

Kızartma İşlemi Sırasında Yağlarla Gıdalara Geçen Butillenmiş Hidroksianisol (BHA) ve Butillenmiş Hidroksitoluen (BHT) Maddelerinin Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi

*Makale Bilgisi / Article Info

Alındı/Received: 29.08.2024

Kabul/Accepted: 17.12.2024

Yayımlandı/Published: 10.06.2025

Investigation of the Cytotoxic Effects of Butylated Hydroxyanisole (BHA) and Butylated Hydroxytoluene (BHT) Transferred to Foods Through Oils During Frying

Büşra BAYKAN¹ , Harika ATMACA² , Tuncay YILMAZ^{2*} 

¹ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, Türkiye

² Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Manisa, Türkiye



© 2025 The Authors | Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 (CC BY-NC) International License

Özet

Bu çalışmada, gıda katkı maddeleri olan Butillenmiş Hidroksianisol (BHA) ve Butillenmiş Hidroksitoluen (BHT) maddelerinin derin yağda kızartma sonrasında ortaya çıkan sitotoksik etkileri incelenmiştir. Koruyucu özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılan bu maddeler, kızartma sürecinde dönüşüme uğrayarak insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yaratabilmektedir. Araştırmada, BHA ve BHT'nin kızartma sonrası 72 saat içinde belirlenen IC50 dozları incelenmiştir; BHA için 8.75 µg/mL ve BHT için önemli derecede yüksek olan 1761.159 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, bu katkı maddelerinin kızartılmış gıdalarda kullanımının güvenliği konusunda ciddi endişeler doğurmaktadır. Çalışma, bu maddelerin gıda endüstrisinde yeniden değerlendirilmesi gerektiğine ve tüketici sağlığı üzerindeki potansiyel risklerine dikkat çekmektedir. Ayrıca, bu katkı maddelerini içeren gıdaların tüketimi konusunda daha sıkı düzenleyici yönergeler ve tüketici farkındalığının artırılmasının önemini vurgulamaktadır. Yağ ve patates örnekleri üzerinde yapılan fizikokimyasal analizler ve hücre kültürü çalışmaları, farklı dozlarda belirgin sitotoksik etkiler gözlenmiştir. Özellikle HEK-273 hücreleri üzerinde yapılan incelemelerde, bu katkı maddelerinin belirli porsiyonlarda tüketildiğinde zararlı etkiler yaratabileceği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, daha güvenli kızartma yöntemleri ve alternatif katkı maddeleri geliştirilmesi yönündeki araştırmaların önemini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Abstract

This manuscript delves into the cytotoxic effects of the food additives Butylated Hydroxyanisole (BHA) and Butylated Hydroxytoluene (BHT) following deep frying. Widely used for their preservative qualities, these additives transform frying that may have significant health implications. The study investigates the IC50 doses of BHA and BHT after 72 hours post-frying, with results showing a dose of 8.75 µg/mL for BHA and a notably high 1761.159 µg/mL for BHT. These findings raise serious concerns about the safety of these additives in fried foods, especially considering the widespread consumption of such foods. The research emphasizes the need for a reevaluation of these additives' use in the food industry and highlights the potential risks to public health. Additionally, the study points to the necessity for stricter regulatory guidelines and increased consumer awareness regarding the consumption of foods containing these additives. The physical and chemical analyses of oils and potatoes after frying, along with cell culture studies, revealed significant cytotoxic effects at various doses over 24, 48, and 72 hours, particularly on HEK-273 cells. These results underscore the importance of further research to develop safer frying practices and alternatives to these additives, ultimately enhancing food safety and public health standards.

Anahtar Kelimeler: Sitotoksosite, Kızartılmış gıdalar, Gıda katkı maddeleri. İnsan sağlığı, Hücre kültürü, Gıda güvenliği

Keywords: Cytotoxicity, Deep-fried foods, Food additives, Human health, Cell culture, Food safety

1. Giriş

Sitotoksik terimi, hücre ölümüne neden olan anlamına gelirken, sitotoksosite, incelenen maddelerin konsantrasyonuna ve maruziyet süresine bağlı olarak hücrelere zarar vermesi olgusunu ifade eder. Hücreler, bu sitotoksik maddelere maruz kaldığında nekroz, otofaji ve apoptoz gibi olaylar sonucu ölebilir veya proliferasyon

özelliklerini kaybedebilirler (Yedier 2021). Bazı maddelerin sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla çeşitli testler uygulanmaktadır. Bu testlerden biri, MTT metodudur. MTT (3-(4,5-dimetildiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolyum bromür) metodunda, canlı hücrelerdeki mitokondriyal redüktaz enzimi, sarı renkli MTT çözeltisini suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine

dönüştürür. Oluşan bu kristaller DMSO ile çözülerek, spektrofotometrik olarak ölçülür (Çelik 2013, Yedier 2021).

Literatüre göre, yağda doğal olarak bulunan ya da sonradan eklenen antioksidanlar, kızartma sırasında yağın kalitesini etkiler. Ayrıca, tokoferoller, C vitamini ve B grubu vitaminlerde kızartma işlemi sırasında kayıplar yaşanmaktadır. Doğal antioksidanlardan tokoferoller ve sentetik antioksidanlardan BHA (bütilenmiş hidroksianisol) ve BHT (bütilenmiş hidroksitoluen), oda sıcaklığında yağın oksidasyonunu yavaşlatırlar. Ancak, bu gıda katkı maddelerinin sürekli tüketimi, vücutta toksik etkiler yaratabilir. Bu maddeler egzama, astım, baş ağrısı, alerjik reaksiyonlar, gastrik rahatsızlıklar, ishal, hiperaktivite ve aşırı duyarlılık gibi sorunlara neden olabilir (Briggs 1997).

Antioksidanlar, yağlara lipid oksidasyonunu ve toksik etkiler yaratabilecek istenmeyen bileşiklerin oluşumunu engellemek amacıyla eklenir. Sentetik gıda antioksidanları BHA ve BHT, nispeten düşük akut toksisiteye sahip bileşiklerdir. Ancak, bu bileşiklerin biyokimyasal ve biyolojik etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Verhagen vd. 1991). Yapılan çalışmalarda, sentetik antioksidanların sağlık açısından riskli, kanserojen ve mutajenik özellikler taşıdığı tespit edilmiştir. Bir çalışmada, kızartmalık yağda bulunan bazı sentetik katkı maddelerinin tüketim miktarına bağlı olarak böbrek epitel hücreleri üzerindeki olası sitotoksik etkisi incelenmiş ve bu konuda literatüre katkı sağlanması hedeflenmiş ve risk tespit edilmiştir (Bandoniene vd. 2002).

BHA'nın toksikolojik etkileri, enzim aktiviteleri üzerindeki doğrudan toksisitesi, diğer kimyasalların genotoksitesinin modülasyonu ve BHA'nın kanserojenliği şeklinde üç ana başlık altında toplanabilir. Labrador ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, düşük dozlarda BHA kullanımının Vero hücrelerinde mitokondriyal fonksiyon kaybıyla ilişkili önemli bir sitotoksik etki yaptığı belirtilmiştir (Labrador vd. 2007). BHA'nın alerjik reaksiyonlar, yağ metabolizmasında dengesizlik, deri iritasyonu, kusma ve ishale sebep olabileceği; BHA ve BHT'nin ise baş ağrısı, kızarıklık, astım gibi sağlık sorunlarını tetikleyebileceği belirlenmiştir (Sheftel 2000, Fisherman ve Cohen 1973). TBHQ'nun dermatite yol açabileceği Aalto-Korte (2000) ve BHA'nın fare deneylerinde kansere neden olabileceği de tespit edilmiştir (Weber vd. 1979).

Dassarma ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırma, BHA ve BHT alımının CCl₄ kaynaklı hepatik toksisiteye bağlı dejeneratif değişiklikleri iyileştirdiğini göstermiştir. Bu

bulgular, antioksidanların gıda formülasyonlarıyla alınmasının hepatik disfonksiyonu olan hastalar için faydalı olabileceğini öne sürmektedir (Dassarma vd. 2018).

Felter ve arkadaşlarının (2021) bir makalesinde, BHA'nın kemirgenlerdeki karsinogenik etkilerinin incelendiği birçok çalışmanın değerlendirildiği ve sadece ön mide tümörlerinin BHA'nın kronik oral maruziyetine bağlı olarak geliştiği sonucuna varılmıştır. Gine domuzları üzerinde yapılan çalışmalarda ise bu tür bir lezyonun gelişmediği belirtilmiştir.

Wang ve arkadaşlarının (2019) yaptığı çalışmada, çeşitli ülkelerdeki popülasyonların idrar örneklerinde BHT'nin ana metaboliti olan BHT-COOH'un yüksek oranlarda bulunduğu ve bu bileşiğin günlük alım dozlarının, kabul edilebilir günlük alım miktarlarını aştığı belirlenmiştir. Bu maruziyetin başlıca nedenlerinin katkı maddelerini içeren diyet ve kişisel bakım ürünlerinin deriyle teması olduğu düşünülmektedir (Wang vd. 2019).

Altmann ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, BHA'nın Wistar sıçanlarında epitel hasarı ve hiperplazi gibi etkilere yol açtığı, ancak BHA'sız beslemeye geçildiğinde bu etkilerin gerilediği gözlemlenmiştir (Altmann vd. 1985).

MCF-7 hücrelerinin östrojen reseptörüne bağımlı proliferasyonu incelenerek yapılan çalışmalarda, BHA'nın östrojenik aktiviteye sahip olduğu, ancak bu etkinin 17 β -estradiol'e kıyasla daha zayıf olduğu belirlenmiştir (Okubo ve Kano 2003).

Sonuç olarak, memelilerde BHA ve BHT maruziyeti sonucunda kanserojen etkiler gözlemlenmiş olsa da, bu maddelerin tek başlarına bu etkilerin ana nedeni olmadığı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın temel amacı, gıda katkı maddeleri olan Butillenmiş Hidroksianisol (BHA) ve Butillenmiş Hidroksitoluen (BHT) maddelerinin derin yağda kızartma işlemi sonrasında gıdalara geçişini ve bu maddelerin sitotoksik etkilerini detaylı bir şekilde incelemektir. Çalışma, kızartma sırasında bu katkı maddelerinin fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimlerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerini anlamaya yönelik özgün bir katkı sunmaktadır. BHA ve BHT'nin koruyucu özellikleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanıldığı bilinmekle birlikte, bu maddelerin gıdada birikim oluşturarak toksik seviyeye ulaşabileceğine dair kaygılar bulunmaktadır.

Çalışma, BHA ve BHT'nin kızartma sonrası örneklerdeki konsantrasyonlarını belirlemiş ve HEK-273 hücreleri üzerinde gerçekleştirilen sitotoksikite testleri ile bu

maddelerin insan hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Özellikle, BHA ve BHT'nin IC50 dozlarının belirlenmesi, bu katkı maddelerinin potansiyel zararlarını ortaya koymak açısından önem taşımaktadır. Elde edilen sonuçlar, bu maddelerin kullanımının gıda güvenliği perspektifinden yeniden değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Ayrıca, bu araştırma, daha güvenli kızartma yöntemleri ve alternatif katkı maddeleri geliştirilmesine yönelik çalışmalara ilham vermeyi amaçlamaktadır.

Bu bağlamda, çalışmanın özgünlüğü, katkı maddelerinin kızartma sürecindeki davranışlarını detaylı bir şekilde inceleyerek hem fizikokimyasal analiz hem de hücresel düzeyde sitotoksikite değerlendirmelerini bir araya getirmesinde yatmaktadır. Elde edilen bulgular, gıda güvenliği ve tüketici sağlığı açısından önemli çıkarımlar sunarak bu alanda yapılan çalışmalara yenilikçi bir bakış açısı sağlamaktadır.

2. Materyal ve Metot

Patates cinsi olarak kızartmalık patates türü seçilmiş ve yerel bir marketten temin edilmiştir. Hücre kültürü ve sitotoksikite analizlerinde, sağlıklı hücreyi temsil etmesi amacıyla HEK-293 sağlıklı insan embriyonik böbrek hücresi kullanılmış olup, hücreler ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu)'den temin edilmiştir. Yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) analizlerinde kullanılan metanol, Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. HPLC-grade saf su, Milli-Q sistemi (Massachusetts, ABD) kullanılarak üretilmiştir. Analitik saflıktaki asetik asit, BHA ve BHT (saflık >%98), Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya) tarafından temin edilmiştir.

Yerel üreticiden alınan ayçiçek yağı örneği, analiz edilmeye kadar soğukta ve karanlık bir ortamda depolanmıştır. Yağ örneğinde BHA ve BHT analizleri gerçekleştirilmiş ve yağda bu maddeler tespit edilmemiştir. Bu nedenle, BHA ve BHT için katkı maddeleri tebliğinde belirtilen maksimum değerler olan sırasıyla 200 mg/kg ve 100 mg/kg miktarları yağa eklenmiştir. Tüm kızartma işlemi bu doğrultuda gerçekleştirilmiş, katkı maddelerinin yağa eklenmesinden sonra manyetik bir karıştırıcı kullanılarak homojen karışması sağlanmıştır (Ceylan 2020).

2.1 Katkı Maddesi Analizi

Taze yağın katkı maddeleri içermediğini doğrulamak amacıyla AOAC 983.15 yöntemi ve HPLC-DAD cihazı kullanılarak analiz yapılmıştır. Yöntem kapsamında standart hazırlığı için, stok standart çözeltiler (%1 mg/mL), bütıl hidroksianisol, bütıl hidroksitoluen ve

tersiyer bütıl hidrokinonun metanol içinde çözülmesiyle hazırlanmış ve ışıktan korunarak 4°C'de saklanmıştır. Çalışma standart çözeltileri, stok çözeltilerin metanol ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Örnek hazırlama işlemi için, yağ hassas bir şekilde tartılarak (10 g) 25 mL metanol ile 100 mL'lik tıpalı konik bir şişeye yerleştirilmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika boyunca ultrasonik olarak ekstrakte edilmiştir. Elde edilen karışım vortekslenmiş, buz banyosunda soğutulmuş ve 7700 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki organik faz alınmış ve metanol ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti, kromatografik analizden önce en az 1 saat boyunca dondurucuda saklanmıştır. Tüm numuneler, analizden önce 0,45 µm'lik membran filtreden geçirilmiştir. HPLC analizi için Zorbax SB-C18 kolon (150 × 4.6 mm², 5 µm) ve buna bağlı Zorbax SB-C18 koruma kolonu (20 × 4.0 mm², 5 µm), sabit bir sıcaklıkta (30°C) çalıştırılmıştır. Mobil faz, %1 sulu asetik asit (A) ve metanol (B) karışımından oluşturulmuş ve şu gradyan elüsyon programı uygulanmıştır: 0–5. dakikalar arasında %40–60 B, 5–10. dakikalar arasında %60–80 B, 10–15. dakikalar arasında %80–90 B, ve 15–20. dakikalar arasında %90 B. Akış hızı 1,0 mL/dak olarak ayarlanmış ve analizler arasında yeniden denge sağlamak için 8 dakika süreyle re-ekilibrasyon yapılmıştır. Enjeksiyon hacmi 10 µL olarak belirlenmiştir. Diod-array dedektör, 280 nm dalga boyunda çalıştırılmıştır. Elektrokimyasal dedeksiyon için camyüzey çalışma elektrodu, Ag/AgCl referans elektrodu ve paslanmaz çelik karşı elektrodu kullanılmış, potansiyel oksidatif modda 0,8 V olarak uygulanmıştır (Sun vd. 2017).

2.2 Hücre Kültürü Analizleri

2.2.1. Hücre Hatlarının Laboratuvar Ortamına Adaptasyonu ve Çoğaltımı

İnsan embriyonik böbrek hücre hattı HEK-293 (ATCC® CRL-1573), %20 FBS ve %1 penisilin içeren RPMI 1640 besiyerinde çoğaltılmıştır. Hücreler 37°C sıcaklıkta ve %5 CO₂ içeren bir ortamda inkübe edilmiştir (NUAIRE NU-5510E) (Ilhan 2020).

2.2.2. Hücrelerin Sayımı

Hücrelerin deneylerde kullanılacak miktarlarda hazırlanabilmesi için sayım işlemi gerçekleştirilmiştir. Hücre tabakası, 5 ml Tripsin EDTA ile 5 dakika muamele edilerek zeminden ayrılmıştır. Hücre çözeltisi, santrifüj işleminden sonra hücre pelletini elde etmek için santrifüj edilmiştir. Hücre pelleti besiyeri ile seyreltilip homojenize edilmiştir. Hücre süspansiyonundan alınan örnekler, 50 µl Tripan mavisi ile karıştırılarak Invitrogen Countless Automated Cell Counter otomatik hücre sayım cihazı kullanılarak sayılmıştır (Erten vd. 2009).

2.2.3. Hücre Kültürlerinde Sitotoksite Düzeylerinin Belirlenmesi

MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-iphenyltetrazolium bromide) hücre canlılığını ölçmek için kullanılmıştır. MTT, metabolik olarak aktif hücreler tarafından mor renkli formazan tuzuna dönüştürülür. Kuyucuklara dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek formazan çözündürülmüş ve renk değişimi çok modlu plaka okuyucu ile analiz edilmiştir. MTT analizi sonucunda, hücrelere uygulanan katkı maddelerinin IC₅₀ konsantrasyonları belirlenmiştir. 96 kuyucuklu kültür plakalarına 10⁴ hücre ekilmiş ve hücreler katkı maddelerinin artan konsantrasyonlarıyla (10, 50, 100, 500, 1000 µg/mL) 24, 48 ve 72 saat muamele edilmiştir. Dozlar seçilirken TGK'nin Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğinde belirtilen maksimum dozlar dikkate alınmıştır (Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği 2013).

Tüm hücre kültürü çalışmaları, Manisa Celal Bayar Üniversitesi DEFAM Hücre Kültürü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Grafikler Graphpad Prism 5.0 kullanılarak çizilmiştir

2.3. İstatistiksel Analizler

Tüm fizikokimyasal analizler IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılarak, Varyans Analizi (ANOVA) ve post-hoc Tukey testi ile p<0.05 önem düzeyinde yorumlanmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Katkı Maddesi Analizleri

Kızartma öncesi BHA ve BHT içermediği tespit edilen yağa Türk Gıda Kodeksi'ne (TGK) göre maksimum BHA ve BHT miktarları olan 200 mg/kg ve 100 mg/kg eklenmiştir (Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, 2013). 170°C'de 300 saniyelik kızartma parametresi kullanılarak yapılan denemeler sonrasında gerçekleştirilen ölçümler sonucunda kızartma sonrası yağda BHA 160 mg/kg ve BHT 60.7 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Kızartma işlemi sonrasında yağdaki BHA ve BHT miktarındaki azalma, kızartma sırasında bu maddelerin patatese geçmesi veya kimyasal reaksiyonlar sonucu bileşimlerinde değişiklikler olabileceğini göstermektedir.

3.2. Hücre Kültürü Analizleri

HEK-293 böbrek epitel hücreleri, BHA ve BHT'nin artan konsantrasyonlarına 24, 48 ve 72 saat boyunca maruz bırakılmış ve hücre canlılık değerleri hesaplanarak Çizelge 1 ve Çizelge 2'de sunulmuştur.

MTT yöntemi kullanılarak yapılan analizler sonucunda, BHA'nın 24., 48. ve 72. saatlerdeki IC₅₀ değerleri sırasıyla

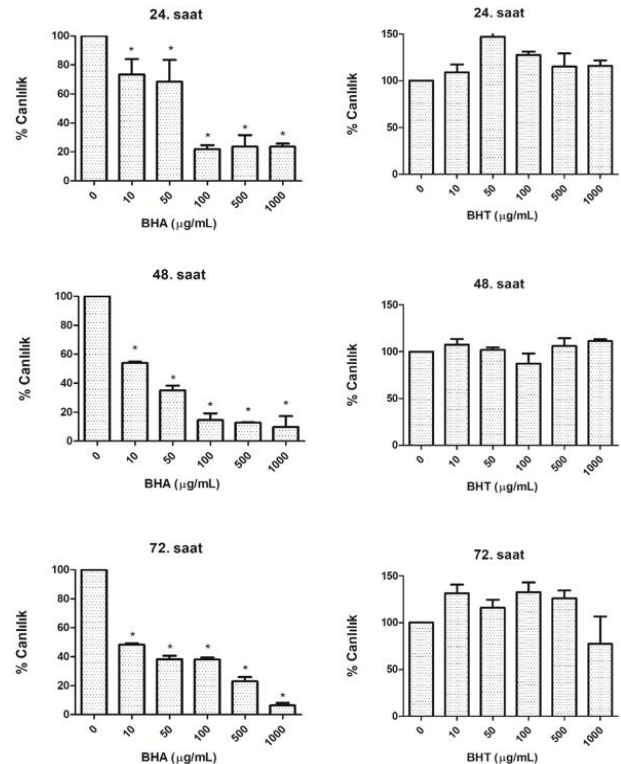
8.75 µg/mL olarak hesaplanmıştır. BHT için ise sadece 24. saatte 50 µg/mL konsantrasyonunda anlamlı bir fark gözlemlenmiştir (p<0.05). BHA ve BHT'nin 72. saatte IC₅₀ dozları sırasıyla 8.75 µg/mL ve 1761.159 µg/mL olarak tespit edilmiştir (Şekil 1).

Çizelge 1. BHA Konsantrasyonlarının 24, 48 ve 72 Saatlik Maruziyet Sonucunda Elde Edilen Hücre Canlılığı (%) Değerleri.

Konsantrasyonlar (µg/mL)	24 saat Hücre Canlılığı (%)	48 saat Hücre Canlılığı (%)	72 saat Hücre Canlılığı (%)
10	45.94	54.57	25.1
50	37.84	37.38	9.7
100	18.56	11.12	8.77
500	61.41	12.89	7.85
1000	162.94	15.13	14.22

Çizelge 2. BHT Konsantrasyonlarının 24, 48 ve 72 Saatlik Maruziyet Sonucunda Elde Edilen Hücre Canlılığı (%) Değerleri.

Konsantrasyonlar (µg/mL)	24 saat Hücre Canlılığı (%)	48 saat Hücre Canlılığı (%)	72 saat Hücre Canlılığı (%)
10	40.07	32.84	6.63
50	12.05	9.62	6.66
100	28.84	9.16	5.72
500	91.52	11.17	10.11
1000	199.97	15.45	19.5



Şekil 1. HEK-293 hücrelerinde BHA ve BHT katkı maddelerinin konsantrasyona ve zamana bağlı % canlılık değişimleri. (* ile gösterilenler istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) değerleri göstermektedir)

BHA ve BHT, başlangıçta kullanılan yağda tespit edilmemiş olsa da, maksimum dozlarda (200 ve 100 µg/mL) eklenmiştir. Tüm sitotoksik analizler bu maksimum değerler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Kızartma işlemi sonrasında alınan yağ örneklerinde BHA ve BHT miktarlarında önemli bir azalma gözlenmemiş ve bu maddelerin sitotoksik etkisinin devam ettiği saptanmıştır. Hücre kültürü analizleri, BHT için sadece 24. saatte 50 µg/mL doz uygulamasında anlamlı bir fark göstermiştir. BHA için ise 24, 48 ve 72. saatlerde gerçekleştirilen tüm uygulamalarda anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Kızartma sonrası BHA ve BHT miktarlarında belirgin bir azalma olmaması, kısa süreli kızartma işleminin bu maddeler üzerinde önemli bir bozundurma etkisi yaratmadığını göstermektedir. Fare testis mikrozomlarının kullanıldığı bir çalışmada, BHT'nin IC₅₀ değeri 0.6 µM olarak hesaplanmıştır (Michelangeli ve Tovey 1996). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, insan böbrek epitel hücrelerinde IC₅₀ değerlerinin daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Tüm analizler değerlendirildiğinde, patates kızartması üretim sürecinde kullanılan yağa BHA ve BHT ilavesinin, peroksit içeriğini düşük tutması dışında herhangi bir fizikokimyasal etkisi olmadığı, ancak bu ilavenin hücre kültürü analizlerinde sitotoksik etkiye neden olabileceği gözlemlenmiştir. Bu nedenle, BHA ve BHT ilavesinin peroksit içeriğini düşük tutmanın sağladığı faydanın, sitotoksik etkinin yol açabileceği potansiyel zararlardan daha önemli olduğu düşünülmelidir. Patates kızartması için ortalama tek seferlik porsiyon miktarı 70 g seviyesindedir (FDA, 2018). Buradaki servis boyutu yaklaşık 10-12 kızarmış parmak patates miktarına karşılık gelmektedir. Yapılan hesaplamalar, kızarmış patates gramı başına emilimi gerçekleştiren katkı maddesi kabulüne dayanmaktadır. Ortalama insan ağırlığı ise 70 kg olarak kabul edilmiştir. Patates kızartması ile alınan yağın, patatesin ve BHA-BHT'nin tamamen sindirildiği varsayıldığında, 70 kg bir bireyin 1 porsiyon (70 g) patates kızartması tükettiği durumda, vücuda alınan BHA miktarı yaklaşık 0.4-0.5 mg, BHT miktarı yaklaşık 1.5-2 mg hesaplanmıştır. Sonuç olarak, 24 saat için BHA'nın 10 µg/kg (70 g için 1.478 ppm) ve BHT'nin 50 µg/kg (70 g için 7.14 ppm) dozlarında anlamlı bir etki gözlenmiştir. Bu bulgular, BHA içeren patates kızartmasından 50 porsiyon ve BHT içeren patates kızartmasından 8 porsiyon tüketiminin sitotoksik etki yaratabileceğini göstermektedir.

4. Sonuç

Bu çalışmada, patates kızartması üretiminde kullanılan yağlara eklenen BHA ve BHT katkı maddelerinin

fizikokimyasal ve biyolojik etkileri incelenmiştir. BHA ve BHT, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan antioksidanlardır; özellikle yağların oksidatif bozulmasını önlemek amacıyla tercih edilirler. Bu maddelerin, kızartma işlemi sırasında ve sonrasında hem kimyasal yapıları üzerindeki değişimler hem de hücresel düzeydeki etkileri araştırılmıştır.

Katkı maddesi analizleri, kızartma öncesi yağa eklenen BHA ve BHT'nin, 170°C'de 300 saniye süreyle kızartma işlemine tabi tutulması sonrasında yağdaki konsantrasyonlarının anlamlı bir şekilde azalmadığını göstermiştir. Bu durum, bu maddelerin kısa süreli kızartma işlemi boyunca kimyasal olarak kararlı kaldığını ve kızartma sırasında patatesin içine geçiş veya yağda önemli bir bozunma göstermediğini ortaya koymaktadır. Ancak, bu katkı maddelerinin varlığının yağın diğer özellikleri, özellikle de peroksit değeri üzerindeki etkileri, belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir. Peroksit değerinin düşük tutulması, yağın oksidatif stabilitesini artırmakta ve ürün kalitesini korumaktadır.

Hücre kültürü analizleri, BHA ve BHT'nin insan böbrek epitel hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini ortaya koymuştur. BHA'nın 24, 48 ve 72 saatlik maruziyetlerde hücre canlılığı üzerinde önemli bir düşüşe neden olduğu gözlemlenmiştir. BHT ise, daha düşük konsantrasyonlarda ve özellikle 24 saatlik maruziyette hücre canlılığında belirgin bir azalma göstermiştir. BHT'nin 72 saatlik maruziyet sonrasında IC₅₀ değerinin oldukça yüksek olması, bu maddenin hücresel düzeyde daha az toksik olduğunu, ancak yüksek dozlarda sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Fare testis mikrozomları üzerinde yapılan önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında, insan böbrek epitel hücrelerinde BHA ve BHT'nin daha yüksek IC₅₀ değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Bu durum, hücre türleri arasında farklı toksisite profilleri olabileceğini ve BHA ile BHT'nin insan hücrelerinde daha dirençli bir yapıya sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Bu bulgular, BHA ve BHT'nin patates kızartmasında kullanımının, yağın fizikokimyasal stabilitesini artırırken, hücresel düzeyde potansiyel bir risk taşıyabileceğini göstermektedir. BHA ve BHT ilavesinin peroksit değerini düşük tutmasının sağladığı fayda, bu maddelerin sitotoksik etkilerinin dikkate alınması gerektiğini işaret etmektedir. Özellikle, bu katkı maddelerinin düzenli ve yüksek miktarda tüketilmesi durumunda potansiyel sağlık riskleri taşıyabileceği düşünülmelidir.

Sonuç olarak, BHA ve BHT içeren patates kızartmalarının tüketiminde dikkatli olunması gerektiği, bu maddelerin

uzun süreli etkilerinin daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyduğu ortaya konmuştur. Gıda endüstrisinde bu tür katkı maddelerinin kullanımının, hem ürün kalitesi hem de tüketici sağlığı açısından dengeli bir şekilde değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Bu çalışma, gıda katkı maddelerinin güvenli kullanımını ve potansiyel risklerini daha iyi anlamak için önemli veriler sunmakta ve gelecekteki araştırmalar için bir temel oluşturmaktadır.

Etik Standartlar Bildirgesi

Yazarlar tüm etik standartlara uyduklarını beyan ederler.

Bu çalışma Doç.Dr.Tuncay Yılmaz ve Doç.Dr.Harika Atmaca (2.Danışman) danışmanlığında Büşra Baykan tarafından 2022 tarihinde tamamlanan "Derin Yağda Kızartma Sırasında Gıdaya Geçen Sentetik Antioksidanların Miktarının Tespiti Ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması" başlıklı yüksek lisans (Tez no: 756363) tezinden türetilmiştir.

Yazarlık Katkı Beyanı

Yazar 1: Kaynaklar, Araştırma, Deney, Yazma – orijinal taslak

Yazar 2: Araştırma, Deneyleme, Metodoloji, Görselleştirme, Yazma – orijinal taslak,

Yazar 3: Fikir Sahibi, Deney tasarımı, Görselleştirme, Yazma –orijinal taslak

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların bu makalenin içeriğiyle ilgili olarak beyan edecekleri hiçbir çıkar çatışması yoktur.

Verilerin Kullanılabilirliği

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler, yayınlanan bu makaleye dahil edilmiştir.

Kaynaklar

- Aalto-korte, K. 2000. Allergic contact dermatitis from tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) in a vegetable hydraulic oil. *Contact Dermatitis*, **43**, 303–315. <https://doi.org/10.1097/00006205-200025040-00001>
- Altmann, H. J., Wester, P. W., Matthiaschke, G., Grunow, W., & Van Der Heijden, C. A. 1985. Induction of Early Lesions in the Forestomach of Rats by 3-Tert-Butyl-4-Hydroxyanisole (BHA). *Food and Chemical Toxicology*, **23**(8), 723–731.
- Bandoniene, D., Venskutonis, P., R., Gruzdiene, D., Murkovic, M. 2002. Antioxidative activity of sage (*Salvia officinalis* L.), savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borago officinalis* L.) extracts in rapeseed oil. *Eur J Lipid Sci Technol*, **104**(5), 286–292.
- Briggs, D. R. 1997. Food Additives (Wahlgvist ML, Ed.). Food and Nutrition, Allen and Unwin Pty Ltd.
- Çelik, H. 2013. İnsan Lenfosit Hücre Kültürü Ortamında Alüminyumun Oluşturduğu Sitotoksikite ve Genotoksikiteye Karşı Sarımsak (*Allium Sativum*) ve

Çörek Otu Tohumu (*Nigella Sativa*) Ekstraktlarının Etkilerinin Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi.

- Ceylan, M. M. 2020. Kızartma Yağlarının Oksidatif Stabilitesi Üzerine Farklı Doğal Antioksidan Maddelerin Etkisi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi.
- Dassarma, B., Nandi, D. K., Gangopadhyay, S., & Samanta, S. 2018. Hepatoprotective effect of food preservatives (butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene) on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat. *Toxicology Reports*, **5**(December 2017), **31–37**. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.009>
- Erten, C., Karaca, B., Kucukzeybek, Y., Gorumlu, G., Cengiz, E., Gul, M. K., Atmaca, H., Uzunoglu, S., Karabulut, B., Sanli, U. A., & Uslu, R. 2009. Regulation of growth factors in hormone- and drug-resistant prostate cancer cells by synergistic combination of docetaxel and octreotide. *BJU International*, **104**(1), 107–114. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.08340.x>
- Felter, S. P., Zhang, X., & Thompson, C. 2021. Butylated hydroxyanisole: Carcinogenic food additive to be avoided or harmless antioxidant important to protect food supply? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **121**, 104887. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2021.104887>
- Fisherman, F.W., Cohen, G. 1973. Chemical intolerance to butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene and (BHT) and vascular response as an indicator and monitor of drug intolerance. *Ann Allergy*, **31**, 126–133.
- Food and Drug Administration (FDA). 2018. Guidance for Industry: Nutrition and Supplement Facts Labels – Questions and Answers Related to the Compliance Date, Added Sugars, and Declaration of Quantitative Amounts of Vitamins and Minerals. Retrieved from <https://www.fda.gov/media/111144/download>
- Ilhan, S. 2020. Essential Oils from *Vitex agnus castus* L. Leaves Induces Caspase-Dependent Apoptosis of Human Multidrug-Resistant Lung Carcinoma Cells through Intrinsic and Extrinsic Pathways. *Nutrition and Cancer*, **73**(4), 694–702. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1823439>
- Karaca, B., Kucukzeybek, Y., Gorumlu, G., Erten, C., Gul, M. K., Cengiz, E., Atmaca H, Uzunoglu S, Karabulut B, Uslu, R. 2008. Profiling of angiogenic cytokines produced by hormone-and drug-refractory prostate cancer cell lines, PC-3 and DU-145 before and after treatment with gossypol. *European Cytokine Network*, **19**(4), 176–184.
- Labrador, V., Fernández Freire, P., Pérez Martín, J. M., & Hazen, M. J. 2007. Cytotoxicity of butylated hydroxyanisole in Vero cells. *Cell Biology and Toxicology*, **23**(3), 189–199. <https://doi.org/10.1007/s10565-006-0153-6>

- Michelangeli, F., S. Tovey, D. A. L. 1996. Can phenolic plasticizing agents affect testicular development by disturbing intracellular calcium homeostasis? *Biochem. Soc. Trans.*, **24**, 293.
- Okubo, T., & Kano, I. 2003. Studies on estrogenic activities of food additives with human breast cancer MCF-7 cells and mechanism of estrogenicity by BHA and OPP. *Yakugaku Zasshi*, **123**(6), 443–452.
<https://doi.org/10.1248/yakushi.123.443>
- Sheftel, V. O. 2000. Indirect Food Additives and Polymers: *Migration and Toxicology*. (1st ed.). CRC Press.
- Sun, Z., Wang, M., Cheng, N., Gao, H., Deng, J., Zhao, J., ... & Cao, W. 2017. Determination of synthetic phenolic antioxidants in vegetable oil and oil-enriched foods by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytical Letters*, **50**(4), 607-616.
<https://doi.org/10.1080/00032719.2016.1195396>
- Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği 2013.
- Verhagen, H., Schilderman, P. A. E. L., & Kleinjans, J. C. S. 1991. Butylated hydroxyanisole in perspective. *Chemico-Biological Interactions*, **80**(2), 109–134.
[https://doi.org/10.1016/0009-2797\(91\)90019-4](https://doi.org/10.1016/0009-2797(91)90019-4)
- Wang, W., & Kannan, K. 2019. Quantitative identification of and exposure to synthetic phenolic antioxidants, including butylated hydroxytoluene, in urine. *Environment International*, **128**(January), 24–29.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.028>
- Weber, R. W., Hoffman, M., Raine, D. A., & Nelson, H. S. 1979. Incidence of bronchoconstriction due to aspirin, azo dyes, non-azo dyes, and preservatives in a population of perennial asthmatics. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **64**(1), 32–37.
[https://doi.org/10.1016/0091-6749\(79\)90080-0](https://doi.org/10.1016/0091-6749(79)90080-0)
- Yedier, S. K. 2021. Akrilamidin İnsan Akciğer Epitel Hücreleri Üzerindeki Sitotoksitesi, Genotoksitesi ve Karsinojenitesinin Araştırılması. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.