

GIDA KORUYUCULARI ve GENOTOKSİSİTE TESTLERİ

Deniz Yüzbaşıoğlu*, Nazmiye Zengin, Fatma Ünal

Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / Received: 17.09.2013

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 08.01.2014

Kabul tarihi / Accepted: 10.01.2014

Özet

Günümüzde gıda katkı maddeleri gibi kimyasal madde kullanımının her alanda hızla artması sonucunda bu kimyasal maddelerin canlıların genetik yapısında olumsuz etkileri olup olmadığının tespit edilmesi son derece önem kazanmıştır. Gıda katkı maddeleri, lezzet, görünüş, doku ve besin değerini korumak için gıdalara eklenen maddelerdir. Gıda koruyucu maddelerin genotoksik potansiyellerinin araştırılması ve gıda güvenliğinin sağlanması halk sağlığının iyileştirilmesinde önemli konulardan biridir. Genotoksisite çalışmaları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri veya diğer formlardaki DNA hasarının indüksiyonu ile bir maddenin DNA'yı bozma kabiliyetini değerlendirir. Fiziksel ve kimyasal ajanların meydana getirdiği genetik hasarın düzeyi ve insan sağlığı üzerine etkileri memeli hücreleri, bakteri, *Drosophila* veya bitkilerin kullanıldığı çeşitli test sistemleriyle belirlenebilmektedir. Bu derlemede, gıda koruyucu maddelerinin genotoksik etkileri ile ilgili yapılmış olan yayınlar derlenmiş ve farklı test sistemleriyle gerçekleştirilmiş genotoksisite testlerinin sonuçları sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Gıda katkı maddeleri, koruyucular, genotoksisite testleri.

FOOD PRESERVATIVES and GENOTOXICITY TESTS

Abstract

As a result of fast increase in use of chemical substances such as food additives in all areas; determining whether these chemical substances have negative effect in the genetic structure of living things has gained much importance. Food additives are the substances added to food with the aim of preserve flavor, appearance, texture and nutritional value. Investigating the genotoxic potential of food preservatives and ensuring food safety are very important issues in improvement of public health. Genotoxicity studies evaluate a substance in terms of its ability for interfering with DNA through induction of gene mutations, chromosome aberrations or other forms of DNA damage. The level of genetic damage caused by physical and chemical agents and their effects on human health can be determined in mammalian cells, bacteria, *Drosophila* or plants through various test systems. In this review, publications about genotoxic effects of food preservatives have been compiled and the results of genotoxicity tests carried out in different test systems have been submitted.

Keywords: Food additives, Preservatives, Genotoxicity tests.

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ deniz@gazi.edu.tr,

☎ (+90) 312 202 1205,

☎ (+90) 312 212 2279

GİRİŞ

Günümüzde tüketiciye sunulan gıdalar birçok kimyasal madde içermektedir. Bu kimyasal maddelerden çoğu gıdanın doğal bileşenleri olup, karbonhidratlar, yağlar, proteinler, vitaminler ve mineraller olarak sınıflandırılmaktadır. Bu doğal bileşenlerin yanı sıra gıda işleme sırasında gıdaya istenerek katılan veya istenilmediği halde bulaşan bazı maddeler de bulunmaktadır. Gıda güvencesi, insanlara sürdürülebilir, yeterli ve dengeli beslenmelerini sağlayacak çeşitlilik ve miktarda, ekonomik olarak erişilebilir gıda arzı olarak tanımlanabilir. Gıda güvencesinin sağlanmasında, besin üretiminin artırılması ve üretilen besinlerin kayıplarının önlenmesi, besinin bol bulunduğu dönemden daha az bulunduğu döneme kalitelerini koruyarak saklanması ve raf ömrünün uzatılması konusu önem kazanmaktadır. Bu durumda da besinlerin üretim ve tüketim ilişkileri, gıda katkı maddelerinin kullanımını teknolojik bir zorunluluk haline getirmektedir. Ancak, yapılan araştırmalar, katkı maddelerinin çeşitli canlılarda genotoksik riskler oluşturabileceğini göstermeye başladığından beri, hem bu konuda yapılan araştırmalar giderek artış göstermekte hem de bu maddelerin kullanımlarına kısıtlamalar getirilmektedir (1, 2).

GIDA KATKI MADDELERİ

Gıda katkı maddeleri, Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO) ve Gıda Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization-FAO) nün ortak çalışmaları ile oluşturulmuş Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (Codex Alimentarius Commission-CAC) raporunda "tek başına gıda olarak kullanılmayan ve gıdanın tipik bir bileşeni olmayan, besleyici değeri olsun veya olmasın, imalat, işleme, hazırlama, uygulama, paketleme, ambalajlama, taşıma, koruma ve depo aşamalarında, gıdalara teknolojik amaçla katılan ya bu gıdaların içinde veya yan ürünlerinde doğrudan ve dolaylı olarak bir bileşeni haline gelen veya bunların karakteristiklerini değiştiren maddeler" olarak tanımlanmıştır. Gıda katkı maddeleri ya fazla miktarda ya da duyarlı risk grupları tarafından tüketildiğinde tehlikeli olabilmektedirler. Katkı maddelerinin yarattığı riskler genellikle uzun dönemde ortaya çıkabilir, ancak bu katkı maddelerinin kısa ve uzun vadede vücutta birikme olasılıklarının ve sebep olacakları zararların ortaya konması ve kullanım dozlarının ona göre ayarlanması büyük önem taşımaktadır (3).

KORUYUCULAR

İnsanların toplu halde yaşamaya başlamaları ile birlikte gıdaların korunması amacıyla güvenilir yöntemlerin kullanılması gereksinimi ortaya çıkmıştır. Tarımsal uygulamalardaki değişiklikler,

dayanıksız gıdaların diyetle fazlaca yer alması, gelişmiş dağıtım sistemlerinde kontaminasyon olasılığının artması, kolay ve pratik gıdalara yönelme gibi nedenler gıdaları koruma tekniklerinin gelişmesini zorunlu kılmıştır (2).

Gıda katkı maddelerinden olan koruyucular, 30 Haziran 2013 tarih ve 28693 sayılı Resmi Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğinde "Gıdaları, mikroorganizmaların sebep olduğu bozulmalara ve/veya patojen mikroorganizmaların gelişmelerine karşı koruyarak raf ömürlerinin uzatılmasını sağlayan maddeler" olarak tanımlanmıştır (4). Gıdalarda kullanılan koruyucular, canlı sisteminde proteinlerin denatürasyonu, replikasyon ve transkripsiyonun inhibisyonu, DNA'nın, hücre çeperinin ya da sitoplazmik membranın tahrip edilmesi veya değiştirilmesi ve enzimlerin inhibisyonu gibi bazı olumsuzluklara sebep olabilmektedir (2). Genotoksik etkileri inceleyen test yöntemleri ile gıdalarda koruyucu olarak kullanılan kimyasalların mutajenik/ karsinojenik potansiyellerinin ya da antimutajenik / antikarsinojenik özelliklerinin tespit edilmesi insan sağlığı ve gıda güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır.

GENOTOKSİTE TESTLERİ

Gelişen teknolojiyle birlikte insanlar günlük yaşamlarında veya çalışma ortamlarında çok sayıda genotoksik ajanın mutajenik ve karsinojenik etkisi ile karşı karşıya kalmaktadırlar. Günümüzde ilaçlar, gıda katkı maddeleri, tarım ilaçları ve nanomateryaller gibi kimyasal madde kullanımının her alanda hızla artması sonucunda bu kimyasal maddelerin insan genomunda olumsuz etkileri olup olmadığının tespit edilmesi son derece önem kazanmıştır. Bu kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin araştırılmasında farklı canlı gruplarını kapsayan çeşitli test metodları geliştirilmiştir. Genotoksisite testleri, kimyasal maddelerin mutasyonlara, kromozomal anormalliklere, DNA hasarlarına sebep olup olmadığını tespit etmek ve bu kimyasalların etki mekanizmalarını anlamak amacıyla uygulanmaktadır. Genotoksik karsinojenlerin belirlenmesinde çeşitli *in vivo* ve *in vitro* test sistemleri kullanılmaktadır.

Bakteriyel Geri Mutasyon Testi (AMES)

Bakteriyel geri mutasyon testi, eksojen maddelerin mutajenitesini belirlemede kullanılan bir testtir. Bu testte, ya *Salmonella Typhimurium* ya da *Escherichia coli* mutant suşları kullanılmaktadır. Bu suşlar sırasıyla, ya histidin ya da tryptophan operonunun değişik bölgelerinde çeşitli mutasyonlar içermektedir. Bu testin temeli, *S. Typhimurium*'un histidin sentezleme yeteneklerini mutasyon ile kaybetmiş suşlarının, test maddesi ile

muamele edildikten sonra ikinci bir mutasyon geçirip histidini sentezleme özelliğini geri kazanmasına ve histidinsiz ortamda üreyebilmesi esasına dayanır. Histidinsiz ortamda üreyebilen koloniler sayılarak mutajenite belirlenmektedir. Test sisteminin kolay ve ucuz olması nedeni ile kimyasal maddelerin güvenliği analizlerinde sıklıkla tercih edilmektedir (5, 6).

Hipoksantin Guanin Fosforibozil Transferaz (HPRT) İleri Mutasyon Testi

HPRT geni ileri mutasyon testi, pürin biyosentezi için gerekli bir enzim olan HPRT enzimi bakımından mutant hücrelerin seçilmesi prensibine dayanır. Toksik bir nükleozit analogu olan 6-tioguanin (6-TG) bulunan ortamda mutant hücreler seçilip, koloni frekansına bakılarak test gerçekleştirilir. DNA baz çifti değişimleri, büyük ya da küçük çaptaki delesyonları, inversiyonları ve heterolog kromozom rekombinasyonları gibi genetik değişimleri büyük ölçüde yansıtmaya özelliğine sahiptir (7).

Kromozom Anormalliği (KA) Testi

Kromozom anormalliği testi, kromozomal hasarın ve genom kararsızlığının biyolojik göstergesi olarak kullanılır ve genotoksik ajanlara maruz kalan popülasyonlarda en kapsamlı şekilde uygulanan ve onaylanan biyolojik göstergeyi temsil eder (8, 9). Kromozomal anormallikler, kendiliğinden veya kimyasal/ radyasyon uygulamasının bir sonucu olarak meydana gelen normal kromozom yapısındaki (yapısal anormallik) veya sayısındaki (sayısal anormallik) değişikliklerdir. Dolaşımdaki lenfositlerde kromozomal anormalliklerin artan sıklığı, genellikle DNA'ya hasar veren maddelere maruz kalanlar için artan kanser riskinin bir göstergesi olarak dikkate alınır. Yapılan çalışmalarda, periferik kan lenfositlerinde kromozomal anormallik sıklığının, hem genotoksik karsinogenlere maruz kalmanın erken biyolojik etkilerini hem de kansere bireysel duyarlılığı yansıtarak insanlarda kanser riskiyle ilgili bir biyolojik gösterge olduğu tespit edilmiştir (8, 10, 11). Bu tekniğin mükemmel hassasiyetine ve kanser riskiyle ilgili ispatlanmış öngörü değerine rağmen, kromozomal anormalliklerin tespiti teknik olarak zor ve yavaş bir süreçtir (9).

Mikronükleus (MN) Testi

İnsan periferik lenfositleri, yanak epitel hücreleri ve fare kemik iliği hücreleri gibi farklı hücrelerle yapılabilen bir testtir. Mikronükleus testi veya Sitokinezi Bloklanmış Mikronükleus testi (Cytokinesis-Blocked Micronucleus Assay= CBMN Assay), kimyasal ve fiziksel ajanların klastojenik ve anöjenik etkilerini değerlendirmek için kullanılan metotlardan biridir. Mikronükleus yönteminde sitokinezi durdurmak amacıyla bir aktin polimeraz inhibitörü olan sitokalasin B (Cyt B) kullanılmakta ve bu sayede ilk bölünmesini

geçirmiş mitotik hücrelerin binükleer görüntüleri elde edilmektedir. Mikronükleuslar (MN), hücre bölünmesi sırasında, çeşitli kimyasalların etkisi ile kromozomda meydana gelen kırıklar nedeniyle oluşan asentrik kromozom parçalarından veya iğipliklerindeki hasar nedeniyle, telofazda kutuplara çekilemeden geri kalan bütün bir kromozomdan oluşan ve interfaz hücrelerinin sitoplazmasında gözlenen küçük çekirdeklerdir (12). Yapılan genotoksik çalışmalarda, insan periferik lenfositlerinde MN frekansındaki artış ile kanser sıklığı arasında pozitif bir korelasyon olduğu gözlenmiştir (13).

Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Testi

Mutajenik çalışmalar içinde yaygın olarak kullanılan bir diğer sitogenetik teknik de kardeş kromatid değişimi (KKD) metodudur. KKD, metafaz kromozomlarının kardeş kromatidleri arasındaki DNA segmentlerinin simetrik değişimleridir. Bu metotta, DNA kırıklarını görünür hale getirmek için, hücre kültürlerine timin analogu olan Bromodeoksiüridin (BrdU) eklenmektedir. Herhangi bir kimyasal maddenin KKD frekansında artışa sebep olması, o maddenin replikasyon mekanizmasını etkilediğinin ve DNA hasarı oluşturabildiğinin göstergesidir. Klastojenlerin ve klastojenik aktivitenin belirlenmesinde KKD testi yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (14, 15).

Comet Testi

Son yıllarda geliştirilen comet testi (tek hücre jel elektroforezi), genotoksisite çalışmalarında DNA hasarını ölçmek amacıyla kullanılan hızlı, basit ve oldukça güvenilir bir testtir (16). Bu yöntem negatif yüklü DNA fragmentlerinin bir agaroz jel üzerinde elektriksel alanda göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Comet tekniğinin en önemli avantajları, çok düşük düzeydeki DNA hasarlarını bile ayırt edebilmesi, çeşitli doku ve hücre tiplerinde uygulanabiliyor olması, her uygulama grubu için az sayıda hücrenin yeterli olması, hızlı sonuç elde edilebilmesi ve hücrelerdeki DNA kırıklarının görsel olarak belirlenebilmesidir (17, 18).

Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)

Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART), kimyasalların mutajenik ve rekombinojenik aktivitelerinin saptanması için *Drosophila* ırkları ile gerçekleştirilen bir mutajenite testidir. Heterozigot veya hemizigot hayvanların vücut yüzeylerinde hücre klonlarının değişimine öncülük eden mutasyon ya da rekombinasyonlardan dolayı heterozigotluğun kaybı esasına dayanır. SMART nokta mutasyonu, delesyon, kararsız translokasyon, mitotik rekombinasyon ve kromozom kaybı veya ayrılmama gibi kromozom aberasyonlarının tespitine izin veren hassas, ucuz ve kolay bir metottur (19).

BULGULAR

Gıda koruyucu maddelerin genotoksik etkilerinin incelendiği araştırmalarda, bu maddelerin genotoksik potansiyellerinin olmadığını gösteren çalışmaların yanı sıra, genotoksik risk taşıyabileceklerini gösteren oldukça fazla sayıda araştırma da mevcuttur (Çizelge 1).

Yasa ile izin verilen çeşitli gıdalarda (67) sıklıkla kullanılan koruyucu maddelerden olan sorbatlar, benzoatlar ve p-hidroksibenzoatlar gıdalarda tek başlarına kullanıldıkları gibi birlikte de kullanılabilirler. Sorbik asit ve tuzlarıyla yapılan araştırmalarda; genotoksik etki sergilemiş çalışmalarla, genotoksik etkisi belirlenmemiş çalışmaların hemen hemen aynı sayıda olduğu Çizelge 1'de görülmektedir. Benzoik asit ve tuzlarıyla yapılmış araştırmaların sonuçları değerlendirildiğinde ise, genotoksik olarak pozitif etki gösteren çalışmaların daha fazla olduğu gözlenmiştir. P-hidroksibenzoatlarla yapılan az sayıda çalışmada, bu koruyucuların genotoksik etki sergilediği araştırmaların daha fazla olduğu belirlenmiştir. Hazır ambalajlı dilimli ekmek ve çavdar ekmeği, enerjisi azaltılmış ekmek, kısmen fırınlanmış hazır ambalajlı ekmek ile peynir gibi gıdalarda (67) bulunan propionik asit ve tuzları ile ilgili yapılan çalışmada, genotoksik olarak pozitif etki gösteren çalışmaların fazla sayıda olduğu anlaşılmıştır. İşlenmiş et, ısıtılmış işlem görmemiş işlenmiş et, ısıtılmış işlem görmüş işlenmiş et vb. gibi gıdalarda (67) koruyucu katkı maddesi olarak sıklıkla kullanılan nitrit ve nitratlarla yapılmış olan araştırmalarda, genotoksik etki sergilemiş çalışmaların, genotoksik etki belirlenmemiş çalışmalardan fazla olduğu gözlenmiştir. 30 Haziran 2013 tarih ve 28693 sayılı Resmi Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğinde ülkemizde üretilen bazı geleneksel ürünlerde (fermente sucuk, ısıtılmış işlem görmüş sucuk, pastırma, döner, kanatlı döner) nitrit ve nitratların kullanılması yasaklanmıştır. Çeşitli gıdalarda (67) koruyucu olarak kullanılan sodyum metabisülfid ile yapılan genotoksisite araştırmalarında, bu koruyucu maddenin genotoksik risk taşıyabileceğini gösteren araştırmalar mevcuttur. Bazı özel gıdalarda koruyucu katkı olarak kullanılan borik asit ve lizozimin (67), çeşitli canlı gruplarında daha az sıklıkla yapılmış olan çalışmalarında, bu maddelerin genotoksik etki sergilemiş olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ

Dünya nüfusunun hızla artması, çevre kirliliği, ekonomik dengesizlik ve eğitim eksikliği beslenme

sorunlarını olumsuz etkilemekte ve güvenli gıda teminini zorlaştırmaktadır. Gıda koruyucularının etkilerini bir bütün olarak değerlendirdiğimizde, gıdalarda sıklıkla kullanılan koruyucuların çoğu testte genotoksik açıdan pozitif olduğu gözlenmektedir. Bir kimyasalın genotoksik olması, o maddenin aynı zamanda karsinojen olabileceğini de akla getirmektedir. Çünkü yapılan araştırmalarda, genotoksisite ve kanser oluşumu arasında bir ilişki olduğu, insanlarda genotoksik olan birçok bileşiğin aynı zamanda karsinojen olduğu tespit edilmiştir. Birçok kanser türü ile kromozom ve DNA hasarı arasında pozitif ilişki bulunduğundan, insanlardaki genotoksik hasarların, kanserin erken habercisi olduğu kabul edilmektedir (11, 68, 69). DNA, endojen ve ekzojen mutajenler ve karsinojenlerle devamlı olarak hasara uğramakta ve bu hasarlar DNA tamir mekanizmalarıyla onarılabilmektedir. Onarılmamış DNA hasarına sahip hücreler ya apoptosize veya kötü huylu tümör olma yoluna doğru ilerler. DNA hasarının tamirinde bir deformasyon veya etkinlik düşüşü kanser gelişiminde önemli rol oynamaktadır (70, 71). Gıda katkı maddelerinin ve diğer gıda içeriklerinin genotoksisitelerini test etmekteki amaç, genotoksik maddelere olan maruziyeti birincil düzeyde önleme yoluyla tüketiciler için sağlık riskini minimize etmek olup, bu bağlamda genotoksik tehlikenin tanımlanmasıdır. Somatik ya da germ hücrelerindeki genetik hasar kanser, kalıtsal hastalıklar ve dejeneratif durumları içeren zararlı sağlık etkileri ile ilişkilidir. Prensip olarak bu etkiler genotoksik maddeler tarafından çok düşük dozlarda dahi tetiklenebilir. Bundan dolayı EFSA genotoksik maddelerin herhangi bir dozunun kasıtlı olarak gıdalara eklenmemesi gerektiğini savunur (72, 73).

Gıdalarda kullanılan koruyucu maddelerin genotoksik potansiyellerinin belirlenmesi, gıda güvenliği, insan sağlığı ve yaşam kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu tür katkı maddelerinin oluşturdukları olumsuz etkilerin önlenmesi için yasal çerçeve içerisinde belirtilen dozlarda kullanılmaları, gıdaların etiketlerinin üzerinde tüketiciyi bilgilendirici ve uyarı amaçlı içeriklerin bulunması gerekmektedir. Gıdalarda sıklıkla kullanılan koruyucu maddeler sağlığa zarar vermeyecek miktarda kullanılsalar bile, bu maddelerin zaman içerisinde vücutta birikerek zararlı olabileceği, dolayısıyla insan sağlığını doğrudan ya da dolaylı olarak tehdit edebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Gıda katkı maddelerinin kullanımında olabildiğince titizlik ve hassasiyet gösterilmesi, gıda güvenliği açısından üreticilerin ve tüketicilerin bilinç düzeyinin artırılması ve gıda sağlığına yönelik kontrol mekanizmalarının güçlendirilmesi gerekmektedir.

Gıda Koruyucuları ve Genotoksisite Testleri

Çizelge 1. Bazı gıda koruyucu maddelerle yapılmış genotoksisite çalışmaları

Koruyucu Adı	Araştırma	Sonuç	Kaynak
Sorbik Asit	Çin Hamsteri V79 hücreleri/KA, KKD, Gen mutasyonu	+	(20)
	AMES	+	(21)
	Fare kemik iliği/KKD, MN	+	(22)
	Fare kemik iliği/KKD, MN (5000 mg/kg)	-	(23)
	Fare organları/Comet testi (>2000 mg/kg) 3s/24s	-	(24)
Sodyum Sorbat	Çin Hamsteri V79 hücreleri/KA, KKD (200-800 µg/mL)	+	(20)
	Çin Hamsteri ovaryum hücreleri/AMES, HPRT, KKD (500-1000 µg/mL)	-	(25)
	Çin Hamsteri ve fare kemik iliği hücreleri/MN(200 mg/kg bw)	-	(25)
	Çin Hamsteri/KA, KKD (500-1000 µg/mL)	-	(25)
	Suriye Hamsteri embriyo fibroblast hücreleri/MN, (beklemiş eriyik) (120-1200 µg/mL)	+	(26)
	Suriye Hamsteri embriyo fibroblast hücreleri/MN, (taze eriyik) (120-1200 µg/mL)	+	(26)
	Çin Hamsteri V79 hücreleri/MI (2500 µg/mL) 24s	+	(27)
İnsan lenfositleri/KKD, KA, MN, Comet (100-800 µg/mL) 24s/48s/1s	+	(28)	
Potasyum Sorbat	Çin Hamsteri/KA (3-4 mg/mL)	+	(29-30)
	Çin Hamsteri V79 hücreleri/KA, KKD, Gen mutasyonu (20 mg/mL)	+	(20)
	Çin Hamsteri ovaryum hücreleri/AMES, HPRT, KKD (10-20 mg/kg)	-	(25)
	Çin Hamsteri ve fare kemik iliği hücreleri/KA, MN (200 mg/kg bw)	-	(25)
	Çin Hamsteri/KA, KKD (10000 ve 20000 µg/mL)	-	(25)
	Suriye Hamsteri embriyo fibroblast hücreleri/MN, Hücre transformasyonu (120-1200µg/mL)	-	(26)
	Çin Hamsteri V79 hücreleri/MI (2500 µg/mL) <i>Drosophila</i> /SMART (25 mM) 24s	-	(27)
	Fare organları/Comet testi (>2000 mg/kg) 3s/24s	-	(24)
	İnsan lenfositleri/KKD (0.02-8 mM) 72s	+	(31)
	İnsan lenfositleri/KKD, KA, MN, Comet (125-1000 µg/mL) 24s/48s/1s	+/-/+	(32)
	İnsan lenfositleri/MN (200-1000 µg/mL) 72s	-	(33)
Benzoik Asit	AMES ve Çin Hamsteri/KA (10 mg/petri) ve (1.5 mg/mL) 24s/48s	-/+	(34)
	AMES (5000 µg/petri)	+	(35)
	Fare organları/Comet testi (2000 mg/kg) 3s/24s	-	(24)
	<i>Drosophila</i> /SMART (50-100 mM)	+	(36)
	<i>Allium sativum</i> kök ucu hücreleri (50-500 mg/L) 24s/48s/48s+24s	+	(37)
	İnsan lenfositleri/KKD, MN, KA (50-500 µg/mL) 24s/48s	+	(38)
	İnsan lenfositleri/Comet (50-500 µg/mL) 1s	+	(39)
Sodyum Benzoat	Rat kemik iliği/KA (50, 500, 5000 mg/kg) 6s/24s/48s	-	(40)
	Çin Hamsteri/KKD (1-10 mM)	+	(29)
	Çin Hamsteri/KA (2.00 mg/mL) (138.8x10 ⁻⁴ M)	+	(30)
	<i>Vicia faba</i> kök ucu hücreleri/KA, MI	+	(41)
	AMES ve Çin Hamsteri fibroblast hücreleri/KA (3 mg/petri) ve (2 mg/mL) 24s/48s	-/+	(34)
	AMES (5000 µg/petri)	+	(35)
	<i>Vicia faba</i> kök ucu hücreleri ve İnsan lenfosit hücreleri/ KKD (10 ⁻² M)	+	(42)
	AMES (0.0033-10 mg/petri)	-	(43)
	Fare organları/Comet testi (2000 mg/kg) 3s/24s	-	(24)
	İnsan lenfositleri/MN (100-800 µg/mL) 72s	-	(33)
	<i>Allium cepa</i> /KA (20-100 µg/mL) 5s/10s/20s	+	(44)
	İnsan lenfositleri/KKD (0.02-8 mM) 72s	+	(31)
	İnsan lenfositleri/KKD, KA, MN, Comet (6.25-100 µg/mL) 24s/48s/1s	+	(45)
Potasyum Benzoat	İnsan lenfositleri/KA (2-500 µg/mL)	+	(46)
	İnsan lenfositleri/KKD (2-500 µg/mL)	+	(47)
	İnsan lenfositleri/KKD, KA, MN, Comet (62.5-1000 µg/mL) 24s/48s/1s	+/-/+	(45)
Metil p- hidroksibenzoat	AMES	+	(48)
	Çin Hamsteri/KA (0.5-0.006 mg/mL) 24s/48s	+	(49)
Etil p- hidroksibenzoat	Çin Hamsteri/KA (0.5-0.006 mg/mL) 24s/48s	+	(49)
	Fare organları/Comet testi (>2000 mg/kg) 3s/24s	-	(24)
Borik Asit	Çin Hamsteri ovaryum hücreleri/KKD, KA	-	(50)
	<i>Allium cepa</i> /MI, KA (1000-4000 µg/mL) 10s/20s	+	(51)
	<i>Allium cepa</i> /KA (20-100 µg/mL) 5s/10s/20s	+	(44)
	İnsan lenfositleri/KA, KKD (400-1000 µg/mL) 24s/48s	+	(52)
Propionik asit	AMES ve Çin Hamsteri V79 hücreleri/KKD (0.01-10 µl/petri) ve (0.1-33.3 mM) 12s/24s/48s	-	(53)
	AMES (160 µg/petri)	+	(54)
	İnsan lenfositleri/KKD (2.5 mM) 48s	+	(55)
Sodyum Propiyonat	<i>Allium cepa</i> kök ucu hücreleri/KA (1000-3000 µg/mL) 24s/48s/72s	+	(56)
Kalsiyum Propiyonat	<i>Allium cepa</i> kök ucu hücreleri/ KA (1000-3000 µg/mL) 24s/48s/72s	+	(56)
	İnsan lenfositleri/KKD, MN, KA (50-500 µg/mL) 24s/48s	+	(57)
	İnsan lenfositleri/Comet (50-500 µg/mL) 1s	+	(39)
Potasyum Propiyonat	<i>Allium cepa</i> kök ucu hücreleri/KA (1000-3000 µg/mL) 24s/48s/72s	+	(56)
Lizozim	AMES	+	(58)
Potasyum Nitrit	AMES (0.033-10 mg/petri)	+	(43)
	<i>Drosophila</i> /SMART (25-100 mM) 72s	+	(59)
Sodyum Nitrit	AMES ve Çin Hamsteri fibroblast hücreleri/KA (10 mg/petri) ve (1 mg/mL) 24s/48s	+	(34)
	<i>In vivo</i> /MN, KA (1.72-46.66 mg/kg) 24s	+	(60)
	Fare kemik iliği/KKD, MN	+	(22)
	AMES	+	(61)
	AMES (0.033-10 mg/petri)	+	(43)
	<i>Drosophila</i> /SMART (25-100 mM) 72s	+	(59)
İnsan lenfositleri/MN (1-100 µg/mL) 72s	+	(33)	
Potasyum Nitrat	AMES (0.033-10 mg/petri)	-	(43)
	<i>Drosophila</i> /SMART (25-100 mM) 72s	+	(59)
	İnsan lenfositleri/KKD (0.02-8 mM) 72s	+	(31)
	AMES (0.83-5.00 mg/petri)	-	(62)
Sodyum Nitrat	AMES ve Çin Hamsteri fibroblast hücreleri/KA (5 mg/petri) ve (6 mg/mL) 24s/48s	-/+	(34)
	<i>Drosophila</i> /SMART (25-100 mM) 72s	+	(59)
	AMES (0.83-5.00 mg/petri)	+	(62)
Sodyum Metabisülfid	AMES (0.033-10 mg/petri)	-	(43)
	<i>Allium cepa</i> kök ucu hücreleri/MI (7.5- 30 mg/L) 10s/20s	+	(63)
	İnsan lenfositleri/KA, KKD, MI (75-300 µg/mL) 24s/48s	+	(64)
	Sıçan kemik iliği/KA, MI (250-1000 mg/kg) 6s/12s/24s	+	(65)
	Fare kan ve kemik iliği hücreleri/MN (1-2 g/kg) 24s	+	(66)
	Fare kan hücreleri ve karaciğer dokuları/Comet (1-2 g/kg) 24s	+	(66)

KA: Kromozomal anormallik, KKD: Kardeş kromatid değişimi, AMES: Bakteriyal geri mutasyon testi, MN: Mikronükleus, HPRT: Hipoksantin guanin fosforibozil transferaz geni ileri mutasyon testi, MI: Mitotik indeks, SMART: Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi, s:saat
 +: Genotoksik etki sergilemiş, -: Genotoksik etki belirlenmemiş

KAYNAKLAR

1. Yurttagül M, Ayaz A. 2008. *Katkı Maddeleri: Yanlışlar ve Doğrular*. Klasmat Matbaacılık, Ankara, Türkiye, 32 s.
2. Altuğ T. 2009. *Gıda Katkı Maddeleri*. Kan Yılmaz Matbaacılık, İzmir, Türkiye, 268s.
3. Saldamlı İ, Uygun Ü. 2005, Gıda Katkı Maddeleri. *Gıda Kimyası*, Saldamlı İ (baş editör), Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, s. 487-522.
4. Anon 2013. Türk Gıda Kodeksi. Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 30 Haziran 2013 tarih ve 28693 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
5. Ames BN, McCann J, Yamasaki E. 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian microsome mutagenicity test genotoxicity. *Mutat Res* 31(6): 347-364.
6. Doak SH, Manshian B, Jenkins GJS, Singh N. 2012. In vitro genotoxicity testing strategy for nanomaterials and the adaptation of current OECD guidelines. *Mutat Res* 745(1-2): 104-111.
7. Albertini RJ. 2001. HPRT mutation in humans: biomarkers for mechanistic studies. *Mutat Res* 489(1): 1-16.
8. El-Zein R, Vral A, Etsel, CJ. 2011. Cytokinesis-blocked micronucleus assay and cancer risk assessment. *Mutagenesis* 26(1): 101-106.
9. Suspiro A, Prista J. 2011. Biomarkers of occupational exposure do anticancer agents: a minireview. *Toxicol Lett* 207(1):42-52.
10. Hagmar L, Bonassi S, Stromberg U, Brogger A, Knudsen LE, Norppa H, Reuterwall C. 1998. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res* 58 (18): 4117-4121.
11. Doak SH, Liu Y, Chen C. 2012. Genotoxicity and Cancer. Adverse Effects of Engineered Nanomaterials 1st ed., Edited by Fadeel B, Pietroiusti A, Shvedova A. *Academic Press*, USA, pp. 243-261.
12. Fenech M. 2007. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc* 2(5): 1084-1104.
13. Bonassi S, El-Zein R, Bolognesi C, Fenech M. 2011. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis*, 26(1): 93-100.
14. Montoro A, Soriano JM, Barquinero JF, Almonacid M, Montoro A, Verdu G, Sahuquillo V, Villaescusa JI, Sebastia N. 2012. Assessment in vitro of cytogenetic and genotoxic effects of propolis on human lymphocytes. *Food Chem Toxicol* 50(2): 216-221.
15. Beg T, Siddique YH, Ara G, Gupta M, Afzal J. 2009. Protective action of EGCG against anticancer drugs MMS and CP. *Internet J Pharmacol* 6(2): 1-7.
16. Hoelzl C, Knasmüller S, Misic M, Collins A, Dusinska M, Nersesyan A. 2009. Use of single cell gel electrophoresis assays for the detection of DNA-protective effects of dietary factors in humans: Recent results and trends. *Mutat Res* 681(1): 68-79.
17. Speit G, Vasquez M, Hartmann A. 2009. The comet assay as an indicator test for germ cell genotoxicity. *Mutat Res* 681(1): 3-12.
18. Kryston TB, Georgie AB, Pissis P, Georgakilas AG. 2011. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutat Res* 711(1-2): 193-201.
19. Graf U, Abraham SK, Guzman-Rincon J, Wurgler FE. 1998. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res* 402(1-2): 203-209.
20. 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 Chem Toxicol* 22 (7): 501-507.
21. Liewen M, Marth EH. 1985. Evaluation of 1,3-pentadiene for mutagenicity by the *Salmonella*/mammalian microsome assay. *Mutat Res* 157 (1): 49-52.
22. Mukherjee A, Giri AK, Talukder G, Sharma A. 1988. Sister chromatid exchanges and micronuclei formations induced by sorbic acid and sorbic acid-nitrite *in vivo* in mice. *Toxicol Lett* 42 (1): 47-53.
23. Jung R, Cojocel C, Müller W, Bottger D, Lück E. 1992. Evaluation of the genotoxic potential of sorbic acid and potassium sorbate. *Food Chem Toxicol* 30 (1): 1-7.
24. Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S. 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res* 519 (1-2): 103-119.
25. Münzner R, Guigas C, Renner HW. 1990. Re-examination of potassium sorbate and sodium sorbate for possible genotoxic potential. *Food Chem Toxicol* 28(6): 397-401.
26. Schiffmann D, Schlatter J. 1992. Genotoxicity and cell transformation studies with sorbates in Syrian Hamster embryo fibroblasts. *Food Chem Toxicol* 30(8): 669-672.
27. Schlatter J, Wurgler FE, Kranzlin R, Maier P, Holliger E, Graf U. 1992. The potential genotoxicity of sorbates: Effects on cell cycle in vitro in V79 cells and somatic mutations in *Drosophila*. *Food Chem Toxicol* 30 (10): 843-851.

28. Mamur S, Yüzbaşıoğlu D, Ünal F, Aksoy H. 2012. Genotoxicity of food preservative sodium sorbate in human lymphocytes in vitro. *Cytotechnology* 64(5): 553-62.
29. Abe S, Sasaki M. 1977. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese Hamster cells exposed to various chemicals. *J Natl Cancer I* 58(6): 1635-1643.
30. Ishidate MJr, Odashima S. 1977. Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells in vitro-a screening for chemical carcinogens. *Mutat Res* 48(3-4): 337-353.
31. Mpountoukas P, Vantarakis A, Sivridis E, Lialiaris T. 2008. Cytogenetic study in cultured human lymphocytes treated with three commonly used preservatives. *Food Chem Toxicol* 46(7): 2390-2393.
32. Mamur S, Yüzbaşıoğlu D, Ünal F, Yılmaz S. 2010. Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes? *Toxicol In Vitro* 24(3):790-794.
33. Özdemir H, Turhan AB, Arıkoğlu H. 2012. Potasyum Sorbat, Sodyum Benzoat ve Sodyum Nitrit'in Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. *EJBMS* 2(2): 34-40.
34. Ishidate MJr, Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M, Matsuoka A. 1984. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem Toxicol* 22(8): 623-636.
35. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. 1988. *Salmonella* mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 12 (1): 1-158.
36. Sarıkaya R, Solak K. 2003. Benzoik asitin *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile genotoksisitesinin araştırılması. *GEFAD* 23 (3): 19-32.
37. Yılmaz S, Ünal F, Aksoy H, Yüzbaşıoğlu D, Çelik M. 2008. Cytogenetic effects of citric acid and benzoic acid on *Allium* chromosomes. *Fresen Environ Bull* 17(8a): 1029-1037.
38. Yılmaz S, Ünal F, Yüzbaşıoğlu D. 2009. The in vitro genotoxicity of benzoic acid in human peripheral blood lymphocytes. *Cytotechnology* 60(1-3): 55-61.
39. Yılmaz S, Ünal F, Yüzbaşıoğlu D, Çelik M. 2012. DNA damage in human lymphocytes exposed to four food additives *in vitro*. *Toxicol Ind Health*, DOI: 10.1177/0748233712466132
40. Litton Bionetics. 1974. Inc. Mutagenic evaluation of compound FDA 71-37, sodium benzoate. NTIS Report No. PB-245-453.
41. Njagi GD, Gopalan HN. 1982. Cytogenetic effects of the food preservatives sodium benzoate and sodium sulphite on *Vicia faba* root meristems. *Mutat Res* 102 (3): 213-219.
42. Xing W, Zhang Z. 1990. A comparison of SCE test in human lymphocytes and *Vicia faba*: a hopeful technique using plants to detect mutagens and carcinogens. *Mutat Res* 241(2): 109-113.
43. Prival MJ, Simmon VF, Mortelmans KE. 1991. Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results. *Mutat Res* 260(4), 321-329.
44. Türkoğlu Ş. 2007. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutat Res* 626 (1-2): 4-14.
45. Zengin N, Yüzbaşıoğlu D, Ünal F, Yılmaz S, Aksoy H. 2011. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food Chem Toxicol* 49(4): 763-769.
46. Vernole P, Caporossi D, Tedeschi B, Porfirio B, Melino G, Bonmasar E, Nicoletti B. 1987. Cytogenetic effects of 1-p-(3-methyltriazeno) benzoic acid potassium salt on human lymphocytes in vitro. *Mutat Res* 189(3): 349-356.
47. Vernole P, Caporossi D, Tedeschi B, Melino G, Porfirio B, Bonmasar E, Nicoletti B. 1988. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes exposed to 1-p-(3-methyltriazeno) benzoic acid potassium salt. *Mutat Res* 208(3-4): 233-236.
48. Litton Bionetics. 1974. Mutagenic Evaluation of Compound FDA 71-38, Methyl Paraben. US NTIS Report. PB245 459.
49. Ishidate M, Hayashi M, Sawada M, Matsuoka A, Yoshikawa K, Ono M, Nakadate M. 1978. Cytotoxicity test on medical drugs. Chromosome aberration tests in Chinese hamster cells in vitro. *Eisei Shikensho Hokoku* 96(1), 55-61.
50. Uluslararası Toksikoloji Programı, 1987. Toxicology and carcinogenesis studies of Boric Acid. National Toxicology Program Technical Report Series, 324.
51. Dönbak L, Rencüzoğulları E, Topaktaş M. 2002. The cytogenetic effects of the food additive Boric acid in *Allium cepa* L. *Cytologia* 67(2): 153-157.
52. Arslan M, Topaktas M, Rencüzoğulları E. 2008. The effects of boric acid on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in cultured human lymphocytes. *Cytotechnology* 56(2): 91-96.
53. Basler A, Von der Hude W, Scheutwinkel M. 1987. Screening of the food additive propionic acid for genotoxic properties. *Food Chem Toxicol* 25(4): 287-290.

54. Ohara A, Mizuno M, Danno G, Kanazawa K, Yoshioka T, Nataka M. 1988. Mutagen formed from tryptophan reacted with sodium nitrite in acidic solution. *Mutat Res* 206 (1): 65-71.
55. Sipi P, Jarventaus H, Norppa H. 1992. Sister-chromatid exchanges induced by vinyl esters and respective carboxylic acids in cultured human lymphocytes. *Mutat Res* 279(2): 75-82.
56. Türkoğlu Ş. 2008. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Food Chem Toxicol* 46 (6): 2035-2041.
57. Yılmaz S. 2008. Bazı Gıda Maddelerinin Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 130 s.
58. Nagao M, Honda M, Seino Y, Yahagi T, Kawachi T. 1977. Mutagenicities of protein pyrolysates. *Cancer Lett* 2(6), 335-339.
59. Sarıkaya R, Çakır Ş. 2005. Genotoxicity of four food preservatives and their combinations in the *Drosophila* wing spot test. *Environ Toxicol Pharmacol* 20 (3): 424-430.
60. Luca D, Luca V, Cotor Fl, Răileanu L. 1987. *In vivo* and *in vitro* cytogenetic damage induced by sodium nitrite. *Mutat Res* 189(3): 333-339.
61. Akın A, Sümer S. 1991. The mutagenic effects of sodium nitrite and monosodium glutamate used as food additives demonstrated by the *Salmonella* microsome test system. *Mikrobiyol Bul* 25(1): 94-107.
62. Kayraldız A, Kaya FF, Canımoğlu S, Rencüzoğulları E. 2006. Mutagenicity of five food additives in Ames/*Salmonella*/microsome test. *Ann Microbiol* 56(2): 129-133.
63. Rencüzoğulları E, Kayraldız A, İla HB, Çakmak T, Topaktaş M. 2001. The cytogenetic effects of sodium metabisulfite, a food preservative in root tip cells of *Allium cepa* L. *Turk J Biol* 25: 361-370.
64. Rencüzoğulları E, İla HB, Kayraldız A, Topaktaş M. 2001. Chromosome aberrations and sister chromatid exchange in cultured human lymphocytes treated with sodium metabisulfite, a food preservative. *Mutat Res* 490: 107-112.
65. Kayraldız A, Topaktaş M. 2007. The *in vivo* genotoxic effects of sodium metabisulphite in bone marrow cells of rats. *Genetika* 43(8): 1091-1096.
66. Carvalho IMCMM, Melo Cavalcante AAC, Dantas AF, Pereira DLA, Costa Rocha FC, Andrade TJAS, Silva JD. 2011. Genotoxicity of sodium metabisulfite in Mouse tissues evaluated by the comet assay and the micronucleus test. *Mutat Res* 720(1-2): 58-61.
67. Anon 2011. Türk Gıda Kodeksi. Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 (3. Mükerrer) sayılı Resmi Gazete, Ankara.
68. Garcia-Sagredo JM. 2008. Fifty years of cytogenetics: A parallel view of the evolution of cytogenetics and genotoxicology. *Biochim Biophys Acta* 1779(6-7): 363-375.
69. Mahadevan B, Ronald D, Snyder RD, Waters MD, Benz RD, Kemper RA, Tice RR, Richard AM. 2011. Genetic toxicology in the 21st century: Reflections and future directions. *Environ Mol Mutagen* 52(5): 339-354.
70. Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. 2002. Polymorphism in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidem Biomar* 11: 1513-1530.
71. Moynahan ME, Jasin M. 2010. Mitotic homologous recombination maintains genomic stability and suppresses tumorigenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11: 196-207.
72. Crebelli R. 2012. EFSA. Genotoxicity Guidance on Food Additives. Member of the ANS Panel, Stakeholders workshop, 21 September, Brussels, Belgium, 1-8.
73. EFSA. 2005. Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to A Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances Which are both Genotoxic and Carcinogenic. *The EFSA Journal* 282, 1-31.