

**T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**RENKLENDİRİCİ GIDA KATKI MADDELERİNDEN  
BRILLIANT BLUE VE SUNSET YELLOW'UN İNSAN  
PERİFERAL LENFOSİT KÜLTÜRLERİNDE GENOTOKSİK  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Esra KUŞ**

**Tez Danışmanı  
Yrd. Doç. Dr. Halil Erhan EROĞLU**

**Yozgat 2013**



**T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**RENKLENDİRİCİ GIDA KATKI MADDELERİNDEN  
BRILLIANT BLUE VE SUNSET YELLOW'UN İNSAN  
PERİFERAL LENFOSİT KÜLTÜRLERİNDE GENOTOKSİK  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Esra KUŞ**

**Tez Danışmanı  
Yrd. Doç. Dr. Halil Erhan EROĞLU**

**Bu çalışma, Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
2012-FBE/T12 kodu ile desteklenmiştir.**

**Yozgat 2013**

T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAYI

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı 70110310006 numaralı öğrencisi Esra KUŞ'un hazırladığı "Renklendirici Gıda Katkı Maddelerinden Brilliant Blue ve Sunset Yellow'un İnsan Periferal Lenfosit Kültürlerinde Genotoksik Etkilerinin Araştırılması" başlıklı YÜKSEK LİSANS tezi ile ilgili TEZ SAVUNMA SINAVI, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği uyarınca 20/06/2013 Perşembe günü saat 10:00'da yapılmış, tezin onayına OY BİRLİĞİYLE karar verilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Dilek PANDIR

*Dilek Pandir*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Halil Erhan EROĞLU (Danışman)

*HER*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Sedat Per

*Sedat Per*

ONAY :

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 04.../.../2013 tarih ve

15 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

04/07/2013

Enstitü Müdürü

Yrd.Doç.Dr. Ramazan COŞKUN  
Bozok Üniversitesi  
Fen.Bil.Enst.Müd.V.



2.2.1. Güvenlik Sınırının Nedeni.....	13
2.3. Mikronükleus Oluşum Mekanizması ve Kriterleri.....	13
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>15</b>
3.1. Gereçler .....	15
3.1.1. Demirbaş Malzemeler.....	15
3.1.2. Sarf Malzemeler.....	15
3.2. Çalışmada Kullanılan Madde ve Çözeltilerin Hazırlanması .....	16
3.2.1. Kültür Medyumunun İçeriği .....	16
3.2.2. Hipotonik Solüsyonunun Hazırlanması .....	17
3.2.3. İbrainov Solüsyonunun Hazırlanması.....	17
3.2.4. Fiksatifin Hazırlanması.....	17
3.2.5. %5'lik Giemsa Boyasının Hazırlanması.....	17
3.3. Renklendirici Gıda Katkı Maddelerinin Konsantrasyonlarının Hazırlanması	17
3.4. Periferel Kanların Alınması.....	17
3.5. Periferel Kan Kültürü .....	18
3.5.1. Kültürün Sonlandırılması (Çıkarım).....	18
3.5.2. Preparat Hazırlanması ve Boyanması .....	19
3.5.3. Mikroskop Değerlendirmesi ve Hesaplama.....	20
3.5.3.1. Mitotik İndeks Sayımı ve Hesaplanması .....	20
3.5.3.2. Replikasyon İndeksi Sayımı ve Hesaplanması .....	20
3.5.3.3. Mikronükleus Sayımı ve Değerlendirmesi .....	20
3.6. İstatistiksel Analiz .....	21
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>22</b>
4.1. Sunset Yellow'un Mikronükleus Bulguları.....	22
4.2. Sunset Yellow'un Mitotik İndeks Bulguları .....	23
4.3. Sunset Yellow'un Replikasyon İndeksi Bulguları .....	24
4.4. Brilliant Blue'nun Mikronükleus Bulguları .....	25
4.5. Brilliant Blue'nun Mitotik İndeks Bulguları .....	26
4.6. Brilliant Blue'nun Replikasyon İndeksi Bulguları.....	27
<b>5. TARTIŞMA – SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>28</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>32</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>36</b>

**RENKLENDİRİCİ GIDA KATKI MADDELERİNDEN BRILLIANT BLUE  
VE SUNSET YELLOW'UN İNSAN PERİFERAL LENFOSİT  
KÜLTÜRLERİNDE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Esra KUŞ**

**Bozok Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Ana Bilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**2013; Sayfa: 36**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Halil Erhan EROĞLU**

**ÖZET**

Mutajenik, karsinojenik, teratojenik ve güçlü toksik faktörlerin, insanlar ve diğer canlılar üzerindeki genotoksik ya da mutajenik etkilerinin incelenmesinde çeşitli sitogenetik yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Brilliant Blue ve Sunset Yellow renklendirici gıda katkı maddelerinin periferel kan lenfositlerinde mikronükleus, mitotik indeks ve replikasyon indeksi üzerine etkileri değerlendirildi. Genotoksik testlerin sonuçlarına göre, Brilliant Blue ve Sunset Yellow mikronükleus sıklığını arttırırken, mitotik indeks ve replikasyon oranlarını azalttı. Sonuçlar bu renklendirici gıda katkı maddelerinin özellikle yüksek konsantrasyonlarda potansiyel genotoksik ve sitotoksik bileşikler olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Brilliant Blue, Sunset Yellow, Genotoksik

**THE INVESTIGATE OF GENOTOXIC EFFECTS OF BRILLIANT BLUE  
AND SUNSET YELLOW FROM FOOD COLORANT ADDITIVES IN  
HUMAN PERIPHERAL LYMPHOCYTE CULTURES**

**Esra KUŞ**

**Bozok University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology  
Master of Science Thesis**

**2013; Page: 36**

**Thesis Supervisor: Asist. Prof. Halil Erhan EROĞLU**

**ABSTRACT**

The various cytogenetic methods are used to examine genotoxic or mutagenic effects on people and other organisms of mutagenic, carcinogenic, teratogenic and strong toxic factors. In this study, it was investigated that the effects of Brilliant Blue and Sunset Yellow from food colorant additives on micronucleus, mitotic index and replication index in peripheral blood lymphocytes. According to the results of the genotoxic tests, the Brilliant Blue and Sunset Yellow are increased the frequencies of the micronucleus and decreased the rate of mitotic and replication indexes. The results showed that these food colorant additives are potential genotoxic and cytotoxic compounds at high concentrations.

**Keywords:** Brilliant Blue, Sunset Yellow, Genotoxic



## TEŐEKKÜR

Tezimin planlanması ve gerekleştirilmesinde, beni yönlendiren, fikir ve bilgisini paylaşan, yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Halil Erhan EROğLU'na, çalışmam sırasında bölümümüzdeki imkanlarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı değerli hocam Doç. Dr. Dilek PANDIR'a ve değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Sedat Per'e teőekkürlerimi sunuyorum.

Her zaman yanımda olan ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen canım annem Perihan KUŞ'a, ayrıca tezimin yazımında bana yardımcı olan canım kuzenim Banu nder'e sevgilerimi ve teőekkürlerimi sunarım.

Bu alışma Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen "Renklendirici Gıda Katkı Maddelerinden Brilliant Blue ve Sunset Yellow'un İnsan Periferal Lenfosit Kültürlerinde Genotoksik Etkilerinin Araştırılması" başlıklı 2012-FBE/T12 kodlu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Desteklerinden dolayı Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teőekkür ederim.

## ÇİZELGELER LİSTESİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Çizelge 4.1.</b> Sunset Yellow'un Mikronükleus Değerleri .....	22
<b>Çizelge 4.2.</b> Sunset Yellow'un Mitotik İndeks Değerleri.....	23
<b>Çizelge 4.3.</b> Sunset Yellow'un Replikasyon İndeksi Değerleri.....	24
<b>Çizelge 4.4.</b> Brillant Blue'nun Mikronükleus Değerleri.....	25
<b>Çizelge 4.5.</b> Brillant Blue'nun Mitotik İndeks Değerleri .....	26
<b>Çizelge 4.6.</b> Brillant Blue'nun Replikasyon İndeksi Değerleri .....	27

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 2.1. Brilliant Blue Açık Formülü .....	5
Şekil 2.2. Sunset Yellow Açık Formülü .....	6
Şekil 4.1. Sunset Yellow'un Mikronükleus Ortalamalarının Grafiği .....	22
Şekil 4.2. Sunset Yellow'un Mitotik İndeks Ortalamalarının Grafiği .....	23
Şekil 4.3. Sunset Yellow'un Replikasyon İndeksi Ortalamalarının Grafiği .....	24
Şekil 4.4. Brilliant Blue'nun Mikronükleus Ortalamalarının Grafiği .....	25
Şekil 4.5. Brilliant Blue'nun Mitotik İndeks Ortalamalarının Grafiği .....	26
Şekil 4.6. Brilliant Blue'nun Replikasyon İndeksi Ortalamalarının Grafiği .....	27

## KISALTMALAR LİSTESİ

ANOVA	: Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi
ADI	: Günlük Alınabilecek Doz Miktarı
°C	: Santigrat Derece
CAS	: Kimyasal Numaralandırma Sistemleri
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
FCS	: Sığır Fetüsü Serumı (Fetal Calf Serum)
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
G	: Gram
KCl	: Potasyum Klorür
Km	: Kilometre
LSD	: En Önemli Farklılıklar
M	: Metre
MAK	: Uzun süre maruz kalmada zararsız olabilecek en yüksek doz
Mg	: Miligram
M1	: Mononükleat Hücreler
M2	: Binükleat Hücreler
M3	: Trinükleat ve Polinükleat Hücreler
MI	: Mitotik indeks
ML	: Mililitre
MN	: Mikronükleus
M.Ö	: Milattan Önce
NaCl	: Sodyum Klorür
RI	: Replikasyon indeksi
rpm	: Devir / Dakika
SS	: Standart Sapma
INS	: Kimyasal Numaralandırma Sistemleri

## 1. GİRİŞ

Günümüzde insan sağlığına, biyolojik yapı ile fiziksel ve kimyasal faktörlerin yanı sıra çevresel faktörlerinde çok önemli etkisi olduğu şiddetle vurgulanmaktadır. Ciddi kusurlara neden olan ve hastalıklara zemin hazırlayan dış etkenlerin başında, günlük yaşantımızda farkında olarak ya da olmayarak karşı karşıya kaldığımız doğal ya da sentetik kimyasal maddeler gelmektedir. Günümüzde hızlı endüstrileşmeye bağlı olarak çevresel kirliliğin giderek artmasıyla, canlıların daha fazla fiziksel ve kimyasal ajana maruz kalmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla güçlü toksik, mutajenik, karsinojenik ve teratojenik faktörlerin olumsuz etkilerini tespit ve önlemler alma ihtiyacı kaçınılmaz olmaktadır. Bu faktörlerin, insanlar ve diğer canlılar üzerinde genotoksik ya da mutajenik etkilerinin incelenmesinde çeşitli sitogenetik yöntemler kullanılmaktadır [1]. Bu çalışma kapsamında da bazı sitogenetik testler uygulanarak gıdaların renklendirilmesinde kullanılan Brilliant Blue ve Sunset Yellow katkı maddelerinin genotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Gıdalarda kullanılan ve direkt beslenme yoluyla maruz kaldığımız bu maddelerin herhangi bir zararlı etkilerinin bulunup bulunmadığının belirlenmesi insan sağlığı açısından çok önemli bir konudur.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Gıda Ürünlerinde Bulunan Katkı Maddeleri**

Gıdalara istenilerek kimyasal madde katılımı ile ilgili tarihsel gelişmeler incelendiğinde, tuz ve odun tütsüsünün bilinen en eski katkı kullanma yöntemleri olduğu anlaşılmaktadır. Gıda boyalarının kullanımı M.Ö 3500 yıllarında eski Mısır'a kadar dayanmaktadır. M.Ö. 3000'li yıllarda ise et ürünlerini saklamada tuzdan yararlanıldığı, M.Ö. 900'lü yıllarda hem tuz, hem de odun tütsüsünün gıda saklama yöntemleri olarak kullanıldığı görülmektedir. Ortaçağda tuz ve odun tütsüsünün yanı sıra, etlere nitrat konarak hem botilizm önlenmeye çalışılmış, hem de etin renginin daha sağlıklı görüldüğü fark edilmiştir [2].

#### **2.1.1. Katkı Maddesi**

Tüketime sunulan veya sunulacak olan gıdaların görünüm ve lezzetlerini tüketicinin arzu ettiği duruma getirmek, bozulmalarını önleyerek, gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla gıdalara tüketime sunulmadan önce bilinçli ve amaçlı olarak ilave edilen maddelere "Gıda Katkı Maddeleri" denmektedir [3].

Besinlerin içinde bulunan maddeler dışında değişik kimyasal maddeler ve bu kimyasal maddelerin karışımından oluşan katkı maddeleri besinlere değişik süreçlerde eklenmektedir. Örneğin; üretim, işleme, paketlenme ve depolama gibi [4].

Kullanılan katkı maddelerinin miktarı ve cinsinin sağlık kuruluşları tarafından onaylanması gerekmektedir. Bu konuda Amerika'da bulunan Food and Drug Administration (FDA) çok önemli bir kuruluştur [4].

FDA bilgilerine göre Amerika'da önemli oranda katkı maddesi kullanılmakta ve bu maddelerin %98'ini şeker, tatlandırıcı, tuz, sitrik asit, biber, sebze renkleri, hardal, bira mayası ve soda oluşturmaktadır. Onay almış katkı maddelerinin sayısı ise 2.800'ü geçmiştir [4].

Katkı maddeleri genel olarak ikiye ayrılır. Bunlardan birincisi olan besinsel katkıları yiyeceklerin besin ve vitamin değerini arttırmaktadır. Kozmetik katkıları ise daha çok

besinin görünüşünü, rengini ve tadını değiştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Katkı maddelerini yapay ve doğal olarak da ikiye ayırmak mümkündür [4].

Koruyucu katkılara besinlerin uzun süre taze kalması ve besin kalitesinin düşmemesi için başvurulmaktadır. Ayrıca besinlerin üretimi, işlenmesi, depolanması ve taşınması sırasında gerekli olan katkı maddeleri de bulunmaktadır. Tüketici besinlerde hangi katkı maddelerinin ne kadar kullanıldığını ve sağlığa olumsuz taraflarını bilmek zorundadır [4].

Besinlerde kullanılan gıda katkı maddelerinin beslenme kalitesini sağlaması, kalite ve dayanıklılığı gerçekleştirerek artık oranında bir azalma sağlaması, işlenmeye yardımcı olması aranan özelliklerdir. Bir gıda katkı maddesi işleme ve üretim hatalarını gizlememeli, tüketiciyi aldatmamalı ve bir besinin besleyici değerini düşürmemelidir [5].

Bazı gıda katkı maddelerine duyarlı olan insanlar reaksiyon verebilirler. Avrupa'da nüfusun %0.03-0.10'unun gıda katkı maddelerine karşı duyarlı olabileceği saptanmıştır. Renklendiricilerden bazıları astım, deri döküntüleri, hiperaktivite ve migrene yol açabilirler. İzin verilen renklendiriciler ülkeden ülkeye değişebilir. Örneğin; Norveç ve İsveç besinlerdeki tüm yapay renklendiricilerin kullanımını yasaklamıştır [5].

#### **2.1.1.1. Renk Katkı Maddesi**

Teknik olarak renk katkı maddesi bir gıdaya, ilaca, kozmetik ürünlere veya insan vücuduna uygulandığı veya ilave edildiği zaman renk açığa çıkaran boya maddelere denir. ABD'de kullanılan tüm renk katkı maddelerinin ayarlanmasından FDA sorumludur. Gıdalarda kullanılmasına müsaade edilen tüm renk katkı maddeleri "belgelenebilir" veya "belgelenmekten muaf" olmak üzere sınıflandırılır. Belgelendirilebilen renk katkı maddeleri sentetiktir ve her grup imalatçı ve FDA tarafından test edilir. Gıdalarda kullanılmasından önceki bu onaylanma sürecinde renk katkı maddesinin güvenilirliği (sağlık açısından), kalitesi, dayanıklılık ve kararlılığı kontrol edilir. ABD'de belgelenmiş 9 adet renk katkı maddesi vardır [6].

Örneğin: FD&C Yellow No.6'dır ve bu tahıllarda, fırın gıdalarında, aperatif yiyeceklerde vs kullanılır. Belgelenmekten muaf olan renk katkı maddeleri sebzeler, mineraller veya hayvanlar ve tabii türevlerin sentetik kopyaları gibi tabii kaynaklardan elde edilirler. Mesela karamel rengi ticari olarak şeker ve diğer karbonhidratların ısıtılmasıyla sıkı kontrol edilmiş şartlarda elde edilir ve soslar, salçalar, fırıncılık ürünleri ve diğer gıdalarda kullanılır. Renk katkı maddesinin belgelendirilebilir veya belgelendirmeden muaf olmasının genel anlamda onun güvenilirliği ile bir ilgisi yoktur. Her iki tip renk katkı maddesi de gıdalarda kullanımına izin verilmeden önce aynı standart sıkı prosedüre maruz bırakılır. Belgelendirilebilen renk katkı maddeleri diğerlerine göre daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü bunların renklendirme kabiliyetleri diğerlerine göre daha iyidir. Bu özelliklerinden dolayı da aynı etkiyi göstermesine karşın gıdaların içerisindeki miktarları daha düşüktür. İlave olarak belgelendirilebilen bu renk katkı maddeleri daha kararlı, tek düze renk sağlamada daha iyi ve farklı renk ve tonları oluştururken de daha kolay karışabilmektedir. Belgelendirilebilen renk katkı maddeleri genel olarak gıdalara istenmeyen bir tat vermezler. Ancak şeker pancarı ve yaban mersini gibi gıdalardan elde edilen katkı maddeleri istenmeyen etkilere neden olabilirler [6].

FDA tarafından onaylanmış dokuz adet belgelendirilen renk katkı maddesinden sekizi gıda üretiminde kullanılmaktadır. Gıdalarda kullanılmasına müsaade edilen maksimum miktarlarda ayrıca belirlenmiştir. Çok aşırı renk katkı maddeleri kullanılması hem gıdaların çekiciliğini kaybettirmekte hem de maliyetini arttırmaktadır [6].

#### **2.1.1.2. Brilliant Blue Özellikleri**

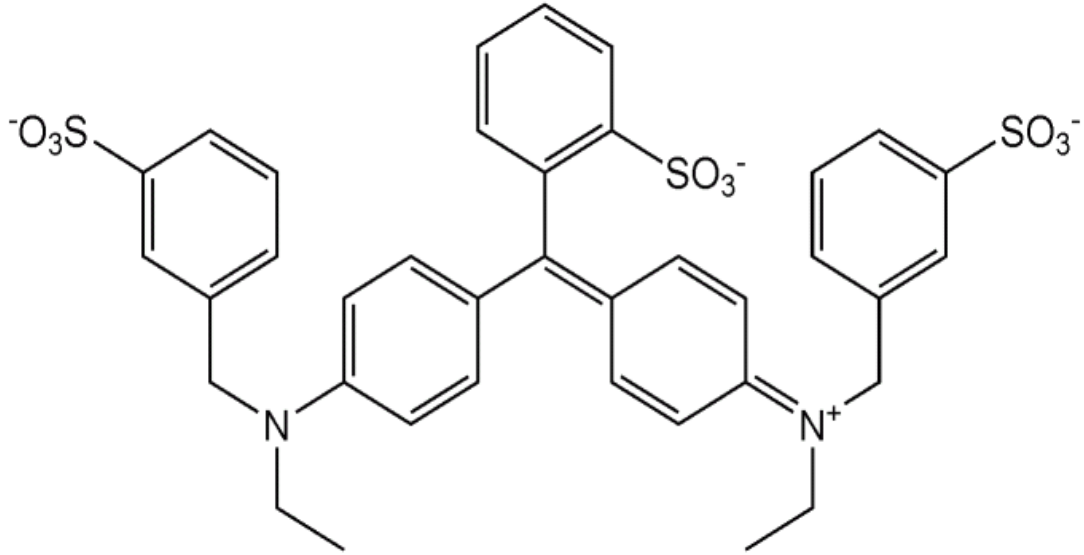
Brilliant Blue FCF, ABD'de yıllık üretimi 450.000 kg'ı aşan ve kişi başına günlük kullanım miktarı 16 mg düzeyinde olduğu belirtilen bir boyadır. Brilliant Blue FCF boyası suda çözündüğünde parlak mavi renk veren bir gıda boyasıdır. Kimyasal formülü  $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$  şeklindedir ve suda çözünebilir mavi-mor renkli toz formundadır. Petrolden elde edilen aromatik hidrokarbonların kullanımı ile üretilen sentetik bir boyadır. Genellikle disodyum tuzu formunda bulunur [7].



Brilliant Blue FCF boyasının üç sülfonik grubunun olması boyaya iyonik özellik ile sulu ortamda kolay çözünebilme özelliklerini vermekte ve bu da boyanın toprağa ve suya rahatça karışmasını sağlamaktadır [7].

Brilliant Blue FCF	Food Blue 2
--------------------	-------------

E133	Parlak Mavi FCF	Mavi renklendirici, sentetik
------	-----------------	------------------------------



Şekil 2.1. Brilliant Blue Açık Formülü [7]

### 2.1.1.3. Brilliant Blue'nun Kullanıldığı Yerler

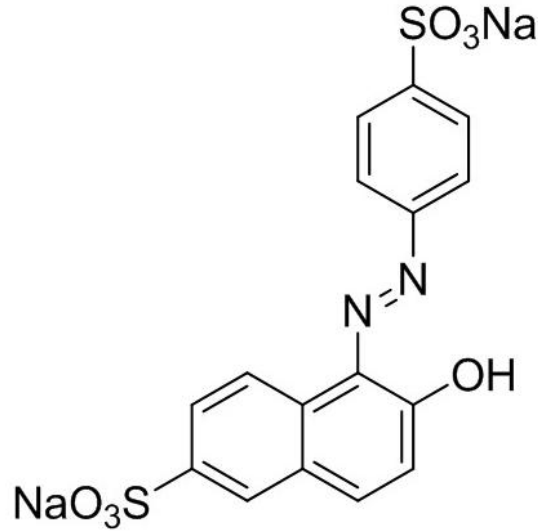
Brilliant Blue FCF, tekstil ve deri endüstrisinde popüler renklendirici olarak kullanılan bir boyadır. Bu kullanımı dışında sabunlarda, şampuanlarda, ağız gargaralarında ve diğer hijyen amaçlı ürünler ile kozmetik ürünlerde ve gıda endüstrisinde renklendirici olarak kullanılmaktadır. Gıdalarda genellikle dondurmalarda, bezelye konservelerinde, süt ürünlerinde, şekerlemelerde ve içeceklerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında tekstil ve deri sanayinde de kullanılabilir [7].

#### 2.1.1.4. Brilliant Blue'nun Neden Olduğu Hasarlar

Brilliant Blue FCF karsinojeniktir, nörolojik bozukluklara ve üreme bozukluklarına, çeşitli alerjilere, döküntüleri de kapsayan anaflaktik reaksiyonlara, nefes alma ve yutkunma güçlüklerine sebebiyet vermektedir. Bazı hastalarda astımın tetikleyicisi olabilmektedir. Hatta aşırı kullanımı davranış bozukluklarına, gastrointestinal tümörlere, lenfomaya neden olabilen doku harabiyeti ile sonuçlanır [8].

#### 2.1.1.5. Sunset Yellow

Sentetik azo boyasıdır. Sarı-turuncu gıda renklendiricisi olarak kullanılır ve suda iyi çözünür.



Şekil 2.2. Sunset Yellow Açık Formülü [9]

#### 2.1.1.6. Sunset Yellow Özellikleri

Sunset Yellow FCF, Orange, Yellow S Renklendirici; sentetiktir; unlu gıdalar, pasta, tatlı, çerez, dondurma, içecek ve konserve balık, hazır çorba ve bazı şurup cinsi ilaçların üretiminde kullanılır. Kabul edilebilir günlük alım miktarı vücut ağırlığı üzerinden 2,5 mg/kg'dır [10].

Yan etkileri kurdeşen, rinit (burun akması), burun tıkanıklığı, alerji, hiperaktivite, böbrek tümörü, kromozom hasarı, karın ağrısı, bulantı ve kusma, hazımsızlık ve iştahsızlıktır. Norveç'te yasaklanmıştır [10].

### **2.1.2. Gıda Katkı Maddeleri**

- Tek başına besleyici değeri olan veya olmayan,
- Tek başına gıda olarak tüketilmeyen,
- Seçilen teknoloji gereği olarak kullanılan,
- Gıdaların üretilmesi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı gibi özelliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak amacı ile kullanılan maddelerdir [11].

#### **2.1.2.1. Gıda Katkı Maddelerinin Bulunduğu Yerler**

- İşlenmiş gıdaların çoğunda, daha çok da market raflarını dolduran ve kolay kolay bozulmayan gıdalarda, cipslerde, ketçaplarda, soslarda, boyalı şekerlerde, renkli toz içeceklerde, işlenmiş et ve süt ürünlerinde (salam, sosis, krema, vb.), konserve ve turşularda, diyet içeceklerde, hazır çorba ve benzeri hazır gıdalarda bulunur [11].

#### **2.1.2.2. Gıda Katkı Maddelerine Karşı Risk Grubu**

- Çocuklar: Her tür sağlık sorunu çocuklarda daha çabuk ve daha ağır biçimde ortaya çıkar. Örneğin sigara içen kişide akciğer kanseri ve kronik bronşit yapar ama çocuklar yanlarında içildiğinde bile zarar görürler. Aynı şekilde gıda katkı maddeleri de cips, boyalı şeker, renkli toz içecek, kremalı bisküvi ve benzeri hazır besinleri çok tüketen çocukları, yetişkinlerden daha çabuk ve daha çok etkiler. Örneğin çocukların hiperaktif davranış bozukluğu için birçok gıda katkı maddesi suçlanmaktadır. Ayrıca gıda katkı maddelerinin kanser yapıcı etkilerine ve yol açtığı alerjik reaksiyonlara çocuklar daha duyarlıdır.
- Alerjik Bünyeli Kişiler: Aspirin ve bazı ilaçlara duyarlı kişiler gıda katkı maddelerine karşı daha fazla risk altındadır [11].

### **2.1.2.3. Gıda Katkı Maddelerinin Neden Olduğu Sağlık Sorunları**

Gıda katkı maddeleri çok çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilir. Bunlardan en önemli ikisi şunlardır:

- Alerjik Reaksiyonlar: Özellikle alerjik bünyeli kişilerde ve Aspirin duyarlılığı olan kişilerde daha fazla olmak üzere birçok alerjik reaksiyon görülmekte, bunlar çoğu zaman tanımlanamamakta ve bazen öldürücü anafilaktik reaksiyonlara sebep olabilmektedir. Çocukluk çağındaki astım hastalığının günümüzde çok daha sık görülmesinden, çocukların giderek daha fazla gıda katkı maddeleri içeren hazır gıdalarla beslenmesi sorumlu olabilir.
- Kansere: Birçok katkı maddesinin kansere sebep olduğu bilinmektedir. Örneğin nitritler, nitratlar, siklamatlar, Sunset Yellow ve amaranth gibi gıda boyaları, sodyum benzoat gibi maddeler [11].

### **2.1.2.4. Gıda Katkı Maddelerinin Zararlarından Korunma Yolları**

Sağlığa zararlı olduğu kanıtlanmış ve birçok ülkede yasaklanmış gıda katkı maddelerinin kullanımını engelleyecek, şüpheli olanları sınırlayacak ve alternatifler getirecek, ayrıca bu tür zararlı katkıların çok fazla kullanıldığı ürünlerin reklamını sınırlayacak yasal düzenlemelere ihtiyaç vardır.

Ayrıca üretici firmalara da önemli sorumluluklar düşmektedir. Bazı gıda maddeleri özellikle atopik (alerjik bünye ve genetik özelliğe sahip) kişilerde ve çocuklarda sorun yarattığı için işlenmiş veya hazır gıdaların etiketlerinde, hangi katkıların kullanıldığı anlaşılır ve okunabilir bir şekilde yazmalıdır. Çoğunluk bu katkıların isim ve numaralarını bilemeyeceği için paketlerin üzerine bu maddelerin kimler üzerinde ne tür sağlık sorunları yaratabileceği de belirtilmelidir. Risk grubunda olan tüketiciler bu şekilde uyarılmış olacaktır.

Mümkün olduğu kadar doğal ve katkısız gıdalarla beslenmeye çalışılmalıdır. Özellikle de çocukların boyalı şeker ve çikolataları, renkli toz içecekleri, kremalı bisküvileri, cipsleri, ketçapları, salam, sosis gibi işlenmiş et ürünlerini, hamburger gibi fast food ürünlerini çok fazla tüketmelerine izin verilmemelidir [11].

### **2.1.2.5. “E” Numaraları**

8000'in üzerinde gıda katkı maddesi bulunmaktadır. Bunlardan sadece 350-400 tanesi "E" numarasına sahiptir.

Bir gıda katkı maddesinin Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımına müsaade edildi ise ona bir "E" numarası verilmiştir. Numaranın başındaki "E", Avrupa Birliği'ni (EU) simgelemektedir. Gıda katkı maddeleri gıda etiketlerinde farklı şekillerde ifade edilebilirler.

E numarası alan katkı maddelerinin sayısı sürekli değişmektedir. Halen kullanılmakta iken zararları ortaya çıkmış olanlar iptal edilirken yeni katkı maddeleri ilavesi de olabilmektedir.

Bir maddenin "E" numarasına sahip olması direkt olarak zararlı veya zararsız olduğu hakkında bilgi vermez. Ancak "E" numarası olmayanlara göre bir olumlu özellik olarak değerlendirilebilir.

INS (The International Numbering System) veya CAS (Chemical Abstract Service) numarası gibi genel numaralandırma sistemleri vardır [12].

### **2.1.2.6. Gıdalarda Kullanılan Renk Katkı Maddeleri**

Renk, yeme zevkimizi artıran önemli bir özelliktir. Değişik yetiştirme sezonları süresince ve gıda depolama ve işleme sonucu oluşan gıdalarda renk değişimleri olmaktadır. Tüketici beklentilerini karşılayabilmek amacıyla üreticiler bazı gıdalara renk katma ihtiyacı hissetmektedirler.

Gıdalara renk katkı maddesi katmanın temel nedenleri:

- Işık, hava, aşırı düşük veya yüksek ısılar, nem ve depolama şartlarına bağlı oluşan renk kaybını dengelemek.
- Renkteki tabii değişimleri düzeltmek: Normal rengini almamış gıdalar yanlış olan bir anlayışla düşük kaliteli olarak değerlendirilebilir. Mesela ağaçta olgunlaşan bazı portakallara Citrus Red boyası püskürtülerek benekler

kapatılır veya tabii bir renk verilmeye çalışılır. Bu uygulama, boyaların istenmeyen bir kullanım alanı olmakla beraber düşük kaliteyi maskeler.

- Bir gıdada tabii olarak oluşan fakat düşük düzeyde oluşmuş olan rengi koyulaştırmak.
- Normalde renksiz olan bir yiyeceğe renkli bir kimlik kazandırmak.
- Bazı "eğlence gıdaları" na renkli bir görünüm sağlamak.
- Depolanma süresince güneş ışığından etkilenebilecek lezzet ve vitaminleri korumak.
- Tüketicilerin isteklerini karşılamak amacıyla sağlıklı ve besleyici gıdalara farklı çekicilik sağlamak [13].

#### **2.1.2.6.1. Gıda Katkı Maddelerinin Bir Kısımının Tetiklediği Hastalıklar**

Bazı gıdalar veya gıda katkı maddeleri aşağıdaki bulgulardan birinin veya daha fazlasının oluşmasını tetikleyebilir:

- Dikkat Sürdürüm Bozukluğu / Hiperaktivite Sendromu
- Alerji
- Astım
- Otizm, yaygın gelişimsel bozukluk
- Enüresis (altına idrar kaçıрма)
- Davranış bozuklukları
- Depresyon, duygu durum değişiklikleri
- Kulak ağrıları, kronik orta kulak iltihabı
- Göz problemleri
- G6PD enzim eksikliği, mide-barsak problemleri, mide ağrısı
- Baş ağrısı, migren
- Nazal polip

- Cilt problemleri, egzema, ürtiker
- Uyku problemleri
- Tikler [14].

#### **2.1.2.6.2. Gıda Katkı Maddeleri ile İlgili Güvenlik Testleri**

Katkı maddeleri laboratuvarlarda uzun süreli ve ayrıntılı güvenlik testlerinden geçirilir. Deney hayvanları üzerinde yapılan toksikolojik testlerle katkı maddelerinin ADI (Acceptable Daily İntake); günlük alınabilecek miktarları saptanır. Deney hayvanlarında öldürücü dozda (lethal doz = LD<sub>50</sub>: 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, kimya, biyokimya, hematoloji, bakteriyoloji, veteriner patoloji, farmakoloji, immünoloji ve istatistik gibi pek çok disiplin görev alır. 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, elde edilen dozun 1/10'u alınır. İnsanlar arasındaki bireysel ayrıcalıklar düşünülerek yine 1/10 alınarak NOAEL 100 olan güvenlik faktörüne bölünür. 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 (kg) şeklinde saptanır.

Bu çalışmaların sonuçları, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda Tarım Örgütü (FAO)'nun ortaklaşa oluşturduğu, katkı maddeleri üzerinde çalışan ortak uzmanlar

komitesi JECFA adlı kuruluş; Avrupa Birliğinin Bilimsel Gıda Komisyonu (SCF); ABD Gıda İlaç Dairesi (FDA) gibi uluslararası kuruluşlarca onaylandıktan sonra her bir katkı maddesinin hangi oranlarda hangi besinlere katılabileceğine karar verilir [15].

#### **2.1.2.6.3. "Tabii" Katkı Maddeleri ve "Sentetik" Katkı Maddeleri**

Bazı katkı maddeleri tabii kaynaklardan elde edilirler. Mesela soya fasulyesi ve mısırdan lesitin elde edilir ve ürünlerin kıvamını korumakta kullanılır. Benzer şekilde pancar tozu da gıda boyası olarak kullanılır.

Diğer bazı katkı maddeleri tabiatta bulunmaz ve insanlar tarafından yapılmak zorundadır. Sentetik katkı maddeleri tabii olanlara göre daha ekonomik, daha saf ve sürekli aynı kalitede olacak şekilde elde edilebilir. Katkı maddesinin tabii veya sentetik olması onun sağlık açısından güvenilir olduğunu göstermez.

Marketlerden aldığımız veya bahçemizden topladığımız tüm gıdalar kimyasal maddelerden oluşmuşlardır. Mesela turuncgillerde bulunan vitamin C (veya askorbik asit) laboratuarlarda elde edilenle eşdeğerdir.

Netice olarak her ne kadar doğal olanlar daha çok tercih edilebilirse de bu doğal olan maddeler her zaman zararsızdır anlamına gelmez. Nitekim doğal olan mantarlar insanların ölümüne neden olabilmektedir [16].

#### **2.1.2.6.4. Gıda Katkı Maddeleri'nin Sınıflandırılması**

Gıda katkı maddelerini kullanım amaçlarına göre 3 grupta toplayabiliriz:

##### **1. Kaliteyi koruyarak raf ömrünü uzatanlar (Koruyucular)**

- Antimikrobiyaller (nitrit, nitrat, benzoik asit, propiyonik asit, sorbik asit)
- Antioksidanlar (BHA, BHT, Galatlar)

##### **2. Yapıyı hazırlama, pişme özelliğini geliştirenler**

- pH ayarlayıcılar
- Topaklanmayı önleyenler (silikat, magnezyum oksit, magnezyum karbonat)
- Emülsifiyerler (lesitin, mono ve digliseridler)



- Stabilizörler, kıvam arttırıcılar, tatlandırıcılar
- Mayalanmayı sağlayıcı ajanlar
- Nem ayarlayıcılar
- Olgunlaştırıcılar
- Ağartıcılar, dolgu maddeleri, köpük ayarlayıcılar, parlaticılar

### 3. Aromayı ve rengi geliştiriciler

- Çeşni arttırıcılar (MSG)
- Çeşni vericiler (Aroma maddeleri)
- Renklendiriciler (tartazin, indigotin)
- Besin değerini koruyucu, geliştiriciler (Besin öğeleri)
- İşleme sırasında kaybolan besin öğelerini yerine koyma (B1, B2, niasin)
- Diyetle eksik olabilecek besin öğelerini ekleme (A, D vitaminleri) [17].

## 2.2. Güvenlik Sınırı

Günlük olarak hayat boyu tüketebileceğimiz ancak hiç bir sağlık riski oluşturmayacak bir maddenin milligram düzeyindeki miktarıdır. Bu cümle uluslararası tanımlamalarda ADI (Acceptable Daily Intake = Kabul Edilebilir Günlük Doz) olarak kısaltılarak da karşımıza çıkabilir [18].

### 2.2.1. Güvenlik Sınırının Nedeni

Bilindiği gibi doğal veya sentetik her maddenin hatta suyun bile yüksek miktarları zararlı veya toksik olabilir. Ayrıca gebeler, çocuklar, hasta ve yaşlıların daha hassas olduğu düşünülerek güvenlik sınırları oldukça düşük tutulmaktadır. Bunlara ilaveten güvenlik sınırı katkı maddesinin özelliğine, toksikolojik verilerin durumuna ve kullanım şekline göre de değişkenlik gösterecek şekilde ayarlanır [18].

## 2.3. Mikronükleus Oluşum Mekanizması ve Kriterleri

Mikronükleus (MN) testi, in vitro ve in vivo olarak etki eden endojen ve eksojen ajanların etkilerinin gösterilmesinde kullanılan hassas bir yöntemdir. MN'lar hücrede

mitoz bölünme sırasında ortaya çıkan, ana çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom parçalarından köken alan oluşumlardır [19].

MN oluşumu ilk olarak Howell ve arkadaşları tarafından eritrositlerde saptanmıştır. Jolly tarafından tanımlanmıştır. Bu nedenle Howell-Jolly cisimciği adı da verilmektedir. MN, hücre bölünmesi sırasında serbest kalan kromozom fragmentinin ya da kromozomların ortamda varlığını sürdürmesidir. Bir nükleoplazma ile sarılarak sitoplazma içerisinde ana nükleusun yanında yer alan nükleer materyaldir [20].

MN oluşumunun temelini, DNA hasarı oluşturmaktadır. Organizmanın çeşitli mutajenik, klastojenik ve karsinojenik ajanlara maruz kalması sonucunda DNA'da harabiyet meydana gelmektedir. Genetik hasar ölçümünde, MN testinin toksikolojide, diyetle, ilaç sanayide, kanser riski oluşumu şüphesinde, radyoterapide önemi anlaşılmıştır [21].

DNA hasar oranının in vivo ve in vitro olarak belirlenmesinde, en ekonomik ve pratik tekniklerden biri haline gelmiştir [20, 21, 22, 23, 24].

MN tekniği, insan periferik kan lenfositlerinde, kemik iliğinde ve yanak mukoza hücresinde kimyasal ajanların genotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Tekniğin basit oluşu, kısa zamanda sonuca ulaşılması ve DNA harabiyeti konusunda güvenilir bilgi vermesi tekniği önemli hale getirmiştir [22, 23 24].

Bugün, pek çok kanser tipi ile spesifik kromozom düzensizlikleri arasında bağlantı olduğu bilinmektedir. Bu amaçla kanserli olgularda mikronükleus testi yapılmakta ve anlamlı sonuçlar elde edilmektedir [25, 26, 27].

MN testinin geniş bir araştırma ortamı bulunduğu diğer bir alanda yaşlanmadır. Yaş artışıyla anöploidi sıklığı arasında yakın bir ilişki vardır. Bireyin yaşam içerisinde maruz kaldığı çevresel ajanların etkisiyle kromozomların normal bölünmeden saptığı belirlenmiştir. Her hücrenin mitotik aktivitesi yaş ilerledikçe yavaşlamakta ve mitoz bölünmede iç iplikçiklerinde katalizör görevi yapan enzimlerde dejenerasyon oluşmaktadır [28, 29, 30, 31, 32].

### **3. MATERYAL VE YÖNTEMLER**

Çalışma; Bozok Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sitogenetik Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### **3.1. Gereçler**

Laboratuarda ve tez çalışmasında kullanılan malzemeler şunlardır.

##### **3.1.1. Demirbaş Malzemeler**

1. CO<sub>2</sub>'li İnkübatör (HERA Cell 150)
2. Etüv (Nüve FN500)
3. Santrifüj (Nüve NF800)
4. Araştırma Işık Mikroskobu (Olympus BX51)
5. Işık Mikroskobu (Olympus CX21)
6. Dijital Fotoğraf Makinesi (Olympus C 5050 Z)
7. Bilgisayar (HP Compaq 610)
8. Derin Dondurucu (Arçelik)
9. Buzdolabı (Indesit)
10. Hassas Terazı (VİBRA)
11. Otomatik Pipet (Capp 0.2-2, 5-50, 10-100 µL – Microlit 10-100, 100-1000 µL)
12. Saf Su Cihazı (Millipore)

##### **3.1.2. Sarf Malzemeler**

1. Peripheral Blood Karyotyping Medium (Biological Industries, Katalog Numarası 01-201, 1B)

2. Hücre Kültür Tüpü (Greiner bio-one CELLSTAR®, Katalog Numarası 164 160)
3. Kolsisin (Biological Industries, Katalog Numarası 12-003-1C)
4. Potasyum Klorür (MERCK Katalog Numarası 104936.1000)
5. Glasiyal Asetik Asit (MERCK, Katalog Numarası 1.00063.2500)
6. Metanol (MERCK, Katalog Numarası 1.06009.2500)
7. Giemsa (MERCK, Katalog Numarası 1.09204.0500)
8. Gurr Buffer Tablet (GIBCO, Katalog Numarası 10582-013)
9. İmmersiyon Yağı (MERCK, Katalog Numarası 09403569)
10. Eppendorf Tüpü (LP Italiana SPA)

### **3.2. Çalışmada Kullanılan Madde ve Çözeltilerin Hazırlanması**

Çalışmada kullanılan madde ve çözeltilerin hazırlanma şekilleri şöyledir:

#### **3.2.1. Kültür Medyumunun İçeriği**

Çalışmada kullanılan 100 mL 1640 Peripheral Blood Karyotyping Medium;

Serum; FCS (%20),

Mitoz uyarıcı; PHA,

Antibiyotik, Gentamisin,

L-Glutamin içerir.

Ticari olarak satılan medyum derin dondurucuda -20°C'de son kullanma tarihine kadar muhafaza edilir. Derin dondurucudan çıkarılarak çözünen medyum ise buzdolabında +4°C'de 10 gün saklanabilir.

### **3.2.2. Hipotonik Solüsyonunun Hazırlanması**

2.796 g potasyum klorür (KCl) 500 mL distile su içerisinde çözünür.

Elde edilen hipotonik solüsyonu (0.075 M KCl) oda sıcaklığında muhafaza edilir.

### **3.2.3. İbrainov Solüsyonunun Hazırlanması**

92 mL Distile Su

5 mL Glasial Asetik Asit

3 mL Metanol içerir.

Solüsyon her kullanımda yeni hazırlanmalıdır.

### **3.2.4. Fiksatifin Hazırlanması**

3 Hacim Metanol: 1 Hacim Asetik Asit ile karıştırılır.

### **3.2.5. %5'lik Giemsa Boyasının Hazırlanması**

5 mL Giemsa Gurr Tamponu ile 100 ml'ye tamamlanır.

## **3.3. Renklendirici Gıda Katkı Maddelerinin Konsantrasyonlarının Hazırlanması**

Renklendirici gıda katkı maddelerinin konsantrasyonlarının hazırlanmasında Brilliant Blue ve Sunset Yellow'un 1, 2, 3 ve 4 g'lık ölçümleri hassas terazide yapıldı. Hassas terazide ölçülen Brilliant Blue ve Sunset Yellow renklendirici gıda maddelerinin üzerine 100 ml saf su eklenerek çözeltileri hazırlandı.

## **3.4. Periferel Kanların Alınması**

Çalışmada; sigara ve alkol kullanmayan ve herhangi bir viral enfeksiyonu bulunmayan sağlıklı kişilerin kanları kullanıldı. İdeal olarak kan örneği heparinli steril bir tüpe alınır ve karıştırılarak pıhtılaşması önlenir. Tüpteki heparinize kan buzdolabında +4°C'de 5 güne kadar bekletilebilir ve kültür için kullanılabilir. Ancak kanın kültüre edilmeden bekletilmesi hücrelerin canlılığını etkilemekte ve dolaylı

olarak bazı kromozom kusurlarına neden olabilmektedir. Bunun için kanın alındığı andan itibaren en geç 24 saat içinde kültürü yapılmalı ve daha uzun süreli beklemelemlerden sakınılmalıdır. Çalışmamızda kullanılan periferel kan örnekleri ekim yapılacak gün alınarak, aynı gün içerisinde kullanıldı.

### **3.5. Periferel Kan Kültürü**

Periferel kan kültürü ekimi aşamaları aşağıdaki gibidir:

1. Her hasta için 37°C’de ısıtılmış 5 mL medyum kullanıldı.
2. Kültür ortamlarına heparinize 0.4 mL kan ilave edildi.
3. MN değerlendirmesinde kullanılacak tüplere sitokalazin-B, Replikasyon indeksi (RI) değerlendirmesinde kullanılacak tüplere BrdU ilave edildi.
4. Kültür ortamlarına 24. saatte farklı konsantrasyonlarda (10, 20, 30, 40 mg/mL) renklendirici katkı maddesi konsantrasyonları ilave edildi. Kontrol grubunu oluşturacak tüp sadece medyum ve kandan oluştu.
5. Tüplerin kapağı kapatılarak altüst edildi ve 37°C’de 72 saat CO<sub>2</sub>’li inkübatöre kaldırıldı. Ekim yapılan tüpler çıkarım tarihine kadar günde birkaç kez altüst edildi.

#### **3.5.1. Kültürün Sonlandırılması (Çıkarım)**

Kültürün sonlandırılması aşamaları aşağıdaki gibidir:

1. Ekim yapılan kültür tüplerine 70. saatte 100 µL kolşisin ilave edildi ve altüst edilerek etüve kaldırıldı. Tüpler etüvde 2 saat bekletildi.
2. 2000 rpm’de 4 dakika santrifüj edildi.
3. Süpernatant atılarak pellet resüspanse edildi.
4. Pellet üzerine 0.075 M KCl’den 10 mL ilave edildi.
5. 2000 rpm’de 4 dakika santrifüj edildi.

6. Süpernatant atılarak pellet resüspanse edildi.
7. Pellet üzerine oda ısısında bekletilmiş ibrainov solüsyonundan 5 mL ilave edildi.
8. Hemen 2000 rpm'de 4 dakika santrifüj edildi.
9. Süpernatant atılarak pellet resüspanse edildi.
10. Pellet üzerine 5 mL metanol ilave edildi.
11. Hemen 2000 rpm'de 4 dakika santrifüj edildi.
12. Süpernatant atılarak pellet resüspanse edildi.
13. Pellet üzerine derin dondurucuda bekletilmiş fiksatiften 5 mL ilave edildi.
14. Elde edilen hücreler preparasyon aşamasına kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildi.

### **3.5.2. Preparat Hazırlanması ve Boyanması**

Preparat hazırlanması ve boyanması aşamaları aşağıdaki gibidir.

1. Çıkarım işleminden sonra  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen rezervler, derin dondurucudan çıkarılarak 2000 rpm'de 4 dakika santrifüj edildi.
2. Süpernatant atılarak pellet resüspanse edildi.
3. Metanol içerisinde buzlukta saklanan ıslak soğuk lamalar alınarak, üzeri soğuk fiksatif ile yıkandı.
4. Farklı yerlere gelecek şekilde 2-3 damla hücre süspansiyonundan lam üzerine damlatıldı. 2-3 saniye beklendi ve sonra üzeri tekrar soğuk fiksatif ile yıkandı.
5. Hazırlanan preparat ışık mikroskopunda incelendi. Metafaz alanının miktarı ve düzgün dağılıp dağılmadığı kontrol edildi.
6. Preparatlar %5'lik giemsa ile 8 dakika boyandı.

7. Preparatlar 2 kez saf sudan geçirilerek boyanın fazlası alındı.

### **3.5.3. Mikroskop Değerlendirmesi ve Hesaplama**

Mikroskop değerlendirmesi ve hesaplaması şu şekilde yapılmıştır:

#### **3.5.3.1. Mitotik İndeks Sayımı ve Hesaplanması**

Mitotik indeks (MI) değerlendirmesinde 1000 hücre sayılarak metafaza giren hücre sayısına oranlandı. MI (%) oranları aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$MI (\%) = \text{Mitoz (metafaz) Geçiren Hücre Sayısı} / \text{Toplam Hücre Sayısı} \times 100$$

#### **3.5.3.2. Replikasyon İndeksi Sayımı ve Hesaplanması**

RI değerlendirilmesinde 500 hücre sayılarak RI aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$RI (\%) = (M1 + 2M2 + 3M3) / \text{Toplam Hücre Sayısı} (=500)$$

M1: Mononükleat Hücreler

M2: Binükleat Hücreler

M3: Trinükleat ve Polinükleat Hücreler [33, 34].

#### **3.5.3.3. Mikronükleus Sayımı ve Değerlendirmesi**

MN değerlendirmesinde, 500 hücrenin MN sayıları belirlendi. Sonuçlar %MN şeklinde elde edildi. Mikronükleus değerlendirilmesi aşağıdaki kriterler dikkate alınarak yapıldı.

1. MN rengi çekirdek rengi ile aynı olmalıdır.
2. Değerlendirilecek hücrenin sitoplazması içerisinde nükleusun görünmesi gerekir.
3. MN genellikle yuvarlak olmalıdır.



4. ekirdeği olmayan dejenere hücreler değerlendirmeye alınmamalıdır.
5. Mikroskop incelemesi 40'lık objektif kullanılarak yapılır [35].

### **3.6. İstatistiksel Analiz**

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 10.0 bilgisayar yazılım programı kullanıldı. MI, RI ve MN zerine renklendirici katkı maddesi konsantrasyonlarının istatistiksel önemi tekrarlı ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlendi. Gruplar arasındaki farklılıklar LSD (Least Significant Differences) testi ile  $p < 0.05$  önem derecesinde belirlendi.

## 4. BULGULAR

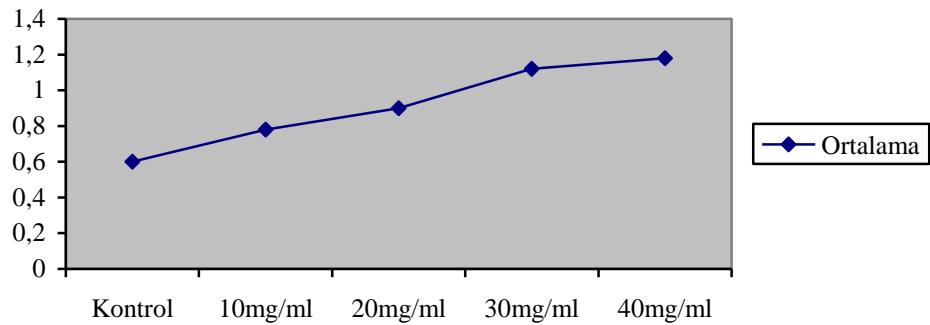
### 4.1. Sunset Yellow'un Mikronükleus Bulguları

Sunset Yellow ekstraktları uygulanan lenfositlerdeki MN oranları %0.60-1.18 arasında değişmektedir. Kontrol grubunun MN oranı %0.60; Sunset Yellow'un farklı konsantrasyonlarının (10, 20, 30 ve 40 mg/ml) MN oranları ise sırasıyla 0.78, 0.90, 1.12 ve 1.18 olarak bulunmuştur. MN oranı bakımından kontrol grubu ile 30 ve 40 mg/ml'lik konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Artan Sunset Yellow konsantrasyonlarına bağlı olarak MN oranlarında da artış meydana gelmiştir (Çizelge 4.1.) ve konsantrasyonlar ile MN değerleri arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir (Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Sunset Yellow'un Mikronükleus Değerleri

DENEK	DOZLAR (mg/ml)				
	Kontrol	10mg/ml	20mg/ml	30mg/ml	40mg/ml
1	0.4	0.4	0.6	0.8	1.0
2	0.6	0.8	1.0	1.2	1.0
3	0.2	0.6	0.6	1.0	1.2
4	0.8	0.8	1.2	1.2	1.2
5	0.6	0.4	0.6	0.8	1.0
6	0.6	1.0	1.0	1.4	1.2
7	1.0	1.2	1.4	1.4	1.4
8	0.6	0.6	1.0	0.8	1.0
9	0.8	1.2	1.0	1.4	1.4
10	0.4	0.8	0.6	1.2	1.4
<b>Ortalama</b>	0.60 ± 0.23	0.78 ± 0.28	0.90 ± 0.28 *	1.12 ± 0.25 *	1.18 ± 0.17 *

\*  $p < 0.05$



Şekil 4.1. Sunset Yellow'un Mikronükleus Ortalamalarının Grafiği

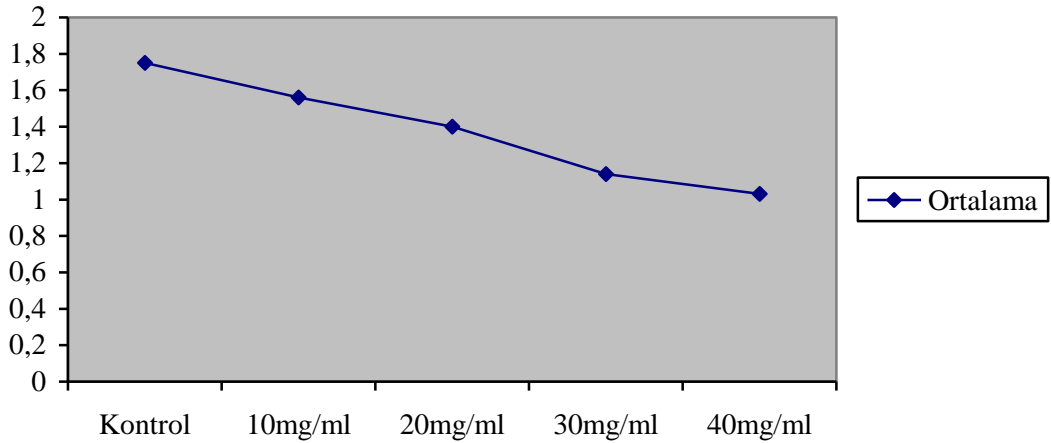
#### 4.2. Sunset Yellow'un Mitotik İndeks Bulguları

Sunset Yellow ekstraktları uygulanan lenfositlerdeki MI oranları % 1.75-1.03 arasında değişmektedir. Kontrol grubunun MI oranı % 1.75; Sunset Yellow'un farklı konsantrasyonlarının (10, 20, 30 ve 40 mg/ml) MI oranları ise sırasıyla % 1.56, 1.40, 1.14 ve 1.03 olarak bulunmuştur. MI oranı bakımından kontrol grubu ile 30 mg/ml ile 40 mg/ml arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Artan konsantrasyon miktarlarına bağlı olarak MI oranlarında azalma meydana gelmiştir (çizelge 4.2.) ve konsantrasyonlar ile MN değerleri arasında negatif korelasyon gözlenmiştir (şekil 4.2.).

Çizelge 4.2. Sunset Yellow'un Mitotik İndeks Değerleri

DENEK	DOZLAR				
	Kontrol	10mg/ml	20mg/ml	30mg/ml	40mg/ml
1	2.1	1.8	1.9	1.5	1.2
2	1.4	1.1	0.8	0.8	0.7
3	1.8	1.8	1.5	1.1	1.2
4	2.4	2.2	2.0	1.8	1.5
5	1.1	0.8	0.8	0.8	0.6
6	0.9	0.9	0.7	0.4	0.4
7	3.2	2.7	2.8	2.2	2.0
8	2.0	2.0	1.7	1.2	1.3
9	1.3	1.1	0.8	0.9	0.7
10	1.3	1.2	1.0	0.7	0.7
Ortalama	1.75 ± 0.70	1.56 ± 0.63	1.40 ± 0.70	1.14 ± 0.55 *	1.03 ± 0.49 *

\*  $p < 0.05$



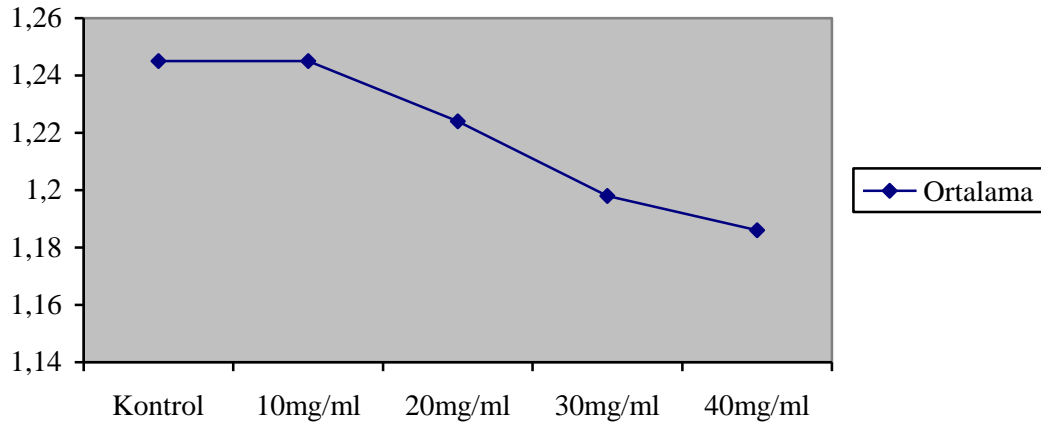
Şekil 4.2. Sunset Yellow'un Mitotik İndeks Ortalamalarının Grafiği

### 4.3. Sunset Yellow'un Replikasyon İndeksi Bulguları

Sunset Yellow ekstraktları uygulanan lenfositlerdeki RI oranları 1.245-1.186 arasında değişmektedir. Kontrol grubunun RI oranı % 1.245; Sunset Yellow'un farklı konsantrasyonlarının (10, 20, 30 ve 40 mg/ml) RI oranları sırasıyla 1.245, 1.224 1.198 ve 1.186 olarak bulunmuştur. RI oranı bakımından kontrol grubu ile konsantrasyonlar arasında önemli fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Çizelge 4.3. Sunset Yellow'un Replikasyon İndeksi Değerleri

DENEK	DOZLAR				
	Kontrol	10mg/ml	20mg/ml	30mg/ml	40mg/ml
1	1.248	1.232	1.228	1.202	1.200
2	1.360	1.376	1.322	1.316	1.332
3	1.224	1.216	1.202	1.202	1.203
4	1.412	1.400	1.402	1.388	1.322
5	1.166	1.202	1.122	1.104	1.084
6	1.132	1.126	1.114	1.104	1.090
7	1.258	1.258	1.256	1.106	1.106
8	1.194	1.176	1.164	1.164	1.152
9	1.356	1.332	1.332	1.310	1.298
10	1.098	1.134	1.094	1.088	1.072
Ortalama	1.245±0.104	1.245±0.096	1.224±0.104	1.198±0.106	1.186±0.102



Şekil 4.3. Sunset Yellow'un Replikasyon İndeksi Ortalamalarının Grafiği

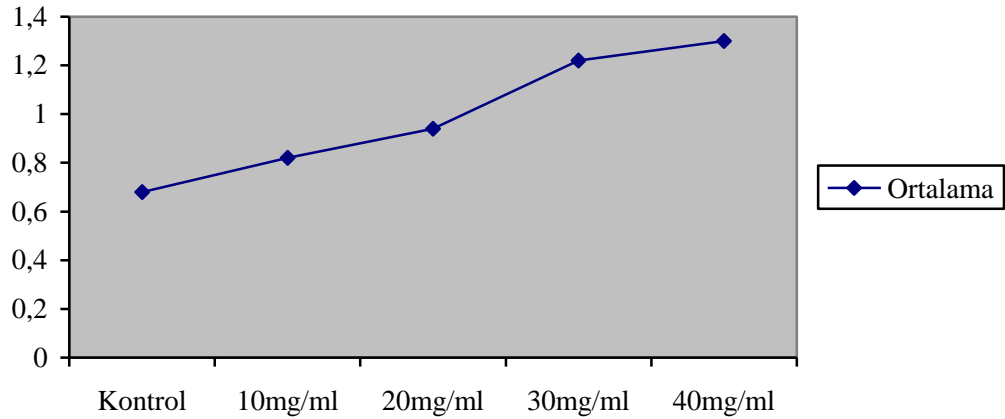
#### 4.4. Brilliant Blue'nun Mikronükleus Bulguları

Brilliant Blue ekstraktları uygulanan lenfositlerdeki MN oranları % 0.68-1.30 arasında değişmektedir. Kontrol grubunun MN oranı %0.68; Brilliant Blue'nun farklı konsantrasyonlarının (10, 20, 30 ve 40 mg/ml) MN oranları ise sırasıyla 0.82, 0.94, 1.22 ve 1.30 olarak bulunmuştur. MN oranı bakımından kontrol grubu ile 30 ve 40 mg/ml'lik konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Artan Brilliant Blue konsantrasyonlarına bağlı olarak MN oranlarında da artış meydana gelmiştir (Çizelge 4.4.) ve konsantrasyonlar ile MN değerleri arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir (Şekil 4.4.).

Çizelge 4.4. Brillant Blue'nun Mikronükleus Değerleri

DENEK	DOZLAR				
	Kontrol	10mg/ml	20mg/ml	30mg/ml	40mg/ml
1	0.8	1.0	1.0	1.2	1.2
2	0.6	1.0	0.8	1.4	1.6
3	0.6	0.4	0.6	1.0	0.8
4	0.4	0.8	1.2	1.6	1.6
5	0.8	0.8	0.8	1.0	1.0
6	0.8	1.0	1.4	1.4	1.8
7	0.2	0.6	0.4	0.8	1.0
8	0.2	0.4	0.8	0.8	1.0
9	1.0	0.8	0.8	1.2	1.0
10	1.4	1.4	1.6	1.8	2.0
Ortalama	0.68 ± 0.37	0.82 ± 0.30	0.94 ± 0.37	1.22 ± 0.33 *	1.30 ± 0.41 *

\*  $p < 0.05$



Şekil 4.4. Brilliant Blue'nun Mikronükleus Ortalamalarının Grafiği

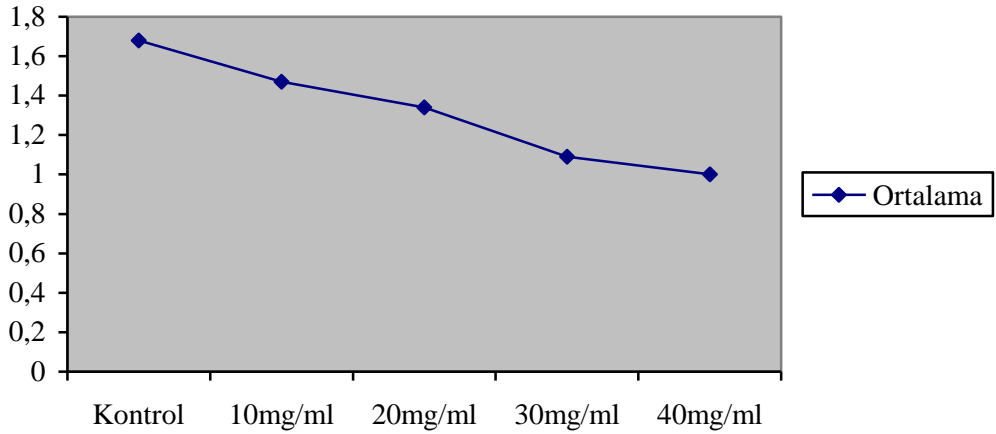
#### 4.5. Brilliant Blue'nun Mitotik İndeks Bulguları

Brilliant Blue ekstraktları uygulanan lenfositlerdeki MI oranları %1.68-1.00 arasında değişmektedir. Kontrol grubunun MI oranı %1.68; Brilliant Blue'nun farklı konsantrasyonlarının (10, 20, 30 ve 40mg/ml) oranları ise sırasıyla %1.47, 1.34, 1.09, 1.00 olarak bulunmuştur. MI oranı bakımından kontrol grubu ile 30 ve 40 mg/ml'lik konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Artan Brilliant Blue konsantrasyonlarına bağlı olarak MI oranlarında da azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.5.) ve konsantrasyonlar ile MI değerleri arasında negatif korelasyon gözlenmiştir (Şekil 4.5.).

Çizelge 4.5. Brilliant Blue'nun Mitotik İndeks Değerleri

DENEK	DOZLAR				
	Kontrol	10mg/ml	20mg/ml	30mg/ml	40mg/ml
1	1.8	1.6	1.6	1.1	1.1
2	0.8	0.7	0.7	0.6	0.7
3	0.7	0.5	0.4	0.2	0.1
4	1.4	1.1	1.2	0.9	0.7
5	2.2	1.9	1.4	1.5	1.1
6	2.8	2.5	2.3	1.9	1.9
7	2.0	1.7	1.6	1.5	1.4
8	1.4	1.4	1.1	0.9	1.0
9	1.6	1.6	1.4	0.9	0.9
10	2.1	1.7	1.7	1.4	1.1
Ortalama	1.68 ± 0.64	1.47 ± 0.58	1.34 ± 0.53	1.09 ± 0.50 *	1.00 ± 0.47 *

\*  $p < 0.05$



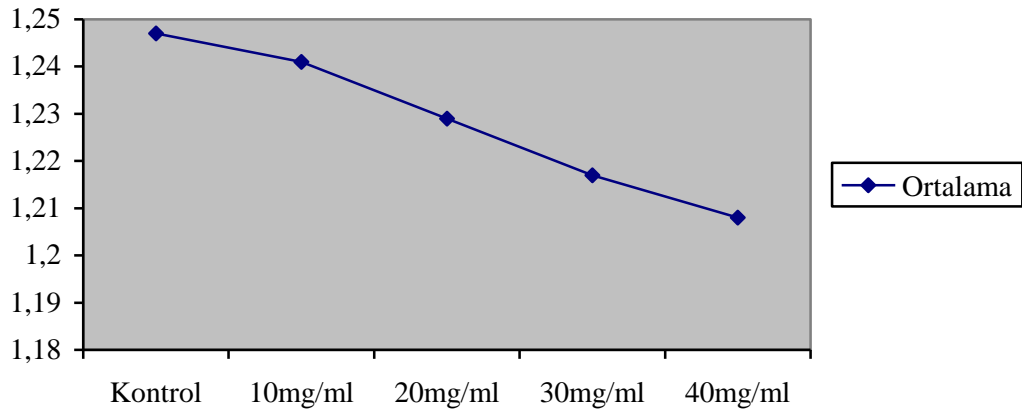
Şekil 4.5. Brilliant Blue'nun Mitotik İndeks Ortalamalarının Grafiği

#### 4.6. Brilliant Blue'nun Replikasyon İndeksi Bulguları

Brilliant Blue ekstraktları uygulanan lenfositlerdeki RI oranları 1.247-1.208 arasında değişmektedir. Kontrol grubunun RI oranı 1.247; Brilliant Blue'nun farklı konsantrasyonlarının (10, 20, 30 ve 40mg/ml) RI oranları sırasıyla 1.241, 1.229, 1.217 ve 1.208 olarak bulunmuştur. RI oranı bakımından kontrol grubu ile konsantrasyonlar arasında önemli fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Çizelge 4.6. Brilliant Blue'nun Replikasyon İndeksi Değerleri

DENEK	DOZLAR				
	Kontrol	10mg/ml	20mg/ml	30mg/ml	40mg/ml
1	1.350	1.338	1.326	1.332	1.328
2	1.228	1.234	1.208	1.202	1.200
3	1.414	1.410	1.390	1.378	1.380
4	1.084	1.078	1.104	1.060	1.066
5	1.100	1.084	1.052	1.060	1.048
6	1.188	1.180	1.174	1.176	1.134
7	1.336	1.326	1.324	1.292	1.302
8	1.332	1.330	1.272	1.270	1.252
9	1.200	1.192	1.202	1.188	1.174
10	1.242	1.242	1.236	1.210	1.200
Ortalama	1.247±0.109	1.241±0.111	1.229±0.104	1.217±0.105	1.208±0.109



Şekil 4.6. Brilliant Blue'nun Replikasyon İndeksi Ortalamalarının Grafiği

## 5. TARTIŞMA – SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzün en önemli konularının başında besin güvenliğinin sağlanması gelmektedir. Besin güvenliğinin sağlanmasında, besin üretimimin artırılması ve üretilen besinlerin kayıplarının önlenmesi, besinin bol bulunduğu dönemden daha az bulunduğu döneme kalitelerini koruyarak saklanması ve raf ömrünün uzatılması önem kazanmaktadır. Bu durumda da gıda katkı maddelerinin kullanımı kaçınılmaz olmuştur [36].

Gıda katkı maddeleri uygun şekilde kullanıldığında, yani izin verilen katkı maddesi, izin verilen besinlerde ve izin verilen miktarlarda kullanıldığında; başka bir deyişle yasalara uygun şekilde kullanıldığında yararlandığımız ve sağlık riskleri minimize edilmiş maddelerdir. Gıda katkı maddelerinin uygun kullanımı üretici, tüketici ve devlet işbirliğini gerektirmektedir. Üreticiler oto kontrole, ürettikleri besinin kalitesini üretim aşamalarında ve satışa sunmadan önce kontrol etmeye önem vermelidir. Üreticiler ve tüketiciler gıda katkı maddeleri konusunda bilinçlendirilmelidir [36].

Günümüzde gıda katkı maddeleri tüketiminden kendimizi tamamen soyutlamamız mümkün değildir. Dikkat etmemiz gereken nokta, bu maddeleri yasaların belirlediği şekilde ve miktarda kullanılmasını sağlayarak tehlikeleri olabildiğince minimuma indirmektir [37].

Gıda katkı maddelerinde risk/yarar dengesi önemlidir. Ancak diğer bazı risk etkenleri ile karşılaştırıldığında, önemleri daha düşüktür. Özellikle sigara kullanımı, aşırı alkol tüketimi yanında gıda katkı maddeleri daha düşük riske sahiptirler [37].

Her türlü gıda katkı maddelerinin üretimden tüketime kadar olan aşamalarında Sağlık Bakanlığı'nın hazırladığı tüzük ve yönetmeliklere uyulmalı; bu şekilde tüketime sağlıklı gıdalar sunulmalıdır.

Gıda kontrolünde; sağlık ocağı hekimleri yetkileri ve sorumlulukları konusunda eğitilmeli, yapması gereken işlerin önemi vurgulanmalı ve gıda katkı maddeleri kontrolünde aktif görev alması sağlanmalıdır.



Gıda kontrolü, devletin tüketici menfaatini korumak konusunda uyguladığı politikalarından birisidir. Tüketicilerin; insan sağlığı ve yaşamına karşı tehlikeli olabilecek konulara karşı korunması için;

- Mal ve hizmetlerin pazarlanmasında tüketicilerin korunması için güvenlik hakkı;
- Tüketicilerin yanıltıcı, yanlış ve eksik bilgi, reklam, etiket v.b. uygulamalara karşı korunmaları için bilgi edinebilme hakkı;
- Tüketicie birden çok çeşit mal ve hizmet sunulması için seçme hakkı;
- Kanun politikalarının oluşturulmasında tüketicilerin çıkarlarının dikkate alınmasını isteme hakkı vardır [37].

Yapılan araştırmalar, çevremizde sayıları her geçen gün artan çeşitli kimyasal maddelerin küçük miktarlarının bile genotoksik, mutajenik veya karsinojenik olabileceği gerçeğini ortaya koymaktadır [38].

Bu nedenle, bu etkilere sahip olma potansiyeli taşıyan fiziksel ve kimyasal ajanların başlıca insan genomu için mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sahip olup olmadıklarının ortaya çıkarılması son derece önemlidir. Çünkü genetik toksisite testlerinde alınan pozitif sonuçlar mutajenik olan birçok maddenin aynı zamanda karsinojenik de olduğunu göstermektedir [38].

Çünkü genetik toksisite testlerinde alınan pozitif sonuçlar mutajenik olan birçok maddenin aynı zamanda karsinojenik de olduğunu göstermektedir.

Çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilen ve kolay uygulanabilen in vivo ve in vitro MN testi, organizmayı etkileyen ajanların sitogenetik etkilerini belirlemek için yapılabilecek her türlü tarama çalışmasında güvenle kullanılabilen bir genotoksisite testidir [38].

Bu çalışmada renklendirici katkı maddelerinden olan Brilliant Blue ve Sunset Yellow'un çeşitli dozlarının insan periferal kan lenfositlerinde sitogenetik harabiyete sebep olup olmadığına MN, MI ve RI değerlerine bakılmıştır.

MI yeterli hücre proliferasyonu ve sitotoksiteyi göstermek için kullanılan indikatör bir testtir. MI'deki bir azalma hücre döngüsündeki bir inhibisyonu ve hücrenin proliferasyon kapasitesindeki bir kaybı yansıtır. MI, hücre siklusunda metafazdaki hücre yüzdesini verir. Bu test bazı kimyasalların hücrelerdeki etki mekanizması hakkında önemli bilgiler de vermektedir [39, 40].

Amorim ve arkadaşları çalışmalarında sitotoksite derecesinin tespit edilmesinin, uygun preparasyon zamanını ve test konsantrasyonlarını seçmek için gerekli olduğunu ve özellikle sonuçların insanların maruz kalabileceği bileşiklerin risk değerlendirmesi için kullanıldığında önem taşıdığını bildirmişlerdir. MI değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak paralel azalması, test edilen kimyasalın sitotoksik etki gösterdiği anlamına gelmektedir [40].

Brilliant Blue ve Sunset Yellow MI oranına göre değerlendirildiği zaman konsantrasyonlara bağlı olarak MI oranlarında azalma meydana gelmiştir [şekil 4.2, 4.5] ve konsantrasyonlar ile MI değerleri arasında negatif bir korelasyon gözlenmiştir. RI sonuçları da MI sonuçları ile paralellik göstermektedir. Artan konsantrasyonlara bağlı olarak RI oranlarında azalma meydana gelmiştir [şekil 4.3, 4.6] ve konsantrasyonlar ile RI değerleri arasında negatif korelasyon gözlenmiştir. MI ve RI sonuçlarına göre renklendirici katkı maddelerinden olan Brilliant Blue ve Sunset Yellow'un sitotoksik etkiye sahip olabileceğini söyleyebiliriz.

MN testi; skorlanması oldukça kolay, ekstra kültür işlemi basamağı olmadan uygulanabilen ve farklı hücre tiplerinde kullanılabilen bir testtir. MN testi, klastojenik etkili bileşikler tarafından oluşturulan kromozomal hasarların değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan standart genotoksite test sistemi içerisinde yer alır ve in vivo ve in vitro olarak uygulanabilir. MN'ler hücre döngüsü boyunca meydana gelen hasar nerede olursa olsun hücre bölünmesi süresince oluşur. Aksine, kromozomal aberasyonlar, hücre döngüsü aşamalarının herhangi birinde meydana gelebilir [41].

Ayrıca, sitogenetik harabiyetin tespitinde, kromozom analizine göre kolay uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücre sayılması ve istatistiksel yönden daha

anlamli sonuçlar elde edilmesi gibi avantajlari sayesinde yaygin kullanım alanı bulan bir tekniktir [42, 43, 44, 45, 46].

Çalışmada kullanılan Brilliant Blue ve Sunset Yellow MN oranlarına göre değerlendirdiğimiz zaman artan konsantrasyonlarına bağlı olarak MN oranlarında artış meydana gelmiştir [şekil 4.1, 4.4] ve konsantrasyonlar ile MN değerleri arasında pozitif korelasyon meydana gelmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında hazır gıdalarda çok fazla kullanılan katkı maddelerinden olan Brilliant Blue ve Sunset Yellow'un insan lenfosit kültürü üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda bu iki maddenin insan lenfosit kültürü üzerine olan genotoksik etkileri ortaya konmuş, özellikle yüksek dozlarda hücrelerde genotoksik ve sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Kanıtlanan bu zararlı etkiler nedeniyle sıklıkla kullanılan gıda katkı maddelerinden olan Brilliant Blue ve Sunset Yellow'un kullanımından kaçınılmalı, eğer kullanılıyorsa da kullanılması kontrol altına alınmalıdır. Dolayısı ile bu iki katkı maddesinin bilinçli olarak kullanılması sağlanmalı, kullanımını asgari seviyeye indirilmeli ve bu maddelerin yerini alabilecek yöntemlerin geliştirilmesi teşvik edilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Şekeroğlu V, Atlı-Şekeroğlu Z. Genotoksik Hasarın Belirlenmesinde Mikronükleus Testi, Turk. Hij. Den. Biyol. Derg., 68(4), 241-252, 2011.
2. Altuğ, T., Gıda Katkı Maddeleri, Meta Basım, İzmir, 2001.
3. Ekici,H., et al., Gıda Katkı Maddelerinin Toksikolojik Yönde İncelenmesi, Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi, 8(1-2), 60-66, 2008.
4. Besinlerdeki Katkı Maddeleri  
<http://www.populervedikal.com/saglikguvenlik/katkimadde.asp>
5. Gıda Katkı Maddeleri  
[http://www.diyetuzmani.com/beslenme/beslenme\\_bilgileri/gida\\_katki\\_maddeleri.php](http://www.diyetuzmani.com/beslenme/beslenme_bilgileri/gida_katki_maddeleri.php)
6. Atman, Ü.C., Gıda Katkı Maddeleri ve Gıda Kontrolü, Türk Tabipler Birliği, 13(3), 86-88, 2004.
7. Mital, A., Use of Hen Feathers as Potential Adsorbent for The Removal of A Hazardous Dye, Brilliant Blue FCF, From Wastewater, J. Hazard. Mater., 128, 233-239, 2006.
8. Gupta V.K., Mittal A., Krishnan L., Mittal J., Adsorption Treatment and Recovery of The Hazardous Dye Brilliant Blue FCF Over Bottom Ash and De-Oiled Soya, J. Colloid Interf. Sci., 293, 16-26, 2006.
9. Nazik, H., Bir Toz İçecek Numunesinde Bulunan Renk Maddelerinin Spektrofometrik Yöntemle Simultane Tayini, Yüksek Lisans, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 2012.
10. Gıda Raporu, Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiriciler,  
[http://www.gidaraporu.com/gida-maddelerinde-kullanilan-renklendiriciler\\_p.htm](http://www.gidaraporu.com/gida-maddelerinde-kullanilan-renklendiriciler_p.htm)
11. En Çok Dikkat Edilmesi Gereken Gıda Katkı Maddeleri Nelerdir?,  
<http://tiktikkimo.blogcu.com/en-cok-dikkat-edilmesi-gereken-gida-katki-maddeleri-nelerdir/160773>
12. "E" numaraları ne anlama geliyor?, <http://drnig.com/gida-katki-maddeleri-rehberi/2672-qeq-numaralar-ne-anlama-geliyor-.html>
13. Gıda Katkı Maddeleri Hakkında - Özel Dosya,  
[http://www.hayatname.com/forum/dogal\\_beslenme/gida\\_katki\\_maddeleri\\_hakkinda\\_ozel\\_dosya-t628.0.html;wap2=](http://www.hayatname.com/forum/dogal_beslenme/gida_katki_maddeleri_hakkinda_ozel_dosya-t628.0.html;wap2=)
14. Tüketiciler Birliği, <http://www.tuketiciler.org/?com=news.read&ID=2386>

15. JECFA, Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. In: 63rd Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, Switzerland. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland, WHO Food Additives Series, No. 54. 2005.
16. Tabii Katkı Maddeleri Sentetik Katkı Maddelerinden Daha Güvenilir Midir? <http://www.saglikvakfi.org.tr>
17. Gıda Katkı Maddeleri, [www.zootechni.org.tr/upload/.../GIDA%20KATKI%20MADDELERI.pdf](http://www.zootechni.org.tr/upload/.../GIDA%20KATKI%20MADDELERI.pdf).
18. Sağlık Seninle, Gıda Katkı Maddeleri, [http://haberseninle.com/saglik/makale/korkulu\\_ruyamiz\\_gida\\_katki\\_maddeleri/60540/](http://haberseninle.com/saglik/makale/korkulu_ruyamiz_gida_katki_maddeleri/60540/)
19. Sağlık Bilgileri, <http://zehirlenme.blogspot.com/2010/10/mikronukleus-testi-ve-genomik-dna.html>
20. Fenech, M., Crott, W.J, Micronuclei, Nucleoplasmic Bridges and Nuclear Buds Induced in Folic Acid Deficient Human Lymphocytes-Evidence For Breakage-Fusion-Bridge Cycles in The Cytokinesis-Block Micronucleus Assay, *Mutat. Res.*, 504, 131-136, 2002.
21. Fenech, M, The Lymphocyte Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay and Its Application in Radiation Biodosimetry, *Health Phys.*, 98(2), 234-243, 2010.
22. Thomas, P., et al., Buccal Micronucleus Cytome Assay, *Nat. Protoc.*, 4(6), 825-837, 2009.
23. Wu, J., et al., The Effect of Selenium, as Selenomethionine, on Genome Stability and Cytotoxicity in Human Lymphocytes Measured Using The Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay, *Mutat. Res.*, 24(3), 225-232, 2009.
24. Fenech, M, The In Vitro Micronucleus Technique, *Mutat. Res.*, 455, 81-95, 2000.
25. Bolognesi, C., et al., High Frequency of Micronuclei in Peripheral Blood Lymphocytes as Index of Susceptibility to Plevral Malignant Mesothelioma, *Cancer Res.*, 62, 5418-5419, 2002.
26. Rothfub, A., et al., Induced Micronucleus Frequencies in Peripheral Lymphocytes as a Screening Test for Carriers of a BRCAI Mutation in Breast Cancer Families, *Cancer Res.*, 60, 390-394, 2000.
27. Smimizu, N., Shimura, T., Tanaka, T., Selective Elimination of Acentric Double Minutes From Cancer Cells Through The Extrusion of Micronuclei, *Mutat. Res.*, 448, 81-90, 2000.

28. Bonassi, S., et al., Micronucleus Project: International Database Comparison for Results With the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay in Human Lymphocytes: I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria, and Host Factors on the Frequency of Micronuclei, *Environ. Mol. Mutagen.*, 37, 31-45, 2001.
29. Elhajouji, A., Tibaldi, F., Volders, K.M, Indication for Thresholds of Chromosome Non-Disjunction Versus Chromosome Lagging Induced by Spindle Inhibitors in vitro in Human Lymphocytes, *Mutagenesis*, 12, 133-140, 1997.
30. Lindholm, C., et al., Induction of Micronuclei and Anaphase Aberrations by Cytochalasin B in Human Lymphocyte Cultures, *Mutat. Res.*, 260, 369-375, 1991.
31. Tawn, E.J., Whitehouse, C.A, Frequencies of Chromosome Aberrations in a Control Population Determined by G Banding, *Mutat. Res.*, 490, 171-177, 2001.
32. Umegaki, K., Fenech, M, Cytokinesis-Block Micronucleus Assay in WILZ-NS Cells: A Sensitive System to Detect Chromosomal Damage Induced by Reactive Oxygen Species and Activated Human Neutrophils, *Mutagenesis*, 15, 261-269, 2000.
33. Rojas, E., et al., Mitotic Index and Cell Proliferation Kinetics for the Identification of Antineoplastic Activity, *Anti-Cancer Drug.*, 4, 637-640,1993.
34. Zotti-Martelli, L., et al., Individual Responsiveness to Induction of Micronuclei in Human Lymphocytes After Exposure In vitro to 1800-MHz Microwave Radiation, *Mutat. Res.*, 582(1-2), 42-52, 2005.
35. Scarpato, R., Migliore, R., Comparision of Spontaneous Structural Chromosome Aberration Frequency in 48 h Cultured Human Lymphocytes Mitotically Arrested by Different Colchemid Treatments,*Mutat. Res.*, 361, 35-39, 1996.
36. Yurttagül, M., Ayaz, A., Katkı Maddeleri: Yanlışlar ve Doğrular, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, 2008.
37. Bağcı, T., Gıda Katkı Maddeleri ve Gıda Kontrolü, Halk Sağlığı Temel Bilgiler, Güneş Kitapevi Ltd., Ankara, 1995.
38. Eroğlu, H.E., Türkiye *Helichrysum* Mill. (Asteraceae) Taksonlarının Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
39. Rojas, E., et al., Mitotic Index and Cell Proliferation Kinetics for The Identification of Antineoplastic Activity. *Anti-Cancer Drug.*, 4, 637-640, 1993.

40. Seligmann, I.C., et al., The Anticancer Homeopathic Composite Canova Method is not Genotoxic for Human Lymphocytes *in vitro*. Genet. Mol. Res., 2(2), 223-228, 2003.
41. Yırtıcı Ü. Tartrazinin *Cyprinus carpio*'daki genotoksik etkisinin MN yöntemi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
42. Vanparys, P., et al., The Micronucleus Assay as a Test for The Detection of Aneugenic Activitiy, Mutat. Res., 244, 95-103, 1990.
43. Stopper, H., Müler O.S. Micronuclei as a Biological Endpoint for Genotoxicity: A Minireview. Toxicol. In Vitro, 11, 661-667, 1997.
44. Demirel, S., Zamani, A., MN Tekniği ve Kullanım Alanları. Genel Tıp Dergisi, 12(3), 123-127, 2002.
45. Schmid, W., The Micronucleus Test. Mutat. Res., 31, 9-15, 1975.
46. Widel, M., et al., Micronucleus Assay *in vivo* Provides Significant Prognostic Information in Human Cervical Carcinoma: The Updated Analysis, Int. J. Radiat. Biol., 77, 631-636, 2001

## ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Ankara’da doğan Esra KUŞ, orta ve lise öğrenimini sırasıyla Halil Naci Mihçioğlu İlköğretim Okulu ve Yeşilöz Lisesi’nde tamamlamıştır. 2006 yılında kazandığı Bozok Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü 2010 yılında başarıyla tamamlamıştır. 2011 yılında yüksek lisans eğitimine Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında başlamıştır. Yrd. Doç. Dr. Halil Erhan EROĞLU danışmanlığında hazırladığı “Renklendirici Gıda Katkı Maddelerinden Brilliant Blue ve Sunset Yellow’un İnsan Periferik Lenfosit Kültürlerinde Genotoksik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı teziyle 2013 yılında mezun olmuştur.

### **İletişim Bilgileri:**

Adres : Bozok Üniversitesi FEF Biyoloji Bölümü Divanlı Yolu 10. km.  
66100 YOZGAT

Telefon : (354) 212 50 28

E-posta : esra2249@gmail.com