişkin forma geldiğinde (L4) yaşam süresi analizinde kullanılmıştır.

#### **4.7. Yaşam Süresi Analizi**

Yaşam süresi analizi için önceden hazırlanan FUDR içerikli ve farklı dozlarda gıda katkı maddesi bulunan NGM'lerin ortasına yaklaşık 400 µl *E. coli* OP50 suşu eklenmiş ve yaklaşık olarak 1-2 gün steril ortamda kurutulmaya bırakılmıştır. Bakteri solüsyonu kuruyunca, stereo mikroskop (Carl Zeiss) altında her bir petriye senkronize olmuş yetişkin formdaki (L4) *C. elegans*' lardan 50'şer birey aktarılmıştır. Aynı işlem, kontrol petrieleri için de yapılmıştır. Aktarım işleminden sonra, her gün aynı saatte bütün petrielerdeki canlı *C. elegans*' lar, kontrol grubu ile birlikte 4x objektif altında ışık

mikroskobunda (Nikon E200) sayılmıştır. Sayma işlemi bütün petrilerdeki *C. elegans*' lar ölene kadar devam etmiştir (Sutphin ve Kaerberlein, 2009).

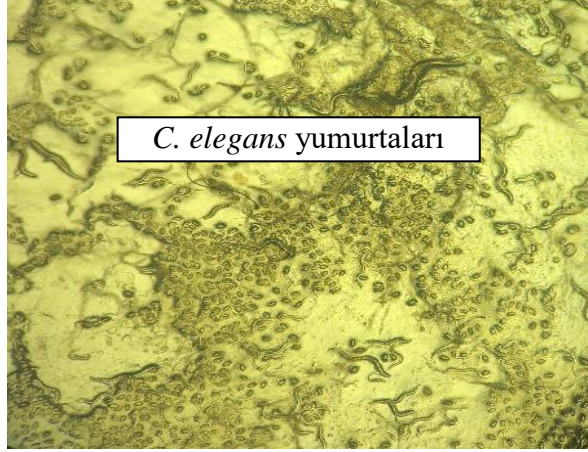


**Şekil 4.4** *C. elegans*' ların stereo mikroskop altındaki aktarım işlemi

#### **4.8. Fertilité Analizi**

Yumurta verimi analizinde, içinde FUDR bulunmayan NGM'ler kullanılmıştır. Yumurta sayımı, Koelle (2005) protokolüne göre yapılmıştır. Buna göre; çalışmada kullanılan gıda katkı maddelerin farklı dozları (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) ile hazırlanmış her bir petriye 15 adet iyi beslenen L4 evresindeki *C. elegans*'lardan aktarılmıştır. 36 saat sonra bunların 10 tanesi yeni bir petriye aktarılarak, 20 °C'de 30 dk bekletilmiştir. Süre sonunda, 4x objektif ile ışık mikroskobu altında yumurtalar sayılmış ve sayma işleminden sonra erişkin *C. elegans*'lar yeni petrilere alınmıştır. Bu işlem 3 gün boyunca tekrarlanmıştır. Ayrıca, yumurtaların bulunduğu petrilere bir gün sonra yumurtadan çıkan *C. elegans* bireyleri sayılarak, çatlamayan yumurtalar tespit edilmiştir. Elde edilen veriler ile yumurta verimi (yumurtadan çıkma yüzdesi) hesaplanmıştır. Daha sonra, kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak değerlendirme yapılmıştır.





**Şekil 4.5** *C. elegans*' ların ışık mikroskobu (4x) altındaki yumurta görüntüsü

#### **4.9. Fiziksel Büyüme Analizi**

Fiziksel büyümenin kontrolü amacıyla hazırlanan ve aynı dozlarda gıda katkı maddesi içeren NGM içerisinde flurodeoxyuridine (FUdR) eklenmeyerek petrilere eşit miktarda *C. elegans* yumurtası ilave edilmiştir. İçerlerinde 50-100'er adet yumurta bulunan petrilere, 3. günün sonunda kontrol grubuyla birlikte 4x objektif altında ışık mikroskobunda görüntü alınmış ve bu görüntüler üzerinden *C. elegans*' ların vücut büyüklükleri ölçülmüştür.

#### **4.10. İstatistiksel Analizler**

Bütün analizler en az üç kez tekrarlanmış olup, yaşam süresi araştırma bulguları istatistiki analizinde; OASIS (Online Application for Survival Anaylysis) yazılımı kullanılarak, gruplar arasındaki farklılıklar Log-Rank Testi ile belirlenmiştir (Yang vd., 2011).

Fertilite ve Fiziksel Büyüme araştırma bulguları için istatistiksel analizler SPSS 22.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey testi ile  $P < 0,05$  olacak şekilde belirlenmiştir.

## 5. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu alıŐma, Fen Fakóltesi, Biyoloji bólümü, Moleküler Biyoloji araştırma laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada, 5 sentetik gıda katkı maddesinin (benzoik asit, sodyum nitrat, allura red, tartrazin ve sunset yellow) farklı dozları (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g /10 mL) *C. elegans* kóltür ortamına uygulanmış ve sonrasında bu dozlara maruz kalan *C. elegans*'ta, yaşam süresi, fertilite ve fiziksel büyüme değişiklikleri incelenmiŐtır. Bulgular kontrol gruplarıyla ve birbirleriyle karşılaştırma yapılarak deęerlendirilmiŐtır.

### 5.1. Benzoik Asit Araştırma Bulguları

Benzoik asit'in 5 farklı dozu (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) için, *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilite ve fiziksel büyüme analizleri yapılmıştır. Her bir analiz için bulgular ayrı ayrı deęerlendirilmiŐtır.

#### 5.1.1. Benzoik Asit Yaşam Süresi Analizi Bulguları

Benzoik asit'in farklı dozlarının *C. elegans*'ta yaşam süresine olan etkisini gösteren Log-Rank Testi sonuçları izelge 5.1'de verilmiŐtır.

**Çizelge 5.1** Benzoik asit'in *C. elegans*'ta yaşam süresine olan etkisi

Kontrol-Doz karşılaştırması	Ki- Kare	P- değeri	Bonferroni P-değeri
<b>Kontrol v.s. 0,006 g/10 mL</b>	1.32	0.2507	1.0000
<b>Kontrol v.s. 0,01 g/10 mL</b>	17.87	2.4e-05	0.0001
<b>Kontrol v.s. 0,02 g/10 mL</b>	30.38	3.6e-08	1.8e-07
<b>Kontrol v.s. 0,05 g/10 mL</b>	68.90	0.0e+00	0.0e+00
<b>Kontrol v.s. 0,1 g/10 mL</b>	98.26	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,006 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	1.32	0.2507	1.0000
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	9.30	0.0023	0.0115
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	20.20	7.0e-06	3.5e-05
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	53.97	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	77.11	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,01 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	17.87	2.4e-05	0.0001
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	9.30	0.0023	0.0115
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	4.89	0.0271	0.1353
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	22.70	1.9e-06	9.5e-06
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	41.46	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,02 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	30.38	3.6e-08	1.8e-07
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	20.20	7.0e-06	3.5e-05
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	4.89	0.0271	0.1353
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	10.33	0.0013	0.0066
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	28.73	8.3e-08	4.2e-07
<b>0,05 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	68.90	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	53.97	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	22.70	1.9e-06	9.5e-06
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	10.33	0.0013	0.0066
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	9.53	0.0020	0.0101
<b>0,1 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	98.26	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	77.11	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	41.46	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	28.73	8.3e-08	4.2e-07
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	9.53	0.0020	0.0101

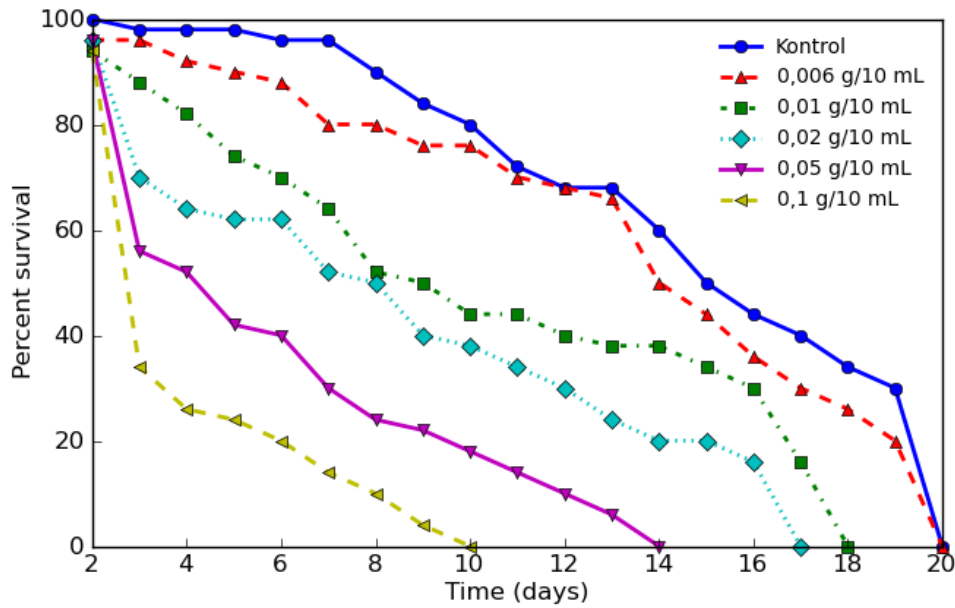
$P < 1.0 * 10^{-10}$  olduğunda 0.00e+00 P değeri verilir. P değerleri  $P < 0,05$  için önemlidir.

Benzoik asit dozları ile kontrol grubu arasında yapılan kıyaslamalarda; 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL uygulama dozları için anlamlı bir farklılığın olduğu görülmektedir ( $P < 0,05$ ). Bu farklılık doz artışı ile birlikte artmaktadır. Diğer taraftan, benzoik asit'in 0,006 g/10 mL'lik dozu, kontrol grubu ile kıyaslandığında ortaya çıkan farklılık anlamlı değildir ( $P > 0,05$ ). Sonuç olarak, uygulama dozlarından 0,006 g/10 mL'lik

benzoik asit dozu hariç diğer tüm uygulama dozları (0,1 g, 0,05 g, 0,02 g, 0,01 g/10 mL) *C. elegans* için toksik etki oluşturarak, yaşam süresini kısaltmıştır (Çizelge 5.1).

Dozlar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise, uygulanan bütün dozlar arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). Doz grupları arasında konsantrasyon farkı arttıkça yaşam süresi farklılığı da artmaktadır (Çizelge 5.1).

Benzoik asit'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik dozlarının ve kontrol grubunun yaşam süresi verileri ile oluşturulmuş yaşama yüzdesi grafiği Şekil 5.1'de verilmiştir.



**Şekil 5.1** Benzoik asit'in farklı dozlarının *C. elegans*'ta yaşama yüzdesine olan etkisi

En düşük yaşama yüzdesi, benzoik asit'in en yüksek dozu olan 0,1 g/10 mL'de görülürken; en yüksek yaşama yüzdesi, en düşük doz olan 0,006 g/10 mL'de görülmüştür. 0,1 g/10 mL dozunda *C. elegans* bireylerinin yarısı (%50'si, 25 birey) 4. günün sonunda ölmüştür. 10. gün sonunda ise bu dozda yaşayan hiçbir *C. elegans* bireyi kalmamıştır. Yaklaşık 14-20 günlük bir yaşam süresi olduğu bilinen *C. elegans* bireyleri için benzoik asit'in bu dozu (0,1 g/10 mL) yaşam süresini önemli ölçüde (yaklaşık %50 oranında) kısaltmıştır. Diğer uygulama dozlarında da (0,006 g/10 mL hariç), yaşama yüzdesinde önemli düşüşlerin olduğu ve benzoik asit doz miktarındaki artışın toksik etkiyi artırdığı tespit edilmiştir (Şekil 5.1).

### 5.1.2. Benzoik Asit Fertilité Analizi Bulguları

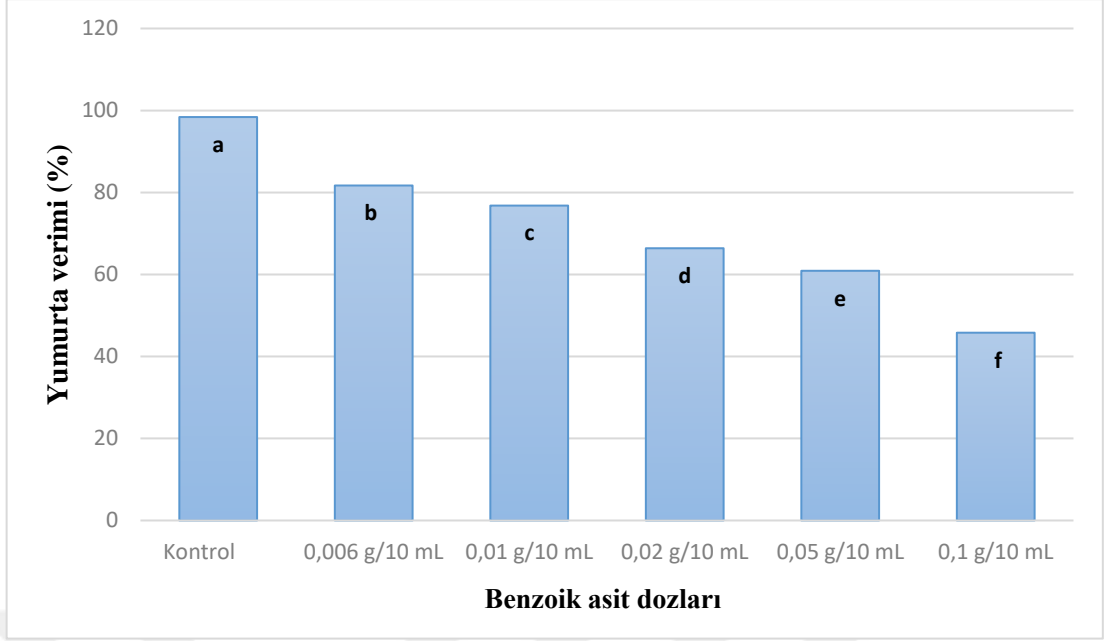
Benzoik asit'in farklı dozlarının *C. elegans*'ta fertilitéye olan etkisine ait istatistik sonuçları Çizelge 5.2 ve Şekil 5.2'de verilmiştir.

Çizelge 5.2 Benzoik asit'in *C. elegans*'ta fertilitéye olan etkisi

Dozlar (g/10 mL)	Yumurta sayısı	Birey sayısı	Yumurta verimi (%)
Kontrol	985,33±2,51 <sup>a</sup>	973,33±1,52 <sup>a</sup>	98,4 <sup>a</sup>
0,006	642,0±3,60 <sup>b</sup>	528,66±2,08 <sup>b</sup>	81,7 <sup>b</sup>
0,01	502,33±2,51 <sup>c</sup>	386,33±1,52 <sup>c</sup>	76,8 <sup>c</sup>
0,02	349,66±4,04 <sup>d</sup>	232,66±2,08 <sup>d</sup>	66,4 <sup>d</sup>
0,05	266,0±3,0 <sup>e</sup>	160,66±1,52 <sup>e</sup>	60,9 <sup>e</sup>
0,1	71,66±2,51 <sup>f</sup>	31,33±1,52 <sup>f</sup>	45,8 <sup>f</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

10 *C. elegans* bireyinde 3 gün süresince elde edilen yumurta ve yumurtadan çıkan birey sayısı ile yumurta verimliliğine ait bulgular değerlendirildiğinde, benzoik asit'in uygulanan doz gruplarının hepsinin fertilité üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu görülmektedir. Kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmada, yumurta ve birey sayısındaki en büyük düşüş 0,1 g/10 mL dozunda olmuştur. Benzoik asit doz miktarı azaldıkça yumurta ve yumurtadan çıkan birey sayısına ait değerlerde artış olmasına rağmen, en düşük benzoik asit dozu (0,006 g/10 mL)'nda bile fertilité üzerindeki etkinin anlamlı olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Doz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında da, istatistiksel olarak farklılıklara rastlanmıştır. Her doz grubu, birbirinden farklı olarak önemli ölçüde fertilitéye etki etmiştir (Çizelge 5.2).

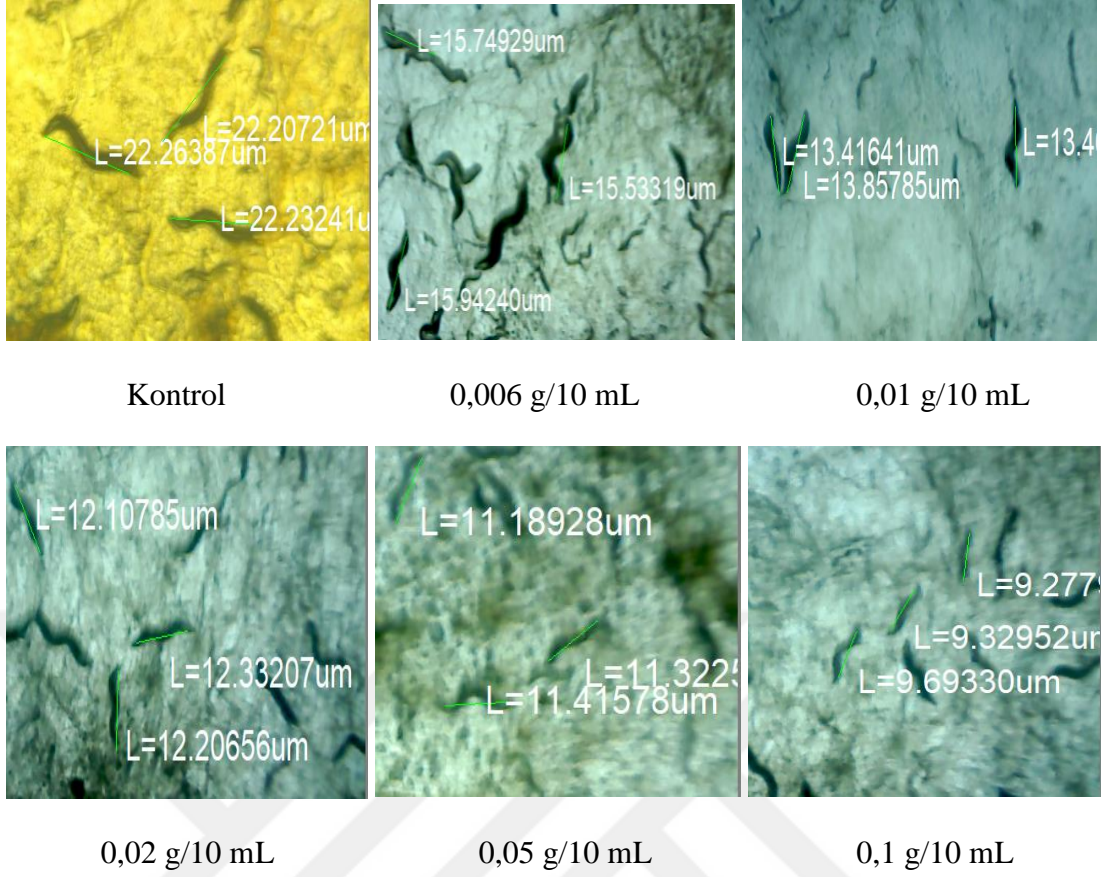


**Şekil 5.2** Benzoik asit'in *C. elegans*'ta yumurta verimine olan etkisi

Benzoik asit'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g /10 mL'lik uygulama dozları için *C. elegans*'ların yumurta verimlilikleri sırası ile, %81,7; %76,8; %66,4; %60,9 ve %45,8 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise, yumurtadan çıkan yavruların yüzdesi 98,4'tür. Kontrol ile yapılan kıyaslamada, benzoik asit dozlarının sebep olduğu yumurta verimliliğindeki düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P < 0,05$ ) ve bu dozlarının yumurta verimliliğine büyük ölçüde olumsuz etkileri olmuştur. Doz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında da, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. En yüksek (0,1 g/10 mL) ve en düşük (0,006 g/10 mL) benzoik asit dozu arasında yaklaşık %36 oranında bir fark söz konusudur (Şekil 5.2).

### 5.1.3. Benzoik Asit Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları

Benzoik asit'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g /10 mL dozlarına maruz kalan ve yumurtadan çıktıktan 3 gün sonra 4x objektif ile ışık mikroskopunda görüntüsü alınarak, boy ölçümleri yapılan *C. elegans*'ların boy uzunlukları (mikrometre,  $\mu\text{m}$ ) Şekil 5.3'te gösterilmiştir.



**Şekil 5.3** Benzoik asit'in farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları

Benzoik asit'in fiziksel büyüme üzerine olan etkilerinin incelenmesi sonucunda elde edilen istatistik verileri Çizelge 5.3'te ve bu verilere göre hazırlanmış grafik Şekil 5.4'te verilmiştir.

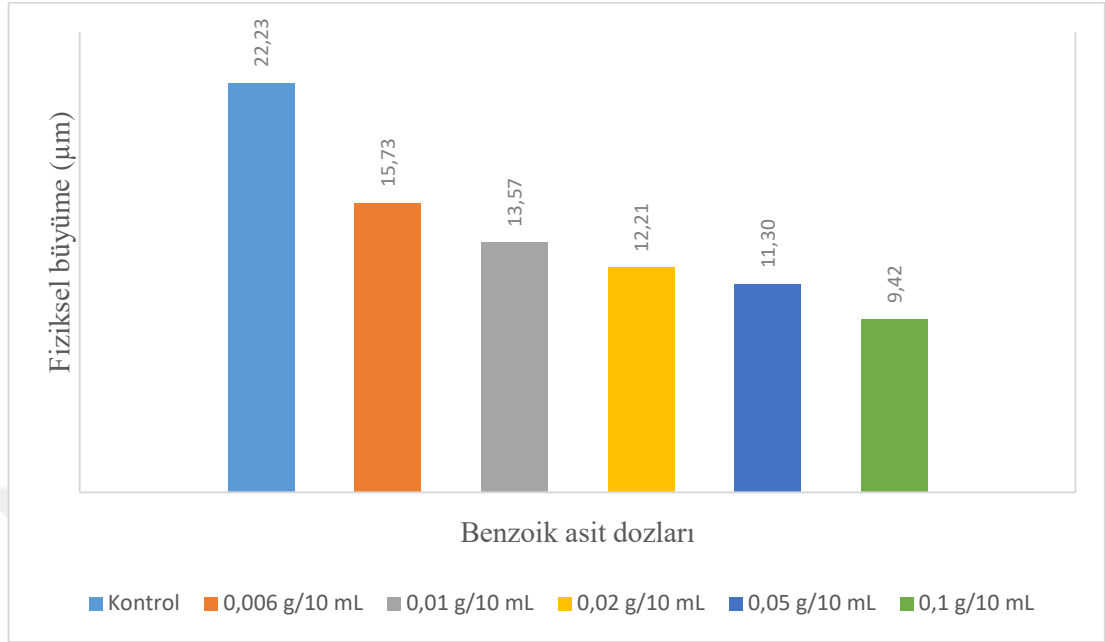
**Çizelge 5.3** Benzoik asit'in *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Dozlar (g/10 mL)	Fiziksel Büyüme
<b>Kontrol</b>	22,23±0,03 <sup>a</sup>
<b>0,006</b>	15,73±0,20 <sup>b</sup>
<b>0,01</b>	13,57±0,23 <sup>c</sup>
<b>0,02</b>	12,21±0,11 <sup>d</sup>
<b>0,05</b>	11,30±0,11 <sup>e</sup>
<b>0,1</b>	9,42±0,22 <sup>f</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Benzoik asit'in uygulanan dozlarının tamamının *C. elegans*'ta fiziksel büyüme üzerine olan etkisinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Uygulanan dozlar arasında, büyüme geriliğinin en fazla olduğu benzoik asit dozu 0,1

g/10 mL iken, büyüme geriliğinin en az olduğu benzoik asit dozu 0,006 g/10 mL'dir (Çizelge 5.3).



**Şekil 5.4** Benzoik asit'in *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Benzoik asit miktarındaki artış, *C. elegans* bireylerinde vücut büyüklüğünü düşürmektedir. Bu nedenle, doz artışına bağlı olarak büyüme geriliği de artmaktadır. Benzoik asit doz grupları arasında ölçülen en düşük boy uzunluğu ortalaması 9,42 µm iken, en yüksek boy uzunluğu ortalaması 15,73 µm olmuştur. Kontrol grubunda bulunan *C. elegans* bireylerinin boy uzunluk ortalaması ise 22,26 µm olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.4).

## 5.2. Sodyum Nitrat Araştırma Bulguları

Sodyum nitrat'ın 5 farklı dozu (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) için, *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme analizleri yapılmıştır. Analiz bulguları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

### 5.2.1. Sodyum Nitrat Yaşam Süresi Analizi Bulguları

Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının ve kontrol grubunun yaşam süresi analiz verileri ile yapılan Log-Rank Testi sonuçları Çizelge 5.4'te verilmiştir (Log-Rank Testi, doz grupları ve kontrol arasındaki yaşama süresi farkının istatistiksel olarak önemli olup olmadığını göstermektedir).



**Çizelge 5.4** Sodyum nitrat'ın *C. elegans*'ta yaşam süresine olan etkisi

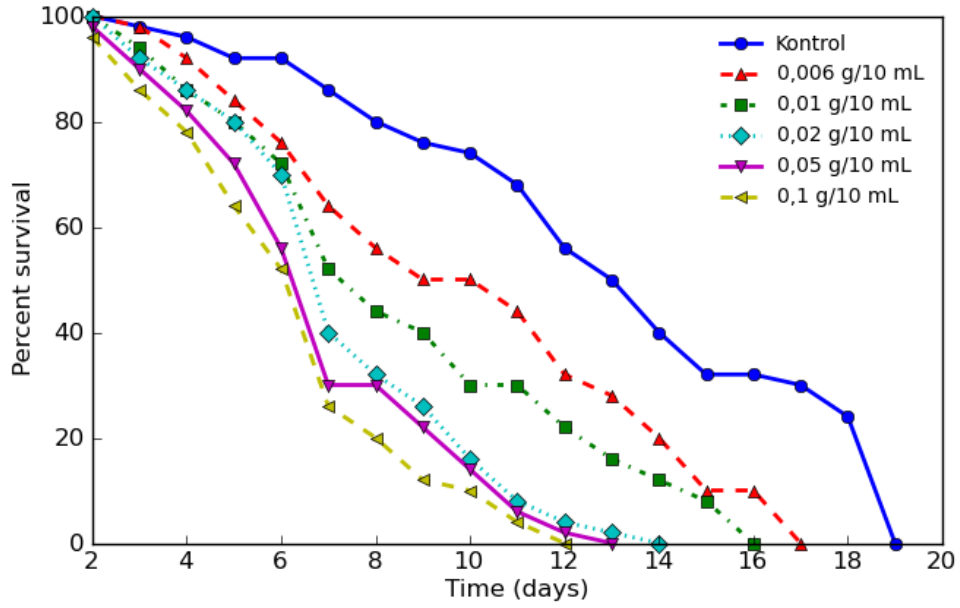
Kontrol-Doz karşılaştırması	Ki- Kare	P- değeri	Bonferroni P-değeri
<b>Kontrol v.s. 0,006 g/10 mL</b>	14.79	0.0001	0.0006
<b>Kontrol v.s. 0,01 g/10 mL</b>	24.29	8.3e-07	4.1e-06
<b>Kontrol v.s. 0,02 g/10 mL</b>	48.40	0.0e+00	0.0e+00
<b>Kontrol v.s. 0,05 g/10 mL</b>	54.09	0.0e+00	0.0e+00
<b>Kontrol v.s. 0,1 g/10 mL</b>	60.92	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,006 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	14.79	0.0001	0.0006
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	3.06	0.0805	0.4024
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	16.18	0.0001	0.0003
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	21.17	4.2e-06	2.1e-05
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	26.55	2.6e-07	1.3e-06
<b>0,01 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	24.29	8.3e-07	4.1e-06
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	3.06	0.0805	0.4024
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	5.85	0.0156	0.0780
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	9.62	0.0019	0.0096
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	14.47	0.0001	0.0007
<b>0,02 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	48.40	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	16.18	0.0001	0.0003
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	5.85	0.0156	0.0780
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	1.01	0.3139	1.0000
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	3.96	0.0467	0.2333
<b>0,05 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	54.09	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	21.17	4.2e-06	2.1e-05
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	9.62	0.0019	0.0096
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	1.01	0.3139	1.0000
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	1.07	0.3016	1.0000
<b>0,1 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	60.92	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	26.55	2.6e-07	1.3e-06
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	14.47	0.0001	0.0007
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	3.96	0.0467	0.2333
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	1.07	0.3016	1.0000

$P < 1.0 * 10^{-10}$  olduğunda 0.00e+00 P değeri verilir. P değerleri  $P < 0,05$  için önemlidir.

Sodyum nitrat'ın 5 farklı dozu (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) ile kontrol grubu arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Yaşam süresi doz artışına paralel olarak kısalmaktadır. Çünkü, sodyum nitrat *C. elegans* bireylerinde toksik etki oluşturmakta ve bu etki doz artışıyla birlikte artmaktadır (Çizelge 5.4).

Dozlar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise, 0,006 g ile 0,01 g/10 mL; 0,02 g ile 0,05 g/10 mL; 0,05 g ile 0,1 g/10 mL uygulama dozları arasındaki fark önemsizdir ( $P>0,05$ ). Buna karşın, geriye kalan doz gruplarının birbirleriyle olan kıyaslamaları sonucu ortaya çıkan farklılıkların önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5.4).

Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının ve kontrol grubunun yaşama yüzdesi grafiği Şekil 5.5'te verilmiştir.



**Şekil 5.5** Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının *C. elegans*'ta yaşama yüzdesine olan etkisi

Katkı maddesi maruziyetinin 1. gününde, bütün uygulama dozlarındaki *C. elegans* bireylerinin tamamı (%100'ü) yaşamaktayken, 0,1 g/10 mL dozunda 12. günün sonunda, 0,05 g/10 mL dozunda 13. günün sonunda, 0,02 g/10 mL dozunda 14. günün sonunda, 0,01 g/10 mL dozunda 16. günün sonunda ve 0,006 g/10 mL dozunda ise 17. günün sonunda hepsi ölmüştür. Kontrol grubunda ise, *C. elegans* bireylerinin yaşam süresi 19 gün olarak belirlenmiştir. Bu durumda, sodyum nitrat'taki doz artışı *C. elegans* bireylerinde yaşama yüzdesini düşürmüştür (Şekil 5.5).

### 5.2.2. Sodyum Nitrat Fertilité Analizi Bulguları

Sodyum nitrat'ın 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik dozlarının *C. elegans*'ta yumurta ve birey sayısı ile yumurta verimliliğine ait istatistik sonuçları Çizelge 5.5'de verilmiştir.

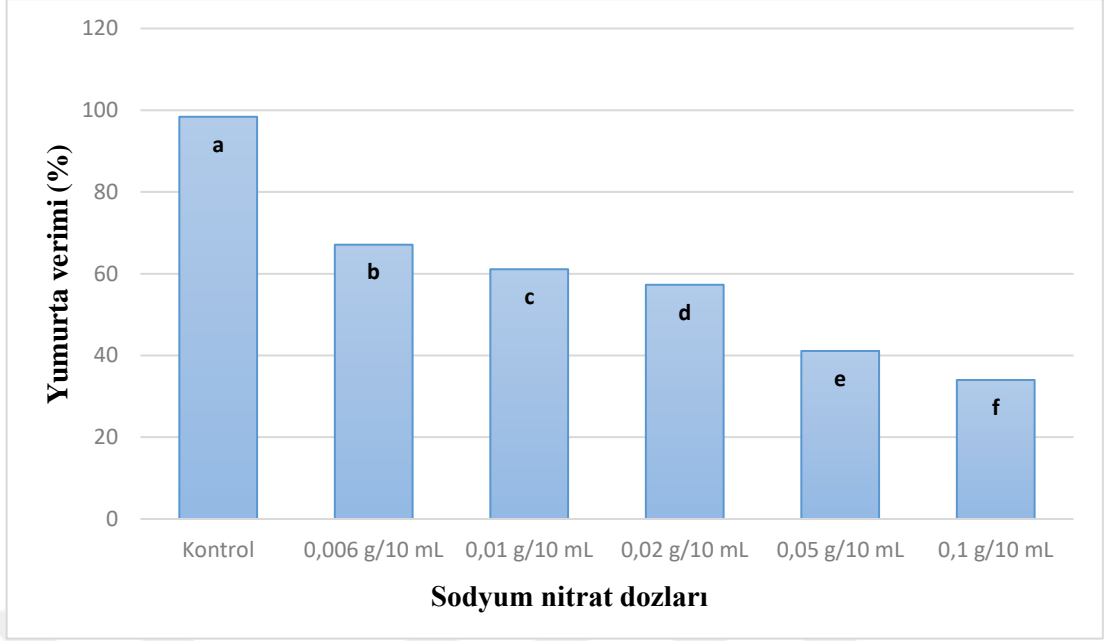
**Çizelge 5.5** Sodyum nitrat'ın *C. elegans*'ta fertilitéye olan etkisi

Dozlar (g/10 mL)	Yumurta sayısı	Birey sayısı	Yumurta verimi (%)
<b>Kontrol</b>	975,33±1,52 <sup>a</sup>	959,66±2,08 <sup>a</sup>	98,4 <sup>a</sup>
<b>0,006</b>	781,33±2,51 <sup>b</sup>	523,66±2,51 <sup>b</sup>	67,1 <sup>b</sup>
<b>0,01</b>	723,66±2,08 <sup>c</sup>	442,66±1,52 <sup>c</sup>	61,1 <sup>c</sup>
<b>0,02</b>	600,33±2,08 <sup>d</sup>	345,33±0,57 <sup>d</sup>	57,3 <sup>d</sup>
<b>0,05</b>	551,33±2,51 <sup>e</sup>	223,66±3,05 <sup>e</sup>	41,1 <sup>e</sup>
<b>0,1</b>	436,33±1,52 <sup>f</sup>	146,33±2,51 <sup>f</sup>	34,0 <sup>f</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının fertilitéye olan etkisini gösteren Çizelge 5.5 incelendiğinde, her bir doz grubu için istatistiksel farklılıkların önemli olduğu görülmektedir (P<0,05). 0,1 g/10 mL'lik sodyum nitrat dozu en düşük yumurta (436,33±1,52) ve birey (146,33±2,51) sayısının gözleendiği doz olarak tespit edilmiştir. Sodyum nitrat doz miktarı düştükçe yumurta ve bu yumurtalardan çıkan birey sayılarında artış görülmektedir. Fakat, bu artış kontrol grubu ile kıyaslandığında aradaki farkı önemsiz kılmamaktadır. En düşük sodyum nitrat dozu (0,006 g/10 mL)'nda bile yumurta ve birey sayıları açısından kontrole kıyasla önemli farklılıklar söz konusudur (P<0,05). Bu nedenle, sodyum nitrat'ın bütün uygulama dozlarının fertilitéyi olumsuz etkilediği açıktır (Çizelge 5.5).

Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının ve kontrol grubunun yumurta verimi (%) grafiği Şekil 5.6'da sunulmuştur.

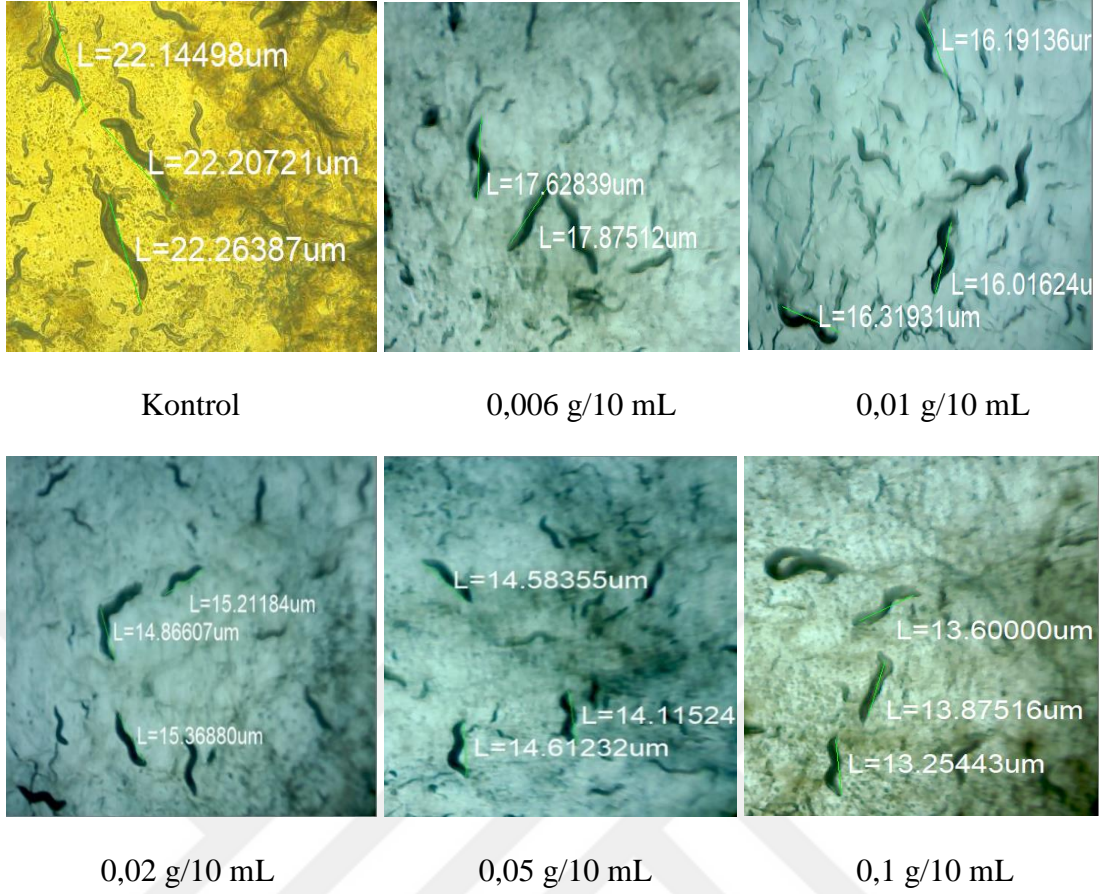


**Şekil 5.6** Sodyum nitrat'ın *C. elegans*'ta yumurta verimine olan etkisi

Şekil 5.6 incelendiğinde; yumurta verimliliği açısından kontrol grubunda %98,4'lük bir oran söz konusu iken 0,1 g/10 mL'lik dozda bu oran %34,0'a gerilemiştir. Kontrol grubu ile tüm doz grupları arasındaki yumurta verimi (%) farklılıklarının istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $P < 0,05$ ). Ayrıca, sodyum nitrat doz miktarındaki artışlar, *C. elegans*'ta yumurta verimliliğini düşürmektedir. Doz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında da yumurta verimliliği açısından tüm dozların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir (Şekil 5.6).

### 5.2.3. Sodyum Nitrat Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları

Sodyum nitrat'ın 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL'lik dozlarına maruz kalan ve yumurtadan çıktıktan 3 gün sonra 4x objektif ile ışık mikroskopunda görüntüsü alınan *C. elegans*'larda yapılan boy ölçümleri Şekil 5.7'de gösterilmiştir.



**Şekil 5.7** Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları

Sodyum nitrat'ın farklı dozlarında bulunan *C. elegans*'ların boy ölçüm değerleri ile yapılan istatistik sonuçları Çizelge 5.6'da verilmiştir.

**Çizelge 5.6** Sodyum nitrat'ın *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Dozlar (g/10 mL)	Fiziksel Büyüme
<b>Kontrol</b>	22,20±0,06 <sup>a</sup>
<b>0,006</b>	17,75±0,12 <sup>b</sup>
<b>0,01</b>	16,17±0,15 <sup>c</sup>
<b>0,02</b>	15,14±0,25 <sup>d</sup>
<b>0,05</b>	14,43±0,28 <sup>e</sup>
<b>0,1</b>	13,57±0,31 <sup>f</sup>

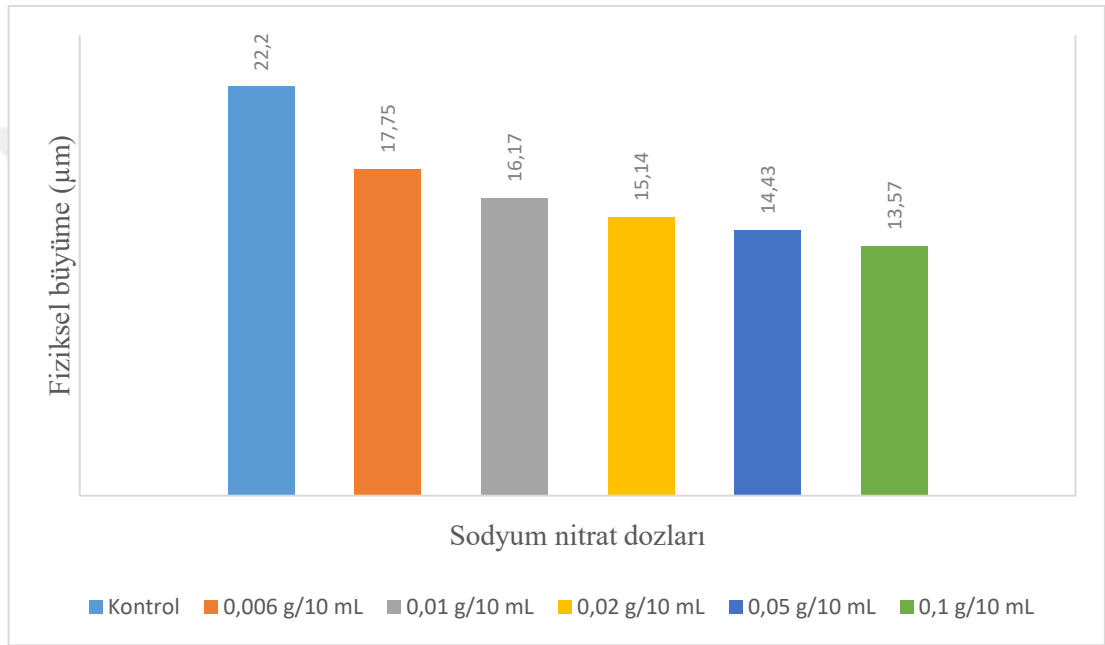
Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Çizelge 5.6 değerlendirildiğinde, sodyum nitrat için uygulanan bütün dozların fiziksel büyüme üzerindeki etkilerinin önemli olduğu ve sodyum nitrat uygulama dozlarının tamamının *C. elegans*'ta büyüme geriliğine yol açtığı görülmektedir (P<0,05).

Büyüme geriliği ile sodyum nitrat doz miktarı arasındaki ilişki, doz miktarı arttıkça büyüme geriliğinin de artması şeklindedir. Bu nedenle, büyüme geriliğinin en fazla olduğu sodyum nitrat dozu 0,1 g/10 mL iken, büyüme geriliğinin en az olduğu sodyum nitrat dozu 0,006 g/10 mL olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.7 ve Çizelge 5.6).

Her doz grubu (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL) kendi arasında da istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (Çizelge 5.6).

Sodyum nitrat'ın farklı dozlarının fiziksel büyümeye olan etkisinin grafik olarak gösterimi Şekil 5.8'de sunulmuştur.



**Şekil 5.8** Sodyum nitrat'ın *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Kontrol grubunda ölçülen boy uzunlukları ortalaması 22,2 µm iken, sodyum nitrat doz gruplarında boy uzunlukları ortalaması en düşük doz grubundan en yüksek doz grubuna doğru sırası ile; 17,75; 16,17; 15,14; 14,43; 13,57 µm olarak tespit edilmiştir. Sodyum nitrat doz miktarındaki artış *C. elegans* bireylerinin boy uzunluk ortalama değerlerini düşürmüştür (Şekil 5.8).

### **5.3. Allura Red Araştırma Bulguları**

Allura red için belirlenen doz gruplarının (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g /10 mL) *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilite ve fiziksel büyümeye olan etkileri belirlenmiştir. Yaşam süresi, fertilite ve fiziksel büyüme analiz bulguları ayrı ayrı verilmiştir.

#### **5.3.1. Allura Red Yaşam Süresi Analizi Bulguları**

Allura red'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik dozlarının model organizmada (*C. elegans*) yaşam süresine olan etkisinin, kontrol grubu ve birbirleriyle karşılaştırmalı olarak verildiği Log-Rank Testi sonuçları Çizelge 5.7'de verilmiştir.



**Çizelge 5.7** Allura red'in *C. elegans*'ta yaşam süresine olan etkisi

Kontrol-Doz karşılaştırması	Ki- Kare	P- değeri	Bonferroni P-değeri
<b>Kontrol v.s. 0,006 g/10 mL</b>	4.84	0.0277	0.1387
<b>Kontrol v.s. 0,01 g/10 mL</b>	8.63	0.0033	0.0165
<b>Kontrol v.s. 0,02 g/10 mL</b>	11.90	0.0006	0.0028
<b>Kontrol v.s. 0,05 g/10 mL</b>	18.47	1.7e-05	0.0001
<b>Kontrol v.s. 0,1 g/10 mL</b>	31.19	2.3e-08	1.2e-07
<b>0,006 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	4.84	0.0277	0.1387
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	0.62	0.4325	1.0000
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	1.84	0.1746	0.8730
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	4.72	0.0298	0.1490
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	12.87	0.0003	0.0017
<b>0,01 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	8.63	0.0033	0.0165
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	0.62	0.4325	1.0000
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	0.36	0.5496	1.0000
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	2.11	0.1462	0.7312
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	7.72	0.0055	0.0274
<b>0,02 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	11.90	0.0006	0.0028
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	1.84	0.1746	0.8730
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	0.36	0.5496	1.0000
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	0.66	0.4170	1.0000
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	4.67	0.0307	0.1537
<b>0,05 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	18.47	1.7e-05	0.0001
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	4.72	0.0298	0.1490
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	2.11	0.1462	0.7312
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	0.66	0.4170	1.0000
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	1.50	0.2209	1.0000
<b>0,1 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	31.19	2.3e-08	1.2e-07
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	12.87	0.0003	0.0017
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	7.72	0.0055	0.0274
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	4.67	0.0307	0.1537
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	1.50	0.2209	1.0000

$P < 1.0 * 10^{-10}$  olduğunda 0.00e+00 P değeri verilir. P değerleri  $P < 0,05$  için önemlidir.

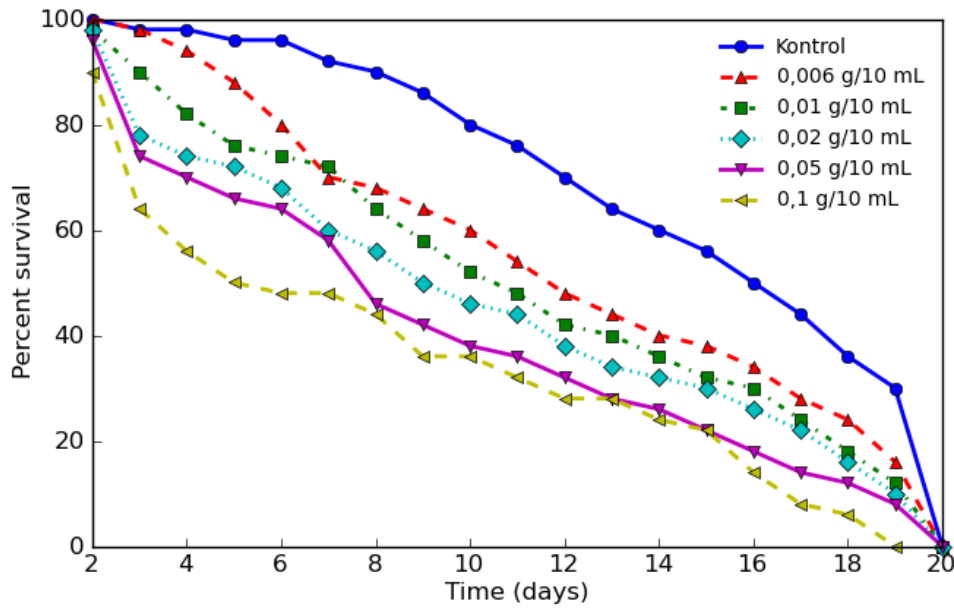
Allura red için uygulanan doz gruplarının tamamının *C. elegans*'ta yaşam süresini kısalttığı belirlenmiştir. Çünkü, bütün doz gruplarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar söz konusudur ( $P < 0,05$ ). Doz grupları ile kontrol arasındaki bu farklılıklar, doz miktarına bağlı olarak değişmektedir. En yüksek allura red dozunda (0,1 g/10 mL) anlamsal farklılık en fazla iken, en düşük allura red dozunda (0,006 g/10



mL) bu fark en aza inmektedir (Çizelge 5.7). Bu durum, çalışmada uygulanan allura red dozlarının tamamının *C. elegans* için toksik etkili olduğunu ve yaşam süresi üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Kontrolden bağımsız olarak doz grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde ise, 0,006 g ile 0,01 g/10 mL; 0,006 g ile 0,02 g/10 mL; 0,01 g ile 0,02 g/10 mL; 0,01 g ile 0,05 g/10 mL; 0,02 g ile 0,05 g/10 mL ve 0,05 g ile 0,1 g/10 mL'lik doz grupları arasındaki fark önemsizdir ( $P>0,05$ ). Geriye kalan doz grupları arasındaki kıyaslamalarda ise ortaya çıkan farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur (Çizelge 5.7).

Allura red dozları (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) ve kontrol grubundaki *C. elegans*'ların yaşama yüzdesini gösteren grafik Şekil 5.9'da verilmiştir.



Şekil 5.9 Allura red'in farklı dozlarının *C. elegans*'ta yaşama yüzdesine olan etkisi

Her ne kadar 0,1 g/10 mL dozu hariç diğer uygulama dozlarında *C. elegans* bireylerinin tamamı kontrol grubundaki bireylerle aynı günün sonunda (20. gün) ölse de aradaki günlerde yaşayan ve ölen birey sayıları arasındaki farklılıklar önemli olduğu için istatistiksel olarak bu dozlar ile kontrol arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Bütün doz gruplarının (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) yaşama yüzdesi kontrole göre anlamlı derecede düşüktür (Şekil 5.9).

### 5.3.2. Allura Red Fertilité Analizi Bulguları

Allura red'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik uygulama dozlarının *C. elegans*'ta fertilitéye olan etkisi Çizelge 5.8'de verilmiştir.

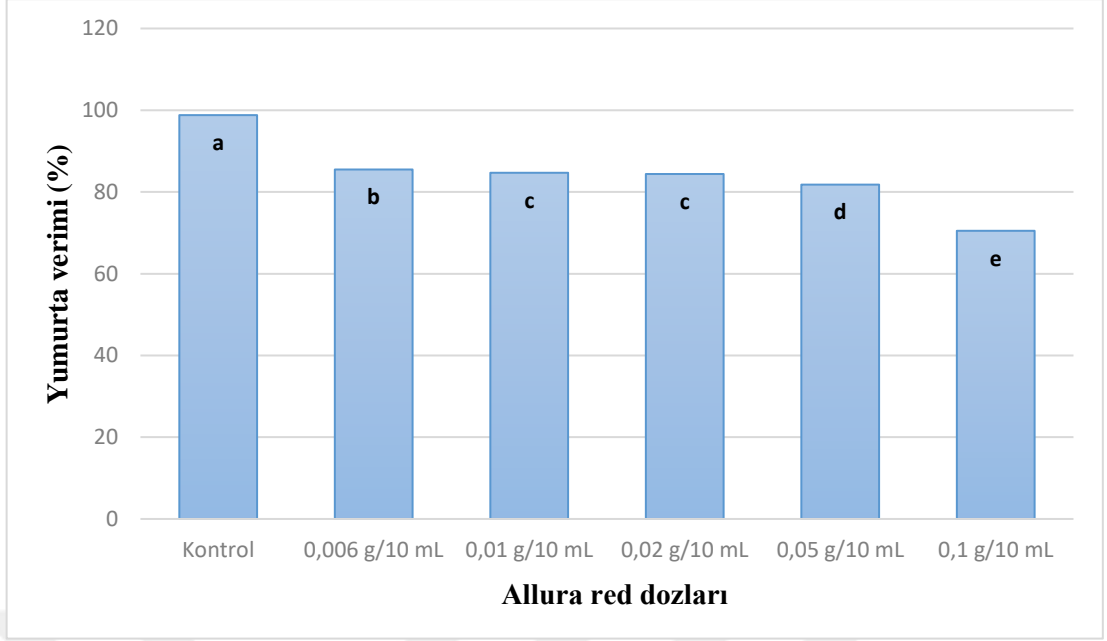
Çizelge 5.8 Allura red'in *C. elegans*'ta fertilitéye olan etkisi

Dozlar (g/10 mL)	Yumurta sayısı	Birey sayısı	Yumurta verimi (%)
Kontrol	955,33±1,52 <sup>a</sup>	943,0±1,0 <sup>a</sup>	98,8 <sup>a</sup>
0,006	855,66±0,57 <sup>b</sup>	728,66±3,51 <sup>b</sup>	85,5 <sup>b</sup>
0,01	799,0±1,73 <sup>c</sup>	678,66±2,51 <sup>c</sup>	84,7 <sup>c</sup>
0,02	711,33±2,08 <sup>d</sup>	601,33±1,54 <sup>d</sup>	84,4 <sup>c</sup>
0,05	683,0±2,64 <sup>e</sup>	559,33±1,52 <sup>e</sup>	81,8 <sup>d</sup>
0,1	569,33±2,51 <sup>f</sup>	400,66±1,15 <sup>f</sup>	70,5 <sup>e</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Allura red dozların tamamı (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL), *C. elegans*'ta yumurta sayısı ve bu yumurtalardan çıkan birey sayılarını kontrole kıyasla azaltmıştır. Kontrol grubu ve doz grupları arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0,05). Allura red dozları fertilitéyi olumsuz etkilemiş ve yumurta sayısı ile birey sayısı allura red doz miktarına bağlı olarak azalmıştır. En yüksek yumurta (855,66±0,57) ve birey sayıları (728,66±3,51) %85,5 verimlilikte, 0,006 g/10 mL dozunda; en düşük yumurta (569,33±2,51) ve birey sayıları (400,66±1,15) ise %70,5 verimlilikte, 0,1 g/10 mL dozunda belirlenmiştir (Çizelge 5.8).

Allura red dozlarının (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) ve kontrol grubunun yumurta verimliliklerine ait değerlerle yapılan grafik Şekil 5.10'da verilmiştir.

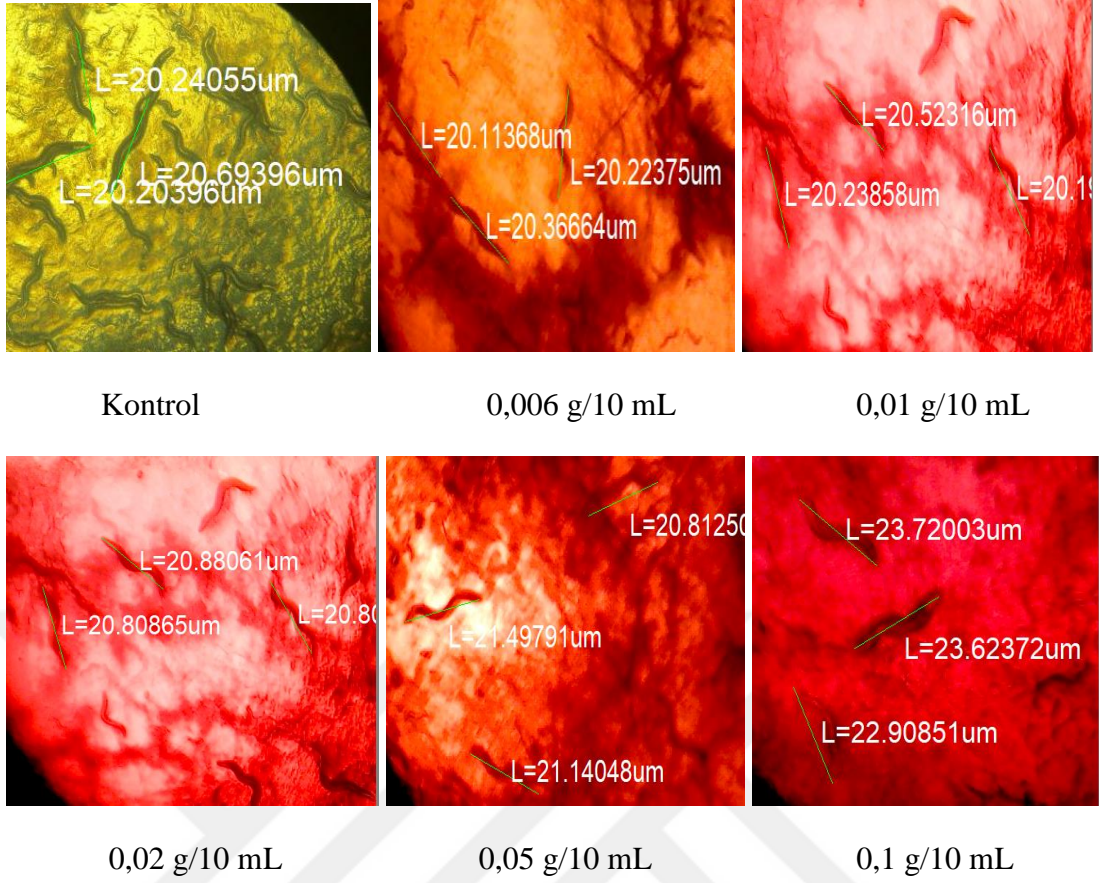


**Şekil 5.10** Allura red'in *C. elegans*'ta yumurta verimine olan etkisi

Genel olarak allura red dozlarının tamamının yumurta verimlilik yüzdeleri arasındaki fark kontrol grubuna kıyasla anlamlı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Ancak, dozlar kendi aralarında kıyaslandıklarında bu farkın 0,01 g ile 0,02 g/10 mL dozları arasında önemsiz olduğu tespit edilmiştir ( $P > 0,05$ ). Sonuç olarak; allura red doz gruplarının tamamı kontrole kıyasla yumurta verimliliğini düşürmüştür (Çizelge 5.8 ve Şekil 5.10).

### 5.2.3. Allura Red Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları

Allura red'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL'lik dozlarını içeren NGM'de yaşayan ve yumurtadan çıktıktan 3 gün sonra 4x objektif ile ışık mikroskopunda görüntüsü alınan *C. elegans*'larda yapılan boy ölçümleri Şekil 5.11'de verilmiştir.



**Şekil 5.11** Allura red'in farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları

Allura red'in farklı dozlarına maruz kalan *C. elegans*'ların boy ölçüm değerlerinin ortalaması ile yapılan istatistik sonuçları Çizelge 5.9'da verilmiştir.

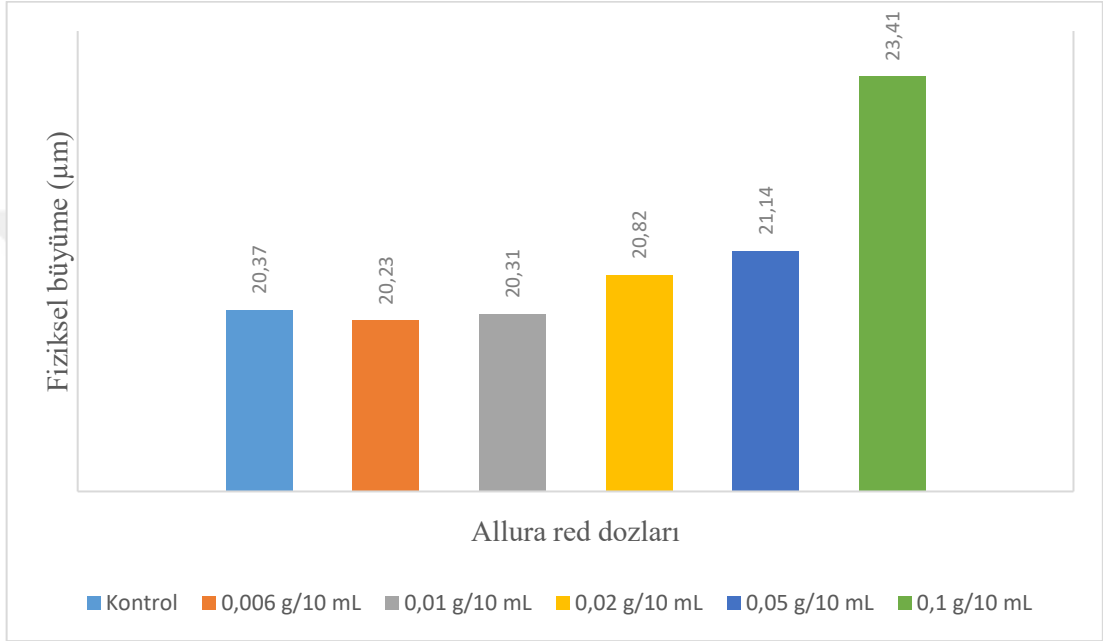
**Çizelge 5.9** Allura red'in *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Dozlar (g/10 mL)	Fiziksel Büyüme
Kontrol	20,37±0,27 <sup>b</sup>
0,006	20,23±0,12 <sup>b</sup>
0,01	20,31±0,18 <sup>b</sup>
0,02	20,82±0,91 <sup>b</sup>
0,05	21,14±0,34 <sup>b</sup>
0,1	23,41±0,44 <sup>a</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Bu çalışmada, allura red diğer katkı maddelerinden farklı olarak fizisel büyüme üzerinde olumlu bir etkiye sebep olmuştur. Allura red doz miktarı arttıkça *C. elegans* bireylerinde büyüme hızlanmıştır (Şekil 5.11 ve Çizelge 5.9). Fakat; istatistiksel olarak

allura red doz grupları ve kontrol arasındaki fark 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g ve 0,05 g/10 mL'lik dozlarda önemsizken ( $P>0,05$ ); 0,1 g/10 mL'lik allura red dozunda önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Her ne kadar allura red doz miktarı arttıkça boy uzunluk ölçüm değerleri artış gösterse de bu artış ilk 4 dozda (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g ve 0,05 g/10 mL) fiziksel büyümeye herhangi bir etki yapmamıştır. Buna karşın, 0,1 g/10 mL'lik allura red dozunun fiziksel büyümeyi artırıcı bir etki yaptığı tespit edilmiştir (Çizelge 5.9).



**Şekil 5.12** Allura red'in *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Allura red'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL'lik dozlarındaki *C. elegans*'ların boy uzunlukları ortalaması sırası ile 20,31; 20,37; 20,82; 21,14 ve 23,41 µm olarak belirlenmiştir. Allura red doz miktarı arttıkça boy uzunluk değerlerinde artış olmaktadır (Şekil 5.12). Bu nedenle; allura red'in fiziksel büyümeyi hızlandırıcı ve artırıcı bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

#### 5.4. Tartrazin Araştırma Bulguları

Tartrazin için belirlenen dozlar (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) ile *C. elegans* bireyleri üzerinde yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme analizleri yapılarak, sonuçlar değerlendirilmiştir.

#### 5.4.1. Tartrazin Yaşam Süresi Analizi Bulguları

Tartrazin'in farklı dozlarının *C. elegans*'ta yaşam süresine olan etkisine ait sonuçlar, kontrol grubu ve doz grupları arasında karşılaştırmalı olarak Çizelge 5.10'da verilmiştir.

Çizelge 5.10 Tartrazin'in *C. elegans*'ta yaşam süresine olan etkisi

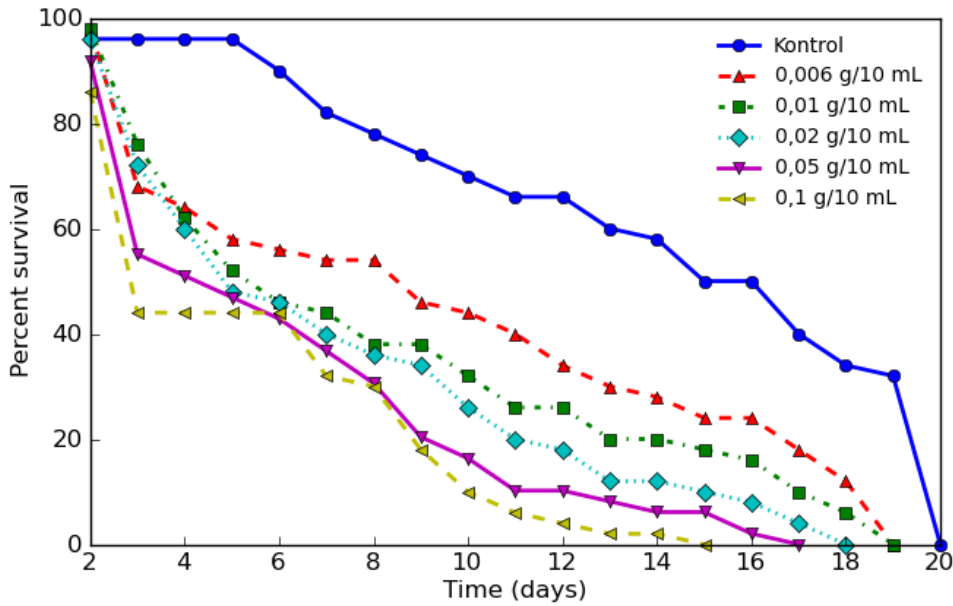
Kontrol-Doz karşılaştırması	Ki- Kare	P- değeri	Bonferroni P-değeri
Kontrol v.s. 0,006 g/10 mL	18.32	1.9e-05	0.0001
Kontrol v.s. 0,01 g/10 mL	27.99	1.2e-07	6.1e-07
Kontrol v.s. 0,02 g/10 mL	37.47	0.0e+00	0.0e+00
Kontrol v.s. 0,05 g/10 mL	48.13	0.0e+00	0.0e+00
Kontrol v.s. 0,1 g/10 mL	55.23	0.0e+00	0.0e+00
0,006 g/10 mL v.s. Kontrol	18.32	1.9e-05	0.0001
0,006 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL	1.32	0.2503	1.0000
0,006 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL	5.91	0.0150	0.0751
0,006 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL	12.70	0.0004	0.0018
0,006 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL	18.57	1.6e-05	0.0001
0,01 g/10 mL v.s. Kontrol	27.99	1.2e-07	6.1e-07
0,01 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL	1.32	0.2503	1.0000
0,01 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL	1.52	0.2170	1.0000
0,01 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL	5.66	0.0174	0.0868
0,01 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL	10.04	0.0015	0.0076
0,02 g/10 mL v.s. Kontrol	37.47	0.0e+00	0.0e+00
0,02 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL	5.91	0.0150	0.0751
0,02 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL	1.52	0.2170	1.0000
0,02 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL	2.11	0.1461	0.7305
0,02 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL	5.89	0.0152	0.0760
0,05 g/10 mL v.s. Kontrol	48.13	0.0e+00	0.0e+00
0,05 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL	12.70	0.0004	0.0018
0,05 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL	5.66	0.0174	0.0868
0,05 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL	2.11	0.1461	0.7305
0,05 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL	1.17	0.2792	1.0000
0,1 g/10 mL v.s. Kontrol	55.23	0.0e+00	0.0e+00
0,1 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL	18.57	1.6e-05	0.0001
0,1 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL	10.04	0.0015	0.0076
0,1 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL	5.89	0.0152	0.0760
0,1 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL	1.17	0.2792	1.0000

$P < 1.0 * 10^{-10}$  olduğunda 0.00e+00 P değeri verilir. P değerleri  $P < 0,05$  için önemlidir.

Tartrazin doz gruplarının (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) tamamında kontrole kıyasla yaşam süresi farklılıkları önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Doz grupları ile kontrol arasındaki bu farklılıklar, tartrazin doz miktarı ile orantılı olarak değişmektedir. Yaşam süresinin en kısa olduğu tartrazin dozu 0,1 g/10 mL iken, yaşam süresinin en uzun olduğu tartrazin dozu 0,006 g/10 mL'dir (Çizelge 5.10).

Tartrazin doz grupları kendi aralarında kıyaslandığında ise, 0,006 g ile 0,01 g/10 mL; 0,01 g ile 0,02 g/10 mL; 0,02 g ile 0,05 g/10 mL; 0,1 g ile 0,05 g/10 mL'lik doz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır ( $P>0,05$ ). Diğer doz grupları arasındaki kıyaslamalarda ortaya çıkan farklılıklar ise, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 5.10). Sonuç olarak, tartrazin için belirlenen doz grupları kontrole göre önemli oranda yaşam süresini kısaltmıştır.

Tartrazin'in farklı dozları (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) ile kontrol grubunda bulunan *C. elegans*'ların yaşama yüzdesini gösteren grafik Şekil 5.13'de verilmiştir.



**Şekil 5.13** Tartrazin'in farklı dozlarının *C. elegans*'ta yaşama yüzdesine olan etkisi

*C. elegans* bireylerinin tartrazin içerikli NGM'ye aktarımının 1. gününde, bütün uygulama dozlarındaki *C. elegans* bireylerinin tamamı (50 birey, %100) yaşamaktaydı. *C. elegans*'ların %50'sinin (25 birey) öldüğü günler ise, kontrol grubunda 15. gün; 0,006 g/10 mL dozunda 9. gün; 0,01 g/10 mL dozunda 6. gün; 0,02

g/10 mL dozunda 5. gün; 0,05 g/10 mL dozunda 5. gün ve 0,1 g/10 mL dozunda 4. gün olarak belirlenmiştir. Tartrazin doz miktarındaki artış *C. elegans* bireylerinde yaşama yüzdesini düşürmüştür (Şekil 5.13).

#### 5.4.2. Tartrazin Fertilité Analizi Bulguları

Tartrazin'in farklı dozlarının (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) *C. elegans*'ta yumurta ve birey sayısı ile yumurta verimi (%) istatistik değerleri Çizelge 5.11'de verilmiştir.

**Çizelge 5.11** Tartrazin'in *C. elegans*'ta fertilitéye olan etkisi

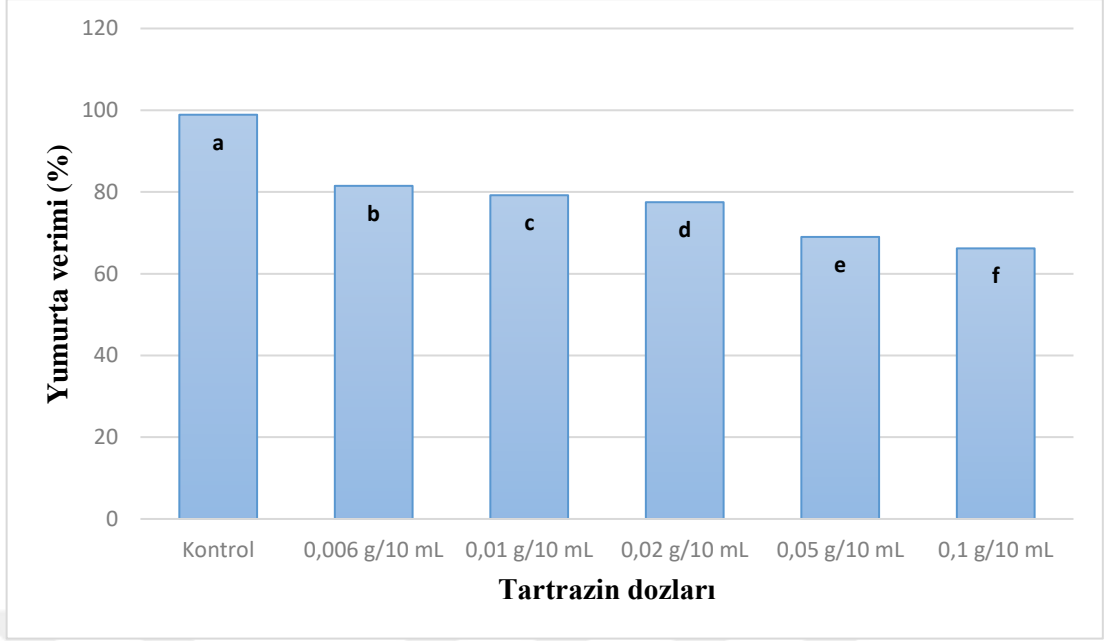
Dozlar (g/10 mL)	Yumurta sayısı	Birey sayısı	Yumurta verimi (%)
<b>Kontrol</b>	1002,0±1,0 <sup>a</sup>	991,66±2,08 <sup>a</sup>	98,9 <sup>a</sup>
<b>0,006</b>	776,0±1,0 <sup>b</sup>	632,33±2,51 <sup>b</sup>	81,5 <sup>b</sup>
<b>0,01</b>	678,0±2,64 <sup>c</sup>	540,0±1,0 <sup>c</sup>	79,2 <sup>c</sup>
<b>0,02</b>	644,0±1,0 <sup>d</sup>	499,33±2,08 <sup>d</sup>	77,5 <sup>d</sup>
<b>0,05</b>	527,0±1,73 <sup>e</sup>	361,0±2,0 <sup>e</sup>	69,0 <sup>e</sup>
<b>0,1</b>	482,0±1,0 <sup>f</sup>	316,33±4,72 <sup>f</sup>	66,2 <sup>f</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Tartrazin dozları her üç parametrede de (yumurta sayısı, birey sayısı ve yumurta verimi) anlamlı düşümlere neden olmuştur. Çünkü, tartrazin doz grupları ile kontrol arasındaki istatistiksel farklılıkların önemli olduğu görülmektedir (P<0,05). En düşük yumurta sayısı (482,0±1,0), birey sayısı (316,33±4,72) ve yumurta verimi (%66,2) en yüksek doz olan 0,1 g/10 mL'lik tartrazin dozunda tespit edilmiştir. Bu dozdan daha düşük olan diğer tartrazin dozlarında değerlerde artış olmasına rağmen, kontrol grubu ile kıyaslandığında, en düşük tartrazin dozu (0,006 g/10 mL)'nda bile yumurta ve birey sayıları ile yumurta verimi açısından kontrole kıyasla önemli farklılıklar söz konusudur (P<0,05). Doz grupları kendi aralarında kıyaslandığında da istatistiksel olarak farklılıklar söz konusudur (Çizelge 5.11).

Tartrazin doz gruplarının ve kontrol grubunun yumurta verimlilik (%) değerleri ile oluşturulmuş grafik Şekil 5.14'te verilmiştir.



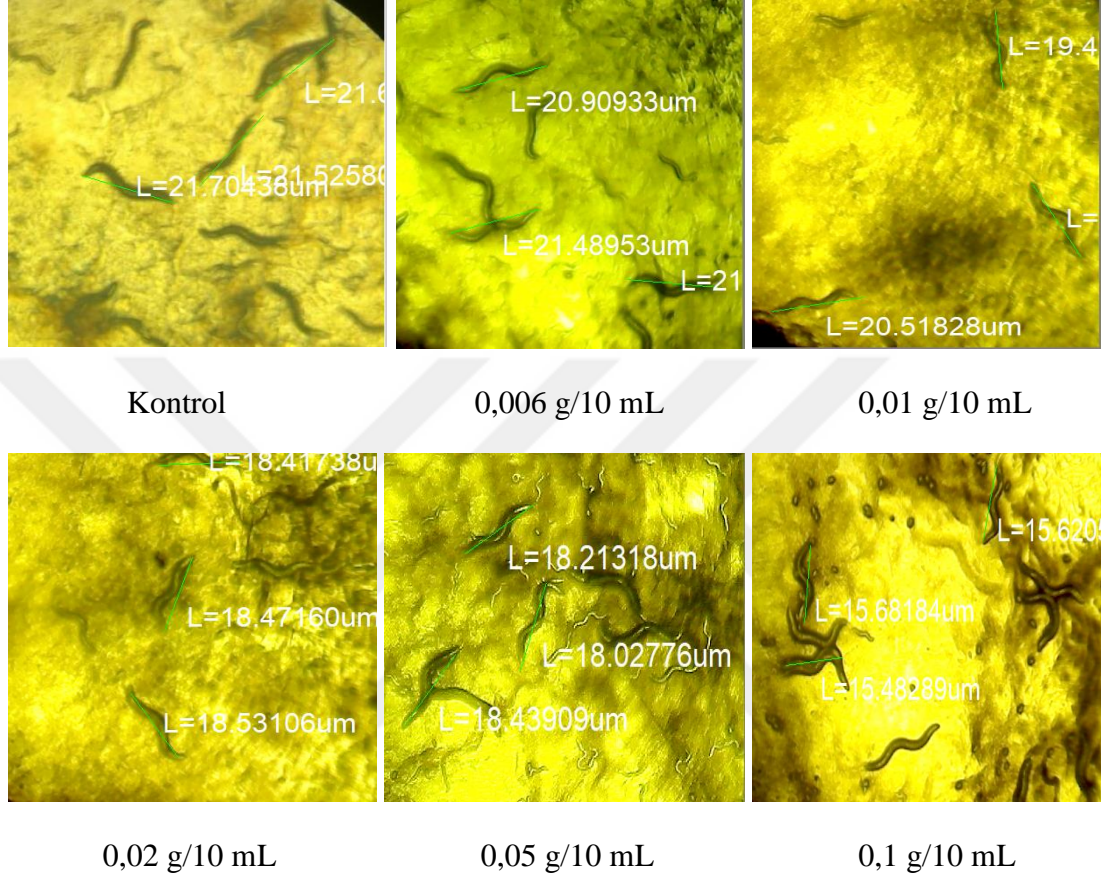


**Şekil 5.14** Tartrazin'in *C. elegans*'ta yumurta verimine olan etkisi

Tartrazin'in 0,006g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL'lik uygulama dozları için *C. elegans*'ların yumurta verimleri sırası ile %81,5; %79,2; %77,5; %69,0 ve %66,2 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunun yumurta verimi ise, %98,9'dur. Tartrazin dozlarının tamamı kontrole göre, yumurta verimliliğini olumsuz etkileyerek, ciddi düşüşlere neden olmuştur. Yapılan istatistik sonucunda, yumurta verimliliğindeki tartrazin dozlarının sebep olduğu düşüşler kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Uygulama dozlarının kendi aralarında yapılan karşılaştırmada da, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar söz konusudur. Tartrazin doz miktarı arttıkça yumurta verimliliği azalmaktadır (Şekil 5.14).

### 5.4.3. Tartrazin Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları

Tartrazin'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik dozlarını içeren ortamda yaşayan *C. elegans*'ların yumurtadan çıktıktan 3 gün sonra 4x objektif ile ışık mikroskopunda çekilen görüntüleri ve boy ölçüm değerleri Şekil 5.15'te verilmiştir.



**Şekil 5.15** Tartrazin'in farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları  
Çizelge 5.12'de tartrazin'in 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik dozlarının ve kontrol grubunun fiziksel büyümeye olan etkisini gösteren istatistik sonuçları verilmiştir.

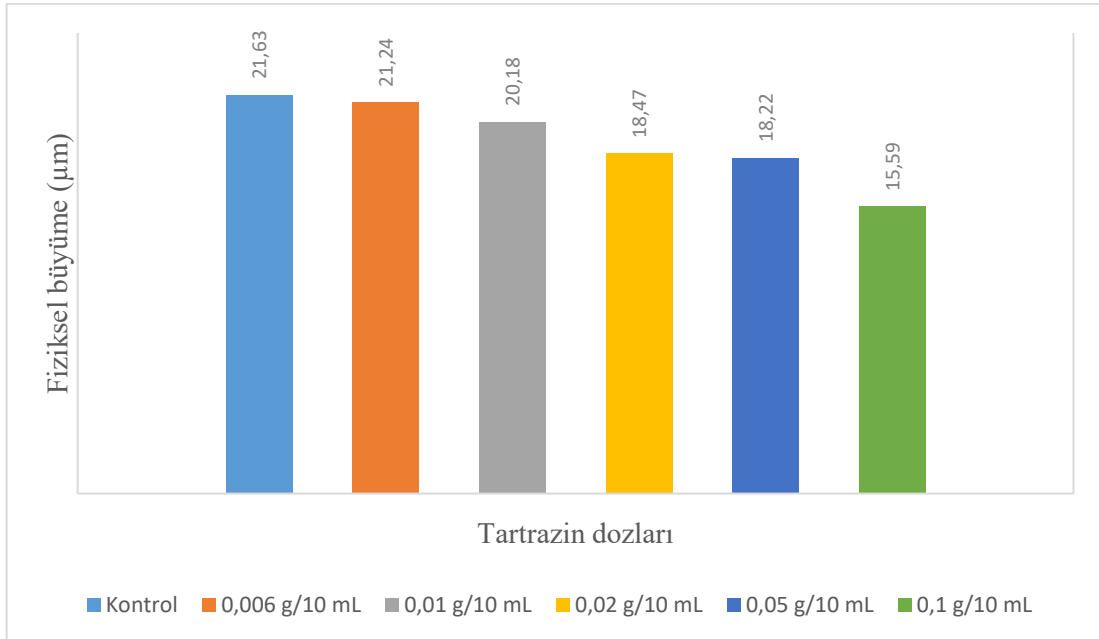
**Çizelge 5.12** Tartrazin'in *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Dozlar (g/10 mL)	Fiziksel Büyüme
Kontrol	21,63±0,21 <sup>a</sup>
0,006	21,24±0,06 <sup>a</sup>
0,01	20,18±0,49 <sup>b</sup>
0,02	18,47±0,03 <sup>c</sup>
0,05	18,22±0,20 <sup>c</sup>
0,1	15,59±0,10 <sup>d</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $P<0,05$ ).

Tartrazin içerikli doz gruplarından 0,006 g/10 mL dozu hariç diğer uygulama dozlarının tamamında (0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) *C. elegans*'ta fiziksel büyüme üzerine olan etkinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $P<0,05$ ). 0,006 g/10 mL'lik tartrazin dozunda görülen boy uzunluk değerindeki azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Sonuç olarak, tartrazin'in büyüme geriliğine yol açan doz grupları 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL olarak belirlenmiştir. Bu dozlar arasında büyüme geriliğine en fazla etki eden doz ise, en yüksek tartrazin dozu olan 0,1 g/10 mL'lik dozdur (Çizelge 5.12).

Tartrazin doz grupları ve kontrol grubu fiziksel büyüme değerlerinin grafik olarak gösterimi Şekil 5.16'da sunulmuştur.



**Şekil 5.16** Tartrazin'in *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Tartrazin'in farklı dozlarının (0,006, 0,01, 0,02, 0,05 ve 0,1 g/10 mL) eklendiği kültür ortamında bulunan *C. elegans*'ların boy uzunluk ortalaması en düşük tartrazin dozundan en yüksek tartrazin dozuna doğru, 21,24; 20,18; 18,47; 18,22 ve 15,59  $\mu$ m olarak tespit edilmiştir. Tartrazin doz miktarındaki artış *C. elegans* bireylerinde boy uzunluk değerlerini düşürmektedir. Bu nedenle, çalışılan tartrazin dozlarının fiziksel büyümeyi olumsuz etkilediği belirlenmiştir (şekil 5.16).

### **5.5. Sunset yellow Araştırma Bulguları**

Sunset yellow'un 5 farklı dozu (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) için, *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilitte ve fiziksel büyüme analizleri yapılmıştır. Analiz bulguları ayrı ayrı verilerek, değerlendirmeleri yapılmıştır.

#### **5.5.1. Sunset yellow Yaşam Süresi Analizi Bulguları**

Sunset yellow'un farklı konsantrasyonlarının ve kontrol grubunun yaşam süresi analiz verileri ile yapılan Log-Rank Testi sonuçları izelge 5.13'te verilmiştir (Log-Rank Testi, yaşam süresi analizlerinde, doz grupları ve kontrol grubu arasındaki yaşama süresi farklılıklarının istatistiksel olarak önemli olup olmadığını, karşılaştırmalı olarak göstermektedir).

**Çizelge 5.13** Sunset yellow'un *C. elegans*'ta yaşam süresine olan etkisi

Kontrol-Doz karşılaştırması	Ki- Kare	P- değeri	Bonferroni P-değeri
<b>Kontrol v.s. 0,006 g/10 mL</b>	10.49	0.0012	0.0060
<b>Kontrol v.s. 0,01 g/10 mL</b>	17.92	2.3e-05	0.0001
<b>Kontrol v.s. 0,02 g/10 mL</b>	21.93	2.8e-06	1.4e-05
<b>Kontrol v.s. 0,05 g/10 mL</b>	24.26	8.4e-07	4.2e-06
<b>Kontrol v.s. 0,1 g/10 mL</b>	54.12	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,006 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	10.49	0.0012	0.0060
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	1.77	0.1829	0.9143
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	3.68	0.0549	0.2746
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	7.76	0.0054	0.0268
<b>0,006 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	30.04	4.2e-08	2.1e-07
<b>0,01 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	17.92	2.3e-05	0.0001
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	1.77	0.1829	0.9143
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	0.34	0.5616	1.0000
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	1.85	0.1738	0.8689
<b>0,01 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	16.20	0.0001	0.0003
<b>0,02 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	21.93	2.8e-06	1.4e-05
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	3.68	0.0549	0.2746
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	0.34	0.5616	1.0000
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	0.55	0.4598	1.0000
<b>0,02 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	11.46	0.0007	0.0035
<b>0,05 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	24.26	8.4e-07	4.2e-06
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	7.76	0.0054	0.0268
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	1.85	0.1738	0.8689
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	0.55	0.4598	1.0000
<b>0,05 g/10 mL v.s. 0,1 g/10 mL</b>	10.08	0.0015	0.0075
<b>0,1 g/10 mL v.s. Kontrol</b>	54.12	0.0e+00	0.0e+00
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,006 g/10 mL</b>	30.04	4.2e-08	2.1e-07
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,01 g/10 mL</b>	16.20	0.0001	0.0003
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,02 g/10 mL</b>	11.46	0.0007	0.0035
<b>0,1 g/10 mL v.s. 0,05 g/10 mL</b>	10.08	0.0015	0.0075

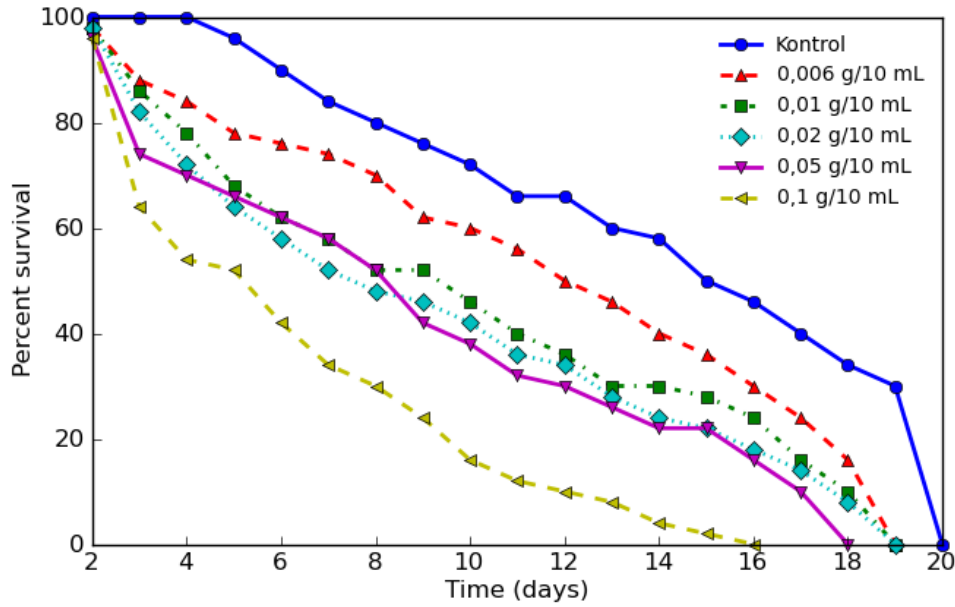
$P < 1.0 * 10^{-10}$  olduğunda 0.00e+00 P değeri verilir. P değerleri  $P < 0,05$  için önemlidir.

Sunset yellow'un 5 farklı dozu (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) ile kontrol grubu arasında yapılan kıyaslamalarda; sunset yellow uygulama dozlarının tamamında kontrole göre anlamlı bir farklılığın olduğu görülmektedir ( $P < 0,05$ ). Sunset yellow bütün uygulama dozlarında *C. elegans*'ta yaşam süresini olumsuz etkileyerek, kısaltmıştır. Bu etki, doz artışına paralel olarak değişmektedir. En düşük dozda etkinin

en az, en yüksek dozda ise etkinin en fazla olduğu görülmüştür. Buna göre, yaşam süresi üzerinde en fazla etkiye sahip olan sunset yellow dozu 0,1 g/10 mL, en az etkiye sahip olan sunset yellow dozu ise 0,006 g/10 mL'dir. Sonuç olarak, sunset yellow 0,1 – 0,006 g/10 mL'lik doz aralıklarında *C. elegans*'ta yaşam süresi üzerinde toksik etki oluşturmuş ve yaşam süresini kısaltmıştır (Çizelge 5.13).

Dozlar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise, 0,006 g ile 0,01 g/10 mL; 0,006 g ile 0,02 g/10 mL; 0,01 g ile 0,02 g/10 mL; 0,01 g ile 0,05 g/10 mL ve 0,02 ile 0,05 g/10 mL dozları arasındaki farkın anlamsız olduğu tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ) (Çizelge 5.13).

Sunset yellow'un, 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik konsantrasyonlarının ve kontrol grubunun yaşama yüzdesi grafiği Şekil 5.17'de verilmiştir.



Şekil 5.17 Sunset yellow'un farklı dozlarının *C. elegans*'ta yaşama yüzdesine olan etkisi

*C. elegans* bireylerinin yaşama yüzdeleri sunset yellow doz miktarı arttıkça kontrol grubuna oranla önemli ölçüde azalmaktadır. Bu durum, sunset yellow'un toksik etkisinin doz artışına bağlı olarak arttığını göstermektedir. Yaşama yüzdesini en fazla düşüren sunset yellow dozu 0,1 g/10 mL olarak belirlenmiştir. Bu dozda, *C. elegans* bireylerinin %50'si 6. günün sonunda, tamamı ise 16. günün sonunda ölmüştür. Kontrol grubunda ise bu günler sırası ile 15. ve 20. gün olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.17).

### 5.5.2. Sunset yellow Fertilité Analizi Bulguları

Sunset yellow'un farklı dozlarının *C. elegans*'ta fertilitéye olan etkisine ait bulgular ve istatistik sonuçları Çizelge 5.14'te verilmiştir.

Çizelge 5.14 Sunset yellow'un *C. elegans*'ta fertilitéye olan etkisi

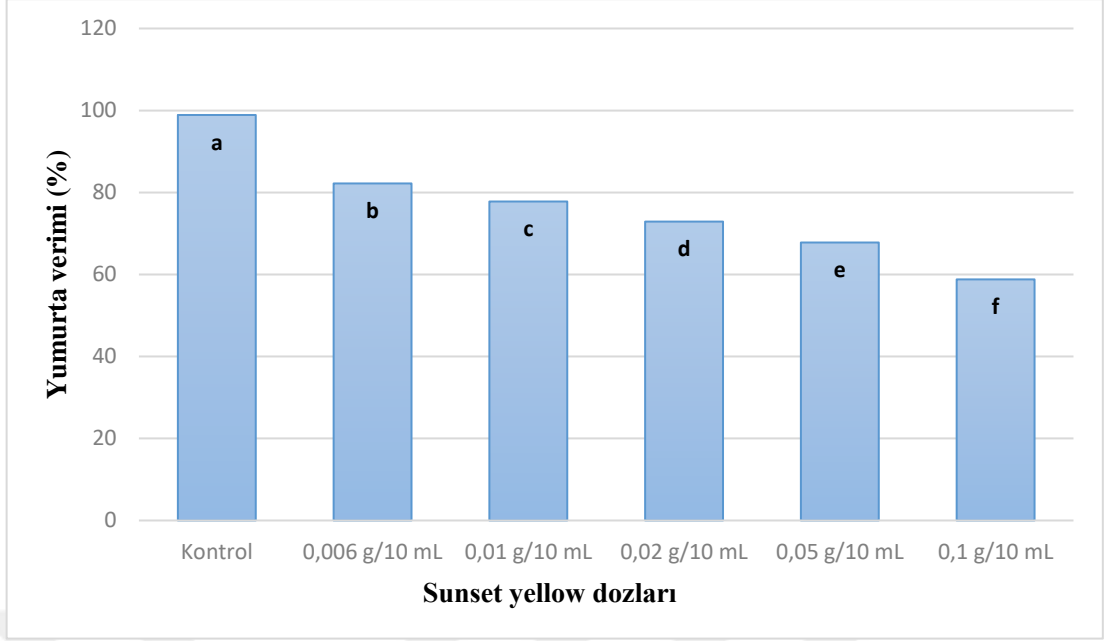
Dozlar (g/10 mL)	Yumurta sayısı	Birey sayısı	Yumurta verimi (%)
Kontrol	995,66±0,57 <sup>a</sup>	985,33±1,52 <sup>a</sup>	98,9 <sup>a</sup>
0,006	739,33±4,50 <sup>b</sup>	611,66±3,51 <sup>b</sup>	82,2 <sup>b</sup>
0,01	653,66±2,51 <sup>c</sup>	510,33±2,08 <sup>c</sup>	77,8 <sup>c</sup>
0,02	559,66±1,15 <sup>d</sup>	409,66±1,52 <sup>d</sup>	72,9 <sup>d</sup>
0,05	504,33±4,16 <sup>e</sup>	340,33±3,51 <sup>e</sup>	67,8 <sup>e</sup>
0,1	452,66±3,05 <sup>f</sup>	265,66±1,54 <sup>f</sup>	58,8 <sup>f</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

L4 evresinde iken aktarımı yapılan 10 *C. elegans* bireyinde 3 günlük sayım sonucu elde edilen yumurta ve yumurtadan çıkan birey sayıları ile bu sayılardan yüzde olarak hesaplanan yumurta verimlilik değerlerinin, sunset yellow ile hazırlanan doz gruplarında kontrole göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir (P<0,05). Uygulanan doz gruplarının tamamı fertilitéyi olumsuz etkilemektedir. Bu olumsuz etki sunset yellow doz miktarı ile orantılıdır. Sunset yellow doz miktarı arttıkça yumurta ve birey sayısı azalmaktadır. En düşük yumurta ve birey sayısı sırası ile, 452,66±3,05 ve 265,66±1,54 olarak 0,1 g/10 mL'lik sunset yellow dozunda belirlenmiştir. Bu dozda kontrole kıyasla yaklaşık %60'lık bir düşüş söz konusudur.

Doz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında da, istatistiksel olarak farklılıklar söz konusudur. Her doz grubu, birbirinden farklı olarak önemli ölçüde fertilité üzerinde olumsuz etkiye sahiptir (Çizelge 5.14).

Sunset yellow doz gruplarının ve kontrol grubunun yumurta verimi (%) değerleri ile yapılan grafik Şekil 5.18'de sunulmuştur.



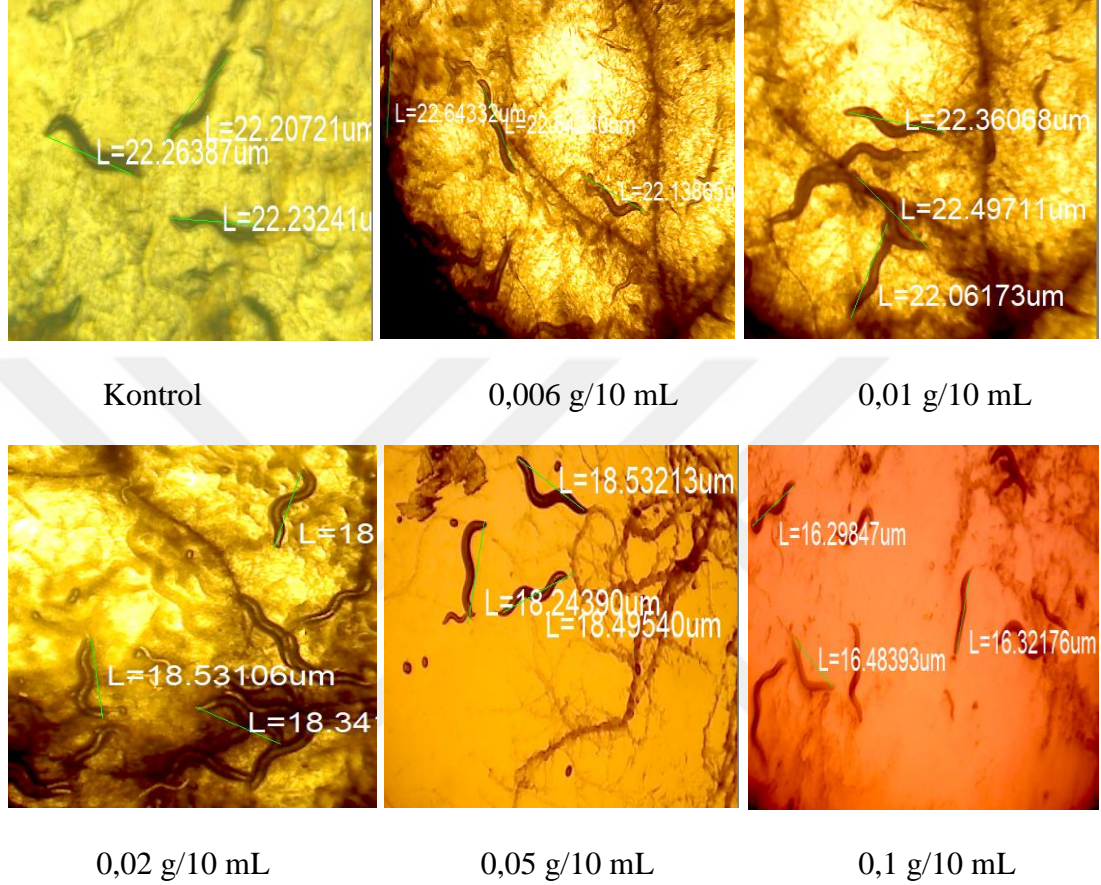
**Şekil 5.18** Sunset yellow'un *C. elegans*'ta yumurta verimine olan etkisi

Fertilite analizinde elde edilen yumurta ve yumurtadan çıkan birey sayıları üzerinden hesaplanan yumurta verimi değerleri sunset yellow'un 0,006g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL'lik dozları için sırası ile %82,2; %77,8; %72,9; %67,8 ve %58,8 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise, yumurta verimi değeri %98,9'dur. Kontrol ile kıyaslama yapıldığında, uygulanan doz gruplarının tamamı yumurta verimliliğini düşürmüştür ve bu düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P < 0,05$ ). Uygulama dozları arasında da, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar söz konusudur. Her doz grubu yumurta verimine farklı düzeyde etki etmiştir. Bu farklılık, sunset yellow doz miktarı ile ilişkilidir. En yüksek sunset yellow dozu (0,1 g/10 mL) yumurta verimliliğinde en çok düşüşe neden olan dozdur (Şekil 5.2).



### 5.5.3. Sunset yellow Fiziksel Büyüme Analizi Bulguları

Sunset yellow'un 5 farklı dozuna yumurtadan çıktıktan sonra 3 gün boyunca maruz kalan *C. elegans*'ların ışık mikroskopunda (4x) çekilmiş görüntüleri ve bu görüntüler üzerinden yapılan boy uzunluğu ölçüm değerleri Şekil 5.19'da verilmiştir.



**Şekil 5.19** Sunset yellow'un farklı dozlarının uygulanması sonucu ölçülen boy uzunlukları

Sunset yellow'un farklı dozlarının (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi Çizelge 5.15'de verilmiştir.

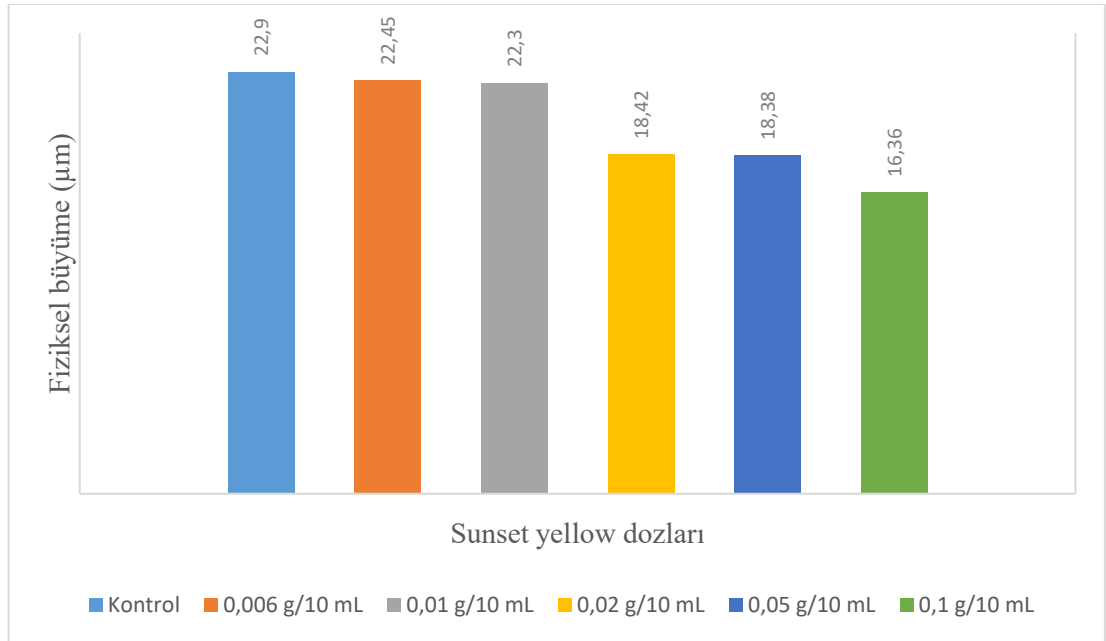
**Çizelge 5.15** Sunset yellow'un *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Dozlar (g/10 mL)	Fiziksel Büyüme
Kontrol	22,95±0,10 <sup>a</sup>
0,006	22,43±0,51 <sup>a</sup>
0,01	22,30±0,22 <sup>a</sup>
0,02	18,47±0,21 <sup>b</sup>
0,05	18,42±1,06 <sup>b</sup>
0,1	16,36±0,10 <sup>c</sup>

Farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0,05).

Çizelge 5.15 incelendiğinde, sunset yellow ile hazırlanan doz grupları genel olarak *C. elegans*'ta fiziksel büyüme yavaşlatmıştır. Fakat, yapılan istatistiksel analiz sonucunda, bu doz gruplarından yalnızca 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL'lik olan dozlardaki etkinin anlamlı olduğu, diğer doz gruplarının (0,006 g, 0,01 g/10 mL) ise, anlamsız bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, dozlar kendi aralarında kıyaslandıklarında, 0,006 g ile 0,01 g/10 mL ve 0,02 g ile 0,05 g/10 mL'lik doz grupları arasındaki farklılık önemli değildir (P>0,05). Sonuç olarak, sunset yellow'un sadece 0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL'lik doz grupları büyüme geriliğine yol açmıştır.

Sunset yellow'un farklı dozlarında belirlenen boy uzunlukları ortalamalarının çubuk grafik ile gösterimi Şekil 5.20'de mevcuttur.



**Şekil 5.20** Sunset yellow'un *C. elegans*'ta fiziksel büyümeye olan etkisi

Şekil 5.20’de, kontrol grubunda ölçülen boy uzunluk ortalaması 22,9 µm iken, sunset yellow doz gruplarında boy uzunlukları ortalamaları soldan sağa sırası ile; 22,45; 22,30; 18,42; 18,38; 16,36 µm olarak tespit edilmiştir. Sunset yellow’un doz miktarındaki artış *C. elegans*’ta boy uzunluk ortalama değerlerini düşürmüştür. Fakat, ilk iki doz grubunda (0,006 g, 0,01 g/10 mL) belirlenen boy uzunluk değerlerindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Diğer doz gruplarında (0,02 g, 0,05 g ve 0,1 g/10 mL) belirlenen boy uzunluk değerleri ise, kontolden sapma göstermektedir ( $P<0,05$ ). Ayrıca, 0,02 g ile 0,05 g/10 mL’lik sunset yellow dozlarının fiziksel büyüme üzerinde benzer bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.



#### 5.4. Genel Değerlendirme

GKM'ler üzerine yapılan çalışmaların çoğu, GKM'lerin büyük bir kısmının belirli dozların üzerinde kullanıldıklarında insanlar için toksik olabileceğini ve insanlarda bazı hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabileceğini göstermektedir. GKM tüketiminin günümüzde oldukça fazla olduğu düşünüldüğünde, bu durumun hem sağlık hem de gıda güvenliği açısından milyonlarca kişi için bir tehdit oluşturduğu söylenebilir.

Çalışmada, koruyucu gıda katkı maddelerinden biri olan benzoik asit'in 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik dozlarının yaşam süresi üzerinde toksik etkilerinin olduğu ve bu nedenle yaşam süresinde ciddi olumsuzluklara yol açtığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, 0,006 g/10 mL'lik benzoik asit dozunun yaşam süresi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Benzoik asit'in fertilite ve fiziksel büyüme üzerine olan etkileri ise, tüm benzoik asit dozlarında (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) önemli bulunmuştur. Benzoik asit doz gruplarının tamamının *C. elegans*'ta yumurta ve birey sayısını azalttığı, yumurta verimini düşürdüğü tespit edilmiştir. Ayrıca, *C. elegans*'larda yapılan boy ölçüm değerleri ile benzoik asit dozlarının tamamının büyüme geriliğine yol açtığı da belirlenmiştir. Analizlerin hepsinde (yaşam süresi, fertilite, fiziksel büyüme) doz artışı ile birlikte olumsuz etkiler de artmaktadır.

Yapılan literatür taramasında, benzoik asit için elde ettiğimiz sonuçlarla büyük oranda paralellik gösteren benzer çalışmalara rastlanmıştır.

Özpinar vd. (2013), benzoik asit'in farklı dozlarının (0,1 g, 0,06 g, 0,02 g, 0,008 g ve 0,001 g/10 mL) *C. elegans* üzerindeki fizyolojik ve yaşam süresi değişikliklerini inceledikleri çalışmada, benzoik asit'in 0,1 g, 0,06 g ve 0,02 g/10 mL'lik dozlarının *C. elegans*'larda yaşam süresi, fertilite ve fiziksel büyüme üzerinde olumsuz etkilerinin olduğunu, 0,008 g, 0,001 g/10 mL'lik dozlarının ise yaşam süresi üzerinde herhangi bir farklılığa neden olmadığını fakat, bu dozlarda fertilite ve fiziksel büyümenin kontrol grubuna göre daha az olduğunu tespit etmişlerdir.

Başka bir çalışmada, Sarıkaya ve Solak (2003) *Drosophila melanogaster*'de benzoik asit'in genotoksik etkisini Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile değerlendirmişlerdir. Benzoik asit'in 50, 75 ve 100 mM konsantrasyonlarında

*Drosophila melanogaster*'de mutasyonlarda artışa neden olduğunu ve yaşam süresini kısalttığını belirtmişlerdir.

Çalışmada kullanılan diğer koruyucu katkı maddesi olan sodyum nitrat'ın uygulanan dozlarının tamamının (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilitate ve fiziksel büyüme üzerine olumsuz etkilerinin olduğu görülmüştür. Sonuç olarak bu çalışmada, sodyum nitrat'ın doz artışına bağlı olarak yaşam süresini kısalttığı, yumurta ve yumurtadan çıkan birey sayısını azalttığı, yumurta verimliliğini düşürdüğü ve büyüme geriliğine yol açtığı tespit edilmiştir.

Sarıkaya vd. (2006) yaptıkları çalışmada, dört farklı koruyucu gıda katkı maddesinin (sodyum nitrit, sodyum nitrat, potasyum nitrit ve potasyum nitrat), 75 mM'lık dozlarının *Drosophila melanogaster*'de (mwhxflr) yaşam süresine olan etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, sodyum nitrit, sodyum nitrat, potasyum nitrit ve potasyum nitrat'tan oluşan tüm deney gruplarının, kontrole kıyasla yaşam süresi üzerinde anlamlı düşümlere yol açtığını tespit etmişlerdir.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarla, nitrat ve nitritlerin yaşam süresi, fertilitate ve fiziksel büyüme yönünden etkisi tam olarak ortaya konulamamıştır. Diğer taraftan, bilim dünyasında, nitrat ve nitrit eklemesi yapılmadan satılan et ürünlerinin kısa sürede bozulmaya elverişli olduğundan daha sağlıklı olduğunu savunanlar da vardır. Et ürünlerinde rengin korunması ve bozulmanın önlenmesi için nitrat ve nitritlere alternatif bir madde de bulunamamıştır. Çünkü, nitrat ve nitritler kürlenmiş et ürünleri üzerinde geniş bir aktiviteye sahiptir ve henüz bu katkı maddelerinin tüm fonksiyonlarını gerçekleştirebilecek düzeyde etkili alternatif tek bir katkı maddesi yoktur. Bu nedenle, yapılan güncel çalışmalar, et ürünleri formülasyonlarında nitrat ve nitrit kullanımının ve üründe kalıntı nitrit miktarının doğal katkılarla, çeşitli katkıların kombinasyonlarıyla azaltılması ya da bu katkıların hiç kullanılmaması yönünde olup, son yıllarda bu alanda mikrobiyal kaynaklardan, organik asitlerden, yüksek basınç, ışınlama, engel teknolojisi uygulamalarından yararlanılması da dikkat çekicidir (Turp ve Sucu, 2016).

Korucuyucu gıda katkı maddeleri olarak benzoik asit ve sodyum nitrat'ın yaşam süresi, fertilitate ve fiziksel büyümeye olan etkileri karşılaştırıldığında; benzoik asit'in 0,006 g/10 mL'lik dozu hariç diğer dozları yaşam süresi üzerinde sodyum nitrat'a

kıyasla daha fazla etki ederek yaşam süresini büyük oranda kısaltmıştır. Fertilité analizinde, her ne kadar yumurta verimlilik değerleri sodyum nitrat'ta daha düşük olsa da, benzoik asit dozlarında belirlenen yumurta ve birey sayıları sodyum nitrat dozlarında belirlenen sayılardan daha düşük olduğundan, benzoik asit'in fertilitéye olan olumsuz etkisi daha fazladır. Fiziksel büyüme analizinde ise, benzoik asit dozlarının tamamı sodyum nitrat'a göre daha fazla büyüme geriliğine yol açmıştır. Bu nedenle; benzoik asit'in her üç parametrede de daha zararlı etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan diğer katkı maddeleri, gıda boyaları olarak kullanılan allura red, tartrazin ve sunset yellow'dur. Bu gıda boyalarının yaşam süresi analiz sonuçlarına göre, her üç gıda boyasında da 0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL'lik dozlarının kontrole kıyasla doz artışına bağlı olarak yaşam süresini kısalttığı tespit edilmiştir. Yaşam süresi üzerinde en fazla olumsuz etkiye sahip olan gıda boyası tartrazin olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla, sunset yellow ve allura red takip etmektedir. Fertilité analizi sonuçlarında ise, allura red, tartrazin ve sunset yellow'un uygulama dozlarının tamamında *C. elegans*'ta yumurta sayısı, yumurtalardan çıkan birey sayısı ve yumurta verimi değerlerinde kontrole kıyasla önemli azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Bu azalmalar her üç gıda boyasında da doz miktarına bağlı olarak değişmektedir. Doz miktarı arttıkça fertilité üzerindeki olumsuz etki artmaktadır. Gıda boyalarını fertilitéye olan etkisi bakımından en zararlıdan en az zararlıya doğru sıralayacak olursak; sunset yellow > tartrazin > allura red şeklinde bir sıralama ortaya çıkmaktadır. Gıda boyalarının (allura red, tartrazin ve sunset yellow) fiziksel büyüme analiz sonuçlarına göre, allura red fiziksel büyümeyi doz artışıyla birlikte artırmış, tartrazin ve sunset yellow'da ise doz artışı fiziksel büyümeyi yavaşlatmıştır. Fakat, tartrazin dozları sunset yellow dozlarına kıyasla daha fazla büyüme geriliğine neden olmuştur. Bu durumda, çalışılan gıda boyaları içerisinde tartrazin fiziksel büyümeye en zararlı etkisi olan gıda boyası olarak belirlenmiştir.

Yapılan literatür taramasında çalışmada kullanılan gıda boyalarının (allura red, tartrazin ve sunset yellow) *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme üzerinde etkilerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Buna karşın, yalnızca tartrazin için *C. elegans*' ta toksisite çalışması mevcuttur. Ancak, söz konusu

gıda boyalarının veya diğer gıda boyalarının başka model organizmalar üzerinde denendiği çok sayıda çalışma mevcuttur.

Himri vd. (2013), tartrazin'in ve ana metaboliti olan sülfanilik asit'in *Caenorhabditis elegans* nematodları ve *Artemia salina* larvaları için toksisitesini araştırmıştır. Çalışmada, *C. elegans* nematodlarında tartrazin'in 3 mM ve sülfanilik asit'in ise 1 mM'lık konsantrasyonlarının ölüme yol açmadan hücre döngüsünde bozukluklara sebep olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *A. salina*, tartrazin ve sülfanilik asit'in 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50, 75, 100 mg/mL'lik konsantrasyonlarına 48 saat boyunca maruz bırakılmış ve bu süre sonunda tartrazin'in toksisite göstermediği ve sülfanilik asit'in ise düşük toksisiteye sahip olduğu belirlenmiştir (LC50 = 82.3µg /mL).

Uysal ve Semerdöken (2011) yaptıkları çalışmada 5 farklı sentetik gıda boyasının (black pn, brilliant blue, pea green, ponceau 4r, quinolin yellow) *Drosophila melanogaster* Oregon R yabanıl tipinin larvaları üzerinde toksik etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, tüm sentetik gıda boyalarının konsantrasyon artışına bağlı olarak larval toksisiteyi artırdığı ve ergine dönüşebilen birey sayısını azalttığı görülmüştür. Ayrıca, çalışmada ergin bireylerin ortalama ömür uzunlukları da izlenmiş ve çalışmada kullanılan sentetik gıda boyalarının ömür uzunluğunu kontrole kıyasla kısalttığını tespit etmişlerdir.

Sarıkaya vd. (2010) farklı konsantrasyonlardaki beş gıda boyasının (patent blue, karminik asit, indigokarmin, eritrosin ve amaranth) *Drosophila melanogaster* (mwh x flr)'nin yaşama yüzdesi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, 50 mg/mL'lik dozda patent blue ve indigokarmin; 100 mg/mL'lik dozda karminik asit ve amaranth; 25 mg/mL'lik dozda ise eritrosin adlı gıda boyalarının letal etkiye sahip oldukları bulunmuştur. Kullanılan gıda boyaları toksisiteleri bakımından eritrosin, indigokarmin, patent blue, amaranth, karminik asit şeklinde sıralanmıştır.

Türkoğlu vd. (2015) yaptıkları çalışmada, gıda boyalarından sunset yellow, ponceau 4R, allura red, brilliant blue FCF ve brown HT'nin farklı dozlarının (0,5 mg<sup>-1</sup> mL, 1 mg<sup>-1</sup> mL, 1,5 mg<sup>-1</sup> mL, and 2 mg<sup>-1</sup> mL), *Drosophila melanogaster*'de yaşam süresi üzerine olan etkilerini incelemiştir. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan gıda boyalarının uygulanan doz gruplarının tamamının *Drosophila melanogaster*'de yaşam süresini kısalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada, brilliant blue FCF'nin, diğer gıda boyaları arasında yaşam süresindeki en büyük düşüşe neden olduğunu, sırasıyla

ponceau 4R, sunset yellow, brown HT ve allura red'in bunu takip ettiğini belirtmişlerdir.





## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde GKM tüketiminden kendimizi tamamen soyutlamamız mümkün değildir. Çünkü, beslenme temel bir ihtiyaçtır ve GKM'ler de gıda endüstrisine sağladığı avantajlar sebebiyle neredeyse tükettiğimiz her gıda maddesinde bulunmaktadır. Ayrıca, teknolojinin ilerlemesi, nüfus artışı ve gıdalarda lezzet, kalite ve görünüş bakımından mükemmelere ulaşma isteği gibi sebepler, GKM'lerin kullanımını neredeyse zorunlu hale getirmektedir. Bu sebeple, GKM maruziyeti her geçen gün daha da artmaktadır. GKM'lerin kullanımının yaygınlaşmasından bu yana ortaya çıkan bazı rahatsızlıklar veya var olan bir hastalığın görülme sıklığının artması bu maddelerinin tüketimi ile ilişkilendirilmektedir. İnsan sağlığı üzerinde zararlı etkileri söz konusu olan maddelerin güvenli kullanımının sağlanması için çeşitli kısıtlamaların, yasal yaptırımların ve deneysel çalışmaların yapılması gerekir. Nitekim, GKM'lerin büyük bir kısmı insan sağlığını olumsuz etkileyen maddeler arasında değerlendirildikleri için çeşitli uluslararası kuruluşlar bu maddelere yasal kısıtlamalar getirmişlerdir. Ancak, sayıca çok fazla olan GKM'lerin hepsinin yan etkileri, toksik dozları...vs gibi özellikleri tam olarak bilinmemekte ve bu konuya dair çalışmalar günümüzde yetersiz kalmaktadır. Bununla birlikte, hala GKM'ler ile ilgili araştırmalar devam etmekte ve elde edilen yeni bilgilere göre varolan bilgiler değiştirilmekte veya yeniden düzenlenmektedir.

Yapmış olduğumuz çalışma, benzoik asit, sodyum nitrat, allura red, tartrazin ve sunset yellow'un farklı dozlarının (0,006 g, 0,01 g, 0,02 g, 0,05 g, 0,1 g/10 mL) *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme üzerinde olumsuz etkilere yol açtığını göstermektedir. Bu olumsuz etkiler genel olarak, koruyucu gıda maddelerinden benzoik asit'te, gıda boyalarından ise tartrazin'de en fazla olarak tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan GKM'lerin genelinde doz artışına paralel olarak yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme üzerine olan etkiler artmaktadır. En yüksek uygulama dozu olan 0,1 g/10 mL'de yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyüme üzerindeki olumsuz etki en fazla iken, 0,006 g/10 mL (en düşük uygulama dozu)'lik dozda bu parametreler üzerindeki olumsuzluklar en aza inmektedir. Çalışmada, yalnızca allura red için

yapılan fiziksel büyüme analizinde aksi bir sonuç tespit edilmiştir. En yüksek doz olan 0,1 g/10 mL'lik allura red dozunda fiziksel büyümenin kontrole kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu sonucun, allura red'in 0,1 g/10 mL'lik dozunun *C. elegans*'ta büyüme ile ilgili genler üzerinde bir etkisinin olduğundan ya da *C. elegans*'ta strese yol açarak büyümeyi hızlandırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Şimdiye kadar GKM'lerin sağlık üzerine etkilerini gösteren çalışmaların çoğunda tutarsızlıklar görülmektedir. Aynı katkı maddesi bir çalışmada herhangi bir olumsuzluğa yol açmazken, başka bir çalışmada ciddi sorunlara ve hasarlara yol açmaktadır. Katkı maddeleri konusunda fikir birliğinin sağlanabilmesi için, GKM'lerin etki mekanizması hakkında daha kapsamlı ve daha fazla sayıda deneysel çalışmaların yapılmasına gereksinim vardır.

Bu çalışmanın, bundan sonra yapılacak olan benzer çalışmalara kaynak teşkil edebilecek nitelikte olduğu düşünülmektedir. Gelecekte, bu çalışmada kullanılan katkı maddelerinin denenmemiş dozlarının veya başka katkı maddelerinin *C. elegans*'ta yaşam süresi, fertilité ve fiziksel büyümeye olan etkilerinin belirlendiği çalışmalar planlanabilir. Ayrıca, aynı model organizma üzerinde moleküler düzeyde çalışmalar planlanarak, GKM'lerin DNA ve gen ekspresyonu üzerindeki etkileri de aydınlatılabilir.

## KAYNAKLAR

- Abdullah, S.U., Badaruddin, M., Sayeed, S.A., Ali, R. and Riaz, M.N.** (2008). Binding ability of allura red with food proteins and its impact on protein digestibility. *Food Chemistry*, 110 (3), 605-610.
- Akbulut, M.** (2011). Gıda katkı maddeleri: fonksiyonları ve kaynakları. *1. Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi Gıda Katkı Maddeleri: Sorunlar ve Çözüm Önerileri Kongre Kitabı*, Pozitif Tanıtım Hizmetleri, 19-20 Kasım, 59-68, Ankara.
- Altug, T.** (1999). Gıda katkı maddeleri, *Hekim ve Yasam*, Haziran, 26-31.
- Altuğ, T.** (2009). Gıda katkı maddeleri. *Sidaş Medya Ltd. Şti. Yayınları*; 268s, İzmir.
- Amerind, M., Pangborn, R. and Roessler, E.** (1965). Principles of Sensory Evaluation of Food. *Academic Press*, 612 p, New York.
- Anonim** (1997). Türk gıda kodeksi yönetmeliği, Tanımlar (23172 Mükerrer). *TC Resmi Gazete*, 16 Kasım, 1-6.
- Anonim** (2006). Türk gıda kodeksi, Gıdalarda kullanılan renklendiriciler tebliği. (<http://www.tgk.gov.tr>). Erişim tarihi: 12.12.2017.
- Anonim** (2008). Gıda katkı maddeleri hakkında sık sorulan sorular. (<http://www.saglikvakfi.org.tr/html/gkmy.asp>). Erişim tarihi:18.10.2018.
- Anonim** (2013a). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, Tanımlar (28693 Mükerrer). *TC Resmi Gazete*, 30 Haziran, 1-2.
- Anonim** (2013b). ([www.gidaraporu.com/katkimaddeleri-gercegi\\_g.htm](http://www.gidaraporu.com/katkimaddeleri-gercegi_g.htm)). Erişim Tarihi: 05.01.2019.
- Anonim** (2014). Benzoic acid. ([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Benzoic\\_acid](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Benzoic_acid)). Erişim tarihi: 20.05.2017.
- Anonim** (2016). Benzoik asit nedir? ([www.fenbilimlerinedir.com/2016/02/benzoik-asit-nedir.html](http://www.fenbilimlerinedir.com/2016/02/benzoik-asit-nedir.html)). Erişim Tarihi: 12.05.2019.
- Anonim** (2018a). E Kodu ve Numarası. ([www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx](http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx)). Erişim tarihi: 18.05.2019.
- Anonim** (2018b). Gen klonlaması nedir? Canlı klonlama nedir? Model organizma seçilirken nelere dikkat edilir? (<https://www.fikir.gen.tr>). Erişim tarihi: 20.04.2019.
- Ardern, K.D., Ram, F.S.** (2001). Tartrazine exclusion for allergic asthma. *Cochrane Database Syst Rev.*, 4, CD000460.
- Arslan, G.** (2011). Gıda katkı maddeleri ve yeni yapılan dioksimlerin gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirliğinin araştırılması. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 274s, Konya.
- Aschebrook, K.B., Cross, A.J., Stolzenberg-Solomon, R.Z., Schatzkin, A., Hollenbeck, A.R., Sinha, R. and Ward, M.H.** (2011). Pancreatic cancer and

- exposure to dietary nitrate and nitrite in the NIH-AARP diet and health study. *Am. J. Epidemiol.*, 174 (3), 305-15.
- Atlı, B.** (2010). Gıda boyaları. *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 84s, Tekirdağ.
- Atman, Ü.C.** (2004). Gıda katkı maddeleri ve gıda kontrolü. *Sted*, 13 (3), 86-88.
- Baker, R.C., Hahn, P.W. and Robbins, K.R.** (1988). Fundamentals of New Food Product Development. *Elsevier Science Publishing Com. Inc., New York*, 290 p.
- Bateman, B., Warner, J.O., Hutchinson, E., Dean, T., Rowlandson, P., Gant, C., Grundy, J., Fitzgerald, C. and Stevenson, J.** (2004). The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. *Archives Of Disease In Childhood*, 89 (6), 506-511.
- Batu, A., Molla, E.** (2008). Lokum üretiminde kullanılan katkı maddeleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 33-36.
- Bayraktar, N., Gökçe, R. ve Ergün, Ö.** (1998). Gıdalarda nitrat ve nitrit kalıntılarının insan sağlığı üzerine etkileri. *Ekoloji*, 28, 28-30.
- Benitez, L.T., Verbel, J.O.** (2016). *Caenorhabditis elegans*, a biological model for research in toxicology. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 237, 1-36.
- Berktaş, E.A.** (2014). Sunset yellow fcf'nin (e110), tavukların timus ve bursa fabricii'sinin embriyonik gelişimi üzerindeki etkisinin histolojik ve enzim histokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 75s, Konya.
- Bhat, R.V., Mathur, P.** (1998). Changing scenario of food colours in India. *Current Science*, 74, 198-202.
- Bhatia, M.S.** (1996). Alerji to tartrazin in alprazolam. *Indian Journal of Medical Sciences*, 5, 285-286.
- Bilau, M., Matthys, C., Vinkx, C. and Henauw, S.D.** (2008). Intake assesment for benzoates in different subgroups of the flemish population. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 717-723.
- Boğa, A., Binokay, S.** (2010) Gıda katkı maddeleri ve sağlığımıza etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 19, 141-154.
- Boğar, F.** (2012). Bazı gıda katkı maddelerinin genotoksik etkilerinin cbmn yöntemi ile araştırılması. *Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 80s, Eskişehir.
- Bories, P.N., Bories, C.** (1995). Nitrate determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase. *Clinical Chemistry*, 41, 904-907.
- Borzelleca, J.F., Olson, J.W. and Reno, F.E.** (1991). Lifetime toxicity/carcinogenicity studies of FD&C red no. 40 (Allura Red) in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 29, 313-319.
- Brenner, S.** (1973). The genetics of *C. elegans*. *Genetics*, 77, 71-94.

- Büyükdere, Y., Ayaz, A.** (2016). Gıdalarda kullanılan renklendiricilerin sağlık yönü: Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu. *Bes. Diy. Derg.*, 44 (2), 169-177.
- Byerly, L., Cassada, R.C. and Russell, R.L.** (1976). The life cycle of the nematode *Caenorhabditis elegans*. I. Wild-type growth and reproduction. *Dev. Biol.*, 51 (1), 23-33.
- Carocho, M., Morales, P., Ferreira, I.C. and Saltmarsh, M.** (2015). Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 45, 284-295.
- Chanlon, S., Joly-Pottuz, L., Chatelut, M., Vittori O. and Cretier, J.L.** (2005). Determination of carmoisine, allura red and ponceau 4R in sweets and soft drinks by differential pulse polarography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18 (6), 503-515.
- Chayabutra, C., Ju, L.K.** (2000). Degradation of n-hexadecane and its metabolites by *Pseudomonas aeruginosa* under microaerobic and anaerobic denitrifying conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 493-498.
- Chichester, D.F., Tanner, F.W.** (1972). Antimicrobial food additives. Handbook of food additives, **Furia, T.E.** (Ed.), *Cleveland*, 115 p, Ohio.
- Cohen N., Weiss, G. and Minde, K.** (1972). Cognitive styles in adolescents previously diagnosed as hyperactive. *J Child Psychol Psychiatry*, 13 (3), 203-9.
- Corsi, A.K., Wightman, B. and Chalfie, M.** (2015). A transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. *WormBook*, 1-31.
- Çakır, R.** (2011). Bazı gıda ürünlerinde sorbik asit ve benzoik asit varlığının tespiti. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 80s, Sakarya.
- Çakır, S.** (2013). Yedikleriniz Helal Olsun. *Işık yayınları*, 259s, İzmir.
- Çakmak, Ö., İşleyen, A. ve Usca, A.** (2009). N-nitroza bileşikleri ve halk sağlığına etkileri. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 8 (6), 521-526.
- Çakmakçı, S., Çelik, İ.** (1995). Gıda katkı maddeleri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 164*, 249s, Erzurum.
- Çalışır, E.Z., Çalışkan, D.** (2003). Gıda katkı maddeleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. *J.Fac. Pharm*, 32 (3), 193-206.
- Çayıroğlu, Y.** (2015). İslâm hukukuna göre gıda katkı maddeleri. *İslam Hukuku Araştırmaları Dergisi*, 26, 331-368.
- Çelik, E.** (2014). Alkolsüz diyet içeceklerde aspartam miktarlarının spektrofotometrik yöntem ile araştırılması. *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 80s, Ankara.
- Çotra, Y.** (2016). İstanbul ilinde satışa sunulan domates salçalarında sorbik asit ve benzoik asit varlığı. *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 61s, Tekirdağ.
- Dağoğlu, G., Bildik, A. ve Aksoy, A.** (1995). Van yöresindeki sularda nitrat ve nitrit düzeyleri. *F.Ü. Sağ Bil Derg.*, 9 (2), 240-244.
- Deshpande, S.S.** (2002). Handbook of food toxicology. *New York: Marcel Dekker Inc.*, 219-284.

- Devlin, J., David, T.J.** (1992). Tartrazin in atopik eczama. *Archives Diseases in Chidhood.* 67, 709-711.
- Dimitriadi, M., Hart, A.** (2010). Neurodegenerative disorders: insights from the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Neurobiol Dis.*, 40 (1), 4–11.
- Dinç, B.** (2012). Lezzet arttırıcı maddeler. *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 76s, Tekirdağ.
- Dinç, M.** (2007). Gıdalara katılan bazı suda çözünen sentetik boya renklerinin belirlenmesi. *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 79s, Tekirdağ.
- Doğan, Y.** (2016). Model organizmalar. (yunus.hacettepe.edu.tr). Erişim tarihi: 16.02.2018. 36s, Ankara.
- Edlefsen, M., Brewer, M.S.** (1996). Illinois Cooperative Extension Service (Document No. EHE-756). *University of Illinois at Urbana-Champaign*, August.
- Edu, F.V., Gaceu, L.** (2010). Food additives and consumer information. *Journal of EcoAgriTourism*, 6, 81-85.
- EFSA (European Food Safety Authority)** (2008). *Regulation*, Regulation (EC) No: 1333/2008. (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content>).
- Ekici, K., Alişarlı, M. ve Sancak, Y.C.** (2008). Peynir Çeşitlerinde nitrit ve nitrozaminler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2, 71-72.
- Eksi, A.** (1996). Ankara piyasasından sağlanan pasta süsleri ve bazı şekerlemelerde sentetik boya miktarlarının araştırılması. *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 108s, Ankara.
- Erdem, N.** (2014). Tüketicilerin hazır ve yarı hazır gıdalarda kullanılan gıda katkı maddelerine yönelik görüşlerinin incelenmesi (Konya ili örneği). *Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Çocuk Gelişimi Ve Ev Yönetimi Eğitimi Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 115s, Konya.
- Erdoğan, Ş.** (2007). Ankara piyasasında satışa sunulan bazı gıdalarda sentetik boya miktarlarının araştırılması. *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 128s, Ankara.
- Ergen, N.** (2012). Türk halk ilaçlarının *Caenorhabditis elegans* ömür uzunluğu üzerinde etkisinin araştırılması. *Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 102s, Ankara.
- Erişik, E.** (2012). 1-12 yaş arası çocuğu olan annelerin çocuk beslenmesi ve gıda katkıları konusunda bilgi ve davranışa yönelik tutumlarının belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 68s, Erzurum.
- Erkmen, O.** (2010). Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 53, 220-235.
- Erkmen, O., Bozoğlu, T.F.** (2008). Food Microbiology III: Food Preservation. *İlke Publishing Company*, Ankara.
- FAO (Food and Agriculture Organization)** (2011). ([www.fao.org/ag/agn/jecfaadditives](http://www.fao.org/ag/agn/jecfaadditives)). Erişim tarihi: 18.04.2018.

- Finch, C.E., Ruvkun, G.** (2001). The genetics of aging. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 2, 435–462.
- Fish, P.A., Webster, D.A. and Stark, B.C.** (2000). *Vitreoscilla* hemoglobin enhances the first step in 2, 4-dinitrotoluene degradation in vitro and at low aeration in vivo. *J. Mol. Cat.B: Enz.*, 9, 75-82.
- Giray, H., Soysal, A.** (2007). Türkiye’de gıda güvenliği ve mevzuatı. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6 (6), 485-490.
- Gökalp, H.Y.** (1983). Et ürünlerinde nitrat, nitrit kullanımı ve nitrit zehirlenmesi. *Gıda*, 8 (5), 239-243.
- Gökalp, H.Y., Yetim, H. ve Kaya, M.** (1987). İnsan bünyesine alınan nitrat nitrit miktarları ve kaynakları aminler ve çeşitli gıdaların amin içerikleri. *Et Balık Endüstrisi Dergisi*, 8 (49), 1218.
- Gray, J.I., McDonald, B., Pearson, M.A. and Marton, I.D.** (1981). Role of nitrite in cured meat flavor: a review. *J. Food Prot*, 44 (4), 302-312.
- Groten, J.P.** (2000). An analysis of the possibility for health implication of joint actions and interactions between food additives. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31, 77-91.
- Gül, İ.** (2004). Gıda katkı maddeleri. *Uludağ Üniversitesi Meslek Yüksek Okulu (Ön Lisans Tezi)*, 37s, Bursa.
- Güler, T., Koca, B.Y.** (2013). Sunset yellow FCF’ nin tavuk embriyosu deri ve barsak mast hücrelerinin degranülasyonu üzerindeki etkileri. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 19 (5), 851-856.
- Gültekin, F.** (2014a). A'dan Z'ye Gıda Katkı Maddeleri (Ansiklopedik Sözlük). *Server İletişim/Doğal ve Sağlıklı Beslenme Serisi 02*, 495s, İstanbul.
- Gültekin, F.** (2014b). Fark Etmeden Yediklerimiz: Gıda Katkı Maddeleri. *Server İletişim/Doğal ve Sağlıklı Beslenme Serisi 01*, 172s, İstanbul.
- Güngör, Ö.F.** (2010). Benzoik Asit ve Tuzları. *Gıda&Yem Analiz Dergisi*, 5, 14-15.
- Güzel, G.** (2013). Ankara’da tüketime sunulan bazı gıda maddelerinde benzoik asit miktarlarının araştırılması. *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Analizleri Ve Beslenme Bilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi)*, 73s, Ankara.
- Hertweck, M., Hoppe, T. and Baumeister, R.** (2003). *C. elegans*, a model for aging with high-throughput capacity. *Exp. Gerontol*, 38 (3): 345-346.
- Himri, I., Abdelkarim, G., Souna, F. and Saalaoui, E.** (2013). Toxicity testing of tartrazine using the nematode *Caenorhabditis elegans*, brine shrimp larvae (*Artemia salina*) and KGN granulosa cell line. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3 (11), 51–58.
- Hortviz, H.R.** (2003). Worms life and death (Nobel Lecture). *Chem. Bio. Chem.*, 4, 697-711.
- IRDC (International Research and Development Corporation)** (1972). FD & C Yellow No. 6. Teratology study in rats. *Unpublished report submitted to the Inter-Industry Colour Committee*, 306-004 (as referred to by JECFA, 1982).

- Kaboğlu, A., Aktaç, T.** (2002). A study of the effects of sodium benzoate on the mouse liver. *Biologia*, 57 (3), 373-380.
- Kahraman, H., Geçkil, H.** (2005). Benzoik asidin *Vitreoscilla* hemoglobin geni aktarılmış *Pseudomonas aeruginosa* tarafından yıkımı. *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17 (2), 342-348.
- Karaali, A.** (2006). Gıda katkı maddeleri. ([www.gidakat.org.tr/images/artemis\\_karaali.pdf](http://www.gidakat.org.tr/images/artemis_karaali.pdf)). Erişim Tarihi: 19.04.2019.
- Karaali, A., Özçelik, B.** (1993). Gıda katkısı olarak doğal ve sentetik boyalar. *Gıda*, 18: 389-396.
- Karakahya, F., Koca, B.Y.** (2016). Gelişmekte olan tavuk karaciğeri üzerine gıda katkı maddesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 37 (2), 85-98.
- Karakaya, A.E.** (2011). Gıda katkı maddeleri ve gıda kontaminantları. (<http://www.turktox.org.tr/assets/gida/index.php?p=toksikoloji>) Erişim Tarihi: 22.04.2019.
- Kaya, İ.** (2011). İstanbul' da bir ilçede gıda katkı maddesi içeren bazı besinlerin tüketiminin ve sağlığa etkilerinin araştırılması: gıdaların risk analizi. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 112s, İstanbul.
- Keskin, H.** (1999). Gıda Kimyası. *İstanbul Üniversitesi Yayınları, Kimya Fakültesi. No: 3*, 1525s, İstanbul.
- Klug W.S., Cummings M.R. and Spencer C.A.** (2009). Genetik Kavramlar. *Palme Yayıncılık* (Çeviri: Öner, C., Sümer, S., Öner, R., Öğüş, A. ve Açık, E.), 677s, İstanbul.
- Koelle, M.** (2005). Quantitation of constitutive egg-laying. *Yale University*, New Haven, USA.
- Koutsogeorgopoulou, I., Maravelias, C., Methenitou, G. and Koutselinis, A.** (1997). Immunological aspects of the common food colorants, amaranth and tartrazin. *Veterinary and Human Toxicology*, 40, 1-4.
- Koyuncu, N.G.** (2006). Bursa'da tüketime sunulan bazı ürünlerin sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının araştırılması. *Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 74s, Bursa.
- Küçüköner, E.** (2006). Yeni ürün geliştirmede gıda katkı maddelerinin fonksiyonları ve önemi. *Gıda*, 31 (3), 175-181.
- Küçüköner, E.** (2011). Helal gıda sertifikasyonunda gıda katkı maddelerinin yeri. *I. Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi Gıda Katkı Maddeleri: Sorunlar ve Çözüm Önerileri Kongre Kitabı*, 19-20 Kasım, 12-17.
- Letha, T., Fagtb, S., Nielsenc, S. and Andersen, R.** (2008). Food additives and contaminant: nitrite and nitrate content in meat products and estimated intake in denmark from 1998 to 2006. *Part A 25th Anniversary*, 10, 1237-1245.
- Lino, C.M., Pena, A.** (2010). Occurrence of caffeine, saccharin, benzoic acid and sorbic acid in soft drinks and nectars in Portugal and subsequent exposure assessment. *Food Chemistry*, 121, 503-508.



- Manchon, P.H., Lowy, R.** (1964). Effet pseudovitaminique du jaune soleil sur la croissance du rat. *Fd Cosmet Toxicol.*, 2, 453-456.
- Mathur, N.R.A., Chaudhary, V., Mehta, M. and Krishnatrey, R.** (2005). Effect of sunset yellow on testis in rats. *J. Ecophysiol Occup Health*, 5, 1-3.
- McCann, D., Barrett, A. and Cooper, A.** (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3 year old and 8-9 year old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *The Lancet*, 370, 1560-67.
- Mermer, G.** (2007). Gıda katkı maddeleri. ([www.halksagligi.med.ege.edu.tr](http://www.halksagligi.med.ege.edu.tr)). Erişim Tarihi: 09.10.2018.
- Mikkelsen, H., Larsen, J.C. and Tarding, F.** (1978). Hypersensitivity reactions to food colours with special reference to the natural colour annatto extract (butter colour). *Arch. Toxicol.*, 1, 141-143.
- Morries, P.A., Tichivangona, J.Z.** (1985). The anioxidant activities of nitrite and nitrosylmyoglobin in cooked meats. *Meat Science*, 14, 175-190.
- Möhler K., El-Refai, S.M.** (1981). Das nitrosaminproblem in der menschlichen umwelt. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 172 (6), 449-453.
- Niraj, K.T., Kalyani, K.P. and Nabi, M.J.** (1989). Genotoxicity of tartrazine studied in two somatic assays of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, 224, 479-483.
- O'Boyle, A.R., Rubin, L.J., Diosady, L.L., Aladin-Kassam, N., Comer, F. and Brightwell, W.** (1990). A nitrite-free curing system and its application to the production of wieners. *Food Technology*, Mayıs, 88-104.
- Ogbadu, L.J.** (1999). Permitted Preservatives – Benzoic Acid. **Robinson, R, Batt, C.A, Patel, P.** (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press, 1754-1757, USA.
- Olgun, A., Aleksenko, T., Pereira-Smith, O.M. and Vassilatis, D.K.** (2005). Functional analysis of MRG-1: The ortholog of human MRG15 in *Caenorhabditis elegans*. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, 60 (5), 543-548.
- Olsen, A., Vantipalli, M.C. and Lithgow, G.J.** (2006). Lifespan extension of *Caenorhabditis elegans* following repeated mild hormetic heat treatments. *Biogerontology*, 7, 221-230.
- Omaye, S.T.** (2004). Food and nutritional toxicology. *CRC Press, New York*, 336 p.
- Oruç, H.H., Ceylan, S.** (2001). Bursa'da tüketilen bazı sebzelerde nitrat ve nitrit. *Journal of Fac. Vet. Med.*, 20, 17-21.
- Otero-Loseda, M.E.** (2003). Differential changes in perception induced by benzoic acid prickling. *Physiology & Behavior*, 78, 415-425.
- Özcan, G., Artık, N. ve Üner, Y.** (1997). Gıda katkı maddelerinin tüketici bilinci ve insan sağlığı açısından irdelenmesi. *TMMOB*, Eylül, 31s.
- Özcan, M., Akgül, A.** (1995). Gıdalar için doğal renk maddeleri-I, *Gıda*, 20 (4), 209-213.

- Özçelik, S.** (1982). Bazı gıdalarda nitrit ve nitrozaminlerin oluşumu ve sağlığa zararlı etkileri. *Gıda*, 7 (4), 183-188.
- Özdemir, H.** (2006). Potasyum sorbat, sodyum benzoat, sitrik asit, benzoik asit ve sodyum nitrit'in mutajenik etkilerinin in vitro'da mikronükleus tekniği kullanılarak incelenmesi. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi)*, 84s, Konya.
- Özdestan, Ö., Üren, A.** (2010). Gıdalarda nitrat ve nitrit. *Akademik Gıda*, 8 (6), 35-43.
- Özpınar, H., Özpınar, N., Kılıçgün, H., Dağ, Ş. ve Sarı, M.** (2013). Physiological and lifespan alterations in *Caenorhabditis elegans* exposed to benzoic acid. *Uluslararası Hakemli Akademik Spor Sağlık ve Tıp Bilimleri Dergisi*, 3 (7), 40-49.
- Özpınar, N., Türkoğlu, Ş., Dağ, Ş., Özpınar, H.** (2014). Kola özütünün farklı dozlarının *Caenorhabditis elegans* bireylerinde yaşam süresi, yumurtadan çıkma oranı ve fiziksel büyüme üzerine etkileri. *Cumhuriyet Science Journal*, 35 (1), 12-20.
- Öztürkcan, S.A., Acar, S.** (2017). Yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal gıda katkı maddeleri ile ilgili genel bir değerlendirme. *Iğsaber*, 1, 1-17.
- Padmaja, R.J., Pratima, R., Bhat, R.V. and Naidu, A.N.** (2003). Type, extent and use of colours in ready-to-eat (RTE) foods prepared in the unorganized sector – Hyderabad, India – a case study. *International Journal of Food Science and Technology in press*, 38, 1-7.
- Palamutoğlu, R., Sarıçoban, C.** (2012). Et ürünlerinde nitrat ve nitrite alternatif doğal kütleme maddeleri. *Gıda Tek. Elektronik Dergisi*, 7 (3), 46-58.
- Paterson, R.M., Butler, J.S.** (1982). Tartrazine-induced chromosomal aberrations in mammalian cells. *Food and Chemical Toxicology*, 20, 461-5.
- Petkovic, V., Novakovic, B. and Rudic-Grujic, V.** (2009). Health safety of nonalcoholic drinks in reference to use of preservatives. *HealthMED*, 3, 442-447.
- Pohl, R., Balon, R., Berchou, R. and Yeragani, V.K.** (1987). Allergy to tartrazin in antidepressants. *The American Journal of Psychiatry*, 144, 237-238.
- Pollock, I., Warner, J.O.** (1990). Effect of artificial food colours on childhood behavior. *Arch Dis Child.*, 65 (1), 74-77.
- Porta-de-la-Riva, M., Fontrodona, L., Villanueva, A. and Cerón, J.** (2012). Basic *Caenorhabditis elegans* methods: synchronization and observation. *J. Vis. Exp.*, 64, 1-9.
- Poul, M., Jarry, G., Elhkım, M.O. and Poul, J.M.** (2009). Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 443-448.
- Pourreza, N., Rastegarzadeh, S. and Larki, A.** (2011). Determination of allura red in food samples after cloud point extraction using mixed micelles. *Food Chemistry*, 126 (3), 1465-1469.

- Pratima, R., Bhat, R.V.** (2003). A comparative study on the synthetic food colours usage in foods procured from urban and rural areas of Hyderabad. *Nutrition and Food Science*, 33, 230-234.
- Price, P.J., Suk, W.A., Freeman, A.E., Lane, W.T., Peters, R.L., Vernon, M.L. and Huebner, R.J.** (1978). In vitro and in vivo indications of the carcinogenicity and toxicity of food dyes. *Int J Cancer*, 21, 361.
- Qi, P., Hong, H., Liang, X. and Liu, D.** (2009). Assesment of benzoic acid levels in milk in China. *Food Control*, 20, 414-418.
- Randhawa, S., Bahna, S.L.** (2009). Hypersensitivity reactions to food additives. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 9, 278-283.
- Reynolds, J.E.** (1982). Martindale: The Extra Pharmacopoeia. *The Pharmaceutical Press*, 2025 p, London.
- Riddle, D.L., Blumenthal, T., Meyer, J.B. and Priess, J.R.** (2010). *C. elegans* II (2nd edition). *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 33, 1222 p.
- Robach, M.C.** (1980). Use of preservatives to control microorganism in food. *Food Technol.*, 34 (10), 81.
- Russell, N.J., Gould, W.** (2003). Food Preservatives. *Springer, 2nd edition*, 380 p.
- Saldamlı, İ.** (1985). Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler. *Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü*, 197s, Ankara.
- Saldamlı, İ.** (1998). Gıda kimyası. *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, s489-495, Ankara.
- Saldamlı, İ., Uygun, Ü.** (2005). Gıda katkı maddeleri. Gıda kimyası, **Saldamlı, İ.** (Ed.), *Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları*, 487-522, Ankara.
- Sancak, Y.C., Ekici, K. ve İşleyici, Ö.** (2008). Fermente Türk sucuğu ve pastırmalarda kalıntı nitrat ve nitrit düzeyleri. *Yüzüncüyıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 19 (1), 41-45.
- Sarıkaya, R., Çakır, Ş. ve Solak, K.** (2006). Gıdalardaki koruyucu maddelerin *Drosophila melanogaster*'de (mwh x flr) ömür uzunluğuna etkisi. *Kastamonu Eğitim Dergisi*, 14 (1), 173-184.
- Sarıkaya, R., Selvi, M., Akkaya, N., Acar, M. ve Erkoç, F.** (2010). Farklı konsantrasyonlardaki gıda boyaalarının *Drosophila melanogaster* (mwh x flr)'de yaşama yüzdesi üzerine etkisi. *SDÜ Fen Dergisi*, 5 (1), 38-46.
- Sarıkaya, R., Solak, K.** (2003). Benzoik asit'in *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile genotoksisitesinin araştırılması. *GÜ Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 23 (3), 19-32.
- Sasaki, Y.F, Kawaquchi, S., Kamaya, A., Ohshita M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniquchi K. and Tsuda, S.** (2002). The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res*, 519 (1-2), 103-19.
- Savaş, N.** (2018). Avokado (*Persea americana*) ve oğulotu (*Melissa officinalis*) fonksiyonel besinlerinin, *Caenorhabditis elegans* termotoleransı üzerine etkilerinin incelenmesi. *Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 109s, Aydın.

- SCF (Scientific Committee for Food)**, (1995). Opinions of the scientific committee for food on: nitrates and nitrite. *Scientific Committee for Food Report*, 38, Brussels.
- Ségalat, L.** (2006). Drug discovery: here comes the worm. *ACS Chem Biol.*, 1 (5), 277-8.
- Sezer, Ç., Öğün, M. ve Güven, A.** (2013). Salam ve sosislerin bazı kimyasal özelliklerinin incelenmesi. *Kafkas Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, 19 (1), 69-72.
- Sertkaya, F.** (2008). Lokumlarda sentetik gıda boyalarının kalitatif ve kantitatif tayini ile farklı dozda gıda boyası verilen sıçanlarda antioksidanlardaki değişimin araştırılması. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi)*, 79s, Afyonkarahisar.
- Shaywitz, B.** (1997). Food colorings given following birth generate attention deficit disorder symptoms. *Neurobehavioral Toxicology*, 1, 41-47.
- Shearer, L.A., Goldsmith, J.R., Young, C., Kearns, O.A. and Tamplin, B.R.** (1972). Methemoglobin levels in infants, in an area with high nitrate water supply. *Am J Pub Health*, 62, 1174-1180.
- Sindelar, J.J., Milkowski, A.L.** (2011). Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: a review of curing and examining the risk/benefit of its use. *AMSA white paper series. Illinois, USA: American Meat Science Association*, 2-11.
- Singh, K.D., Zheng, X., Milstein, S., Keller, M., Roschitzki, B., Grossmann, J. and Hegartner, M.O.** (2017). Differential regulation of germ line apoptosis and germ cell differentiation by CPEB family members in *C. elegans*. *Plos One*, 12 (7), 1-20.
- Soyutemiz G.E., Özenir, A.** (1996). Bursa'da tüketilen sucuk, salam, sosis ve pastirmalardaki kalıntı nitrat ve nitrit miktarlarının saptanması. *Gıda*, 21 (6), 471-476.
- Spiegelhalder, B., Eisenbrand, G. and Preussmann, R.** (1976). Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: possible relevance to in vivo formation of N-nitroso compounds. *Food Cosmet Toxicol.*, 14, 545-548.
- Springer, W.** (2005). *Caenorhabditis elegans* as an experimental model organism to study parkinson's disease-related genes-functional analysis of parkin and  $\alpha$ -synuclein. *Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Fakultät Chemie und Pharmazie der Ludwig-Maximilians-Universität München*, 183s, New Mexico, USA.
- Surekha, M., Reddy, S.M.** (2000). Preservatives Classification and Properties. **Batt, C., Patel, P.D., Robinson, R.K.** (Ed.), *Encyclopedia of food microbiology 2.cilt Academic Press*, 1710-1717. India.
- Sutphin, G.L., Kaerberlein, M.** (2009). Measuring *Caenorhabditis elegans* life span on solid media. *J. Vis. Exp.*, 27, 1152.
- Şanlı, Y., Kaya, S.** (1998). Ankara piyasasında satılan bazı işlenmiş et ürünlerinin nitrit ve nitrat içerikleri üzerinde araştırmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 35 (1), 24-46.
- Tannenbaum, S.R.** (1976). Relative risk of nitrate and nitrite ingestion. *Proc. Meat Ind. Res. Conf.*, pp 25-33, Chicago.

- Tavernarakis, N., Driscoll, M.** (2002). Caloric restriction and lifespan: a role for protein turnover. *Mechanism of Ageing and Development*, 123, 215-229.
- Thomson, B., Swallow, B.** (2004). Nitrates and nitrites dietary exposure and risk assessment. a crown research institute. *Christchurch*, New Zealand. (<http://www.esr.cri.nz>). Erişim Tarihi: 11.02.2019.
- Trivedi, M.K., Branton, A., Trivedi, D., Nayak, G., Bairwa, K. and Jana, S.** (2015) Spectroscopic characterization of disodium hydrogen orthophosphate and sodium nitrate after biofield treatment. *J Chromatogr. Sep. Tech.*, 6 (5): 282.
- Turp, G.Y., Sucu, C.** (2016). Et ürünlerinde nitrat ve nitrit kullanımına potansiyel alternatif yöntemler. *CBÜ Fen Bil. Dergisi*, 12 (2), 231-242.
- Türker, S.** (2011). Gıda katkı maddelerinin gıdalardaki kullanım miktarları. *1.Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi Sözlü Bildiriler Kitabı*, 19-20 Kasım, 145-152, Ankara.
- Türkoğlu, ř., Benli, D. ve şahin, N.** (2015). The effects of five food dyes on the longevity of *Drosophila melanogaster*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24 (9), 2830-2836.
- Uçar, Y.** (2004). Ankara’da satışa sunulan yoğurtların benzoik asit içeriği üzerine bir araştırma. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 61s, Ankara.
- Url-1** <<http://www.gidaraporu.com>>, alındığı tarih: 12.05.2019.
- Url-2** <<http://www.makrokim.com>>, alındığı tarih: 14.05.2019.
- Url-3** <<http://www.molarkimya.com>>, alındığı tarih: 11.05.2019.
- Url-4** <<http://www.sodyum.gen.tr>>, alındığı tarih: 19.02.2019.
- Uysal, H., Semerdöken, S.** (2011). Sentetik gıda boyalarının *Drosophila melanogaster*’in Oregon R soyunda larval toksisite ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Kafkas Üniv. Fen Bil. Ens. Derg.*, 4 (1), 71-87.
- Ünal, İ., Ertam, İ.** (2008). Factors contributing to skin aging. *Türkiye Klinikleri J Cosm. Dermatol. Special Topics*, 1, 1-7.
- Ünlü, E.** (2010). Deri yaşlanmasında korunma ve tedavi yöntemleri. *Dermatoz*, 1 (1), 23- 31.
- Vincet, T., Behbehani, M.M.** (2001). Towards a rational understanding of migraine trigger factors. *Med. Clin. North Am.*, 85, 911-941.
- Vojdani A, Vojdani, C.** (2015). Immune reactivity to food coloring. *Altern Ther Health Med.*, 21 (1), 52-62.
- Wibbertmann, A., Kielhorn, J., Koennecker, G., Mangelsdorf, I. and Melber, C.** (2000). Benzoic acid and sodium benzoate. *Concise International Chemical Assessment Document 26*, 48 p.
- Wirth, F.** (1986). Curing: colour formation and colour retention in frankfurter-type sausages. *Fleischwirtschaft*, 66 (3), 354-358.
- WHO (World Health Organization)** (2000). Concise International Chemical Assessment Document 26s, Geneva.

- Yalçın, H., Can, Ö.P. ve Türkoğlu, M.** (2012). Mersin ilinde tüketime sunulan salam, sosis ve sucuklardaki kalıntı nitrat ve nitrit düzeylerinin belirlenmesi. *Gıda*, 37 (1), 33-37.
- Yang, J.S., Nam, H., Seo, M., Han, S.K., Choi, Y., Nam, H.G., Lee, S.J. and Kim, S.** (2011). OASIS: Online Application for the Survival Analysis of Lifespan Assays Performed in Aging Research. *PLoS One*, 6(8), e23525.
- Yaman, M.** (1996). Bazı gıda maddelerine katılan sentetik boyaların miktarlarının araştırılması. *Gazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı* (Doktora Tezi), 92s, Ankara.
- Yaralı, E.** (2014). Gıda katkı maddeleri. *Ders Notu*, 270s.
- Yentür, G., Bayhan, A.** (1990). Bazı gıda maddelerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının araştırılması. *Gıda*, 15 (2), 79-82.
- Yentür, G., Ekşi, A. ve Bayhan, A.** (1996). Ankara piyasasından sağlanan pasta süsleri ve bazı şekerlerde sentetik boya miktarının araştırılması. *Ankara Üni.Vet.Fak.Dergisi*, 43, 479-484.
- Yentür, G., Yaman, M. ve Bayhan, A.** (1998). Bazı gıda maddelerine katılan sentetik boyaların miktarlarının araştırılması. *Gıda*, 23 (3), 195-199.
- Yetük, G.** (2013). Gıda katkı maddesi sodyum benzoat'ın insan eritrositleri üzerinde invitro toksik etkisi ve kateşin ve kuersetinin koruyucu rolü. *Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 48s, Yozgat.
- Yıldız, A.** (2010). Diyarbakır'da satışa sunulan bazı gıda ürünlerinde benzoik asit ve sorbik asit tayini. *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 70s, Diyarbakır.
- Yıldız, F.** (2018). Temiz etiket ve gıda katkı maddeleri. *ODTÜ, Mogan Uluslararası Araştırma Merkezi*, s1-8, Ankara.
- Yılmaz, N.** (2007). Yapay tatlandırıcılar ve gıda sanayiinde kullanımları. *Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 65s, Bursa.
- Yılmaz, S.** (2008). Bazı gıda katkı maddelerinin genotoksik etkileri. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Doktora Tezi), 130s, Ankara.
- Yılmaz, S., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D.** (2009). The in vitro genotoxicity of benzoic acid in human peripheral blood lymphocytes. *Cytotechnology*, 60, 55-61.
- Yırtıcı, Ü.** (2007). Tartrazinin *Cyprinus carpio*'daki genotoksik etkisinin mikronükleus yöntemi ile araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 80s, Kayseri.
- Yörük, N.G., Danyer, E.** (2016). Gıda katkı maddeleri genel bilgiler ve tanımlar. *Türkiye Klinikleri J Food Hyg Technol, Special Topics*, 2 (2), 1-10.
- Yurdagül, M.** (2006). Gıda katkı maddeleri kullanımı hakkında geniş kapsamlı bir araştırma.  
(<http://www.afiyetle.com/index.php?id=16&mid=779&d=Gıda+Katkı+Maddeleri+Kullanımı+Hakkında+Geniş+Kapsamlı+Bir+Araştırma&func=makaleoku>).  
Erişim Tarihi: 09.07.2017

- Yurttagül, M., Ayaz, A.** (2008). Katkı maddeleri: yanlışlar ve doğrular. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, *Klasmat Matbaacılık*, s8-29, Ankara.
- Yurttagül, M., Yücecan, S. ve Ayaz, A.** (2005). ‘Öğrencilerin Dörtte Biri E-Kodlu Ürün Almıyor’. (<http://www.gidacilar.net>). Ankara.
- Yurttagün, M.** (2010). Gıda katkı maddeleriyle ilgili geniş kapsamlı bir araştırma. (<http://www.saglikvakfi.org.tr/html/gkm.asp>). Erişim Tarihi: 15.05.2019.
- Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N. ve Ünal, F.** (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *Gıda*, 39 (3), 179-186.
- Zarkover, D.** (2006). Somatic sex determination. *Wormbook*, 1-12.
- Zengin, N., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S. ve Aksoy, H.** (2011). The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 763-769.
- Zetterberg, L.A., Gunnar, I.N.** (2013). The synthetic food colouring agent allura red AC (E 129) is not genotoxic in a flow cytometry-based micronucleus assay in vivo. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 86-89.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : HANDAN SARAÇ  
Doğum Yeri - Tarihi : Sivas – 29/07/1987  
Medeni Durum : Evli  
İletişim Adresi : Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, SMYO,  
58140 Sivas  
Tel : (506) 381 66 62  
E-posta : handansarac@cumhuriyet.edu.tr



### Eğitim Bilgileri

**Doktora** : Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Biyoloji bölümü (2014 – 2019)  
**Yüksek Lisans** : Cumhuriyet Üniversitesi, Biyoloji bölümü (2010 – 2013)  
**Lisans** : Cumhuriyet Üniversitesi, Biyoloji bölümü (2006 – 2010)  
**Lise** : Kongre Lisesi (Süper Lise Bölümü) (2001 – 2005)

### İş Denevimi

Şubat – Devam : **Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sivas MYO**  
2016 Ediyor : Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü Organik Tarım Programı  
**Öğretim Görevlisi**

### Bilgisayar Bilgisi

İşletim Sistemleri : Windows,  
Paket Programlar : Microsoft Office Programları

### Yabancı Dil

YDS : 70.00