

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BRILLIANT BLUE (E133) OLARAK BİLİNEREN MAVİ GIDA KATKI
BOYASININ, SOĞAN (*ALLIUM CEPA*) KÖK HÜCRELERİNDE MİTOZ
BÖLÜNMEYE ETKİSİ**

METE SELÇUK YURTSEVER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Hayati ARDA

EDİRNE-2022

Mete Selçuk YURTSEVER'in hazırladığı “**Brilliant Blue (E133) Olarak Bilinen Mavi Gıda Katkı Boyasının, Soğan (*Allium cepa*) Kök Hücrelerinde Mitoz Bölünmeye Etkisi**” başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Dr. Öğretim Üyesi Hayati ARDA
(Tez Danışmanı).

.....

Prof. Dr. Mehmet AYBEKE

.....

Dr. Öğretim Üyesi Orhan Onur AŞKIN

.....

Tez Savunma Tarihi: 14 / 06 / 2022

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığımı onaylarım.

İmza

Dr. Öğretim Üyesi Hayati ARDA
Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

.....

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı üniversitelerde tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

14 / 06 / 2022

Mete Selçuk YURTSEVER

Yüksek Lisans Tezi

Brilliant Blue (E133) Olarak Bilinen Mavi Gıda Katkı Boyasının, Soğan (*Allium cepa*) Kök Hücrelerinde Mitoz Bölünmeye Etkisi.

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Mavi gıda boyası, “Brilliant Blue (E133)” dondurma, soğuk içecekler, bardak çorba, süt ürünleri, pastalar ve şekerleme gibi birçok üründe renklendirici gıda boyası olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, sabun, şampuan, ağız içi durulama suyu gibi bazı farmakolojik ürünlerde de kullanılmaktadır. Bu çalışmada Mavi gıda boyasının toksik etkileri, mutfak soğanı (*Allium cepa*) meristematik kök hücrelerinde *in vivo* olarak araştırılmıştır. Soğan replikatları laboratuvar ortamında boyanın 200ppm, 800ppm ve 1600ppm’lik sıvı çözeltilerini içeren düzeneklerde üç gün gelişmeye bırakılmıştır. Her replikat için toplam 500 hücre incelenmiştir. Negatif kontrol grubu olarak doğal kaynak suyu kullanılmıştır.

Sonuç olarak, her üç konsantrasyondaki çözeltilerde gelişen soğan ortalama kök uzunlukları kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı olarak ($P<0,001$) kontrol grubundan daha kısa kalmıştır. Tüm gruplara ait ortalama kök sayıları karşılaştırıldığında ise ($P>0,05$), bu gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Mitoz bölünme toplam sayıları 200ppm grubunda diğer gruplardan en yüksek çıkmıştır, ikinci yüksek değer mitoz sayılarını alan kontrol grubu olmuştur, diğer iki gruptaki ortalama mitoz bölünme sayıları konsantrasyona bağlı olarak azalmıştır ($P<0,001$). Mitotik indeks (MI) ortalama değerleri de Mitoz bölünme sayılarındaki gibi aynı şekilde sıralama göstermiştir.

Mavi gıda boyasının soğan meristematik kök hücrelerinde meydana getirdiği Kromozom aberasyonlarının (CA) ortalama sayıları ve CA yüzdeleri de kontrol grubu ve diğer üç konsantrasyondaki çözeltiler arasında istatistiki anlamlı bir farklar göstermiştir.

CA ortalama sayıları ve CA yüzdeleri, en yüksek çıkan 1800ppm den kontrol grubuna doğru azalma eğilimi göstermiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre Mavi gıda boyasının özellikle 200ppm'den daha yüksek konsantrasyonlarda *A. cepa* meristematik kök hücrelerinin belirgin olarak sitotoksik ve genotoksik etkiye maruz kaldığı söylenebilmektedir.

Yıl : 2022

Sayfa Sayısı : 54

Anahtar Kelimeler : *Allium cepa*, mavi gıda boyası, (brilliant blue, E 133), mitotik indeks, hücre döngüsü.

MSc (Master of Science) Thesis

Effects of the Food Colouring Agent Brilliant Blue (E133) on Mitotic Cell Division of Onion (*Allium cepa*) Root Tips

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

ABSTRACT

Food additive “Brilliant Blue (E133)” is used for colouring a variety of foods such as; ice cream, cold drinks, instant soup, dairy products, pies, candies and a wide variety of other foods. Moreover, it is also used in cosmetics, it is added to soap, shampoo, deodorants and mouthwash liquids. In this study, toxic effects of the food colouring agent “Brilliant Blue (E133) were investigated in vivo by using the root meristematic cells of the onion, *Allium cepa* L.). The onion specimens were left three days for root growth in beakers involving 200ppm, 800ppm and 1600ppm solutions of brilliant blue. A total of 500 cells were examined in the replicates of each treatment. Spring water was used for negative control group.

As a result, the mean length of the onion roots they obtained from the experimental treatments involving the three different concentrations of the blue dye were shorter than the control group roots ($P < 0,001$). However, the mean root numbers of the onions in all four groups shown no sign of statistical differences ($P > 0,05$). Total number of the mitosis in the cells examined was the highest in 200ppm group followed by control group. The mitosis numbers in the remaining two groups were lower than the previous groups showing association with the concentration level ($P < 0,001$).

Mean chromosomal aberrations (CA) and CA percentages occurred in the meristematic root cells due to the blue dye showed statistically significant differences among the four groups of experimental treatments. Mean CA numbers and CA percentages was highest in the 1600 ppm group and decreased gradually from 1600ppm group to the control group. According to these findings the “Brilliant Blue E133” over

200ppm concentrations have significant cytotoxic and genotoxic consequences on *A. cepa* meristematic root cells.

Year : 2022

Number of pages : 54

Keywords : *Allium cepa*, food colouring, brilliant blue, (E 133) mitotic index, cell cycle.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi birikimi ve tecrübelerinden yararlandığım, araştırmalarım hakkında bana değerli vaktini ve emeğini esirgemeyen, her zaman destek olan değerli hocam sayın Dr. Öğretim Üyesi Hayati ARDA'ya sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans ders aşamasında ve laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen sınıf arkadaşım Almina KARGACIOĞLU'na teşekkür ederim.

Tüm eğitimim süresince bana maddi ve manevi desteği esirgemeyen bana her zaman sonsuz sevgi desteği, güven ve moral veren sevgili aileme ve minicik yaramaz yeğenim Atilla ("Spider Man") ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
BÖLÜM I.....	1
GİRİŞ	1
1.1. Gıda Katkı Maddelerinin Çeşitleri	2
1.2. Gıda Katkı Maddelerinin İnsan Sağlığına Olan Etkileri ve Tehlikeleri	7
1.3. Gıda Katkı Boyaları.....	7
1.3.1. Bazı Doğal ve Yapay Gıda Katkı Boyaları	8
1.3.2. Mavi Gıda Boyası (Brillinat Blue FCF) Özellikleri.....	9
BÖLÜM 2	11
MATERYAL ve METOD.....	11
2.1.Deney Grupları	11
2.1.1. Deney Düzenekleri	13
2.1.1.1 Mavi Gıda Boyasının <i>Allium cepa</i> Kök Gelişimi Üzerine Etkilerini Araştırmak İçin Hazırlanan Deney Düzenekleri	13
2.1.1.2. Mavi Gıda Boyasının <i>Allium cepa</i> Kök Ucu Meristematik Hücrelerinde Mitoz Bölünmeye Olan Etkisi (Mitotik İndeks) ve Kromozomal Aberasyonlar (CA)'ın Saptanması.....	14
2.1.1.2.1. Mikroskop Preparatlarının Hazırlanması	15
2.1.1.2.2. Ezme Preparat Yapımı.....	15
2.2. İstatistiksel Analiz	17
BÖLÜM 3	18
BULGULAR.....	18

3.1. Mavi Gıda Boyasının <i>Allium cepa</i> Kök Uzamasına Olan Etkisi.....	18
3.2. Mavi Gıda Boyasının <i>Allium cepa</i> Kök Ucu Meristematik Hücrelerinde Mitoz Bölünmeye Olan Etkisi (Mitotik İndeks) ve Kromozomal Aberasyonlar (CA).	23
BÖLÜM IV	29
SONUÇ ve TARTIŞMA	29
4.1. Kök Uzunluğu ve Kök Sayısı	29
4.2. Mitotik İndeks (MI) ve Kromozom Aberasyonları	32
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	41



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AO	: Aritmetik ortalama
N	: İncelenen örnek sayısı
SD	: Serbestlik derecesi
SH	: Standart hata
SS	: Standart sapma
Med	: Medyan
Max	: Maksimum değer
Min	: Minimum değer
BB	: Brilliant Blue

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Gıda katkı boyalarıyla hazırlanmış değişik renkteki çözeltiler.....	4
Şekil 2.1. Mavi Boya Çözeltisi Hazırlamak İçin Kullanılan Toz Halindeki Brilliant Blue E133, Mavi Boya Örneği.....	12
Şekil. 2.2. Mavi Boya, Brilliant Blue E133 ile Hazırlanmış Üç farklı Konsantrasyondaki Stok Boya Çözeltilerinin Görünümü.....	13
Şekil. 2.3. Üç Farklı Konsantrasyonda Boya Çözeltisi ve Kaynak Suyu İçeren Deney Düzeneklerindeki Soğan Örnekleri.....	14
Şekil 2.4. Laboratuvarında Ezme Preparat Yapımı.....	16
Şekil 2.5. Ezme Preparat Halinde Hazırlanmış <i>A. cepa</i> Kök Uçlarının Lam Lamel Arasındaki Görünümü ve Meristematik Hücrelerin Mikroskopta (x10) Görünümü.....	16
Şekil 3.1. Kontrol Grubu ve Üç Farklı Konsantrasyondaki Boya Çözeltisi İçeren Düzeneklerde Yetiştirilen <i>A. cepa</i> Örneklerinin Kök Uzunluklarına Ait Resimler.....	19
Şekil 3.2. Üç Farklı Mavi Boya Konsantrasyonu ve Kontrol Grubundaki Soğan Köklerinin Uzunlukları (AO±SS).....	22
Şekil 3.3. Çalışma Esnasında Rastlanan En Yaygın Kromozom Aberrasyon Tiplerinin Şematik Görünümü.....	23
Şekil 3.4. Normal Mitoz bölünme evreleri ve mavi boya etkisiyle <i>A. cepa</i> meristematik kök hücrelerinde görülen bazı kromozom aberrasyonlarının mikroskop resimleri.....	25
Şekil 3.5. Üç Farklı Mavi Boya Konsantrasyonu ve Kontrol Grubundaki Soğan Köklerindeki Mitoz Bölünme Sayıları (AO±SS).....	27
Şekil 3.6. Üç Farklı Mavi Boya Konsantrasyonu ve Kontrol Grubundaki Soğan Köklerindeki CA Sayıları (AO±SS).....	27
Şekil 3.7. Mavi Gıda Boyasının <i>Allium cepa</i> Kök Ucu Meristematik Hücrelerinde Meydana Getirdiği AMI (%) ve CA (%) Değerleri.....	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge. 1.1. Avrupa Birliği Tarafından Kabul Edilmiş Olan Gıda Katkı Maddelerinin E Kodları Kategori Listesi.....	6
Çizelge. 1.2. Bazı Renk Maddelerinin Verdiği Renge Göre Listesi.....	8
Çizelge 3.1. Kontrol Grubuna Ait Soğan Köklerinin Uzunluklarını (cm) Gösteren Tanımlayıcı İstatistik Parametreleri.....	20
Çizelge 3.2. 200ppm Konsantrasyondaki Mavi Gıda Boyası ile Muamele Edilen Soğan Köklerinin Uzunluklarını (cm) Gösteren Tanımlayıcı İstatistik Parametreleri.....	20
Çizelge 3.3. 800ppm Konsantrasyondaki Mavi Gıda Boyası ile Muamele Edilen Soğan Köklerinin Uzunluklarını (cm) Gösteren Tanımlayıcı İstatistik Parametreleri.....	21
Çizelge 3.4. 1600ppm Konsantrasyondaki Mavi Gıda Boyası ile Muamele Edilen Soğan Köklerinin Uzunluklarını (cm) Gösteren Tanımlayıcı İstatistik Parametreleri.....	21
Çizelge 3.5. Dört Deney Grubuna Ait Soğan Köklerinin Sayılarını Gösteren Tanımlayıcı İstatistik Parametreleri.....	22
Çizelge 3.6. Kontrol Grubu ve Üç Farklı Konsantrasyon Grubuna Ait Soğan Kök Hücrelerinde Kayıt Edilen Mitoz Bölünme ve Kromozom Aberasyon (CA) Sayıları ile İlgili İstatistik parametreler.....	26
Çizelge 3.7. Kontrol Grubu ve Üç Farklı Gıda Boyası Uygulanan Deney Gruplarındaki AMI % (Aktif Mitotik İndeks) ve CA % Değerlerini Gösteren İstatistik Parametreler.....	28

BÖLÜM I

GİRİŞ

Gıdalarımızı ister taze olarak yerel pazar yerlerinden, ya da bazı şekillerde paketlenmiş hazır gıda olarak marketlerden alıp evde yiyelim ya da lüks bir lokantada yiyelim, öncelikle onların görünüşü, kokusu ve tadı kuşkusuz bizi kendine çeken en önemli faktörlerdir. Gıda katkı maddeleri, tüketiciye daha cazip görünmesi (organoleptik özellik) için gıdaların renk, tat, koku v.b. gibi özelliklerini arttırmak için kullanılan maddelerdir. Ayrıca bu özelliklerini uzun süre muhafaza edebilmesi için koruyucu olarak da kullanılan doğal ya da yapay maddelerdir. Yalnız başına gıda olarak tüketilmeyen ve besleyici değeri olmayan katkı maddeleri, üretim, işleme ve ambalajlama aşamalarında gıdalara ilave edilmektedir, böylece sonuçta gıdanın bir bileşeni olarak onun içeriğinde yer alabilmektedir.

Gelecek 30 yıl içerisinde dünya nüfusunun 9 milyara kadar ulaşacağı beklenmektedir. Bu nedenle bu kadar kalabalık nüfusa yetecek en az %100 lük bir gıda üretimi de gerekecektir. Halen her gün dünyadaki her 8 insandan 1'i açlık ile mücadele etmek zorundadır. Dolayısıyla yaklaşık 1 milyar insan yakın gelecekte açlık tehlikesiyle yüzleşmek zorunda kalacaktır. Hızla artan dünya nüfusu için yeterli ve bol miktarlarda ürün veren tarım arazileri yanında, daha ekonomik ve hızlı olarak gıda üretimi yapabilmek için yeni gıda teknolojilerinin geliştirildiği endüstriyel üretim merkezlerinin sayısı sürekli artmaktadır. Çok hızlı ve bol miktarlarda üretim yapabilen bu tesisler ekonomik ve hızlı üretim amaçlarında kolaylık sağlayan birçok gıda katkı maddesi kullanmaktadır. Katkı maddeleri sayesinde özel olarak işlenerek hızlı şekilde üretilen bu gıdalar, bugün Avrupa ve ABD gibi ülkelerde “ultra-processed food” (son derece hızlı üretilen gıda) adını almıştır (Monteiro vd., 2019; Montera, Martins, Borges & Canella,

2021). Kısaca “ultra gıdalar” diyebileceğimiz ya da ülkemizde tam anlamını bulmasa da, “işlem görmüş gıda” olarak bilinen bu gıdaların içerikleri bazı özel yöntemlerin kullanıldığı belirli formüllerle hazırlanmaktadır. İşlenmiş gıdalarda kullanılan maddelerin içeriğinde ne yazık ki doğal içerikler yerine, insan sağlığı için birçok zararlı etkileri olduğu bilimsel olarak da kanıtlanan, sentetik kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Örneğin genelde normal mutfak yemeği yaparken kullanılmayan bazı özel mineral tuzlar, tatlandırıcılar, renk verici boyalar, kıvam düzenleyiciler ve uzun süre bozulmayı engelleyici kimyasallar gibi birçok katkı maddesi özellikle maliyeti düşürmek için bugün yaygınlıkla marketlerde tüketiciye sunulan gıdaların içeriğinde yer almaktadır.

1.1. Gıda Katkı Maddelerinin Çeşitleri

Gıda katkı maddeleri, antimikrobial, antioksidant, renklendirici, lezzet verici, asidite düzenleyici, kıvam arttırıcı ve düzenleyici amaçlarla neredeyse yüzyıldır günlük gıdalarımızda yer almaktadır (Carocho, Barreiro, Morales & Ferreira, 2014). Böylelikle gıda katkı maddeleri, gıdanın özel bileşimini, kalitesini, uzun süre bozulmadan kalabilmesini korumada, gıdaların tüketiciye çekici gelmesi için gıdanın tadını, görünüşünü ve kokusunu arttırmada ve gıdaların ekonomik değerini kazandırma ile ilgili diğer birçok amaçlarla kullanılmaktadır. Farklı literatürlerde değişik sayıda grup altında listelenen gıda katkı maddeleriyle ilgili bazı bilgiler (Pandey & Upadhyay, 2012) kullanım amaçlarına göre aşağıdaki gibi özetlenebilir (Meghwal, Banerjee & Kadeppagari, 2016).

Asidite düzenleyiciler: Bunlar ph düzenleme ve kontrolünde gıda içeriklerinde bulunurlar. Meyve suyu üretiminde kullanılan baz, asit ve alkali bazı maddeler bu gruptandırlar. Örneğin, fermentasyon ve meyve suyu teknolojisinde kullanılan sitrik asit, asetik asit ve laktik asit gibi bazı gıda asitleri hem gıdanın tadını daha keskin yapar hem de koruyucu ve antioksidant olarak da rol oynar.

Koruyucular: Bakteri, maya ve küf gibi mikroorganizmalara karşı gıdaları koruyan antimikrobiyal maddelerdir. En yaygın olarak kullanılanlardan biri olan sodyum benzoat, meşrubat gibi asitli içeceklerde, pasta ve ekmekte yer alır.

Antioksidantlar: Bu tip katkı maddeleri, besinlerin oksidasyonla bozulmasını ve renk değişimlerini önler. Bunlardan askorbik asit ve sitrik asit, bisküvi, reçel, kutulu içecekler, peynir ve bardak çorba gibi gıdalarda yaygınlıkla kullanılmaktadır.

Emülsifiye Ediciler: Besin form ve şeklinin bozulmasını ve ayrışıp dağılmasını önler. Bu maddeler su ve yağ gibi maddelerin gıda içerisinde karışım olarak emülsiyon halinde kalmasını engeller. Örneğın, lesitin ve mono ve di-gliseridler, mayonez, dondurma, çikolata ve market sütünün homojenize kalması, yağların topaklaşması veya yapışık kalmasını düzenleyen katkı maddelerindedir.

Dengeleyici ve Kıvam Düzenleyiciler: Bu katkı maddeleri ilgili gıdaların kıvamını artırma ve jel gibi durumda dengede kalmasını sağlar. Puding, çikolata içeceği, kurabiye dolgularında jelatin ve pektin gibi katkı maddeleri yaygın olarak kullanılır.

Tatlandırıcılar: Genel olarak besin değeri olmayan kalori değeri düşük veya hiç olmayan sentetik maddelerdir. Bu nedenle besinlere tat verme amacından daha çok düşük kalorili gıda üretim amacıyla kullanılırlar. Ayrıca normal glukoz ve früktoz gibi doğal tat verici gıdalardan yüzlerce kez daha fazla tat verdiğiinden dolayı ekonomik yönden yarar sağlarlar. Aspartam ve Sakkarin dondurulmuş tatlı gıdalarda, şekerlemelerde ve birçok içecekte yaygınlıkla kullanılan tatlandırıcı maddelerden ikisidir.

Besin değeri arttırıcı katkı maddeleri: Bu katkı maddeleri gıda içeriklerine eklenerek onların besin değeri arttırmada rol oynarlar. Vitaminler, iyodin ve lizin gibi maddeler buğday unu, meyve suları, market sütü ve margarinlere eklenen katkı maddelerindedir.

Lezzet (Aroma) Vericiler: Belli bir gıdaya farklı bir gıdanın tat hissini vererek gıdayı daha lezzetli ve çekici yapan aromatik katkı maddeleridir. Örneğın, birçok baharatlar, esansiyel yağlar, sentetik benzaldehit ve etil bütirat gibi katkı maddeleri dondurma, tatlı, puding ve birçok pastane ürünlerinde kullanılmaktadır.

Lezzet Arttırıcılar: Kendi başlarına bir tadı olmayan fakat gıda maddelerine katıldığında onların lezzetini arttıran maddelerdir. Monosodyum glutamat, işlem görmüş olarak bilinen gıda maddelerinden ketçap, mayonez gibi katkı maddelerde ve tatlandırıcı soslarda, hazır çorba ve sosislerde ve etlerde lezzet arttırıcı olarak kullanılmaktadır.

Mineral tuzları: Yaşamsal önemi olan biyokimyasal reaksiyonlarda görev yapan makro elementlerden sodyum, fosfat, potasyum, klor, sülfür ve kalsiyum, micro elementlerden

demir, florür ve çinko gibi mineral tuzları gıdalara eklenen katkı maddeleri içerisinde yer almaktadır.

Renklendirici Gıda Katkı Boyaları: Renk verici gıda katkı boyaları gıdanın işlem görmesi esnasında kaybettiği doğal rengini vermek için veya gıdaları renk vasıtasıyla tüketiciye daha alıcı görünmesi amacıyla kullanılmaktadır (Şekil. 1.1). Bunlardan sarı (Tartrazin), mavi, (Brilliant Blue) ve kırmızı (Ponceau) sentetik olarak üretilen kimyasal boyalar olup tek başlarına değişik koyuluklarda veya gıdalar diğer değişik renkleri vermek için karıştırılarak kullanılırlar. Gıdanın rengi tüketici için en önemli çekici faktörlerden biri olduğundan gıda boyaları bugün gıdalarda en yaygın olarak kullanılan katkı maddeleri arasında yer almaktadır. Gıda boyaları, dondurma ve meşrubattan başlayıp, patates çipsi, pastalar, reçeller ve şekerlemelere doğru uzanan büyük bir gıda bölümünü kapsayan gıdaların içeriklerinde yer alırlar.



Şekil 1.1. Gıda katkı boylarıyla hazırlanmış değişik renkteki çözeltiler.

Böylece gıda katkı maddeleri içeriğine göre doğal veya yapay olabilir (Carocho vd., 2014). Doğal gıda katkı maddeleri, gıdalara ilave edilen doğal olarak elde edilen katkı maddeleridir. Bunlar, doğadaki mikrobiyal, bitki, hayvan veya minerallerden elde edilen ekstratlardır. Örneğin, Pepsi kolaya konan karamel, doğal şekerin ısıtıp pişirilmesiyle elde edilen renklendiricidir. Yapay gıda katkı maddeleri, doğal gıda maddelerinin aksine, doğal ürünlerden ekstrat olarak elde edilemeyen, fakat insan tarafından kimyasal, enzimatik veya diğer yöntemlerle sentetik olarak üretilen katkı maddeleridir. Yapay gıda

katkı maddeleri az miktarlarda gıdalara ilave edildiğinde bile doğal gıda katkı maddelerine göre kat kat etkili olduğundan ve böylece üretimde ekonomi sağladığından tercih edilirler. Örneğin, kullanım kolaylığı ve ekonomik olmasından dolayı birçok gıdada, hatta ağızdan alınan ilaçlarda bile yapay tatlandırıcı olarak kullanılan aspartam, normal şekerden 200 kat daha fazla tatlıdır (Pandey & Apadhyay, 2012).

Gıda katkı maddelerinin, gıdalarda kullanımı, onların yararlı olduğu ve insan sağlığı için zararlı bir etkisinin olmadığı güvenli olarak gösterildikten sonra gıdalarda eklenebilmesine izin verilebilmektedir. Dünya’da birçok ülkede gıda katkı maddelerinin kullanımı belli miktarlar ve standartlar gerektiren ve uluslararası kurallar ile belirlenmektedir. Avrupa Birliği ülkelerinde kullanılan güvenliği nispeten bilinen ve kullanımına izin verilen gıda katkı maddeleri her birinin yanında numara bulunan “E” harfi ile kodlanmıştır. E harfi Avrupa Birliği’ni temsil ederken bunun yanındaki numara da katkı maddesinin çeşidini ifade etmektedir (Pandey & Upadhyay, 2012). Örneğin, Aspartam E951 kodu ile bilinmektedir. Avrupa Birliği dışındaki ülkelerde, Avustralya, Yeni Zelanda ve ABD’de de bu kodlara sahip katkı maddelerinin kullanımına genelde uyan ve E harfi içermeyen farklı bir gıda katkı maddesi numaralandırma sistemi bulunmaktadır. Örneğin Avrupa’da E360 kodu ile satılan asetik asit bazı ülkelerde basit olarak “katkı maddesi 260” adıyla bilinmektedir. Yine farklı ülkeler arasında gıda katkı kullanım yönetmeliklerinde bazı farklılıklar da ortaya çıkabilmektedir. Örneğin Yeni Zelanda ve Avustralya’da alkollü içkilerde “katkı maddesi 103” adıyla kullanımda olan doğal bitkisel katkı maddesi Alkanet’in Avrupa’da kullanım izni yoktur. Herkes tarafından kolayca anlaşılabilmeyi sağlayan ve böylece gıda katkı maddelerini tanımlamada herhangi bir karışıklığı engelleyen bu E numara sistemindeki gıda katkı maddeleri (Çizelge 1.1.), başlıca altı grup altında listelenmektedir (Carocho vd., 2014; Sen, Barrow & Deshmukh, 2019).

Çizelge 1.1. Avrupa Birliği Tarafından Kabul Edilmiş Olan Gıda Katkı Maddelerinin E Kodları Kategori Listesi.

Renklendiriciler	: E100-E199
Koruyucular	: E200-E297
Antioksidanlar	: E300-E321
Emülsifer, dengeleyici, kıvam arttırıcı	: E322-E495
Asit, baz sağlayıcılar	: E500-578
Tatlandırıcılar ve koku vericiler	: E620-E637
Diğerler (geniş amaçlı kullanılanlar)	: E900-1420

Yukarıda Avrupa Birliği'nde E numarası alıp listelenmiş olan katkı maddeleri sayısı, halen 1500 den fazla olup, zaman içerisinde bu sayı artmaktadır. Gıda katkı maddelerinin halk sağlığı açısından güvenle kullanımları için görev yapan birçok uluslararası kuruluş çalışmaktadır (Carocho vd., 2014; Emerton & Choi, 2008; Palacios-Jordan, 2022). 1960'lı yıllarda kurulmuş olan, Kodeks Beslenme Örgütü (Codex Alimentarius Commission-CAC), Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation-WHO) ile Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organisation-FAO), Avrupa Gıda Güvenliği Acentası (Europe Food Safety Agency-EFSA) gibi uluslararası kuruluşlar dünyadaki gıda standartları ile ilgili bilgileri belirli süreler arasında gözden geçirerek raporlar halinde yayınlamaktadırlar. FAO ile WHO birleşik gıda katkı uzman komitesi (The Joint FAO/WHO expert Committee on Food Additives- JECFA) dünyadaki gıda katkı maddelerine ait yapılan bilimsel çalışmaların verilerini de değerlendirerek sonuç raporlarını güncelleştirmektedir. Ülkemizde gıda katkı maddelerinin kullanımıyla ilgili yasa, tüzük ve, yönetmelik ve genelgelerle standartların belirlendiği, Tarım ve Orman Bakanlığı'na ait Türk Gıda Kodeksi (TGK) gıda katkı maddeleri yönetmeliği ve gıda kategorilerine ilişkin kılavuz bulunmaktadır.

1.2. Gıda Katkı Maddelerinin İnsan Sağlığına Olan Etkileri ve Tehlikeleri

Gıda katkı maddeleri ve özellikle koruyucu maddeler birçok gıdayı istenen özelliklerde uzun süre bozulmadan saklayabilmek için önem taşımalarına rağmen sağlık açısından olan zararları çok sayıdaki bilimsel deneyleri içeren çalışmalar ile doğrulanmıştır (Silva, Reboredo, & Lidon, 2022). Çocuklarda hiperaktivite, alerji, egzama, astım, kusma, kaşıntı, baş ağrısı, davranış bozuklukları, migren zehirlenme, sindirim sistemi bozuklukları depresyon gibi daha birçok rahatsızlıklar bu zararların başında gelmektedir (Silva vd., 2022). Bunların içerisinde en tehlikeli olanlardan biri de gıda katkı maddelerinin genotoksik etkileri nedeniyle kanser riski taşımalarıdır. Farklı canlı türleri üzerindeki çok sayıda bilimsel deneylerle saptanmış olan değişik gıda katkı maddelerinin zararlı etkilerini birçok yayında liste halinde bulmak mümkündür (Montera vd., 2021; Pandey & Upadhyay, 2012; Silva vd., 2022). Bugün gıdalarda kullanılan katkı maddelerinin çok sayıda olmaları ayrıca bunların yaşam boyu hayatımızda eser miktarlarda bile girmiş olmaları, bunlara karşı alınabilecek risk önlemlerini güçleştirmektedir. Yasaklanmış ya da belirlenen miktarlarda kullanımı yasalarla belirlenmiş olan gıda katkı maddelerinin birçok toplumda bilinçsiz olarak ayrıca yüksek miktarlarda ve kurallara uygun olarak kullanılmaması karşılaşılan en büyük sağlık risklerindedir.

1.3. Gıda Katkı Boyaları

Bu tezin de konusunu oluşturan ve renklendiriciler olarak bilinen gıda boyaları, katkı maddeleri içerisinde en çok kullanılan bir sınıfı oluşturmaktadır. Gıda seçiminde tüketici tercihinin en önemlilerinden biri kuşkusuz renktir. Sebze ve meyvelerin rengi olgunlaşma ve tat ile paralellik göstermektedir. Zamana bağlı bozulmayla ilgili olarak gıdaların rengi dereceli olarak kaybolmaktadır. Dolayısıyla renklendirici gıda katkı boyaları, gıdalara doğal renk tonlarını kazandırmak ve bu rengin uzun süre bozulmadan kalmasını sağlamak için kullanılmaktadır (Çizelge 1.2). Gıda üretiminin tarihi süreci içerisinde renk maddeleri gıdalarda doğal katkı maddesi olarak kullanılmıştır. Ancak gıda sanayilerinin ve gıda üretiminin hızla artmasına bağlı olarak kolay kullanımı ve daha ekonomik olmaları nedeniyle kullanımları yaygınlaşmıştır. Yapay gıda boyalarının dayanma ömürleri, doğal gıda maddelerine göre oldukça uzundur. Çünkü yapay

renklendiricilerin birçoğu, ısı değişimleri, alkali ve asiditeye karşı ayrıca ışık ve bozulmaya yol açan koruyuculara karşı dayanıklıdır. Üretimi kolay ve ucuzdur, düşük miktarlarda çok fazla boyama özellikleri vardır. Suda ve çözücülerde iyi çözündüklerinden kullanımda kolaylık sağlarlar. Toz, sıvı, granül gibi katı formlarda bulunabilirler. Değişik renk ve tonlardaki renk maddeleri ya doğrudan elde edilir veya ana renklerin birbiriyle belirli oranlarda karışımıyla elde edilebilir.

Çizelge 1.2. Bazı renk maddelerinin verdiği renge göre listesi.

Renk Adı	Renk Verici Madde
Kırmızı	Allura Red40, Ponceau3R, Eritrosin
Turuncu	Beta karoten, Anatto, Paprika, Sunsetyellow
Sarı	Riboflavin, Tartrazin, Safran, Turmerik
Yeşil	Klorofil, Brillant green
Mavi	Brillant blue, İndigocarmin
Menekşe	Antosiyoninler
Kahve	Karamel, Brown FK

1.3.1. Bazı Doğal ve Yapay Gıda Katkı Boyaları

Yapay gıda boyaları henüz bulunmadan önce kullanılan doğal gıda renklendiricileri, bitkisel hayvansal, mikrobiyal veya mineral kaynaklıydı. Ancak doğal renklendiricilerin çoğu bitkisel kaynaklıdır. Havuç, domates, kayısı, portakal, safran, kırmızı biber, ıspanak, lahana, kahve, pancar ve çilek gibi birçok bitki özütünden elde edilen ekstratlarıdır. Örneğin 400 den fazla karetoneid bitkisel renk ekstratı olarak gıdalarda yaygınlıkla kullanılmaktadır. Betanin ve Antosiyonin pigment içeren diğer bitkisel doğal renklendiriciler arasında yer almaktadır. Karmin kırmızısı ise *Dactylocopus coocus* denen Güney Amerika’da yaşayan bir böcekten elde edilmektedir. *Streptococcus agalactiae* turuncu renk gıda boyasının elde edildiği bakteridir (Sen vd., 2019).

Tarihsel süreç içerisinde eski Mısırlılar’ın (M.Ö. 1500) kozmetik ve saç boyamada yapay renklendirici kullandıkları ve milattan önce 300 yılı civarında da yapay boyanın şarap yapımında kullanıldığı yer aldığı bilinmektedir (Carocho vd., 2014; Downham & Collins, 2000; Sen vd., 2019). Modern tarih süreci içerisinde ise ilk renklendirici gıda boyası 1856 yılında İngiliz bilim adamı William Henry Perkin tarafından kömür katranındaki anilinden elde edilmiş olan ve “mauve” adı verilen leylak moru renktir

(Downham & Collins, 2000). Bu buluştan sonra birçok sentetik gıda boyası bulunmuş ve bunlar kozmetik ve gıda endüstrisinde yaygınlıkla kullanılmaya başlanmıştır. Bugün de sentetik olarak kimyasal yolla elde edilen birçok yapay gıda boyası gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Halen, Avrupa, A.B.D. ve Japonya'da kullanımına izin verilen sayısı 20 kadar olan yapay gıda boyalarının başlıcaları: Carmoisine/Azorubine (E122) ve Ponceau 4R (E124) Erythrosine (E127), Allura Red (E129), kırmızı, Tartrazine (E102) ve Sunset yellow FCF (E110) sarı, Indigotine/Indigo Carmine (E132) mor, Brilliant Blue FCF (E133) mavi, Fast Green FCF (E143) yeşil gıda boyalarıdır (Coultate & Balckburn, 2018; Downham & Collins, 2000; Maronpota, Hayashi & Bastaki, 2020).

1.3.2. Mavi Gıda Boyası (Brilliant Blue FCF) Özellikleri

Bu tez çalışmasında kullanılan mavi gıda boyası E133 kodu ile ve Avrupa'daki yaygın adıyla brilliant blue FCF (Blue 1) olarak bilinen yapay bir renklendiricidir. Doğada saf olarak neredeyse yok gibidir, sadece mavi-yeşil alg olarak adlandırılan fotosentetik bakteriler olan Cyanobacteri grubu üyelerinin parlak mavi kromatofor içerdikleri bilinmektedir (Coultate & Blackburn, 2018; Dey & Nagababu, 2022). Mavi gıda boyası brilliant blue (BB) suda kolay çözünebilen toz veya granül olarak halindeki bir yapay boyadır (Silva vd., 2022). Gıdalarda renk verici olarak kullanımı birçok ülkede serbest olan BB, kömür katranından sentetik olarak elde edilmekte olup 1929 yılından beri kullanımı bilinmektedir. Pastacılıkta, şekerleme, dondurma, reçel, meşrubat, likör, gibi birçok üründe, kozmetik ve bazı ilaçlarda mavi renk verici katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Meghwal vd., 2016; Pandey & Upadhyay, 2012;). Mavi gıda boyası BB, sarı renk boyası Tartrazin ile ve diğer boyalarla karıştırılarak yeşil ve diğer renkleri elde etmede kullanılmaktadır (Emerton, & Choi, 2008).

Renklendiriciler dahil gıda katkı maddelerinin canlı hücrelerde meydana getirebileceği genotoksik ve diğer zararlarını araştırmak için yapılan çalışmalarda deneysel model organizma olarak bitki, hayvan veya mikroorganizmalar kullanılmıştır. Bu araştırmalar bazı moleküler analiz yöntemlerin yanı sıra ve sitogenetik yöntemleri kullanarak gerçekleştirilmiştir. Bunlar arasında Mikronükleus, *Salmonella*, SMART (Somatik Mutation and Recombination Test), Comet assay ve *Allium cepa* testleri en yaygın olarak kullanılanlardır (Elhkim vd., 2007; Kobylewski & Jacobson, 2012; Özkara,

Akyıl, Eren & Erdoğmuş, 2015; Thomas & Adegoke, 2015). *A. cepa* testi, hücrelerde mitotik indeks ve kromozom aberasyonlarını net bir şekilde saptamada kullanılan, uygulaması kolay, nispeten çok uğraş gerektirmeyen zaman ve maliyet açısından ekonomik olarak da avantajlı bir test olarak genotoksite çalışmalarında yerini almıştır. *A. cepa* diğer canlılara göre kullanım avantajlarından birisi, nispeten büyük ve az sayıda (2N=16) kromozomlara sahip olmasıdır (Awe & Akpan, 2017; Tedesco & Laughinghouse, 2012). Böylece laboratuvar ortamında yetiştirilebilen bir deneysel organizma modeli özelliğini taşımaktadır. *A. cepa* testi pestisitlerden, çevresel kirleticilere ve gıda katkı maddelerine kadar uzanan geniş bir yelpazedeki değişik kimyasal maddelerin insan sağlığına olan toksik etkilerini belirlemede çok tercih edilen test sistemlerinden biridir.

Birçok gıda boyasının genotoksite, sitoksite ve diğer zararlarının olup olmadığını üzerine yapılan sayısız deneysel çalışma bulunmakla beraber, mavi gıda katkı boyası, BB ile yapılan araştırmalar sınırlıdır. Bu çalışmalar, değişik model organizmalarda gerçekleştirilmiştir (Borzelleca, Depukat, & Hallagan1990; Ishidate vd., 1984; Mannel & Grice, 1964; Sasaki vd., 2002). Hansen vd., (1966)'nin yaptığı toksite araştırılması, mavi boya ile ilgili ilk ve en önemli çalışmalardan biridir. Bu çalışmalara ait bazı sonuçlar, mavi gıda boyası BB'nin genotoksik etkilerini deneysel olarak kanıtlamasına rağmen çalışmaların sınırlı sayıda olması dolayısıyla bu sonuçlar mavi boya BB'nin dünyadaki kullanımına herhangi bir sınırlama getirmede yetersiz kalmaktadır. Yakın zamandaki toksikolojik mavi boya araştırmaları in-vivo olarak (Ermiş, 2019; Uysal & Semerdöken, 2011) *Drosophila melanogaster* üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasında da *Allium cepa* testi kullanılarak, mavi gıda katkı boyası (BB)'nin farklı konsantrasyonlarda kullanıldığında canlı hücrelerde yapabileceği genotoksik etkiler in-vivo olarak araştırılmıştır.

BÖLÜM 2

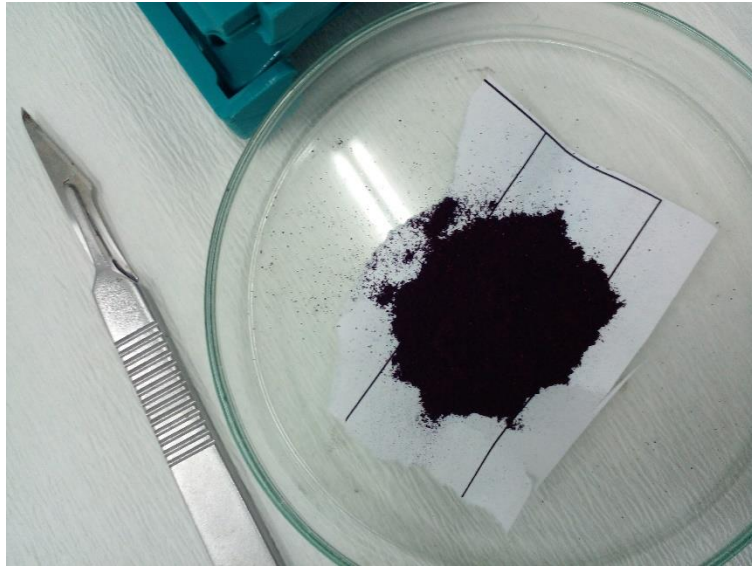
MATERYAL ve METOD

2.1.Deney Grupları

Çalışma süresince mavi gıda boyasının genotoksik etkilerini *Allium cepa* (L.) üzerinde araştırmak için hazırlanan deney düzenekleri üç ana gruba ayrılmıştır. Bunlardan ilk gruptaki deneylerde, farklı konsantrasyonlarda boya içeren düzeneklerde mavi boyanın kök uçları uzamasına olan etkileri araştırılmıştır. İkinci grup deneylerde, yine belirlenen konsantrasyonlarda boya içeren düzeneklerde yetiştirilen soğan kök ucu meristematik hücrelerindeki mitoz bölünme evrelerindeki (profaz, metafaz, anafaz, ayrıca interfaz) sayılar araştırılmıştır. Üçüncü olarak, mitoz evreleri kayıt edilen aynı preparatlardaki mitoz bölünme anormallikleri kayıt edilmiş ve istatistiksel analizler yapılarak yorumlara gidilmiştir. Bunlara ilave dördüncü bir grup olarak da, her bir deney grubu için ayrıca negatif kontrol grupları da hazırlanmıştır. Boya muamele gruplarında elde edilen sayısal verilerin kontrol grubundan ve birbirlerinden istatistiki olarak farklılık gösterip göstermediği saptanmaya çalışılmıştır.

Kök ucu uzunluklarının araştırıldığı deneylerde her bir grup için 9 adet replikat kullanılmıştır. Yani, her bir deney grubu için hazırlanan 9 adet ayrı bardak içerisindeki çözeltilerde, soğan örnekleri kök gelişimi için yetiştirilmiştir. Deneylerde kullanılan herhangi bir kimyasal maddeye maruz bırakılmadan üretildiği bilinen soğanlar, yerel marketlerden satın alınmıştır. Deneylerde, hacmi 19 (ml), çapı 5,5 (cm) ve yüksekliği 12 (cm) olan her bir bardağa birer adet *Allium cepa* soğanı konmuştur. Her bir soğanın ortalama çapı 3,5 (cm) ve ağırlığı da 10 (gr) civarında kayıt edilmiştir. Deneylere başlamadan önce, soğanların kök uçlarındaki kurumuş kısımlar ve en dış tabakadaki artık

kabuklar temizlenmiştir. Deney düzenekleri kurulmadan önce stok soğanlar bir gün su içerisinde bırakılarak sağlıklı olup olmadıkları izlenmiştir, sağlıklı soğanlar seçilerek deney düzeneklerinde kullanılmıştır. Soğanlar kürdan vasıtasıyla sadece kökleri sıvıya değecek şekilde bardaklara yerleştirilmiştir. Deneyler esnasında bardaklarda zamanla azalan sıvı eksiklikleri, aynı konsantrasyondaki stok sıvı ilavesiyle tamamlanmıştır. Üç farklı boya konsantrasyonundaki çözeltileri hazırlamak için toz halindeki (Şekil 2.1) mavi gıda boyası (brilliant blue FCF, E133, EC Number: 223-339-8, CAS Number: 3844-45-9 Solubility in water: soluble) bilimsel materyal ve kimyasal sağlayıcı yasal özel şirketlerden satın alınmıştır. Tüm deney düzeneklerinde, boya çözeltilerini hazırlamak için doğal kaynak suyu kullanılmıştır. Bunun için, marketlerde satılan belli bir firmaya ait, kimyasal madde içermeyen taze ve güvenilir olduğu bilinen 5 litrelik damacana kaynak suyu kullanılmıştır. İlgili deney grupları için istenen konsantrasyonlardaki boya çözeltileri, toz boyanın verilen miktarı ile damacana suyu ile manyetik karıştırıcıda deneylere başlamadan bir gün önceden hazırlanmış ve stok çözelti olarak standart bir buzdolabında muhafaza edilmiştir (Şekil 2.2). Tüm deney düzenekleri aynı zamanda kurularak, tüm gruplara ait deneyler aynı zaman süreci içerisinde sürdürülerek tamamlanmıştır. Deneyler, direk ışık gün ışığı almayan ve oda sıcaklığındaki laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.1. Mavi boya çözeltisi hazırlamak için kullanılan toz halindeki Brilliant Blue E133, Mavi Boya Örneği.



Şekil 2.2. Mavi boya, Brilliant Blue E133 ile hazırlanmış üç farklı konsantrasyondaki stok boya çözeltilerinin görünümü.

2.1.1. Deney Düzenekleri

2.1.1.1 Mavi Gıda Boyasının *Allium cepa* Kök Gelişimi Üzerine Etkilerini Araştırmak İçin Hazırlanan Deney Düzenekleri

Deneyler esnasında 10 adet bardağa normal damacana suyu konarak soğanlar kök gelişimi için 3 gün bu bardaklarda bırakılmıştır. Hiç boya kullanılmayan bu 9 adet replikat kontrol grubu (K) olarak belirlenmiştir. A grubu olarak belirlenen 9 adet bardağa 200ppm'lik boya çözeltisi konmuştur. B grubu olarak belirlenen diğer 9 adet bardağa 800ppm'lik boya çözeltisi konmuştur. C grubu olarak belirlenen üçüncü deney düzeneğindeki 9 adet bardağa da 1600ppm'lik boya çözeltisi konmuştur (Şekil 2.3). Kök

uzunlukları için deney düzeneklerine yerleştirilen soğanlar, yedi gün gelişmeye bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüm deneyler sonlandırılarak soğanların kök sayıları sayılmış ve kök uzunlukları cetvel ile ölçülerek kayıt edilmiştir. Farklı deney gruplarına ait soğan ortalama uzunlukları istatistiksel olarak analiz edilmiştir.



Şekil 2.3. Üç farklı konsantrasyonda boya çözeltisi ve kaynak suyu içeren deney düzeneklerindeki soğan örnekleri.

2.1.1.2. Mavi Gıda Boyasının *Allium cepa* Kök Ucu Meristematik Hücrelerinde Mitoz Bölünmeye Olan Etkisi (Mitotik İndeks) ve Kromozomal Aberasyonlar (CA)'ın Saptanması.

Üç farklı konsantrasyondaki mavi boya ile muamele edilen 3 farklı gruba ait soğan kök uçlarında meydana gelebilecek genotoksik etkileri saptamak amacıyla kök uzunluğu deneylerinde kullanılan soğanlardan başka soğanlar kullanılmıştır. Bu amaçla üç ayrı boya konsantrasyonundaki çözeltiyi ve normal suyu içeren bardaklardaki düzeneklerde, önceki bölümlerde bahsedilen aynı kaynaktan sağlanan aynı özellik ve kalitedeki soğanlar yetiştirilmiştir. Her dört grup için dokuz adet (dokuz ayrı bardak içine birer soğan konmuştur). Bu dört gruba ait soğanlar laboratuvarında üç gün gelişmeye bırakılmıştır, üç gün sonunda 2-3cm uzunluktaki kök uçları kesilerek preparatlar yapılmış bunlar x40 büyütme ışık Olympus CX22 ışık mikroskobunda incelenmiştir. Her bir soğandan 6 adet kök ucu ve her bir kök ucunda, 500 hücre incelenmiştir (her bir grup için: 9 soğan (4 grup X 9 = toplam 36 adet soğan), her bir soğan için 6 kök (36x6= toplam 216 kök);

(toplam 216 X 500 =108000) hücre incelenerek mitoz (profaz, metafaz, anafaz ve telofaz) ve interfaz aşamaları kayıt edilmiştir. Bölünme halinde olan hücreler içerisinde anormal bölünme durumunda olanların, anormal durum (CA = Kromozomal Aberation) tipleri “Fiskesjö, 1985” e göre gruplandırılarak bunların sayıları kayıt edilmiştir. Preparatlar Olympus C21 ışık mikroskobunda x400 büyütmede incelenerek fotomikroskop kamerası ile fotoğrafları çekilmiştir.

2.1.1.2.1. Mikroskop Preparatlarının Hazırlanması

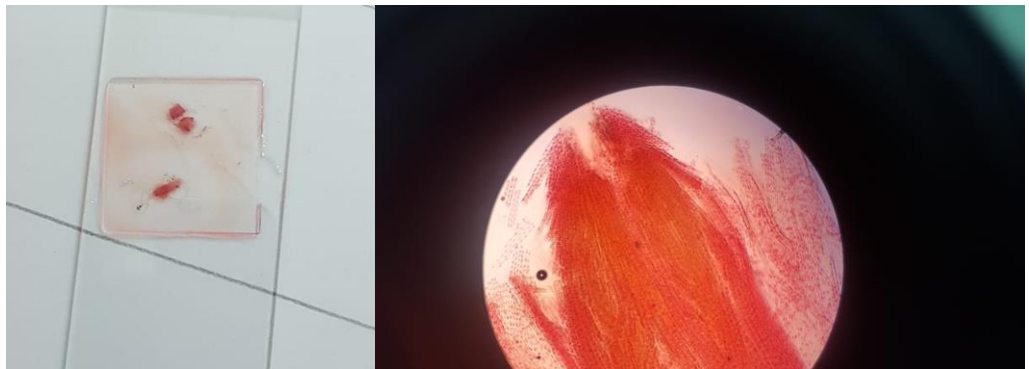
Deney düzeneklerinden elde edilen kök örnekleri ezme preparat yöntemi (Fiskesjö, 1985) ile hazırlanmıştır (Şekil 2.4). Kontrol grubu ve diğer üç grup için hazırlanan düzeneklerde yetiştirilen soğan kök uçlarının meristematik kısımları keskin bistüri ile kesilerek Carnoy sıvısında 48 saat fikse edilmiştir. Her bir soğan kökünden 9 adet kök ucu Carnoy da fikse edildikten sonra bu örnekler daha sonraki analizler için %70 alkol içeren muhafaza şişelerine aktarılmıştır. Daha sonra alkol içerisindeki muhafaza şişelerinden her bir kök ezme preparat (Şekil 2.4) yapılarak hücreler mikroskopta incelenmiştir.

2.1.1.2.2. Ezme Preparat Yapımı

Ezme preparat yapımı için, alkol içeren stok şişelerden alınan her bir kök ucu bir saat camın içerisine konmuş ve bunun üzerine 3 damla HCL (1 M) damlatılmıştır. Saat camı, Bunsen beki (ispirto ocağı) kullanılarak 5 saniye kadar ısıtılmıştır. 10 dakika beklendikten sonra kök uçları distile su ile üç defa yıkanmıştır. Daha sonra kök uçları, başka bir saat camı içerisine alınarak üzerine 3 damla asetokarmin boyası damlatılıp ispirto ocağında 5 saniye ısıtılmıştır. Kök uçlarındaki kromozomların boyayı alması için 10 dakika beklenmiştir. Boyanan kök uçları lam üzerine alınarak üzerine bir damla su damlatılmıştır, son olarak bunlar lamel ile kapatılarak yavaşça ezilmiş ve mikroskopta incelenmiştir (Şekil. 2.5).



Şekil 2.4. Laboratuvarında ezme preparat yapımı.



Şekil 2.5. Ezme preparat halinde hazırlanmış *A. cepa* kök uçlarının lam lamel arasındaki görünümü (soldaki resim) ve meristematik hücrelerin mikroskofta görünümü (sağdaki resim).

2.2. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde üç farklı boya ile muamele edilen gruplardaki ortalama kök uzunlukları ve kök sayılarının kontrol grubundan farklı olup olmadığı ayrıca grupların kendi aralarındaki farklılığı saptanmıştır.

Üç farklı gruba ait toplam mitoz bölünme geçiren hücre sayılarına bağlı mitotik indekslerin kontrol grubundan ve kendi aralarında farklı olup olmadığı karşılaştırılmıştır. Ayrıca aberant hücre sayılarının da kontrol grubundan ve kendi aralarında farklı olup olmadığı istatistik testlerle analiz edilmiştir.

Farklı üç konsantrasyondaki mavi gıda boyası ile muamele edilen soğan köklerinin uzamasını etkileyip etkilemediğini araştırmak için 200ppm, 800ppm ve 1600ppm'lik konsantrasyonlarda mavi boya içeren ve boya içermeyip sadece normal kaynak suyu içeren (kontrol grubu) kaplarda gelişmeye bırakılan soğanların kök uzunlukları (cm) ortalamalarının istatistiki olarak farklı olup olmadığını saptamak için ANOVA testi uygulanmıştır. ANOVA sonuçlarına göre gruplar pair-wise olarak karşılaştırılırken ise Tukey testi uygulanmıştır. ANOVA testi uygulamadan önce deney grupları ortalamalarının Kontrol grubundan farklı olup olmadığı Dunnet Testi kontrol edilmiştir.

Dört deney grubuna ait soğanların ortalama kök sayılarının farklı olup olmadığını saptamak için ise Kruskal-Wallis Testi uygulanmıştır.

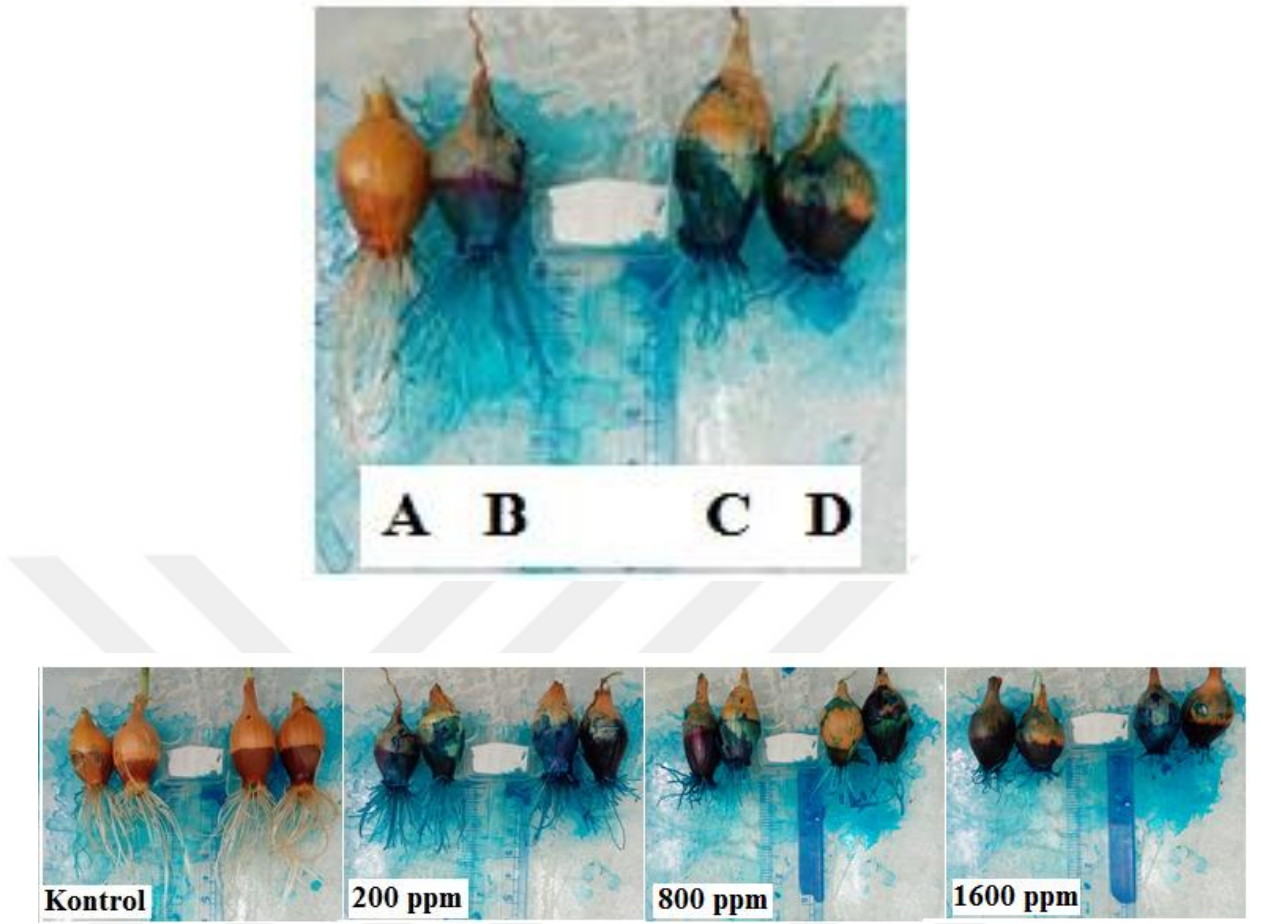
Deney gruplarına ait ilgili sayısal veriler gerekli yerlerde tablolarda verilmiştir. Ayrıca istatistiksel karşılaştırmaların daha iyi anlaşılabilmesi için sayısal veriler istatistiksel parametreler baz alınarak grafiklerde gösterilmiştir. İstatistiksel testlerde, 0,05 düzeyi anlamlık değerleri kullanılmıştır. İstatistik analizlerde Minitab 14 analiz programı ve Sokal & Rohlf, (1995)'den yararlanılmıştır.

BÖLÜM 3

BULGULAR

3.1. Mavi Gıda Boyasının *Allium cepa* Kök Uzamasına Olan Etkisi

Üç farklı konsantrasyondaki mavi boya ile muamele edilen 3 farklı gruba ait soğan kök uzunlukları ve kontrol grubuna ait kök uzunlukları (Şekil 3.1) na ait istatistik parametreler aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 ve 3.5) verilmiştir. Bu gruplara ait kök uzunlukları ortalamaları kendi içlerinde ANOVA ile test edildiğinde üç boya grubunun kendi içlerinde istatistiki olarak anlamlı bir fark göstermediği ortaya çıkmıştır ($P>0,05$). Sadece kontrol grubundan, K5 teki ortalamanın diğerlerinden yüksek olduğu ve K8 grubunun ortalamasının da düşük olduğu görülmektedir. İstatistik testlerde bu iki grup dikkate alınmayabilir, çünkü aynı kökenden örnek soğanlar kullanılmış olsa da genetik ve çevresel faktörler bazen istisnai farklılıklara neden olabilir. Böylece 3 farklı boya grubu ile ve kontrol grubu ile muamele edilen soğanların ortalama kök uzamaları anlamlı bir istatistiki fark göstermektedir (ANOVA; $F= 43,90$; $P<0,001$). Şekil 3.2'deki grafikten de anlaşılacağı üzere kontrol grubuna ait soğan köklerinin ortalama uzunluğu ($8,643\pm 1,332$) tüm üç gruptan yüksek olarak istatistiki bir fark içermektedir. 200ppm grubundaki kök ortalama uzunlukları kontrol grubundakilerden kısa ($7,301\pm 1,048$) ama diğer iki gruptan daha fazladır. 1600ppm grubundaki köklerin ortalama uzunluğu ($4,511\pm 0,439$) tüm gruplardan daha kısa olmasına rağmen, 800ppm grubundaki kök uzunlukları ortalamasından ($4,574\pm 0,630$) istatistiki olarak anlamlı bir fark göstermemektedir.



Şekil 3.1. Kontrol grubu ve üç farklı konsantrasyondaki boya çözeltisi içeren düzeneklerde yetiştirilen *A. cepa* örneklerinin kök uzunluklarına ait resimler. Üstte A: kontrol; B: 200 ppm; C: 800 ppm D: 1600 ppm Altta kontrol ve diğer üç grup kökleri.

Dört farklı deney grubuna ait soğan köklerinin ortalama sayıları (Çizelge 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 ve 3.5) incelendiğinde 200ppm grubunun en düşük, kontrol grubunun ise en yüksek ortalamaya sahip olduğu görülmektedir. Bu dört grubu ait sayısal verilere Kruskal-Wallis Testi uygulandığında, soğan kök sayısı ortalamalarının istatistiki olarak anlamlı bir farka sahip olmadığı ($H=4,42$; $SD=3$; $P>0,05$) ortaya çıkmaktadır. Böylece soğan kök sayısı genel ortalaması bu çalışmadaki soğanlar için 26 olarak ortaya çıkmıştır. Çizelge 3.5.'den de açıkça anlaşılacağı üzere, mavi gıda boyasının soğan kök sayılarını etkilemediği ortaya çıkmaktadır.

Çizelge 3.1. Kontrol grubuna ait soğan köklerinin uzunluklarını (cm) gösteren tanımlayıcı istatistik parametreleri (Genel toplam:269 adet kök) .

Grup	N	AO	SH	SS	Med	Min	Max
K1	38	8,226	0,232	1,428	8,800	5,400	10,200
K2	43	8,158	0,226	1,479	8,200	4,200	10,200
K3	31	8,387	0,263	1,467	8,400	4,800	10,800
K4	23	8,435	0,285	1,368	8,200	5,600	13,800
K5	20	11,730	0,264	1,179	11,800	9,800	10,800
K6	27	9,000	0,287	1,492	9,600	6,200	11,200
K7	20	8,830	0,321	1,437	9,300	5,200	11,200
K8	26	6,677	0,243	1,241	7,000	4,600	9,800
K9	41	8,380	0,152	0,976	8,600	4,600	9,800

Çizelge 3.2. 200ppm konsantrasyondaki mavi gıda boyası ile muamele edilen soğan Köklerinin Uzunluklarını (cm) gösteren tanımlayıcı istatistik parametreleri (Genel toplam:234 adet kök).

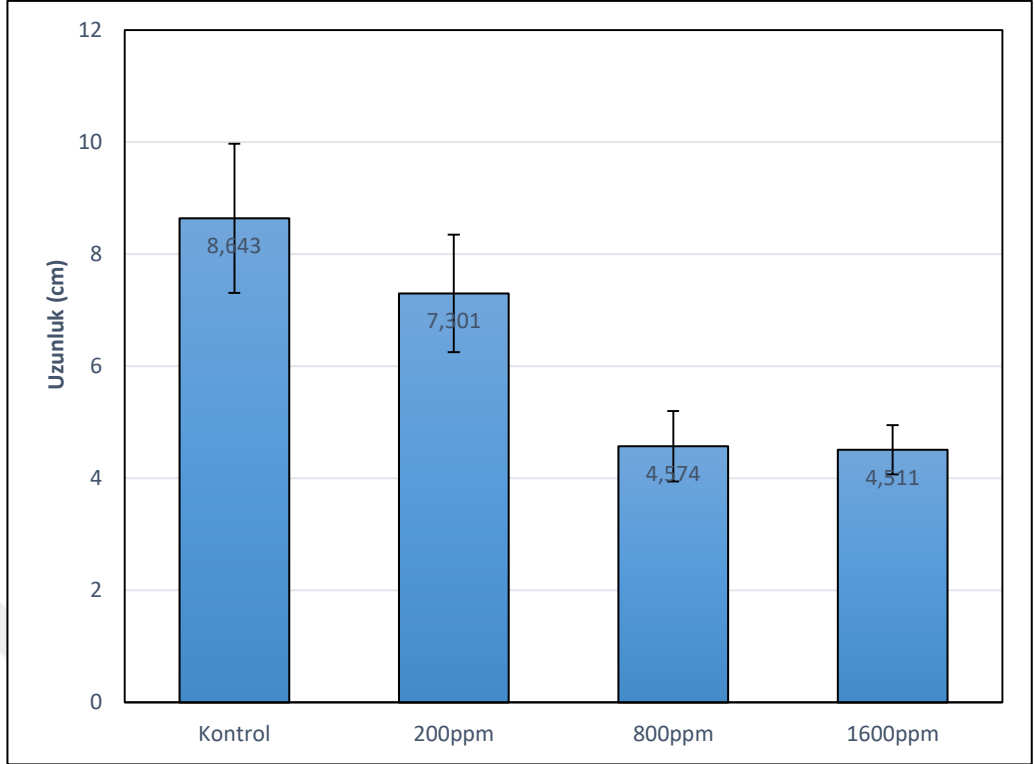
Grup	N	AO	SH	SS	Med	Min	Max
200ppm1	38	6,547	0,181	1,114	6,600	3,800	7,400
200ppm2	48	5,875	0,167	1,156	6,000	3,000	6,400
200ppm3	25	7,784	0,369	1,845	8,000	4,000	9,200
200ppm4	26	6,254	0,229	1,167	6,300	3,800	7,200
200ppm5	22	8,709	0,202	0,950	8,600	7,000	9,450
200ppm6	16	8,537	0,391	1,562	9,200	5,000	9,700
200ppm7	19	7,474	0,293	1,276	7,800	5,000	8,400
200ppm8	25	6,472	0,266	1,330	7,000	3,800	7,800
200ppm9	15	8,107	0,428	1,659	8,400	4,800	9,800

Çizelge 3.3. 800ppm konsantrasyondaki mavi gıda boyası ile muamele edilen soğan köklerinin uzunluklarını (cm) gösteren tanımlayıcı istatistik parametreleri (Genel toplam:235 adet kök).

Grup	N	AO	SH	SS	Med	Min	Max
800ppm1	39	5,708	0,140	0,875	6,000	4,000	7,000
800ppm2	35	4,531	0,169	0,999	4,400	3,000	6,000
800ppm3	28	4,100	0,105	0,554	4,00	3,000	5,200
800ppm4	17	4,741	0,185	0,764	5,000	3,200	5,800
800ppm5	25	3,496	0,098	0,490	3,400	2,800	4,200
800ppm6	31	5,142	0,197	1,099	5,200	3,000	7,000
800ppm7	21	4,448	0,148	0,678	4,600	2,800	5,400
800ppm8	19	4,263	0,162	0,706	4,600	2,800	5,200
800ppm9	20	4,770	0,366	1,637	4,900	2,600	7,000

Çizelge 3.4. 1600ppm konsantrasyondaki mavi gıda boyası ile muamele edilen soğan köklerinin uzunluklarını (cm) gösteren tanımlayıcı istatistik parametreleri (Genel toplam:198 adet kök) .

Grup	N	AO	SH	SS	Med	Min	Max
1600ppm1	21	4,667	0,242	1,107	4,800	2,200	6,800
1600ppm2	28	4,700	0,149	0,788	4,900	3,000	6,000
1600ppm3	19	4,874	0,215	0,936	5,200	3,000	6,200
1600ppm4	14	5,157	0,199	0,745	5,200	3,000	6,200
1600ppm5	21	3,800	0,143	0,654	3,800	2,800	5,000
1600ppm6	23	4,017	0,166	0,798	4,000	3,000	6,000
1600ppm7	18	4,467	0,235	0,999	4,300	3,000	6,200
1600ppm8	36	4,178	0,131	0,787	4,200	3,000	6,000
1600ppm9	18	4,478	0,155	0,658	4,800	3,000	5,200



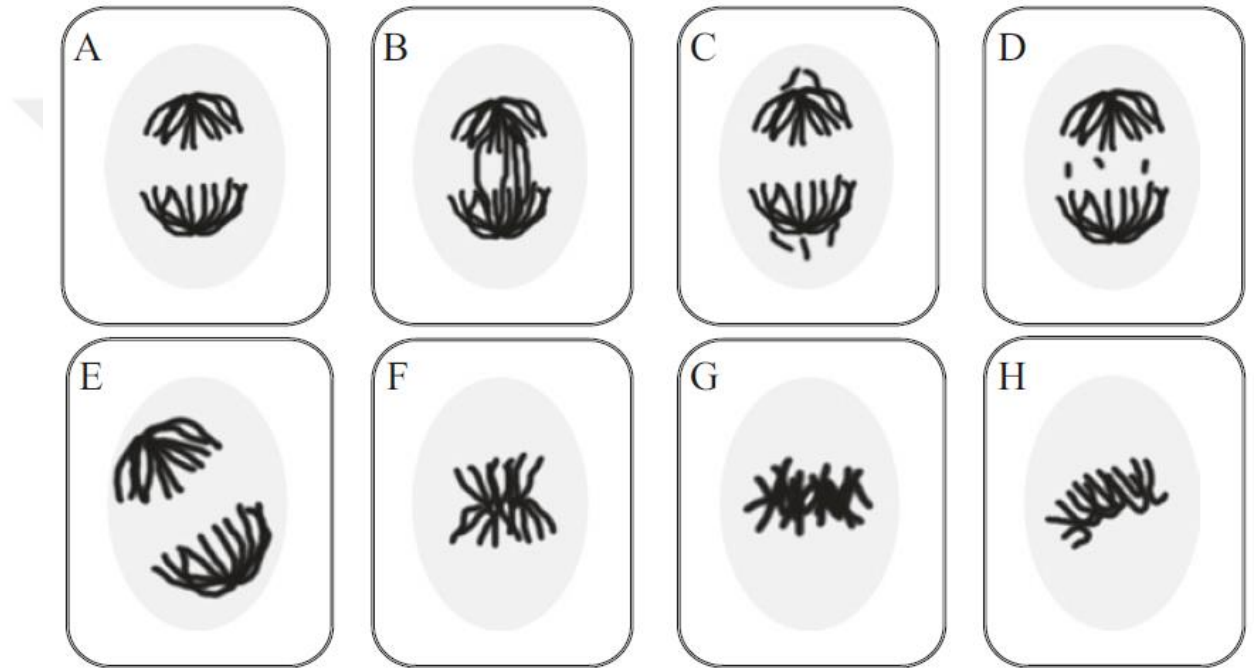
Şekil 3.2. Üç farklı mavi boya konsantrasyonu ve kontrol grubundaki soğan köklerinin uzunlukları (AO±SS)

Çizelge 3.5. Dört deney grubuna ait soğan köklerinin sayılarını gösteren tanımlayıcı istatistik parametreleri.

Grup	N	AO	SH	SS	Med
Kontrol	9	29,89	2,96	8,87	27,00
200ppm	9	22,00	2,17	6,52	21,00
800ppm	9	26,00	3,57	10,70	25,00
1600ppm	9	26,11	2,56	7,67	25,00

3.2. Mavi Gıda Boyasının *Allium cepa* Kök Ucu Meristematik Hücrelerinde Mitoz Bölünmeye Olan Etkisi (Mitotik İndeks) ve Kromozomal Aberasyonlar (CA).

Mavi gıda boyasının değişik konsantrasyonlarını içeren düzeneklerde yetiştirilen meristematik kök hücrelerinde rastlanan başlıca mutasyon tiplerini sınıflandırmada Fiskesjö (1985) esas alınmıştır. Şekil 3.3’de verilen bu aberasyon çeşitleri aşağıda kısaca tanımlanmıştır.



Şekil 3.3. Çalışma esnasında rastlanan en yaygın kromozom aberasyon tiplerinin şematik görünümü: A) Normal anafaz; B) Kromozomal köprü; C) Dağınık kromozomlar; D) Kopuk kromozomlar; E) Diagonal anafaz; F) Normal metafaz; G) Yapışık kromozomlar H) C mitoz, (Grana, 2018).

Bridge (Kromozomal köprü): DNA'nın kendini eşlemesi ile oluşan kardeş kromatidlerden bazılarının birbirine yapışık kalarak ayrılmaması veya ayrılmada gecikmesi sonucu iki grup kromozomlar arasında bağlı kalması. Anafazda görülür.

Vagrant (Dağınık kromozom): Mikrotübüll oluşumundaki aksaklıktan dolayı kromozomların kutuplara hareketinin engellenmesi. Anafazda görülür.

Fragmented (Kopuk kromozomlar): Bazı kromozomlardan parçalar kopması. Anafazda görülür.

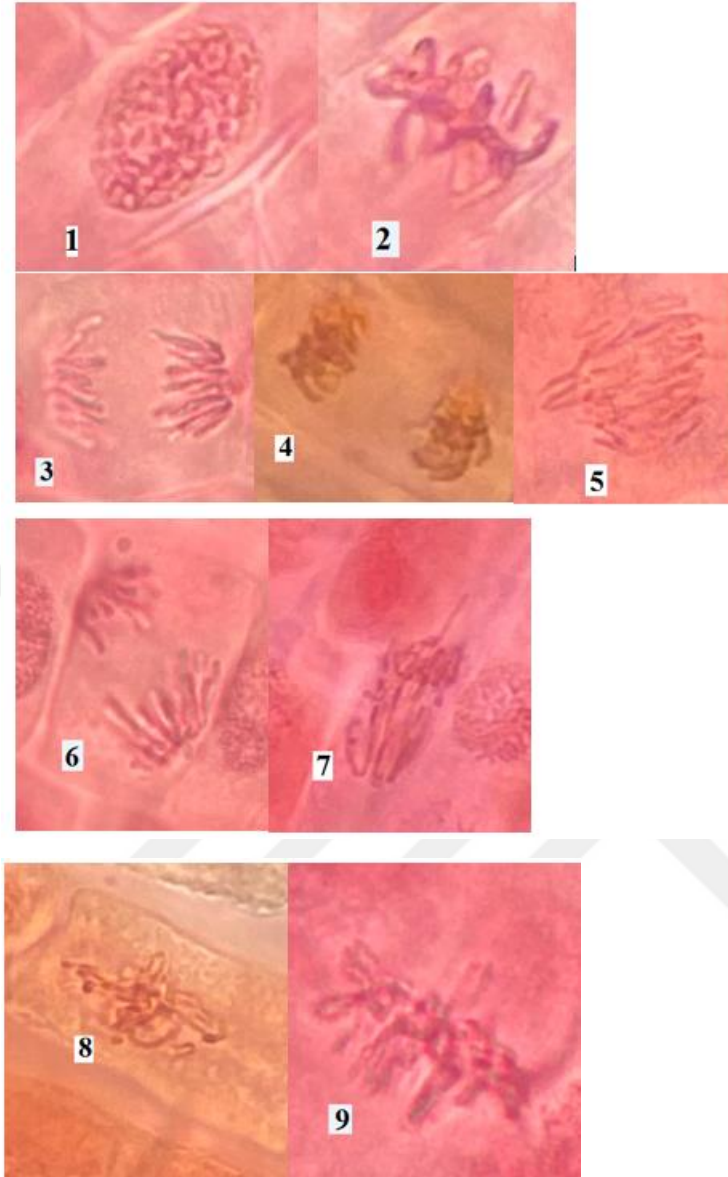
Diagonal anafaz (Anafazda yanlış kutuplaşma): Anormal iğ iplikleri oluşumu sonucu, kromozomların hücrenin köşe kısımlarına doğru yönelmesi. Anafazda görülür.

Sticky (Yapışık kromozomlar): Kromozomların, bağımsız hareket özelliklerini yitirerek ayrılmadan birbirine yapışıkmiş gibi kümelenmesi. Herhangi bir evrede görülebilir.

C-Mitoz: İğ iplikleri oluşumunun engellenmesi sonucu kromozomların hücre plağında hareket etmeden kalması.

Diğer birçok toksik maddelerin ve zararlı çevresel etkenlerin rol oynadığı yukarıda tanımlanan kromozomal aberasyonlar, bu çalışma sonucunda da mavi boyanın etkisiyle meydana gelmiştir. Deney düzeneklerinde uygulanan mavi boyanın konsantrasyonu artıkça mitotik indeks değerleri düşmüş ve kromozom aberasyon sayıları da artma eğilimi göstermiştir. Bu çalışma esnasında kayıt ettiğimiz bazı kromozom aberasyon fotoğrafları da Şekil 3.4' de gösterilmiştir.

Mavi gıda boyası ile muamele edilen, üç grup ve kontrol grubuna ait mitoz bölünme (profaz+metafaz+anafaz+telofaz) sayıları ve CA sayıları ile ilgili istatistik parametreler Çizelge 3.6'de verilmektedir. Tablodaki sayısal verilerden ve Şekil 3.6'den anlaşılacağı üzere, 200ppm grubundaki hücrelerde mitoz sayı ortalamaları diğer grupların hepsinden daha yüksektir. Kontrol grubu bu sıralamada ikinci olarak yer almakta, 800ppm grubu kontrol grubunu izlemektedir. 1600ppm grubu en az mitoz bölünme sayılarına sahiptir.



Şekil 3.4. Normal Mitoz bölünme evreleri ve mavi boya etkisiyle *A. cepa* meristematik kök hücrelerinde görülen bazı kromozom aberasyonlarının mikroskop resimleri: 1) Normal profaz; 2) Normal metafaz; 3) Normal anafaz; 4) Normal telofaz; 5) Vagrant; 6) Diagonal anafaz; 7) Bridge ve vagrant; 8) Fragmented ve vagrant; 9) Sticky.

Kromozom aberasyon sayıları incelendiğinde, bu grupta sadece 8 soğanda toplam 44 aberasyona rastlanmıştır. Kontrol grubu ve üç boya muamele grubundaki hücrelerde görülen kromozom aberasyon sayıları karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında farklar ortaya çıkmaktadır. Kontrol grubundaki kromozom aberasyon ortalamasının en düşük olduğu görülmektedir. Diğer gruplarda yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona

doğru aberasyon ortalamaları azalmaktadır (Şekil. 3.7). Mavi gıda boyasının soğan kök hücrelerindeki etkisiyle ilgili aktif mitotik indeks (AMI), aŗađıdaki formülden hesaplanabilir (Abubacker & Sathya, 2017). Bu çalıŗmada incelenen hücre sayısı 500 olarak alınmıŗtır.

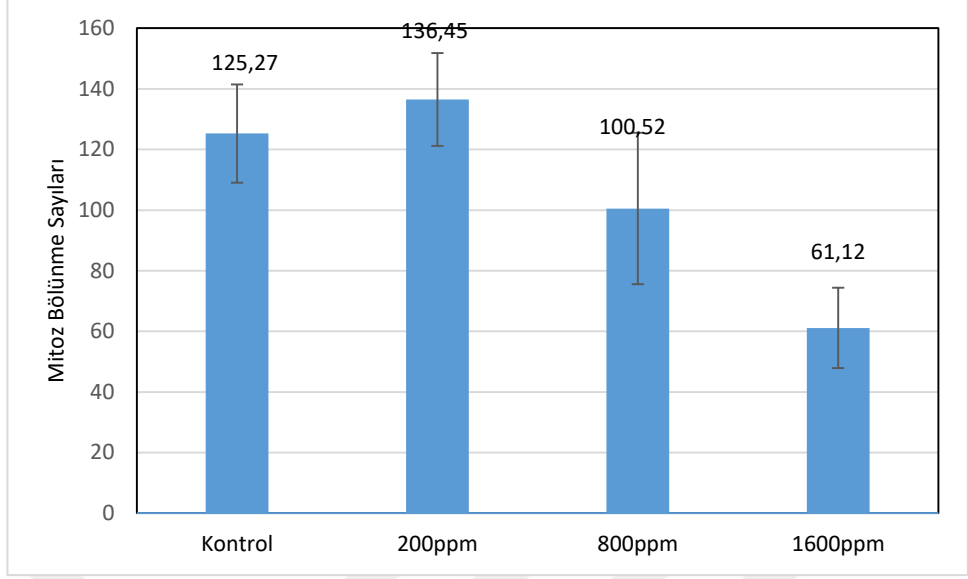
$$\text{Aktif Mitotik İndeks (AMI) \%} = \frac{\text{Mitozdaki hücre sayısı}}{\text{İncelenen hücre sayısı}} \times 100$$

$$\text{Aberasyon (\%)} = \frac{\text{Anomal bölünmedeki hücre sayısı}}{\text{İncelenen hücre sayısı}} \times 100$$

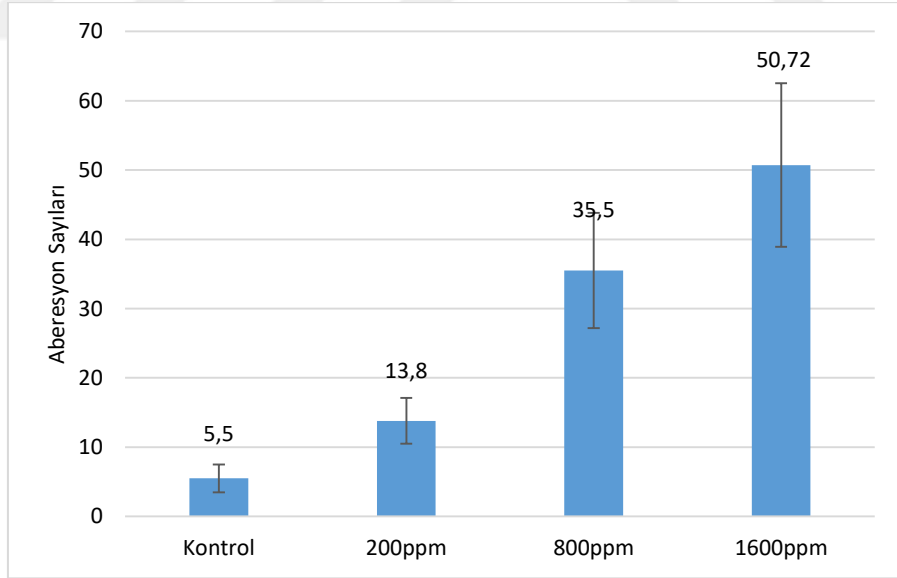
Bu verilere bağlı olarak mavi gıda boyasının *Allium cepa* kök ucu meristematik hücrelerindeki aktif mitotik indeks (%) Çizelge 3.6. de ve Aberasyon (%) değerleri Çizelge 3.7' de, verilmiŗtir. Bu çizelgelerden anlaŗılacađı üzere, İstatistik testler hem AMI (%) hem de CA (%) ortalama değerlerinin, kontrol ve diğer gruplar arasında anlamlı farklara sahip olduğunu ortaya çıkarmaktadır. AMI (%) 200ppm grubunda en yüksektir ve onu daha sonra kontrol ve 800ppm grubu izlemektedir. En düşük AMI (%) değerinin 1600ppm grubunda olduğu görölmektedir. CA (%) değerleri ise en yüksek olan 1600 ppm grubundan en düşük olan kontrol grubuna doğru değişim göstermektedir. Gruplar arasındaki MI (%) ve CA (%) değerlerinin değişimleri Şekil 3.8'de daha belirgin olarak görölmektedir.

Çizelge 3.6. Kontrol grubu ve üç farklı konsantrasyon grubuna ait soğan kök hücrelerinde kayıt edilen mitoz bölünme ve kromozom aberasyon (CA) sayıları ile ilgili istatistik parametreler. tabloda farklı büyük harfler, test sonucunda ilgili grup ortalamalarının istatistiki olarak anlamlı bir farka sahip olduğunu ifade etmektedir.

GRUP	MİTOZ				CA			
	AO	SS	SE	Med	AO	SS	SE	Med
Kontrol	125,27	16,22	2,09	122,50	5,50	2,00	0,71	5,00
200ppm	136.45	15,31	1,98	134.50	13.80	3,31	0,42	14,00
800ppm	100.52	24,96	3,22	98,00	35,50	8,32	1,07	35,00
1600ppm	61,12	13,26	1,76	61,00	50.72	11,80	1,56	30,00



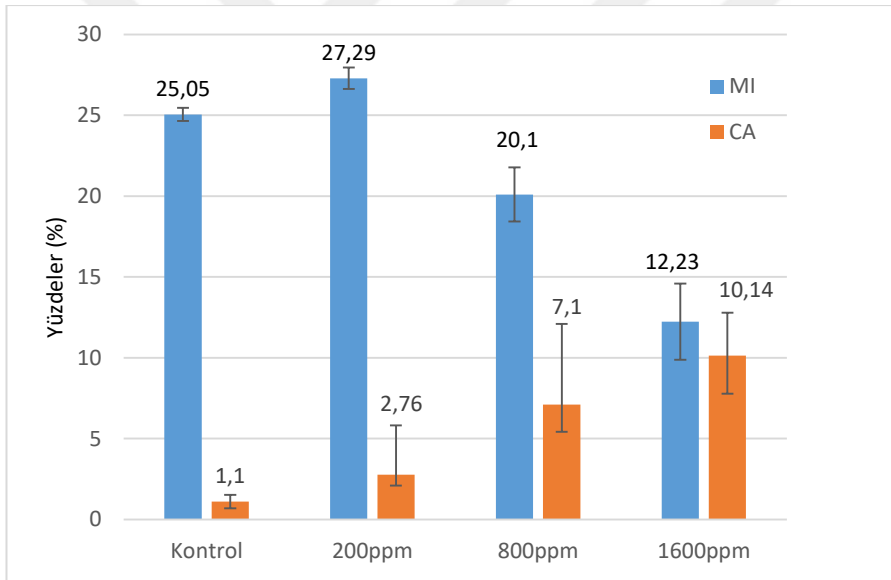
Şekil 3.5. Üç farklı mavi boya konsantrasyonu ve kontrol grubundaki soğan köklerindeki mitoz bölünme sayıları (AO±SS).



Şekil 3.6. Üç farklı mavi boya konsantrasyonu ve kontrol grubundaki soğan köklerindeki CA sayıları (AO±SS)

Çizelge 3.7. kontrol grubu ve üç farklı gıda boyası uygulanan deney gruplarındaki AMI % (Aktif Mitotik İndeks) ve CA % değerlerini gösteren istatistik parametreler. Değişik harfle belirtilen gruplar istatistik olarak anlamlı farka sahiptir.

Grup	AMI (%)			CA (%)		
	AO	SS	test	AO	SS	test
	F=198,81; P<0001			F=221,98; P<0001		
Kontrol	25,05	0,42	A	1,10	0,41	A
200ppm	27,29	3,06	B	2,76	0,66	B
800ppm	20,10	4,99	C	7,10	1,67	C
1600ppm	12,23	2,65	D	10,14	2,36	D



Şekil 3.7. Mavi gıda boyasının *Allium cepa* kök ucu meristematik hücrelerinde meydana getirdiği AMI (%) ve CA (%) değerleri.

BÖLÜM IV

SONUÇ ve TARTIŞMA

4.1. Kök Uzunluğu ve Kök Sayısı

Mavi gıda katkı boyası, Brilliant Blue E133'ün canlı hücrelerde sitotoksik ve genotoksik etkilerini araştırmak için *Allium cepa* örneklerinde in-vivo olarak gerçekleştirilen bu tez çalışması sonuçları, mavi gıda boyasının net olarak canlı hücrelere zararlı olduğunu göstermiştir. Deneysel sonuçlar, mavi boyanın farklı konsantrasyonlarıyla muamele edilen soğan kök hücrelerinde mitoz bölünme üzerine zararlı etkilerde bulunarak, köklerin uzamasını inhibe etmiş, mitoz bölünmesi evrelerinde kromozomların normal düzenlenmesinde aksaklıklar meydana gelmesine neden olmuştur. Fakat farklı konsantrasyonlardaki boya çözeltilerinde yetiştirilen *A. cepa* örneklerinin kök sayılarında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık ortaya çıkmamıştır. Bu çalışma daha önce gıda katkı maddeleri ile yapılan benzer çalışmalara paralellik göstermesi açısından önem taşımasının yanı sıra, ilk defa mavi gıda boyasının *A. cepa* hücrelerde yaptığı zararları net olarak kanıtlaması açısından önem taşımaktadır. Çünkü mavi boya E133'ün gıda katkılarında kullanımının zararları ile ilgili çalışma sayısı ise oldukça sınırlıdır. Dolayısıyla, daha önce mavi gıda katkı boyasının insan sağlığı açısından zararlarını in-vivo olarak *A. cepa* da net olarak gösteren bir deneysel çalışma bulunmamaktadır. Kısacası, belirli bir dozdan sonra, mavi gıda boyası, sitotoksik etki yaparak mitoz bölünmeyi baskılamakta ve kök büyümesi engellenmektedir. Yine genotoksik etki sonucu hücre döngüsünde ve belirgin olarak mitozdaki aksaklıklar, kromozom aberasyonlarına yol açmaktadır.

Bu çalışmadaki mavi boyanın *A. cepa* kök uzunluklarının büyümesi üzerine olan deney sonuçları oldukça önem taşımaktadır. Çünkü normal içme suyu içeren düzeneklerde yetiştirilen *A. cepa* kök uzunluk ortalamaları, 200, 800 ve 1600ppm boya içeren çözeltilerdeki soğan köklerinin uzunluk ortalamalarından belirgin bir şekilde daha yüksektir. Çözeltilerdeki boya konsantrasyonu artıkça doza bağlı olarak mitoz bölünme, dolayısıyla kök büyümesi baskılanarak kök boyları kısa kalmaktadır. Kök uzunluğu ile ilgili sayısal verilerin istatistik analiz sonuçları da mavi gıda boyasının soğan kök hücrelerinde sitotoksik etki göstererek mitozu engellediğini açıkça kanıtlamaktadır. Kontrol grubuna ait soğan köklerinin ortalama uzunluğu ($8,643 \pm 1,332$), diğer gruplardakine göre özellikle 1800ppm grubundaki köklere ($4,574 \pm 0,630$) göre belirgin olarak daha uzundur. Böylece benzer bazı çalışmalarda olduğu gibi, bu çalışma da toksik maddelerin hücrelerde yaptığı zararları özellikle sitotoksik etkileri saptamada, kök uzunluğu (Cabuga vd., 2017; Fusconi, Gallo, & Camusso, 2007; Qin, Jiao, Zhang, Jiang & Liu, 2010; Yıldız & Arıkan 2008) oldukça yararlı bir parametre olarak kendini göstermektedir. Çünkü kök uzaması, büyüme esnasında kök apikal sistemlerinde baskılanma sonucu meydana gelen değişimleri açığa çıkarmaktadır. Soğan testi araştırmalarına öncü olarak gösterilebilecek çalışmada Fiskesjö (1985), *A. cepa* deneylerinde bazı kimyasalları ve bu çalışmadaki gibi normal içme suyunu kontrol grubu olarak kullanmış, çeşme suyu grubundaki soğan kök uzunluk ortalamalarının bu çalışmadaki uzunluklarla hemen aynı olduğunu göstermiştir. Benzer kök uzunluğu ortalamaları, insan sağlığı ilaçlarında kullanılan 2-(bromoacetamido) phenylboronic acid adlı maddenin *A. cepa* üzerindeki araştırmasında (Khalil, Salman, & Al-Qaoud, 2017) da bulunmuştur. Normal çeşme suyunun kontrol olarak kullanıldığı benzer çalışmalarda, bu çalışma sonuçlarını destekler veriler mevcuttur. Değişik kirleticilere maruz kalmış doğal su örneklerinin (Cabuga vd, 2017; Firbas & Amon, 2013; Vujošević vd., 2008;) test edildiği ayrıca bazı pestisidlerin (Ogeleka vd., 2016) zararlı etkilerinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda kontrol *A. cepa* kök ortalama uzunlukları bu çalışma sonuçlarına benzer ölçülerde çıkmış ve toksik test maddelerinin kök uzamasını engellediği ortaya çıkarılmıştır. Bazı araştırmacılar, *A. cepa* ve diğer bitkiler (Fatma, Verma, Kamal. & Srivastava, 2018; Sreeranjini & Siril, 2011; Brkanac vd., 2014) ile yaptıkları toksite çalışmalarında distile suyu kontrol grubunda kullanmışlardır. Deneysel uygulama süreleri çok farklı olmasa da kontrol grubu olarak çeşme suyunun kullanılmadığı bu

araştırmalarda ortalama *A. cepa* kök ortalama uzunlukları, normal içme suyunun kullanıldığı bu çalışma ve diğer çalışmalara göre oldukça kısa kalmıştır. Çünkü canlı hücrelerin gelişip büyüyebilmesi için saf suda yeterince bulunmayan normal sudaki minerallere gereksinimi vardır. Bu yüzden distile suyun kontrol grubu olarak kullanıldığı çalışmalarda ortalama kök uzunluklarının kısa kalmasının nedeni distile suya bağlanabilir. Ancak canlı hücrelere zararlı olduğu düşünülen bu maddelerin test edildiği (gıda katkı maddesi, ağır metal, pestisid v.b.) belirtilen çalışmaların hepsinde de *A. cepa* kök uzamasını inhibe ettiği açıkça gösterilmiştir.

Bu alışma, gıda katkı maddelerinden olan gıda boyalarının toksik etkilerini göstermek için *A. cepa* zerinde yapılan çalışmalarda gıda boyalarının sitotoksik etki yaparak kök gelişimini olumsuz etkilediği sonuçlarını desteklemektedir. Sentetik Azo boylarından en yaygın kullanılanlardan birisi olan sarı gıda boyası tartrazin ile turuncu, kırmızı ve yeşil (Farheen, Mansoor & Abid. 2021; Gomes, vd., 2013; Khan vd., 2020; Wazhangat & Thoppil, 2016) boyların farklı konsantrasyonlarının *A. cepa* meristematik kök uçlarında sitotoksik etkisi deneysel olarak kanıtlanmıştır. Bu alışma da olduğu gibi gıda katkı boylarının test edildiği çalışmalarda, boya konsantrasyonları arttıa doza bağlı olarak sitotoksik etki kök uzamasını inhibe etmektedir.

A. cepa ile ilgili bazı toksikoloji çalışmalarında ortalama kök sayısının (Fatma vd., 2018; Sreeranjini & Siril, 2011; da uygulanan maddeye göre farklılık gösterdiği belirtilmektedir. Bu alışma sonuçlarına göre, kontrol grubu (29,89cm) ve farklı üç konsantrasyondaki mavi boya ile muamele edilen (22cm, 26cm ve 26.11cm) *A. cepa* ortalama kök sayıları farklılık göstermemiştir. Fiskesjö (1985)'in nc çalışmasında da *A. cepa* soğan ortalama kök sayısının bu çalışmadakine benzer sayıda olması, soğan kök sayılarının genetik bir parametre olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Çünkü deneylerde kullanılan soğan örneklerinin aynı kültürden elde edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bazı ağır metallerin *A. cepa* zerindeki toksik etkilerini araştıran Wierzbicka (1988), kök uzunluğu ve kök sayısının soğan byklğu ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Aynı araştırmacı deneylerinde mitotik indeks ile kök uzunluklarının korrelasyon göstermediğini saptamıştır. Bu çalışmada kullanılan soğan örneklerinin aynı popülasyondan alınmasına dikkate edildiği için ortalama kök sayıları farklılık göstermemiştir. Bu alışma, farklı yerlerden elde edilebilecek soğan eşitleri veya soğan

türlerine ait kök sayılarının gelecekteki başka çalışmaların da araştırma konusunu oluşturabileceğini işaret etmektedir.

4.2. Mitotik İndeks (MI) ve Kromozom Aberasyonları

Önceki bölümde belirtilen sitotoksik etkisinin yanı sıra, bu çalışma mavi gıda boyasının zararlarının *A. cepa* meristematik hücrelerinde genotoksik seviyede olduğunu da ortaya çıkarmıştır. Çünkü mavi boya kullanılarak *A. cepa* yetiştirilen düzeneklerde, konsantrasyon arttıkça doza bağlı olarak, meristematik kök hücrelerindeki mitotik indeks değerleri düşmekte ve kromozom aberasyon sayıları da artmaktadır. Bu sonuçlar mavi gıda boyasının hücre döngüsünde önemli hasarlar yaptığını kanıtlamaktadır. Mitotik indeks, hücre bölünme frekansının bir ölçüsüdür. Toksik maddenin dozunun arttıkça MI değerlerinin düşmesi, mitotik inhibisyon derecesinin doza bağlı olduğunu açığa çıkarmaktadır (Vazhangat & Thoppil, 2016). Birçok gıda katkı maddesinin hücre döngüsüne zararlı etkileri düşük MI değerlerinin ortaya çıkmasıyla kanıtlanmıştır. Örneğin, besin katkı maddeleri içerisinde koruyucu olarak yaygınlıkla kullanılan sodyum benzoat, borik asid, sitrik acid, potasyum sitrat ve sodium sitrat' ın *A. cepa* (Türkoğlu, 2007) ve *Vicia faba* (Pandey & Upadhyay, 2007) kök hücrelerinde konsantrasyona ve uygulama süresine bağlı olarak MI indeks değerlerini düşürdüğü gösterilmiştir. Benzer şekilde, borik asid ve gıdalarda yaygınlıkla kullanılan sunset yellow sarısının *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin meristematik kök hücrelerinde (Kumar & Strivastava, 2011) mitoz bölünmeyi baskıladığı, düşük mitotik indeks değerleriyle saptanmış ve kromozom aberrasyonlarından sorumlu olduğu gösterilmiştir. Yine birçok gıda katkı maddesinin insan ve fare hücrelerinde DNA sentezini inhibe ederek anafaz ve interfazda kromatin yapısında bozulmalara (Nyagi & Gopalan, 1982; Sasaki vd., 2002), DNA hasarına (Hasegawa vd., 1984), kardeş kromatid değişimi ve mikroökleus oluşumlarını arttırdığı (Abe & Sasaki 1977; Ishidate vd., 1984; Meng & Zhang, 1992) kanıtlanmıştır. Böylece sentetik gıda katkı maddelerinin birçoğunun kromozom bozukluklarını arttırdığı ve DNA replikasyonunu da engelleyerek mitotik indeksin düşmesinde çıkmasında rol oynadığı gerçeği doğrulanmıştır. Birçok gıda katkı maddesinin genotoksik ve sitotoksik etkileri ise henüz bilinmemekte ve bu maddelerin kullanıldığı gıdaların tehlikeli sağlık riskleri ile insanoğlu karşı karşıyadır. Çünkü, sentetik gıda katkı maddeleri çok yoğun

konsantrasyonlarda olduğundan maliyeti ucuzlatır, uygulamada genelde teknik olarak sınırlamalar ya da dozaj limitleri de yoktur.

Şekerleme ve pastacılıktan başlayıp meşrubat ve mutfaktaki ketçapa kadar günlük birçok ürünlerde yer alan gıda katkı maddeleri (Montera vd., 2021; Pandey & Upaphyay, 2012;) içerisinde doğal ve çoğunlukla sentetik gıda katkı boyaları en fazla kullanılan maddelerindendir (Downham & Collins, 2000; Emerton & Choi, 2008; Maronpota v.d., 2020;). Gıda katkı boyalarından Tartrazin olarak bilinen sarı boya, gıdalarda yaygın olarak kullanılan sentetik boyalardan biri olup, genotoksik ve sitotoksik etkileri de en sıklıkla çalışılmış sentetik kimyasal boya örneklerinden birisidir. Tartrazin ve kırmızı boyaların sitotoksik etkilerinin *A. cepa* meristematik kök hücrelerindeki morfolojik deformasyonlara (Elhkim vd., 2007; Farheen vd., 2021) neden olduğu da saptanmıştır. Sentetik boyalardan portakal turuncusu ve limon sarısının (Koç & Pandir, 2018; Vazhangat & Thoppil, 2016;) *A. cepa* 'da kök gelişimi ve hücre bölünmesini engellediği, sitogenetik sistem, membran yapısı, mitochondrial fonksiyonlardaki aksaklıklardan sorumlu olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada mavi gıda boyasında kanıtlandığı gibi benzer birçok sentetik gıda katkı boyalarının hücrelerde sitogenetik ve genotoksik etki yaparak kromozom aberrasyonlarını artırdığı, Mitotik indeksi inhibe ettiği gösterilmiştir (Kaur v.d., 2019; Khan vd., 2020; Pandey & Upadhyay, 2012; Silva vd., 2022).

Mavi gıda boyası, "Brilliant Blue" E133, gıdalarda, kozmetikte ve ilaçları renklendirmede en yaygın olarak kullanılan sentetik boyalardan biridir (Ferreira, vd., 2016). Bakteriler, deney fareleri ve sıçanlar (Borzelleca vd., 1990; Mannel & Grice, 1964; Sasaki v.d., 2002) ile yapılan bazı çalışmalarda mavi boya E133'ün genotoksik ve mutagenik olmadığı, gelişme veya mortalitede dosa bağlı herhangi bir ters etki yapmadığı ileri sürülmüştür. Fakat yakın zamandaki çalışmalar (Ishidate vd., 1984; EFSA, 2010), mavi boya E133'ün hamster fibroblast hücrelerinde genotoxic etkisinin kromozom aberrasyonlarına yol açtığını göstermiştir. Bazı gıdalarda ve ilaçlarda renklendirici olarak kullanılan mavi boyasının, alınan konsantrasyona bağlı olarak insan üzerinde bazı enzimlerin aktivasyonunu inhibe ederek metabolik reaksiyonları engellediği ve değişik hastalıklarda rol oynayabileceği gösterilmiştir (Ferreira vd., 2016). Mavi boya E133 ile ilgili daha önceki ilk çalışmalardan birinde (Hansen vd., 1966) mavi gıda boyasının Bengal köpekleri ve farelerde kronik toksik etki sonucu ölümlere neden olabileceği

gösterilmiştir. Mavi boya E133'ün gıdalarda kullanımı, Avusturya, Belçika, Fransa, Norveç, İsveç, İspanya, İsviçre, Yunanistan ve Almanya-'da kullanımı yasaklanmış, İngiltere'de ise sınırlandırılmıştır (Pandey & Upadhyay, 2012).

Uysal & Semerdöken (2011) *Drosophila melanogaster* üzerinde mavi boya E133 ve diğer dört sentetik gıda boyasını içeren in-vivo deneylerinde, boyaların bu çalışmadaki gibi doza bağlı olarak sineklerde toksik etki gösterdiğini larvaların ergine geçiş süresini ve erginlerin de yaşam sürelerini düşürdüğünü saptamıştır. Koç & Pandir (2018) sunset yellow ve brilliant blue boyalarının *A. cepa* kök hücreleri üzerinde yaptıkları COMET çalışmalarda, bu boyaların kromozomal mutasyonlara ve DNA hasarına yol açtığını göstermişlerdir. Yakın zamanda Ermiş (2019)'in *Drosophila melanogaster* üzerinde yaptığı in vivo genoksite deney sonuçlarına göre, belirli konsantrasyonlardan sonra mavi boya BB, yavru sayısının azalmasına neden olmuş ve larvalarda oldukça mutagenik etki göstermiştir.

Gıda katkı maddeleri üzerinde yapılan birçok in-vivo ve in-vitro benzer deneysel araştırmalar, çok sayıdaki bitkisel, hayvansal ve mikrobiyal model organizmaları içermiştir. Gıda koruyuculardan, yapay tatlandırıcılara ve renklendiricilere kadar geniş bir yelpazedeki sentetik kimyasal maddeleri içeren bu çalışmaların büyük bir çoğunluğu, gıda katkı maddelerinin hücrelerde sitotoksik etkili olduğunu, birçok metabolik bozukluklara hatta genotoksiteye neden olarak kanserojen etki gösterebildiğini de kanıtlamıştır (Inetianbor, Yakubu, & Ezeonu, 2015.). Bu çalışma da *A. cepa* meristematik kök hücrelerinin toksikoloji çalışmalarında güvenle kullanılabileceği gerçeğini desteklemektedir.

Birçok bitki türünün meristematik hücreleri, çevresel kimyasal kirleticilerin ve gıda katkı maddelerinin mutagenik, kanserojen ve diğer potansiyel zararlarını ortaya çıkarabilmek için kullanılmaktadır. Bu bitkiler içerisinde değişik *Allium* spp. türleri birçok sitotoksite ve genotoksite çalışmalarında güvenle kullanılabilen bir model organizma olmuştur (Awe vd., 2012). Meristematik kök hücrelerinin yaygınlıkla incelendiği *A. cepa* bu çalışmalarda en sık kullanılan tür olmuştur. Böylelikle sentetik kimyasal çevresel kirleticilerin insan sağlığına ve diğer canlılara olan zararlı etkilerini laboratuvar ortamında *A.cepae* ile test ederek gözleyebilme deneylerini ilk defa gerçekleştiren öncü araştırmacı Fiskesjö (1985)'den beri yaygınlıkla kullanılmaktadır. Türkiye'de mutfak soğanı olarak kullanılan *A.cepae* bu toksikolojik tez çalışmasında da

başarı ile kullanılarak bu konuda geçmişte yapılan çalışmaları destekleyici sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Gelecekte de toksikoloji konularında yapılabilecek birçok çalışmaya önemli bilgiler sağlayabilecek kaynak olabilecektir.

Bu tez çalışması ile mavi boya Brilliant Blue E133'ün doz aşımına bağlı olarak canlı hücrelere zararlı olduğu açıkça kanıtlamıştır. Bu yüzden çalışma sonuçları, gelecekte bu boyanın gıda sektöründe kullanımının dikkatle gözden geçirilmesi için otoritelere uyarıcı nitelik taşımaktadır. Gıda katkı maddelerinin zararlarının en önemli nedenlerinden bazıları, gıda katkı maddelerinin bilinçsizce ve kurallara uyulmadan ve belirlenen miktarlar dışında uygunsuz olarak, kısacası gereğinden fazla olarak tehlikeli şekillerde kullanımı olmuştur. Birçok ülkede gıda katkı maddelerinin kullanımını düzenleyen kanun, tüzük ve yönetmelikler artık günümüzde güven verici aralıklarla güncellenmektedir. Örneğin, 1916 yılından beri, süt ürünleri, şekerlemeler, pasta v.d. gıdalarda beyaz renklendirici olarak kullanılan pigment titanyum dioksit beyazı 2022 yazından sonra kullanımı Avrupa Birliği tarafından yasaklanmıştır, Bu güncellemelerin insan sağlığı yararına yapılabilmesi, bu çalışmada da olduğu gibi bilimsel olarak detaylı deneysel çalışmalarla desteklenmesini gerektirmektedir. Mavi gıda boyası E133 ile burada sunulan çalışma sonuçları da uluslararası gıda katkı maddelerinin kullanımını düzenleyen kuruluşların dikkatini çekecek ve onların düzenlemeleriyle bu çalışmanın insan sağlığı açısından bilimsel çalışmalara katkısı daha da değer kazanmış olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abe, S. & Sasaki, M. (1977). Chromosome Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in Chinese Hamster Cells Exposed to Various Chemicals. *Journal of the National Cancer Institute*, 58, 1635-1643.
- Abubacker, M.N. & Sathya, C. (2017). Genotoxic Effect of Heavy Metals Cr, Cu, Pb and Zn Using *Allium cepa* L. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 14: (3). <http://www.biotech-asia.org/vol14no3/genotoxic-effect-of-heavy-metals-cr-cu-pb-and-zn-using-allium-cepa-l/>.
- Awe, E. T. & Akpan, U. U. (2017). Cytological Study of *Allium cepa* and *Allium sativum*. *Acta Satech* 9: 113-120.
- Borzelleca, J.F., Depukat, K. & Hallagan, J.B. (1990). Lifetime Toxicity/Carcinogenicity Studies of FD & C Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF) in Rats And Mice. *Food and Chemical Toxicology*, 28: 221-234.
- Brkanac, S.R., Vujčić, V., Cvjetko, P., Baković, V. & Oreščanin, V. (2014). Removal of Landfill Leachate Toxicity and Genotoxicity by Two Treatment Methods. *Arhiv Za Higijenu Rada Toksikologiju*, 65: 89-99.
- Cabuga, C.C, Abelada, J.J.Z., Apostado, R.R.Q., Hernando, B.J.H., Lador, J.E.C., Obenza, O.L.P., Presilda, C.J.R. & Havana, H.C. (2017). *Allium cepa* test: An Evaluation of Genotoxicity. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 7: 12-19.
- Carocho, 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: 377–399.
- Coultate, T. & Blackburn, R.S. (2018) Food Colorants: Their Past, Present and Future. *Coloration. Technology*, 134: 165–186.
- Dey, S. & Nagababu, B.H. (2022) Applications of Food Color and Bio-Preservatives in the Food and its Effect on The Human Health . *Food Chemistry Advances* 1: 100019. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772753X2200003X>.
- Downham, A. & Collins, P. (2000). Colouring Our Foods in the Last and Next Millennium. *International Journal of Food Science and Technology* 35: 5-22.

- Elhkim, MO, Heraud, F., Bemrah, N., Gauchard, F., Lorino, T., Lambre, C., Poul, J.M. (2007). New Considerations Regarding the Risk Assessment on Tartrazine an update Toxicological Assessment, Intolerance Reactions and Maximum Theoretical Daily Intake in France. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 47 (3): 308-316.
- Emerton, V. & Choi, E. (2008). *Essentials Guide to Food Additives*. Surrey. Leatherhead Publishing.
- Ermiş, M. (2019). *Mavi Gıda Katkı Boyası (E133) nun Drosophila melanogaster'in Yavru Verimine Etkisi ve Bu Boyanın Mutajenitesinin SMART (Somatik Mutasyon ve Recombinasyon Testi) ile Araştırılması*. (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi). Trakya Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Farheen, J., Mansoor, S. & Abid. M. (2021). Genotoxic Appraisal of Widely Used Food Color Additives on Model Plant *Allium cepa* root tip cells. *Journal of Innovative Sciences*, 7: 174-181.
- Fatma, F., Verma, S., Kamal, A. & Srivastava, A. (2018). Monitoring of Morphotoxic, Cytotoxic and Genotoxic Potential of Mancozeb Using *Allium* Assay. *Chemosphere* 195: 864-870.
- Ferreira, L.G.B., Faria, R.X., Ferreira, N.C.S. & Soares-Bezerra, R.J. (2016). Brilliant Blue Dyes in Daily Food: How Could Purinergic System Be Affected? *International Journal of Food Science*. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7548498>.
- Firbas, P. & Amon, T. (2013). *Allium* Chromosome Aberration Test for Evaluation Effect of Cleaning Municipal Water with Constructed Wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 4: 12-19.
- Fiskesjö, G. (1985). The *Allium* Test as a Standard in Environmental Monitoring. *Hereditas* 102: 99-112.
- Fusconi, A., Gallo, C. and Camusso, W. (2007). Effects of Cadmium on Root Apical Meristems of *Pisum sativum* L.: Cell Viability, Cell Proliferation and Microtubule Pattern as Suitable Markers for Assessment of Stress Pollution. *Mutation Research* 632: 9–19.
- Gomes, K.M.S, Oliveira, M.V.G.A. Carvalho, F.R.S, Menezes, C.C. & Peron, P. (2013). Citotoxicity of food dyes Sunset Yellow (E-110), Bordeaux Red (E-123), and Tartrazine Yellow (E-102) on *Allium cepa* L. Root Meristematic Cells. *Food Science and Technology*, 33 (1): 218-223.
- Hansen, W.H., Fitzhugh, O.G., Nelson, A.A., Davis, K.J. (1966). Chronic Toxicity of Two Food Colors Brilliant Blue FCF and Indigotine. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 8: 29.

- Hasegawa, M., Nishi, Y., Ohkawa, Y. & Inui, N. (1984). Effects of Sorbic Acid and its Salts on Chromosome Aberrations, Sister Chromatid Exchanges and Gene Mutations in Cultured Chinese Hamster Cells. *Food and Chemical Toxicology*, 22: 501-507.
- Inetianbor, J. E., Yakubu, J. M. & Ezeonu, S. C. (2015) Effects of Food Additives and Preservatives on Man- A Review *Asian Journal of Science and Technology* 6: 1118-1135.
- Ishidate, M., Sofuni, T., Yoshikawa, K., Hayashi, M., Nohmi, T., Sawada, M. & Matsuoka, A. (1984). Primary Mutagenicity Screening of Food Additives Currently Used in Japan. *Food and Chemical Toxicology*, 22: 623-636.
- Kaur, S., Halady, P., Revathi, B., Bushra, L. Swapna, D. (2019). Genotoxicity Induced by Food Coloring Dyes on Meristematic Cells (Root Tips) of *Allium cepa*. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development* 3: <https://doi.org/10.31142/ijtsrd23568>.
- Khalil, A.M, Salman, W.K. & Al-Qaoud, K.M. (2017). Preliminary Evaluation of Acute Cytogenotoxicity of A Novel Phenylboronic Acid Derivative; 2- (bromoacetamido) Phenylboronic Acid Using the *Allium cepa* Chromosome Aberrations Assay. *Caryologia*, 70: 34–41.
- Khan, I.S., Ali, M.N., Hamid,R., Ganie, S.A. (2020). Genotoxic Effect of two Commonly Used Food Dyes Metanil Yellow and Carmoisine Using *Allium cepa* L. as Indicator. *Toxicology Reports* 7: 370-375.
- Kobylewski, S. & Jacobson, M.F. (2012). Toxicology of Food Dyes. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 18: 220-246.
- Koc, K. & Pandir, D. (2018). All Aspect of Toxic Effect of Brilliant Blue and Sunset Yellow in *Allium cepa* Roots. *Cytotechnology* 70: 449–463.
- Kumar, G. & Srivastava, N. (2011). Genotoxic Effects of Two Commonly Used Food Additives of Boric Acid and Sunset Yellow in Root Meristems of *Trigonella foenum-graecum*. *Iran Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 8: 361-366.
- Mannell, W.A & Grice, H.C. (1964). Chronic Toxicity of Brilliant Blue FCF, Blue VRS, and Green S in Rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 16: 56-59.
- Maronpota, R.R. Hayashib, S. & Bastaki, M. (2020). Synthetic and Natural Food Colorants *Foods & Food Ingredients Journal of Japanese Society*. 225, (2): 100-110.
- Meghwal, M., Banerjee, S. & Kadeppagari, R.K. (2016). Additives – Types, Sources, Functions and Regulations. *Food & Beverage News*, 12: 1-15.
- Meng, Z. & Zhang, L. (1992) Cytogenetic Damage Induced in Human Lymphocytes by Sodium Bisulfite. *Mutation Research*, 298: 63–69.

- Monteiro, C.A., Cannon, G., Lawrence, M., Costa-Louzada, M.L. and Pereira-Machado, P. (2019). *Ultra-Processed Foods, Diet Quality and Human Health*. Rome, FAO.
- Montera, V.S.P., Martins, A.P.B., Borges, C.A. & Canella, DS. (2021). Distribution and Patterns of Use of Food Additives in Foods and Beverages Available in Brazilian Supermarkets. *Food and Function*, 12: 7699–7708.
- Njagi, M. & Gopalan, H.N. (1982). Cytogene effects of Food Preservatives-Sodium Benzoate and Sodium Sulphite on *Vicia faba* Root Meristems. *Mutation Research*, 102: 213-219.
- Ogeleka, D.F., Okieimen, F.E., Ekpudi, F.O. & Tudararo-Aherobo, L.E. (2016). Short-Term Phyto-Toxicity Consequences of A Non-Selective Herbicide Glyphosate (Roundup®, ϕ) on The Growth of Onions (*Allium cepa* Linn.). *African Journal of Biotechnology*, 15: 740-744.
- Özkara, A., Akyıl, D., Eren, Y. Erdoğan, S.F. (2015). Potential Cytotoxic Effect Of Anilofos by Using *Allium cepa* Assay. *Cytotechnology*, 67: 783–791.
- Palacios-Jordan, H., Jané-Brunet, A., Jané-Brunet, E., Puiggròs, F., Canela, N. & Rodríguez, M.A. (2022). Considerations on the Analysis of E-900 Food Additive: An NMR Perspective. *Foods*, 11, 297. <https://doi.org/10.3390/foods11030297>.
- Pandey, R. M. & Upadhyay, S. K. (2012). Food Additive. El-Samragy (Ed.), (Chapter 1, pp.1-30). <http://www.intechopen.com/books/food-additive/food-additive>.
- Qin, R., Jiao, Y., Zhang, S., Jiang, W. & Liu, D. (2010). Effects of Aluminium on Nucleoli in Root Tip Cells and Selected Physiological And Biochemical Characters in *Allium cepa* var. *agrogarum* L. *BMC Plant Biology* 10:225. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/10/225>.
- Grana, E. (2018). *Advances in Plant Ecophysiology Techniques*, Adela M. Sánchez-Moreiras & Manuel J. Reigosa (Eds.). Chapter 13: Mitotic Indeks. pp.: 213-240. Cham-Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-93233-0>.
- Sasaki, Y.F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K., & Tsuda, S. (2002). The Comet Assay with 8 Mouse Organs: Results with 39 Currently used Food Additives, *Mutation. Research*, 519: 103–119.
- Sen, T., Barrow, C.J. & Deshmukh, S.K. (2019) Microbial Pigments in the Food Industry—Challenges and the Way Forward. *Frontiers in Nutrition*. 6:7. doi: 10.3389/fnut.2019.00007.
- Sreeranjini, S., Siril, E.A. (2011.) Evaluation of Anti-Genotoxicity of the Leaf Extracts of *Morinda citrifolia* Linn. *Plant, Soil and Environment* 57: 222-227.

- Silva, M.M., Reboredo, F.H. & Lidon, F.C. (2022). Food Colour Additives: A Synoptical Overview on their Chemical Properties, Applications in Food Products, and Health Side Effects. . *Foods* 2022, 11, 379. [https:// doi.org/10.3390/foods11030379](https://doi.org/10.3390/foods11030379).
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995) *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 3rd Edition, W.H. Freeman and Co., New York.
- Tedesco, S.B. & Laughinghouse, H.D. (2012). Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. (pp. 137-158) Jatin Kumar Srivastava, (Ed.) .*Environmental Contamination* <https://www.intechopen.com/chapters/29315>.
- Thomas, O. E. & Adegoke, O.A. (2015) Toxicity of Food Colours and Additives: A Review *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 9: 900-914.
- Türkoğlu, Ş. (2007). Genotoxicity of Five Food Preservatives Tested on Root Tips of *Allium cepa* L. *Mutation Research* 626 : 4–14.
- Uysal, H. & Semerdöken, S. (2019). Sentetik Gıda Boyalarının *Drosophila melanogaster*'in Oregon R Soyunda Larval Toksikite ve Ergin Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4: 71-87.
- Vazhangat,P. & Thoppil, J.E.(2016).Apoptotic Induction via Membrane/DNA Damage and Metabolic Inactivation by Synthetic Food Colorants in *Allium cepa* Root Meristem. *Turkish Journal of Biology*, 40: 922–933.
- Vujošević, M., Anđelković, S., Savić, G. & Blagojević, J. (2008). Genotoxicity Screening of the River Rasina in Serbia using the *Allium* Anaphase–Telophase Test. *Environmental Monitoring and Assessment*. 147: 75–81.
- Yıldız, M. & Arıkan, E.S. (2014) Genotoxicity Testing of Quizalofop-P-Ethyl Herbicide using the *Allium cepa* Anaphase-Telophase Chromosome Aberration Assay . *Caryologia*, 61: 45-52.

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimimi Edirne’de tamamladım. 2012 yılında ÖSYM sınavı ile kazandığım Trakya Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Laboratuvar Teknikerliği Bölümü’nden 2014 yılında mezun oldum. 2015 yılında ÖSYM sınavı ile kazandığım Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nden 2019 yılında mezun oldum. 2019 güz döneminde Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladım.