

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALLIUM CEPA'DA TARTRAZİN'İN SEBEP OLDUĞU FİZYOLOJİK,
ANATOMİK VE SİTOGENETİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI

BETÜL TAŞLI

AĞUSTOS

2016

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

Prof. Dr.M.Serkan SOYLU

.../.../.....

.....

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans / ~~Doktora~~ tezi olarakBiyoloji..... Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İhsan AKYURT

.....

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans / Doktora tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Doç.Dr. Kültiğin ÇAVUŞOĞLU

.....

Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Emine YALÇIN

Doç. Dr. Kültiğin ÇAVUŞOĞLU

Doç. Dr. Kürşat ÇAVUŞOĞLU

.....

ÖZET

***ALLIUM CEPA*'DA TARTRAZİN'İN SEBEP OLDUĞU FİZYOLOJİK, ANATOMİK VE SİTOGENETİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI**

TAŞLI, Betül

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

AĞUSTOS 2016, 39 sayfa

Bu çalışmada gıda katkı maddesi olan Tartrazin'in *Allium cepa* L. hücrelerinde meydana getirdiği fizyolojik, anatomik ve sitogenetik etkileri araştırılmıştır. Test materyali olarak *Allium cepa* tohumları kullanılmıştır. Fizyolojik parametrelerden çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı; sitogenetik parametrelerden kromozom hasarları, mikronukleus (MN) ve mitotik indeks (MI); anatomik parametrelerden ise anatomik hasarlar incelenmiştir. Uygulama grubundaki tohumlar 50, 100 ve 200 ppm dozunda Tartrazin ile 72 saat süresince muamele edilmiştir ve elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı, kromozom anormallikleri, mikronukleus sıklığı ve kök anatomisindeki önemli değişimler saptanmıştır. Doza bağlı olarak Tartrazin'in tüm uygulama gruplarında çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı ve mitotik indeksi azalttığı; kromozom anormallikleri, mikronukleus oranını ve anatomik hasarları ise arttırdığı tespit

edilmiştir. Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda Tartrazin uygulamasının *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve c- mitoz şeklinde kromozomal hasarların oluşumunu teşvik ettiği görülmüştür.

Ayrıca Tartrazin uygulamasını kök ucu hücrelerinde yassılaşmış hücre çekirdeği, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, nekroz ve korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma gibi anatomik hasarların oluşumuna da sebep olmuştur.

Anahtar Kelime: Tartrazin, Sitogenetik etki, *Allium cepa*



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE CYTOGENETIC, ANATOMIC AND PHYSIOLOGICAL CHANGES IN *ALLIUM CEPA* INDUCED BY TARTRAZINE

TAŞLI, Betül

University of Giresun

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master Thesis

Supervisor: Assoc.Prof. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

AUGUST 2016, 39 pages

In this study physiologic, anatomic and cytogenetic effects of tartrazine as food additives on *Allium cepa* L. was investigated. *Allium cepa* bulbs were used as test materials. Germination percentage, root length, weight gain were investigated as physiological parameters; chromosome aberrations, micronucleus (MN), mitotic index (MI) were investigated as cytogenetic parameters, anatomical damages were investigated as anatomical parameter. *Allium cepa* bulbs in treatment groups were treated with 50, 100 and 200 ppm Tartrazine and the results were evaluated by ststically analysis. As results, significant changes were observed in germination percentage, roort length, weight gain, chromosome aberrations, micronucleus frequency and root anatomy. A decrease in germination percentage, root length, weight gain, mitotic index and an increase in chromosome aberrations, micronucleus frequency and anatomical aberration were observed in Tratrazine treated gropus with dose-dependent manner. From the microscobic examinations, it was determined that

the tartrazine induced the chromosomal aberrations in *Allium cepa* root cells such as fragment, sticky chromosome, chromosome bridge, unequal distribution of chromatine, c-mitosis. And also tartrazine treatment caused anatomical changes such as flatted form of cell nucleus, accumulation of substances in cortex, cell deformation, unclear vascular tissue, necrosis and thickening in cell wall.

Anahtar Kelime: Tartrazine, Cytogenetic effect, *Allium cepa*



TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince, engin deneyimi ve bilgi birikimi ile yol haritamın oluşmasını sağlayan, fikirleri ve yol göstericiliği ile çalışmamın gelişmesine imkan tanıyan, maddi manevi bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, sabırla beni yönlendiren değerli hocam Sayın Doç.Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU'na teşekkürü bir borç sayıyorum. Her konuda yardımlarını, bilgilerini ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç Dr. Emine YALÇIN'na teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamın deney aşamalarında bana yardım eden Öğr.Gör. Figen ÇİÇEK'e teşekkür ederim. Bana bütün eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen anne ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

FEN-BAP-C-20051519 kodlu proje ile tezimi destekleyen Giresun Üniversitesi BAP birimine teşekkürümü sunarım

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Gıda Katkı Maddeleri.....	2
1.1.1. Antioksidanlar.....	2
1.1.2. Asitliği Düzenleyiciler.....	4
1.1.3. Emülsifiyerler ve Stabilizatörler.....	4
1.1.4. Kabartma Ajanları.....	5
1.1.5. Kıvam ve Aroma Arttırıcılar.....	5
1.1.6. Tatlandırıcılar.....	6
1.1.7. Renklendiriciler.....	6
1.1.7.1. Tartrazin.....	7
1.2. Toksisite Testleri.....	9
1.1.1. Comet Testi.....	9

1.1.2. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Test.....	10
1.1.3.Kromozom Anormallikleri Testi.....	10
1.1.4. Mikronükleus Testi.....	11
2. MATERYAL VE METOT.....	14
2.1 Kök Uçlarının Hazırlanması.....	14
2.2. Kök Uzunluğu, Ağırlık Kazanımı ve Çimlenme Yüzdesinin Belirlenmesi.....	14
2.3. Kromozomal Anormallikler, Mitotik İndeks ve Mikronükleus Testi.....	14
2.4. Anatomik Hasarın Belirlenmesi.....	15
2.5. İstatistiksel Analiz.....	16
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	17
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	23
5. KAYNAKLAR.....	29
ÖZGEÇMİŞ.....	39

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO

Tablo 1.1 Katkı Maddeleri Kodları.....	3
Tablo 1.2 Kullanım Amaçlarına Göre Gıda Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması...3	
Tablo 1.3. Kromozom Mutasyonları ve Sınıflandırılması.....	11
Tablo 3.1 Tartrazin Uygulamasının Tohum Çimlenmesi, Ağılık Artışı ve Kök Uzunluğu Üzerine Etkileri.....	18
Tablo 3.2 Tartrazin Uygulaması Tarafından Teşvik Edilen Kromozomal Hasarlar...	20

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Şekil 1.1. Tartrazin'in Kimyasal Yapısı.....	7
Şekil 1.2 MN Oluşumu.....	13
Şekil 3.1 Farklı Dozlardaki Tartrazin Uygulamasının Kök Uzunluğuna Etkileri...	18
Şekil 3.2 Tartrazin Uygulamasının MN Sıklığı ve MI Üzerine Etkisi.....	19
Şekil 3.3 Tartrazin Tarafından Teşvik Edilen Kromozomal Hasarlar.....	21
Şekil 3.4 Tartrazin Uygulamasının Kök Ucu Hücrelerinde Teşvik Ettiği Anatomik Hasarlar.....	22

KISALTMALAR

FRG Fragment

MN Mikronukleus

KK Kromozom Köprüsü

YK Yapışkan Kromozom

CM C-mitoz

KED Kromatinin Eşit Olmayan Dağılımı

MI Mitotik İndeks

1.GİRİŞ

Artan nüfus ile birlikte endüstriyel gelişim besin üretiminin artması, üretilen besinlerin uzun süreli muhafaza edilmesini gündeme getirmiştir. Bu kapsamda gıda katkı maddelerinin çeşitli sektörlerde kullanılması bir zorunluluk olarak ortaya çıkmıştır. Gıda katkı maddeleri gıdaların ambalajlanmasında ve depolanmasında, raf ömrünü uzatmak için, gıdaya dayanıklılık, yoğunluk, renk vermek için kullanılmaktadır. Ayrıca, gıda katkı maddelerinin kullanımı besin üretimimin artırılması ve besin kaybının önlenmesi, besinin uzun süreler kalitesinin bozunmadan saklanması ve raf ömrünün uzatılmasında da oldukça önemlidir. Katkı maddelerinin üretimi tabii kaynaklardan olabileceği gibi sentetik yolla da üretilmektedir. Katkı maddesinin doğal yolla ya da sentetik olarak üretilmesi güvenilir olduğu anlamına gelmemektedir. Gıdalara farklı aşamalarda ve farklı amaçlar için ilave edilen gıda katkı maddeleri ve gıdalarda rastlanan çeşitli kontaminatlar uluslararası düzenlemelerle takip edilmektedir. Gıdalarda kullanılan tüm kimyasallar çeşitli testlere tabi tutularak güvenilirliği test edilmelidir.

Bu çalışmada tartrazinin *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde genotoksik etkileri Mikronukleus testi ve kromozomal anormallik testleri kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca tartrazinin çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı ve kök anatomisi üzerine etkileride incelenmiştir. *Allium cepa* testi sitotoksik ve genotoksik etkilerin araştırılmasında yaygın olarak kullanılan bir testtir. *Allium cepa* testi basit, kullanışlı, düşük maliyetli, kısa sürede sonuç alanabilen bir yöntemdir. Hücrelerdeki mitoz–metafaz safhasında kromozomlardaki anomalilerin rahat gözlemlenebilir olması bu testi popüler kılmaktadır. Memelilerde uygulanan toksisite tesleri ile de paralel sonuçlar vermesi iyi korelasyon sağlaması da önemli bir husustur. Bununla birlikte kimyasalların bitki kromozomları üzerindeki etkisini belirlemek için *Lycopersicon esculentum*, *Vicia faba*, *Pisum sativum*, *Triticum aestivum*, *Tradescantia paludosa* gibi pek çok bitki türü ile yapılan çalışmalara literatürde rastlamak mümkündür (1-5).

1.1.Gıda Katkı Maddeleri

Gıda katkı maddesileri, gıdaların üretiminde, hazırlanmasında, ambalajlanmasında ve depolanmasında gıdaya dayanıklılık, yoğunluk, renk vermek için kullanılan maddelerdir (6). Endüstrinin hızlı bir şekilde gelişmesiyle birlikte besinlerin üretilmesinde ve işlenmesinde gıda katkı maddelerinin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (7). Hazır gıdalarda bulunan katkı maddeleri biyolojik bozunmayı önleyerek dayanıklılığı arttırmaktadır (8). Katkı maddelerinin ilk kullanımı M.Ö. zamanlara dayanmaktadır. M.Ö. 3000-900 yıllarında gıdaların saklanması tuz ve odun tütsüsünden, et ürünlerinin saklanması ise tuzdan yararlanılmıştır. Eski Romalılarda baharat olarak bilinen bazı bitkiler İngiltere’de aroma vermek amacıyla kullanılmış, Mısır’da ise yiyeceklerde renklendirici maddelere kullanıldığı bilinmektedir (9). 1856 yıllarında yapay boya maddesi olarak anilin moru (Aniline purple) kullanılmaya başlanmıştır. 19. yüzyılda endüstrinin hızlı bir şekilde ilerlemesiyle birlikte gıda katkı maddelerin kullanımında artış görülmektedir. Birçok gıdanın içeriğinde yer alan benzoik asit, sakarin, tartrazin gibi kimyasal maddelerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (10).

Gıda katkı maddeleri; yapay katkı maddeleri, doğal katkı maddeleri ve doğala özdeş katkı maddeleri olarak üç gruba ayrılmaktadırlar (11). Her katkı maddesi için Avrupa Birliği tarafından bir kod belirlenmiştir ve doğal veya sentetik yapıda olmasına bakılmaksızın katkı maddeleri olarak tanımlanan tüm kimyasallar bu kodlama sistemine dahildir. Bu sistemde gıda katkı maddelerini tanımlamak için Avrupa Birliğinin (EC) simgesi olarak E harfi ve üç rakamlı sayıdan oluşan kodlar bulunmaktadır (Tablo 1.1). Gıda katkı maddeleri kullanım amaçlarına göre farklı gruplara ayrılmaktadır. Raf ömrünü uzatan antioksidanlar, duyu kaliteyi etkileyen emülgatörler, işlem yardımcı maddesi olarak kullanılan enzimler, besleyici değeri düzeleyen yapay tatlandırıcılar bu gruplardandır.

1.1.1.Antioksidanlar

Gıda içerisindeki bileşiklerin hava ile teması sonucunda bileşik ve oksijen arasında otoksidasyon tepkimeleri oluşmaktadır. Bu tür tepkimeler gıda endüstrisinde kalitenin düşmesine neden olmaktadır. Renk, tat ve kokuda meydana gelen değişimler, bazı bileşenlerin parçalanması, toksik bileşenlerin oluşması kalite

düşmesinin ana nedenleridir (12). Oksidasyonla bozulma sonucu meydana gelen spesifik değişiklikler karbohidrat, protein ve yağ oksidasyonudur.

Tablo 1.1. Katkı maddeleri kodları	
E100 - E200	Gıda Renklendiricileri
E200 - E300	Koruyucular
E300 - E400	Antioksidanlar, emülgatörler ve stabilizörler
E400 - E500	Emülgatörler ve kıvam arttırıcılar
E500 - E600	Farklı fonksiyonlardaki katkı maddeleri
E600 - E700	Lezzet zenginleştiriciler
E700 - E800	Antibiyotikler
E900- E1000	Farklı fonsiyonlarıyla katkılar
E1000- E1300	Farklı fonksiyonlardaki katkı maddeleri
E1400- E1500	Modifiye nişastalar
E1500- E1525	Yapay lezzetler ve lezzet çözücüler

Tablo 1.2. Kullanım Amaçlarına Göre Gıda Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması			
Raf Ömrünü Uzatma Katkı Maddeleri 1.Antioksidanlar 2.Koruyucular (Antimikrobiyaller) 3.Asitliği Düzenleyiciler	Duyusal Kaliteyi Modifiye Eden Katkı Maddeleri 1.Renk Modifiyerleri 2.Lezzet Arttırıcılar 3.Doku Modifiyerleri (Emülgatörler, Kıvam Vericiler, Jelleştiriciler, Kaplama Maddeleri)	İşlem Yardımcı Maddeleri 1.Starter Kültürler 2.Enzimler 3.Taşıyıcı&Çözgenler 4.İtici Gazlar	Beslenme Değerini Düzenleyiciler 1.Fonksiyonel Katkılar 2.Diyatetik Katkılar 3.Doğal Tatlandırıcılar 4.Yapay Tatlandırıcılar 5.Zenginleştirici Katkılar

Karbonhidrat oksidasyonunun sonucunda gıdakarda aroma, tat ve renkte değişiklikler meydana gelmektedir. Rengin bozulması genellikle kahverengi, gölgeli, gri ve sarı renk oluşumuyla kendini göstermektedir (13,14). Proteinler proteolitik parçalanmalar, hidrolitik reaksiyonlar ve ısıнын etkisiyle denatüre olmaktadır. Proteinlerin oksidasyonu sonucunda gıda maddelerinde kötü koku ve tat meydana gelmektedir. Protein oksidasyonu uygun ambalajlama yöntemleriyle çözülmeye çalışılmaktadır (15). Gıdalardaki yağ bozulmaları ise hidroliz, lezzet dönmesi, acılık ve polimerizasyon şeklinde gerçekleşmektedir.

Antioksidanlar, oksidatif bozunma sonucu meydana gelen gıdalardaki değişimleri önlemektedirler. Antioksidanlar; doğal ve yapay antioksidan olarak ikiye ayrılmaktadır. Tokoferoller, Askorbik Asit ve Tuzları, Gallik Asit ve Esterleri, Nordihidroquayeret asidi doğal antioksidan olarak kullanılan gıda katkı maddeleridir. Doğal antioksidanlar; meyveler, sebzeler, mantarlar, çay ve su yosunları gibi yapay antioksidanlar ise süt tozu, süt, et ürünlerinde, esansiyel yağlarda, hububatlarda, fındık ve fıstık türü ürünlerde bulunmaktadır. Butillenmiş hidroksianizol (BHA), Butillenmiş hidroksitoluen (BHT), Tersiyer Butilhidrokinon (TBHQ) yapay doğal antioksidan olarak kullanılan gıda katkı maddeleridir (16).

1.1.2. Asitliği Düzenleyiciler

Asitliği düzenleyici maddeler, gıdanın pH'sını dengelemek için kullanılmaktadır. pH ile ürünün asitlik ve bazlığı ölçülmektedir. Asit düzenleyiciler arasında en çok Sitrik asit (E 330), kalsiyum asetat (E 263) ve fumarik asit (E 297) kullanılmaktadır. Paketlenmiş tatlılar, peynir, süt, et, soslar ve içecekler, reçeller, marmelat gibi hazır gıdaların içeriğinde asit düzenleyiciler yer almaktadır (17).

1.1.3. Emülsifiyerler ve Stabilizatörler

Emülsifiyerler, bir sıvının diğer sıvının içerisinde homojen dağılmasına yardımcı olmak, sıvının yüzey gerilimini azaltmak için kullanılmaktadır (18). Lesitin, mono ve di gliseritler emülsifiyerlere örnek olarak verilmektedir. Lesitin (E322)'in işlevi, birbiriyle karışmayan yağ ve su gibi maddelerin birbiri içinde karışmasını sağlamaktır (11,19).

Stabilizatörler, gıda maddelerinin üretiminde istenilen yapıyı oluşturmak, korumak ya da iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu maddelerde bulunan iki veya daha fazla birbiri ile karışmayan fazın homojen olarak dağılımını sağlayan katkı maddeleridir (20). Stabilizatörler doğal, yarı yapay ve yapay olarak üçe ayrılmaktadır. Doğal ve yarı yapay stabilizatörler gıda üretiminde kullanılmasına izin verilirken, sentetik olanlara ise izin verilmemektedir. Bu nedenle yapay kaynaklı stabilizatörler ise daha çok kozmetik sanayisinde kullanılmaktadır (21).

1.1.4. Kabartma Ajanları

Kabartma ajanları, ince granüller yapıda bileşiklerdir. Bu bileşikler gaz üreterek hamur hacmini arttıran karışımları ifade etmektedir. Kek, bisküvi gibi undan yapılan ürünlerin kabartılması için kullanılmaktadır (22). Amonyum karbonat ve sodyum bikarbonat en çok kullanılan kabartma ajanlarındandır. Amonyum karbonat (E503) pişirme sırasında karbondioksit oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca amonyum karbonat kakaonun alkalizasyonunu sağlamaktadır. Sodyum bikarbonat (E500) ise hamurun kabartılmasında yer almaktadır (23).

1.1.5. Kıvam ve Aroma Arttırıcılar

Kıvam arttırıcılar, gıdaların yoğunlaşmasını sağlayarak kıvamlarını arttıran, akışkanlıklarını ise azaltan maddelerdir. Genellikle gıdalarda kıvam vermek ya da kıvamını arttırmak için kullanılmaktadır. Kıvam vericiler arasında yaygın olarak Agar agar, pektin, sığır jelatini gibi maddeler bulunmaktadır. Jöle, marmelat, reçel, salça, krem, sos, peynir gibi besinlerin üretiminde kıvam vericiler kullanılmaktadır (24).

Aroma arttırıcılar pek çok gıdada yeni aroma eklemekten aromayı arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Hazır çorba ve fast-food ürünlerinde, cips, et ve tavuk suyu tabletlerinde sıkça kullanılmaktadır. En çok kullanılan aroma arttırıcı mono-sodyum glutamat (E621)'tır (25). Monosodyum glutamat, aroma olarak ve doğru miktarda kullanıldığında, tatla etkinleşen diğer bileşenleri iyileştirerek yemeklerin genel tadını dengeleme özelliğine sahiptir (26).

1.1.6. Tatlandırıcılar

Gıda katkı maddelerine şeker tadı vermek amacıyla kullanılan katkı maddeleridir. Günlük yaşamda kullanılan şekerin yerini almak üzere üretilen, şekerden daha az tatlı olan ve daha az enerji içeren kimyasal maddeleri içermektedir. Tatlandırıcılar; şeker tadı içermeyen gıdaları tatlandırmak ve işlem sırasında azalan ya da kaybolan şeker tadını gıdaya tekrar kazandırmak için kullanılmaktadır (27).

Tatlandırıcılar elde edildikleri kaynağa göre doğal ve yapay tatlandırıcılar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Yaygın olarak doğal tatlandırıcılardan çok, sentetik veya yapay tatlandırıcılar kullanılmaktadır. Doğal tatlandırıcılar, vücutta enerji sağlayan ve karbonhidrat yapıda olan besin maddelerindendir (28). Yapay tatlandırıcılar ise düşük kalorili yiyecek ve içeceklerin içeriğinde bulunmaktadır. Sükroz, fruktoz, sorbitol, mannitol ve ksilitol enerji içeren, aspartam, asesülfam-K, siklimatlar ve sakarin ise enerji içermeyen yapay tatlandırıcıları oluşturmaktadır (29).

1.1.7. Renklendiriciler

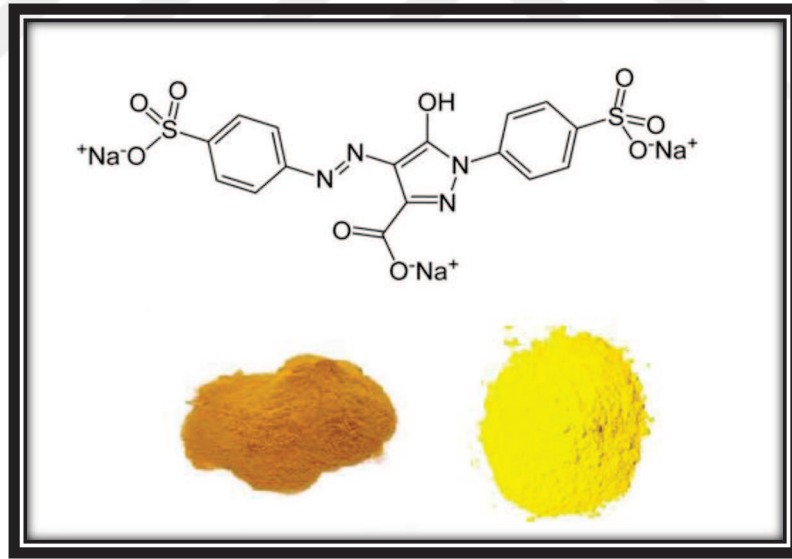
Gıdalarda hazırlama ve depolama sırasında kaybolan doğal rengi yeniden kazandırmak veya renk bozukluklarını gidermek için renklendirici maddeler kullanılmaktadır. Alkolsüz içecekler, şekerler, dondurmalar, yapay toz içecekleri gibi birçok ürünlerde renklendiriciler bulunmaktadır (30). Gıda renklendiricileri gıdaların ve içeceklerin tazelik, tat ve aromalarına paralellik göstermesi, üretim prosesleri sonrası ham maddedeki renk kayıplarını önlemek için kullanılır. Bitkisel ve hayvansal ya da mantar kökenli doğal renklendiricilerin yanı sıra sentetik renklendiricilerde bulunmaktadır. Tek başına gıda olarak kullanılmayan renklendiriciler, aroma ve tat verme özelliğinde değildirler (31). Renklendiriciler doğal ve yapay olarak ikiye ayrılmaktadır.

Doğal renklendiriciler; mikrobiyal, hayvansal, bitkisel ve mineral kaynaklardan elde edilen pigmentleri içermektedir. Toksik olmamaları, endüstriyel üretimlerinin kolay olması ve ayrıca maliyetin düşük olması nedeniyle bu renklendiriciler tercih edilmektedir. Doğal renklendiriciler ısı ve pH'tan etkilenirler. Bu nedenle zayıf bir stabilite ile renklendirme gücüne sahip olmaktadırlar (32,33).

Yapay renklendiriciler, doğada bulunmayan ancak kimyasal yolla elde edilebilen renk maddelerini içermektedir. Bütün yapay renklendiricilerin sentezinde başlangıç materyali olarak kömür kullanılmaktadır (33). Yüksek suda çözünme oranına sahip yapay renklendiriciler ışığa, ısıya, asitlere ve koruyucu maddelere karşı dayanıklıdır. Yapay renklendiriciler renk verme güçleri, renk aralıkları, kullanım kolaylıkları gibi özellikleri nedeniyle Doğal renklendiricilere kıyasla daha yaygın kullanılmaktadır. Yapay renklendiriciler çözünürlüklerine göre; suda çözünenler, yağda çözünenler ve lake renklendiriciler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Yapay renklendiricilere; amarant, brilliant blue, eritrosin, sunset yellow ve tartrazin örnek olarak verilmektedir (33,34).

1.1.7.1. Tartrazin

Tartrazine sarı renkli yapay renklendirici olan 534.36 g/mol moleküler ağırlığa ve $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ moleküler formüle sahip bir azo boya maddesidir (Şekil 1.1.).



Şekil 1.1. Tartrazin'in kimyasal yapısı (35).

25°C'de sudaki çözünürlüğü 20 g/100 mL, gliseroldeki çözünürlüğü ise 18 g/100 mL'dir (36). E102 katkı maddesi kodu ile birlikte Acid Yellow 23, Food Yellow 4 ve trisodium 1-(4-sulfonatfenil)-4-(4-sulfonatfenil azo)-5-pirazolon-3-karboksilat adları ile de bilinmektedir. Azo boyar maddesi olan tartrazin gıda kodeksinde izin verilen ürünlerde sınırlı miktarlarda kullanılmaktadır (37). Azo boyaları, -N=N-, azo

grubu içeren bütün gıdaların pH aralığında kararlı ve ısıya karşı dayanıklıdır. Ayrıca ışık ya da oksijene oksijene maruz kaldığı zaman renk değişimi gözlenmez. Yağda çözünürlüklerinin düşük olması bu grup boyaların kullanımını kısıtlamaktadır (38).

Tartrazin gıdalarda sarı rengin oluşmasında kullanılmakla birlikte Brilliant Blue FCF ve Green S boyar maddeleri ile birlikte yeşil renk ve tonlarının oluşumunda da kullanılabilmektedir (39). Dondurma üretimlerinde, buzlu ve gazlı içeceklerde, meyveli soda üretimlerinde kullanılmaktadır. Ayrıca pasta ve şekerleme ürünlerde, jöleler, aromalı içeceklerde, pastacılık gibi pekçok gıda üretiminde kullanılmaktadır. Gıda haricinde deterjan ürünleri, tarım ürünleri, temizlik ürünleri, oyun hamurları ve oyuncak sektöründe pek çok ürünün renklendirilmesinde kullanılmaktadır.

Gıdalarla birlikte vücuda alınan tartrazin idrarla değişikliğe uğramadan atılmakta düşük bir miktarı ise bağırsak mikroflorası tarafından metabolize edilmektedir ve ortaya çıkan bazı metabolitler barsakta absorbe olmaktadır (40). Sülfanalik asit oluşan metabolitlerden biridir ve idrarla atılmaktadır. Kuno ve Mizutani, karaciğer mikrozomları ile tartrazinin biyotransformasyonunu incelemiş ve CYP2A6 ve UDP-glukuronil transferaz enzimlerinin tartrazine etki etmediğini rapor etmişlerdir (41).

Literatürde tartrazinin mutajenik etkisi olmadığına dair bilgiler mevcut olmakla birlikte bazı çalışmalarda tartrazinin klastojenik etkisi olduğu rapor edilmektedir (39). Hamster ve sıçan somatik hücrelerinde kromozomal anormalliklere neden olduğu rapor edilmiştir (42). Sasaki ve arkadaşları, Comet testi ile tartrazinin fare kolon hücrelerinde DNA hasarına yol açtığını rapor etmişlerdir (43). İki yıl süre ile %1-2 oranında suda çözünmüş tartrazin maruziyetinin sıçanlarda karsinojenik etki göstermediği rapor edilmiştir (44). %2 oranında dietle birlikte verilen tartrazinin sıçan ve tavşanlarda teratojenik etkiye ve üreme sistemi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir (45). Tartrazinin LD₅₀ değeri farelerde 12750 mg/kg/bw, sıçanlarda yaklaşık 2000 mg/kg/bw olarak bulunmuştur (43). Tartrazinin günlük kabul edilebilir doz değerlerinin üzerinde hayvanlarda nörotoksisiteye, öğrenme ve hafızada problemlere neden olduğu da rapor edilmektedir. (46).

Bu çalışmada tartrazinin *Allium cepa* kök ücü hücrelerinde genotoksik etkileri Mikronukleus testi ve kromozomal anormallik testleri kullanılarak belirlenmiştir.

Ayrıca tartrazinin çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı ve kök anatomisi üzerine etkileride incelenmiştir.

1.2. Toksisite Testleri

Toksikoloji, biyolojik sistemlerin kimyasallar ile etkileşimlerini ve zararlı sonuçlarını inceleyen bilim dalıdır (47). Uygun dozda alınmayan her madde zehir etkisi yaratabilmektedir. Kimyasal maddeler, canlı hücreler üzerinde önemli yapı ve fonksiyon değişikliğine sebep olmaktadır. Bu değişikliklerin saptanmasında deneysel toksikolojik çalışmalara yer verilmektedir (48). İnsan sağlığının korunması amacıyla gıda katkı maddelerinin kullanım miktarı belirlenmektedir. Bu nedenle katkı maddeleri insan sağlığının korunması amacıyla çok sık denetlenmekte ve takip edilmektedir. Katkı maddelerinin kullanım miktarını belirlemede katkı maddeleri düzenli olarak toksikolojik testlere tabi tutulmaktadır. Her bir katkı maddesi için 9 farklı toksisite testi uygulanmaktadır (49).

Kimyasalların muhtemel genotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkilerini belirleyebilmek için pek çok test sistemi geliştirilmiştir. Bu testler, doğrudan ya da dolaylı olarak hasarları saptamak amacıyla geliştirilmiş in vitro ve in vivo testlerden oluşmaktadır. Genotoksisite testleri ile mutajenik etkisi olan kimyasalların tespiti, etki mekanizması, gereksiz kullanımının önlenmesi genetik toksikolojinin başlıca amaçlarını oluşturmaktadır (50,51).

Genotoksisite testleri esas olarak genomu etkileyebilecek parazitik enfeksiyonların, kimyasal ajanın genotoksik ve kanserojenik potansiyellerinin tespitinde, bazı hastalıklarda artmış DNA hasarının tespitinde, pestisitler, gıda katkı maddeleri, ilaçlar, nanomateryaller gibi maddelerin genetik etkilerini belirlemede ve kansere duyarlılığın tayininde kullanılmaktadır (52,53). Bu tür toksisitelerin belirlenmesinde çok farklı genotoksisite testleri mevcuttur.

1.1.1.Comet Testi

İlk olarak 1984 yılında Östling ve Johanson tarafından geliştirilmiş olan Comet testi daha sonra Singh ve arkadaşları tarafından modifiye edilmiştir. Comet testi hücrelerde DNA hasarının belirlenmesinde, kalıtsal hastalıkların teşhisinde kullanılan bir testtir. Çeşitli ajanların neden olduğu DNA çift ve tek zincir kırıklarının tespiti için de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (54).

1.1.2. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Testi

KKD testi kromozomlarda oluşan yapısal değişimlerin, mutajenik ve genotoksik etkilerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Mutajen maddelere maruz kalan hücrelerde KKD düzeyinin arttığı ve bu artışın tümör oluşumu ile ilişkili olduğu pek çok araştırmada rapor edilmektedir. KKD testinde kardeş kromatitlerdeki değişimi saptamak için bromodeoksiüridin (BrdU) kullanılmaktadır. KKD sayısı, bir kromozomdaki açık boyanmış kromatitdeki koyu boyanmış bölgelerin veya koyu boyanmış kromatitdeki açık boyanmış bölgelerin sayılmasıyla belirlenir. Fankoni Aplastik Anemisi, Bloom Sendromu, Duchenne ve Becker tipi kas distrofileri gibi bazı hastalıklarda KKD testi araştırma ve tanı amaçlı olarak da kullanılmaktadır (55).

1.1.3. Kromozom Anormallikleri Testi

Kromozom anormalliği testi (CAs), kromozomal hasarın ve genom kararsızlığının biyolojik göstergesi olarak kullanılmaktadır (56). Kromozomal anormallikler, kendiliğinden veya mutajen uygulaması sonucu meydana gelen normal kromozom yapısındaki veya sayısındaki değişikliklerdir. Dolaşımdaki lenfositlerde kromozomal anormalliklerin artan sıklığı, artan kanser riskinin bir göstergesi sayılmaktadır (57,58).

Kromozom anomalileri; bir kromozomda meydana gelen sayısal ve yapısal değişimleri ifade etmektedir. Bu değişimler genellikle mayoz ya da mitoz bölünme sırasında ya da bir mutajene maruz kalma esnasında meydana gelmektedir. Kromozom anomalileri sayısal ve yapısal kromozom anomalileri olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Sayısal kromozom anomalilerinde kromozom sayısında değişiklik olmakta, kromozom kaybı ya da kromozom artışı gözlenmektedir. Sayısal kromozom anomalileri öploidi ve anöploidi olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Tablo 1.3) (59). Sayısal anomalilerin en bilinen örneği down sendromudur. Down sendromu, insanlarda 21. kromozomun fazlalığından kaynaklanan genetik bir farklılıktır. Down sendromunda vücutta çeşitli yapısal ve fonksiyonel değişiklikler meydana gelmektedir. Yapısal mutasyonlar ise kromozom kaybı ya da yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır. Mayoz bölünmenin ilk evrelerinde crossing-overle kromozomlar arasında parça değişimi olmaktadır, bazı durumlarda kromatitlerde, crossing-over olmadan parça değişimi, kaybı yada kazanılması

gözlenmektedir. Duplikasyon, delesyon, ring kromozom, translokasyon yapısal anomalilerden bazılarıdır (Tablo 1.3). Kromozom anormalliği testi hücrelerde oluşan yapısal ve sayısal kromozomal anormalliklerin tespitinde kullanılmaktadır (60,61).

Tablo 1.3. Kromozom Mutasyonları ve Sınıflandırılması

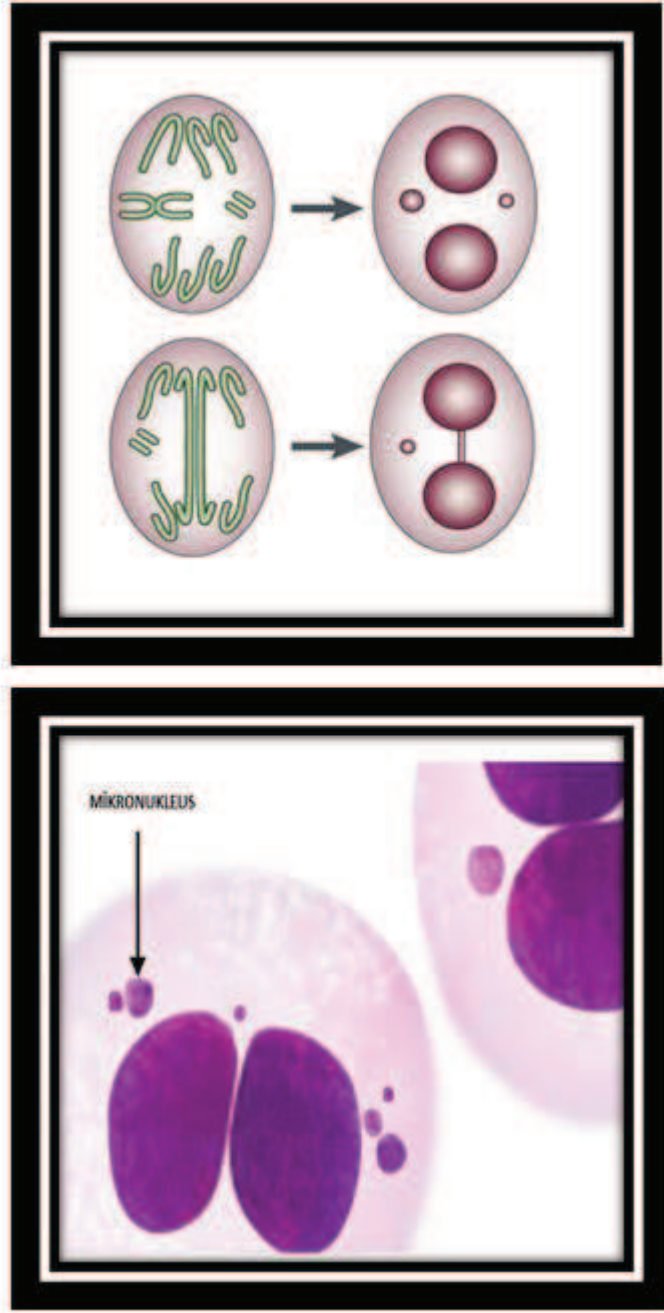
Kromozom Mutasyon Anomalileri	
Sayısal Kromozom Anomalileri	Yapısal Kromozom Anomalileri
1-Öploid -Monoploid (n) -Diploid (2n) -Triploid (3n) -Tetraploid (4n) -Pentaploid (5n) 2-Anöploid -Down Sendromu -Klinefelter Sendromu -Patau Sendromu -Turner Sendromu	1-Delesyon 2-Duplikasyon 3İnversiyon 4-İnsersiyon 5-Ring Kromozom 6-İzokromozom 7-Mozaisizm 8-Translokasyonlar

1.1.4. Mikronükleus Testi

Mikronukleus (MN)'lar hücre bölünmesi sırasında oluşan, hücre çekirdeği ile ilişkili olmayan kromozom kırıklarından köken alan oluşumlardır (62). Sitotoksisitenin kolay tespiti, istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermesi gibi avantajları sayesinde sitogenetik hasarların belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (63). MN 'ler genellikle mitotik iğdeki hatalardan, hücre siklusunda görev alan genlerdeki eksikliklerden veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır.

MN sıklığındaki artış, kimyasalların hücreler üzerindeki sitotoksitenin göstergesi olarak Kabul edilmektedir. Kanseri ve genomdaki hatalarla ilgili yapılan bazı çalışmalarda elde edilen bulgularda, MN frekansının bu tür anormalliklerde yüksek olduğu rapor edilmektedir (64-69).

Hücredeki bir yapının MN sayılabilmesi için; a.MN çapı, hücre çekirdeği boyutunun 1/3'ü kadar veya bu orandan daha küçük olmalıdır, b. MN parçaları yuvarlak veya oval şekle sahip olmalıdır, c. MN'ler hücre çekirdeğinden net bir şekilde ayırt edilebilmeli ve ya mikronükleer sınırlar nükleer sınırlardan ayırt edilebilir olmalıdır (70). MN testi sigara, pestisitler, nanomateryaller, gıda katkı maddeleri ve diğer birçok kimyasal maddeler, parazitik enfeksiyonlar gibi çevresel ve mesleki etkileri değerlendirebilmek için de kolaylıkla kullanılmaktadır. MN testi, mitoz bölünmenin olduğu bitki, hayvan ve insan hücrelerinde genotoksik etkinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (71). *Allium cepa* ve *Vicia faba* bitkilerinde hızlı büyüme ve zaman tasarrufu nedeni ile iki bitkinin bölünen kök hücrelerinde MN testi sıkça kullanılmaktadır (72).



Şekil 1.2. MN oluşumu (73).

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Kök Uçlarının Hazırlanması

Bu çalışmada araştırma materyali olarak eşit büyüklükte *Allium cepa* tohumları kullanılmıştır. Tohumlar bir kontrol ve üç uygulama grubu olmak üzere toplam 4 gruba ayrılmış, tohumlar 85x100 çapında steril beherlerde oda sıcaklığında 72 saat çimlenmeye tabii tutulmuştur. Grup I olarak ifade edilen kontrol grubuna ait tohumlar çeşme suyu ile, Grup II'ye ait tohumlar 50 ppm Tartrazin ile; Grup III'e ait tohumlar 100 ppm Tartrazin ile ve Grup IV'e ait tohumlar ise 200 ppm Tartrazin ile muamele edilmişlerdir. Çimlenen tohumların kurumaması amacıyla grupların su ve Tartrazin seviyeleri kontrol edilerek, gerekli durumlarda hazırlanan solüsyonlar ilave edilmiştir. Uygulama periyodu sonunda kök uçları dH₂O ile yıkanmış ve standart preparat hazırlama teknikleri kullanılarak sitogenetik analizleri için hazır hale getirilmiştir (74).

2.2. Kök Uzunluğu, Ağırlık Kazanımı ve Çimlenme Yüzdesinin Belirlenmesi

Çimlenen tohumlardaki kök ucu uzunlukları radikula oluşumu esas alınarak milimetrik cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Ağırlık kazanımları ise hassas terazi yardımıyla uygulama öncesi ve sonrasında elde edilen tohum ağırlıklarının farkları dikkate alınarak belirlenmiştir. Uygulama periyodunun diğer bir parametresi olan tohum çimlenme yüzdeleri ise aşağıdaki eşitlik kullanılarak tespit edilmiştir (75).

$$\text{Çimlenme Yüzdesi (\%)} = \frac{\text{Çimlenen Tohum Sayısı}}{\text{Toplam Tohum Sayısı}} \times 100$$

2.3. Kromozomal Anormallikler, Mitotik İndeks ve Mikronükleus Testi

Uygulama periyodu sonunda kromozomal hasarların belirlenmesi amacıyla yaklaşık 1 cm uzunluğunda kesilen kök uçları 2 saat süre boyunca "Clarke" fiksatorü içerisinde (3:Etanol/1:Glasial Asetik Asit) fikse edilmiştir. Daha sonra 15 dakika %96'lık etanolde yıkanmış ve +4 °C'de %70'lik etanolde saklanmıştır. Sonraki

aşamada, kök uçları 60 °C'de 17 dakika 1N HCl içerisinde hidrolize edilmiş, 30 dakika %45'lik asetik asit içerisinde bekletilmiştir. Süre sonunda kök uçları 24 saat Aseto-Karmin ile boyanmış ve %45'lik asetik asitte ezilmiş ve binoküler araştırma mikroskobu altında X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır (74-76).

MN sıklığını tespit etmek için, her bir uygulama grubundan toplamda 1000 hücre sayılmış ve MN içeren hücreler araştırma mikroskobu altında tespit edilerek X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır. Hücrelerde gözlenen oluşumlarda MN tespitinde Fenench ve ark.'nın kriterleri dikkate alınmıştır (77). Bu kriterlere göre hücredeki bir yapının MN sayılabilmesi için;

- i. MN çapı, hücre çekirdeği boyutunun 1/3'ü kadar veya bu orandan daha küçük olmalıdır,
- ii. MN parçaları yuvarlak veya oval şekle sahip olmalıdır,
- iii. MN'ler hücre çekirdeğinden net bir şekilde ayırt edilebilmeli ve ya mikronükleer sınırlar nükleer sınırlardan ayırt edilebilir olmalıdır.

Yapılan çalışmada mitoz bölünme üzerindeki etkileri saptamak amacı ile mitotik indeks (MI) incelenmiştir. Mitotik indeksi belirlemek için kök ucu preparatları hazırlanmıştır. Bu hazırlanan preparatlardan her gruba ait 1000 hücre sayılmış ve mitoz giren hücrelerin yüzdeliği alınmıştır (78).

$$\text{Mitotik İndeks (MI)} = \frac{\text{Mitoza Girmiş Hücre}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100$$

2.4. Anatomik Hasarın Belirlenmesi

Uygulama periyodu sonunda anatomik hasarın belirlenmesi için 50, 100 ve 200 ppm dozlarında Tartrazin ile 72 saat süresince muamele edilerek çimlenmeye bırakılan *Allium cepa* tohumlarının kök ucu hücreleri süre sonunda distile su ile yıkanarak kök uçlarından enine kesitler alınmıştır. Daha sonra kesitler metilen mavisi ile boyanmıştır. Boyanan kesitler ise entellen yardımıyla daimi preparat haline getirilerek araştırma mikroskobu altında X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır (79).

2.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 2013) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ SD değerleri olarak verilmiş ve P değeri 0.05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada gıda katkı boyar maddesi olan Tartrazin'in *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde kök uzunluğu, ağırlık artışı, çimlenme yüzdesi, MN sıklığı, MI, CAs oluşumu ve anatomik hasarlar üzerine etkileri incelenmiştir. 20-200 ppm aralığında Tartrazin uygulamasının tohum çimlenmesi üzerine etkisi Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlardan en yüksek çimlenme yüzdesinin kontrol grubunda, en düşük çimlenme yüzdesinin ise Tartrazin ile muamele edilen Grup IV'de olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda çimlenme yüzdesinin %97, Tartrazin uygulanan Grup IV'de ise çimlenme yüzdesinin %43 olduğu belirlenmiştir. 200 ppm Tartrazin uygulamasının çimlenme yüzdesini 3.2 kat azalttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Tartrazin uygulamasında doz artışına bağlı olarak tohum çimlenme yüzdesinin azaldığı, bu azalmanın da istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Farklı dozlarda Tartrazin uygulamasının tohum ağırlık artışı üzerine etkisi Tablo 3.1'de verilmiştir. Grupların ilk periyotta başlangıç ağırlıkları ölçülmüş, 72 saatlik uygulama periyodu sonunda ise son ağırlıkları ölçülerek ağırlık artışları belirlenmiştir. Tablodaki sonuçlardan da görüldüğü gibi en fazla ağırlık artışının kontrol grubunda en az ağırlık artışının ise Tartrazin'in 200 ppm dozu ile muamele edilen Grup IV'de olduğu tespit edilmiştir. Grupların ağırlık artışları ise Grup I'de 8.14 gr, Grup II'de 5.03 gr, Grup III'de 2.58 gr ve Grup IV'de 0.92 gr olarak ölçülmüştür. 200 ppm Tartrazin uygulamasının tohumlarda ağırlık artışını 8.8 kat azalttığı tespit edilmiştir. Ağırlık artışlarında gözlenen tüm azalmaların kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

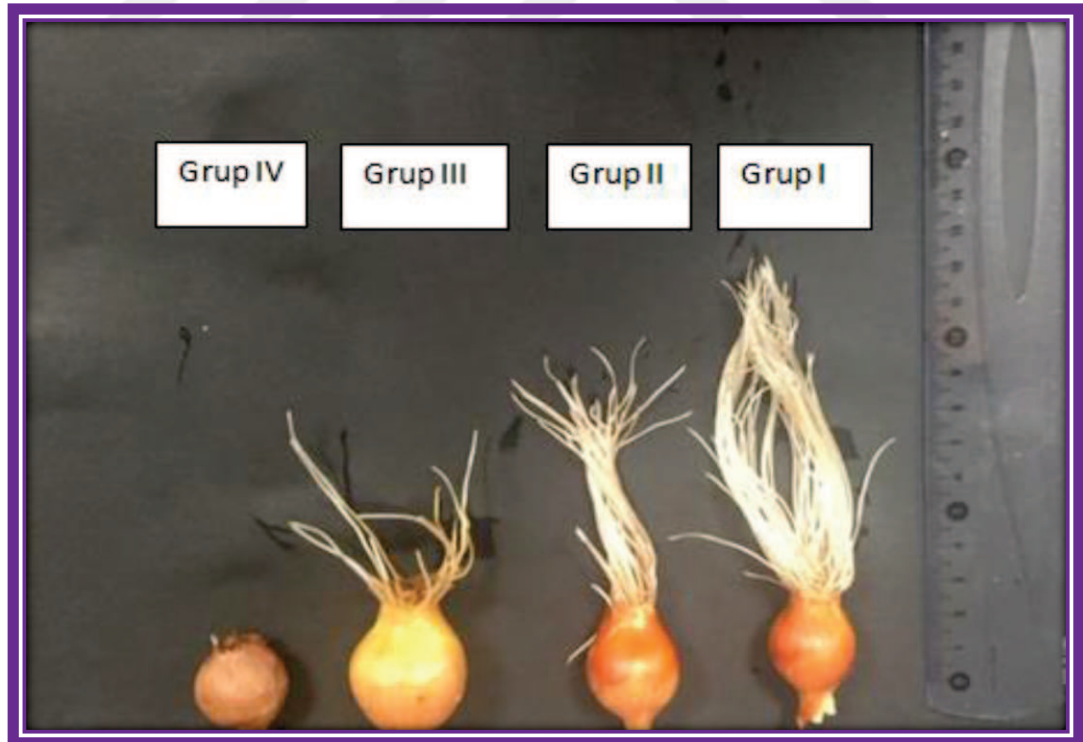
Tartrazin uygulamasının *Allium cepa*'da kök uzunluğu üzerine etkisi Şekil 3.1 ve Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde en fazla kök uzunluğunun kontrol grubunda, en az kök uzunluğunun ise Tartrazin'in 200 ppm dozu ile muamele edilen Grup IV'de olduğu görülmüştür. Kök uzunlukları ortalama Grup I'de 10.90 cm, Grup II'de 8.22 cm, Grup III'de 6.29 cm ve Grup IV 3.39 cm olarak ölçülmüştür. Kök uzunluğunun uygulanan Tartrazin'in dozunun artması ile azaldığı, bu azalmanın da istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Uygulanan Tartrazin'in artan dozu ile kök uzunluğu arasında ters bir orantının olduğu da tespit edilmiştir.

Tablo 3.1. Tartrazin uygulamasının tohum çimlenmesi, ağırlık artışı ve kök uzunluğu üzerine etkileri

Gruplar	Çimlendirilen tohum sayısı	Ağırlık Artışı (gr)	Çimlenme yüzdesi %	Kök uzunluğu (cm)
Grup I	30	+8.14	97	10.90±1.51 ^a
Grup II	30	+5.03	80	8.22±1.47 ^b
Grup III	30	+2.58	67	6.29±1.29 ^c
Grup IV	30	+0.92	43	3.39±1.31 ^d

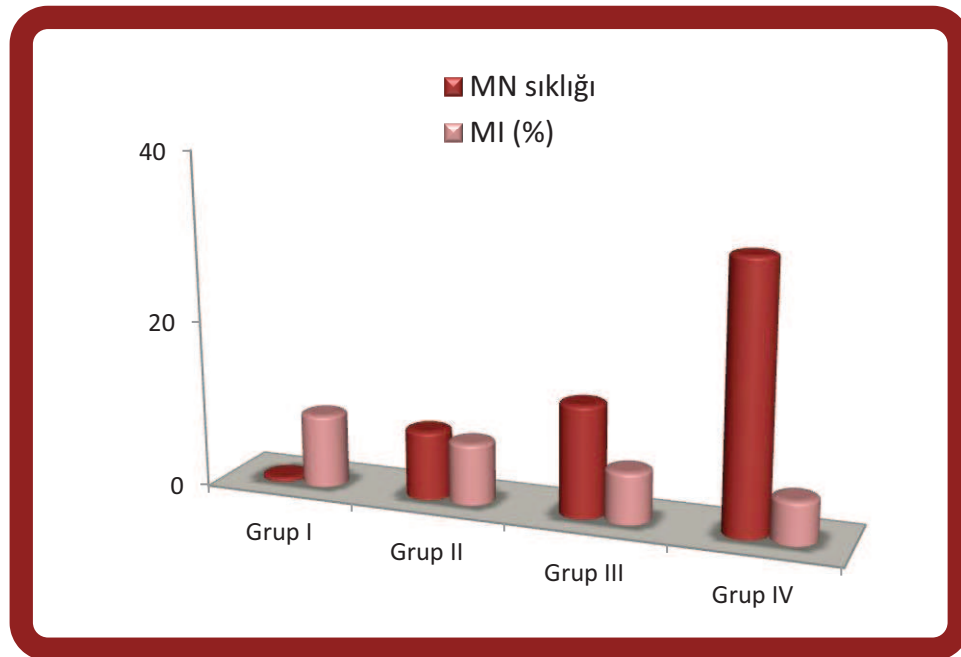
Veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05).



Şekil 3.1 Farklı dozlardaki Tartrazin uygulamasının kök uzunluğuna etkileri (Grup I: Kontrol, Grup II: 50 ppm Tartrazin, Grup III: 100 ppm Tartrazin, Grup IV: 200 ppm Tartrazin)

Allium cepa kök ucu hücrelerinde Tartrazin'in teşvik ettiği MN sıklığı Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Tablodaki sonuçlardan da görüldüğü gibi kontrol grubunda çok az sayıda MN oluşumuna rastlanırken, en fazla MN oluşumu Tartrazin'in 200 ppm dozu ile muamele edilen Grup IV'de olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda ortalama 0.20 oranında MN oluşumu tespit edilirken, Grup II'de ortalama 8.30 oranında, Grup III'de ortalama 13.40 oranında ve Grup IV'de ise ortalama 31.60 oranında MN oluşumu tespit edilmiştir. Söz konusu gruplarda gözlenen MN sayılarındaki farkların istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Sonuç olarak, uygulanan Tartrazin'in artan dozu ile MN sıklığı arasında doğru bir orantı olduğu görülmüştür.

Mitotik indeks (MI) hücre proliferasyonuna işaret eden ve sitotoksisteyi değerlendirmede kullanılan bir parametredir. Tartrazin uygulamasının mitotik indeks (MI) üzerine etkileri Şekil 3.2'da verilmiştir. En yüksek MI oranına kontrol grubu kök ucu hücrelerinde rastlanırken tartrazin uygulanan gruplarda MI oranının önemli derecede azaldığı belirlenmiştir. Uygulama gruplarında sırasıyla %8.82, %7.39, %6.18, %5.16 oranında MI'e rastlanılmıştır. 200 ppm tartrazin uygulaması ile *A.ceph*'da MI oranının kontrol grubuna kıyasla 1.7 kat azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte tartrazin dozunun artması ile birlikte MI oranının da azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Tartrazin uygulamasının MN sıklığı ve MI üzerine etkisi

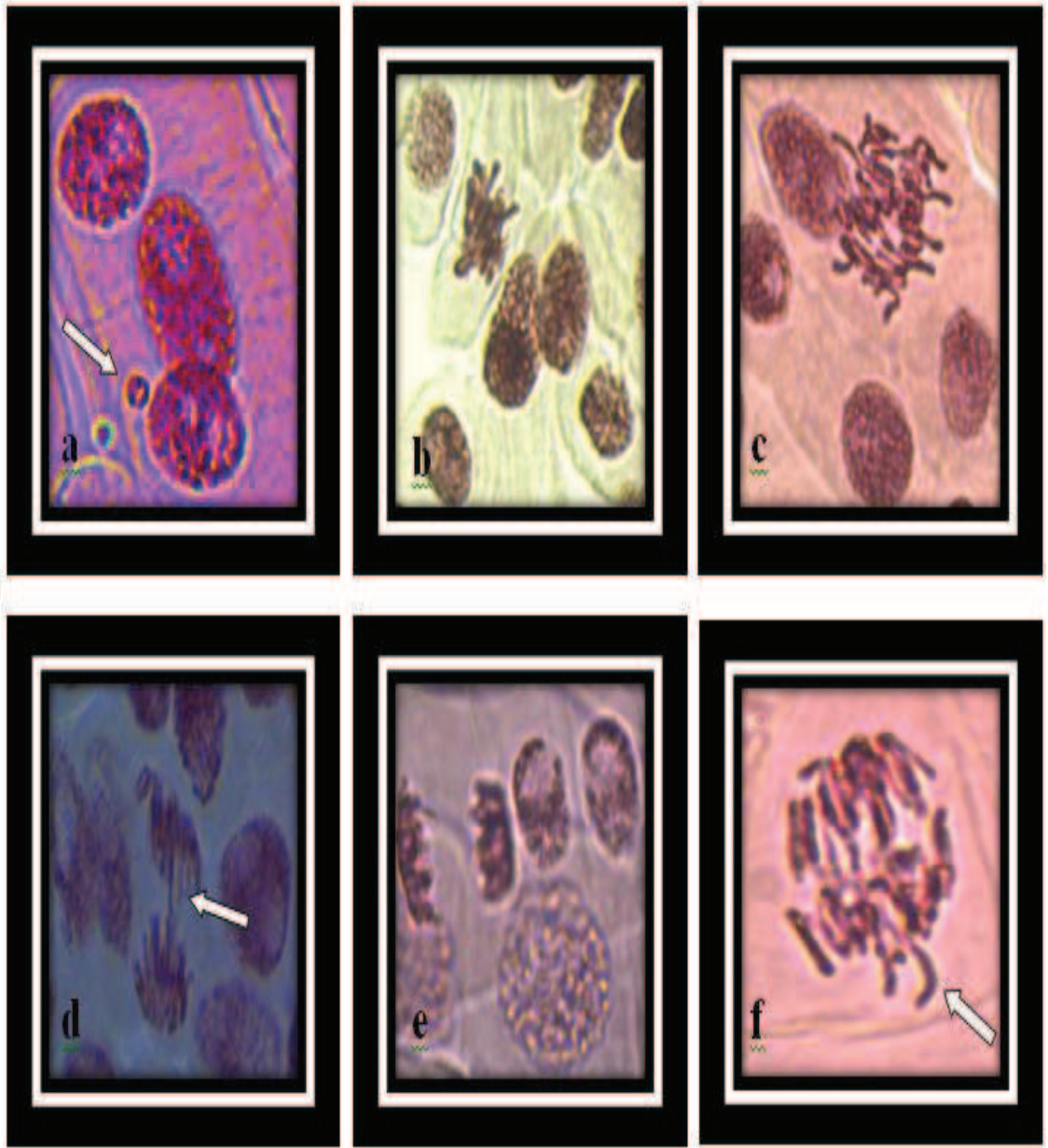
Tartrazin uygulamasının *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği kromozomal hasarlar ile ilgili veriler Şekil 3.3 ile Tablo 3.2’de gösterilmiştir. Yapılan mikroskopik inceleme sonucunda Tartrazin tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar kromatinin eşit olmayan dağılımı, fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü ve c-mitoz şeklinde belirlenmiştir. Tartrazin uygulamasının kromozomal hasarlar üzerinde en büyük etkisi fragment oluşumu şeklindedir. En düşük düzeyde gözlenen kromozom hasarının ise c-mitoz olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda birkaç yapışkan kromozom ve kromozom köprüsü dışında herhangi bir kromozomal hasarına rastlanmamıştır. Tartrazin uygulanan tüm gruplarda farklı oranlarda pek çok kromozom hasarına rastlanmıştır. Bununla birlikte tartrazin dozunun artışına bağlı olarak kromozom hasarlarının düzeyinin de belirgin derecede arttığı ve bu artışların istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

200 ppm Tartrazin uygulanan grupta gözlenen fragment düzeyinin c-mitoza kıyasla yaklaşık 3.2 kat fazla olduğu belirlenmiştir. Fragmentler, kromozom kırılmaları sonucunda oluşan sentromersiz bölgelerdir ve tartrazininin yüksek oranda fragment oluşturması kromozom kırıklarına neden olduğuna işaret etmektedir.

Tablo 3.2. Tartrazin uygulaması tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar

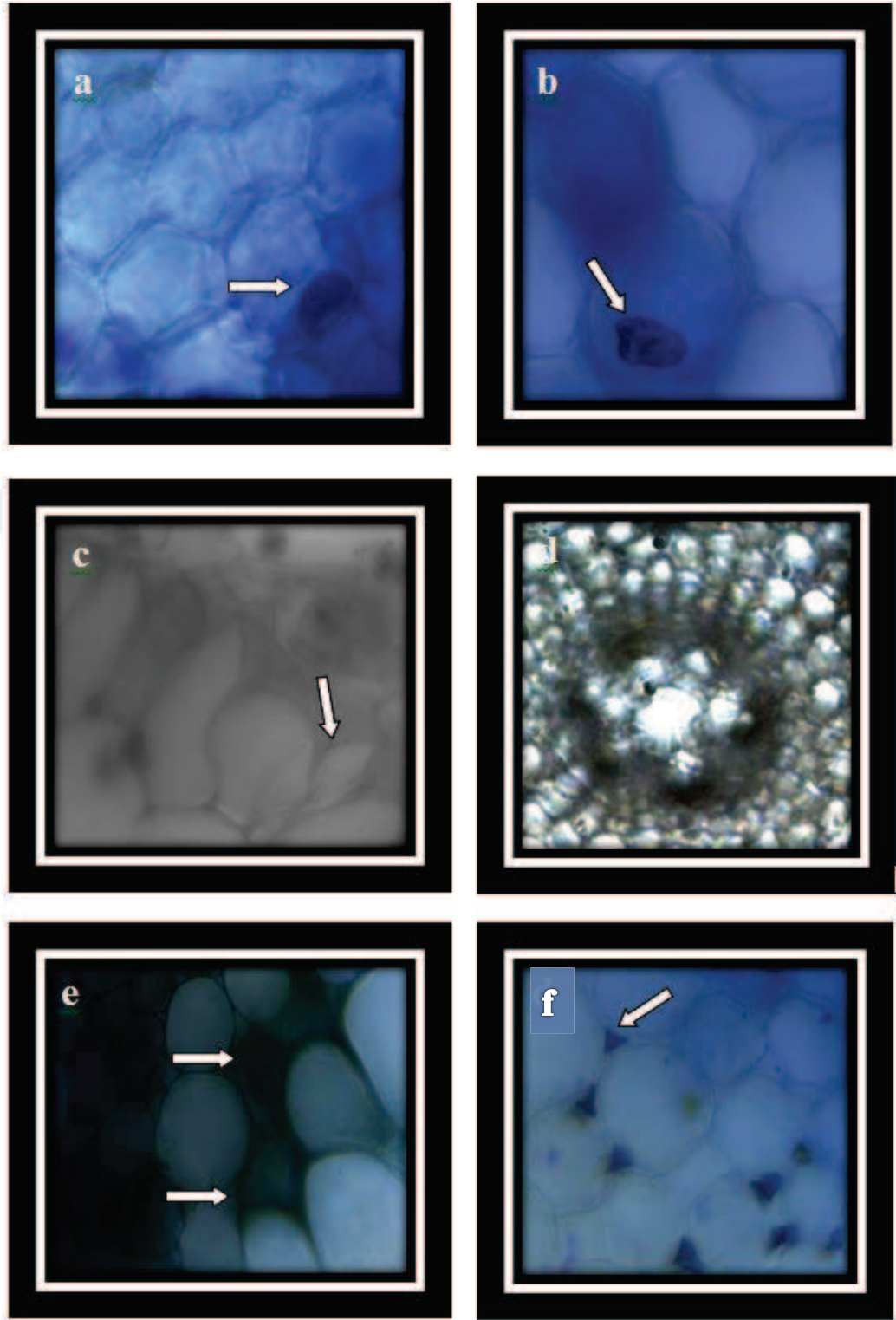
Gruplar	FRG	YK	KK	KED	CM
Grup I	0.00±0.00 ^d	0.20±0.42 ^d	0.10±0.32 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
Grup II	8.40±2.84 ^c	7.20±2.44 ^c	6.20±1.99 ^c	3.30±1.49 ^c	2.00±0.82 ^c
Grup III	19.10±3.76 ^b	16.80±3.52 ^b	12.70±3.06 ^b	7.20±2.15 ^b	4.50±1.35 ^b
Grup IV	31.60±4.58 ^a	26.10±3.57 ^a	21.10±3.18 ^a	15.90±3.18 ^a	9.90±2.85 ^a

* Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0.05$). (FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, KK: kromozom köprüsü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, CM: c-mitoz).



Şekil 3.3 Tartrazin tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a: MN, b: yapışkan kromozom, c: C-mitoz, d: kromozom köprüsü, e: kromatinin eşit olmayan dağılımı, f: fragment)

Yapılan mikroskobik incelemeler sonucunda Tartrazin uygulamasının *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde belirgin anatomik hasarlara neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.4). Bu hasarlar yassılaşmış hücre çekirdeği, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, nekroz ve korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma şeklindedir. Belirtilen hasarların Tartrazin uygulama dozuna bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 3.4 Tartrazin uygulamasının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik hasarlar (a: yassılaştırmış hücre çekirdeği, b: korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, c: hücre deformasyonu, d: belirgin olmayan iletim doku, e: nekroz, f: korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma)

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gıda katkı maddeleri kaliteyi koruyarak raf ömrünü uzatmak, aroma ve renk özelliğini, besin değerini geliştirmek amaçlarıyla kullanılmaktadır. Bu çalışmada birçok hazır gıdanın içeriğinde bulunan ve gıda boya maddesi olarak bilinen Tartrazin'in *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde toksik özellikleri araştırılmıştır. Bu kapsamda farklı dozlarda Tartrazin'in *Allium cepa* hücrelerinde meydana gelen fizyolojik, anatomik ve sitogenetik değişimler araştırılmıştır. Yapılan çalışmada fizyolojik parametrelerden ağırlık artışı, kök uzunluğu ve çimlenme yüzdesi araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre; artan Tartrazin dozuna bağlı olarak ağırlık artışı, kök uzunluğu ve çimlenme yüzdesinin azaldığı bu azalmanın da kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Fizyolojik parametrelerden en yüksek çimlenme yüzdesinin kontrol grubu örneklerde elde edildiği, en düşük çimlenme yüzdesinin ise Tartrazin'in 200 ppm dozu ile muamele edilen grupta olduğu belirlenmiştir. Literatürde Tartrazin'in çimlenme üzerine etkileri ile ilgili benzer çalışmalar bulunmamaktadır. Fakat diğer kimyasal maddeler ve ağır metal iyonlarının kullanıldığı çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin; NaCl ve salisilik asit uygulamasının *Phaseolus vulgaris* tohumlarında çimlenme oranı üzerine etkisi araştırılmış ve sonuç olarak tuz konsantrasyonunun artmasıyla çimlenme oranlarında bir azalma meydana geldiği belirtilmiştir (80). Benzer bir çalışmada ise tuzluluk oranının artmasına bağlı olarak *Phaseolus vulgaris* tohumlarında çimlenme ve fide gelişmesinin azaldığı tespit edilmiştir (81). *Lupinus varius*'un kullanıldığı bir çalışmada NaCl, CaCl ve KCl gibi farklı tuz konsantrasyonlardaki dozların artmasıyla birlikte çimlenme oranının azaldığı ve çimlenmede gecikmeler olduğu saptanmıştır (82). Yapılan başka bir çalışmada ise düşük konsantrasyonda Fenol uygulamasının *Allium cepa* tohum çimlenmesini azalttığını, fenolün bu etkisinin ise hücre bölünmesinin metafaz ve anafaz safhalarında meydana gelen mutasyonlardan kaynaklandığını rapor etmişlerdir (83). Muscolo ve ark. (84) tarafından yapılan bir çalışmada *Fagus sylvatica* ve *Pinus laricio* örneklerinde fenolik maddelerin çimlenme oranını azalttığını, bu azalmanın ise solunum enzimlerinin inhibisyonu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Tartrazinin etki ettiği fizyolojik parametrelerden biri de kök uzunluğudur. Tartrazin uygulamasının *Allium cepa*' de kontrol grubuna kıyasla kök uzunluğunu azalttığı

gözlenmiştir. En fazla kök uzunluğu kontrol grubunda, en az kök uzunluğu ise 200 ppm dozunda Tartrazin ile muamele edilen grupta olduğu görülmüştür. Tartrazinin kök uzunluğunda azalmaya neden olması, gelişme ve büyüme ile ilgili metabolik yolların tartrazin tarafından inhibe edilmesi ile açıklanabilir. Literatürde Tartrazin'in kök uzunluğu üzerine etkileri konusunda benzer çalışmalar bulunmamaktadır. Fakat gıda katkı maddeleri içerisinde yer alan bazı elementler ve diğer kimyasal ajanların kök uzunluğu üzerine etkileri konusunda pek çok çalışma yer almaktadır. Örneğin, Alüminyum (Al) elementi uygulamasının bitkilerde kök hücre bölünmesini; Çinko (Zn), Bakır (Cu) ve Kurşun (Pb) elementlerinin ise bitkilerde kök hücre uzamasını azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca alüminyum uygulamasının *Allium cepa*'da kök ucu hücrelerinde nükleik asitlerde bağlanarak sitokinezi engellediği rapor edilmiştir (85-89). Düşük konsantrasyonlarda Kurşun (Pb) uygulamasının *Brassica juncea*'de kök uzunluğunu arttırdığı, aynı konsantrasyonların *Zea mays* ve *Allium cepa*'daki kök gelişimini ise azalttığı tespit edilmiştir (90,91). Buna benzer yapılan bir diğer çalışma ise Kurşun (Pb) ve Civa (Hg)'nın toksik etkilerini belirlemek için *Cicer arietinum*'da uygulama dozuna bağlı olarak kök büyümesinin engellendiği belirlenmiştir (92). Carlson ve Donald (93) tarafından yapılan çalışmada ise *Cirsium arvense* bitkisi üzerinde uygulanan Glifosfat'ın doz miktarı arttıkça kök büyümesinde azalma meydana geldiği saptanmıştır. Yorgancılar; Campbell ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Bor'un bitkiler üzerindeki etkisi incelenmiş ve sonuç olarak Bor dozunun artmasıyla kök uzunluklarında bir azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir (94,95). El-Sharkawi ve ark.'nın, Bor'un buğdayda kök gelişimine etkisini araştırdıkları çalışmalara göre artan Bor uygulamasının bir noktaya kadar kılcal kök gelişimi hızlandırdığını fakat Bor dozunun daha da artması ile birlikte köklerde deformasyona neden olduğunu tespit etmişlerdir (96). Bazı ağır metaller düşük dozlarda bitkiler için önemli mikro-element olmakla birlikte yüksek dozlardaki elementlerin bitki türlerinin büyümesini engellediğini gözlemlemişlerdir (97,98). Burton ve ark. kurşun toksisitesinin spesifik belirtileri; kök büyüme ve gelişmesinin kısıtlanması, cüceleşme gibi etkiler olduğunu söylemişlerdir (99). Obroucheva ve ark.'nın yaptıkları araştırmada, mısır fidelerinde kurşun toksisitesinin kök gelişimini engellediğini rapor etmişlerdir (100).

Tartrazin uygulamasının bir diğ er fizyolojik parametrelerden ağırlık artışı üzerine etkisi incelenmiş ve 200 ppm Tartrazin uygulamasının *Allium cepa* tohumlarında ağırlık artışı nı kontrol grubuna kıyasla 8.8. kat azalttığı gözlenmiştir. Literatürde Tartrazin’ın bitkilerde ağırlık artışı üzerine herhangi bir çalışma bulunmamaktadır fakat pek çok kimyasal ajanın bitkilerde ağırlık artışı üzerine etkileri detaylı olarak araştırılmıştır.  avuşoğlu ve ark. (101),  inko (Zn) ve Kadmiyum (Cd) metallerinin *Phaseolus vulgaris* bitkisinde ağırlık artışı üzerine etkilerini incelemiş, uygulanan metallerin ağırlık artışı nı önemli derecede azalttığını belirtmişlerdir (102,103). Terzi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada juglonun *Cucumis sativus*’ın fide büyümesi üzerine etkileri araştırılmış, fide büyümesi, taze ve kuru ağırlıkların Juglon’un dozuna bağlı olarak azaldığı saptanmıştır (104). Ugrekheldze ve ark. (105) yaptığı bir çalışmada, Fenol yapısında yer alan hidroksil grubunun bitkilerde çeşitli fonksiyonel bölgeleri kapatarak bitki dokularında madde alışverişine girişine engel olduğu ve bu yolla çeşitli fizyolojik parametrelerde anormalliklere sebep olduğu rapor edilmiştir.

Yapılan  alışmada *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde Tartrazin sitogenetik parametrelerden mikronukleus oluşumu (MN), kromozomal hasarları ve mitotik indeks (MI)  zerine etkileri araştırılmıştır. Tartrazin uygulamasının kök ucu hücrelerinde; mikronukleus, fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve C-mitoz anormalliklerine neden olduğu, bu hasarların da Tartrazin dozuna bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Tartrazin dozlarındaki artış ile birlikte MN sayısındaki artış arasında doğru bir orantının olduğu da belirlenmiştir. Benzer şekilde, Roychoudhury ve Giri. Tartrazin ve Eritroz n gibi gıda maddelerininin *Allium cepa*  zerinde genotoksik ve sitotoksik etkilerini araştırmış, poliploidi hücre ve hücrelerde mikronukleus oluşumunu arttırdığını belirtmişlerdir (106). Zeytinyağı atık sularının *Triticum aestivum* (buğday)’da çimlenmeyi azalttığı, mitotik anormalliklere, MN oluşumunu teşvik ettiğini rapor etmişlerdir (107). Marine-Morales ve ark. (108) farklı dozlarda Trifluralinin, *Allium cepa*’da MN sıklığını arttırdığını tespit etmişlerdir. Monarca ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, Sodyum Hipoklorit, Klor Dioksit ve Perasetik Asit’in *Allium cepa* kök hücrelerinde farklı oranlarda kromozom hasarlarına, *Vicia faba* (bakla) kök hücrelerinde ve *Tradescantia* polen hücrelerinde MN oluşumuna

sebepe olduğunu belirtmişlerdir (109). Sang ve Li, sızıntı sularının *Vicia faba* üzerinde MN oluşumunu teşvik ederek genotoksik bir etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir (110). Yi ve Meng, Sülfür Dioksit'in *Allium cepa* ve *Vicia faba* 'da mikronukleus frekansında önemli bir artış olduğunu ve bu artışın doza bağlı bir durum olduğunu bildirmişlerdir (111).

Tartrazin uygulamasının *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve c-mitoz oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre artan Tartrazin dozuna bağlı olarak kromozomal anormalliklerinin de arttığı, bu nedenle artan Tartrazin dozu ile kromozomal anormallikleri arasında doğru bir orantı olduğu tespit edilmiştir. Literatürde boyar maddelerin toksisitesi ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar gıda renklendiricileri ve tekstil boyar maddeleri üzerine yoğunlaşmış olmakla birlikte daha çok tekstil boyar maddeleri ile ilgilidir. Örneğin, Roychoudhury ve Giri, İndigo Karmin, Turuncu G, Tartrazin'in *Allium cepa* hücrelerinde boya maddesinin dozunun artışına bağlı olarak kromozom hasarlarının arttığını belirtmişlerdir (106). Kimyasal ajanların maruziyeti sonucunda kromozomlarda kırılma, delesyon, insersiyon, dublikasyon veya kromozom sayılarında değişimler meydana gelebilmektedir (51,112). *Allium cepa* kök ucu hücreleri beş farklı gıda koruyucusu (Sodyum Benzoat, Borik Asit, Sitrik Asit ve Sodyum Sitrat) ile muamele edilmiş ve sonuç olarak; C-mitoz, anafaz köprüleri, mikronukleus, kalgın kromozom, yapışkan, kırık ve eşit olmayan kromozom dağılımları gözlenmiştir (113). Njagi ve Gopalan, tarafından yapılan benzer bir çalışmada ise Sodyum Benzoat'ın *Vicia faba* kök hücrelerinde DNA sentezini engellediği, Knafaz Köprülerine ve Kromozom hasarlarına neden olduğu belirtilmiştir (114). İnceer ve ark. (115) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise Bakır Klorür'ün *Helianthus annuus* bitkisinin kök ucu hücrelerinde kromozom hasarlarına ve kırılmalara neden olduğu bildirilmiştir. Niraj ve ark. (116) gıda boyalarından Tartrazin'in genotoksik etkisini *Drosophila*'da somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile araştırmışlardır. % 0,06 ve % 0,03'lük Tartrazin uygulaması sonucunda Tartrazin'in mutajenik etkiye sahip olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmalara benzer olarak, Vock ve ark.; Kirkland ve Müller yaptıkları in vitro çalışmalar sonucunda bazı kimyasalların meydana getirdiği sitotoksik etkileri DNA

çift iplik kırıklarının oluşmasına bağlı olarak ortaya çıktığını bildirmişlerdir (117,118).

Sitotoksik parametrelerden Tartrazin'in *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (MI) üzerine etkileri de araştırılmıştır. Sonuç olarak en fazla MI kontrol grubunda, en az MI ise Tartrazin'in 200 ppm dozuyla muamele edilen grupta olduğu belirlenmiştir. Literatürde Tartrazin'in MI üzerine etkilerini inceleyen çok az çalışma yer almaktadır. Gomes ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Sunset Sarısı, Bordo Kırmızısı ve Tartrazin Sarısının *Allium cepa* kök hücrelerinde MI oranını azalttığı rapor edilmiştir (119). Dönbak ve ark. Borik Asit'in doza bağlı olarak *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde c-mitoz oluşumuna sebep olduğu, MI oranını ise düşürdüğünü belirtmişlerdir (120). Benzer başka bir çalışmada ise *Allium cepa*'nin kök ucu hücreleri 20-100 ppm dozlarında Sodyum Benzoat ile muamele edilmiş ve bütün dozların MI düzeyini azalttığı tespit edilmiştir (113). Rencüoğulları ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde Sodyum Metabisülfid'in tüm dozlarında MI'ı düşürdüğünü, mitotik anormalliğin de doza bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir (121).

Bu çalışmada Tartrazin'in *Allium cepa* kök hücrelerinde meydana getirdiği bir diğer toksik etki ise anatomik değişimlerdir. Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda uygulanan Tartrazin'in *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde belirgin anatomik hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Bu hasarlar yassılaşmış hücre çekirdeği, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, nekroz ve korteks hücre çeperinde kalınlaşma şeklindedir. Literatürde *Allium cepa* hücrelerinde Tartrazin'in meydana getirdiği anatomik hasarlar üzerine çalışma bulunmamaktadır. Fakat diğer kimyasal ajanların oluşturduğu anatomik hasarlar ile ilgili araştırmalar yer almaktadır. Örneğin; Çavuşoğlu ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Glyphosate uygulamasının *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde; belirgin olmayan vasküler doku, belirgin olmayan epidermis tabakası, hücre deformasyonu, anormal hücre çekirdeği ve binükleuslu hücre oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir (122).

Bu çalışmada Tartrazin gıda boya maddesinin *Allium cepa*'da fizyolojik, anatomik ve sitogenetik hasarlara neden olduğu, söz konusu hasarların ise uygulanan Tartrazin dozuna bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak yaşantımızda

sıkça kullandığımız gıda maddelerin yapısında yer alan Tartrazin'in belli bir konsantrasyona ulaştığında toksik etkilere sebep olabileceği, *Allium cepa* test materyali kullanılarak belirlenmiştir. Bu nedenle söz konusu gıda katkı maddesinin kullanılması gerekli olduğu ürünlerde, kullanılmadan önce uygun doz seviyesi belirlenmeli ve toksik etkiler meydana getirebilecek doz seviyelerinden kaçınılmalıdır.



KAYNAKLAR

1. Öztürk İ. ve Tosun N. 2004. Famoxadone ve Cymoxanil Etkili Maddeli Bir Fungisitın Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Bitkisi Üzerine Fizyolojik Etkisi. Ege Üniv.Ziraat Fak. Derg. 41(3):77-87
2. Amer S.M. and Ali E.M. 1983. Cytological Effects of Pesticides XVII. Effects of The İnsecticide Dichlorvas on Root Mitosis of *Vicia faba*. Cytologia 51:21-25
3. Amer S.M., Mohammed F.I. and Ashry Z.M. 1999. Cytogenetic Effects of The Fungicide Benomyl on *Vicia faba* and *Pisum savium*. Bulletin of The National Research Center 24(4):481-494.
4. Aybeke M., Olgun G., Sıdal U. ve Kolankaya D. 2000. Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Bugday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi. Turk J Biol. 24: 127-140
5. Dryanosvka O.A. 1987. Mutagenic of the herbicide alachor during meiosis in *Tradescantia paludosa*. Acad. Bulg. Sci.40: 73-76
6. https://tr.wikipedia.org/wiki/gıda_katkısı
7. <http://turgaykose.com/makaleler/gıda-katki-maddeleri/>
8. Doğruyol H. 2007. Gıda Katkı Maddeleri ve Zararları. Nobel Tıp Kitabevleri s.1-7, 37-47.
9. Altuğ T. 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım, İzmir.
10. Chakravorty A. 1974. Structure Chemistry of Transition Metal Complexes of Oximes. Coord. Chem. Rev. 13, 1-46.
11. <http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/B%2016.pdf>
12. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan>
13. <http://www.zootechni.org.tr/upload/File/GIDA/KATKI/MADDELERI.pdf>
14. <http://www.odevsitesi.com/odevler/2004-11/116189-gıda-katki-maddeleri.html>
15. Stuckey B.N. 1972. Antioxidants as Food Stabilizers. Ch. 3. In "CRC Handbook of Food Additives." Second ed. T.E, Furia (Ed), P 115, The Chemical Rubber Co. Cleveland, Ohio, USA.
16. Yeşilbağ D.2009. Kanatlı Beslenmesinde Doğal ve Sentetik Antioksidanların Kullanımı. Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med. 28 (2): 55-59

17. <http://www.foodelphi.com/gida-katki-maddeleri-dr-engin-yarali>
18. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Emülsiyon>
19. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Lesitin>
20. Engin Yaralı. Gıda Katkı Maddeleri. Ders Kitabı.
21. <http://www.akademik.adu.edu.tr/>
22. Elgün, A. ve Ertugay Z. 1992. Tahıl İşleme Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 297, Erzurum
23. Çelik İ., Koyuncılar H. G. 1995. Kimyasal Kabartıcılar ve Fırın Ürünlerindeki Fonksiyonları. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Der. 26(3), 451-459.
24. <http://www.acikbilim.com/2014/03/dosyalar/yedigimizi-ictigimizi-bilelim.html>
25. <http://www.food.gov.uk/safereating/chemsafe/additivesbranch/enumberlist>
26. Loliger J. (April 2000). Lezzetli Gıdalar için Glutamatın İşlevi ve Önemi. Beslenme Dergisi 130 (4s Ek): 915s–920s.
27. <https://ozenisik.files.wordpress.com>
28. <http://blog.milliyet.com.tr/tatlandirici-olarak-kullanilan-gida-katki-maddeleri/>
29. <http://www.pharmetic.org/bilgi-bankasi/yapay-tatlandirici.pdf>
30. Yurttagün M. 2010. Gıda Katkı maddeleriyle ilgili geniş kapsamlı bir araştırma.
31. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği
32. Christine D.L., John B.H., Steve L.T. The role of natural color additives in food allergy. Advances in Food and Nutrition
33. <http://www.kimyaevi.org/renklendiriciler>
34. Lepree J. 1994. Natural food colors flourish in wake of buyer's demand. Chem. Market reporter 11:16-17
35. <http://www.wikiwand.com/de/Tartrazin>
36. Marmion D. 2001. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. New York, NY: John Wiley & Sons; Colorants for Foods. Online Posting Date: September 14, 2007
37. <http://www.imalatansiklopedileri.com/makaleler/detaylar/tartrazine-nedirmsdsnerelerde-kullanilir.html>
38. <http://www.food-info.net/tr/colour/azo.html>

39. Elhkim M.O., Héraud F., Bemrah N., et al. (April 2007). New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine: An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 47 (3): 308–316.
40. Watabe T., Ozawa N., Kobayashi F. et al. 1980 Reduction of suphonated water-soluble azo dyes by microorganism from human feces. *Food Cosmet. Toxicol.* 18: 349-352.
41. Kuno ve Mizutani. 2005. Influence of Synthetic and Natural Food Dyes on Activities of CYP2A6, UGT1A6, and UGT2B7. *J Toxicol Environ Health A.* 27;68(16):1431-44.
42. Giri A.K., Das S.K., Talukder G., Sharma A., 1990. Sister chromatid exchange and chromosome aberrations induced by curcumin and tartrazine on mammalian cells in vivo. *Cytobios* 62, 111-117.
43. Sasaki Y.F., Kawaguchi S., Kamaya A., Ohshita M., Kabasawa K., Iwama K., Taniguchi K., Tsuda S. 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat. Res.* 59: 103-119.
44. Maekawa A., Matsuoka C., Onodera H., Tanigawa H., Furuta K., Kanno J., Jang J.J., Hayashi Y., Ogiu T., 1987. Lack of Carcinogenicity of Tartrazine (FD & C Yellow No. 5) in the F344 rat. *Food Chem. Toxicol.* 25: 891-896.
45. Tanaka T. 2006. Reproductive and Neurobehavioural Toxicity Study of Tartrazine Administered to Mice in The Diet. *Food Chem. Toxicol.* 44: 179-187.
46. Gao Y., Li C., Huaxian J-S et al. 2011. Effect of food azo dye tartrazine on learning and memory functions in mice and rats, and the possible mechanisms involved. *J Food Sci.* 76:2011-2015.
47. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Toksikoloji>
48. Loomis T.A. 1978. *Essentials of Toxicology*, 3rd edition, Philadelphia, Lea and Febiger, pp.157-232.
49. Karakaya A. E. 2011. Gıda Katkı Maddeleri ve Gıda Kontaminantları, <http://www.turktox.org.tr/GIDA/>
50. Zeiger E.. (2004). History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal, *Environ Mol Mutagen*, 44: 363-71.

51. Vural N. 2005. "Toksikoloji", Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 115-129.
52. Choy W.N. 2001. Genetic toxicology and cancer risk assessment. Marcel Dekker, New York, 29-187.
53. Mateuca R., Lombaert N., Aka P.V., Decordier I., Kirsch-Volder M. 2006. Chromosomal Changes: Induction, Detection, Methods, and Applicability in Human Biomonitoring. *Biochimie*, 88: 1515-31.
54. Ertürk Ş. 2001. Sevofluranın DNA Hasarı Üzerine Etkilerinin Bening Ve Malign Olgularda Comet Assay Yöntemi İle Değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Anabilim Dalı . Uzmanlık Tezi.
55. Albertini R.J., Anderson D., Douglas G.R., Hugmar L., Hemminki K., Merlo F., Natarajan A.T., Norppa H., Suhaker D.E.G., Tice R., Waters M.D., Aitio A. 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat Res*, 463: 11-172.
56. Yan Wang, Chang Xu, Li Qing Du, Jia Cao, Jian Xiang Liu, Xu Su, Hui Zhao, Fei-Yue Fan 1,2, Bing Wang 6, Takanori Katsube 6, Sai Jun Fan 1,2 and Qiang Liu 1,2, *Int. J. Mol. Sci.* 2013, 14(11), 22449-22461; doi:10.3390/ijms141122449.
57. Suspiro A, Prista J. 2011. Biomarkers of occupational exposure do anticancer agents: a minireview. *Toxicol Lett* 207(1):42-52.
58. Hagmar L., Bonassi S., Stromberg U., Brogger A., Knudsen L.E., Norppa H., Reuterwall C. 1998. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res* 58 (18): 4117-4121.
59. KoRenberg J.R. et al. 1994. Down syndrome phenotypes: The consequences of chromosomal imbalance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 4997-5001.
60. Carrano A.V., Natarajan A.T. 1988. Consideration for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat Res*. 204: 379-406.
61. Trisomy 21: 2003. The Story of Down Syndrome by Len Leshin, MD, FAAP
62. Demirel S., Zamani A. 2002 .Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Dergisi*, 12 (3): 123-27.

63. Topaktaş M., Rencüzoğulları E. 2010. "Sitogenetik", Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 87-91.
64. Schmid W. 1975. The micronucleus test. *Mutat Res.* 31: 9-15.
65. Widel M., Kolosza Z., Jedrus S., Lukaszczyk B., Raczek- Zwierzycka K., Swierniak A. 2001. Micronucleus assay in vivo provides significant prognostic information in human cervical carcinoma: The updated analysis. *Int J Radiat Biol.* 77: 631-6.
66. Vanparys P., Vermeiren F., Sysmans M., Temmerman R. 1990. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. *Mutat Res.* 244: 95-103.
67. Kirsch-Volders M., Elhajouji A., Cundari E., Van Hummelen P. 1997. The in vitro micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. *Mutat Res.* 392(1-2): 19-30.
68. Stopper H., Müller O.S. 1997. Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: A Minireview. *Toxicol In Vitro.* 11: 661-7.
69. Choy W.N. 2001. Genetic toxicology and cancer risk assessment. Marcel Dekker, New York, 29-187.
70. Fenech M., Morley A.A. 1986. Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: Effect of in vivo ageing and dose X-irradiation. *Mutat Res.* 161: 193-8.
71. Şekeroğlu V., Atlı-Şekeroğlu Z. Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*.
72. Özkara A., Akyl D., Erdoğan S. F., and Konuk M. 2011. Evaluation of germination, root growth and cytological effects of wastewater of sugar factory (Afyonkarahisar) using *Hordeum vulgare* bioassays. *Environ Monit Assess.* 183, 517–524.
73. <http://www.batscience.com/groupms/sites/>
74. Wei Q.X., 2004. Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science*, 5 : 1570–1576.
75. Atik M., Karagüzel O., Ersoy S. 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (2), 203–210.

76. Staykova T.A., Ivanova E.N., Velcheva I.G. 2005. Cytogenetic effect of heavy metal and cyanide in contaminated waters from the region of southwest Bulgaria. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 4, 41–46.
77. Fenech M., Chang W.P. Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S., Zeiger E., 2003. Human Micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*, 534, 65
78. Öztürk N. S. İmazethapyr Herbisitinin *Allium cepa* L. Kök Meristem Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri.
79. Makbul, S., Kandemir, A., Turkmen, Z., Beyazoglu, O., 2008. Morphological and anatomical features of *Verbascum alyssifolium*
80. Elkoca E., Kantar F., Güvenç, İ., 2003. Değişik NaCl Konsantrasyonlarının Kuru Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Çimlenme ve Fide Gelişmesine Etkileri. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.* 34 (1):1-8.
81. Steppuhn H., Volkmar K.M and Miller P.R., 2001. Comparing Canola. Field Pea, Dry Bean and Durum Wheat Crops Grown in Saline Media. *Crop Science*, 41:1827–1833.
82. Karagüzel, O. 2003. Farklı Tuz Kaynak ve Konstrasyonlarının Güney Anadolu Doğal *Lupinus varius* Tohumlarının Çimlenme Özelliklerine Etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 16(2), 211-220
83. El-Barghathi, M., Asoyri, H. 2007. Effect of Phenol, Naphthol and Gibberalic Acid on Seed Germination of *Allium cepa* L. (Onion). *Garyonis University Press, Journal of Science and Its Applications*, 1 (1): 6-13.
84. Muscolo A., Panuccio, M. R., Sidari, M. 2001. Respiratory Enzymes Activities During Germination of *Pinus laricio* Seeds Treated With Phenols Extracted From Different Forest Soils. *Plant Growth Regulation*. 35 (1): 31-35.
85. Hanson J. B. 1984. The Function of Calcium in Plant Nutrition. *Advances in Plant Nutrition*, Newyork Praeger, 1: 149-248
86. Lane S. D., Martin E. S. and Garrod, J.P. 1978. Lead Toxicity Effect on Indole-3- Acetic-Induced Cell Elongation. *Planta* 144: 79-84.

87. Morimura S., Takahashi E., Matsumoto H. 1978. Association of Aluminum With Nuclei and Inhibition of Cell Division in Onion (*Allium cepa*) Roots. *Z. Pflanzenernahr. Bodenk* 88: 395-401.
88. Bennet R. J., Breen C. M. and Bandu V. S. 1985. Aluminium Toxicity and Regeneration of The Root Cap: Preliminary Evidence For a Golgi-Apparatus Derived Morphogenesis in The Primary Roots of *Zea mays*. *South African Journal of Plant and Soil*, 51: 363-370.
89. Zhengua S., Wang J. and Guan H. 1993. Effect of Aluminum and Calcium on Growth of Wheat Seedlings and Germination of Seeds. *Journal of Plant Nutrition*, 16: 2135-2148.
90. Dou Z. X. 1988. The Pollution in Soil and Its Effects on Plants. *Agro Environmental Protection*, 7 (3): 38-39.
91. Jiang W. S. and Liu D. H. 1999. Effects of Pb⁺² on Root Growth, Cell Division and Nucleolus of *Bressica juncea* L. *Israel Journal of Plant Sciences*, 47: 153-156
92. Çavusoglu K., Ergene A., Yalçın E., Tan S., Çavusoglu K., Yapar K. 2009. Cytotoxic Effects of Lead and Mercury Ions On Root Tip Cells of *Cicer arietinum* L. *Fresenius Environmental Bulletin*, 18 (9): 1654-1661.
93. Carlson S.J.& Donald W.W. 2006. Glyphosate effects on Canada thistle (*Cirsium arvense*) roots, root buds, and shoots. *Weed Research* 28: 37-45
94. Yorgancılar M. ve Babaoğlu M. 2005. Buğday çeşitlerinde borun çimlenme üzerine etkisinin in vitro ve saksı şartlarında araştırılması. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 19 (35): 2005. 109-114.
95. Campbell T.A., Rathjen A.J., Paull J.G., & Islam, AKMR. 1998. Method for screening bread wheat for tolerance to boron. *Euphytica* 100: 131-135, Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherland
96. Kavas K.M. 2012. *Gypsophila arrosti*'nin İn vitro'da Bor'a Tepkisinin Belirlenmesi ve Mikroçoğaltım. Selçuk Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi.
97. Fernandes J.C. and Henriques F.S. 1991. Biocehmical,physiological and structural effects of excesscopper in plants.The Botanical Rewiev, 57, 246-273 pp.

98. Claire L.C., Adriano D.C., Sajwan K.S., Abel S.L., Thoma, D.P. and Driver J.T. 1991. Effects of selected trace metals on germinating seeds of six plant species. *Water, Air, and Soil Pollution*, 59, 231-240 pp.
99. Burton K.W., Morgan E., Roig A. 1984. The influence of heavy metals on the growth of sitka-spruce in South Wales forests. II green house experiments. *Plant Soil* 78, 271-282.
100. Obroucheva N.V., Bystrova E.I., Ivanov V.B., Anupova O.V., Seregin I.V. 1998. Root growth responses to lead in young maize seedlings. *Plant Soil* 200, 55-61.
101. Çavusoglu K., Yalçın E., Ergene A. 2009. The Cytotoxic Effects of Zinc and Cadmium Metal Ions On Root tip Cells of *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). *Süleyman Demirel Üniversitesi Journal Of Science (e-journal)*, 4 (1): 1-11.
102. Azmat R., Haider S., Riaz M. 2009. An Inverse Relation Between Pb²⁺ and Ca²⁺ Ions Accumulation In *Phaseolus mungo* and *Lens culinaris* Under Pb Stress. *Pakistan Journal of Botany*, 41 (5) : 2289-2295.
103. Walsh L. M. and Keeny D. R. 1975. Behavior and Phytotoxicity of Inorganic Arsenicals in Soils. In: *Arsenical Pesticides* (E.A. Woolson(ed)). American Chemical Society, Symposium Series, 7: 35-52.
104. Terzi İ., Kocaçalışkan İ. and Benlioğlu O. 2006. Effects Of Juglone Applied In Pregerminative Stage On Growth Of Cucumber Seedlings With Respect To Physiological And Anatomical Parameters (Çimlenme Öncesi Uygulanan Juglonun Hıyar Fidelerinde Büyüme İle İlgili Fizyolojik Ve Anatomik Parametreler Üzerine Etkileri). *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10; 25-32
105. Ugrekheldze D., Kvesitadze G., Arziani B., Mithaishvili T., Phiriashvili V. 1999. Detoxication of Phenol in Annual Plant Seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 42 (2): 119–124.
106. Roychoudhury A., Giri A.K., 1989. Effects of certain food dyes on chromosomes of *Allium cepa*. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 223(3):313–319
107. Aybeke M., Olgun G., Sıdal U., Kolankaya D. 2000. Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Bugday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu

- Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi. Türk Journal of Biology. Tübitak, 24: 127-140.
108. Marine-Morales M. A., Mazzeo D. E. C. ve Fernandes T. C. C. 2006. Mechanism of Micronuklei Formation in Polyploidized Cells of *Allium cepa* Exposed to Trifluralin Herbicide. Pesticide Biochemistry Phsyiology, 88 (3): 252-259.
109. Monarca S., Feretti D., Zani C., Rizzoni M., Casarella S. And Gustavino B., 2005. Genotoxicity of Drinking Water Disinfectants in Plant Bioassays. Environ. Mol. Mutagen.
110. Sang N. and Li G. 2004. Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. Mutat. Res, 560, 159– 165.
111. Yi H. and Meng Z., 2003. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. Mut. Res., 537(1), 109-114.
112. Anadolu Üniversitesi. Toksikoloji. PDF Dökümanı (Erişim Tarihi: 13 Mayıs 2014).
113. Türkoğlu, Ş. 2007. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. Mutation Res. 626: 4-14.
114. Njagi G.D.E., Gopalan H.N.B. 1982. Cytogenetic effects of the food preservatives– sodium benzoate and sodium sulphite on *Vicia faba* root meristems. Mutat Res 102: 213–219.
114. İnceer H., Ayaz S., Beyazoglu O., Sentürk E. 2003. Cytogenetic Effects of Copper Chloride on Root Tip Cells of *Helianthus annuus* L. Turkish Journal of Biology, 27: 43-46.
115. Niraj K.T., Kalyani K.P. and Nabi M.J. 1989. Genotoxicity of Tartrazine Studied in Two Somatic Assays of *Drosophila melanogaster*. Mutation Research, 224, 479-483.
116. Vock E.H., Lutz W.K., Hormes P., Hoffmann H.D. ve Vamvakas S. 1998. Discrimination between genotoxicity and cytotoxicity in the induction of DNA double-strand breaks in cells treated with etoposide, melphalan, cisplatin, potassium cyanide, Triton X-100 and γ - irradiation. Mutat. Res. 413 pp. 83–94.

117. Kirkland D.J.ve Müller L., 2000. Interpretation of the biological relevance of genotoxicity test results: the importance of thresholds. Mutat. Res. 464 (2000), pp. 137-147.
118. Gomes K.M.S., Oliveira M.V.G.A., Carvalho F.R., Menezes C.C., Peron A.P. 2013. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tatraine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. Food Sci. Technol., 33(1).
119. Dönbak L., Rencüzoğulları E. and Topaktaş M, 2002. The Cytogenetic effects of the food additive boric acid in *Allium cepa* L. Cytologia. 67, 153-157.
120. Rencüzoğulları E., Kayraldız A., İla H.B., Çakmak T. And Topaktaş M. 2001a. The cytogenetic effects of sodium metabisulfite, a food preservative in root tip cells of *Allium cepa* L. Turk. J. Biol. 25, 361-370.
121. Çavuşoğlu K., Yalcin, E., Türkmen Z., Yapar K., Cavuşoğlu K. ve Çiçek F. 2011. Investigation of Toxic Effects of the Glyphosate on *Allium cepa*. Tarım Bilimleri Dergisi 17 (2): 131-142.

ÖZGEÇMİŞ

1992 Yılında İzmir’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2010 Yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2014 yılında mezun oldu. Aynı yıl girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programını Ağustos 2016'de tamamladı.

