

1. GİRİŞ

İnsanlar ilkel çağlarda beslenmelerini doğal yollardan sağlamalarına karşın daha sonraları, gıdalarını toplu olarak üretmeye başlamışlardır. Hazır gıda ürünleri, bu gıdalarda kullanılan kimyasal katkı maddeleri ve modern yaşam tarzının getirdiği beslenme alışkanlıkları sebebiyle sağlıklı beslenme zorlaşmaktadır. Teknolojik gelişmelerin getirdiği üretim biçimleri bu alanda büyük kolaylıklara yol açarken bu tekniklerin sağlık üzerine olan zararlı etkileri zaman içerisinde kendini göstermeye başlamıştır.

Vücudumuzu oluşturan hücrelerin düzenli ve dengeli çalışması için besin öğelerinden yani yağlar, karbonhidratlar, proteinler, vitaminler ve minerallerden yeterli miktarda alınmalıdır. Besin öğeleri içinde karbonhidratlar önemli bir grubu oluşturmaktadır. Vücudun temel enerji kaynağı olan karbonhidratlar kişinin günlük enerji gereksiniminin % 55'ini oluşturur. Karbon, hidrojen ve oksijenden oluşan bu bileşikler yiyeceklerde daha çok şeker ve nişasta biçiminde bulunur. Örneğin üzüm şekeri deneni glikoz en basit karbonhidratlardan, yumrulu bitkilerin köklerinde depolanan nişasta ise en karmaşık karbonhidratlardan biridir. Karbonhidratça zengin yiyeceklerin yapısında genellikle glikozdan daha karmaşık şekerler ve nişastalar bulunur (İnternet kaynağı 2).

Gıda maddeleri kimyasal bileşimleri ve doğal yapıları açısından incelendiğinde, insan beslenmesi bakımından çok yararlı bileşimlerde olmalarına karşın, değişik etkenlerle kısa sürede bozulabilecek karakterde oldukları görülür. Herhangi bir nedenle fiziksel bir yapıda oluşacak en ufak bir değişiklik dahi kısa sürede tat, koku ve görünüşte belirginleşen bozulmalar ve nihayet insanlar için tüketimleri sakınca yaratan maddeleri içeren bir bileşime dönüşmelerine yol açabilmektedir. Bununla birlikte bu sakıncalı değişim uygun bir işleme tekniği yanında belirli niteliklerin kazandırılmasını amaçlayan katkı maddelerinin kullanımı ve kalite kontrol hizmetlerinin etkinlikle yürütülmesi sayesinde belirli bir düzeyde tutulabilmektedir (Metin 1984).

Gıdaların üretiminden tüketimine kadar geçen sürede bozulmalarını önlemek, lezzet ve kalitenin devamını sağlamak, görünümünü daha güzelleştirmek veya teknoloji gereği

uygulanan işlemler sırasında gıda maddesinin kaybolan niteliklerinin tekrar kazandırılması amacıyla üretim esnasında çeşitli gıda katkı maddeleri kullanılmaktadır (Saldamlı 1985).

Yirminci yüzyılın başlarında, o zamana kadar her hangi bir kurala bağlı olmadan kullanılan gıda katkı maddeleri ve gıda boyaları üzerinde tartışmalar başlamış ve ilk önce ABD’de 1920 yılından itibaren belirli kurallar konmuştur. Bugün için dünyada, tüm ülkeler için referans teşkil edebilecek araştırmaların çoğu Amerikan Gıda ve İlaç Yönetimi (Food & Drug Administration) ile Dünya Sağlık Örgütü’nün (World Health Organization) bir yan kuruluşu olan Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (International Agency for Research on Cancer) tarafından organize edilmektedir (Furia 1975). Ayrıca WHO ile Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu’nun (Food & Agricultural Organization of the United Nations) birlikte oluşturdukları gıda katkı maddeleri uzmanlar komitesi (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) bu alanda; özellikle gıda katkı maddelerinin toksikolojik yönden araştırmalarını gerçekleştirmekte ve sonuçları yayınlamaktadır (Larsson 1987).

Yapılan çalışmaların sonuçları doğrultusunda her ülke kendisi için gıda katkıları ve bu bağlamda boyalar ile ilgili kanun ve tüzükler hazırlamış olup, sınırları içindeki üretimlerde bunlara uyma zorunluluğu getirmiştir. Bugün için bu yasal zorunluluk ulusal düzeyi aşmış uluslararası ticarete de bir kontrol kriteri haline gelmiştir (Anon. 1997).

Ülkemizde de gıdaların boyanmasında kullanımına izin verilen boya maddeleri ve miktarları Sağlık Bakanlığı tarafından belirlenmektedir. Bu amaçla gıda katkı maddeleri yönetmeliği hazırlanmıştır. Türkiye de besinlere katılan boyalar üzerindeki araştırmalar milletlerarası standartlara uygun olarak yapılmıştır.

Bu çalışmada Afyonkarahisar piyasasında satışa sunulan lokumlarda sentetik gıda boyalarının kalitatif ve kantitatif tayini ile farklı dozlarda gıda boyası verilen sıçanlarda antioksidanlardaki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Beslenme

Beslenme; büyüme, gelişme, sağlıklı ve verimli olarak uzun süre yaşamak için gerekli olan enerjiyi ve besin öğelerinin her birini yeterli miktarda sağlayacak olan besinleri, besleyici değerini yitirmeden, sağlığı bozucu duruma getirmeden en ekonomik şekilde almak ve vücutta kullanmaktır (Yücecan 1999).

Besin öğeleri gıdalar içinde değişik miktarda ve nitelikte bulunmaktadır, gıdalar içinde besin öğeleri yanında besleyici etkisi olmayan, ancak beslenme işlevi için gerekli diğer öğeler de bulunur. Gıdalar içinde ayrıca insanlar ve canlılar için yararlı olmayan, hatta zararlı olabilen öğeler de bulunabilir. Bazı doğal toksinlerin ve gıdalara katılan veya katılmış olan çeşitli maddelerinde besleyici değeri yoktur (Köksal 2001).

Sağlıklı beslenme biçiminde hedef, organizmanın besin öğeleri gereksinimlerini yeterli ve dengeli bir şekilde karşılamaktır. Bu gereksinim karşılanmadığında yetersiz ve dengesiz beslenme sorunu ve bozuklukları oluşacaktır. Beslenme yetersizliği ve dengesizliği bazı hastalıkların oluşmasında doğrudan, bazılarında ise dolaylı nedendir. Pelegra, beriberi, skorbüt, raşitizm, marasmus, guatr doğrudan yetersiz beslenme nedeni iken enfeksiyon hastalıkları, aterosklerotik hastalıklar, diyabet, hipertansiyon, obezite, diş çürümleri, karaciğer hastalıkları, sinir sistemi dengesizlikleri, sıkıntı, yorgunluk ve vücut biyokimyasında değişiklik dolaylı olarak yetersiz veya dengesiz beslenme sonucunda görülmektedir (Baysal 1990).

Günümüzde gelişmekte olan ülkelerde protein-enerji yetersizliği hastalıkları, anemi, raşitizm, A ve bazı B vitaminleri yetersizliklerine bağlı sağlık bozuklukları yüksek sıklıkta görülmektedir. Bu hastalıkların nedenlerinin başında diyetlerin miktar ve kalite yönünden yetersiz oluşu ve bilgisizlik gelmektedir. Demir kaynağı besinlerin özellikle et ve ürünlerini yeterince tüketilmemesi, besinlerin hazırlanması, pişirilmesi, saklanması ve tüketiminde yapılan hatalar, çocuk ve kadın nüfusundaki anemi sorununun başlıca nedenidir. Gelişmekte olan ülkelerde vücudun enerji gereksiniminin

ortalama % 93'ü karşılanırken, bu oran gelişmiş ülkeler için % 117 bulunmuştur ve neticede obezite gelişmiş ülkeler için önemli bir sağlık sorunu olmuştur. Mekanize yaşam koşulları nedeni ile fast food sistemine geçiş daha yüksek oranda yağ, kolesterol, tuz tüketimine ve düşük posa, vitamin ve mineral alımına neden olmuştur (Baysal 1990).

Sağlıklı bir yaşam sürdürmek için doğru beslenme vazgeçilmez bir temeldir. Diyetteki yağın miktarı ve türü aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklarla ilintilidir. Özellikle diyetle doymuş yağın artması, antioksidanların yetersizliği, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörüdür. Diyetin yağ içeriğinin yüksekliği özellikle kolon prostat ve meme kanseri riskini arttırmaktadır. Yüksek yağlı diyet, obezite için de önemli risk faktörüdür. Bunun için diyetle yağdan gelen enerjinin % 25–30 arası tutulması tavsiye edilir. Diyetle kompleks karbonhidratlar, kuru baklagiller, sebze ve meyvelerin yüksek olması koroner kalp hastalığı ve bazı kanser türleri için koruyucu faktör olarak kabul edilmektedir. Aynı şekilde kompleks karbonhidratları çok içeren diyetle beslenen toplumlarda insüline bağımlı olmayan diyabetin görülme sıklığı düşüktür. Bitkisel besinlerden zengin yüksek posalı diyet koroner kalp hastalıkları, kolon kanseri, diyabet, divertikül, hipertansiyon, vitamin yetmezliği ve safra kesesinde taş oluşum riskini azaltmaktadır (Baysal 1990).

2.2 Gıda Katkı Maddeleri

2.2.1 Gıda Katkı Maddelerinin Tarihçesi

M.Ö. 50 yıllarında Eski Romalılar tarafından sağlanan baharatların İngiltere’de aroma verici olarak kullanıldığı bilinmektedir. 3500 yıl önce Mısırlılar gıda katkısı olarak ‘renk maddeleri’ kullanmışlar ve ‘Khand’ adı verilen boyanmış şeker ilk kez Büyük İskender’e Hindistan’dan Avrupa’ya döndüğünde hediye olarak sunulmuştur (Furia 1980).

Monosodyum glutamatın gıdalarda kullanılması, eski çağlarda doğu yemeklerine ilave edilmesiyle başlamıştır. Halen dünyanın birçok ülkesinde fermentasyon işlemi ile elde edilmektedir (Bayhan 1989).

Romalılar ve eski Mısırlılar şarap kaplarının dezenfeksiyonunda SO₂'i kullanmışlar. SO₂ içeren kaplara elma suyunun konması en azından 1064 tarihinde başlamıştır. Sülfidlerin gıda katkı maddesi olarak kullanılmaları daha sonraki tarihlerde başlamıştır. Sülfid ajanları ilk olarak şarap ve bira da, daha sonra kurutulmuş sebze ve meyvelerde kullanılmaya başlanmıştır. İlk kez, gıda katkı maddesi olarak ABD patenti ile 1886 yılında tuz ve kalsiyum fosfat karışımı bir preparat üretilmiş ve çeşni maddesi olarak ticari işlem görmüştür. WHO teşkilatı 1956 yılında 40 ülkeyi kapsayan ve 114 yapay renk maddesi ile 50 doğal renk maddesini içeren listeleri yayınlarak kullanımlarına izin vermiş ve uygulamaya koymuştur. Resmi belgelere göre 1965 yılında ABD'de yaklaşık 300 000 ton gıda katkı maddesi kullanılmıştır (Saldamlı 1985).

Gıda katkı maddelerinin geçirdiği evrimin bu kısa kronolojik örneklerinden de anlaşılacağı gibi birçok tarihi olayın altında, gıda katkı maddesinin özleri bulunmaktadır. Toplumların bilinçsiz ve teknolojiden uzak oldukları dönemde bile gıdaları uzun süre saklamak, tat ve görünümlelerini daha çekici hale getirmek amacıyla bugünkü deyişle gıda katkı maddeleri bir isteme bağı olarak kullanılmıştır (Saldamlı 1985).

2.2.2 Gıda Katkı Maddelerinin Tanımı

Gıda katkı maddeleri Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinde şöyle tanımlanmaktadır: Tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıda ham ya da yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereği kullanılan, işlem veya imalat sırasında kalıntı veya türevleri mamul maddede bulunabilen, gıdanın üretilmesi, tasnifi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak ve düzeltmek amacıyla kullanılan maddelerdir (Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği).

2.2.3 Gıda Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması

Tanımdan da anlaşılacağı gibi gıda katkı maddeleri kullanım amaçlarına göre 4 grupta toplanabilir.

2.2.3.1. Kaliteyi koruyarak raf ömrünü uzatanlar (Koruyucular)

Antimikrobiyaller (nitrit, nitrat, benzoik asit, propionik asit, sorbik asit)

Antioksidanlar (BHA, BHT, Gallatlar)

2.2.3.2. Yapıyı ve hazırlama, pişme özelliğini geliştirenler

pH ayarlayıcılar

Topaklanmayı önleyenler (silikat, magnezyum oksit, magnezyum karbonat)

Emülsifiyerler (lesitin, mono ve digliseritler)

Stabilizörler, kıvam arttırıcılar, tatlandırıcılar

Mayalanmayı sağlayıcı ajanlar

Nem ayarlayıcılar

Olgunlaştırıcılar

Ağartıcılar, dolgu maddeleri, köpük ayarlayıcılar, parlaticılar

2.2.3.3. Aromayı ve rengi geliştiriciler

Çeşni arttırıcılar (MSG)

Çeşni vericiler (aroma maddeleri)

Renklendiriciler (tartrazin, indigotin)

2.2.3.4. Besin değerini koruyucu, geliştiriciler

İşleme sırasında kaybolan besin öğelerini yerine koyma (B1, B2, niasin)

Diyette eksik olabilecek besin öğelerini ekleme (Yurttagül 1991).

Gıda katkı maddelerinin kullanımı ile ilgili 2 görüş vardır (Brown 1997).

1) Bir katkı maddesi herhangi bir dozda kansere neden oluyorsa, katkı maddesi olarak besine katılmamalıdır (Brown 1997).

2) Katkı maddeleri laboratuvar hayvanlarında yüksek dozda, kansere neden olabilirler ancak uygun miktarlarda kullanıldıklarında emniyetlidirler (Brown 1997).

Besinlere katılacak gıda katkı maddelerinin miktarlarının belirlenmesi besinlere katılacak katkı maddesinin maksimum miktarlarının belirlenmesi için katkı maddesinin ADI (Acceptable Daily Intake); günlük alınabilecek miktarının bilinmesi gereklidir. Katkı maddesinin ADI değeri toksikolojik testlerle saptanır. Deney hayvanlarına öldürücü dozda (lethal doz = LD50: deney hayvanlarının % 50'sinin ölümüne neden olan doz) katkı maddesi verilir. Daha sonra doz tedrici olarak azaltılarak doz-cevap ilişkisi araştırılır. Her dozda; katkı maddesinin Emilimi, metabolizması ve atımı incelenir. Deney hayvanlarının hücre, doku ve organları incelenerek, karsinojenik, mutajenik, teratojenik ve allerjik etkileri araştırılır. Bu çalışmalarda çeşitli disiplinler görev alır (Gürcan 1993, Renwiek 1995).

Bunlar,

Kimya: Katkı maddesinin analizi

Biyokimya: Katkı maddesinin metabolizması

Hematoloji: Kan bulguları

Bakteriyoloji: Mutajenik testler

Veteriner patoloji: Klinik ve histolojik incelemeler, otopsi

Farmakoloji: Katkı maddesinin organ işlevleri üzerine etkileri

İmmünoloji: Allerjik etkiler

İstatistik: Verilerin analizi ile ilgili çalışmaları yapar

Çalışmalar sonunda katkı maddesinin hiçbir etkisinin bulunmadığı bir doz elde edilemezse katkı maddesinin besinlere katılmasına izin verilmez. Şayet deney hayvanına hiçbir zıt etki göstermeyen bir doz elde edilirse, bu doz "etkisiz doz" veya

NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) olarak tanımlanır. NOAEL dozu ile deney hayvanlarının yaşam süresinin % 85'ini kapsayacak sürede deneye devam edilir. Ancak bu doz deney hayvanının vücut ağırlığının kilogramı başına mg olarak saptanmış bir dozdur ve insandaki etkileri bilinmemektedir. Deney insanlar üzerinde de etik nedenlerle yapılamayacağından, güvenlik faktörü kullanılır. Güvenlik faktörü genellikle 100'dür. Yani deney hayvanında hiçbir etki göstermeyen dozun 1/100'ü insan için kabul edilir. (ADI = NOAEL / 100). Böylece günlük alınabilecek miktar (ADI) insanın vücut ağırlığının kilogramı başına mg olarak belirlenir. Günlük maksimum alım = ADI x Vücut ağırlığı şeklinde saptanır (Gürcan 1993, Renwiek 1995).

JECFA ve FD&C' ye göre kabul edilen ADI değerleri her gıda boyasına göre aşağıda verilmiştir (Renwiek 1995).

Sunset yellow	0-2.5 mg/kg	vücut ağırlıkça/gün
Carmoisine	0-1.25 mg/kg	vücut ağırlıkça/gün
Kinolin sarısı	0-10 mg/kg	vücut ağırlıkça/gün
İndigo carmin	0-5 mg/kg	vücut ağırlıkça/gün
Tartazine	0-7.5 mg/kg	vücut ağırlıkça/gün
Brillant 4RC	0-4 mg/kg	vücut ağırlıkça/gün
Eritrosin	0-2.5 mg/kg	vücut ağırlıkça/gün
Amarant	0-0.75 mg/kg	vücut ağırlıkça/gün
Patent blue	0-5 mg/kg	vücut ağırlıkça/gündür.

2.2.4 INS (International Numbering System) ve E Kodu

Her gıda katkı maddelerinin uluslar arası kabul görmüş bir numarası vardır. Örneğin 621: Monosodyum glutamat (MSG), 102: Tartrazin gibi. Avrupa Ekonomik Topluluğu'nda kullanımına izin verilen katkı maddelerine "European" kelimesinin baş harfi olan E kodu verilmiştir. E621: MSG, E102: Tartrazin gibi. Aroma maddelerine E kodu ve numara verilmemiştir. Çünkü bu grup çok geniştir. Yaklaşık olarak 340 GKM varken, aroma maddelerinin sayısı 1700 civarındadır (Thomas 1988). E100–200 arasındaki numaralandırmada gıda katkı maddelerinden gıda boyaları bulunmaktadır.

2.2.5 Gıda Katkı Maddelerinin Fonksiyonları

2.2.5.1 Koruyucular

Besinleri bakteri, küf, maya bozulmalarında korumak, raf ömrünü uzatmak, doğal renk ve aromayı korumak amacıyla kullanılan bu maddelerin en çok tartışılanları nitrit ve nitratlar (E250, E251)'dir. Kansere neden olan nitrozaminleri oluştururlar. Kanın oksijen taşıma yeteneğini azaltırlar (Yurttagül 1991). Buna karşın bazı araştırmacılar nitritin et endüstrisinden katkı maddesi olarak çıkarılmasını olanaksız olarak görmektedirler. Eğer et ürünlerinde nitrit kullanılması yasaklanırsa pek çok et ürününün piyasadan kalkacağı; dolayısıyla hayvan üreticisinin, et teknolojisinin, insan beslenmesinin ve genel ekonominin önemli ölçüde zarara uğrayacağını savunmaktadırlar (Gökalp 1985).

Astım, deri döküntüleri, hiperaktiviteye neden olabilen bir diğer koruyucu katkı maddesi benzoik asit (E210)'tir (Adams 1992, Yurttagül 1991). Yapılan bir çalışmada Ankara piyasasından sağlanan meyve sularında Benzoik asit miktarının izin verilen değeri aştığı saptanmıştır (Yentür 1990). Astımlı hastalarda astım atakları başlatabilen bir diğer koruyucu katkı maddesi SO₂ (E220)'dir. İnsanların SO₂'ye karşı tepkisi kişiden kişiye farklılık göstermektedir. Bazı kişiler günde 4g (50 mg/kg)'a herhangi bir tepki göstermezken, bazılarında çok daha düşük dozlarda baş mide bulantısı ve diare görülebilmektedir (Carbaroğlu1993).

Sülfidler asırlardır kullanıldığı halde, son 20–25 yılda astımlı olan veya olmayan kişilerde allerjik reaksiyonlara neden olabilecekleri dikkati çekmiştir. 1980'li yıllarda en az 12 kişinin ölümüne neden olacak kadar ciddi allerjik reaksiyonlara yol açtığı saptanmıştır (Jacopson 1991). Pek çok ülkede izin verilen miktarlar oldukça azaltılmış (ABD'de 10 ppm) olup, GRAS listesinden çıkarılmıştır (Saldamlı 1998). Her ne kadar genel popülasyonda sülfid sensitivitesi bilinmiyorsa da astımlı olmayanlarda nadirdir. Astımlılarda sülfid duyarlılığının % 3.9 olduğu, steroid bağımlı astımlılarda ise % 8.4 olduğu tahmin edilmektedir (Adams 1992).

2.2.5.2 Yapıyı ve Hazırlama, Pişme Özelliğini Geliştirenler

Asitliği düzenleyiciler besinin pH'sını ayarlamak için kullanılırlar. Bunlar pH'yı düşürerek besinde bakteriosidal ve bakteriostatik etki de gösterebilirler. Artmış asidite birçok patojenik ve besini bozan mikroorganizmanın ısıya duyarlılığını arttırır. Pişirme ve diğer ısı uygulaması bakteriyi yok eder. Artmış asidite, mikroorganizmaların üremesini inhibe ederek bazı besinlerin raf ömrünü uzatır. Topaklanmayı önleyici maddeler tuz, pudra şekeri, süt tozu gibi toz halindeki karışımların akabilme özelliğini korumak, topaklanmayı, bir araya toplanmayı önlemek için kullanılır. Emilgatörler yüzey gerilimini azaltarak su ve yağın birbirine karışması ve homojen bir dağılma sağlanması için kullanılırlar. Stabilizörler ise bunların yeniden ayrılmasını önlemek amacıyla kullanılırlar (Briggs 1997).

2.2.5.3 Çeşni arttırıcılar

En çok kullanılan çeşni verici madde monosodyum glutamat (MSG) tır. Tat reseptör fizyolojisi ile ilgili çalışmalar 5. temel tadın varlığını ortaya koymuştur. Bu MSG tarafından oluşturulan ve 'umami' denen tattır. MSG'in Çin Restoranı Sendromu'na neden olabileceği ancak bu sendromun % 3'ten fazla MSG konsantrasyonundan sonra çok az sayıdaki kişide oluşabileceği belirtilmektedir. Ayrıca Çin Restoranı Sendromu belirtileri ile (uyuşma, fasial basınç, baş dönmesi, baş ağrısı, terleme, bulantı, kusma, çarpıntı, boyun ve sırt ağrısı, flashing) plazma glutamat düzeyleri ilişkilendirilememiştir. MSG, günde 2 gramın altında Na alması gereken kişiler tarafından kullanılmalıdır. Na içeriği NaCl'den daha azdır. Bir gram tuzda 400 mg Na bulunurken, 1 gram MSG'da ~150 mg Na vardır. Aroma arttırıcılar aromayı daha cazip hale getirmek, orijinal aromayı korumak veya düzeltmek, arttırmak amacıyla kullanılır (Briggs1997).

2.2.5.4 Renklendiriciler

İşleme ve depolama sırasında kaybolan doğal rengi yeniden kazandırmak, zayıf olan rengi kuvvetlendirmek, gerçekte renksiz olan besine renk vermek, düşük kaliteyi

gizleyerek tüketici beğenisi kazanmak amacıyla katılırlar (Topsoy 1991). Toksik ve karsinojenik olarak değerlendirilen renklendiricilerin kullanımı yasaklanmıştır. Geriye kalan renklendiricilere ilişkin sağlık sorunları duyarlı kişilerde genellikle allerjik reaksiyonlar ve deri döküntüleri, astım ve hiperaktivitedir (Adams 1992).

2.2.6 Gıda Boyaları

İnsanlar yeryüzünde bir renk harmonisi içinde yaşarlar. Çevrelerinde aşına oldukları renkleri görmeyi beklerler ve tersi bir durum söz konusu olursa bir eksikliğin olduğu imajı doğar. Bu durum gıda maddeleri içinde aynıdır. Tüketiciler gıdanın rengine bakarak onun kalitesi hakkında fikir verirler. Gıdalarda alışık oldukları temel hammaddenin rengini görmek isterler. Duyusal yöntemlerle kalite değerlendirilmesinde renk mutlak bir önyargı oluşturur ve lezzet duygumuzu etkiler (Velioglu 1987).



Resim 2.1 Gıda Boyası

Rengin lezzete etkisine yumurtalı keklerle yapılan bir çalışma örnek verilebilir. Aynı bileşimde ve aynı yöntemle yapılan dört keke değişik niceliklerde yapay yumurta boyası katıldığında eğitilmiş panelistler sarısı daha fazla olan iki kekin lezzetini tercih etmişlerdir (Biron 1972). Buna benzer ilginç bir örnekte Walford tarafından verilmiştir. Eğitilmiş panelistlere çikolata lezzeti katılmış beyaz bir dondurma ile vanilya lezzeti katılmış kahverengi dondurmalar sunulup lezzetini belirlemeleri istendiğinde beyaz renklinin vanilyalı, kahverengi olanın ise çikolatalı olduğuna karar vermişlerdir (Walford 1980).

Boya katkı maddeleri gıdaların görünüşünü değiştiren, düzelten maddelerdir. Teknoloji gereği yapılan işlemler sırasında ürünün orjinal rengi kaybolmuş olabilir, işlendiği hammaddeden gelen bir takım renk farklılıkları gözlenebilir, depolama sırasında bir takım renk kayıpları olabilir. Bu gibi sorunların önüne geçmek, ürünün görünüşünü düzenlemek, daha parlak ve çekici renkler elde etmek amacı ile boya katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bunun için boya katkıları gıda endüstrisinin vazgeçilmez öğeleridir (Anon. 1986).

2.2.6.1 Gıda Boya Katkı Maddelerinin Tarihçesi

18. ve 19. yüzyıllarda gıda üreticileri bilinçsizce kalitesiz ve bozulmuş gıdaları satmak için boya maddelerinin değerini istismar etmişlerdir. Örneğin 1820 yılında Frederick Accum Londra’da A treatise on adulterations of food and Culinary Poison isimli kitabında turşuların yeşil renginin bakırsülfatla, şekerlemelerin rengarenk görünümünün bakır ve kurşun tuzlarıyla verildiğini açıklamıştır. Ayrıca çalı yapraklarının kurutulup zehirli bakır pası ile boyanıp Çin çayı olarak, kullanılmış çay yapraklarının da kurşun veya diğer kimyasal maddelerle siyaha boyanarak taze çay olarak satıldığını belirtmiştir. Ancak Accum’un kitabı o dönemlerde İngiliz halkı arasında çok az tepki yaratmış ve bu hilekâr çalışmalar uzun yıllar devam ederek pek çok insanın ölümüne neden olmuştur (Anon. 1986).

1856 yılında Sir William Heny Perkins İngiltere’de ilk sentetik boyayı icad etmiştir. Perkins ‘anilin purple’ adı verilen boya maddesinin sentezi ile ilgili çalışmalar yapmış ve pek çok sayıdaki yapay boyalar üzerinde yürütölen çalışmalara öncölük etmiş ve sentetik boya endüstrisinin doğuşuna yol açmıştır (Newsome 1986).

1900 lerde 80 kadar boya maddesi Birleşik Amerika’da renklendirme amacıyla kullanılmaya başlamıştı (Velioğlu 1987). O zamanlar bu boya maddelerinin hiç biri için saflaştırma ve düzenleme yapılmamıştır. Bu maddeler ve kumaş boyaları şekerlemelerde kullanılmıştır. İlk kanun 1906 yılında gıdalara katılacak boya maddeleri için yapılmış ve 7 tane boya maddesinin kullanımına izin verilmiştir.

Bunlar sırasıyla:

- Amaranth
- Erythrosine, Ponceau 3R
- İndigotin, Naphtol yellow
- Light green, Orange 1 maddeleridir (Furia 1980).

Daha sonraki dönemlerde yasanın kapsamında çeşitli ve gerekli değişmeler yapılmış ve eldeki listelere yeni boya maddeleri ilave edilmiştir. Bu arada konuyla ilgili fizyolojik ve farmakolojik çalışmalar yoğunlaşmış sonuç olarak da sertifika sistemi ortaya çıkmıştır (Furia 1975).

1906 yılındaki ilk yasanın yerini 1983 yılında kabul edilen ‘Gıda Maddeleri İlaç ve Kozmetik Yasası’ almış ve sertifika verilmiş olan boya maddeleri artırılmıştır. 1938 ile 1950 yılları arasında gıda maddelerinde kullanılan boya maddelerinden dolayı arzu edilmeyen olaylar olmuştur. Bu olaylar şekerlemelerde ve patlamış mısırlarda boya maddelerinin fazla kullanılması sonucu ortaya çıkmış ve bu boya maddeleri çocuklarda diareye neden olmuştur (Furia 1975).

Bu arada ABD’de FDA (Food and Drug Administration) adı verilen bir kurul oluşturulmuştur. FD&C boyalarının güvenilirliğinin sağlanması ile ilgili farmakolojik çalışmalar 1957 yılında FDA tarafından başlatılmıştır. 12 Haziran 1960 yılında boya katkıları 2 bölümden oluşan yasa haline getirilmiştir. Buna göre 1. madde kalıcı kısım, 2. madde geçici kısım olarak belirlenmiştir. Ayrıca sertifikalı ve sertifikasız boya maddeleri adı altında iki ana grupta toplanan boya maddelerinin gıdalarda kullanılma miktarlarına göre zararlı ve zararsız olduğu limitler saptanarak gıda endüstrisinde kullanılan boya katkılarına ikinci bir kısıtlama getirilmiştir (Furia 1975).

Bu çalışmaların sonunda tüketiciler için kullanılmasında sakınca görülmeyen boya maddeleri listelenmiştir. 1963–1970 yılları arasında gıda boyaları hakkındaki çalışmalara FAO/WHO’ya bağlı olan bir uzman komite katılmış ve FD&C grubundaki boyalar için ADI (günlük alınması gereken miktar) belirlenmiştir. 1970 yılının sonlarında FD&C grubuna dahil boyaların kanunları düzenlenmiştir (Furia 1975).

Günümüzde boya katkılarından FDA kurallarına göre sadece 9 tane sertifikalı FD&C renkleri ve 7 tane FD&C lakelerinin gıda endüstrisinde kullanımına izin verilmiştir. Çizelge 2.1’de kalıcı ve geçici olmak üzere tiplerine göre sertifika verilmiş boyaların listesi görülmektedir (Newsome 1986).

Çizelge 2.1 Kalıcı ve geçici olarak sertifika verilmiş sentetik boya katkıları

Kalıcı Liste	Geçici Liste
FD&C Red No.3	FD&C Yellow No.6
FD&C Blue No.2	FD&C Yellow No.6 Lake
FD&C Yellow No.5	FD&C Red No.3 Lake
FD&C Gren No.3	FD&C Blue No.1 Lake
FD&C Blue No.1	FD&C Blue No.2 Lake
FD&C Red No.4	FD&C Green No.3 Lake
FD&C Red No.40 Lake	FD&C Yellow No.5 Lake
Orange B	
Citrus Red No.2	

2.2.6.2 Gıda Boya Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması

Gıda maddelerine katılan boyaların, sistematik olarak sınıflandırılması birçok bakımlardan faydalı görülmüştür. Böylece sınıflandırmada yer alan bir boya maddesinin herkes tarafından aynı şekilde anlaşılması imkan dahiline girmiş olacaktır. Gerçekten literatürde ve bazı kuruluşların yazılarında boyaların belirli sistem altında sınıflandırıldığı görülmektedir. Ancak bu sınıflandırma birbirinden farklı da olmaktadır. Bunların içinden FAO ve WHO’nun sınıflandırılması en yaygın olanıdır. Codex’te FAO’nun sınıflandırılması esas alınmıştır (Baysal 1990).

- 1) Boyaların köklerine göre sınıflandırılması
- 2) Boyaların toksikolojik değerlendirilmelerine göre sınıflandırılması
- 3) Kimyasal sınıflandırma

2.2.6.2.1 Gıda Boyalarının Köklerine Göre Sınıflandırılması

Doğal Organik Boyalar

Çok eski zamanlardan beri kullanılmakta olan bu boyalar çeşitli bitkilerin tozlarından, hayvan ve mineral kaynaklardan elde edilen ekstraktlardır (Hicks 1978). Bu boya katkıları FDA tarafından sertifikalı boya maddeleri listesinden çıkarılarak öncelikli ve sürekli kullanılma olasılığı olan maddeler listesine aktarılmıştır (Walford 1980). Ancak boya katkıları kanunun sadece sentetik boyalarda değil doğal pigmentlerden elde edilen boyaları da kapsamı arzu edilmektedir (Neyer 1975).

Doğal olarak oluşan boya maddelerinden gıdalarda kullanılanlardan en önemli olanları safran, roko boyası, havaciva, klorofil, karamel, zerdaçal, sumak, kırmızı kök boyası, karoten ve karotenoidler (Elhatip 1974). Doğal boyalar ısıya ve ışığa karşı çok duyarlıdır.

Sentetik Organik Boyalar

Bu boya maddeleri sertifikalı olup, hepsi yapay kaynaklı olup, iki tiptir. Bunlar;

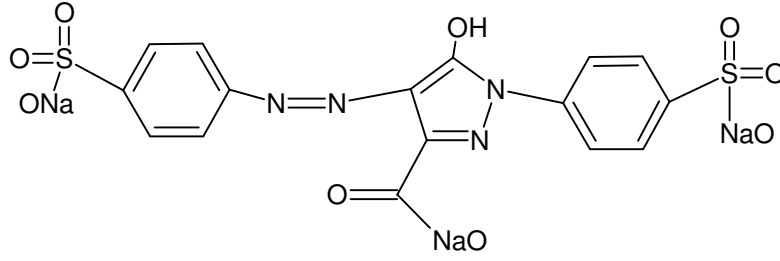
FD&C Boyalar

FD&C Lake Boyalar (Furia 1975).

FD&C Boyaları 4 grupta sınıflandırılabilir. Bunlar;

Azo Boyalar

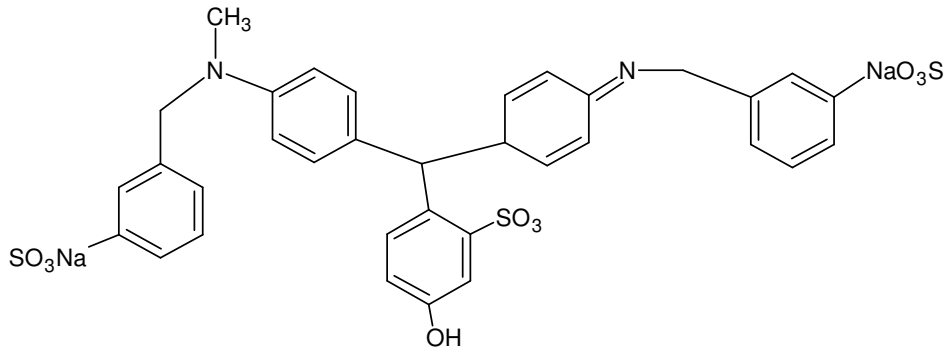
Azo boyaların önemli özelliği iki yada daha fazla aromatik halkayı birleştiren ve meydana gelen konjuge sistemin bir parçasını oluşturan kromoforazo grubudur(-N=N-). Azo boyaları diazolaştırılan aromatik aminin başka bir amin fenol yada naftolle kenetlenmesinden elde edilir. Bunlardan en az bir sülfü grubu içerenlere asidik azo boyar maddeleri, bazik amin veya dialkil amin grubu içerenlere ise bazik azo boyar maddeleri denir. Amino azo-benzen (anilin sarısı) ilk keşfedilen bazik, α ve β naftol oranj ise asidik azo boyar maddeleridir (Noonan 1980).



Şekil 2.1 Tartrazin

Trifenilmetan Boyaları

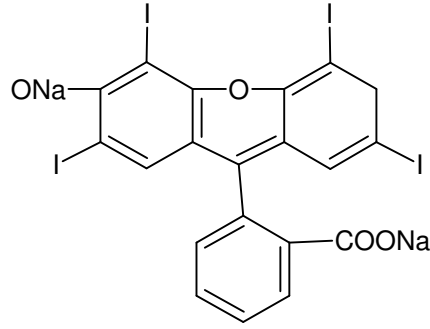
Karbon atomuna bağlanmış iki benzen halkası ve bir p-kinoit grubunun bağlanmasıyla meydana gelmiştir (Noonan 1980).



Şekil 2.2 Green

Fluoressein Tipi Boyalar

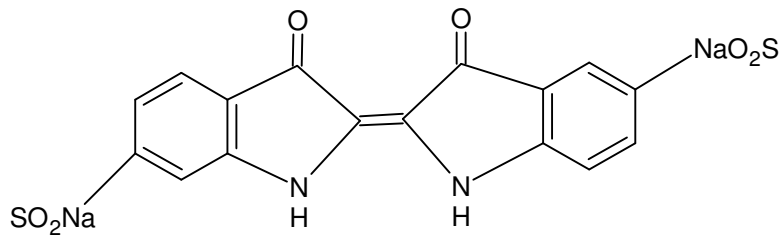
Fitalik asit ile resorsinin ısıtılması sonunda elde edilmektedirler. Bu grup boyar maddeler kırmızı kahverengi arasında değişen renklere sahiptirler (Noonan 1980).



Şekil 2.3 Red 3

Sülfolanmış İndigo Boyalar

Bunlar temelde indigodan türeyen bileşiklerdir. İndigo doğal olarak renksiz bitki glikoziti halinde oluşur. Bu glikozite indisan denir. Hidrolizlenirse glikoz ve indoksili verir. İndoksil açık havada yükseltgenerek indigoya dönüşür. İndigo boyaları konjuge dikarbonil grupları taşırlar (Noonan 1980).



Şekil 2.4 Blue 2

İndigo boyaları, ışığa, yıkamaya, baz ve asitlere karşı dayanıklı olup, mavi renkli boyar maddelerin en önemli grubunu oluştururlar (Saldamlı 1985).

FD&C boyaların sınıflandırılması ve yapıları Çizelge 2.2’de gösterilmiştir (Furia 1975).

Çizelge 2.2 Sertifikalı FD&C boyaların sınıflandırılması

Azo Boyaları	FD&C Red No.2
	FD&C Yellow No.5
	FD&C Yellow No.6
	FD&C Red No.4
	FD&C Red No.40
	Orenge B
Trifenilmetan Boyalar	FD&C Blue No.1
	FD&C Green No.3
	FD&C Violet No.1
Floressein Tipi Boyalar	FD&C Red No.3
Sülfolanmış İndigo Boyalar	FD&C Blue No.2

FD&C boyalarının çözünürlük ve kararlılık olmak üzere iki önemli özelliği vardır. Bu gruptaki boyalar suda çözüldüğü halde organik çözücülerde zor çözünürler. Çözünürlükleri çok yüksek olduğu için gıda sanayinde kullanımları çok kolaydır ve sorun çıkartmamaktadır. Bu grup içinde sadece FD&C Blue No. 2 ayrıcalıklı bir boyadır. Susuz ortamlar göz önüne alındığında gliserin ve propilen glikol çözücü olarak kullanılmaktadır. Genellikle boya maddeleri gliserinde propilen glikolden daha fazla çözünebilmektedir (Furia 1980).

Gıda endüstrisinde kullanılan FD&C boyalarının çözünürlüğü ile ilgili değerler Çizelge 2.3’de gösterilmiştir. Bu bileşikler genellikle değişik formlarda bulunurlar. Örneğin toz, granül, sıvı, sulandırılmış, macunsu gibi. Bu nedenle kullanılacak olan boya katkı maddesinin bulunduğu durum kullanılma hacim ve miktarını etkileyeceğinden, kullanımlarında boyanın formu dikkat edilmesi gereken önemli bir noktadır (Furia 1980).

Çizelge 2.3 FD&C Boyalarının çözücülerde gösterdikleri çözünürlükler (Furia 1980)

Boyalar	Su (21°C)	Gliserin	Propilen Glikol	Alkol
Red 2	134.82	161.04	11.24	Hafif
Red 3	119.84	230.32	217.21	18.73
Red 4	71.15	39.32	11.24	Hafif
Yellow 5	131.08	209.72	89.88	Hafif
Yellow 6	172.27	108.61	18.73	Hafif
Blue 1	187.25	280.88	396.97	14.18
Blue 2	11.24	3.75	Eser	Hafif
Green 3	172.27	108.61	108.61	3.75
Red 40	209.72	29.96	14.98	Hafif
Violet 1	187.25	205.98	138.57	0.94

Bu boya maddelerinin gıda endüstrisinde kullanımları sırasında doğan avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.4 Boyaların kullanımları sırasında doğan avantaj ve dezavantajlar (Furia 1980)

Boyanın Formu	Saf Boya %	Avantaj	Dezavantaj
Toz boyalar	88-93	Kuru karışımlar için elverişli	Tozlu
Taneli boyalar	88-93	Tozsuz	Çözünmesi yavaş
Kuru-yaş karışımı boyalar	90	Kuru karışımda yayılmaz	Yok
Sulandırılmış boyalar	1-6	İşlemede kolaylık sağlar	Pahalı
Kırıklı karışım boyalar	22-85	Hassas tartımı yapılabilir	Pahalı
Sulandırılmamış boyalar	1-8	Yağlı ürünlerde kullanılır	Çok pahalı
Macun boyalar	4-10	Nem içerikli ürünlerde	Pahalı

Sertifikalı boya kullanıldıkları gıdalarda stabil bir özellik göstermektedir. Sentetik boyalardan diğeri olan FD&C lake boyaları ise 1959 yılında sertifikalı gıda boyaları olarak kabul edilmiştir. Bunlar alüminyum hidroksit türevlerini ve bunun uzantılarını içeren bileşiklerdir. % 10–40 arasında saf boya içerirler. Lake boyalarının gıda endüstrisinde kullanımına izin verilmeden önce bu boyaların çözünmeyenleri nişasta, selüloz, un gibi maddelere emdirilerek kullanılmaktaydı. Ancak bu yöntemle boyama gücü düştüğünden bu uygulama imalatta sakınca yaratmaktadır (Saldamlı 1985).

Yapıları nedeniyle lake boyalar, susuz ve su kullanımı mümkün olmayan boyamalarda kullanıma uygundur. Yağ orijinli gıdaların boyanmasında genellikle FD&C lake yani pigment boyaları kullanılmaktadır. Lake boyaları pH 3.5-9.5 arasında stabil bir yapıya sahiptirler (Saldamlı 1985).

FD&C boyaları ve lakeler gıdalara renk katkı maddesi olarak katılmakla birlikte bu iki tip arasında fiziksel farklılıklar vardır. Bu farklılıklar Çizelge 2.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.5 Sertifikalı boyalar ile lake boyalar arasındaki farklılıklar (Furia 1975)

Özellikler	Lake boyalar	Boyalar
Çözünürlük	Çözücülerin hiç birinde çözünmez	Suda, propilen glikol, gliserinde çözünür.
Renk verme şekli	Dispersiyon yolu ile	Çözünerek
Saf boya miktarı	% 10-40 dolaylarında	% 90-93
Kullanılma oranı	% 0.1-0.3	% 0.01-0.03
Partikül büyüklüğü	Ortalama 5 mikron	12-200 mesh
Işığa dayanıklılık	Daha iyi	İyi
Isıya dayanıklılık	Daha iyi	İyi
Renk verme gücü	Saf boya miktarı ile orantılı olmaksızın	Doğrudan saf boya miktarı ile ilişkili olarak
Renk tonu	Saf boya miktarına göre değişken	Sabit

Anorganik Boyalar

Gıda maddelerine gıda boyası olarak katılan ve organik olmayan bileşikler bu grup içinde yer almaktadır. Bu boya maddelerinin bir kaçı şunlardır:

Iron Oxides (demir oksitleri) : Sarı, kahverengi ve siyah, kırmızı renkler için.

Titanyum dioxide: Beyaz renkler için.

Ultramarineler: Mavi, yeşil, kırmızı renkler için.

Karbon siyahı (Demirer 1987).

2.2.6.2.2 Gıda Boyalarının Toksikolojik Değerlendirmeye Göre Sınıflandırılması

Boya katkı maddelerinin sağlıkla ilişkisi ve özellikle toksikolojik özellikleri FAO ve WHO laboratuvarlarında incelenmektedir. Bu incelemelerin bazıları sona ermiş, bazıları devam etmektedir. Buna göre incelemelerin sona erip ermediği esasına dayanarak toksikolojik bir sınıflandırma yapmak mümkündür (Gherorghiev 1987).

A Sınıfı: Halen gıdalarda kullanılmasına izin verilen boya maddeleri bu sınıf altında toplanmıştır. Bu boya maddelerinin günlük alınabilecek en yüksek dozları saptanmıştır. Ancak bu gruptaki boyaların üreme ve fetüs üzerine yapmış olduğu etkiler henüz tam manası ile açıklığa kavuşmamıştır.

B Sınıfı: Bu sınıftaki maddeler hakkında, A sınıfındaki boyalar kadar derinlemesine araştırma yapılmamış olduğundan, ayrı bir sınıf altında toplanmıştır.

C I. Sınıfı: Bu sınıf boyalar için elde olunan değerler, henüz onların kullanılmasına yeterli değildir ve uzun süreli toksikolojik araştırmaları gerekmektedir.

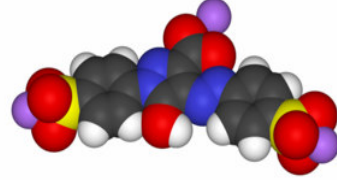
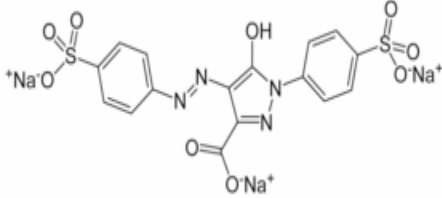
C II. Sınıfı: Bu sınıftaki boyalar hakkında bilgiler yetersiz olup, henüz uzun süreli toksikolojik denemeleri yapılamamıştır. Ancak yapılan uzun süreli testlere göre tümör teşkili yapabilen ve dolayısıyla vücutta hasara sebep olan boyalar bu sınıfa dahil edilmiştir.

D Sınıfı: Herhangi bir toksikolojik etkisi bulunup bulunmadığına ait elde edilen bilgileri güvenilir olmayan boya maddeleri bu sınıfa alınmıştır.

E Sınıfı: Tehlikeli etkileri görülen ve gıda maddelerine katılmasına müsaade edilmeyen boya maddeleri bu sınıfa alınmıştır (Gherorghiev 1987).

2.2.6.3 Araştırmada Tespit Edilen Sentetik Gıda Boyalarının Spesifikasyonları

2.2.6.3.1 Tartrazin



Diğer isimleri: FD&C Yellow No.5, Hydrazine Yellow, Tartarazine

Kod numaraları: E 102, CI 19140, CI Food Yellow 4.

Molekül ağırlığı: 534.37

Sınıfı: Sentetik azo boyası

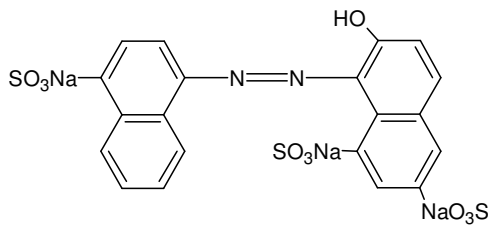
Rengi: Açık portakal sarı

Fonksiyonel kullanımı: Gıda renklendiricisi

Çözünürlüğü: Suda kolay erir. % 95'lik alkolde erime kabiliyeti oldukça azdır.

ADI: JECFA 0 – 7.5 mg / kg vücut ağırlığı / gün (Larsson 1987).

2.2.6.3.2 Ponceau 4R



Diğer isimleri: Cochineal Red A, CI Food Red 7, New Coccine, Brillant Scarlet 4R

Kod numaraları: E 124, CI 16255, CI Food Red 7.

Molekül ağırlığı: 604.48

Sınıfı: Sentetik azo boyası

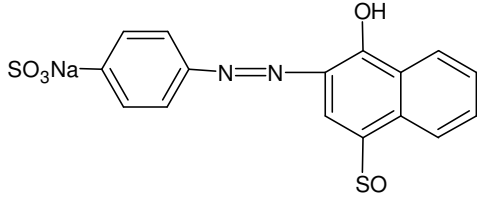
Rengi: Kırmızı

Fonksiyonel kullanımı: Gıda renklendiricisi

Çözünürlüğü: Suda kolay erir.

ADI: JECFA 0 – 4 mg / kg vücut ağırlığı / gün (Larsson 1987).

2.2.6.3.3 Carmosine



Diğer isimleri: CI Acid Red 14, Rood Red 3 CI No.14720

Kod Numaraları: CI (1975) No. 14720, CI (1975) Food Red 3, Schultz (1931) No.

208 EEC No. E122

Molekül ağırlığı: 502.44

Sınıfı: Monoazo

Rengi: Kırmızı

Fonksiyonel kullanımı: Gıda renklendiricisi

Çözünürlüğü: Suda çözünür (FAO 1994).

2.3 Lokum

Lokum, su, şeker, nişasta kullanılarak yapılan bir Türk tatlısıdır. Lokum doğal ve sağlıklı bir besin kaynağı olup, pek çok yararının olduğu bilinmektedir. Örneğin, proteinli besinler, kullanıldıktan sonra vücutta yakılır ve bunun sonucu üre, ürik asit ve kreatinin gibi atık maddeleri açığa çıkar. Bu maddeler böbrek hastalarında idrarla vücuttan atılamaz ve kanda yükselir. Sade lokum karbonhidrat kaynağı olduğundan, böbrek hastalarınca devamlı tüketilmesi önerilmektedir. Ayrıca, yerelde lokumun hala yara ve çibana tedavi amaçlı sarıldığı da bilinmektedir (İnternet kaynağı 3).



Resim 2.2 Gıda boyası kullanılmış lokumlar

2.3.1 Lokumun Tarihçesi

Osmanlıca rahat ul-hulküm yani boğaz rahatlatan kelimesinden türeyen lokum, yaklaşık 15. yüzyıldan beri Anadolu'da bilinmekle birlikte, özellikle 17. yüzyılda Osmanlı İmparatorluğu sınırları içinde yaygınlaştı. Avrupa'da ise bir İngiliz gezgin aracılığıyla 'Turkish Delight' adıyla 18. yüzyılda tanınmaya başlandı. Daha önceleri bal ya da pekmez ve un bileşimi ile yapılan lokumun 17. yüzyılda 'Kelle şekeri' olarak bilinen rafine şeker ile özellikle nişastanın bulunup ülkeye getirilmesi sayesinde hem yapımı, hem de lezzeti değişmiştir (İnternet kaynağı 3).

2.3.2 Lokum Üretimi

Genel olarak işletmelerde, lokum yapımında şöyle bir yol izlenmektedir. Önce, şeker çözünebileceği kadar su ile birlikte kaynatma kazanına konulup, karıştırılarak ısıtılır. Bu arada sitrik asitte bir başka kaptaki bir miktar suda çözündürülür. Kullanılacak suyun geri kalan kısmında ise nişasta süspansiyone hale getirilir. Sonra nişasta süspansiyonu ve asit de şeker çözeltisine katılarak karışım karıştırılarak kaynatılır. Kitle belirli bir kıvamda erişince (kazandan alınıp soğutulmuş bir miktar örnek parmaklar arasında yuvarlanıp parmaklar açıldığında örnek iki parmağa birden yapışıp uzamadığı, şeklini koruyarak parmaklardan birinde kaldığı zaman) ateşten indirilip nişastalı tahta tablalara dökülür. 12–24 saat tablalarda bekletilip dinlendirilir. Sonra üzerine hindistan cevizi ya da pudra şekeri ve nişasta karışımı dökülerek, mermer tezgahlar üzerinde, istenen büyüklük ve şekilde kesilip pudra şekeri ya da hindistan cevizine bulanarak ambalajlanır (İnternet kaynağı 4).

2.4 Gıda Boyalarının Metabolizması

Vücuda alınan boya maddesi barsakta, asit, sindirim enzimleri ve barsak florasının etkisi altında kalmaktadır. Azo maddelerinin türevleri polar ve nonpolar olan aromatik bileşiklerdir. Azo redüktaza karaciğer ve barsak florasında rastlanmaktadır. Parenteral verildiğinde indirgenmeden safra ve idrarda görülmesine karşın, ağızdan verildiğinde amin ürünleri olarak görünmekte, absorbe edilmekte, metabolize olmakta, aynı şekilde atılmaktadır. Bu yolla ortaya çıkan diğer bir grup sulfonik asit, absorbe edilir ve idrarda

serbest asit N-asetil türevleri halinde atılır. Tartrazin ağız yolu ile alındığında, sülfonilik açığa çıkar, fakat serbest halde boya idrar veya feçesle atılmaz. Araştırmacıların yaptığı çalışmalara göre bazı suda çözünür azo boyalarının büyük bir çoğunluğu safra ile atılmaktadır (Aksoy 1984, Chung 1992, Golberg 1967).

Bazı çalışmalar sonunda azo boyalarının etkilerinin barsaklarda bakteriyal flora yardımı ile meydana geldiği ileri sürülmüştür. Başka bir çalışmada sulphanilic halkasının, insanlar ve ratlarda hiperaktivite geliştirdiği ve çinko metabolizmasını da hızlandırdığı ileri sürülmüştür (Collins 1992).

A.B.D.'de yapılan bir çalışmada suda çözünebilir azo boyalarının barsak bakterileriyle azalmadığı rapor edilmiştir (Anderton 1988).

2.5 Gıda Boyalarının Toksik Etkileri

Pek çok ülkede gıdalarda kullanılan gıda katkı maddelerine yönelik yoğun bir ilgi ortaya çıkmıştır (Thorley 1984). İnsanların gıda boyası ile karşılaşması uzun yıllar öncesine dayanmaktadır. O zamanlarda doğal boyalar kullanılırken, 1856'da W.H. Perkin'in siyah anilin boyasını bulması, yeni bir sentetik boya endüstrisinin doğuşuna yol açmıştır. Böylece ticari olarak üretilen sentetik boyalar, doğal boyaların yerine kullanılmaya başlamıştır. Sentetik boyaların gıdalarda kullanılmasının uygunluğu ve emniyeti hakkında sorular ortaya çıkmış ve bazılarının kullanılması engellenmiş veya sadece uygun olanın kullanılmasına izin verilmiştir (Newsome 1986, Crosby 1981). 1857'de yiyeceklerde katılan karışımlarla ilgili araştırmalarda tatlıların kromat, civa, sülfat, kurşun oksit, bakır arsenitle, şekerlemelerin ise elbise boya ile boyandığı bulunmuştur (Furia 1980).

Yapılan çalışmalarda, bazı gıda katkılarının ve salisilatların hiperaktivite, öğrenme bozukluğu gibi davranış bozukluklarına neden olduğu ortaya konmuştur (Lewis 1984, Pollock 1980).

Önceden toksikolojik deneyler ölçüt alınırken, tereyağlarında kullanılan bir boyanın sığanlarda karaciğer kanserine neden olduğu ortaya çıkınca, boyaların kanserojen özellikleri üzerine araştırmalara başlanmıştır (Demirer 1974).

Deney hayvanları üzerindeki araştırmalarda yüksek dozlarda sentetik boyaların karaciğer, böbrek hasarına sebep olduğu gözlenmiş ve karaciğer hasarının uzun süreli denemelerde karaciğer tümör oluşumuna dönüştüğü grlmştir (Golberg 1967).

2.6 Oksidan ve Antioksidan Sistem

Yaşamın sürekliliğinin sağlanması, hareket, iř yapabilme ve büyüme gibi bütün fizyolojik olaylar, enerji tarafından sağlanır. Tüm diğer aerobik canlılar gibi, yaşamak için oksijene ihtiyaç duyan insanlar da, enerji gereksinimini, oksidatif metabolizma yani aerobik metabolizma tarafından kontrol edilen reaksiyonlar sonucu elde eder. Aerobik metabolizma, karbon ve hidrojen içeren metabolitlerin, karbondioksit ve suya tamamen yükseltgenmesini kapsar (Montgomery 1996). Oksijen, oksidatif metabolizma sırasında enerji eldesi için suya indirgenirken çok az bir kısmı da “serbest radikaller” adı verilen, elektronlarını kaybetmiş zararlı maddelere dönüşür. Serbest radikaller, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapabilir veya onlarla birleşebilirler. Böylece diğer molekülerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir, hatta pek çok dokuda hücre hasarı meydana getirebilirler (Porter 1998). Serbest radikaller, organizmada, diğer metabolik yolların işleyişi sırasında da oluşabilmekte veya çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de meydana gelebilmektedir (Aruoma 1991). Birçok hastalığın oluşması ve patolojik durumun ortaya çıkmasında serbest radikallerin rolü vardır (Southorn 1998). Bunun yanı sıra, bu molekleri yakalayıp etkisiz hale getiren, “antioksidan” adı verilen maddeler bulunur. Antioksidanlar, bu molekülerin doku savaşlarında etkisiz hale gelmesini sağlayabilirler. Normal koşullarda vücut, doğal antioksidan sistemleriyle serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Vücudun antioksidan savunması ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik sonucu, hücrelerin lipit tabakası peroksidasyona uğrayarak, oksidatif stres diye adlandırılan hücre hasarları meydana gelir (Cochrane 1991). Çevreden ve besinlerle, oksidan etkili zararlı maddelerin vücuda alınmasının yanı sıra, yaşın ilerlemesiyle ortaya çıkan azalan enzim aktivitesine bağlı olarak da vücudun antioksidan savunma mekanizması yetersiz kalabilmektedir. Neyse ki, antioksidan görevleri olan çeşitli vitaminler, mineraller ve belirli enzimlerin dışarıdan vücuda alınabilmesi yanında, beslenme de iyi bir antioksidan savunma aracı olabilmektedir (Dorgan ve ark. 1998).

2.6.1 Oksidan Moleküllerin Hücresel Kaynakları

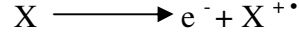
Genel olarak oksidan moleküllerin üretildiği yerler mitokondriler, sitozol, peroksizomlar olarak sıralanabilir (Tetik 2005). Plazma membranındaki lipid peroksidasyonu, hücrelerdeki bazı bileşiklerin otooksidasyonu, oksijen konsantrasyonunun yükselmesi ve birçok enzimin katalitik siklusları sırasında, aktive olmuş fagositlerin bakterisidal rolleri sonucu oksidan moleküller açığa çıkmaktadırlar (Akkuş 1995, Wood and Simith 1991).

2.6.2 Oksidan Moleküllerin Biyolojik Kaynakları

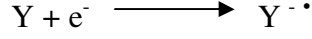
Uyuşturucu ve alkol gibi alışkanlık yapan maddeler, antineoplastik ajanlar, stres (Akkuş 1995), hava kirliliği, kimyasallar, paraquat gibi pestisitler, demir kurşun gibi metaller, antibiyotikler ve iyonize edici radyasyon başlıca eksojen radikal kaynaklarıdır (Onat 2002, Wood and Simith 1991).

2.7 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Canlı hücrelerin yapıtaşlarını oluşturan moleküllerin atomları, kovalent bağlarla birbirine bağlıdır. Bu tip bağlar paralel olmayan yörüngelere sahip iki komşu atomun arasındaki elektronun ortaklaşa kullanılmasına dayanmaktadır. Yeterli bir enerji kaynağı ile (radian ısı veya çoğu kez kimyasal etkiler) bu bağ kopabilir (Akkuş 1995). Bu tip bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, kimyasal reaktiviteleri yüksek molekül veya atomlar “serbest radikal” olarak adlandırılırlar (Cheeseman and Slater 1993). Radikal, eşleşmemiş elektronun atomik ya da moleküler orbitali kendi başına işgal etmesidir. Sembolün üzerine bir nokta konur, bu serbest radikal türlerine özgü bir işarettir (Murray 1990). Serbest radikaller genelde üç temel mekanizma ile oluşmaktadır. Bunlar, bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yarılması, molekülü oluşturan atomlardan birinin elektron kaybetmesi ve bir molekülün yapısına tek bir elektron eklenmesi olarak sıralanabilir (Onat ve ark. 2002). Serbest radikaller, canlı organizmalarda birçok kimyasal reaksiyonda kullanılan metabolitlerdendir. Vücutta olağan serbest radikal oranının değişmesi sonucunda oksidatif stres meydana gelmektedir. Radikaller; radikal olmayan atom veya molekülden bir elektron kaybıyla oluşabilir;



Diğer bir mekanizma ise radikal olmayan atom veya molekülün bir elektron kazanması ile serbest radikal oluşur;



Oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres; diabet, alzheimer, böbrek yetmezliği gibi birçok patolojik durumda (Dalle-Donne ve ark. 2003), hatta yaşlılıkta (Onat vd. 2002) ve alkol, radyasyon gibi biyolojik kaynaklı oksidan maddelere yoğun bir şekilde maruz kalma sonucunda da ortaya çıkmaktadır. Serbest radikaller insanlarda elliden fazla hastalığın patolojisi ile ilişkilendirilmektedir.

2.7.1 Serbest Oksijen Türleri (ROS)

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen (O_2), elektron alıcısı olarak, aerob organizmaların yaşamı için gerekli bir maddedir. Memeliler hücrelerindeki ATP üretiminin büyük bir kısmını mitokondrial elektron transport sisteminde, oksijenin dört elektronunun su (H_2O) oluşturmak üzere indirgenmesiyle elde ederler (Akkuş 1995). Fakat bu süreçte oksijenin % 1-3'ü tam olarak suya dönüşemez ve ara ürün olarak serbest oksijen radikalleri ve bunların da çeşitli reaksiyonları ile reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelir (Cheeseman and Slater 1993). Reaktif oksijen türleri Çizelge 2.6'de (Onat ve ark. 2002) gösterilmiştir.

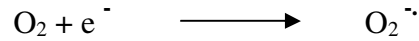
Hücre içinde reaktif oksijen radikallerinin oluşumu en fazla mitokondrilerde gözlenir. Başlıca radikal kaynağı mitokondri membranındaki elektron transport zinciri olsa da nötrofiller, monositler ve makrofajlar, ROS üretimi bakımından yüksek aktiviteye sahip hücrelerdir (Witko and Sarsat 2000).

Çizelge 2.6 Reaktif oksijen türleri

Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)		Hidrojen peroksit	(H_2O_2)
Hidroksil radikali (HO^{\cdot})		Lipit hidroperoksit	($LOOH$)
Peroksil radikali (ROO^{\cdot})		Hipohalöz asit	(HOX)
Alkoksil radikali (RO^{\cdot})		N-Halojenli aminler	($R-NH-X$)
Semikinon radikali (HQ^{\cdot})		Singlet oksijen	(1O_2)
Organik radikaller (R^{\cdot})		Ozon	(O_3)
Organik peroksit radikali ($RCOO^{\cdot}$)		Azot dioksit	(NO_2)
Nitrik oksid radikali (NO^{\cdot})		Hipokloröz asit	($HOCl$)
Hemoproteine bağlı radikaller		Peroksinitrit	($ONOO^{\cdot}$)

2.7.1.1 Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

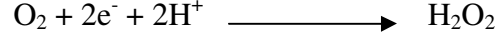
Soluduğumuz oksijen iki radikalli, iki tek elektron içeren ve çok stabil olan bir moleküldür, bir dış enerji kaynağı sayesinde bir elektron kazanmakla serbest elektronlarından birisini negatif yük elde ederek çift konuma getirebilir (Deby and Pincemail 1998). Bu molekül süperoksit anyonudur ($O_2^{\cdot-}$).



Yalnızca bir eşleşmemiş elektronlu süperoksit, $O_2^{\cdot-}$ 'in isminin süper olmasına rağmen kendisinden daha az radikaldir. Sitoplazmadaki $O_2^{\cdot-}$ 'nin başlıca kaynağı endoplazmik retikulumdaki sitokrom P450 sistemidir (Grisham and Mc Cord 2000).

Basit ancak spontan olarak, reaktif bir radikal olan süperoksit anyonu organik moleküllerin çeşitli yıkım reaksiyonlarında rol oynayabilir. Süperoksit anyonu genellikle zararlı oksidatif bir faktör olarak kabul edilmesine rağmen, aslında direkt olarak sadece nükleofilik özelliklerine dayanarak etki yapar ve aktivitesi sadece proton (H^+) bulunmayan ortamlarda ortaya çıkar (Grisham and Mc Cord 2000). Böyle ortamlarla iki fosfolipidik kattan oluşan hücre membranında karşılaşmak mümkündür.

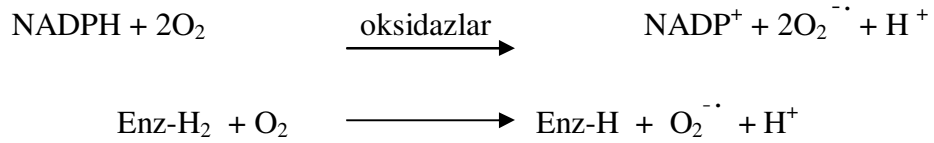
Burada $O_2^{\cdot -}$, deesterifikasyon ile fosfolipit moleküllerinin yağ asitlerini serbestleştirmek suratiyle fosfolipoproteinli yapının stabilitesini bozar. Ama proton içeren ortamlarda $O_2^{\cdot -}$ molekülünün ömrü kısadır, $O_2^{\cdot -}$ molekülü tekrar O_2 molekülü olabilmek için kendi elektronunu başka bir süperoksit anyona transfer eder. Böylelikle, O_2 molekülü ve hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülü oluşmaktadır (Porter 1998).



Genellikle, $O_2^{\cdot -}$ molekülünün, fazla toksik olamadığı ancak daha reaktif oksijen kökenli metabolitler için prekürsör olduğu kanısı mevcuttur (Southorn and Powis 1998).

Elektron verici rolü olan süperoksit anyonu, diğer oksidan moleküllerin de kaynağıdır. Özellikle sulu ortamlarda hızlı bir şekilde süperoksit dismutazın katalizlediği bir reaksiyonla hidrojenperoksit ve oksijene dönüşmektedir. Reaktivitesi yüksek oksidanlar, hidrojenperoksit ve süperoksitten üretilmektedir. Bunlar süperoksitin konjuge asiti hidroperoksil radikali (HO_2^{\cdot}), hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ve hidrokloriddir (OCl). Aynı zamanda bu reaktif ajanlar etkili mikrobisid (mikroorganizma) niteliği taşımaktadırlar (Bhagavan 2002).

Fagositoz için gerekli enerjinin karşılanabilmesi amacıyla oksijen tüketimindeki artışa 'respiratory burst' veya solunum patlaması denmektedir. Bu olay sırasında kullanılan oksidazlar oksijenden bir elektron indirgeyerek ve NADPH'ı kullanarak süperoksit anyonunu oluşturmaktadır.

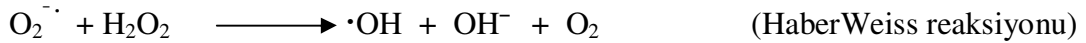
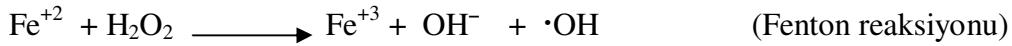


Süperoksit, solunum zincirinde yukarıdaki reaksiyonda görüldüğü gibi moleküler oksijenle olan ünivalan oksidasyonlarda, stokrom oksidaz ve enzim benzeri diğer proteinlerin, moleküler oksijenle indirgenmesi sonucunda da oluşmaktadır (Menteş ve Ersöz 1993).

Son araştırmalar ek hücresele faktörü p40^{phox} ve küçük bir G proteinin (roc), süperoksit üretim sisteminin aktivasyonunun içinde bulunduğunu göstermektedir (Bhagavan 2002).

2.7.1.2 Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojenperoksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri arasına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek (Haber-Weiss reaksiyonu) en reaktif oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Haber-Weiss reaksiyonu katalizör varlığında da yokluğunda da oluşabilmektedir. Ancak, katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Demirle katalizlenen ikinci reaksiyon ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe⁺³) süperoksit tarafından ferro demire (Fe⁺²) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak 'Fenton reaksiyonu' ile hidrojenperoksitten $\cdot\text{OH}$ ve OH^- üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekildedir.



Biyolojik sistemlerde en çok süperoksitin dismutasyon reaksiyonu sonucunda oluşan hidrojenperoksit, urat oksidaz, glikoz oksidaz, D-amino oksidaz, monoamino oksidaz gibi enzimlerin iki elektronu oksijene transfer etmesi ile de üretilebilmektedir. Yine metabolizmada ksantin oksidazla katalizlenen reaksiyonlarda elektronlar, H₂O₂ oluşumu ile transfer edilebilmektedir (Gutteridge 1995).

Kovalent yapıdaki H₂O₂, geçiş metallerinin yokluğunda diğer radikallere göre kararlı, zayıf indirgen ve zayıf oksidan özelliği taşımaktadır. Uzun ömürlü bir metabolit olan H₂O₂ kolaylıkla suya karışır ve su molekülü gibi davranarak hızla hücre membranından difüze edilebilir. H₂O₂'in redoks özellikleri ve demir gibi geçiş metal iyonlarının varlığında yüksek reaktiviteli serbest radikal oluşturabilme yeteneği, ona karşı vücudun savunma geliştirmesini gerektirmektedir. İstenmeyen H₂O₂, katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksidaz enzimleri ile hücrelerden uzaklaştırılabilmektedir (Gutteridge 1995).

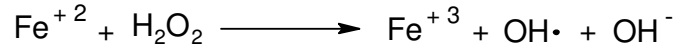
Zehirli maddeler olan H₂O₂'ler, aynı zamanda hücrenin hemoproteini olan hidroperoksidaz tiplerince (peroksidaz ve katalaz tarafından), hayvansal hücrelerde halojen bileşiklerinin halojen iyonlarını aktif hale geçirmek amacıyla kullanılmaktadırlar. Bu sayede iyot iyonunun aktivasyonu sağlanarak iyotlu tiroid hormonları oluşturulmaktadır. Aynı mekanizma lökositlere, içlerine aldıkları yabancı cisimleri tahrip ve mikroorganizmaları ise öldürme yeteneği kazandırmaktadır.

2.7.1.3 Hidroksil Radikali (•OH)

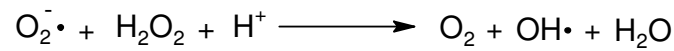
Hidroksil radikali bilinen en reaktif radikaldir. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve karbonhidratların birçoğu ile reaksiyona girebilirler (Memişoğulları 2005).

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilebilen hidroksil radikali canlılarda dört mekanizma ile oluşabilir;

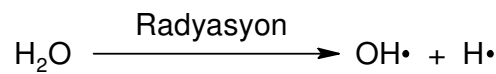
1) *Fenton Reaksiyonu*: Hidrojen peroksit, Fe⁺² ve diğer geçiş metalleri varlığında indirgenerek OH[•] radikalini oluşturabilir (Gutteridge 1995).



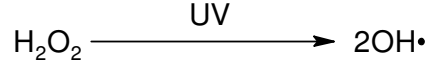
2) *Haber-Weiss Reaksiyonu*: Hidrojen peroksit, O₂^{-•} radikali ile demir ve bakır katalizörlüğünde reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturabilir (Young vd. 2001).



3) *Suyun Yüksek Enerjili İyonize Radyasyona Maruz Kalmasıyla*: Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve iki radikal oluşur (Gutteridge 1995).



4) *Hidrojen Peroksitin UV Işığına Maruz Kalmasıyla:* H₂O₂'nin UV ışığı altında kalması ile iki tane hidroksil radikali oluşur (Akkuş 1995).



Her tür biyolojik molekül OH[•] radikalinin bir hedefi ise de, özellikle elektronca zengin bileşikler seçilen tercihli hedeflerdir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidlerde başlatılan radikalik tepkimelerde binlerce farklı ara ürünler oluşabilir. DNA ile tepkimesi sonucu baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilir; ileri derecedeki DNA hasarları tamir edilemediğinden hücre ölümüne neden olur. Proteinler üzerinde oluşan oksidasyonlar yapı değişimine neden olacağından, proteinler proteolitik yıkıma götürülür. Hücre zarı su içermediğinden OH[•] radikalinin başlıca hedefi yağ asitleridir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp yine hücre ölümüne neden olabilir (Kılınç ve ark. 2002).

2.7.1.4 Singlet Oksijen (¹O₂)

Enerji verilmek suretiyle meydana gelebilen oksijenin oldukça reaktif şekli singlet oksijen (O₂↑↓) olarak bilinmektedir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROS'ları arasında yer alan O₂↑↓ serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu tespit edilmiştir (Grisham and Mc Cord 2000).

Özellikle myelositlerde hipoklorit (OCl⁻) ya da süperoksit ayrışmasından dolayı meydana gelebilen ve serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olan singlet oksijen, tüm canlılar ve mikro organizmalar için öldürücüdür. Bu etkisinin rastladığı tüm kimyasal maddelere çift bağlarla bağlanması sonucu olduğu kabul edilmekte olan (Yenson 1995) singlet oksijenin süperoksit anyonu ile hidroksil radikali arasındaki reaksiyon sonucu nasıl meydana geldiği aşağıda gösterilmiştir (Baron 1996).

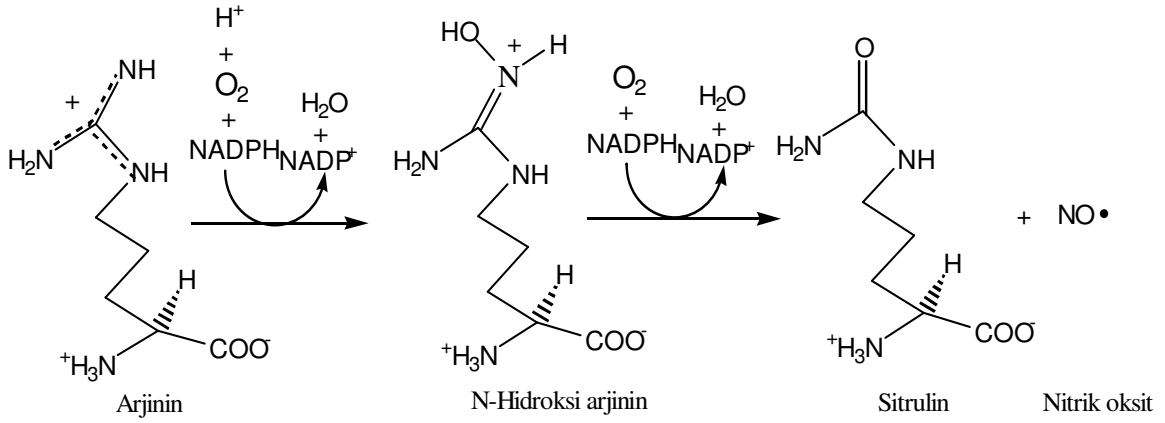


Singlet oksijen, oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesi sonucu oluşur. Delta ($^1\Delta_g O_2$) ve sigma ($^1\Sigma_g^+ O_2$) olmak üzere iki şekli vardır. Bununla birlikte, biyolojik sistemlerde singlet oksijenin aşırı derece enerjili sigma formu hızlı bir şekilde delta formuna dönüşmektedir. Uyarılmış elektronlarının daha düşük enerji seviyelerine inmesiyle ışın yayılmasına neden olan singlet oksijenin, kimyasal bir bileşikle etkileşimi sonucu kemiluminesans meydana gelmesi ve bunun ölçülmesi ile reaktif oksijen türlerinin tayini yapılabilmektedir. Bu sebeple; eşlenmemiş elektronu olmadığı için serbest radikal olarak kabul edilmeyen singlet oksijenin oluşumu, fotokimyasal reaksiyonlar için çok önemlidir (Akkuş 1995, Gutteridge 1995).

2.7.1.5 Nitrik Oksit Radikali (NO^\bullet)

Nitrik oksit, yüksek yapılı canlılarda amaçlı olarak ve çok önemli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen nitrojen merkezli bir radikaldir. Paylaşılmamış elektron aslında nitrojen atomuna ait ise de, bu elektronun hem nitrojen hem de oksijen atomu üzerinde delokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımaz. Bunun sonucu, bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığından oldukça uzun ömürlüdür (Kılınç ve ark. 2002).

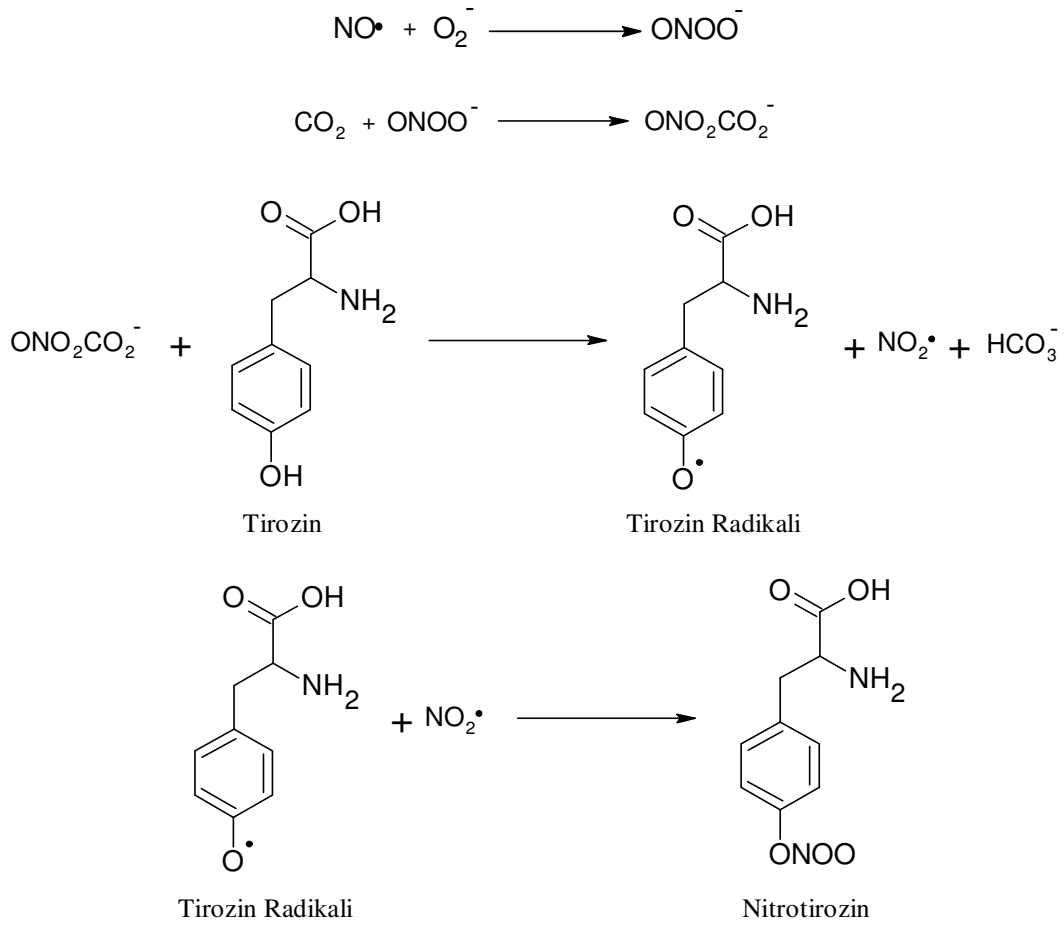
Diğer oksijen radikalleri çok sayıdaki enzimatik ve enzimatik olmayan yollar ile fiziksel/kimyasal mekanizmalarla oluşturulurken NO^\bullet sentezini sağlayan mekanizmalar son derece kısıtlıdır. Vücuda giren nitro bileşiklerinin metabolize edilmesi sırasında oluşan NO^\bullet bir tarafa bırakılacak olursa, endojen NO^\bullet oluşturan tek kaynak nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleridir (Kılınç ve ark. 2002). NO^\bullet , damar endotel hücrelerinde NOS enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir (Akkuş 1995).



Şekil 2.5 L-Arjininden nitrik oksit üretimi

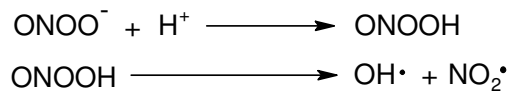
$NO\bullet$ radikalinin yarı ömrü 10-20 saniyedir. Kolayca düz kasa geçerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin “hem” demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini sağlar. Sentezlenen nitrik oksit, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. $NO\bullet$, Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren akonitaz enzimine de bağlanır. Bu enzim hücre içi demir trafiğini kontrol eder. $NO\bullet$, akonitaz enzimine messenger RNA (mRNA) bağlanmasını artırır ve enzimin aktivitesini düşürür (Akkuş 1995).

$NO\bullet$ radikalinin tek başına yıkıcı özelliği dışında, oluşmuş olan ROS’lar ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti ($ONOO^-$) meydana getirebilir. $ONOO^-$, tirozin gibi fenolik amino asitleri nitrolayarak (Şekil 2.6) toksik nitro türevleri (nitrotirozin) oluşturmaktadır (Gilbert vd. 2002).

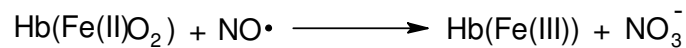


Şekil 2.6 Peroksinitritin tirozini nitrolaması

ONOO⁻, ileri dekompozisyonla en yıkıcı ROS olan OH[•] radikalini meydana getirebilir (Gilbert 2002).



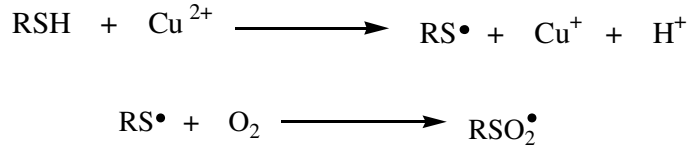
Diğer radikallerdeki durumun aksine, nitrik oksiti ortamdaki herhangi bir spesifik enzim yoktur. Nitrik oksitin aktivitesinin sonlandırılması ancak oksihemoglobin tarafından nitrata (NO₃⁻) oksitlendirilmesi ile sağlanır (Kılıncı ve ark. 2002).



2.7.2 Oksijen Türevi Olmayan Serbest Radikaller

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R[•]), peroksil (peroksi) radikalleri (ROO[•]), alkoksil (alkoksi) radikalleri (RO[•]) gibi önemli serbest radikaller de meydana gelebilmektedir. Bunlardan özellikle doymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali, yarı ömrü uzun olan bir radikaldir (Tetik 2005).

Methionin ve sistein gibi amino asitlerin komponenti olan ve çevresel sülfattan (SO₄²⁻) meydana gelen sülfür, mikroorganizmaların hidrojen sülfiti (H₂S), asimile etmesi ve indirgemesi sonucu inorganik sülfür formunda oluşarak bir dizi reaksiyonla organik moleküllerin parçası durumuna gelir. Sülfür moleküllerde (proteinlerde olduğu gibi) tiyol gruplarını veya tiyol bileşiklerini oluşturmaktadır (Tetik 2005).



Yukarıdaki reaksiyonlarda ifade edildiği şekilde, tiyol bileşikleri (R-SH) geçiş metallere varlığında oksitlenerek thiyl (RS[•]) radikalini, thiyl radikalleri ise oksijenle tekrar reaksiyona girip sülfenil (RSO[•]) veya thiyl peroksil (RSO₂[•]) gibi radikalleri meydana getirirler (Tetik 2005).

2.8 Serbest Radikallerin Etkileri

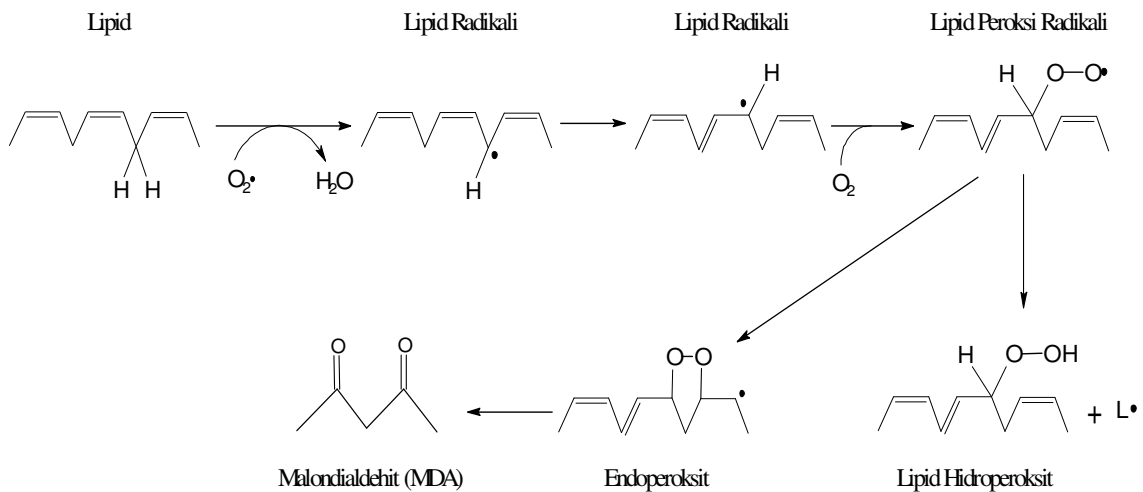
Organizmadaki serbest radikal oluşumunun artışına veya antioksidan savunma sisteminin yetersizliğine bağlı olarak oksidan-antioksidan dengesinin radikaller lehine bozulması sonucunda, biyomoleküller ile serbest radikaller kolaylıkla reaksiyon verebilir ve zincirleme reaksiyonları başlatarak yeni serbest radikal oluşumuna neden olurlar. Oluşan serbest radikallerin, çeşitli patolojik durumlara yol açtığı ve biyolojik sistemlerde çok önemli fizyolojik roller oynadığı gözlenmektedir. Bu radikaller; proteinler, lipitler, karbohidratlar ve nükleik asitleri yıkıma uğratabilir. Poliansature yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipit peroksidasyonu serbest radikallerin uyardığı hücre yıkımında önemli bir mekanizmadır. Birçok hastalıkta doku yıkımı serbest radikaller ve lipit peroksidasyonu sonucu oluşur (Şimşek 2002).

2.8.1 Lipit Peroksidasyonu (LPO)

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan, membran fosfolipitlerindeki çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipit yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır (Gutteridge 1995).

LPO fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterollerin yapısında bulunan poliansature yağ asitlerinin ROS'ların etkisiyle alkol, aldehit, hidroksiasit, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasını kapsayan reaksiyonlar dizisidir (Gutteridge 1990).

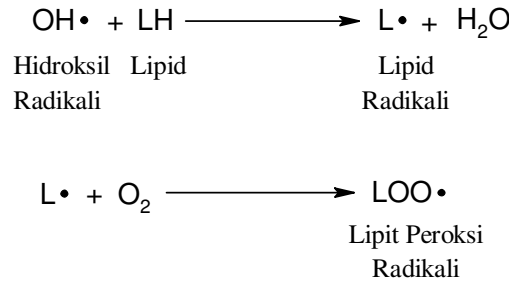
Bu kimyasal olay (Şekil 2.7), organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır (Uysal 1998). Kuvvetli oksitleyici radikal çoğu zaman hidroksil radikalidir. Singlet oksijen ve nitrik oksitinde LPO başlatıcısı olduğu bilinmektedir (Chen ve ark. 1996). Hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla lipid radikalleri meydana gelmekte ve bu lipid radikalleri otooksidasyona neden olarak LPO'nun zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemesini sağlamaktadır (Şekil 2.8). Zincir reaksiyonu kendi kendini devam ettirme özelliği bulunduğu ve geri dönüşümsüz olduğundan LPO metabolizma için en zararlı reaksiyonlardandır (Akkuş 1995).



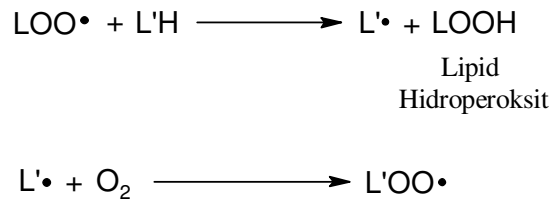
Şekil 2.7 Lipid peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonun oluşumu başlama, yayılma ve sonlanma şeklinde üç aşamada gerçekleşir.

Başlama Basamağı: Başta hidroksil radikali olmak üzere singlet oksijen ve nitrik oksit gibi ROS'lar, hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asidinin metilenik yan zincirinden bir hidrojen atomunu koparır. Hidrojen koparılması ile yağ zinciri üzerinde karbon merkezli lipid radikali meydana gelir. Radikal oluşumunu takiben yağ asidi zincirindeki çift bağlar konjuge dien şeklinde yeniden düzenlendikten sonra O₂ ile reaksiyona girerek peroksi radikalini oluştururlar (Spiteller 2001).

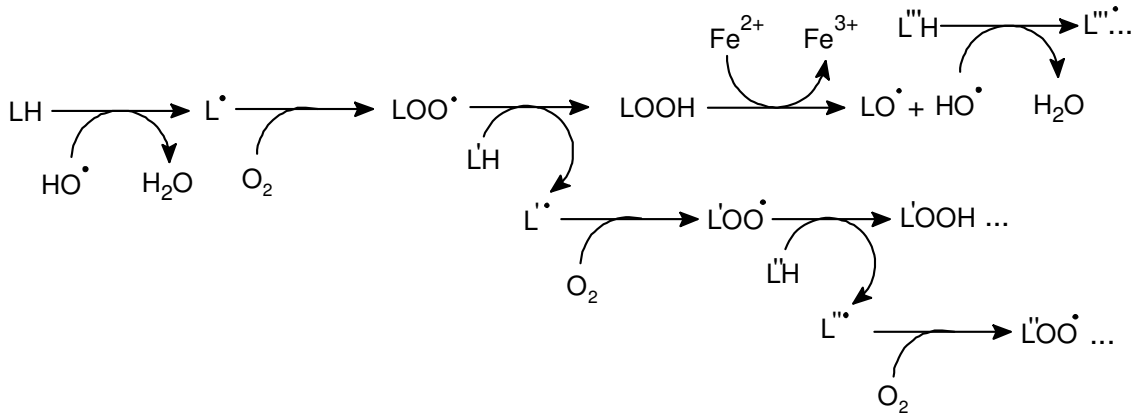
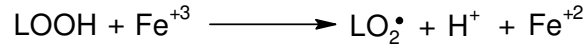
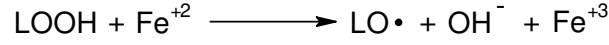


Yayılma Basamağı: Meydana gelen peroksi radikali diğer bir peroksi radikali ile birleşebilir ya da membranda bulunan proteinler ile tepkimeye girebilir. Ancak bu moleküllerin en önemli özelliği kendilerine komşu yağ asidi zincirlerinden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece, yan zincirden hidrojen atomunun çıkarılması ile her defasında lipit hidroperoksitleri (LOOH) ve yeni bir lipid peroksit (LOO[•]) radikali oluşmaktadır (Köylü 2003).



Ortamda bulunan demir, bakır gibi metaller yayılma basamağı sırasında lipid peroksidasyonunu dallanmasını artırır (Şekil 2.8). Geçiş metalleri LPO sırasında

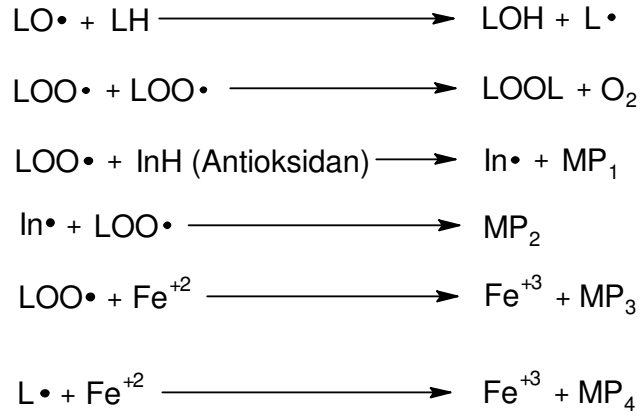
meydana gelen lipid hidroperoksitlerinin parçalanmasını sağlar ve LPO zincir reaksiyonunu katalize eder (Akkuş 1995).



Şekil 2.8 LPO'nun zincir şeklinde ilerlemesi ve dallanması (Cemek vd. 2008)

Sonlanma Basamağı: Lipid peroksidasyonu, LOOH moleküllerinin hem proteinleri veya bazı metal kompleksleri varlığında, siklik peroksitler ya da endoperoksitler üzerinden etan, pentan, aldehit, peroksitler, alkoller ve hidroksi yağ asitleri gibi çeşitli ürünlere bozunmasıyla sonlanır (Gutteridge 1990).

Ancak sonlanma sırasında LOOH dışında serbest lipid radikalleri de ortamda mevcut ise LPO zincirinin sonlandırılması, bu radikallerin antioksidanlar, bazı metaller ve çeşitli tepkimeler vasıtasıyla etkisizleştirilmesi ile sağlanır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 LPO'nun sonlanma basamağı

LPO'nun sonlanma basamağında oluşan en önemli ürün malondialdehittir (MDA). Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA, membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına sebep olur. Ayrıca deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirebilir. Bunların dışında MDA, hücre membranından kolayca geçip, DNA'nın azotlu bazları ile tepkimeye girmekte ve DNA ipçiklerinde kopmaları meydana getirmektedir (Akkuş 1995).

2.8.2 Malondialdehit (MDA)

Serbest radikaller, bir atom ya da molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron içeren yüksek oranda reaktif kimyasal ürünlerdir. Vücutta doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşur, ancak radikal parçalayan antioksidan sistemlerle oluşan serbest radikaller ortadan kaldırıldığından, herhangi bir sitotoksiste ortaya çıkmaz. Ancak bu işleyişin radikaller lehine bozulduğu durumlarda bir dizi patolojik olay ortaya çıkar. Organizmada serbest radikal oluşturan doğal olayların başlıcaları, mitokondrial elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksenobiotiklerin metabolizması, doğal uyararla fagositik hücrelerin aktivasyonu, olaylarıdır. Serbest radikallerin hücre dışı etkileri arası boşluk ve sıvılarda ortaya çıkar (Öztürk ve ark. 2001).

Serbest radikallerden etkilenen membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda lipit peroksidasyonu gelişir. Oluşan lipit hidroperoksitlerinin

aldehit ve karbonil bileşiklerine dönüşmesi sonucunda gelişen MDA, oksidatif hasarın, sistemik dolaşımında düzeyi saptanabilen dolaylı bir göstergesidir. Malign tümör patogeneğinde ROS'un potansiyel bir rol oynayabileceği bildirilmiştir (Aşıcıoğlu 2005).

Yaşlanma, koroner kalp hastalıkları ve kanser başta olmak üzere birçok hastalıkta lipit peroksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir. Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA doku reaksiyon zincir hızının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Smith 2000).

MDA, ROS'nin seviyesinin tespitinde kullanılan önemli bir göstergedir. Plazma MDA konsantrasyonu enzimatik olmayan oksidatif lipit peroksid parçalanması sonucu oluşur. MDA proteinlerin amino gruplarına, fosfolipitler veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir (Yarıktaş ve ark. 2003).

Lipit hidroperoksitler doğrudan DNA zincirini kırabilir ve lipit peroksil ve alkoksil radikalleri DNA'da oksidasyona sebep olabilir. Okzoaldehidler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Yılmaz ve ark. 2003).

MDA düzeyindeki artmanın karsinomda yetersiz damarlaşmadan meydana gelen nekroz oluşumu ile ilgili olabileceği ve kanser hücrelerinde serbest oksijen radikallerinin artmasının enzimlerin aşırı ekspresyonuna sebep olabileceği, artmış antioksidan enzim aktivitesinin de hücrelerin kanserojen ajanlara hassasiyeti ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Kanserli hastalarda MDA düzeyleri artarken, antioksidan enzim aktiviteleri artma ya da azalma gösterebilmektedir. SOR'nin yaptığı yıkımın ürünü olan MDA'nın kendisi de mutajen ve potansiyel karsinojen etkilidir (Yılmaz ve ark. 2003).

2.9 Antioksidanlar

Organizmada, ROS'ların hasar oluşturucu etkilerine karşı antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Normal koşullarda bu toksik turlerin hasar oluşturucu etkileri antioksidanlarla sınırlanmaktadır. Böylece oksidatif hasara bağlı olarak ortaya çıkan doku hasarı en aza indirilmektedir (Fang ve ark. 2002). Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkar. Antioksidanlar doğrudan etkiyle oksidanları inaktif hale getirebilirler (Mathers ve ark. 2004).

Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Radikallerle olduğa hızlı reaksiyonlara girerek otooksidasyon-peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanmaktadır. Hücre ve doku yıkımlanması ile sonuçlanabilecek oksidatif hasara karşı antioksidanlar her düzeyde aktivite gösterir (Dündar ve Aslan 2000).

Antioksidanlar radikallerin oluşturabileceği hasarları ortadan kaldırarak veya minimize ederek, radikal oluşum mekanizmalarını önleyerek, üretilen radikalleri nötralize ederek, hücre veya dokularda oluşan tahribatı onararak ve lipit peroksidasyonu gibi daha fazla radikal üretilmesine neden olan zincir reaksiyonlarını durdurarak, hücre, doku ve vücut savunmasını sağlamaktadırlar (Mathers ve ark. 2004).

Bunların yanında organizmadaki antioksidan seviyeleri, oksidatif stresin dolayısıyla vücudun patolojik ve fizyolojik durumunun da belirleyicisi olarak sıkça kullanıldığı bilinmektedir (Mathers ve ark. 2004).

Çizelge 2.7 Biyolojik sistemlerdeki antioksidanların sınıflandırılması

Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon (GSH)	Melatonin
Katalaz (CAT)	α -Tokoferol (Vit. E)	Seruloplazmin
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Askorbat (Vit. C)	Transferin
Fosfalipit hidroperoksit glutasyon	β -Karoten (Vit. A)	Ferritin
Peroksidaz (PLGPx)	Flonoidler	Laktoferrin
Glutasyon-S-transferaz (GST)	Ürat	Albumin
Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	Biluribin	Lipoik asid

2.9.1 Enzimatik Antioksidanlar

Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden başlıca üç enzim yardımıyla korunur. Bunlar; süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz ve katalazdır (Bhagavan 2002).

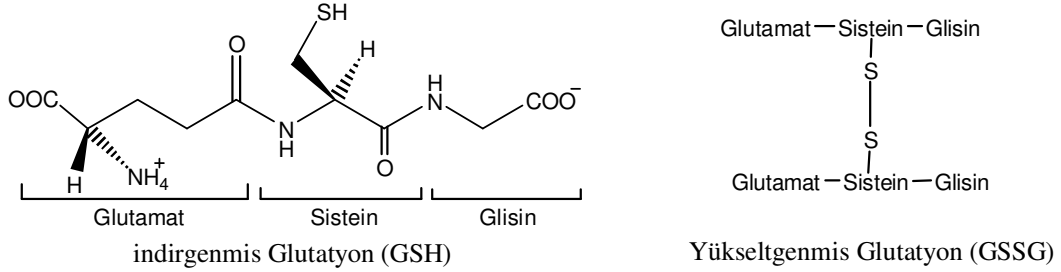
2.9.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar (Doğal Antioksidanlar)

Askorbik asit (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E), glutasyon ve melatonin gibi moleküllerle de etkili bir şekilde serbest radikallere engel olunarak oksidatif stres kontrol altında tutulabilmektedir. Bazen de enzimatik antioksidan savunma ile doğal antioksidanlar birlikte çalışarak vücudun korunmasını sağlamaktadırlar. Örneğin Peroksidaz enzimleri (GPx gibi), dihidroaskorbikasit (indirgenmiş vitamin C) gibi ajanlar kullanarak peroksit radikallerini nötralize etmektedirler (Wood ve ark. 1991).

2.9.2.1 Glutasyon (GSH)

Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan Glutasyon (γ -glutamilsisteinilglisin) hemen hemen bütün hücrelerde, oldukça yüksek konsantrasyonlarda mevcuttur. İlk kez 1921 yılında Hopkins tarafından keşfedilmiştir. İlk önceleri glutamil-sisteinden ibaret bir dipeptid olduğu zannedilmiştir. Fakat 1929

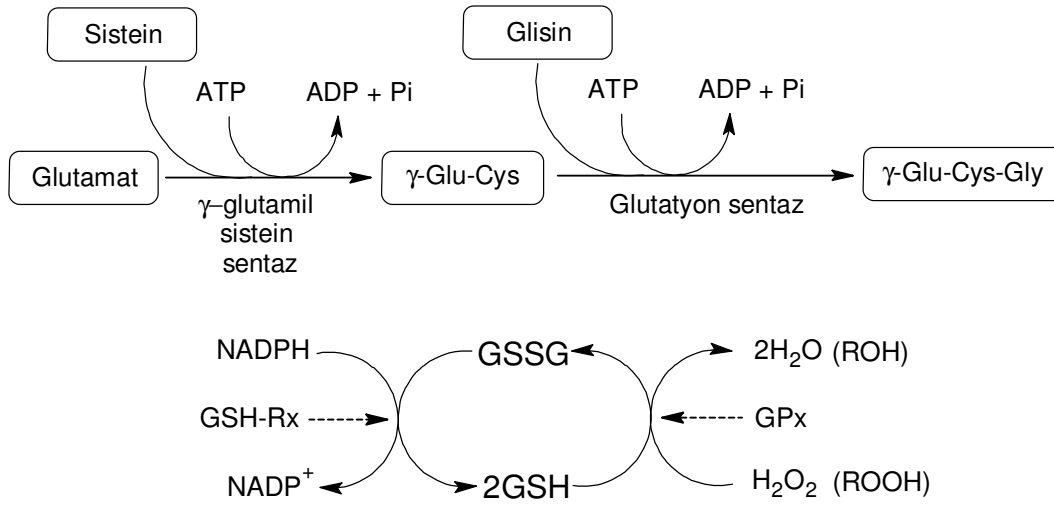
yılında kristal halinde elde edildikten sonra yapısının tripeptid olduğu anlaşılmıştır. 1935 yılında ise Harrington ve Mead tarafından δ -L-glutamil-L-sisteiltez edilmiştir (Ulakoğlu 1998).



Şekil 2.10 GSH ve GSSG'nin yapısı

Glutatyon, indirgenmiş (GSH) ve yükseltgenmiş (GSSG) şekilde bulunmaktadır (Şekil 2.10). Hücrenin yükseltgenme-indirgenme dengesini koruyan önemli bir indirgen olan glutatyon, hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır (Onat ve ark. 2002).

GSH, tüm memeli hücrelerinde bol miktarda (0,5–10 mM) sentezlenir. Bu sentez 2 basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta, γ -glutamilsistein sentetaz isimli enzim GSH'ın prekürsör amino asitleri olan glutamat ve sisteinden, γ -glutamilsisteinin oluşumunu katalizler. İkinci basamakta ise, glutatyon sentetaz, glisin ve γ -glutamilsisteinden glutatyonu oluşturur. GSH negatif feed-back ile glutamilsistein oluşum hızını ve böylelikle kendi sentezini de denetler. Bu sentezde bir molekül GSH için hücreler tarafından kullanıldığından, sentezinin inhibisyonu hızlı tükenmesine yol açabilir (Alican 1995). İndirgenmiş glutatyon, serbest bir sülfidril gurubu içeren bir tripeptiddir. İndirgenmiş durumda hemoglobin ve eritrosit hücre proteinlerinin sistein artıklarını muhafaza eden bir sülfidril tamponu olarak hizmet eder. İndirgenmiş glutatyonun (GSH), oksitlenmiş forma (GSSG) oranı normalde yaklaşık 500/1'dir. İndirgenmiş form H_2O_2 ve organik peroksitlerin sebep olduğu detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli bir rol oynar (Ulakoğlu 1998).



Şekil 2.11 Glutatyon Sentezi

GSH aynı zamanda GSH peroksidazlar (selenyum içeren ve diğerleri) için substrat olabilir GSH peroksidaz H_2O_2 ini indirgenmesi sağlar tıpkı diğer peoksidazlar gibi. GSH askorbatın yanı sıra birçok hüresel komponentin indirgenmesinden de sorumlu olan bir yapıya sahiptir. GSH'ın eritrositlerin normal hücre yapısının korunması ve hemoglobindeki demirin ferro durumunda tutulması için de gerekli olduğu ileri sürülmektedir. Daha düşük düzeyde indirgenmiş glutatyon içeren hücreler, hemolize daha hassastır (Aşıcıoğlu 2005).

Eritrositlerde ki GSH konsantrasyonu bir çift otozomal allen gen tarafından düzenlenmektedir ve yüksek düzeydeki Glutatyonu (GSHH) kontrol eden genin düşük düzeydeki glutatyonu (GSHh) kontrol eden gene karşı dominant olduğu ileri sürülse de temel gen etkisi çevre ve diğer genetik faktörlerin etkisi altındadır (Sodeman 1991).

Glutatyon (GSH) doğadaki en bol ve her yerde bulunan küçük organik moleküllerden biridir. Nerdeyse tüm yaşayan hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan bu endojen antioksidanın birçok önemli fonksiyonel rolü olduğu birçok defa incelenmiştir. Ksana biotikler, karsinojenler, serbest radikaller ve lipit peroksidler gibi birçok endojen ve ekzojen maddelerin detoksifikasyonu, intrasellule metabolizmada ve aminoasitlerin transportunda, protein yapılarının ve fonksiyonlarının korunması, protein sentezinin ve

yıkımının düzenlenmesi, oksidatif zarara karşı koruma ve immunfonksiyonun korunması bu rollerden bazılarıdır (Aşıcıoğlu 2005).

GSH in ayrıca serbest radikallerin genotoksik etkilerine karşı koruduğu düşünülmüştür. Oksidatif ve serbest radikaller, radyasyona bağlı mutasyon oluşumu ve karsinogenezde de önemli faktör olduğu düşünülmüştür. Glutasyon, GSH peroksidazlar, GSH disulfat reduktazlar ve yardımcı NADPH saptayıcı reaksiyonlar ile beraber hücredeki oksidatif stres ve serbest radikal hasarında savunmada anahtar rol oynar (John 1992).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda; çeşitli stres faktörleri, serbest oksijen radikallerinin (ROS) oluşumunu hızlandırdığı ve lipit peroksidasyonlarına yol açtığı gösterilmiştir. ROS'un oluşturduğu oksidatif hasar oksidan stres olarak tanımlanmaktadır. Oksidan stres ile GSH düzeylerinin azaldığı bilinmektedir. İn vivo ve invitro yapılan deneylerde, endojen GSH'in çeşitli hasarlarda mide mukozası bütünlüğünün korunmasında önemli bir mediatör olabileceği görüşü ileri sürülmektedir (Buğra 2004). Diğer yandan stres ülserine bağlı iskeminin, hasara karşı savunmada önemli bir faktör olan mukozal enerji metabolizmasını azalttığı da gösterilmiştir (Ulakoğlu 1998).

Oksidan stres sonucunda artan ROS oluşumunun hücre hasarlarındaki etkileri bilinmektedir. Bu ürünlerin detoksifikasyonu, glutasyonun indirgenmiş formunun (GSH) oksitlenmiş dimer formuna (GSSG) dönüşümü ile sağlanmaktadır (John 1992).

Hücre yüksek miktarda oksidana maruz kaldığında, GSSG oluşumu metabolik sınırını aşmakta ve oksidatif stres oluşmaktadır. Detoksifiye olamayan oksidanlar membran lipitlerinin ve hücrenin çeşitli fonksiyonel ve yapısal proteinlerinin bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca GSSG'nin kendisi de, proteinlerin sülfhidril gruplarıyla (-SH) reaksiyonlaşarak kalıcı zararlı etkiler meydana getirmektedir.

İndirgenmiş glutasyon (GSH) içerdiği tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasarlara karşı korur. Glutasyon peroksidaz (GPx) isimli enzimin kofaktörlüğünü yaparak, hidrojen peroksidi metabolize eder (Buğra 2004).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Yün İpi Hazırlama

Numunelerdeki gıda boyasının numuneden çekiminde kullanılan yün, koyun yününün temiz kısımlarından seçildi ve Soxhlete, 300 ml petrol eteri ile birlikte konuldu. Bu işleme 12 saat devam edildi. Soxhlet düzeneğinden çıkartılan yünler 3 saat kurutuldu. Su banyosunda 80 °C' de 1 saat % 5'lik amonyak ile muamele edildi. Bu süre içerisinde ara sıra karıştırıldı. Daha sonra yünler bol su ile iyice yıkandı ve kurutuldu. Temiz bir kavanozda muhafaza edildi.

3.1.2 Numune Hazırlama

Afyonkarahisar' daki 30 farklı imalathaneden 39 farklı lokum örneği toplandı. Örnek seçiminde, ürünün renk çeşitliliği ile imalathane farklılığı esas alındı.

3.1.3 Hayvan Materyali

Araştırmaya başlamadan önce Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kuruluna başvurularak etik kurulu onayı alınmıştır. Çalışmada kullanılan 200–250 g ağırlığındaki 50 adet albino Sprague-Dawley cinsi rat, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Ratların bakımı, AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde, 12 saatlik ideal aydınlık ortamında, uygun sıcaklıkta, rat bakımı için tasarlanmış polipropilen 17x30x42 cm boyutlarındaki özel kafeslerde yapıldı. Ratların altlarına serilen kaba talaş her gün değiştirilerek, kafeslerde kuru bir ortam oluşması sağlandı. Ratlar musluk suyu ve Afyon Yem Fabrikasından temin edilen standart pellet yem ile beslendi. Ratların buldukları ortama uyum sağlamaları ile deneysel aşamaya geçildi.

3.2 Metot

Yapay renk maddelerinin, gıdalardan etanolle ekstrakte edilip, kâğıt kromatografisinde yürütülerek boya cinslerinin belirlenmesi, her birinin ayrı ayrı etanolde çözülerek UV spektrofotometresinde maksimum absorbands gösterdiği dalga boyunda konsantrasyonun okunması ve boya maddesi miktarının analize alınan örnek miktarı üzerinden ppm (mg/kg) olarak hesaplanması esas alınmıştır.

Sıçanlar çalışma boyunca AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde iki hafta belirli dozlarda gıda boyası verilerek gözlem altında tutuldular. Bu dozlar hesaplanırken ADI (günlük alınması gereken maksimum doz) değeri ve analizlerimizden elde ettiğimiz sonuçlar göz önünde bulunduruldu. Rasgele örnekleme metodu ile her biri on sıçandan oluşmak üzere toplam beş grup oluşturuldu.

Grup 1: Kontrol grubu olarak düzenlendi ve deneyler süresince herhangi bir madde verilmedi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Tüm ratlar sakrifiye edilerek kan örnekleri alındı.

Grup 2: Düşük doz tartrazin (sarı) grubu olarak düzenlendi. Tüm ratlara iki hafta boyunca her gün gavaj ile 3 mg/kg tartrazin verildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışma sonunda tüm ratlar sakrifiye edilerek kan örnekleri alındı.

Grup 3: Yüksek doz tartrazin (sarı) grubu olarak düzenlendi. Tüm ratlara iki hafta boyunca her gün gavaj ile 15 mg/kg tartrazin verildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışma sonunda tüm ratlar sakrifiye edilerek kan örnekleri alındı.

Grup 4: Düşük doz carmosine (kırmızı) grubu olarak düzenlendi. Tüm ratlara iki hafta boyunca her gün gavaj ile 0.5 mg/kg carmosine verildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışma sonunda tüm ratlar sakrifiye edilerek kan örnekleri alındı.

Grup 5: Yüksek doz carmosine (kırmızı) grubu olarak düzenlendi. Tüm ratlara iki hafta boyunca her gün gavaj ile 2.5 mg/kg carmosine verildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışma sonunda tüm ratlar sakrifiye edilerek kan örnekleri alındı.

Kan örneklerinin alınması: Ratlar intraperitoneal yolla 100 mg/kg ketamin ile uyutulup, batin ve toraks orta hattan açılarak kalpten injektör ile kanları alındı. Malondialdehit (MDA) ve redükte glutasyon (GSH) analizleri için heparinli cam tüpler kullanıldı. Heparinli cam tüplere kan örnekleri alındıktan sonra, aynı gün içinde laboratuvarında çalışıldı.

3.2.1 Kalitatif Tayin

3–4 gr lokum numunesi 20–25 ml saf su ile çözüldü. Hazırlanan numune 2–3 cm uzunluğunda yün ipi ve 4–5 ml KHSO₄ ile birlikte bir behere konuldu ve su banyosunda 1 saat tutuldu. 1 saat sonunda yün musluk suyu ile iyice yıkandı. Saf sudan geçirildi. Yün ipi yıkandıktan sonra orijinal rengine dönerse boya mevcut değildir. Eğer yün ipi boyanmışsa, temiz bir behere konur. 2–3 ml saf su, 2–3 ml % 5' lik amonyak çözeltisi ilave edildi ve su banyosunda yarım saat tutuldu. Yarım saat sonunda yün ipi atıldı, kalan çözelti 1–2 damla kalıncaya kadar buharlaştırılır. Bu çözelti, kağıda damlatma işi için hazırdır.

Bu son çözelti ve standart boya çözeltileri, kromatografi kağıdına damlatıldı. Damlalar kuruduktan sonra kağıt yürütme tankına yerleştirildi. Yürütme sonunda numunelere ve standartlara ait boya lekeleri, yükseklik esas alınarak karşılaştırılır (Ankara İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü).

3.2.2 Kantitatif Tayin

3–4 gr lokum numunesi üzerine 50 ml su koyup 1–2 saat bekletildi. C₁₈ kartuşunu aktif hale getirmek için 3 ml % 96' lık etil alkol, 5 ml % 1'lik asetik asit damla damla geçirildi. Disposable enjektör ile 2 ml numuneden çekildi. Sonra C₁₈ kartuşu takılarak

damla damla geçirildi. Kartuşta biriken boya % 70' lik alkolden 5 ml çekilerek damla damla deney tüpüne aktarıldı ve spektrofotometrede okuma gerçekleştirildi.

3.2.3 Biyokimyasal Analizler

3.2.3.1 MDA Tayini

Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). MDA, TBA (tiobarbitürik asit) ile reaksiyona girerek renkli formda bir bileşik meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin 532 ve 600 nm dalga boylarında spektrofotometrede (Jenway 6305 UV/VIS) absorbansı ölçülerek lipid peroksidasyonu tayini yapıldı (Jain ve ark. 1989).

3.2.3.2 GSH Tayini

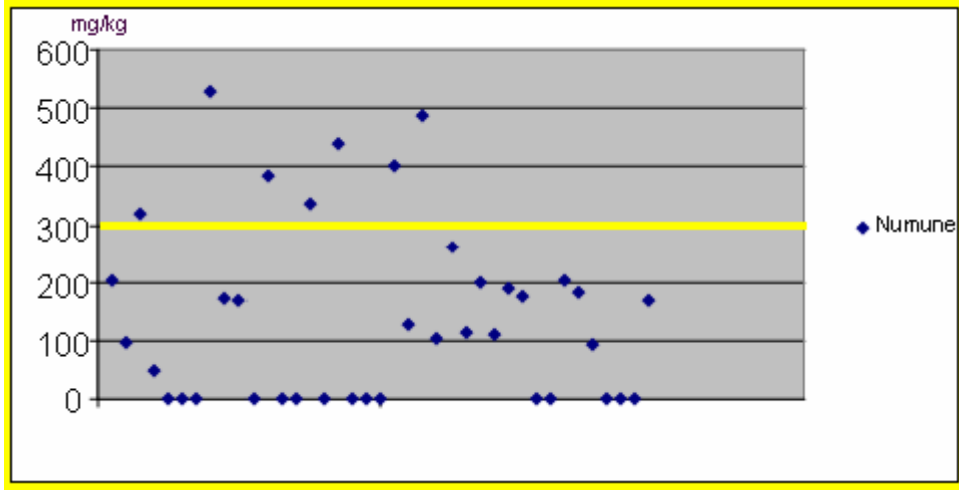
Tüm kandan distile su ile hazırlanan hemolizatın içindeki SH (sülfhidril) taşıyan bütün proteinler, presipitasyon (çöktürücü) çözeltisi ile proteinler çöktürülüp, süzülerek ayrılır. Redükte glutatyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda SH gruplarının DTNB (5.5'-2-Dithiobis nitrobenzoik asit) ile tepkime sonucunda oluşan sarı rengin 412 nm dalga boyunda absorbansı spektrofotometrede (Jenway 6305 UV/VIS) ölçüldü (Buetler ve ark. 1963).

3.2.3.3 İstatistiksel analizler

Elde edilen bulguların (MDA, GSH) istatistik hesaplamaları, SPSS 10.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışmada elde edilen veriler "ortalama \pm standart sapma" olarak ifade edildi ($X \pm SD$). Gruplarda varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post testi uygulanarak istatistiksel ilişki belirlendi. İstatistik anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmada toplanan lokum numunelerinde, kalitatif ve kantitatif analizleri yapıldı. Kalitatif analizler sonucunda sarı lokumlarda tartrazin, kırmızı lokumlarda ise ponceau 4R ve carmosine gıda boyaları tespit edildi. Elde edilen kalitatif ve kantitatif analiz sonuçları Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 de gösterildi. Kantitatif analiz sonuçları ise Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 de gösterilerek sonuçların standartlara uygunluğu kontrol edildi. Ratlardan alınan kan örneklerinde de malondialdehit, redükte glutatyon düzeyleri analiz edildi. Bu değerler yardımıyla her grup için hesaplamalar yapılarak standart sapmaları bulundu. Elde edilen analiz sonuçları Çizelge 4.3 de sunulmuştur.



Şekil 4.1 Sarı renkli lokumlarda tartrazin miktarının dağılımı

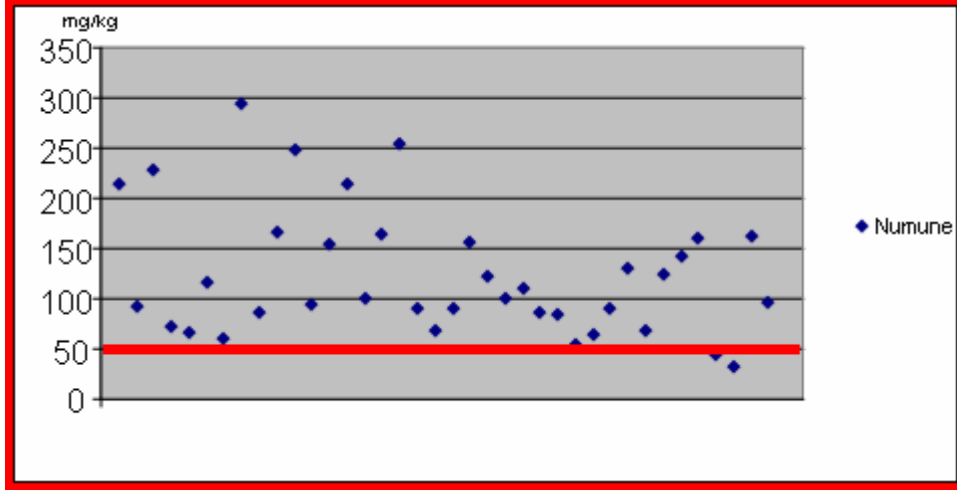
Türk Gıda Kodeksinin belirlediği standartlarda (Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği) sarı renkli numuneler için 300 mg/kg standart alınmıştır. Sonuçlarımızdaki dağılıma bakarsak Şekil 4.1 de görüldüğü gibi 39 numuneden 7 numune standartların üzerinde, 17 numune standart aralığında, 15 numunede ise sarı renkli boya kullanılmayarak şekerin karamelizasyonu ile elde edilen açık sarı renk numunelere renk vermiştir. Numunelerin % 18'i standartların üzerinde, % 43.5'i ise standartlara uygun düzeyde tartrazin içerdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 Tartrazin gıda boyasının kantitatif analiz sonuçları

Numune Adı	Gıda Boyası Miktarı (mg/kg)
1	201.04
2	95.20
3	320.54
4	48.96
5	-
6	-
7	-
8	527.26
9	171.85
10	169.32
11	-
12	384.89
13	-
14	-
15	336.01
16	-
17	437.87
18	-
19	-
20	-
21	402.17
22	125.81
23	485.8
24	103.5
25	260.27
26	113.92
27	199.89
28	110
29	187
30	175
31	-
32	-
33	203
34	181.06
35	92.7
36	-
37	-
38	-
39	168.52

* - şekli ile ifade edilen numunelerde gıda boyası bulunmamaktadır.

* Türk gıda kodeksinin sarı şekerlemeler için belirlediği standart 300 mg/kg dır.



Şekil 4.2 Kırmızı renkli lokumlarda ponceau 4R-carmosine miktarlarının dağılımı

Türk Gıda Kodeksinin belirlediği standartlarda (Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği) kırmızı renkli numuneler için 50 mg standart alınmıştır. Sonuçlarımız Şekil 4.2’de sunulmuştur. Buna göre; 38 numuneden 8 numunede carmosine, 30 numunede ise Ponceau 4R isimli gıda boya tespit edilmiştir. Bunların 0–50 mg arasında 2 numune, 50–100 mg arasında 16 numune, 100–150 mg arasında 8 numune, 150 mg ve üzerinde ise 12 numune olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak değerlendirmeye aldığımızda 0–50 mg arasındaki numuneler için % 5.3 ü kodekse uygun olduğu, % 42.1’i 50–100 mg arasında, %21’i 100–150 mg arasında ve % 31.6’sı 150 mg üzerinde olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.2 Ponceau 4R-Carmosine boyasının kalitatif ve kantitatif analiz sonuçları

Numune Adı	Ponceau 4R Miktarı (mg/kg)	Carmosine Miktarı (mg/kg)
1	214.1	-
2	91.22	-
3	228.26	-
4	72.86	-
5	-	65.89
6	115.89	-
7	60.17	-
8	293.59	-
9	86.12	-
10	166.45	-
11	248.5	-
12	-	93.67
13	154.42	-
14	214.66	-
15	-	100.95
16	164.74	-
17	253.51	-
18	89.66	-
19	68.67	-
20	-	89.44
21	155.96	-
22	122.01	-
23	-	100.76
24	109.18	-
25	86.68	-
26	83.62	-
27	-	54.31
28	63.38	-
29	89.40	-
30	130.31	-
31	68.31	-
32	124.86	-
33	142.28	-
34	160.39	-
35	-	43.42
36	-	32.48
37	161.57	-
38	96.8	-

* Türk Gıda Kodeksinin kırmızı şekerlemeler için belirlediği standart 50 mg/kg dır.

Çizelge 4.3 Çalışma gruplarına ait elde edilen MDA ve GSH değerleri

Gruplar (n=10)	MDA (nmol/ml)	GSH (mg/dl)
Kontrol	1.484 ± 0.21	43.007 ± 2.61
Düşük Doz Tartrazin	1.369 ± 0.17	48.114 ± 2.66 ^a
Yüksek Doz Tartrazin	1.369 ± 0.14	52.057 ± 3.72 ^c
Düşük Doz Carmosine	1.558 ± 0.20	49.057 ± 2.51 ^b
Yüksek Doz Carmosine	1.379 ± 0.06	47.429 ± 1.99 ^a

MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon

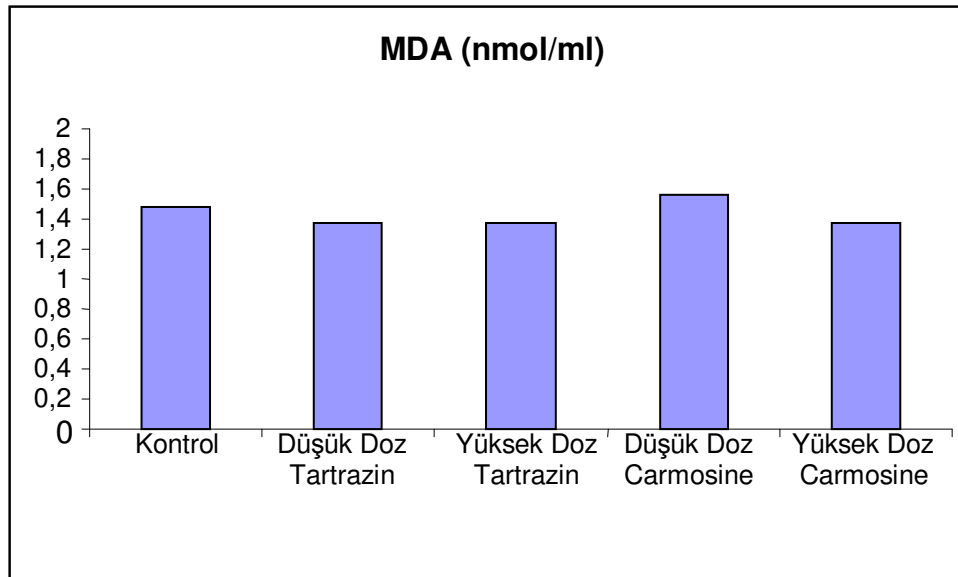
Düşük Doz Tartrazin Gıda Boyası: 3 mg/kg ; Yüksek Doz Tartrazin Gıda Boyası: 15 mg/kg

Düşük Doz Carmosine Gıda Boyası: 0.5 mg/kg ; Yüksek Doz Carmosine Gıda Boyası: 2.5 mg/kg

^a: Kontrol'den farklıdır (p<0.05)

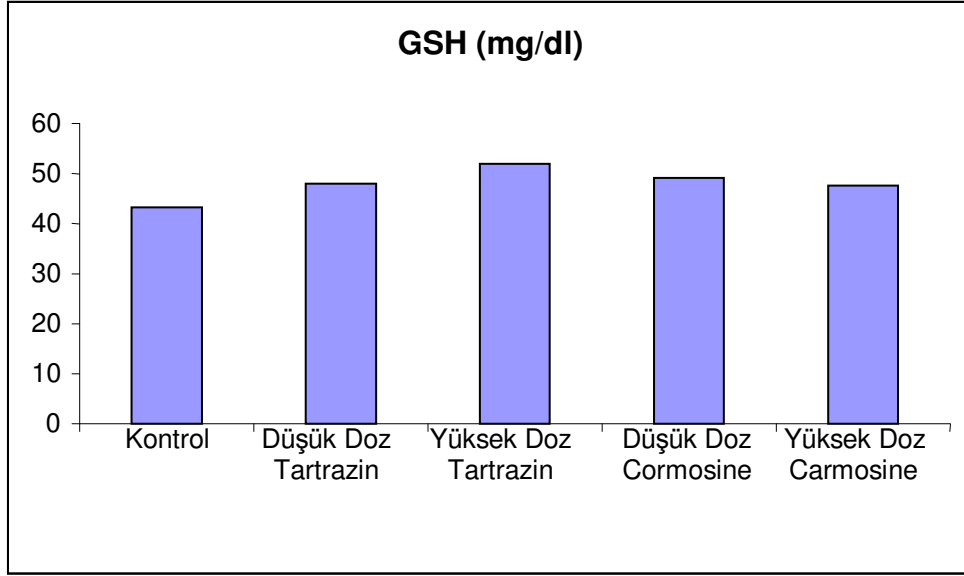
^b: Kontrol'den farklıdır (p<0.01)

^c: Kontrol'den farklıdır (p<0.001)



Şekil 4.3 Gıda boyası verilen sıçanlarda MDA(nmol/ml) düzeyleri

Çalışmaya ait MDA değerleri kontrol, düşük doz tartrazin, yüksek doz tartrazin, düşük doz carmosine, yüksek doz carmosine grupları için sırasıyla 1.484 ± 0.21, 1.369 ± 0.17, 1.369 ± 0.14, 1.558 ± 0.20 ve 1.379 ± 0.06 nmol/ml olarak bulundu (Çizelge 4.3).



Şekil 4.4 Gıda boyası verilen sıçanlarda GSH (mg/dl) düzeyleri

Çalışmaya ait GSH değerleri kontrol, düşük doz tartrazin, yüksek doz tartrazin, düşük doz carmosine, yüksek doz carmosine grupları için sırasıyla 43.007 ± 2.61 , 48.114 ± 2.66 , 52.057 ± 3.72 , 49.057 ± 2.51 ve 47.429 ± 1.99 mg/dl olarak bulundu (Çizelge 4.3).

Bu verilere göre kontrol grubu, düşük doz tartrazin grubundan istatistiksel anlamda $p < 0.05$ düzeyinde farklıdır. Yüksek doz tartrazin grubu ise, kontrol grubundan istatistiksel olarak $p < 0.001$ düzeyinde farklıdır. Düşük doz carmosine grubu, kontrol grubundan istatistiksel anlamda $p < 0.01$ düzeyde ve yüksek doz carmosine grubu ise kontrol grubundan istatistiksel anlamda $p < 0.05$ düzeyinde fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.3).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Birçok gıda da sıklıkla ve bilinçsizce sentetik gıda boyaları kullanılmaktadır. 1950 yılına kadar insanlarda herhangi bir toksik etki fark edilmemesi nedeniyle gıdalarda kullanılan boya maddelerinin güvenliği üzerinde önemle durulmamıştır. Ancak bu tarihten sonra bazı toksik etkilerinin gözlenmesi ile gıda boyalarının zararlı etkileri üzerine ilgi artmış, Gıda ve İlaç Teşkilatı (FDA) toksikoloji laboratuvarlarında önemli ölçüde kronik toksisite testleri uygulanmaya başlamıştır (Safeway 1987).

Deney hayvanları ile yapılan çeşitli çalışmalarda, boyaların sindirim sistemi, karaciğer ve kanda metabolik değişikliklere uğradığı gözlenmiş ve bunların sistematik toksisite ve karsinojeniteleri üzerine araştırmalar yapılmıştır. Vücuda alınan boya maddesi barsakta asit, sindirim enzimleri ve barsak florasının etkisi altında kalmaktadır. Aromatik azo yapısındaki gıda boyaları barsakta redüktif parçalanmaya uğramakta ve aminler oluşmaktadır. Oluşan aminler absorbe edilerek metabolize olmaktadır. Gıdalarda bulunan azo boyalarının indirgenmesi sonucu mutajenik ve promotojenik metabolitleri oluşmaktadır. Hepatik ve bakteriyel azo redüktazın ortamda riboflavin olduğunda arttığı belirtilmiştir (Aksoy 1984).

Demirer (1974), ince tabaka kromatografisi yöntemini kullanarak 201 adet şeker örneğindeki boyaları kalitatif olarak araştırmıştır. Ankara piyasasında yapılan bu çalışma sonucunda 25 adet örneğin izin verilen boyalarla, 66 adet örneğin izin verilen ve verilmeyen boyalarla karışık olarak, 110 adet örneğinde tamamen izin verilmeyen boyalarla boyandıklarını tespit etmiştir.

Alperden ve ark. (1979), Marmara bölgesinde satılan bazı gıda maddelerinden aldıkları 879 örnekte bulunan boya maddelerini kalitatif olarak saptamış ve sonuç olarak bazı et mamülleri, reçel, marmelat, çikolata, dondurma, sumak ve kırmızı toz biber gibi gıdaların GMT' ne aykırı boyalar içerdiğini tesbit etmişlerdir.

Yentür ve Bayhan (1990), 25 kırmızı biber, 25 çemen ve 25 sumak numunesinin ince tabaka kromatografi yöntemi ile incelemişlerdir. Çemen numunelerinin hepsinin orange

2 ihtiva ettiğini, 5 numunenin orange 2' nin yanı sıra ponso Sx boyası içerdiğini, 3 numuneninde orange 2'nin yanı sıra orange G ile boyalı olduğunu bulmuşlardır. 25 sumak numunesinin 18'inin sentetik boyalarla boyalı olduğunu, bunlarında 10 tanesinde eritrosin, 5 tanesinde ponso Sx, 3 tanesinde ise intigotin boyası olduğunu tespit etmişler, 7 adet sumak ile 25 adet kırmızı biberin ise boyalı olmadığını saptamıştır.

Yentür ve Bayhan (1990), GMT' ne göre boya katılmasına izin verilmeyen tereyağlarında, özellikle aromatik azo yapısındaki bazı sentetik boyaların varlığını araştırmışlar ve sonuçta 30 numunenin 5'inde gıdalarda kullanılması yasaklanmış olan P-dimetil-azobenzen boyasının varlığını saptamışlardır.

Sunulan çalışmada, sarı renkli lokumlarda kalitatif analiz sonucu tartrazin boyasının olduğu tespit edildi. 39 numuneden 7 numune standartların üzerinde, 17 numune standart aralığında, 15 numunede ise tartrazin kullanılmayarak şekerin karamelizasyonu ile elde edilen açık sarı rengin numunelere renk verdiği tespit edildi. Buna göre numunelerin % 18'i standartların üzerindedir fakat % 43.5'i ise Türk Gıda Kodeksine uygun sarı gıda boyası içermektedir.

Kırmızı renkli lokumlarda ise, 38 numuneden 8 numunede carmosine, 30 numunede ise Ponceau 4R isimli boyalar tespit edildi. Bunların 0-50 mg arasında 2 numune, 50-100 mg arasında 16 numune, 100-150 mg arasında 8 numune, 150 mg ve üzerinde ise 12 numune olduğu bulundu. Genel olarak değerlendirmeye aldığımızda 0-50 mg arasındaki numuneler yani % 5.3'ü Türk Gıda Kodeksine uygundur. Bu sonuçlar gıda boyalarının lokumlarda özenli bir tartım yapılmadan rasgele yapıldığını göstermektedir.

Gezer (1993), Ankara piyasasında satılan akide şekerlerindeki boyaların ince tabaka kromatografisi ve spektrofotometrik yöntem kullanılarak incelenmiştir. Sonuçta örneklerdeki boyalar ve miktarlarının yasalara uygun olduğunu saptamıştır.

Yaman (1996), tarafından yapılan çalışmada Ankara piyasasından toplanan 89 adet şekerleme, 74 adet içecek tozu, 50 adet puding, 50 adet reçel örneğindeki boyalar kalitatif ve kantitatif olarak araştırılmıştır. Şekerlemeler ile içecek tozlarındaki boyaların

yönetmeliklere göre müsaade edilen boyalar olduğunu, ancak miktarların yüksek olduğunu saptamıştır. Puding ve reçel örneklerinde ise boya olmadığını tespit etmiştir. Kalyoncu (1995), tarafından yapılan çalışmada 100 adet şekerleme, 100 adet dondurma ve 40 adet pasta süsü olmak üzere 240 adet örnek Ankara piyasasından toplanmış olup, kalitatif ve kantitatif boya analizi yapılmıştır. Şekerlemelerin 53 tanesinde, dondurmaların 52 tanesinde, pasta süslerinin ise 32 tanesinde boya tespit edilmiştir.

Yentür ve Karakaya (1985), ince tabaka kromatografisi yöntemiyle 25 şeker ve 29 dondurma numunesi üzerinde araştırma yapmışlardır. Sonuçta 25 şeker örneğinin 11'inde ponceau 3R, ponceau Sx, brillant blue, amaranth olmak üzere kullanımı yasaklanmış boyalar, boya katılması yasak olan dondurmalarda ise incelenen 29 örneğin 16'sında çeşitli sentetik boyaların varlığını saptamışlardır.

Hindistan'ın Uthar Pradesh bölgesinin kırsal kesimlerinde 1984 yılında yapılan bir çalışmada toplam 902 adet boyalı süt ürünleri, bisküvi, şekerleme, kek ve limonlu içecek örnekleri üzerinde boya araştırılması yapılmıştır. Sonuçta örneklerin yarısında yüksek miktarda toksik olduğu bilinen boyalar tespit edilmiştir (Khanna ve Singh, 1984).

Demirağ ve Altuğ (1990), İzmir ve çevresinde satılan toplam 19 adet şekerleme, lokum ve yapay içecek tozu örneğindeki boyaların kalitatif ve kantitatif tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Sonuçta örneklerde saptanan boyaların hepsinin kullanımına izin verilen boyalar olduğunu, ancak miktarlarının izin verilen değerlerin çok üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Hunziker (1984), tarafından yapılan bir çalışmada kırmızı boyaların kullanımı araştırılmıştır. Analize alınan 21 adet dondurma, 22 adet şeker, 23 adet içecek örneğinin % 83'ünün kırmızı renkli boyalarla (ponso 4R, azorubin, amaranth) boyalı olduğu tespit edilmiştir.

Büyükpamukçu ve Saldamlı (1995), nin yaptığı bir araştırmada, ince tabaka kromatografisi ve spektrofotometrik yöntemden yararlanılmıştır. Çalışmada, 81 adet

şeker örneğinden 11 adedinde boya miktarının tüzük sınırlarının üzerinde olduğu, etiketli örneklerde en yaygın olarak kullanılan renk maddesinin Ponceau 4R olduğu ve pazar şekerlemeleri ile etiketli şekerlemeler arasında Ponceau 4R ve eritrosin kullanım oranı açısından bir fark olmadığı saptanmıştır. Miktarları tüzük sınırlarının üzerinde saptanan boyalar ponceau 4R, sunset yellow ve tartrazindir.

Takahashi (1988), tarafından Brezilya'nın Sao Paulo şehrinde şekerlemeler, içecek tozları, jeller, yoğurt, dondurma ve şurubu kapsayan 55 adet örnek üzerinde boyaların kantitatif çalışması yapılmıştır. Sonuçta örneklerdeki boyaların izin verilen sınırlar üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Maslowska (1995), tarafından Polonya'da yapılan bir çalışmada jelatinli şekerlemelerdeki boyalar UV spektrofotometrik yöntemle taranmış elde edilen sonuçların Polonya'daki yasalara uygun gösterdiği tespit edilmiştir.

Topsoy (1991), tarafından Ankara piyasasında satılan 80 adet akide şekeri, 60 adet yapay içecek tozu ve 50 adet dondurma örneğindeki gıda boyalarının tayini üzerinde araştırma yapılmıştır. Sonuçta şekerlemeler ve yapay içecek tozlarında tespit edilen boyaların gıda katkı maddeleri yönetmeliğine göre kullanımına izin verilen boyalar olduğu ancak miktarlarının müsaade edilen miktarın çok üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Boyanması yasak olan dondurmaların 39 tanesinde de boya tespit edilmiştir.

Gıda boyalarının en belirgin etkileri çocuklarda hiperaktiviteye neden oldukları (Egger 1985), astımlı kişilerle aspirine duyarlı kişilerde zararlı istenmeyen reaksiyonlar meydana getirdikleri belirtilmektedir (Jublin 1981, Monoret1986, Booth 1993). 1973 yılında salisilatlar ve gıda katkı maddeleri içindeki salisilat benzeri doğal bileşiklerin özellikle yapay gıda boyaları ile tatlandırıcıların hiperaktiviteye ve öğrenme güçlüğüne neden olduğu hipotezi ortaya atılmıştır (Metcalf 1984). Öğretmen ve ailelerin subjektif klinik gözlemlerine dayanarak yapılan çalışmalarda böyle maddelerden arındırılmış diyetle beslenen çocuklarda hiperaktivitenin önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır (Swanson ve Kinsbourne 1980). Buna karşın 1984 yılında Londra'da 10 çocuk üzerinde

yapılan aynı konulu bir diğerk araştırmada ise katkısız özel diyetin hiçbir etkisi bulunmamıştır (Thorley 1984).

Sunulan çalışmada ratlara gıda boyası verildikten sonra özellikle yüksek sarı ve yüksek kırmızı gruplarında aşırı bir hareketlilik gösterdi. Gıda boyası almadan önce sakin ve hareketsiz olan ratlar aldıktan sonra hareketlerinde hızlanma gözlendi.

Gıda boyları sadece gıdalara değil ilaşlara veya kozmetik maddelerine de katılmaktadır. Bunlarında düzenlemeleri FDA tarafından yapılmaktadır. Bazı hastaların azo boylarının alımından 1 saat sonra hırıltılı nefes alma, kaşıntı, baş dönmesi ve damar tıkanıklığı şikayetlerinde bulunduğu, boya ihtiva etmeyen ilaşları alanlarda ise bu şikayetlerin olmadığı belirtilmiştir (Caucina 1994).

Astımlıların % 4-28'i aspirin ve benzeri non-steroid analjezik, antiinflamatuvar ilaşların alımıyla atağa girmektedir (Lockey vd. 1987). Bu ilaşların ortak özelliği siklooksigenaz enzim sistemini inhibe etmeleridir (Finn 1989). 45 astımlı hastaya asetil salisilik asit, tartrazin, sunset yellow, amarant, ponceau 4R, eritrosin, brilliant blue ve indigotin boylarını kapsayan diyet uygulanmış olup sonuçta sadece bir hastanın eritrosin, bir hastanın da ponceau 4R boyları ile atağa girdiği görölmüştür (Weber 1979).

Finlandiya'da 140 astımlı hastayla yapılan bir çalışmada 17 hastanın tartrazine karşı duyarlı olduğu (Stenius 1976), A.B.D.'deki başka bir çalışmada ise 40 hastadan 6 kişinin tartrazine duyarlı olduğu görölmüştür (Settipane 1975).

Rekürren ürtiker ve anjionörotik ödemi olan 75 hastanın ayrıntılı incelenmesi ve asetilsalisilik asit ve azo boyları ile projakasyon testi yapılması sonucunda, 12 hastanın asetilsalisilik asite, 7 hastanın azo boylarına ve 12 hastanın da bunların her ikisine birden duyarlı olduğu bulunmuştur. Daha sonra bu kişilere duyarlı oldukları maddeleri içermeyen özel bir diyet verilmiş ve tüm hastalar iki yıl izlenmiştir. Sonuçta hastaların % 24'ünün semptomsuz, % 57'sinin eskiye göre daha iyi olduğu gözlenmiştir (Ros 1976).

Brezilya'da 3-14 yaş grubundaki çocuklar üzerindeki yapılan bir çalışmada boyalı besinlerin tüm çocuklar tarafından günlük alım miktarları (ADI) üzerinde tüketildiği, özellikle bu değerlerin sosyo-ekonomik düzeyi düşük olan bölgelerde ve genç erkek çocuklarda daha fazla olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçların toksikolojik bakımdan bir potansiyel oluşturduğuna dikkat çekilmiştir (Toledo 1992).

Azo boyalarına karşı duyarlı olan insanlarda aşırı derecede barsak rahatsızlığı sendromu olmaktadır (Weber 1993). Yapılan bir araştırmada yaşları 16-73 arasında olan 81 hastanın % 44.4'ünde bu sendrom tespit edilmiştir. Bu hastaların % 25'i diyet (boyasız ve koruyucusuz gıdalarla) uygulayarak barsak rahatsızlıkları düzeltilebilmiş, geri kalanlarda ise ilaçla tedaviye ihtiyaç duyulmuştur (Antico 1989).

Yapılan diğer bir çalışmada tartrazinin alerjik ekzemaya neden olup olmadığı araştırılmıştır. Yaşları 1-6 arasında değişen 12 çocuğun diyetlerinde 50 mg/kg düzeyinde tartrazin verildiğinde, 12 çocuğun 11'inde tartrazine karşı intoleranslı oldukları ve hepsininde alerjik ekzema oluştuğu saptanmıştır (Devlin ve David 1992)

Benzer şikayetler genç bir erkek çocuk tarafından rapor edildiğinde, azo boyalarının ve koruyucuların olmadığı diyet uygulaması tavsiye edilmiştir. Sürekli ve rahatsız edici kaşıntıların eritrosin, azorubin, tartrazin adlı boyaların alımının kesilmesiyle düzeldiği, çocuğun bu boyalara karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir (Booth 1993).

Yapılan çalışmalarda gıda boyalarının deney hayvanlarına subkütan enjeksiyon ile tümör oluşumu özel ilgi çekmiştir. Bazı gıda boyalarının üreme ve fetüs üzerine mutajenik etki gösterip göstermedikleri incelenmiş ve sonuçta doz cevap ilişkisi olduğu saptanmıştır (Hutchinson 1992). Çeşitli hayvan deneylerinde yüksek dozlardaki sentetik boyaların oluşturduğu karaciğer hasarının uzun süreli denemelerinde karaciğerde tümör oluşumuna dönüştüğü gözlenmiştir (Golberg 1967).

Sülfolanmış azo boyası olan amarant ile yapılan bir çalışmada fareler 20-40 mg/kg boya ihtiva eden diyetlerle 24 ay beslenmişler. Farelerin % 60'ının barsak ve karın zarında sarkom oluştuğu, ayrıca artan miktarlardaki amarantın bazı üreme, gelişme ve davranış patolojilerine neden olduğu gözlenmiştir (Tanaka, 1992).

Bir başka çalışmada deney hayvanları 2 yıl boyunca diyetlerinde 5-50 mg/kg oranında Ponceau SX ile beslenmişler, sonuçta özellikle karaciğer ve meme tümörü olmak üzere önemli ölçüde tümör ve sarkom oluşumlarının gözlemlendiği belirtilmiştir (IARC, 1975).

Aromatik azo yapısındaki gıda boyaları barsakta asit, sindirim enzimleri ve barsak florasının etkisi altında kalarak redüktif parçalanmaya uğramakta ve aromatik aminler oluşmaktadır (Chung 1992). Oluşan aminler absorbe edilerek metabolize olmakta, mutajenik ve promutajenik metabolitler meydana gelmektedir (Liener 1969).

Ponceau 4R ve betakarotenin etkileri üzerine yapılan bir araştırmada ise *invivo* olarak fare kemik iliği hücrelerinin bu maddelerle teması sağlanmış ve sonuçta betakarotenin güvenli olduğu, Ponceau 4R' nin ise bu hücrelerde kromozom anormalliği yarattığı gözlenmiştir. Bu nedenle betakaroten güvenli ancak Ponceau 4R sakıncalı olduğu belirtilmiştir (Agarwal 1993).

Sunulan çalışmamızda ratlara iki hafta boyunca günlük ADI değerleri göz önünde bulundurularak gıda boyası verildi. Bunun için oluşturulan deneysel çalışmada ratlar 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubu hariç diğer gruplara tartrazin ve carmosine verildi. Bu gruplara düşük doz tartrazin 3 mg/kg, yüksek doz tartrazin 15 mg/kg, düşük doz carmosine 0.5 mg/kg, yüksek doz carmosine 2.5 mg/kg olmak üzere gıda boyası verildi. Yapılan analiz sonucunda MDA kontrol grubuna göre değişiklik göstermezken, GSH'ın ise kontrolden fazla olduğu tüm gruplarda gözlemlendi.

Ponceau 3R, sunset yellow, FCF ve amarantın fare karaciğer hücreleri kromatin yapısı üzerine etkileri ise bir diğer araştırmada incelenmiştir. Sonuçta bu azo boyalarından sunset yellowun hücre kromatini üzerine hiçbir etkisi bulunmazken diğerlerinin *invitro* RNA sentezini stimüle ettiği tespit edilmiştir (Yoshimoto 1984). Ayrıca deney hayvanlarına yüksek dozda verilen sentetik boyalardan eritrosinin karaciğer üzerinde hasar meydana getirerek uzun dönemde kanser oluşumunu başlattığı ve gözün retina tabakasında kristalin ortaya çıkardığı da gözlenmiştir (Hallström, 1987). Eritrosinle ilgili bir başka çalışmada ise troid tümör oluşumuna olan etkisi araştırılmış olup tümör oluşumu gözlenmiştir (Hiasa 1988).

İndigotin'in domuzlar, köpekler, tavşanlar, fareler ve insanlar üzerindeki uzun ve kısa süreli çalışmalarında kanserojenik, mutajenik ve teratojenik olmadığı tespit edilmiştir (Sudhic ve Khanna 1991).

Ponceau 4R ve azorubin adlı boyalar ile yapılan uzun süreli toksisite çalışmalarında her iki boyanın da kanserojenik olmadığı tespit edilmiştir (Brantom 1987; Ford 1987, Marathe 1993).

Tartrazinle ilgili hayvanlar üzerinde yapılan uzun süreli bir çalışmada farelerin diyetlerine % 1.5 oranında boya katılmıştır. Sonuçta bu değerın toksik etki meydana getirmediğini ve vücut ağırlıkça 750 mg/kg' a tekabül ettiğini tespit etmişlerdir (Combes 1986). Tartrazin ve metabolitlerinin laboratuvar hayvanları üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, hayvan vücudunda bunlara karşı spesifik antikorların oluşmadığı, ancak kontakt sensitizasyon oluşturduğu ve insanlarda benzer etkiler oluşturabileceği bulunmuştur (Safford ve Goodwin 1985). Tartrazin hayvandaki etkisinin gösterilebilme kriterlerinden biri olarak önerilen idrarlardaki bakteriyel mutajenite konusu ise tartışmalıdır (Henschler ve Wild 1986).

Japonya'da birçok şehirde uzunca bir süre benzil violet 4B adlı boya gıda boyası olarak kullanılmıştır. 12 ay boyunca 35 dişi rat % 5 oranında benzil violet 4B ihtiva eden diyetle beslenmiştir. Sonuçta büyümenin önemli bir şekilde durduğu ve sadece 2 ratın deneyi sürdürebildiği gözlenmiştir. 12 ay boyunca diyetleriyle yüksek dozda verilen benzil violet 4B nin sonuçta dişi farelerde meme kanseri oluşumu gözlenmiş kontrol gruplarında ise gözlenmemiştir (Sudhic ve Khanna 1991).

Sonuç olarak; Afyonkarahisar piyasasında satışa sunulan lokumların bir kısmında kullanılan gıda boyalarının bilinçsiz bir şekilde, yüksek miktarlarda kullanıldıkları tespit edilmiştir. Gıda boyalarının gelişigüzel miktarlarda kullanılmasını engellemek için etkin bir denetimin düzenli olarak yapılması ve üreticilerin gıda katkı maddeleri konusunda daha duyarlı olabilmeleri için eğitilmeleri gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

Adams E.J., 1992, Nutritional Care in Food Allergy and Food İntolerance.Mohan LK., Arlin M. (Ed):Food Nutrition and Food Therapy. WB Saunders Company. Philadelphia.

Agarwal K., Mukherje A., Sharma A., 1993, "Configurational changes in rat liver nuclear chromatin caused by azo dyes", Food Chem. Toxic 22: 337-344

Akkuş, İ., 1995, "Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri"., 1. Baskı, Mimoza Yayınları. s. 3-10.

Aksoy M., 1984, Beslenme ve Kanser, Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik 26.

Alperden İ., Kocakuşak S., 1979, Gıda maddelerinde çeşitli standartlara göre müsaade edilmeyen katkı maddelerinin saptanması. TÜBİTAK Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü. 38: 1-60

Altuğ T., Boyacıoğlu D., Kurtcan Ü., Demirağ K., 1990, Gıda katkı maddeleri Analiz Yöntemleri Ege Üniv. Müh. Fak. Yay. No: 47, Gebze-Kocaeli.

Anderton J., 1988, The Chromatografic examination of permissible food dyes. Analytica Chimica Acta. 8. 85-90.

Antico A., Soana R., Clivio L., Baioni R., 1989, Irritable bovel syndrome in food additive intolerance Miner. Diet. Gast. 35:4. 219-224

Anonymous, 1986, Instrumentation Food Colors. Food Tec. 49.55.

Anonymous, 1997, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete., Sayı: 23172
16

Aruoma, O., Kaur, H., Halliwell, B., 1991, "Oxygen free radicals and human diseases", J. R. Soc Health. 111(5):172-7.

Aşıcıoğlu, Y.T. 2005, "Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi" Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bۆlüm Uzmanlık Tezi.

Baron, JH., 1996, "Studies of basal acid output with an augmented histamine test", Gut; 4:136-44.

Bayhan A., 1989, Gıda katkı maddesi olarak sülfitleerin kullanılması. Gıda Sanayi Dergisi.

Baysal, A., 1990, Beslenme 5. Baskı, Hacettepe Üniversitesi yayın No: A/61:289. Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L., 2002, "biochemistry", W.H. Freeman and Co., New York 16:919-923.

Bhagavan, N.V., 2002, "Medical Biochemistry", Harcourt Academic Press, Kanada Booth J., 1993, Food intolerance in a child with urticaria. Jove Human Nut. and Diet. 6: 4. 377-380

Biron G., Spencer N., and Cameron A., 1972, Food Science, pergoman pres Oxford. 189.

Booth j., 1993, Food intolerance in a child with urticaria. J. of Human Nut. And Diet. 6: 4. 377-380.

Brantom P.G., Stevenson B.I., Wright M.G., 1987, "Long term toxicity study of Ponceau 4R in rats using animals exposed in utero Food and Chem", Toxic 25:12. 955-962

Briggs D.R., 1997 Food Additives. Wahlgvist ML(Ed). Food and Nutrition. Allen & Unwin Pty Ltd. Australia.

Brown J.E., 1997 Nutrition Now. West Publishing. St. Paul.

Buğra, B., Mihmanlı, M. 2004, "Mide kanseri ve cerrahi tedavisi", İstanbul, Avrupa tıp kitapçılık., s: 157.

Büyükpamukçu E., Saldamlı İ., 1995, Ankara piyasasında satışı sunulan şekerlemelerin renk maddesi içeriklerinin belirlenmesi. Gıda 20: 6. 397-404.

Carbaroğlu T., 1993, Canbaş A. Şarapçılıkta Kükürt Dioksit Kullanımı ve Önemi. Gıda. 18(2):83.

Caucino J.A., Armenaka M., Rosenstreich D.L., 1994, Anaphylaxis associated with a change in premarin dye. Formulation. Ann. Allergy. 72: 1. 33-35

Cemek M., Büyükokuroğlu M.E., Bayroğlu F., Koç M., 2008, "Irradiation, radioprotection and nigella sativa" (Book Chapter). Herbal Radiomodulators: Applications in Medicine, Homeland Defence and Space. Medicinal and Aromatic Plants Laboratory Division of Radiation Biology and Radioprotection Institute of Nuclear Medicine and Allied Sciences (Defence Research and Development Organization).

Chen I.Y., Mehta P., Mehta J.J., 1996, "Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets. Relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function", Circulation 93: 1740-1746.

Cheeseman, KH., Slater, TF., 1993, "An introduction to free radical biochemistry" Br Med Bull. 49(3): 481-93, Review

Chung K.K., Stevens S.E.J.R., Cerniglia C.E., 1992, The reduction of azo dyes by the intestinal microflora. *Crit. Rev. Microbiol.* 18. 3. 175-190

Cochrane, G., 1991, "Cellular injury by oxidants", *Am J Med.* 30;91(3C):23-30.

Collins C, 1992, Food Science and Nutrition Professor, Extension Specialist, Department of Food Science and Human Nutrition, Colorado State University, Room 200-B.

Combes R.D., 1986, "On the mutagenicity of tartrazin Arc", *Toxicol* 59:67-68

Crosby, N. T., 1981, Food packaging requirements. In *Food packaging materials— aspects of analysis and migration of contaminants* pp. 9–18.

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarani, D., Milzani, A., Colombo, R., 2003, "Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress", *Clinica chimica acta*, Vol.69, pp. 779–790

Deby, C., Pincemail, J., 1998, "Oxygen toxicity, free radicals and defense mechanisms. In: *Rökan (Ginkgo Biloba)*", Recent result in pharmacology and clinic. Ed: Fünfgeld EW. Springer- Verlag, Berlin pp: 57-70.

Demirağ K., Altuğ T., 1990, İzmir ve çevresinde satılan bazı gıdalardaki sentetik organik boyaların saptanması. *Gıda San.* 19:31-36.

Demirer M.A., 1974, Şekerlerdeki boyaların ince tabaka kromatografisi ile tanımlanmaları üzerine araştırmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Der.* 21: 145-150

Demirer M.A., 1987, Gıda Katkı Maddeleri Ders Notları, A. Ü. Vet. Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi A.D.

Devlin J., David T.J., 1992, Tartrazine in atopic eczema. Arch. Dis. Childhood. 67: 709-711

Dorgan, JF., Sowell, A., Swanson, CA., Potischman, N., Miller, R., Schussler, N., Stephenson, H. E., 1998, "Relationships of serum carotenoids, retinol, alpha-tocopherol and selenium with breast cancer risk: results from a prospective study in Columbia, Missouri (United States)", Cancer Causes Control. 9(1):89-97.

Dünder, Y., Aslan, R., 2000, "Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar" A.K.Ü. Afyonkarahisar.

Egger J., 1985, Controlled trial of alligo antigenic treatment in the hyperkinetic syndrome. Lancet 540

Ekşi A., 1996, Ankara piyasasından sağlanan pasta süsleri ve bazı şekerlerde sentetik boya miktarlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. G.Ü. Sağ. Bil. Enst. Bes. Anal. Ve Bes. Bilim Dalı

El-Hatib E., 1974, Türkiyede Bazı Besinlere Katılan Sentetik Organik Boyaların Saptanması Üzerine Araştırmalar., Ankara.

FAO, 1994, Nutrition Neetings Report Series Toxicological Evaluation of some food Additives Inoluding Food Colours, Enzymes, Flavour Enhancera Thinekening Agents and other No: 55/A Rome.

Fang, YZ., Yang, S., Wu, G., 2002, "Free radicals, antioxidants, and nutrition", Nutrition. 18(10):872-9.

Finn R., 1989, Pharmacological actions of foods. Ed. Brostoff. J.and Chalacombe, B.''Food allergy and intolerance''. Bailliere Tindall. London. 425-430

Ford G.P., Stevensen B.L., Evans J.G., 1987, "Long term toxicity study of Ponceau 4R in rats using animals exposed in utero Food and Chmic", Toxic 25:12. 955-962

Furia E.T., 1975, Color Additives in food. CRC Prss.Handbook. of food additives 2.edition 589-603

Gezer C., 1993, Akide şekerlerine katılan sentetik organik gıda boyalarının kalitatif ve kantitatif tayini üzerine bir çalışma. Yüksek Lisans Tezi, G.Ü. Fen Bil. Enst. Ankara

Gilbert D.L., Colton C.A, 2002, "Reactive oxygen species in biological systems: An interdisciplinary approach", Kluwer Academic Publishers New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow.

Gherorghiev G.K., 1987, The international regulation and control of food additives. The first International symposium on food industry. İzmir.

Golberg L., 1967, The toxicology of artifical coloring materials. Cos. Chemists. 18: 421-432

Gökalp H.Y., 1985, Et Ürünlerine Katılan Nitrat, Nitrit Miktarının Azaltılması. N-Nitrosamin Oluşum Reaksiyonlarının Engellenmesi ve Gıdalarda N- Nitrosaminlerin Saptanması Gıda. 10(3):161.

Gökmen H., Köksal G., 2001, Bebek beslenmesinde yağ asitlerinin önemi. Beslenme ve Diyet Dergisi, 301 :35-44.

Grisham, MB., Mc Cord, JM., 2000, "Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites" In: Physiology of oxygen radicals. Ed: Taylor AE, Malton S, Ward PA. American Phsiology Society, Bethesda, Maryland, USA, pp: 1-18.

Gutteridge J.M.C., 1995, "Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage", Clin Chem 41(12): 1819-1828.

Gutteridge J.M.C., Halliwell B., 1990, "The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems", Trends Biochem Sci 15: 129-135.

Gürcan T., 1993, Gıda Maddelerinin Toksikolojik Açıdan Değerlendirilmesi. Gıda Sanayii 7(2): 29.

Halliwell B., Gutteridge, J.M.C., 1999, "Free radicals in biology and medicine", Oxford University Press Inc., New York, 936.

Hallström H., 1987, "Colours in foodstuffs", Toxicological Aspects Vâr Föda 39: 415-419

Henschler D., Wild D., 1986, Mutagenicity of tartrazine revisited Arch, Toxicol 59:69-70

Hiassa Y., Ohshima M., Kitaheri Y., Konishi N., Shimoyama T., Sakguchi Y., Hashimoto H., Minami S., Kato Y., 1988, "The promoting effects of food dyes erythrosine (Red 3) and rose bengal B (Red 105) on thyroid tumors", Japanese J.Cancer Research 79:3. 314-319

Hicks D., 1978, The value of added colourings in food and drinks international Congress of science and technology Abs. 290.

Hunziker H.R., Zimmerli B., 1984, Intake estimation of food additives as exemplified by red synthetic food colours. Mitteil. Dem Geh. Lebens. Tersuch. Und Hyg. 75:1. 77-92

Hutchinson A.P., Carrick B., Miller K., Nicklins S., 1992, Adverse reactions to synthetic food colours interactions between tartrazine and muscarinic acetyl choline receptors. In isolated quinea pig ileum. Toxicol. Left. 60: 2. 165-173

IARC, 1975, Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans, some aromatic azo compound. Lyon.

Jacopson MF., Fritschner I., 1991, The Completely Revised and Updated Fast Food Guide. Workman Publishing. New York.

Jain, S., Mc Vie, R., Duett, J., Herbs, J., 1989, "Erythrocyte membrane lipid peroxidase and glycolylated hemoglobin in diabetis" Diaetes, Vol.38, pp 1539-1543.

John, P., Richie, Jr., 1992, "The role of glutathione in aging and cancer", Experimental Gerontology 27: 615-26.

Jublin L., 1981, Recurrent urticaria cilinical investigation. of 330 patients. Brit. J.Derm. 104 363

Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N., Tifitik, M. A., 2000, "Biyokimya" Nobel Yayın Dağıtım, Ankara

Kalyoncu A.,1995, Ankara piyasasında satılan çeşitli dondurma,şekerleme ve pasta sslerine katılan sentetik gıda boya larının kantitatif olarak araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. H..Sağ. Bil. Enst. Ankara

Karabulut, A.B., 2001, "Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan enzimler, nitrik oksit düzeyleri ve plazma stokinleri" doktora tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Malatya

Khanna K.S., Singh G.B., 1984, Use of synthetic dyes in estables of rural area. Indust. Toxicol. Resarch. 80: 269–770

Köylü, A.A., 2003, "eşitli kanser türlerinde lipit peroksidasyonu, antioksidan enzimler ve bunların tümör belirteçleri ile olan ilişkileri", Uzmanlık tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, şanlıurfa

Kılınç K., Kılınç A., 2002, "Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri", Hacettepe Tıp Dergisi 33: 110-118.

Larsson Ac ve Nilsson I., 1987, Faktablad om fargamnen Var Föda, 39:43373.

Lewis S., Dacie J., 1984, Practical haematology.

Liener E.I., 1969, Toxic constituents of plant food stuffs. Food Sci. and Techn. A Series monograph. 357–359

Marathe S.A., Adhikari H.R., Ntrwali M.S., Nar P.M., 1993, “In vitro toxicity evaluation of a product obtained from carmoisine using tetrahymena pyriforms clls Food and Chem ’’Toxicol 31:10.739-744

Maslowska J., Janiak J., 1995, Stady of contents of synthetic food dyes in gelatine jellies. Roczniki Ponstwowego Zakladu. Higieny. 46: 1. 21-29

Mathers, J., Fraser, J., McMahon, M., Saunders, R., Hayes, J., McLellan, L., 2004, “Antioxidant and cytoprotective responses to redox stres” Biochem Soc Symp. (71): 157–76.

Memişoğulları R., 2005, “Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi”, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 3: 30-39.

Menteş G., Ersöz B., 1993, “Harper’ın Biyokimyası”, Barış Kitabevi, İstanbul, Türkiye.

Metin M., ve Kayahan M., 1984, Gıda katkı maddeleri ve kullanılma amaçları, Gıda teknolojisi derneği, No: 5: 213-23.

Moneret Vautrin, 1986, Food antigens and additives. J. allergy clin immunol, 78: 1039-46.

Montgomery, R., 1996, “Biochemistry A case-oriented Approach 6th edition”, Mosby-Year book, 5: 203-204.

- Murray, R., 1990, "Harper's Biochemistry" 13:110-5, 23 th ed. Appleton and Lange.
- Newsome L., 1986, Food colours. Food Tec. 40-49-56.
- Neyer L.H., 1975, Food Chemistry. Avitext Book Series 355.
- Noonan J.E., Meggos H., Furia T.E., 1980, Synthetic food colors, No: 339-82
- Onat T., Emerk K., Sözmen E.Y., 2002, "İnsan Biyokimyası", Palme Yayıncılık, Ankara.
- Öztürk, M., Guzelhan, Y., Sayar, K., Tuzun, U., 2001, "Yaygın Gelişimsel Bozukluğu Olan Çocuklarda Plazma Malondialdehit ve Glutasyon Düzeylerinin Araştırılması" Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 11: 155-159.
- Pollock I., Warner J.O., 1980, Effect of artifical food colours on childhood behaviour. Ach. Disease in Childhood. 65: 174-77.
- Porter, NA., 1998, "Chemistry of lipid peroxidation" Methods Enzymol.105:273-282.
- Renwiek A.G., 1995, The Use of an Additional Safety or Uncertainty Factor for Nature of Toxicity in the Estimation of Acceptable Daily İntake and Tolerable Daily İntake Values.Regulatory Toxicotry and Pharmacology. 22:250.
- Ros A.M., Juhlin L., Michaelson G., 1976, A fallow up study of patients with recurrent urticaria and hypersensitivity to aspirin, benzoat and azo dyes. Br,J.Dermatol. 95: 19-24
- Safeway H.L., 1987, Additives why do we need them. Issved by safeway Nut. Adv. Ser. London.
- Safford R.J., Goodwin B.F.J., 1985, "Immunological studies on tartrazine and its metabolites", Int Archs. Allergy appl.Immunol 77:331:336

Saldamlı İ., 1985, Gıda katkı maddeleri ve Ingrdiyenler, H.Ü.Müh.Fak.Gıda Müh.Böl.
Ankara

Saldamlı İ., 1998, Uygun Ü. Gıda Katkı Maddeleri. Saldamlı İ.(Ed):Gıda Kimyası.
Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara.

Settipane G.A., Pudupakkan R.K., 1975, Aspirin intoleranc 111 Subtypes, Familial
occurance and cross reactivity with tartrazine J.Allergy. Clin. İmmunol. 56: 215-221

Smith, V., Genta R., 2000, “Role of Helicobacter pylori Gastritis in Gastric Atrophy,
Intestinal Metaplasia, and Gastric Neoplasia” Microscopy Research and Technique 48:
313-20.

Sodeman, W., Sodeman, T., 1991, “Sodeman’s Pathologic Physiology Mechanism of
Disease” Fizyopatoloji cilt-2, Ankara:Türkiye Klinikleri Yayınevi,:720-724.

Southorn, P., Powis, G., 1998, “Free radicals in medicine”, I. Chemical nature and
biologic reactions. Mayo Clin Proc.63(4):381-9.

Spiteller G., 2001, “Peroxidation of lineoleic acid and its relation to aging and age
dependent diseses”, Mechanisms of Ageing and Development 122: 617-657.

Stenius B.C.M., Lemola M., 1976, Hypersensitivity to acetylsalicylic acid (ASA) and
tartrazine in patients with asthma.Clin.Allergy. 6: 119-129

Sudhıc S., Khanna S.K., 1991, “Toxicological evaluation of permitted food colours”,
Part.IV Indigoid dye(blue)Ind. Dairy . 43:11.501-504

Swanson J.M., Kinsbource M., 1980, Food dyes impair performance of hyperactive
children on a laboratory. Learning test. Science. 207:1485-1486

Şimşek, I., Aytekin, F., Yeşilada, E., Yıldırım, Ş., 2002, “Anadolu’da halk arasında
Bitkilerin kullanılış Amaçları Üzerinde Etnobotanik Bir Çalışma” 14.Bitkisel ilaç

Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir, Eds. K.H.C. Başer ve N. Kırimer 434–457.

Takahashi M.Y., Yabukı H.Y., Mariglia D.A.P., 1988, Quantitative determination of synthetic dyes in foods. Revis. Domst. Adolfo Lutz. 48: 7–15

Tanaka T., 1992, Effects of amaranth on F1 generation mic. Toxicol. Let. 60: 315–324

Tetik, L., 2005, “Tezek dumanına maruz bırakılan tavşanlarda N-Asetil sisteinin histopatolojik ve oksidan/antioksidan sistem üzerine etkileri” A.K.Ü. Bilimsel araştırma projesi No: 041.TI P.03.

Thorley G., 1984, Pilot study to assess behavioral and cognitive effects of artificial food colors in a group of retarded children. Develop. Med. Child.Neurol. 26: 56–61

Thomas B., 1988, Manual of Dietetic Practice. Blackwell Scientific Publications. Oxford.

Toledo M.C.F., Gerchon M.S., Ragazzı S., 1992, Potential weekly intake of artificial food colours by 3-14 year old children in Brazil. Food Addit. And Contam. 9: 4. 291-301

Topsoy H., Demirer M.A., 1991, Bazı şekerli gıdalara katılan sentetik organic gıda boyalarının miktar tayini. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 48: 21-37

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete., Kasım 1997 Sayı: 23172 16.

Ulakoğlu Z., Gümüştaş, M., Belce, A., Altuğ, T., Kökoğlu, E., 1998, “Strese bağlı mide mukozası hasarında endojen glutatyon tükenişinin enerji metabolizması ile ilişkisi” Cerrahpaşa J Med 29 (3) 127-131.

Uysal M., 1998, “Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan dengeyi etkileyen koşullar”, Klinik Gelişim 11: 336-341.

Velioğlu S., 1987. Renkleri ve Aromasıyla Gıdalarımız. TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi 20 (236): 27-29.

Walford J., 1980, Histerical Development of Food Coloration in Development in Food Colours Applied Science Publ. Lid. London.

Weber R.W., 1993, Food additives and allergy. J.Allergy. Clin. İmmunol. 70: 183-190

Witko-Sarsat V., Rieu, P., Descamps-Latscha, B., Lesavre, P., Halbwachs-Mecarelli, L., 2000, “Neutrophils: molecules, funcion and pathophysiological aspects”, Laboratory Investigation, Vol.80, No:5,pp.617-653.

Wood E.S., Simith, C.A., 1991, “Moleculer and Cell Biochemistry” , Chapman&Hall, Hong Kong

Yaman M., 1996, Bazı gıda maddelerine katılan sentetik boya miktarlarının araştırılması. Doktora Tezi. Gazi Üniv.Sos.Bil.Enst. Ankara

Yarıktaş M., Fehmi, D., Doğru, H., Aynalı, G., Yönden, Z., Dlebaş, N. 2003, “Baş-boyun maling tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve anti oksidan enzim aktiviteleri” 10: 65-67.

Yenson M., 1995, “İnsan Biyokimyası”, Güneş Kitabevi, Ankara

Yentür G., Karakaya A., 1985, “Kullanımı yasaklanan aromatik azo yapısındaki gıda boyaalarının bazı gıda maddelerinde araştırılması”Gıda 10: 371-76.

Yentür G., Bayhan A., 1990, Bazı Gıda Maddelerinde Sorbik ve Benzoik Asit Miktarlarının Araştırılması. Gıda. 15(2): 79.

Yılmaz, S., Temizer O., 2003, "Meme Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki" Türk Biyokimya Dergisi 28: 252-256.

Yoshimoto M., Yamaguchi M., Hatano S., Wertanab T., 1984, "Configurational changes in rat liver nuclear chromatin caused by azo dyes", Food Chem. Toxic 22: 337-344

Young I.S., Woodside J.V., 2001, "Antioxidants in health and disease", J Clin Pathol 54: 176-186.

Yurttagül M., 1991 Tüketicilerin Gıda Katkı Maddeleri İle İlgili Bilgi ve Uygulamaları. Beslenme ve Diyet Dergisi. 20(2): 199.

Yücecan S., 1999, İnşaat işçilerinin enerji harcamaları, beslenme ve sağlık durumları. H. Ü. Sağlık Teknolojisi Yüksekokulu Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara.

6.1 İnternet Kaynakları

1. <http://www.tip2000.com>
2. www.wikipedia.org
3. www.karlizade.net.tr