





**T.C.  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİTANYUM DİOKSİDİN YAVRU  
SIÇANLARDA GLİKOZ  
METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİSİ**

**KÜBRA İZLER**

**TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. FATİH GÜLTEKİN**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI  
TIBBİ BİYOKİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
EYLÜL/2022**

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve birikimini, maddi, manevi desteğini ve vaktini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN'e,

Deney boyunca ve sonlandırılmasında desteğini, bilgisini ve vaktini ayıran Doç. Dr. Eray Metin GÜLER ve tüm bölüm arkadaşlarıma,

Deney süresince verdikleri desteklerden dolayı Uzm. Vet. Hekim CUMAALİ DEMİRTAŞ, Vet. Hekim ALİ FUAT KAPLAN ve Tekniker SAMİ DAĞLAR'a

Çalışmanın başlaması için gerekli evrakları toplama aşamasında bana destek olan Arş. Gör. Sibel KURAŞ ve Arş. Gör. Tuğba Muhlise OKYAY'a,

Çalışmanın istatistiksel verilerinin değerlendirilmesinde yardımları için Öğr. Gör. Kürşat Nuri BAYDİLİ'ne,

Çalışmanın yürütülmesinde maddi desteğin sağlanmasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi BAP Birimi'ne (Proje no: 2021/127)

Tez sürecim boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme, sonsuz teşekkür ediyorum.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                               |      |
|-------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                                 | iv   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                             | v    |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                         | vii  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                        | viii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                                                 | ix   |
| ÖZET .....                                                                    | x    |
| ABSTRACT.....                                                                 | xi   |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                                         | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                       | 3    |
| 2.1. GIDA KATKI MADDELERİNİN TANIMI VE KULLANIM AMAÇLARI.....                 | 3    |
| 2.2. GIDA KATKI MADDELERİNİN SINIFLANDIRILMASI .....                          | 4    |
| 2.3. GIDA KATKI MADDELERİNİN DÜZENLENMESİNDE GÖREVLİ KURULUŞLAR.....          | 7    |
| 2.3.1. Gıda Katkı Maddelerine ilişkin Ortak FAO-WHO Uzman Komitesi (JECFA) .. | 7    |
| 2.3.2. Kodeks Alimentarius Komisyonu (KAK) .....                              | 7    |
| 2.3.3. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA).....                               | 8    |
| 2.3.4. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) .....                           | 8    |
| 2.3.5. Tarım ve Orman Bakanlığı .....                                         | 8    |
| 2.4. GÜVENLİK TESTLERİ .....                                                  | 8    |
| 2.5. İZİN SÜRECİ .....                                                        | 9    |
| 2.6. E NUMARALARI.....                                                        | 9    |
| 2.7. RENKLENDİRİCİLER .....                                                   | 10   |
| 2.7.1. Doğal Renklendiriciler.....                                            | 10   |
| 2.7.2. Yapay Renklendiriciler .....                                           | 11   |
| 2.8. TİTANYUM DİOKSİT .....                                                   | 12   |
| 2.8.1. Titanyum Dioksidin Kullanım Alanları .....                             | 12   |
| 2.8.2. Titanyum Dioksidin Sağlık Üzerine Etkileri .....                       | 13   |
| 2.8.3. Titanyum Dioksidin Yeniden Değerlendirilmesi ve Yasaklanması .....     | 13   |
| 2.9. GLİKOZ METABOLİZMASI .....                                               | 13   |
| 2.9.1. Kan Glikozu Seviyesi ve Düzenlenmesi.....                              | 14   |
| 2.9.2. Glikoz Metabolizması ve Kan Lipidleri İlişkisi .....                   | 14   |
| 2.9.3. Trigliserit Glikoz İndeksi.....                                        | 14   |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                                       | 16   |

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1. TİTANYUM DİOKSİDİN KARAKTERİZASYONU VE ZETA POTANSİYELİ ÖLÇÜMÜ ..... | 16 |
| 3.2. DENEYSEL YÖNTEM.....                                                 | 16 |
| 3.3 DENEYİN SONLANDIRILMASI VE DENEY HAYVANLARINDAN SERUM ELDESİ.....     | 18 |
| 3.4. KANDA YAPILACAK ANALİZİN ÖLÇÜM PRENSİBİ.....                         | 19 |
| 3.5. ELISA AŞAMALARI .....                                                | 20 |
| 3.6. TRİGLİSERİT GLİKOZ İNDEKSİNİN HESAPLANMASI .....                     | 21 |
| 3.7. KULLANILAN CİHAZ VE KİMYASALLAR.....                                 | 21 |
| 3.7.1. Kimyasallar .....                                                  | 21 |
| 3.7.2. Cihazlar .....                                                     | 21 |
| 3.8. ARAŞTIRMANIN KISITLILIKLARI.....                                     | 22 |
| 3.9. ÇIKAR ÇATIŞMASI .....                                                | 22 |
| 3.10. VERİLERİN İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ .....                     | 22 |
| 4. BULGULAR.....                                                          | 23 |
| 4.1. PARTİKÜL BOYUTU VE ZETA POTANSİYELİ .....                            | 23 |
| 4.2. DENEY HAYVANLARININ ÖZELLİKLERİ .....                                | 24 |
| 4.3. GRUPLARIN KARŞILAŞTIRILMASI.....                                     | 24 |
| 5. TARTIŞMA .....                                                         | 31 |
| 5.1. PARTİKÜL ZETA POTANSİYELİ DEĞERLENDİRİLMESİ .....                    | 31 |
| 5.2. PARTİKÜL BOYUTU DEĞERLENDİRİLMESİ.....                               | 31 |
| 5.3. İNSÜLİN DİRENCİ DEĞERLENDİRİLMESİ .....                              | 33 |
| 5.4. AĞIRLIK DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....                           | 33 |
| 5.5. TRİGLİSERİT DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ .....                     | 33 |
| 5.6. KAN GLİKOZ DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....                          | 34 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....                                              | 36 |
| KAYNAKLAR .....                                                           | 37 |
| EKLER.....                                                                | 41 |

## TABLÖLAR LİSTESİ

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 3.1:</b> ELK Trigliserit Kiti Sonuç Kesinlik Verileri .....                                                                                              | 20 |
| <b>Tablo 4.1:</b> Titanyum dioksit partiküllerinin ultra saf suda Zeta potansiyeli ölçümü.....                                                                    | 23 |
| <b>Tablo 4.2:</b> Sıçanların genel özellikleri .....                                                                                                              | 24 |
| <b>Tablo 4.3:</b> Çalışma sonunda gruplar arası kan glikoz düzeylerinin karşılaştırılması .....                                                                   | 25 |
| <b>Tablo 4.4:</b> Çalışma sonunda gruplar arası ağırlık karşılaştırılması.....                                                                                    | 26 |
| <b>Tablo 4.5:</b> Çalışma sonunda trigliserit düzeylerinin karşılaştırılması .....                                                                                | 27 |
| <b>Tablo 4.6:</b> Çalışma sonunda gruplar arası TyG indeksi karşılaştırılması .....                                                                               | 27 |
| <b>Tablo 4.7:</b> Vücut ağırlığı ve glikoz düzeyinin yüzde değişimin karşılaştırılması .....                                                                      | 28 |
| <b>Tablo 4.8:</b> Çalışma sonunda gruplar arası ağırlık ve glikoz yüzde değişimleri arasında ilişkinin incelenmesi .....                                          | 28 |
| <b>Tablo 4.9:</b> Kontrol grubunda ağırlık yüzde artışı ve glikoz yüzde artışı değerleri ile trigliserit düzeyi arasında ilişkinin incelenmesi .....              | 29 |
| <b>Tablo 4.10:</b> Titanyum dioksit grubunda ağırlık yüzde artışı ve glikoz yüzde artışı değerleri ile trigliserit değerleri arasında ilişkinin incelenmesi ..... | 29 |
| <b>Tablo 4.11:</b> Tüm gruplarda son hafta vücut ağırlığı ve glikoz düzeyleri ile trigliserit düzeyleri arasında ilişkinin incelenmesi .....                      | 30 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1: Deney grubundaki sıçana oral gavaj olarak titanyum dioksit uygulanması..... | 17 |
| Şekil 3.2: Pikrik asit ile çeşitli yerleri sarıya boyanmış deney hayvanları.....       | 18 |
| Şekil 3.3: Deney hayvanlarına anestezi uygulaması .....                                | 19 |
| Şekil 4.1: Titanyum dioksidin partikül boyutu ve boyutların yüzdelikleri .....         | 23 |
| Şekil 4.2: Çalışma gruplarındaki kan glikozu değişimi (ortalama).....                  | 24 |
| Şekil 4.3: Deney gruplarındaki ağırlık artışı (ortalama).....                          | 25 |
| Şekil 4.4: Çalışma sonunda serum trigliserit düzeyleri (ortalama) .....                | 26 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                        |                                                               |
|------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>AB</b>              | : Avrupa Birliği                                              |
| <b>ADI</b>             | : Günlük Alım Miktarı                                         |
| <b>ATP</b>             | : Adenozin Trifosfat                                          |
| <b>CAS</b>             | : Chemical Abstract Service                                   |
| <b>CFR</b>             | : Federal Yönetmelikler Kanunu                                |
| <b>EFSA</b>            | : Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi                             |
| <b>FAF</b>             | : Gıda Katkı Maddeleri ve Tatlandırıcılar Paneli              |
| <b>FAO</b>             | : Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü                    |
| <b>FDA</b>             | : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi                               |
| <b>FSA</b>             | : Gıda Standartları Ajansı                                    |
| <b>FSS</b>             | : Gıda Standartları İskoçya                                   |
| <b>GKM</b>             | : Gıda Katkı Maddeleri                                        |
| <b>GRAS</b>            | : Generally Recognized As Safe                                |
| <b>HRP</b>             | : Horseradish Peroksidazı                                     |
| <b>HTG</b>             | : Hipertrigliseridemi                                         |
| <b>INS</b>             | : The International Numbering System                          |
| <b>JECFA</b>           | : Gıda Katkı Maddelerine ilişkin Ortak FAO-WHO Uzman Komitesi |
| <b>KAK</b>             | : Kodeks Alimentarius Komisyonu                               |
| <b>NOAEL</b>           | : Hiçbir Olumsuz Etki Göstermeyen Doz                         |
| <b>SCF</b>             | : Gıda Bilimsel Komitesi                                      |
| <b>TiO<sub>2</sub></b> | : Titanyum Dioksit                                            |
| <b>TyG</b>             | : Trigliserit Glikoz                                          |
| <b>WHO</b>             | : Dünya Sağlık Örgütü                                         |



# TİTANYUM DİOKSİDİN YAVRU SIÇANLARDA GLİKOZ METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİSİ

## ÖZET

**Amaç:** Gıda katkı maddesi olarak kullanılan titanyum dioksit en çok çocukluk ve ergenlik dönemlerinde maruz kalınmaktadır. Titanyum dioksit metabolizmaya olumsuz etkileriyle ilgili çalışmalar halen netlik kazanmamıştır. Bu tez çalışmasında çocukluk ve ergenlik dönemindeki sıçanlarda titanyum dioksit glikoz metabolizması üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamız Hamidiye Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmış ve 20 adet 3 haftalık dişi Sprague-Dawley sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar deney ve kontrol grubu olarak her grupta 10 sıçan olacak şekilde ikiye ayrılmıştır. Deney grubuna 6 hafta boyunca 5 gün 140 mg/kg titanyum dioksit oral gavajla verilmiştir. Deney süresince her hafta ağırlık değişimi, 2. ve 6. haftalarda kan glikoz düzeyi, deney sonunda ise trigliserit düzeyleri ölçülmüş ve bu ölçümlerle trigliserit glikoz indeksi hesaplanmıştır.

**Bulgular:** Deney boyunca vücut ağırlık artışında gruplar arasında anlamlı fark görülmedi ( $p=0,796$ ). 2. ve 6. haftalarda kan glikoz düzeyi ölçülmüş ve 2. haftaya göre 6. haftadaki yüzde artış miktarı arasında anlamlı fark görülmedi ( $0,604$ ). Deney sonunda gruplar arasındaki kan glikozu ve trigliserit düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,315$ ,  $p=0,633$ ). TyG indeksi hesaplaması sonucu gruplar arasında fark saptanmadı ( $p=0,274$ ). Ayrıca deney ve kontrol grubunda ağırlık artışı, glikoz düzeyi ve trigliserit düzeyleri arasında anlamlı ilişki yoktu.

**Sonuç:** İnce partiküllü titanyum dioksit çocukluk ve ergenlik dönemindeki sıçanlarda glikoz metabolizması üzerine olumsuz bir etki oluşturmadığı söylenebilir. Daha net etki gözleyebilmek için ince partiküllü titanyum dioksit ile yapılan ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Çocuk Sağlığı, Gıda Katkı Maddeleri, Glikoz Metabolizması, Titanyum Dioksit

# EFFECT OF TITANIUM DIOXIDE ON GLUCOSE METABOLISM IN YOUNG RATS

## ABSTRACT

**Aim:** The most common exposure to titanium dioxide, which is used as a food additive, is during childhood and adolescence. Studies on the adverse effects of titanium dioxide on metabolism are still unclear. In this thesis study, it was aimed to investigate the effects of titanium dioxide on glucose metabolism in young rats.

**Materials and Methods:** Our study was conducted in the Hamidiye Experimental Animal Production and Research Laboratory and 20 3-week-old female Sprague-Dawley rats were used. The rats were divided into two as experimental and control groups, with 10 rats in each group. The experimental group was given 140 mg/kg titanium dioxide by oral gavage, 5 days a week for 6 weeks. Changes of the body weight every week, blood glucose level in the 2nd and 6th weeks, and triglyceride levels at the end of the experiment were measured and the triglyceride glucose index was calculated using by these measurements.

**Results:** There was no significant difference between the groups in body weight gain throughout the experiment ( $p=0.796$ ). The blood glucose level was measured in the 2nd and 6th weeks, and there was no significant difference between the percentage increase in the 6th week compared to the 2nd week ( $p=0.604$ ). At the end of the experiment, there was no significant difference between the groups in blood glucose and triglyceride levels ( $p=0.315$ ,  $p=0.633$ ). There was no difference between the groups as a result of the calculation of the TyG index ( $p=0.274$ ). In addition, there was no significant relationship between weight gain, glucose level and triglyceride levels in the experimental and control groups.

**Conclusion:** It can be said that fine particle titanium dioxide does not have a negative effect on glucose metabolism in young rats. Additional studies with fine particle sized titanium dioxide are needed to observe a clear effect.

**Key Words:** Child Health, Food Additives, Glucose Metabolism, Titanium Dioxide

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yiyeceklere farklı amaçlarla çeşitli katkıların ilave edilmesi antik çağlara kadar dayanmaktadır. Günümüzde ise modern yaşam koşulları katkı maddelerinin kullanımını neredeyse kaçınılmaz hale getirmiştir. Fark edilmeden tüketilen gıda katkı maddelerinin sağlığa olumsuz etkileri tüketicileri endişeye sevk etmiş ve sürekli araştırma konusu olmuştur (1). Gıda katkı maddelerinden biri olan titanyum dioksit ( $\text{TiO}_2$ ) çeşitli sanayi alanlarında opaklaştırma ve beyaz renk elde etmek için sıklıkla kullanılan bir renklendiricidir. Besleyici değeri bulunmayan ve gıda etiketlerinde Amerika Birleşik Devletleri'nde INS171, Avrupa ülkelerinde ise E171 koduyla yer alan  $\text{TiO}_2$ , yiyecek-içecek sektöründe sakız, şekerleme, süt ürünleri, içecekler, sos, krema ve hazır çorba gibi ürünlerde renklendirme amacıyla eklenen bir gıda katkı maddesidir (2). Titanyum dioksidin sık ve yaygın kullanımı insan sağlığı üzerinde oluşabilecek zararlar hakkında endişe uyandırmıştır. Gıdalar aracılığıyla maruziyet ülkeler ve yaş grupları arasında değişkenlik gösterse de yapılan çalışmalar sakız ve şekerleme grubu yiyeceklerin daha sık tüketilmesi sebebiyle 3-17 yaş aralığındaki çocukların  $\text{TiO}_2$ 'ye en fazla maruz kalan bireyler olduğunu göstermiştir (3).

Son yıllarda  $\text{TiO}_2$ 'nin ağızdan alındıktan sonra sağlık üzerindeki potansiyel yan etkilerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmış ve birçoğunda enflamasyona yol açtığı, mikrobiyotayı değiştirdiği, genotoksik ve sitotoksik etkilerinin olduğu, hafıza ve öğrenmeyi etkilediği ayrıca biyokimyasal parametrelerde değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (4-6). Dokular üzerinde subakut ve subkronik maruziyet araştırmalarında sıçan bağırsaklarında epitel hiperplazi ve preneoplastik lezyonların oluşumu bildirilse de bazı oral maruziyet çalışmalarında bu etkilerin görülmediği belirtilmiştir (7). Titanyum dioksidin kan glikoz düzeyine etkisinin incelendiği Gu ve ark. çalışmalarında farelere oral yolla günlük 64 mg/kg  $\text{TiO}_2$  verildiğinde, serbest oksijen türleri miktarının ve kan glikozunun değişmediği gözlenmiştir. Ayrıca plazma glikoz homeostazını düzenleyen pankreas, beyin, ince bağırsak gibi organlarda histopatolojik değişimlerin olmadığı görülmüştür (8). Titanyum dioksidin hamilelik dönemindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada farelere hamileliğin 5. gününden 18. gününe kadar günlük 5mg/kg  $\text{TiO}_2$  verilmiştir. Çalışma sonucunda maternal kan glikoz düzeyinin yükseldiği ve mikrobiyotanın değiştiği gözlemlenmiştir. Ancak mikrobiyotadaki değişimin  $\text{TiO}_2$

maruziyetinden veya gestasyonel sürecin doğal sonucundan kaynaklandığı konusunda kesin bir sonuca varılamamıştır (9). Chen ve ark. sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada sıçanlar 30 ve 90 gün boyunca günde 0, 2, 10 ve 50 mg/kg dozlarda  $TiO_2$ 'ye maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda  $TiO_2$ 'nin bağırsaklardan glikoz emilimini azaltıp hepatik glikoz metabolizmasını artırarak hipoglisemik etkiye yol açabileceği bildirilmiştir (10).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), olumsuz bulgulara rağmen  $TiO_2$ 'nin tüketim konusunu yeniden düzenlemeye almamış, eksik ve çelişkili araştırma verilerinin yeni çalışmalarla desteklenerek tekrar dikkatlice değerlendirilmesini önermiştir (11).

Gıda katkı maddesi olarak kullanılan  $TiO_2$ 'nin glikoz metabolizması üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar sayısal olarak yetersiz ve sonuçları çelişkilidir. Ayrıca bu katkı maddesine en çok maruz kalınan yaşamın erken dönemini kapsayan çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Bu çalışmada genç sıçanlar  $TiO_2$ 'ye oral yolla subkronik olarak maruz bırakılacak, böylece  $TiO_2$ 'nin çocukluk döneminde glikoz metabolizmasına olası yan etkileri aydınlatılmaya çalışılacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. GIDA KATKI MADDELERİNİN TANIMI VE KULLANIM AMAÇLARI

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 1960 yılında ortak kuruluşu olan Kodeks Alimentarius Komisyonu'nun (KAK) 1333/2008 numaralı yönetmeliğinde gıda katkı maddesi, normalde tek başına bir gıda olarak tüketilmeyen ve gıdanın karakteristik bir bileşeni olarak kullanılmayan, besin değeri olup olmadığına bakılmaksızın, üretimde teknolojik bir amaç için gıdalara kasıtlı olarak eklenen herhangi bir madde olarak ifade edilmiştir (12).

Gıda katkı maddeleri (GKM) pek çok işleve sahip olmasına rağmen temel olarak tüketiciye sunulan ürünlerde bozulmaya sebep olan sağlığa zararlı bakterilerin üremesini, oksidasyonu ve diğer kimyasal değişiklikleri önlemekle birlikte ürünün daha cazip hale gelmesi için tat, doku, fiziksel görünüm gibi özelliklerini iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır (13).

Yiyecekler doğası gereği hasat edildiği anda bozulmaya başlar. Tarih boyunca insanlar, hasat ettikleri gıdaları kısa sürede tüketmek zorunda kalmamak ve yiyeceğe ulaşmanın daha zor olduğu soğuk mevsimleri ve kıtlık durumlarında da besin ihtiyaçlarını karşılayabilmek için tütsüleme, güneşte kurutma, turşulama, dondurma, fermente etme, tuz ve baharatlar ekleyerek uzun süre bozulmadan saklayabilmeyi başarmışlardır. Gıdaların bozulmaması ve daha iyi görünmesi için çeşitli katkıların eklenmesi antik çağlara kadar dayanmaktadır. Örneğin M.Ö. 1500 yıllarında Antik Mısır'da doğal kaynaklı gıda boyalarının, orta çağda ise bozulmayı önlemek amacıyla etlere nitrat eklendiği bilinmektedir (14). On dokuzuncu yüzyıl itibarıyla ticaretin ve teknolojinin gelişmesiyle tüketici beklentileri artmış, bunun sonucunda sodyum bikarbonat, potasyum tartarat gibi farklı bileşikler kullanılmaya başlanmıştır (15). Günümüzde ise artan dünya nüfusuyla birlikte gıdaya olan ihtiyaç artmaktadır. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2050 yılında dünya popülasyonuna yeterli besin temin edilebilmesi için gıda üretiminin %70 artırılması gerektiğini belirtmiştir (16). Yiyecek ihtiyacındaki artış ve modern yaşam koşullarının getirdiği hazır gıda tüketme zorunluluğu GKM'nin kullanımını kaçınılmaz

hale getirmiştir. GKM üreticiler tarafından hazır gıda ürünlerine ihtiyaca göre eklenerek tüketiciye sunum sürecinde çeşitli faydalar sağlar. Bunları örnek olarak aşağıdakiler sıralanabilir:

- Ürünün daha uzun süre bozulmadan kalmasını sağlar ve böylece raf ömrünü uzatır.
- Renk, kıvam gibi özelliklerini geliştirerek ürünün görünümünü daha hoş kılar.
- Çok miktarda ürünün bozulmadan uzun süre saklanabilmesini sağlayarak tüketicinin alışveriş sıklığını azaltır.
- Ürün yelpazesinin genişletilmesinde yardımcı olur.
- Birçok düşük yağlı ürün GKM sayesinde üretilir.
- Vitamin ve mineraller gibi besin öğeleriyle zenginleştirilmiş ürünlerin besleyiciliğinin sürdürülmesinde rol oynar (1).

## **2.2. GIDA KATKI MADDELERİNİN SINIFLANDIRILMASI**

Avrupa Birliği ve ABD’de kullanılmasına izin verilen katkı maddeleri birbirinden farklıdır. Ayrı denetim ve izin mekanizmalarına sahiptir (17). Türkiye’de kullanılan gıda katkı maddeleri AB ile uyum içerisindedir ve büyük oranda aynıdır. Ülkemizde kullanılmasına izin verilen, bir diğer ifadeyle Türk Gıda Kodeksinde yer alan GKM’nin sayısı 2021 başları itibarıyla 402’dir (18). Bu sayı listeye ilave edilen veya çıkarılanlara bağlı olarak zaman içerisinde değişmektedir. Farklı amaçlar doğrultusunda kullanılan GKM balmumu gibi doğal bir ürün, sitrik asit gibi doğala özdeş bir kimyasal ya da sakarin gibi tamamen sentetik bir bileşik olabilmektedir. KAK’ın 1333/2008 numaralı yönetmeliğinde GKM kabul edilmeyen maddelerden de bahsedilmiştir. Yönetmelikte limon suyu ve sirkenin katkı maddesi sayılamayacağı ancak sirkede bulunan asetik asit ile limon suyunda bulunan sitrik asidin katkı maddesi olarak kabul edildiği belirtilmiştir. Yine gıda katkısı olarak bilinen yüksek fruktoz şurubu da GKM sayılmayıp bir gıda bileşeni olarak kabul edilmiştir (19). GKM Türk Gıda Kodeksinde 26 sınıfa ayrılmıştır. Bunlar tatlandırıcılar, renklendiriciler, koruyucular, antioksidanlar, taşıyıcılar, asitler, asitlik düzenleyiciler, topaklanmayı önleyici maddeler, köpük önleyiciler, hacim arttırıcılar, emülgatörler, emülsifiye edici tuzlar, sertleştiriciler, aroma

arttırıcılar, köpük oluşturunclar, jelleştiriciler, parlaticılar, nem vericiler, modifiye nişastalar, ambalajlama gazları, itici gazlar, kabartma maddeleri, metal bağlayıcılar, stabilizatörler, koyulaştırıcılar, un işleme maddeleri ve kontrast arttırıcılardır. Bunların kullanım amaçları şu şekilde tanımlanmıştır:

- 1.Tatlandırıcılar: Ürünlerde tatlı tat elde etmek amacıyla kullanılırlar.
- 2.Renkendiriciler: Ürünleri renklendirmek veya sahip olduğu rengi geri kazandırmak amacıyla eklenirler.
- 3.Koruyucular: Hastalık yapan patojenlerin yada bozulmaya yol ačan mikroorganizmaların üremesini engelleyerek raf ömrünü uzatırlar.
- 4.Antioksidanlar: Yağ içeren gıdalarda oksidasyon sonucu oluşan acılaşma ve renk değişimini önleyerek raf ömrünü uzatırlar.
- 5.Taşıyıcılar: Gıdalara besleyiciliği arttırmak ya da diğer özelliklerini iyileştirmek amacıyla eklenen GKM'nin ve diğer maddelerin çözünmesine, seyreltilmesine, eklendiği ortam içerisinde dağılabilmesine veya fiziksel özelliklerinin değişmesine yardımcı olarak sonradan eklenen maddelerin kullanımını kolaylaştırır.
- 6.Asitler: Ekşi tat vermeye ve asitliği arttırmaya yardımcı maddelerdir.
- 7.Asitlik düzenleyiciler: Asitlik ya da alkalilik değerini değiştiren veya kontrol eden maddelerdir.
- 8.Topaklanmayı önleyici maddeler: Gıda parçacıkları arasında yapışmayı engelleyen maddelerdir.
- 9.Köpük önleyiciler: Köpük oluşumunu önleyen yada azaltan maddelerdir.
- 10.Hacim arttırıcılar: Gıdanın enerji iğeriğine katkıda bulunmadan hacminin artmasını sağlayan maddelerdir.
- 11.Emülgatörler: İki veya daha fazla birbiri içerisinde karışmayan fazın homojen karışımını sağlayan veya homojen yapının devamını mümkün kılan maddelerdir.
- 12.Emülsifiye edici tuzlar: Peynirde bulunan proteinlerin karışım içerisinde çözünmesine, böylece yağ ve diğer bileşenlerin homojen dağılmasını sağlarlar.
- 13.Sertleştiriciler: Sebze ve meyve dokularını sert ya da taze tutarlar. Ayrıca jelleştirici maddelerle de etkileşime geçerek jelin sertleşmesine yardımcı olurlar.

14.Aroma Arttıcıları: Gıdalarda var olan tat ve koku özelliklerinin artmasını sağlar.

15.Köpük Oluşturucular: Katı ve sıvı fazdaki gıdalarda gaz fazının homojen dağılımını sağlar.

16.Jelleştiriciler: Jel oluşumunu sağlayarak gıdalara doku ve kıvam katar.

17.Parlatıcılar: Gıdanın dış yüzeyine parlak bir görünüm elde etmek veya koruyucu bir kaplama sağlamak amacıyla uygulanır.

18.Nem vericiler: Düşük nem ortamında yiyeceklerin kurumasını önleyen ve toz bir maddenin sıvı içerisinde çözünmesini sağlayan maddelerdir.

19.Modifiye nişastalar: Ağartılmış, asidik veya bazik bir maddeyle inceltilmiş, çeşitli fiziksel ya da kimyasal işlemlerden geçmiş yenilebilir nişastalardır.

20.Ambalajlama gazları: Gıda ürünlerine paketleme öncesinde eklenen hava dışındaki gazlardır.

21.İtici gazlar: Gıdanın paketten çıkmasını sağlayan hava dışındaki gazlardır.

22.Kabartıcılar: Bir veya birkaç maddenin kombinasyonu olabilen kabartıcılar gaz oluşturarak eklendiği hamurun hacminin artmasını sağlar.

23.Metal bağlayıcılar: Metalik iyonlar ile kimyasal kompleks oluşturan maddelerdir.

24.Stabilizatörler: Gıdaların fiziksel ve kimyasal özelliklerinin korunmasına yardımcı olan, birbiriyle karışmayan fazların homojen dağılımının sürekliliğini sağlayan, gıdaların renklerini koruyan veya arttıran, proteinler arası çapraz bağ oluşturarak gıda parçacıklarının birbirine bağlanmasını sağlayan ve gıdaların bağlanma kapasitelerini yükselten maddelerdir.

25.Kıvam arttırıcılar: Gıdalarda viskoziteyi arttıran maddelerdir.

26.Un işleme maddeleri: Pişirme kalitesini arttırmak amacıyla un ve hamura eklenen maddelerdir (20).



## **2.3. GIDA KATKI MADDELERİNİN DÜZENLENMESİNDE GÖREVLİ KURULUŞLAR**

Dünyada ve ülkemizde GKM'nin güvenli ve uygun hale getirilmesinde görevli kuruluşlar bulunmaktadır.

### **2.3.1. Gıda Katkı Maddelerine ilişkin Ortak FAO-WHO Uzman Komitesi (JECFA)**

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ortaklaşa yönetilen uluslararası bir uzman bilim komitesidir. JECFA bugüne kadar 500'den fazla gıda katkı maddesini ve 2000'den fazla aroma verici değerlendirmiştir (21). Doğal ya da sentetik kaynaklı olması fark etmeksizin sadece JECFA güvenlik değerlendirmesinden geçebilen ve tüketiciler için kayda değer sağlık riski oluşturmadığı tespit edilen GKM kullanılabilir. Ulusal makamlar, ulusal bir değerlendirmeye veya JECFA değerlendirmesine dayalı olarak, belirli yiyecekler için belirli miktarda GKM'nin kullanımına izin verebilir. JECFA değerlendirmeleri, katkı maddeleri hakkındaki mevcut tüm toksikolojik testler, biyokimyasal araştırmalar, insanlarda gözlemlenen olumsuz etkiler ve yapılan hayvan deneyleri verilerine dayanmaktadır (22).

### **2.3.2. Kodeks Alimentarius Komisyonu (KAK)**

Kodeks Alimentarius Komisyonu, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından oluşturulan Ortak Gıda Standartları Programı çerçevesinde 188 ülke ve AB'den oluşan 189 üyeye sahip uluslararası bir kuruluştur. Türkiye komisyona 1 Ekim 1963 tarihinde üye olmuştur. KAK'ın ana görevi gıda ile ilgili tüm uygulamaların dünya çapında standart hale getirilmesidir. KAK'ın Gıda Katkı Maddeleri Kodeks Komitesi (CCFA) yiyecek ve içeceklere eklenecek GKM'nin değerlendirilme sürecinde şu görevleri üstlenir:

- Maksimum kullanım seviyelerini belirler.
- JECFA'ya risk değerlendirmesi için öncelikli GKM'nin listesini hazırlar.
- Her bir katkı maddesini fonksiyonel sınıflarına ayırır.
- Komisyon tarafından kabul edilecek GKM'ne saflık ve kimlik özellikleri önerir.

- Gıdalarda bulunan GKM'nin tespiti için analiz yöntemlerini değerlendirir.
- GKM için etiketlenme veya kodlama standartları belirler (22,23).

### **2.3.3. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)**

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi, Amerika Birleşik Devletleri'nde GKM'nin güvenli kullanımlarını belirlemek için birincil yasal sorumluluğa sahiptir. Yeni bir katkı maddesinin piyasada kullanılabilmesi için öncelikle FDA'ya onay için dilekçe verilmelidir (22).

### **2.3.4. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)**

Mayıs 2003 itibarıyla, önceden Gıda Bilimsel Komitesi (SCF) tarafından yapılan bilimsel değerlendirme, EFSA tarafından sağlanmaktadır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından oluşturulan ve uzman bilim adamlarının yer aldığı Gıda Katkı Maddeleri ve Tatlandırıcılar Paneli (FAF), gıdaya eklenen kimyasal maddelerin güvenliğini ve tüketici maruziyetini değerlendirir. FAF üyeleri bir katkı maddesinin fiziksel ve biyolojik özellikleri, eklendiği gıda ile kimyasal tepkime potansiyeli, üretim süreci, diyetle maruziyet, toksikokinetik özellikleri (emilim, dağılım, metabolizma, boşaltım) ve toksikolojik etkileriyle ilgili mevcut verilerin tümünü değerlendirerek güvenliği hakkında bir sonuç çıkarır. Ayrıca 20 Ocak 2009'dan önce AB'de kullanımına izin verilen tüm gıda katkı maddelerini yeniden değerlendirmektedir (24,25).

### **2.3.5. Tarım ve Orman Bakanlığı**

Ülkemizde GKM hakkında en yetkili kurumdur. GKM'nin kodekse eklenmesi, çıkarılması, gıdalarda kodekse uygun kullanıldığının takibi ve denetimi gibi tüm süreçlerden sorumludur. KAK'ın toplantılarında ülkemizi temsil etmektedir (20).

## **2.4. GÜVENLİK TESTLERİ**

Bir gıda katkı maddesinin kullanımına yönelik çalışmalarda öncelikle kabul edilebilir günlük alım miktarı (ADI) belirlenir. ADI, yiyecek veya içeceklerdeki katkı maddelerinin herhangi bir olumsuz etki oluşturmaksızın her gün güvenle tüketilebilen toplam miktarıdır. ADI hesaplanırken öncelikle "Tanımlanmış maruz kalma koşulları altında deney veya gözlemle bulunan hedef organizmanın morfolojisinde, fonksiyonel kapasitesinde, büyümesinde, gelişiminde veya yaşam süresinde saptanabilir olumsuz bir

değişikliğe neden olmayan, bir maddenin en büyük konsantrasyonu veya miktarı" olarak tanımlanan hiçbir olumsuz etki göstermeyen doz (NOAEL) tespit edilir. Ardından bu değer 100'e bölünerek kg başına mg olacak şekilde ADI değeri bulunur (22,26).

## **2.5. İZİN SÜRECİ**

Avrupa Birliği (AB) yasalarına göre bir gıda katkı maddesinin kullanılabilmesi için önce izin alınması gerekir. İzin prosedürü, maddenin önerilen kullanımları ve kullanım seviyelerine ilişkin bilimsel verileri içeren bir uygulama dosyasından oluşan resmi talebin sunulmasıyla başlar. Avrupa Komisyonu daha sonra dosyayı EFSA'ya gönderir ve maddenin güvenliğini değerlendirmesini ister. Komisyon, maddeye izin verilip verilmeyeceğine EFSA'nın güvenlik değerlendirmesine göre karar verir. Mevcut gıda katkı maddelerinin yeniden değerlendirme sürecinde de aynı prosedür izlenir. İzin verilen maddeler EC 1333/2008 Yönetmeliği'nde özellikleri ve kullanımı belirtilmiş izin verilen gıda katkı maddeleri listesine dahil edilir. İzin verilen gıda katkı maddelerinin aynı zamanda AB 231/2012 Yönetmeliğinde belirtilen onaylanmış saflık kriterlerine de uyum sağlaması gerekir (24).

## **2.6. E NUMARALARI**

Avrupa'da kullanımına izin verilen her gıda katkı maddesi kendine özgü bir E numarası alır. KAK tarafından yapılan numaralandırma sistemiyle bir katkı maddesinin dünya çapında tanınması amaçlanır. Numaranın başındaki E harfi AB (EU) standartlarına göre onaylandığını gösterir. Avrupa dışındaki ülkeler ise katkı maddesinin Avrupa'da onaylanıp onaylanmadığına bakılmaksızın genellikle yalnızca rakamı kullanır (27). Örneğin asetik asit, Avrupa'da satılan ürünlerde E260 olarak, Avrupa dışındaki ülkelerde ise 260 numaralı katkı maddesi olarak bilinir. Bunun yanında Avrupa'da onaylanmayan 103 numaralı katkı maddesi olan alkanin, Yeni Zelanda ve Avustralya'da kullanım için onaylanmış olmasına rağmen E numarasına sahip değildir (28).

Avustralya, paketlenmiş gıda ürünlerindeki gıda katkı maddeleri için onaylanmış bir etiketleme sistemine sahiptir. Her gıda katkı maddesi numaralandırılır veya adlandırılır. Rakamlar Avrupa'dakine benzerdir ancak başında E harfi bulunmaz. Bu maddeler FDA tarafından GRAS (Generally Recognized As Safe - genellikle güvenli olarak kabul edilen) olarak kabul edilir ve hem Kimyasal Kuramlar Servisi (CAS) hem Federal Yönetmelikler Kanunu (CFR) numarasına sahiptir (17).

## 2.7. RENKLENDİRİCİLER

Renklendiriciler ya da gıda boyaları, yiyecek ve içeceklerin yanında gıda dışı ürünlere de renk katmak için eklenen boya, pigment gibi maddelerdir. Renklendiricilerin gıda katkı maddesi olarak başlıca kullanım sebepleri yiyeceğin daha güzel ve lezzetli görünmesi için doğal rengini güçlendirmek, renksiz olanları renklendirmek, ısı, ışık, nem, işleme ve saklama koşullarına maruziyet sonucu gelişen renk kaybını geri kazandırmak ve ilaçları ayırt edebilmek şeklinde örneklendirilebilir (26). Günümüzde gıda sektöründe çoğunlukla bisküvi, hamur işleri, kek, işlenmiş et, peynir, margarin, şekerleme, dondurma ve meşrubat gibi ürünlerinde kullanılmaktadır (29).

Renklendiriciler elde edildiği kaynağa göre doğal, yarı sentetik ve sentetik; çözünbilirlik özelliğine göre çözür ve çözünür olmayan; ve kaplama gücüne göre transparan ve opak gibi özelliklerde olabilmektedir. Ancak en yaygın kullanılan sınıflandırma doğal ve sentetik renklendiriciler arasındadır (26).

### 2.7.1. Doğal Renklendiriciler

Doğal renklendiriciler bitki dokularından (kurkumin, karotenoidler, antosiyaninler, betalainler ve klorofiller), hayvan hücresinden (karminik asit), mikroorganizma metabolizmasından (karotenoidler ve klorofiller) veya mineral kaynaklardan ( $TiO_2$  ve kalsiyum karbonat) elde edilebilir. Doğal renklendiriciler, sentetik renklendiricilerin sağlığa zararlı olabileceği endişesi sebebiyle kullanılmaktadır. Sentetik renklendiricilere göre daha güvenli olmasının yanında yapılan çalışmalarda içeriğindeki biyoaktif bileşikler sayesinde yiyeceğin raf ömrünün uzatılmasına yardımcı olduğu da görülmüştür. Ayrıca bu bileşiklerin diyabet, kanser, nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklara karşı önleyici etkisiyle tüketici sağlığına fayda sağlayabileceği bildirilmiştir (30).

Doğal renklendiriciler sentetik renklendiriciler kadar güçlü ve kalıcı renk verme özelliğine sahip değildir. Dış etkenlerden kolaylıkla etkilenmesi nedeniyle üretim aşamaları zorlu ve maliyetlidir. Son yıllarda renklendiriciler başta olmak üzere yapay GKM'nin birçok hastalığa, bozukluğa ve mutasyonlara yol açabileceğini işaret eden bilimsel verilerin artması, doğal renklendiricilerin üretim yöntemlerinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmaların sürdürülmesinde etkili olmuştur (31).

### 2.7.2. Yapay Renklendiriciler

Yapay renklendiriciler, doğada bulunmayan ve kimyasal sentezle elde edilen maddelerdir. Tüketicilerin ancak yapay renklendiriciler ile elde edilebilen daha canlı renkte ürünleri talep etmesi, doğal renklendiricilerden daha sabit yapıda olması ve daha düşük maliyet ile üretilmesi yapay renklendiricilerin gıda endüstrisinde tercih edilme sebepleri arasındadır. Son 60 yılda dünya genelinde yapay renklendiricilerin kullanımı 5 kat artmıştır (32).

Yeni bir renklendiricinin kullanımını onaylamadan önce kısa ve uzun vadeli etkileri, kompozisyon ve özellikleri, üretim süreci, kararlılık, muhtemel tüketim ve maruziyet miktarı ile gıdalardaki saflığını ve miktarını belirlemek için mevcut analitik yöntemler gibi faktörler FDA tarafından değerlendirir. Yapay renklendiriciler için ise bunlara ek olarak zorunlu bir sertifika süreci vardır. Sertifika için FDA, renklendiricinin gerekli özelliklere sahip olduğunu kanıtlayan kimyasal bileşim analizi yapar. Bu sebeple yapay renklendiriciler sertifikalı renklendiriciler olarak da adlandırılır (33).

Yapay renklendiriciler, tüm katkı maddeleri gibi tüketiciye herhangi bir zarar vermeyeceğini kanıtlayan detaylı güvenlik değerlendirmelerinden sonra kullanım izni alabilir. Yapay renklendiriciler izin verilen miktarda tüketildiğinde güvenli kabul edilmesine rağmen özellikle çocuklarda zararlı etkilere neden olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Hanmugasundaram ve ark. derleme çalışmasında yapay renklendiricilerden gün batımı sarısı (E110), kinolin sarısı (E104), carmoisine (E122), allura kırmızısı (E129) ve tartrazinin (E102) serum albumini ile güçlü bağ kurarak normalde bağlanması gereken molekülleri engellediği bulunmuştur. Bu durumun insan sağlığı için risk oluşturduğu bildirilmiştir (34). Sentetik renklendiricilere anne karnında maruziyetin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, NOAEL miktarda eritrosin, ponso 4R, allura red AC, sunset yellow FCF, tartrazin, amarant, brilliant blue, azorubin ve indigotin karışımı deney grubundaki sıçanlara gebelikten 1 hafta önce başlanarak doğuma kadar oral gavaj ile verilmiştir. Deney sonunda sentetik renklendiricilerin erişkinlik dönemine gelen yavrularda hafıza ve mekansal öğrenmenin etkilemediği ancak anksiyete, depresyon ve motivasyon testlerinde olumsuz sonuçlara yol açtığı bulunmuştur (35).

Yapay renklendiricilerin çocuklarda hiperaktivite başta olmak üzere davranış bozukluklarıyla ilişkili olabileceği ise ilk kez 1970'lerin başında çocuk alerji doktoru Dr. Benjamin Feingold tarafından ileri sürülmüştür. Dr. Feingold sentetik renklendiricilerin

elimine edildiği bir diyet geliştirmiş, bu diyetin hiperaktif çocuklarda uygulandığında yüzde 50 olumlu etkisinin olduğunu gözlemiştir (36). Daha sonra yapılan çalışmaların bazılarında yapay renklendiricilerin hiperaktivite ile ilişkisi bulunurken bazılarında bulunamamıştır (26). Sonuçların çelişkili olmasına karşılık JECFA ve EFSA çalışmalarda kısıtlamaların olduğu ve renklerin risk değerlendirmesi yapılırken yanlış uygulandığı sonucuna ulaşmıştır. Ek olarak, FDA yapay renklendiricilere maruziyet ve nörodavranışsal bozukluk arasındaki ilişkinin genel populasyon üzerinde incelenmediğini belirtmiştir (37). Chappell ve ark. sistematik değerlendirmesinde sadece FDA sertifikalı Eritrosin (Red No. 3) 'in nörogelişimsel yollar üzerinde aktivitesi olduğu bulunmuştur. Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu gibi nörolojik hastalıkların mekanizmasının karmaşık olması nedeniyle yapay renklendiricilerin bu hastalıklarla ilişkisini kesinleştirebilmek için ek analizlerin yapılması önerilmiştir (38). Örneğin gıda boyalarından bir kısmı EFSA tarafından yeniden değerlendirmeye alınmış ve 2009-2010 yıllarında amarant (E123), brown HT (E155), sunset yellow FCF (E110), kinolin sarısı (E104) ve ponso(ponceau) 4R (E124)'ün ADI (günlük alınmasına izin verilen miktar) düzeylerini azaltmıştır (39–43).

## **2.8. TİTANYUM DİOKSİT**

Titanyum dioksit, diğer adlarıyla titanium (IV) oksit veya titanya, titanyum elementinin doğal olarak oksitlenmesiyle oluşan basit bir inorganik bileşiktir. Kimyasal formülü  $TiO_2$  şeklindedir. Anataz, rutil ve brokit olarak üç temel formda bulunur. Rutil doğada en fazla bulunan daha kompakt ve en kararlı formudur (44). Brokit formu ise diğer formlara göre daha az kullanılmaktadır.

### **2.8.1. Titanyum Dioksidin Kullanım Alanları**

Titanyum dioksit renklendirici olarak kullanıldığında titanyum beyazı, pigment beyaz 6 ve CI 77891 olarak adlandırılır (45).  $TiO_2$  1900'lerin başında keşfedilmiştir ve 1923 yılında pigment formunun ilk kez Fransa'da kullanıldığı rapor edilmiştir (44). Resmi olarak, FDA tarafından 1966'da daha sonra 1969'da Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü (FAO/Kodeks Alimentarius) tarafından kullanımı onaylanmıştır (3). Titanyum dioksit ilaçlarda, gıda takviyelerinde, kağıt endüstrisinde, tekstil ürünlerinde, bazı plastiklerde ve güneş kremi, diş macunu, makyaj malzemeleri gibi birçok kozmetik üründe beyaz renk ve parlaklık vermesi amacıyla kullanılmaktadır (4,46). Tarım

endüstrisinde ise toprak verimliliğini, bitkilerin büyümesini ve mahsul verimini önemli ölçüde etkileyebilecek olan gübre ve böcek ilaçlarının üretiminde kullanılmaktadır (47) Gıda katkı maddesi olarak ise çoğunlukla sakızlarda, badem şekerlerinde, jelli şekerlemelerde, renkli drajelerde, çeşitli içeceklerde, soslarda ve bazı beyaz leblebilerde kullanılmaktadır.

### **2.8.2. Titanyum Dioksidin Sağlık Üzerine Etkileri**

Titanyum dioksidi oral, cilt ve solunum yollarıyla maruz kalınmaktadır. Mide asidine dayanıklı olması nedeniyle bağırsaklara ulaşabildiği, ardından kan dolaşımına geçtiği ve dokularda bir miktar biriktiği bilinmektedir. Titanyum dioksidin metabolik yolları halen tam olarak bilinmemesine rağmen oksidatif strese ve hücre toksisitesine sebep olduğu gösterilmiştir (46). Güncel çalışmalarda  $TiO_2$ 'nin karaciğer ve DNA hasarına, tümör oluşumuna (47), glikoz metabolizmasında değişikliklere (8,9,48,49), mikrobiyotada değişikliklerine ve merkezi sinir sisteminin işleyişinde bozulmalara (6,50,51) sebep olduğu rapor edilmiştir. Zararlı etkilerinin nano boyuttaki partiküllerden kaynaklandığı düşünülmektedir (46).

### **2.8.3. Titanyum Dioksidin Yeniden Değerlendirilmesi ve Yasaklanması**

EFSA paneller oluşturarak gıda katkı maddeleri hakkında yapılan araştırmaları zaman zaman değerlendirmekte ve kullanım koşullarını güncellemektedir. Bu çerçevede 2016 yılında yaptığı değerlendirmede incelenen araştırmalardaki eksikliklerden ve yetersiz kanıtlardan dolayı  $TiO_2$ 'nin kullanımı ile ilgili bir yasaklamaya gidilmemiştir (52). Ancak 2022 yılında yaptığı değerlendirmede mevcut literatürü inceleyerek  $TiO_2$  partiküllerinin vücutta birikiminin olası genotoksik etkilerinin olabileceğini belirtmiş ve AB'de ve Kuzey İrlanda'da yasaklanmıştır (53). Ancak Gıda Standartları Ajansı (FSA) ve Gıda Standartları İskoçya (FSS)  $TiO_2$ 'nin zararlı etkileri kesinlik kazanmadığı için Birleşik Krallık'ta kullanımına devam edileceği belirtilmiş ve şu an devam ettikleri risk değerlendirmesini 2023'ün başlarında sonuçlandıracaklarını açıklamıştır (54).

## **2.9. GLİKOZ METABOLİZMASI**

Kan şekeri olarak bilinen glikoz önemli basit şekerlerdendir. Nişasta ve glikojen şeklinde depo edilir. Beyin ve eritrositin tek enerji kaynağıdır. Hücrelere girerek adenozin trifosfat (ATP) üretiminde kullanılır. ATP vücuda enerji sağlanmasında temel bileşiktir.

ATP, moleküllerin hücre zarlarından aktif taşınması, kasların kasılması, nöronlarda sinyal iletimi, fizyolojik reaksiyonlarda yer alan temel moleküllerin oluşturulması dahil olmak üzere birçok işlevde kullanılır (55).

### **2.9.1. Kan Glikozu Seviyesi ve Düzenlenmesi**

Ortalama açlık kan şekeri konsantrasyonu 80-90 mg/dL arasındadır. Yemekten sonra kan glikoz düzeyi 120-140 mg/dl arasında artar. Kan glikozundaki artışa cevap olarak pankreastan insülin sentezlenir. İnsülin, karaciğerde glikojen yıkımını ve glikoneogenezi inhibe ederek dolaşımdaki glikoz miktarının daha fazla artmasına engel olur. Ayrıca, kas ve yağ dokusunda glikoz taşıyıcılarının hareketini sağlayarak glikozun hücrelere girişini sağlar. Karaciğerde ise hücre içerisinde glikozun kullanılmasını artırarak hücreye glikozun alınmasını artırır ve glikojen olarak depolanmasına yardımcı olur. İlerleyen saatlerde kandaki glikoz konsantrasyonu düştüğünde, karaciğer, glikozu dolaşıma geri vererek kan glikoz düzeyindeki dalgalanmaları azaltır. Açlık durumunda ise kan glikoz seviyesi düşerek glukagon salgılanmasını uyarır. Glukagon, glukojenoliz ve glikoneogenezi uyararak düşen glikoz düzeyinin artırılmasını sağlar (55).

### **2.9.2. Glikoz Metabolizması ve Kan Lipidleri İlişkisi**

Karbonhidrat ve lipit metabolizması birbiriyle ilişkilidir. Karbonhidrattan zengin beslenmeden sonra glikoz ve insülin karaciğerde serbest yağ asidi sentezini uyararak kandaki trigliserit düzeylerinin yükselmesine neden olur.

Trigliserit düzeyinin 150 mg/dl üzerinde olması hipertrigliseridemi (HTG) olarak tanımlanmıştır. Yüksek trigliserit düzeylerinin yağlı karaciğer hastalığı, pankreatit, kalp damar hastalıkları ve mortalite riskini artırdığı bildirilmiştir. HTG beslenmeye bağlı olmakla birlikte çeşitli ilaçlardan da etkilenmektedir. HTG'nin risk değerlendirmesi yapılırken direkt beslenmeyle ilişkili olmayan ikincil sebeplerinin de değerlendirilmesi gerekmektedir (56,57).

### **2.9.3. Trigliserit Glikoz İndeksi**

Son yıllarda trigliserit glikoz (TyG) indeksi, insülin direncinin biyokimyasal bir belirteci olarak kullanılmaya başlanmıştır. TyG indeksi hesaplanırken açlık glikozu ve açlık trigliserit düzeyleri kullanılır. Salazar ve ark. çalışmasında TyG indeksi 4,49 olarak hesaplanmıştır. Bu değer ve üstü değer insülin direnciyle ilişkilendirilmiştir (58).



Oldukça kolay ve düşük maliyetli bir yöntemdir. TyG indeksi bazı hastalıkların teşhisinde tercih edilmemektedir (59). Ancak kalp yetmezliği için yararlı, metabolik sendromu belirlemede en iyi belirteçlerden biri olduğu bildirilmiştir (60,61).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Sağlık Bilimler Üniversitesi Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 04.03.2020 tarih ve 2020-01/15 sayılı toplantısında etik kurul onayı alınarak yapılmıştır. Deneyde Avrupa Konseyi'nin önerdiği standartlara (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) (ETS 123) uyulmuştur.

#### 3.1. TİTANYUM DİOKSİDİN KARAKTERİZASYONU VE ZETA POTANSİYELİ ÖLÇÜMÜ

Titanyum dioksit (E171) Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Partikül boyutu ölçümü ve zeta potansiyeli ölçümü Malvern Panalytical Zetasizer Ultra (Malvern Panalytical Ltd; UK) cihazı ile yapılmıştır.

#### 3.2. DENEYSEL YÖNTEM

Randomize kontrol çalışması olarak planlanan araştırmada ağırlıkları 27-38 gram arasında değişen üç haftalık 20 adet dişi Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Deney hayvanları Hamidiye Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarından temin edildi. Hayvanlar 20-22 °C sıcaklıkta, %55-60 nem oranında havalanan ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüde barındırıldı. Kafeslerinde hazır bulunan standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslendi. Deney hayvanları rastgele 10'arlı iki gruba ayrıldı:

- Kontrol grubu
- Titanyum dioksit grubu

Kontrol grubuna ultra saf su verilirken  $TiO_2$  grubuna kilogram başına 100 mg  $TiO_2$  verildi. Titanyum dioksitin dozu belirlenirken çocukların maruz kaldıkları miktar dikkate alındı. ABD'de ortalama 1-2 mg/kg/gün, İngiltere'de 2-3 mg/kg/gün  $TiO_2$ 'ye maruz kaldıkları bilgisinden hareket edilerek, Chen ve ark. çalışmaları da referans alınarak 100 mg/kg/gün olarak uygulanmasına karar verildi (10). Bu doz çocukların maruz kaldıkları ortalama  $TiO_2$  miktarının 50 katıdır. Bu değere karar verirken maruz kalınan ortalama miktar (2 mg/kg/gün) güvenlik faktörü olan 100 ile çarpılıp, sonra da ikiye bölündü ve insanların maruz kaldığı miktarın yarısı simüle edilmeye çalışıldı.

Titanyum dioksit haftada 5 gün verildi. Günlük ortalama 100 mg/kg dozunu sağlamak için haftada 5 gün 140 mg/kg/gün dozunda uygulandı.

Hassas terazide tartılan  $\text{TiO}_2$ 'ye ultra saf su eklenerek süspansiyon hazırlandı. Süspansiyonlardaki  $\text{TiO}_2$ 'nin ultra saf suda homojen şekilde dağılması için her uygulama öncesinde 15 dakika sonikatöre, ardından vortekse tabi tutuldu. Elde edilen karışım, deney grubuna 6 hafta boyunca haftada 5 gün 1 ml hacimde oral gavaj yoluyla verildi (Şekil 3.1). Kontrol grubuna ise deney süresi boyunca aynı hacimde oral gavaj yoluyla ultra saf su verildi. Deney boyunca hayvanların ağırlıkları 7 gün arayla tekrar ölçülerek yeni süspansiyonlar hazırlandı.



**Şekil 3.1:** Deney grubundaki sıçana oral gavaj olarak titanyum dioksit uygulanması



**Şekil 3.2:** Pikrik asit ile çeşitli yerleri sarıya boyanmış deney hayvanları

### **3.3 DENEYİN SONLANDIRILMASI VE DENEY HAYVANLARINDAN SERUM ELDESİ**

Ölçülen parametrelerin sıçanların yedikleri gıdalardan etkilenmemesi için deney sonlandırılmadan 16 saat önce sıçanların yiyecek alımına son verildi. Cerrahi işlem öncesi deney hayvanları tartılarak intraperitoneal, kg başına 90/10 mg ketamin/ksilazin (Ketasol %10 Richter Pharma, Rompun %2 Bayer) verilerek anestezi yapıldı (Şekil 3.3). Uygulanan anestezi sonrası deney grubundaki bir hayvan öldü. Uygulanan anestezinin etkinliği kas tonusu test edilerek kontrol edildi. Tam anestezi sağlandıktan sonra her hayvandan intrakardiyak kan alınarak jelli tüplere aktarıldı. Jelli tüplerdeki kan yavaş hareketlerle birkaç kez alt üst edilerek 40 dk bekletildi. Pıhtılaşma gözlemlendikten sonra kan tüpleri 10 dakika 3000 g'de santrifüj edildi. Serumlar deney ve kontrol grubu olarak endopodrlara pipetlendi ve parametrelerin çalışılacağı güne kadar -20 °C'de saklandı. Ardından dokuları toplamak amacıyla servikal dislokasyon yapılarak karın boşluğu ve

kafatası açıldı. İleride çalışmak üzere göz, beyin, mide, karaciğer, dalak, böbrekler ve ince bağırsak alındı. Alınan her bir doku falkon içerisine aktarılarak -80 °C’de saklandı.



**Şekil 3.3:** Deney hayvanlarına anestezi uygulaması

### **3.4. KANDA YAPILACAK ANALİZİN ÖLÇÜM PRENSİBİ**

Serum trigliserit düzeyleri yarışmacı ELISA tekniği ile çalışan kit ile ölçüldü (ELK Wuhan Biotechnology CO.,Ltd., Rat TG - Triglyceride - ELISA Kit katalog numarası: ELK8384). Kitte bulunan mikrolaka, önceden trigliserit proteiniyle kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, trigliseride özgü biyotin-konjuge antikor ile uygun mikrolaka kuyularına eklenir. Daha sonra Avidin ile konjuge Horseradish Peroksidazı (HRP), her mikrolaka kuyusuna eklenir ve inkübe edilir. TMB substrat solüsyonu eklendikten sonra sülfürik asit solüsyonu eklenerek enzim-substrat reaksiyonu sonlandırılır. Hemen ardından renk değişimi 450 nm  $\pm$  10 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Numunelerdeki trigliserit konsantrasyonunu belirlemek için numunelerin optik yoğunluğu (OD) standart eğriyle karşılaştırılır.

### 3.5. ELISA AŞAMALARI

1. Kit oda sıcaklığına geldikten sonra her kuyucuğa 50 mikrolitre ( $\mu\text{L}$ ) standart çalışma solüsyonu veya 50 $\mu\text{L}$  numune eklendi. Hemen ardından her kuyuya 50 $\mu\text{L}$  Biotinylated-antigenworking solution eklendi. Plaka yapışkan filmle kapatılarak 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

2. Plakadaki sıvı aspire edildi ve her kuyuya 200  $\mu\text{L}$  yıkama tamponu eklendi. İki dakika beklendi. Tekrar aspire edildi. Plaka bu şekilde üç kez yıkandı. Plaka kuruduktan sonra, her kuyucuğa 100  $\mu\text{L}$  Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklendi ve sonra 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

3. Plakadaki sıvı aspire edildi. Her kuyuya 200  $\mu\text{L}$  yıkama tamponu eklendi ve 2 dakika beklendi ve ardından aspire edildi. Plaka bu şekilde 5 kez yıkandı. Ters kapatılarak kurumaya bırakıldıktan sonra, her kuyuya 90  $\mu\text{L}$  TMB eklendi. Ardından 37°C'de 20 dakika inkübe edildi.

4. Her kuyuya 50  $\mu\text{L}$  durdurma solüsyonu eklendi ve beklemeksizin 450 nm'de plaka okuyucu cihazda okutularak sonuçlar hesaplandı.

Çalışmada kullanılan ELISA kitinin sonuç kesinlik verilerine Tablo 3.1'de yer verilmiştir.

**Tablo 3.1:** ELK Trigliserit Kiti Sonuç Kesinlik Verileri

|                               |                             |
|-------------------------------|-----------------------------|
| <b>Ölçüm aralığı</b>          | 15,63-1000 $\mu\text{g/mL}$ |
| <b>Hassasiyet</b>             | 1,6 $\mu\text{g/mL}$        |
| <b>Test içi kesinlik</b>      | Varyasyon Katsayısı %<8%    |
| <b>Testler arası kesinlik</b> | Varyasyon Katsayısı %<10%   |

$\mu\text{g}$ : mikrogram, ml: mililitre

### 3.6. TRİGLİSERİT GLİKOZ İNDEKSİNİN HESAPLANMASI

Trigliserit Glikoz İndeksi (TyG indeksi) bir denklem ile hesaplanır:

$$\text{TyG indeksi} = \ln [\text{Açlık trigliserit (mg / dl)} \times \text{Açlık glikoz (mg / dl)}] / 2$$

### 3.7. KULLANILAN CİHAZ VE KİMYASALLAR

#### 3.7.1. Kimyasallar

- Titanyum dioksit (Sigma-Aldrich, Titanyum (IV) oksit EMPROVE® ESSENTIAL Ph Eur, BP, USP, JP, E 171 Katalog No: 100805, CAS No:13463-67-7)
- Ketamin (Richter Pharma, Ketamol %10)
- Ksilazin (Bayer, Rompun %2)

#### 3.7.2. Cihazlar

- Zeta Ölçer (Malvern Panalytical Ltd; UK)
- Analitik terazi (Shimadzu, Filipinler, Model numarası:UW6200H)
- Hassas Terazi (RADWAG Balances and Scales, Polonya Model numarası: WL-104-0169)
- Ultrasonik Banyo/Sonikatör (DAIHAN Scientific Co., Ltd., Kore, model numarası: WUC-D06H)
- Dondurucu ((pHcbi, Japonya, model numarası: MDF-DU502VX)
- Buzdolabı (K.W. Apparecchi Scientifici S.r.l., İtalya, ürün kodu: D64C265N776)
- İnkübatör (Thermo Scientific, ABD, Heratherm İnkübatör, Model numarası: 51028063)
- ELISA okuyucu (BioTek Instrument, Inc, USA, Synergy™ HTX Multi-Mode Reader)
- Vorteks (WITEG Labortechnik, Almanya, Wisd Vortex Mixer VM-10, ürün numarası: WITEG\_14002)

- Santrifüj (GYROZEN Co., Ltd, Kore, model numarası: 1580R)
- Glukometre (Tianjin Empecs Medical Device Co., Ltd, Çin, Lifecheck silver GH82)

### **3.8. ARAŞTIRMANIN KISITLILIKLARI**

Araştırmada insülin, glukagon, C peptit, LDL HDL ve total kolesterol düzeylerinin kullanılan kitlerin bozuk olması ve ikinci kez ölçüm için yeterli serum bulunmaması sebebiyle ölçülememesi bu araştırmanın kısıtlılıklarındandır.

### **3.9. ÇIKAR ÇATIŞMASI**

Araştırmacılar arasında çıkar çatışması yoktur.

### **3.10. VERİLERİN İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ**

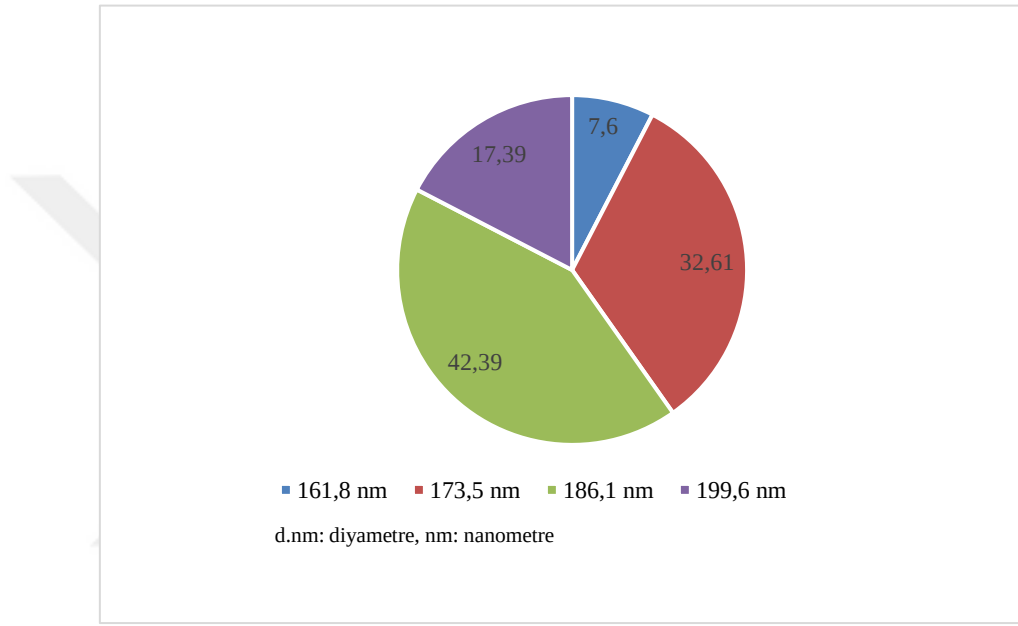
Verilerin analizi SPSS 25 paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiştir. İki kategorili nitel değişkenlerle nicel değişkenler arasındaki karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. İki nicel değişken arasında ilişki varlığı Spearman korelasyonu ile incelenmiştir. Araştırmada tip I hata oranı 0,05 olarak alınmıştır.



## 4. BULGULAR

### 4.1. PARTİKÜL BOYUTU VE ZETA POTANSİYELİ

Çalışmada kullanılan  $\text{TiO}_2$ 'nin partikül boyutları Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.1:** Titanyum dioksidin partikül boyutu ve boyutların yüzdelikleri

Çalışmada kullanılan  $\text{TiO}_2$ 'nin Zeta potansiyeli ölçümüne Tablo 4.1'de yer verilmiştir.

**Tablo 4.1:** Titanyum dioksit partiküllerinin ultra saf suda Zeta potansiyeli ölçümü

| Dağıtıcı madde | Örnek            | Konsantrasyon<br>mg/ml | Zeta potansiyeli<br>(mV) |
|----------------|------------------|------------------------|--------------------------|
| Ultra saf su   | Titanyum dioksit | 100 mg/dl              | 1,74±85,86               |

mV: milivolt

## 4.2. DENEY HAYVANLARININ ÖZELLİKLERİ

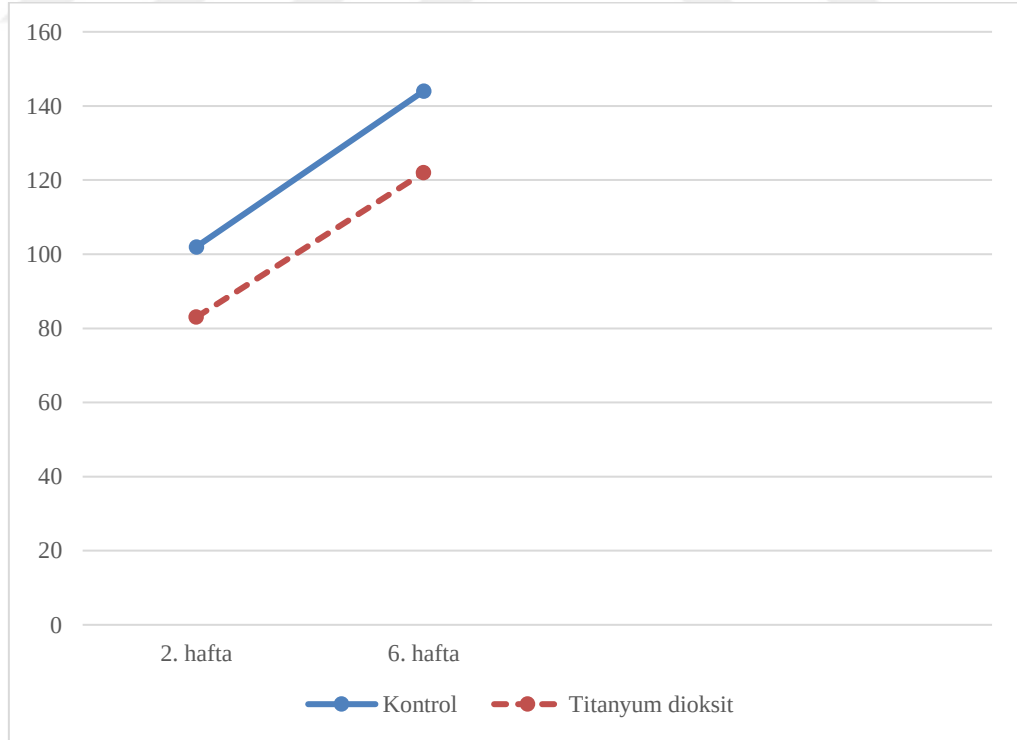
Çalışmada kullanılan sıçanların genel özelliklerine Tablo 4.2’de yer verilmiştir.

**Tablo 4.2:** Sıçanların genel özellikleri

| Genel özellikler | Deneş hayvanlarının sayısı<br>(adet) | Vücut ağırlığı g<br>ortalama (min-maks) |
|------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|
| Kontrol          | 10                                   | 36,6 (30,6-38,5)                        |
| Titanyum dioksit | 10                                   | 31,45 (27,5-36)                         |

## 4.3. GRUPLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Çalışma sonunda gruplarda kan glikoz düzeyi değişimi mg/dl cinsinden Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.2:** Çalışma gruplarındaki kan glikozu değişimi (ortalama)

Çalışma sonunda gruplar arası kan glikozu düzeylerinin istatistiksel karşılaştırılmasına Tablo 4.3'te yer verilmiştir.

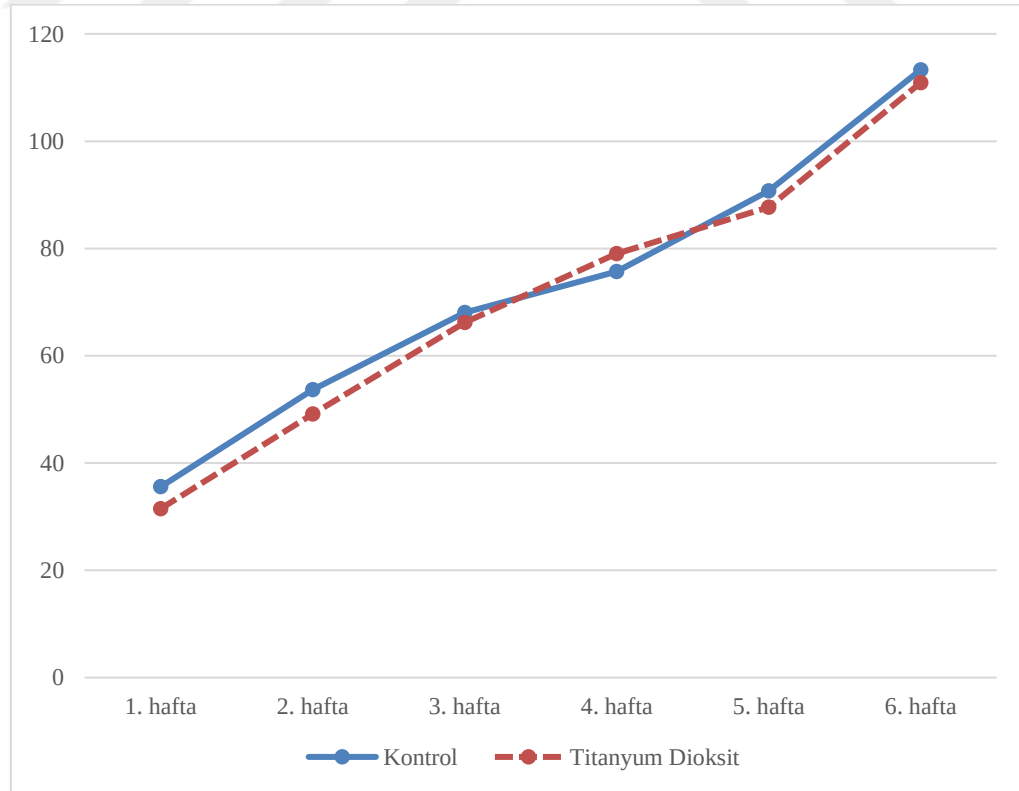
**Tablo 4.3:** Çalışma sonunda gruplar arası kan glikoz düzeylerinin karşılaştırılması

|                                                     | Kontrol            | Titanyum dioksit   | p     |
|-----------------------------------------------------|--------------------|--------------------|-------|
| <b>Kan glikozu<br/>ortanca mg/dl<br/>(min-maks)</b> | 144 mg/dl (60-168) | 122 mg/dl (91-152) | 0,315 |

mg:miligram dl:desilitre

Çalışma sonunda deney hayvanlarının kan glikoz düzeyleri ölçülmüştür. Gruplar arasındaki kan glikoz düzeylerinin farkının analizinde Mann-Whitney U testi kullanılmış, istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

Deney süresince gruplarda ağırlık artışı g cinsinden Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



**Şekil 4.3:** Deney gruplarındaki ağırlık artışı (ortalama)

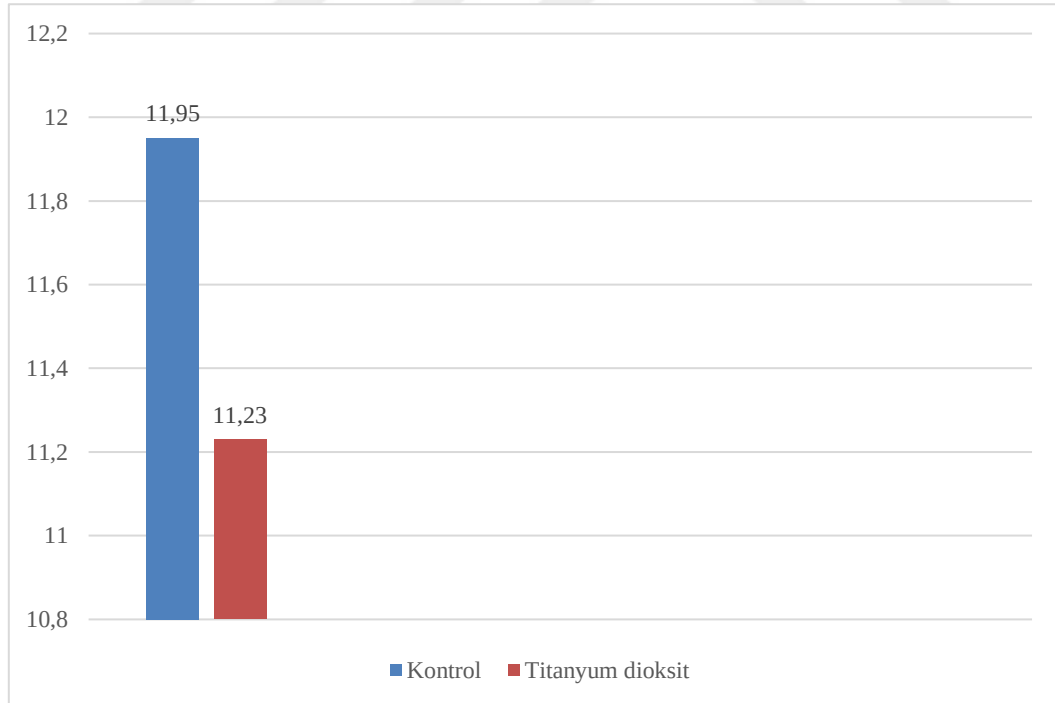
Çalışma sonunda gruplar arası vücut ağırlığının istatistiksel karşılaştırılmasına Tablo 4.4'te yer verilmiştir.

**Tablo 4.4:** Çalışma sonunda gruplar arası ağırlık karşılaştırılması

|                                 | Kontrol          | Titanyum dioksit | p     |
|---------------------------------|------------------|------------------|-------|
| Ağırlık g ortanca<br>(min-maks) | 117,5 g (58-132) | 111 g (91-126)   | 0,143 |

Çalışma sonunda deney hayvanlarının ağırlıkları ölçülmüştür. Gruplar arasındaki ağırlık farkının analizinde Mann-Whitney U testi kullanılmış, istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

Çalışma sonunda gruplarda trigliserit düzeyleri  $\mu\text{g/ml}$  cinsinden Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



**Şekil 4.4:** Çalışma sonunda serum trigliserit düzeyleri (ortalama)

Çalışma sonunda trigliserit düzeylerinin istatistiksel karşılaştırılmasına Tablo 4.5'te yer verilmiştir.

**Tablo 4.5:** Çalışma sonunda trigliserit düzeylerinin karşılaştırılması

|                                               | Kontrol           | Titanyum dioksit  | p     |
|-----------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------|
| <b>Trigliserit µg/mL ortalanca (min-maks)</b> | 1,41 (9,45-15,45) | 10,76 (9,1-14,23) | 0,633 |

µg: mikrogram

Çalışma sonunda deney hayvanlarının trigliserit düzeyleri ELISA kitiyle ölçülmüştür. Gruplar arasındaki trigliserit düzeyleri farkının analizinde Mann-Whitney U testi kullanılmış, istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

Çalışma sonunda TyG indeksinin istatistiksel karşılaştırılmasına Tablo 4.6'da yer verilmiştir.

**Tablo 4.6:** Çalışma sonunda gruplar arası TyG indeksi karşılaştırılması

|                                       | Kontrol          | Titanyum dioksit | p     |
|---------------------------------------|------------------|------------------|-------|
| <b>TyG mg/dl ortalanca (min-maks)</b> | 2,51 (2,03-2,78) | 2,4 (2,25-2,69)  | 0,274 |

mg: milligram, dl: desilitre

Çalışma sonunda deney hayvanlarının trigliserit ve kan glikoz düzeyleri ile TyG indeksi hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki TyG indeksi karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmış, istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

Çalışma sonunda vücut ağırlığı ve glikoz düzeylerinin yüzde değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo 4.7'de verilmiştir.

**Tablo 4.7:** Vücut ağırlığı ve glikoz düzeyinin yüzde değişimin karşılaştırılması

|                                  | Kontrol              | Titanyum dioksit    | p     |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|-------|
| <b>Ağırlık</b><br>(%artışı)      | 69,54 (4,5-94,98)    | 67,98 (52,2-88,06)  | 0,796 |
| <b>Kan glikozu</b><br>(% artışı) | 42,57 (-40,59-77,42) | 38,51 (3,41-116,92) | 0,604 |

Çalışma sonunda deney hayvanlarının ağırlıkları ve kan glikoz düzeyleri ölçülmüştür. Gruplar arasındaki ağırlık ve glikoz artışının yüzde değişimi analizinde Mann-Whitney U testi kullanılmış, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Çalışma sonunda gruplar arasında ağırlık yüzde artışı ve glikoz yüzde artışı arasındaki ilişkinin istatistiksel analizine Tablo 4.8’de yer verilmiştir.

**Tablo 4.8:** Çalışma sonunda gruplar arası ağırlık ve glikoz yüzde değişimleri arasında ilişkinin incelenmesi

|                                |          | Glikoz düzeyi<br>(% değişimi) |
|--------------------------------|----------|-------------------------------|
| <b>Ağırlık</b><br>(% değişimi) | <b>r</b> | 0,339                         |
|                                | <b>p</b> | 0,156                         |

Deney grupları arasında ağırlık yüzde değişimi ve glikoz yüzde düzeyi değişimi arasındaki ilişki Spearman korelasyonu ile incelenmiş, glikoz ve ağırlık değişimi arasında korelasyon istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Çalışma sonunda kontrol grubunda ağırlık yüzde artışı ile glikoz düzeyi yüzde artışı arasındaki ilişkinin istatistiksel analizine Tablo 4.9’da yer verilmiştir.

**Tablo 4.9:** Kontrol grubunda ağırlık yüzde artışı ve glikoz yüzde artışı değerleri ile trigliserit düzeyi arasında ilişkinin incelenmesi

|                    |   | <b>Trigliserit</b> |
|--------------------|---|--------------------|
| <b>Trigliserit</b> | r | 1                  |
|                    | p | .                  |
| <b>Glikoz</b>      | r | -0,393             |
| <b>(% artışı)</b>  |   |                    |
|                    | p | 0,383              |
| <b>Ağırlık</b>     | r | 0                  |
| <b>(% artışı)</b>  |   |                    |
|                    | p | 1                  |

Çalışma sonunda kontrol grubunda vücut ağırlığı ve glikoz düzeyindeki yüzde artışı ile trigliserit düzeyi arasındaki ilişki Spearman korelasyonu ile incelenmiş, kan glikozu ve ağırlığın yüzde artışı ile trigliserit düzeyi arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ( $p>0,05$ )

Çalışma sonunda  $TiO_2$  grubunda ağırlık yüzde artışı ile glikoz düzeyi yüzde artışının trigliserit düzeyiyle ilişkinin istatistiksel analizine Tablo 4.10’da yer verilmiştir.

**Tablo 4.10:** Titanyum dioksit grubunda ağırlık yüzde artışı ve glikoz yüzde artışı değerleri ile trigliserit değerleri arasında ilişkinin incelenmesi

|                    |   | <b>Trigliserit</b> |
|--------------------|---|--------------------|
| <b>Trigliserit</b> | r | 1                  |
|                    | p | .                  |
| <b>Glikoz</b>      | r | 0,297              |
| <b>(% artışı)</b>  |   |                    |
|                    | p | 0,405              |

**Tablo 4.10** (devam)

|                   |          |        |
|-------------------|----------|--------|
| <b>Ağırlık</b>    | <b>r</b> | -0,018 |
| <b>(% artışı)</b> |          |        |
|                   | <b>p</b> | 0,96   |

Çalışma sonunda TiO<sub>2</sub> verilen grupta vücut ağırlığı ve glikoz düzeyindeki yüzde artışı ile trigliserit düzeyi arasındaki ilişki Spearman korelasyonu ile incelenmiş, kan glikozu ve ağırlığın yüzde artışı ile trigliserit düzeyi arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Çalışma sonunda tüm gruplarda son hafta ağırlık, glikoz düzeyleri ve trigliserit düzeyleri arasındaki ilişkinin istatistiksel analizine Tablo 4.11’de yer verilmiştir.

**Tablo 4.11:** Tüm gruplarda son hafta vücut ağırlığı ve glikoz düzeyleri ile trigliserit düzeyleri arasında ilişkinin incelenmesi

|                    |   | <b>Ağırlık</b> | <b>Kan Glikozu</b> | <b>Trigliserit</b> |
|--------------------|---|----------------|--------------------|--------------------|
| <b>Ağırlık</b>     | r | 1              |                    |                    |
|                    | p | .              |                    |                    |
| <b>Kan Glikozu</b> | r | 0,343          | 1                  |                    |
|                    | p | 0,151          |                    |                    |
| <b>Trigliserit</b> | r | 0,001          | 0,064              | 1                  |
|                    | p | 0,997          | 0,808              | .                  |

Deney grupları arasında çalışma sonundaki vücut ağırlığı, glikoz düzeyi ve trigliserit düzeyi arasındaki ilişki Spearman korelasyonu ile incelenmiştir. Trigliserit ve ağırlık ilişkisi ile trigliserit ve kan glikozu düzeyi arasındaki korelasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).



## 5. TARTIŞMA

Titanyum dioksit, dünyada en çok kullanılan renklendiricilerden biridir ve çocukluk ve ergenlik döneminde daha sık tüketilmektedir. Titanyum dioksit ile ilgili çalışmalar sıklıkla yapılsa da insan sağlığı üzerine etkileri halen netlik kazanmamıştır. Bu çalışmada  $TiO_2$ 'nin glikoz metabolizmasıyla ilişkili olan parametrelerden kan glikozu ve trigliserit düzeylerine etkisi araştırılmıştır. Yaptığımız literatür taramasında sadece çocukluk ve ergenlik dönemini kapsayan bir deney modeline rastlanmamıştır. Bu çalışmanın özgünlüğü çocukluk dönemini yansıtmaması açısından  $TiO_2$ 'ye maruz bırakılan yavru sıçanlar kullanılmış olmasıdır. Verilen  $TiO_2$  miktarı ise çocukların maruz kaldığı miktarla uyumlu olacak şekilde planlanmıştır.

### 5.1. PARTİKÜL ZETA POTANSİYELİ DEĞERLENDİRİLMESİ

Zeta potansiyeli, -30 mV'dan daha küçük veya 30 mV'dan daha büyük olduğu zaman aglomerasyon yani bir araya toplanma eğilimi olmamakta ve partiküller birbirlerini itme eğiliminde olmaktadır. Buna karşılık, partiküller düşük zeta potansiyel değerlerine sahipse partiküllerin birbirine yapışmasını ve aglomerasyonu önleyecek bir kuvvet olmamaktadır (62). Dorier ve ark. çalışmalarında GKM olarak kullanılan  $TiO_2$ 'nin, boyutu daha düşük olan  $TiO_2$  nanopartiküllerine göre daha fazla aglomere olduğu belirtilmiştir. Daha az aglomere olan nanopartikül boyutundaki  $TiO_2$ 'lere maruz kalan hücrelerde hücresel yanıtın da daha fazla olduğu belirtilmiştir (63). Kullandığımız  $TiO_2$ 'nin zeta potansiyeli ölçümü ultra saf suda  $\pm 80$  mV çıkmıştır. Bu durumda partiküllerin aglomerasyonu, Dorier ve ark. çalışmalarının aksine düşüktür. Düşük bulduğumuz zeta potansiyeli karşılaştırdığımız değerleri etkilemeyecek düzeyde bir hücresel yanıt oluşturmuş olabilir ancak bu araştırma konumuzun dışındadır.

### 5.2. PARTİKÜL BOYUTU DEĞERLENDİRİLMESİ

Gıdalarda renklendirici olarak kullanılan  $TiO_2$ 'deki partikül boyutları genellikle 104 ila 166 nanometre aralığındadır. 100 nanometreden küçük nanopartiküllerin yüzdeliğinin 5.4 ila 45.6 arasında değiştiği belirtilmiştir. Yaptığımız çalışmada deney grubuna uyguladığımız E171'in partikül boyutları 161,8 ila 199,6 nm olarak bulunmuştur. Nanopartikül olarak tanımlanan boyuttaki partiküller ölçülebilir düzeyde

bulunmamıştır. Kullandığımız E171'in aralığında bulunduğu partikül boyutu ince partikül olarak tanımlanmıştır.

Gıdalarda kullanılan  $TiO_2$  partiküllerinin boyutu toksik etkisi açısından önemlidir. Literatüre bakıldığında zaman partikül boyutu küçüldükçe toksik etkisinin arttığı görülmektedir (64). Proquin ve ark. E171'de bulunan hem nano hem de mikro boyutlu partiküllerin tek bir boyuta göre daha zararlı olduğunu belirtmiştir. Nano boyutlu partiküllerin mikro boyutlu titanyum partiküllere kıyasla ROS oluşumu, sitotoksikite ve inflamatuvar sitokin salınımında artış gibi bir çok olumsuz etkiye neden olabileceğini rapor etmişlerdir (62).

Krivova ve ark. Wistar sıçanlarla yaptığı deneyde 7 gün boyunca 200 mg/kg dozda ince partikül, 200 mg/kg ve 400 mg/kg dozda nanopartikül boyutta  $TiO_2$  uygulanmıştır. Hem ince hem nanopartiküllerin uygulanması sonucu mide mukozasında aşınma ve kanama gözlemlendiği bildirilmiştir. Nanopartiküllerin olumsuz etkileri oksidatif stresle ilişkilendirilirken ince partiküllerin aynı dozda oksidatif strese yol açmadığı, mukozada oluşan tahribatın ince partiküllerin mekanik aşındırması sonucu olduğu belirtilmiştir (65). Wojcik ve ark. çalışmasında ise  $TiO_2$  nanopartiküllerinin, karaciğer fonksiyonlarında bozukluklara ve vücut ağırlığında düşüşe sebep olduğu bildirilmiştir. Vücut ağırlığındaki değişim, bağırsak villuslarının sayısının azalmasıyla besin öğelerinin yeteri kadar emiliminin gerçekleşmemesi ve sonucunda gelişen malnütrisyonla ilişkilendirilmiştir (66). Bazı in vivo çalışmalarda E171'in kemirgenlerde toksik etkiye yol açmadığı görülmüştür (67). Bu durumun uygulanan E171'in partikül boyutu aralığı ve partiküllerin yüzey özellikleriyle ilgili olduğu bildirilmiştir (68).

Yapılan araştırmalarda farklı partikül boyutları kullanılmış ve bunlarda farklı sonuçlar görülmüştür (69). Çalışmamızda ince partikül boyutlarındaki E171 uygulanmıştır. Verilen  $TiO_2$  vücut ağırlığı, kan glikozu ve trigliserit düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Anlamlı fark olmamasının sebebi yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi partikül boyutundaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir.

Sonuçlarımızın bazı araştırmalardan farklı çıkmasının bir sebebi de  $TiO_2$ 'nin veriliş şekline kaynaklanmış olabilir. Nitekim  $TiO_2$ 'nin veriliş şeklinin bile metabolik etkilerini etkileyeceği belirtilmiştir.  $TiO_2$  bazı çalışmalarda deney hayvanlarının yemlerine karıştırılarak veya ağızdan su ile damlama şeklinde, bazılarında ise bizim

çalışmamızda olduğu gibi oral gavaj yoluyla verilmiştir (70). Anlamli farkın oluşturan temel etmenin partikül boyutundaki farklılıktan olabileceğini düşünmekteyiz.

### **5.3. İNSÜLİN DİRENCİ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yaptığımız çalışmada hem kontrol hem  $TiO_2$  grubunda TyG indeksleri ile değerlendirdiğimiz insülin dirençleri arasında anlamlı fark görülmemiştir. Literatürde Hu ve ark. genç farelerle yaptığı iki farklı çalışmasında oral gavajla 156 gün nanopartikül boyutunda  $TiO_2$  uygulamasından sonra insülin direnci geliştiği görülmüştür (71,72). Bizim çalışmamızın sonucunda insülin direnci görülmemesinin nedeni, deney süresi ve partikül boyutunun farklı olması olabilir.

### **5.4. AĞIRLIK DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Duan ve ark. farelerde yaptığı çalışmada deney hayvanlarına 30 gün boyunca oral olarak 125 mg/kg  $TiO_2$  nanopartikülleri verilmiştir. Sonuç olarak  $TiO_2$ 'ye maruz kalan grupta vücut ağırlığının kontrol grubuna göre belirgin şekilde düştüğü görülmüştür (73). Hong ve ark. çalışmasında hamile sıçanlara 18 gün boyunca 25, 50 ve 100 mg dozlarında oral olarak  $TiO_2$  nanopartikülleri verilmiş, deney sonunda  $TiO_2$  nanopartiküllerine maruz kalan sıçanlarda kilo kaybı görülmüştür (74). Bu çalışmaların aksine  $TiO_2$  nanopartiküllerinin oral alımının vücut ağırlığı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını gösteren deney sonuçları da vardır (75–77). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde gruplar arasında deney boyunca ve sonunda vücut ağırlığında anlamlı fark bulunmamıştır.

### **5.5. TRİGLİSERİT DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Glikoz ve lipitler enerji metabolizmasının önemli bileşenleridir ve metabolizmaları birbiriyle yakından ilişkilidir. Dolayısıyla bozulmuş karbonhidrat metabolizmasına bağlı olarak kan lipid düzeylerinde değişiklikler görülebilmektedir (78). Chen ve ark.  $TiO_2$ 'nin kan lipid düzeylerine etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda oral olarak 90 gün boyunca 50 mg/kg  $29 \pm 9$  nm boyutlarında  $TiO_2$ 'ye maruz kalan sıçanlarda trigliserit düzeylerinde azalma görülmüştür. Trigliserit düzeyindeki azalmanın oksidatif stresle ilişkili olabileceği belirtilmiştir (46). Li ve ark.  $TiO_2$  varlığında lipid sindiriminin belirgin şekilde azaldığını göstermişlerdir. Çalışmalarında  $TiO_2$  varlığında serbest yağ asidi miktarı kontrole göre düşmüştür. Araştırmacılar bunun sebebi olarak  $TiO_2$

partiküllerinin kalsiyum iyonlarıyla etkileşime geçerek lipaz konsatrasyonunda azalmaya sebep olmasını göstermişlerdir (79).

Bizim çalışmamızda trigliserit düzeylerinde gruplar arası anlamlı bir fark görülmemiştir. Uyguladığımız  $\text{TiO}_2$  partiküllerinin boyutundaki farklılık ve uygulama öncesi sonikasyon işleminin süresi, trigliserit düzeyiyle ilişkili mekanizmayı farklı etkilemiş olabilir. Örneğin in vitro bir çalışmada  $\text{TiO}_2$  ve diğer metal oksit nanopartiküllerinin lipid metabolizması yollarını etkilediği gösterilmiştir (80). Chen ve ark. sıçanlar üzerindeki çalışmasında 69 lipofilik metabolitin farklı şekilde eksprese edildiği ve gliserofosfolipit metabolizma yolağında önemli değişimler görüldüğü bildirilmiştir. Glikofosfolipit metabolizmasındaki değişime, nanopartikül boyutundaki  $\text{TiO}_2$ 'nin karaciğerde birikmesi sonucu oluşan enflamasyon ve oksidatif stresin neden olduğu ileri sürülmüştür (46). Literatürden farklı bulduğumuz sonuçlarımızın açıklanabilmesi için ince partiküllerin farklı mekanizmalarla yol açtığı değişimlerin de incelendiği araştırmalar gerekmektedir.

## **5.6. KAN GLİKOZ DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Chen ve ark. yaptığı çalışmada sıçanlar 30 ve 90 gün boyunca günde 0, 2, 10 ve 50 mg/kg dozlarda  $\text{TiO}_2$  nanopartiküllerine maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda  $\text{TiO}_2$ 'nin bağırsaklardan glikoz emilimini azalttığı görülmüştür. Ayrıca hepatositlerde GLUT2 reseptörlerinin sayısının arttığı, bunun sonucunda karaciğere glikoz alımının artmasının hipoglisemik etkiye yol açabileceği bildirilmiştir (10).

Mao ve ark.  $\text{TiO}_2$ 'nin hamilelik dönemindeki etkilerini araştırdığı çalışmada sıçanlara hamileliğin 5. gününden 18. gününe kadar günlük 5mg/kg  $\text{TiO}_2$  nanopartikülleri verilmiştir. Çalışmada maternal kan glikoz düzeyinin 10 ve 17. günlerde belirgin şekilde yükseldiği ve mikrobiyotanın değiştiği gözlemlenmiştir. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişimin hamile sıçanların açlık kan glikozunu etkileyebileceği ve  $\text{TiO}_2$  nanopartiküllerinin gestasyonel diyabet riskini artırabileceği şeklinde yorumlanmıştır (9).

Gu ve ark. 100 nm'den büyük ince partikül  $\text{TiO}_2$  maruziyetinin kan glikoz düzeyine etkisinin incelendiği çalışmada farelere oral olarak 28 hafta boyunca günde 64 mg/kg  $\text{TiO}_2$  verilmiştir. Deney sonunda serbest oksijen türleri miktarının ve kan glikoz düzeyinin değişmediği gözlenmiştir. Ayrıca plazma glikoz homeostazında rol oynayan

karaciğer ve pankreasta histopatolojik değişimlerin olmadığı görülmüştür. Araştırmacılar ince partikül boyutundaki  $\text{TiO}_2$ 'nin dokulara absorbe edilmediğini belirtmiştir (8).

Bizim çalışmamızda da Gu ve ark. sonuçlarına benzer şekilde gruplar arası kan glikozu düzeylerinde anlamlı farklılık gözlenmedi. Bunun sebebi, bizim uyguladığımız  $\text{TiO}_2$ 'nin de ince partikül boyutunda olmasından kaynaklanıyor olabilir.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında E171 olarak da bilinen  $\text{TiO}_2$  gıda katkı maddesinin yaşamın erken döneminde maruziyetinin glikoz metabolizmasına etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. GKM'nin endokrin bozucu ve diğer olumsuz sağlık etkilerini belgeleyen çalışmalar son 20 yılda artmıştır. Artan bilimsel kanıtlar gıdalara eklenen kimyasalların çocuk sağlığı üzerinde potansiyel olumsuz etkileri olduğunu göstermektedir. Güncel literatürde  $\text{TiO}_2$ 'nin sağlığa etkileriyle ilgili sonuçlar hem çelişkili hem de yeterli değildir. Dolayısıyla çocukluk ve ergenlik dönemini kapsayacak şekilde oluşturduğumuz deney modelimiz, E171'in yaşamın farklı noktalarında etkilerini tespit etmede büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızda  $\text{TiO}_2$  uygulaması kan glikozu, vücut ağırlığı ve trigliserit düzeyleri ile trigliserit indeksinde anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Ayrıca her iki grupta da bu parametreler arasında ilişki görülmemiştir. Sonuçlarda belirgin fark görülmemesi deney süresi,  $\text{TiO}_2$ 'nin partikül boyutu veya uygulama öncesi sonikasyon süresi gibi pek çok faktöre bağlı olabilir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda bu faktörlerin göz önünde bulundurulması doğru verilerin elde edilmesine ve endişelerin giderilmesine katkı sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Carochio, M., Barreiro, M. F., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 377-399.
2. Janus, M. (Ed.). (2017). *Application of titanium dioxide*. BoD–Books on Demand. sf: 24.
3. Winkler, H. C., Notter, T., Meyer, U., & Naegeli, H. (2018). Critical review of the safety assessment of titanium dioxide additives in food. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 1-19.
4. Gültekin, F., İzler, K., & Çıracı, Z. Current Developments about Titanium Dioxide. *Academic Platform Journal of Halal Lifestyle*, 1(2), 84-93.
5. Mohammadipour, A., Fazel, A., Haghiri, H., Motejaded, F., Rafatpanah, H., Zabihi, H., ... & Bideskan, A. E. (2014). Maternal exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy; impaired memory and decreased hippocampal cell proliferation in rat offspring. *Environmental toxicology and pharmacology*, 37(2), 617-625.
6. Ze, Y., Sheng, L., Zhao, X., Hong, J., Ze, X., Yu, X., ... & Hong, F. (2014). TiO<sub>2</sub> nanoparticles induced hippocampal neuroinflammation in mice. *PloS one*, 9(3), e92230.
7. Bettini, S., Boutet-Robinet, E., Cartier, C., Coméra, C., Gaultier, E., Dupuy, J., ... & Houdeau, E. (2017). Food-grade TiO<sub>2</sub> impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.
8. Gu, N., Hu, H., Guo, Q., Jin, S., Wang, C., Oh, Y., ... & Wu, Q. (2015). Effects of oral administration of titanium dioxide fine-sized particles on plasma glucose in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 86, 124-131.
9. Mao, Z., Li, Y., Dong, T., Zhang, L., Zhang, Y., Li, S., ... & Xia, Y. (2019). Exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy changed maternal gut microbiota and increased blood glucose of rat. *Nanoscale research letters*, 14(1), 1-8.
10. Chen, Z., Wang, Y., Wang, X., Zhuo, L., Chen, S., Tang, S., ... & Jia, G. (2018). Effect of titanium dioxide nanoparticles on glucose homeostasis after oral administration. *Journal of Applied Toxicology*, 38(6), 810-823.
11. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). (2016). Re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA Journal*, 14(9), e04545.
12. Overview of Food Ingredients, Additives & Colors | FDA Internette. Erişim: 27 Haziran 2022. İnternet adresi: <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/overview-food-ingredients-additives-colors>
13. Roca-Saavedra, P., Mendez-Vilabrille, V., Miranda, J. M., Nebot, C., Cardelle-Cobas, A., Franco, C. M., & Cepeda, A. (2018). Food additives, contaminants and other minor components: Effects on human gut microbiota—A review. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 74(1), 69-83.
14. Joardder, M. U., & Masud, M. H. (2019). A brief history of food preservation. In *Food Preservation in Developing Countries: Challenges and Solutions* (pp. 57-66). Springer, Cham.
15. Saltmarsh, M. (2020). Food additives and why they are used.
16. Le Mouél, C., & Forslund, A. (2017). How can we feed the world in 2050? A review of the responses from global scenario studies. *European Review of Agricultural Economics*, 44(4), 541-591.
17. Magnuson, B., Munro, I., Abbot, P., Baldwin, N., Lopez-Garcia, R., Ly, K., ... & Socolovsky, S. (2013). Review of the regulation and safety assessment of food substances in various countries and jurisdictions. *Food additives & contaminants: Part A*, 30(7), 1147-1220.
18. Mevzuat Bilgi Sistemi İnternette. Erişim: 22 Haziran 2022. İnternet sitesi: <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=23476&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5>
19. European Parliament and the Council of the European Union. (2008). Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. *Off J Eur Union*, 354, 16-33.
20. Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel İnternette. Erişim: 22 Haziran 2022. İnternet sitesi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/06/20130630-4.htm>
21. World Health Organization. (2016). Safety evaluation of certain food additives and contaminants, supplement 1: non-dioxin-like polychlorinated biphenyls, prepared by the eightieth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).
22. Awuchi, C. G., Twinomuhwezi, H., Igwe, V. S., & Amagwula, I. O. (2020). Food Additives and Food Preservatives for Domestic and Industrial Food Applications. *Journal of Animal Health*, 2(1), 1-16.
23. Committee | CODEXALIMENTARIUS FAO- İnternette. Erişim: 22 Haziran 2022. İnternet sitesi: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/committees/committee/en/?committee=CCFA>

24. Food additives | EFSA İnternette. Erişim: 22 Haziran 2022. İnternet sitesi: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-additives>
25. Food Additives and Flavourings | EFSA İnternette. Erişim: 22 Haziran 2022. İnternet sitesi: <https://www.efsa.europa.eu/en/science/scientific-committee-and-panels/faf>
26. Amchova, P., Kotolova, H., & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 73(3), 914-922.
27. E number | EFSA İnternette. Erişim: 22 Haziran 2022. İnternet sitesi: <https://www.efsa.europa.eu/en/glossary/e-number>
28. Wells, H. (2019). *Food Science and Food Biotechnology*. Scientific e-Resources. Sf:27.
29. Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in food science & technology*, 52, 1-15.
30. Albuquerque, B. R., Oliveira, M. B. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Could fruits be a reliable source of food colorants? Pros and cons of these natural additives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(5), 805-835.
31. Sigurdson, G. T., Tang, P., & Giusti, M. M. (2017). Natural colorants: Food colorants from natural sources. *Annual review of food science and technology*, 8, 261-280.
32. Mittal, J. (2020). Permissible synthetic food dyes in India. *Resonance*, 25(4), 567-577.
33. Coultate, T., & Blackburn, R. S. (2018). Food colorants: Their past, present and future. *Coloration Technology*, 134(3), 165-186.
34. Shanmugasundaram, P., & Rujaswini, T. (2019). A Review on Food Coloring Agents–Safe or Unsafe?. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(5), 2503-2505.
35. Kumbul Doguc, D., Aylak, F., Ilhan, I., Kulac, E., & Gultekin, F. (2015). Are there any remarkable effects of prenatal exposure to food colourings on neurobehaviour and learning process in rat offspring?. *Nutritional Neuroscience*, 18(1), 12-21.
36. Rippere, V. (1983). Food additives and hyperactive children: a critique of Conners. *British Journal of Clinical Psychology*, 22(1), 19-32.
37. Sobotka, T. J. (2010, June). Overview and Evaluation of Proposed Association Between Artificial Food Colors and Attention Deficit Hyperactivity Disorders (ADHD) and Problem Behaviors in Children. In *US FDA Food Advisory Committee Meeting Materials-Interim Toxicology Review Memorandum (Certified Color Additives)*.
38. Chappell, G. A., Britt, J. K., & Borghoff, S. J. (2020). Systematic assessment of mechanistic data for FDA-certified food colors and neurodevelopmental processes. *Food and Chemical Toxicology*, 140, 111310.
39. Aguilar, F., Dusemund, B., Galtier, P., Gilbert, J., Gott, D. M., Grilli, S., ... & Woutersen, R. A. (2010). Scientific Opinion on the re-evaluation of curcumin (E 100) as a food additive EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). *EFSA JOURNAL*, 8(9).
40. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources (ANS). (2010). Scientific Opinion on the re-evaluation of Brown HT (E 155) as a food additive. *EFSA Journal*, 8(4), 1536.
41. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food. (2009). Scientific Opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive. *EFSA Journal*, 7(11), 1330.
42. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food. (2009). Scientific Opinion on the re-evaluation of Quinoline Yellow (E 104) as a food additive. *EFSA Journal*, 7(11), 1329.
43. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food. (2009). Scientific Opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food additive. *EFSA Journal*, 7(11), 1328.
44. Gázquez, M. J., Bolívar, J. P., García-Tenorio García-Balmaseda, R., & Vaca, F. (2014). A review of the production cycle of titanium dioxide pigment.
45. Haider, A. J., Jameel, Z. N., & Al-Hussaini, I. H. (2019). Review on: titanium dioxide applications. *Energy Procedia*, 157, 17-29.
46. Chen, Z., Han, S., Zheng, P., Zhou, D., Zhou, S., & Jia, G. (2020). Effect of oral exposure to titanium dioxide nanoparticles on lipid metabolism in Sprague-Dawley rats. *Nanoscale*, 12(10), 5973-5986.
47. Bischoff, N. S., de Kok, T. M., Sijm, D. T., van Breda, S. G., Briedé, J. J., Castenmiller, J. J., ... & Van Loveren, H. (2020). Possible adverse effects of food additive E171 (titanium dioxide) related to particle specific human toxicity, including the immune system. *International journal of molecular sciences*, 22(1), 207.
48. Hu, H., Guo, Q., Wang, C., Ma, X., He, H., Oh, Y., ... & Gu, N. (2015). Titanium dioxide nanoparticles increase plasma glucose via reactive oxygen species-induced insulin resistance in mice. *Journal of applied toxicology*, 35(10), 1122-1132.



49. Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Oleszczuk, P., & Winiarska-Mieczan, A. (2020). Effects of titanium dioxide nanoparticles exposure on human health—a review. *Biological trace element research*, 193(1), 118-129.
50. Ze, Y., Zheng, L., Zhao, X., Gui, S., Sang, X., Su, J., ... & Hong, F. (2013). Molecular mechanism of titanium dioxide nanoparticles-induced oxidative injury in the brain of mice. *Chemosphere*, 92(9), 1183-1189.
51. Ze, Y., Hu, R., Wang, X., Sang, X., Ze, X., Li, B., ... & Hong, F. (2014). Neurotoxicity and gene-expressed profile in brain-injured mice caused by exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 102(2), 470-478.
52. EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (FAF), Younes, M., Aquilina, G., Castle, L., Engel, K. H., Fowler, P., ... & Wright, M. (2021). Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. *EFSA Journal*, 19(5), e06585.
53. EUR-Lex - 32022R0063 - EN - EUR-Lex İnternette. Erişim: 22 Haziran 2022. İnternet sitesi: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32022R0063>
54. FSA 22-06-03 - Chief Executive's Report to Board Lex İnternette. Erişim: 22 Haziran 2022. İnternet sitesi: <https://www.food.gov.uk/about-us/fsa-22-06-03-chief-executives-report-to-board>
55. Biochemistry - Richard A. Harvey (Ph. D.), (3<sup>rd</sup> ed.) Richard A. Harvey, Denise R. Ferrier sayfa: 305-314.
56. Eşref, A. R. A. Ç., & Solmaz, İ. HbA1c düzeyi yüksek trigliserid düzeyinden etkilenir mi?. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 12(2), 200-205.
57. Çetinkalp, Ş. (2017). Soru 1–Trigliserit nedir? Normal fizyolojideki yeri nedir?. *Türk Kardiyol Dern Ars*, 45(1), 1-63.
58. Salazar, J., Bermúdez, V., Calvo, M., Olivar, L. C., Luzardo, E., Navarro, C., ... & Rojas, J. (2017). Optimal cutoff for the evaluation of insulin resistance through triglyceride-glucose index: A cross-sectional study in a Venezuelan population. *F1000Research*, 6.
59. Akyüz, Z. N., & Mutlu, H. H. (2020). Tiroit hastalığı olanlarda trigliserit/glikoz indeksi insülin direnci belirteci olarak kullanılabilir mi? *Ege Tıp Dergisi*, 59(3), 165-173.
60. Yılmaz, S. K., Özçiçek, F., & Mertoğlu, C. (2022). Yetişkin bireylerde metabolik sendromun belirlenmesinde obeziteyle ilişkili geleneksel ve yeni indekslerin karşılaştırılması. *Cukurova Medical Journal*, 47(1), 62-70.
61. Sanlıalp, S. C., Nar, G., & Gunver, M. G. (2022). Elevated triglyceride glucose index is related to the presence of heart failure/Yüksek trigliserid glukoz indeksi kalp yetmezliği varlığıyla ilişkilidir. *Journal of Istanbul Faculty of Medicine*, 85(1), 51-59.
62. Proquin, H., Rodríguez-Ibarra, C., Moonen, C. G., Urrutia Ortega, I. M., Briedé, J. J., de Kok, T. M., ... & Chirino, Y. I. (2017). Titanium dioxide food additive (E171) induces ROS formation and genotoxicity: contribution of micro and nano-sized fractions. *Mutagenesis*, 32(1), 139-149.
63. Dorier, M., Béal, D., Marie-Desvergne, C., Dubosson, M., Barreau, F., Houdeau, E., ... & Carriere, M. (2017). Continuous in vitro exposure of intestinal epithelial cells to E171 food additive causes oxidative stress, inducing oxidation of DNA bases but no endoplasmic reticulum stress. *Nanotoxicology*, 11(6), 751-761.
64. Grande, F., & Tucci, P. (2016). Titanium dioxide nanoparticles: a risk for human health?. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 16(9), 762-769.
65. Krivova, N., Zaeva, O., Misina, T., & Kuvshinov, N. (2016). Study on different mechanisms of gastric damage after oral administration of titanium dioxide nano-and microparticles. In *Key Engineering Materials* (Vol. 683, pp. 447-453). Trans Tech Publications Ltd.
66. Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Oleszczuk, P., & Winiarska-Mieczan, A. (2020). Effects of titanium dioxide nanoparticles exposure on human health—a review. *Biological trace element research*, 193(1), 118-129.
67. Warheit, D. B., Brown, S. C., & Donner, E. M. (2015). Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles. *Food and Chemical Toxicology*, 84, 208-224.
68. Blevins, L. K., Crawford, R. B., Bach, A., Rizzo, M. D., Zhou, J., Henriquez, J. E., ... & Kaminski, N. E. (2019). Evaluation of immunologic and intestinal effects in rats administered an E 171-containing diet, a food grade titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>). *Food and Chemical Toxicology*, 133, 110793.
69. Proquin, H., Rodríguez-Ibarra, C., Moonen, C. G., Urrutia Ortega, I. M., Briedé, J. J., de Kok, T. M., ... & Chirino, Y. I. (2017). Titanium dioxide food additive (E171) induces ROS formation and genotoxicity: contribution of micro and nano-sized fractions. *Mutagenesis*, 32(1), 139-149.

70. Brand, W., Peters, R. J., Braakhuis, H. M., Maślankiewicz, L., & Oomen, A. G. (2020). Possible effects of titanium dioxide particles on human liver, intestinal tissue, spleen and kidney after oral exposure. *Nanotoxicology*, 14(7), 985-1007.
71. Hu, H., Li, L., Guo, Q., Zong, H., Yan, Y., Yin, Y., ... & Gu, N. (2018). RNA sequencing analysis shows that titanium dioxide nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress, which has a central role in mediating plasma glucose in mice. *Nanotoxicology*, 12(4), 341-356.
72. Hu, H., Zhang, B., Li, L., Guo, Q., Yang, D., Wei, X., ... & Gu, N. (2020). The toxic effects of titanium dioxide nanoparticles on plasma glucose metabolism are more severe in developing mice than in adult mice. *Environmental toxicology*, 35(4), 443-456.
73. Duan, Y., Liu, J., Ma, L., Li, N., Liu, H., Wang, J., ... & Hong, F. (2010). Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice. *Biomaterials*, 31(5), 894-899.
74. Hong, F., Zhou, Y., Zhao, X., Sheng, L., & Wang, L. (2017). Maternal exposure to nanosized titanium dioxide suppresses embryonic development in mice. *International journal of nanomedicine*, 12, 6197.
75. Shukla, R. K., Kumar, A., Vallabani, N. V. S., Pandey, A. K., & Dhawan, A. (2014). Titanium dioxide nanoparticle-induced oxidative stress triggers DNA damage and hepatic injury in mice. *Nanomedicine*, 9(9), 1423-1434.
76. Warheit, D. B., Brown, S. C., & Donner, E. M. (2015). Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles. *Food and Chemical Toxicology*, 84, 208-224.
77. Chen, Z., Wang, Y., Zhuo, L., Chen, S., Zhao, L., Luan, X., ... & Jia, G. (2015). Effect of titanium dioxide nanoparticles on the cardiovascular system after oral administration. *Toxicology letters*, 239(2), 123-130.
78. Parhofer, K. G. (2015). Interaction between glucose and lipid metabolism: more than diabetic dyslipidemia. *Diabetes & metabolism journal*, 39(5), 353-362.
79. Li, C., Zhang, R., Ma, C., Shang, H., McClements, D. J., White, J. C., & Xing, B. (2021). Food-grade titanium dioxide particles decreased the bioaccessibility of vitamin d3 in the simulated human gastrointestinal tract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(9), 2855-2863.
80. Caroch, M., Barreiro, M. F., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 377-399.

## EKLER

### EK-1.Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 10/03/2020-E.9859



T.C.  
SALIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 46418926-605.02  
Konu : Etik Kurul Kararı (2020-01/15)

Sayın Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN  
(SBÜ Hamidiye Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı  
Öğretim yesi)

Yürütücüsü olduğunuz "*Titanyum dioksidin yavru sıçanlarda glikoz metabolizması üzerine etkisi*" başlıklı bilimsel çalışma nerisi, SBÜ Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 04.03.2020 tarih ve **2020-01/15** sayılı toplantısında görüşülerek, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde ve sunulan prosedürlere uygun olarak, 3 yıllık bir süre içerisinde gerçekleştirilmesinin etik açıdan "**uygun**" olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

**e-imzalıdır**  
Prof. Dr. lkan KILIÇ  
HADYEK Başkanı



