

# Potasyum Sorbat, Sodyum Benzoat ve Sodyum Nitrit'in Genotoksik Etkilerinin Araştırılması

Hülya Özdemir<sup>1</sup>, Ahmet Bülent Turhan<sup>1</sup>, Hilal Arıkoğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Konya Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

*Eur J Basic Med Sci* 2012;2(2):34-40

Received: 02.02.2012

Accepted: 19.06.2012

Çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
(BAP) Kordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No:  
05202011).

**Correspondence (Yazışma Adresi):**  
Hülya Özdemir, Konya Üniversitesi Meram  
Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Morfoloji  
Binası. Meram, Konya, Türkiye  
Email: hulyaozdemir1@gmail.com

**Investigation of Genotoxic Effects of Potassium Sorbate, Sodium Benzoate and Sodium Nitrite**

## ABSTRACT

The genotoxic effects of potassium sorbate (E202), sodium benzoate (E211) and sodium nitrite (E250), which are in preservatives the classes of food additives, were examined using micronucleus method in human lymphocyte cultures. Concentrations were prepared as 200 µg/ml, 500 µg/ml and 1000 µg/ml for potassium sorbate, 100 µg/ml, 300 µg/ml and 800 µg/ml for sodium benzoate, 1 µg/ml, 10 µg/ml and 100 µg/ml for sodium nitrite respectively, according to Turkish Food Codex and added in culture. Our results indicated that, potassium sorbate and sodium benzoate in foods have no genotoxic effect ( $p>0.05$ ). However sodium nitrite has genotoxic effect for every concentrations ( $p<0.05$ ).

**Key words:** potassium sorbate, sodium benzoate, sodium nitrite, micronucleus

## ÖZET

Gıda katkı maddelerinin koruyucular sınıfında yer alan potasyum sorbat (E202), sodyum benzoat (E211) ve sodyum nitrit (E250) in insan lenfosit hücre kültürlerindeki genotoksik etkileri mikronukleus tekniği (MN) ile araştırıldı. Türk Gıda Kodeksinin önerdiği değerler dikkate alınarak potasyum sorbat için 200 µg/ml, 500 µg/ml ve 1000 µg/ml, sodyum benzoat için 100 µg/ml, 300 µg/ml ve 800 µg/ml, sodyum nitrit için 1 µg/ml, 10 µg/ml ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan koruyucular kültür ortamına ilave edildi. Potasyum sorbat ve sodyum benzoatın gıdalarda kullanılan konsantrasyonlarının herhangi bir genotoksik etkisinin olmadığı ( $p>0.05$ ) ancak sodyum nitritin uygulanan tüm konsantrasyonlarının genotoksik etki gösterdiği ( $p<0.05$ ) ortaya kondu.

**Anahtar kelimeler:** Potasyum sorbat, sodyum benzoat, sodyum nitrit, mikronükleus

## GİRİŞ

Modern gıda teknolojisinde işlenmiş gıdaların üretiminin artmasıyla birlikte kimyasal koruyucuların bu alanda kullanımı da hız kazanmıştır. Bu koruyucular; mikrobiyolojik, enzimatik veya kimyasal değişiklikler yüzünden ortaya çıkan besinsel kaybı engellemek veya geciktirmek ve gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla gıdalara ilave edilmektedir (1).

Gıda katkı maddelerinin düzenlemesi ulusal bir kavram olmaktan çıkıp, uluslararası boyut kazanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda Tarım Örgütü'nün (FAO) ortak çalışmaları ile Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (CAC) oluşturulmuştur. CAC'nin alt kuruluşu olan Gıda Katkı Maddeleri Ekspert Komitesi; (JECFA) her yıl gıda katkı maddeleri ile ilgili yaptıkları toplantılarda, tüm ülkelere öneri niteliğinde standartlar hazırlamaktadırlar. WHO ve FAO ilgili komiteleri tarafından kabul edilen değerlerden yararlanılarak, her ülkenin sağlık otoriteleri katkı maddelerinin kullanılacağı gıdaları ve katılma miktarını kendi ülkelerinin koşullarına göre belirlerler (2,3). Ülkemizde Tarım ve Köyşleri Bakanlığınca hazırlanmış olan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGKY) ile katkı maddelerinin kullanımları konusunda düzenlemeler yapılmıştır. Söz konusu kodekste gıda katkı maddeleri tanımlanmış ve bu maddelerin E kodları, adları, kullanılacakları gıda grupları ve izin verilen maksimum miktarları listeler halinde açıklanmıştır (Tablo 1). E-kodu gıda katkılarına SCF (EU Scientific Committee on Food) tarafından verilen kodları gösterir. "E" numara sistemi ile gıda katkı maddelerinin temel işlevlerine göre sınıflaması şu şekildedir: 1- Renklendiriciler: E100-180, 2- Koruyucular: E200-297, 3- Antioksidanlar: E300-321, 4- Emülsifiyer ve Stabilizatörler: E322-500, 5- Asit-baz sağlayıcılar: E500-578, 6- Tatlandırıcılar, koku verenler: E620-637, 7- Geniş amaçlı gıda katkı maddeleri: E900-927 (3,4).

Kullanılmasına izin verilen gıda katkı maddelerinin sürekli olarak alındığında genotoksik etkiler gösterdikleri bilinmektedir (5). Bu katkı maddeleri gelişigüzel miktarlarda ve tuzuk dışı olarak gıdalarda kullanıldığı zaman halk sağlığı açısından zararlı olabilir. Kullanılan gıda katkı maddeleri sağlığa zarar vermeyecek dozlarda kullanılırsa dahi, bu maddelerin bir süre sonra vücutta birikerek insan sağlığını tehdit edebilecek miktarlara ulaşabileceği, dokularda hasar meydana getirebileceği, kısaca insan için genotoksik olabileceği öngörülmektedir (6).

Gıda katkı maddelerinin koruyucular sınıfında yer alan potasyum sorbat (E202), sodyum benzoat (E211) ve sodyum

nitrit (E250); gıdaların mikroorganizmalarla bozulmalarını önleyerek raf ömürlerinin uzatılmasını sağlamaktadır.

Geniş bir antimikrobiyal spektruma sahip olan potasyum sorbat (E202), maya ve küflere karşı aktif, bakterilere karşı daha az aktif olmakla beraber katalaz-pozitif mikroorganizmalara karşı da etkin olabilen bir gıda koruyucusudur (7). Kültür ortamında ve gıdalarda çeşitli küf mitotoksinlerinin oluşumunu inhibe etme özelliğinden dolayı ekme ve diğer fırın ürünleri, süt ürünleri, reçeller, şuruplar, şaraplar ve diğer içeceklerde kullanılmaktadır (8,9). Yüksek sıcaklıklara dayanırlılığı (erime noktası 134°C, kaynama noktası 228°C), ısı işlem uygulanmış gıdalarda herhangi bir problem olmaksızın kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

Sodyum benzoat (E211) kozmetik, gıda ve ilaç endüstrisinde kullanılan en eski kimyasal koruyucular arasındadır (11). Genel olarak en çok maya ve bakterilere karşı aktif, küflere karşı daha az aktif bir koruyucu olan sodyum benzoat düşük maliyeti ile tercih edilmektedir. Ancak bu maddenin dar bir pH aralığında etkin olabilmesi ve bazı gıdalarda ve özellikle meyve sularında istenilmeyen lezzet oluşturması nedeni ile düşük düzeylerde ve potasyum sorbat ile kombine olarak kullanılmasının daha uygun olacağı belirtilmektedir (1,7,11,12).

Sodyum nitrit (E250), özellikle kolaylıkla bozulan et ve et ürünleri gibi gıdalara eklenerek bu gıdaların korunmasını ve dayanıklılığın artırılmasını sağlayan bir koruyucudur (13). Nitritin, et ve et ürünleri gibi gıdalar üzerine üç önemli etkisi bulunmaktadır (14). Kokuşmayı engelleyerek lezzete katkıda bulunur (15), miyoglobinin etkileşimine girerek kürlenmiş ete karakteristik pembe rengini veren mononitrosilhemokroma sebep olur (16), gıdaları bozan bakterilerin, özellikle de anaerobik koşullarda gelişen ve ölümcül bir nörotoksin üreten Clostridium botulinum'un çoğalmasını önler (17,18).

Çalışmamızda gıda koruyuculardan potasyum sorbat, sodyum benzoat ve sodyum nitritin gıdalarda kullanılan konsantrasyonlarının insan lenfositleri üzerine herhangi bir genotoksik etkisinin olup olmadığı in vitro mikronükleus tekniği kullanılarak araştırıldı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Grupların Oluşturulması

Çalışma, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde

gerçekleştirildi. Çalışmaya sigara içmeyen, ilaç kullanmayan 20-35 yaş arası sağlıklı 15 birey dahil edildi. 15 kişilik grup oluşturulurken tüm bireylerin bilinen hiçbir mutajenik etkene maruz kalmamış olmasına dikkat edildi. Bireylerden alınan kan örneklerine in vitro kültür ortamında potasyum sorbat (E202), sodyum benzoat (E211) ve sodyum nitrit (E250) eklenerek genotoksik etkileri araştırıldı.

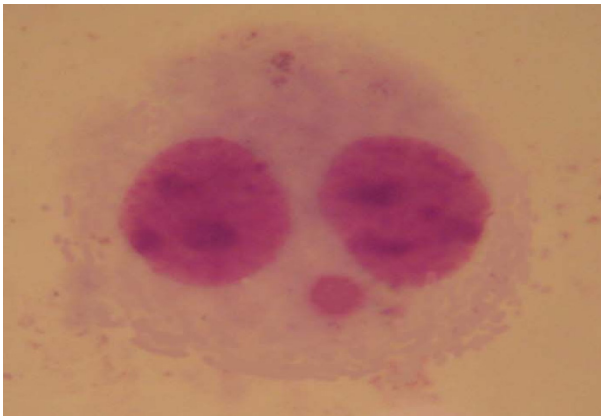
#### Kimyasalların hazırlanması

Gıda katkı maddelerinin, Türkiye’de üretilen gıdalarda kullanılan değerleri Türk Gıda Kodeksinden faydalanılarak belirlendi. Koruyucu maddelerin gıdalarda kullanım oranları farklı olduğundan dolayı her bir koruyucu kendi içinde farklı konsantrasyonlarda hazırlandı, potasyum sorbat (Supelco-LB27196) için 200 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml, sodyum benzoat (Fluka-71295) için 100 µg/ml, 300 µg/ml, 800 µg/ml ve sodyum nitrit için 1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml. Kullanılan koruyucular suda çözünebilir olduğu için hazırlanırken steril dH<sub>2</sub>O kullanıldı. Hazırlanan kültür tüplerine ekim yapılır yapılmaz farklı konsantrasyonlarda hazırlanan koruyucular ilave edildi. Her bir birey için herhangi bir koruyucu ilave edilmeyen bir tüp kontrol amaçlı kullanıldı. Her birey için; 1 adet kontrol ve her bir koruyucu için 3 farklı konsantrasyon olmak üzere toplam 10 adet kültür tüpü hazırlandı.

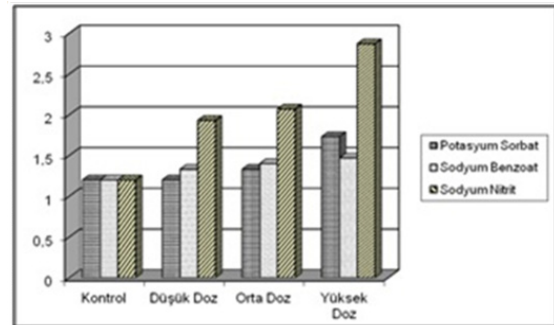
#### Lenfosit kültürü

100 ml McCoy’s 5A besiyerinin (Biological Industries-518289) içine, 1 ml penisilin - streptomisin

(antibiyotik) (Sigma-85K2336), 20 ml fetal calf serum (Biological Industries-015715), 2,5 ml fitohemoglobulinin (lenfosit uyarıcı) (Biological Industries-509121) steril ortamda ilave edildi. Bu karışım falkon tüplerine 4'er ml olacak şekilde paylaştırıldı. Derin dondurucuda saklandı ve kullanılacağı zaman çıkartılıp 37°C’de benmaride eritildi. Heparinle yıkanmış tüplere alınan kan örneklerinden 14'er damla besiyerlerine ilave edilerek ekim yapıldı. Kimyasalların her birinden 1 ml besiyerlerine ekim sırasında ilave edildi. 37 °C’de 72 saat etüvde inkübe edildi. Kültürlere 44. saatte sitokalsin-B (3 µg/ml) (Sigma-094K4108) ilave edildi. Işığın fotolitik etkisinden korumak amacıyla kültür tüpleri alüminyum folyolara sarılıp 72 saatlik kültür periyodunu tamamlamak üzere 37 °C’lik etüve kaldırıldı. 72. saatin sonunda etüvden çıkarılan kültürler 1000 rpm’de 7 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve süspansiyon edilen hücre kümesi üzerine 6-7 ml 0,075 M KCl (Sigma) (hipotonik) soğuk olarak ilave edilerek 1000 rpm’de 7 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve süspansiyon edilen hücre kümesi üzerine taze olarak hazırlanmış fiksatiften (3:1, Metanol:Asetik Asit) 6-7 ml ilave edilerek 1000 rpm’de 7 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Bu işlem iki kez tekrarlandı. Son santrifüjden sonra süpernatant atılarak, elde edilen hücre kümesi süspansiyon edilerek, temiz ve kuru lamlara yayılıp havada kurutuldu. Kuruyan preparatlar, % 5’lik Giemsa (Merck-03527707) ile 5-7 dakika boyandı. Cyto-B ilavesiyle ilk çekirdek bölünmesini tamamlamış, ancak sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirilmemiş iki çekirdekli hücreler ışık mikroskopunda sayıldı ve MN’ye sahip hücrelerin oranı saptandı.



Şekil 1. Sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli lenfosit hücresi ve mikronükleus (10x100, %5’lik giemsa ile boyanmıştır.)



Şekil 2. Lenfosit hücre kültürlerinde farklı konsantrasyonlardaki potasyum sorbat, sodyum benzoat ve sodyum nitrit uygulamalarında gözlenen % MN sıklığı

**Tablo 1. Potasyum sorbat, sodyum benzoat ve sodyum nitritin Türk Gıda Kodeksi yönetmeliklerinde izin verilen maksimum miktarları \***

Gıda Maddesi	En yüksek değer (mg/kg)			
	PS	SB	PS+SB	SN
Alkolsüz aromalı içecekler (Süt bazlı içecekler hariç)	300	150	250+150	
Düşük şekerli reçeller, jöle, marmelatlar ve benzeri düşük kalorili veya şekerli ürünler ve diğer meyve bazlı sürülebilir ürünler, Mermeladas		500		
Kurutulmuş meyveler	1000			
Meyve ve sebze preparatları (meyve bazlı soslar dahil) (teneke veya cam konserve püre, mousse/pudding, komposto, salata ve benzeri ürünler hariç)	1000			
Patates hamuru ve ön kızartma yapılmış patates dilimleri	2000			
Zeytin ve zeytin bazlı ürünler	1000	500	1000	
İşlenmiş peynir	2000			
Ön paketlenmiş dilimli ekme ve çavdar ekmeği	2000			
Sütlü, yumurtalı hamurlar	2000			
% 60'dan az yağ içeren emülsifiye edilmiş soslar	2000	1000	2000	
Sterilize et ürünleri				100

PS: Potasyum sorbat, SB: Sodyum benzoat, SN: Sodyum nitrit

PS + SB: PS ve SB tek veya birlikte kullanılabilir anlamındadır.

\* Türk Gıda Kodeksinin [http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/kodeks\\_liste.html](http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/kodeks_liste.html) adresli internet sitesinden alınmıştır.

### Mikronükleus Analizi ve Değerlendirme Kriterleri

Çalışmada her bir konsantrasyon için 1500 tane sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli hücre sayıldı. MN sıklığı için sayılacak hücrelerde şu kriterlere dikkat edildi: i) MN çapının, ana çekirdeğin çapının 1/16 ve 1/3'ü arasında olması, ii) yuvarlak ve oval biçimde olması, iii) mikrovida ile oynandığında küçük boya parçaları gibi ışığı kırmaması ve boya partiküllerinden kolayca ayırt edilebilmesi, iv) MN'nin ana çekirdek ile bağlantısının olmaması, v) MN ana çekirdeğe dokunsa bile ana çekirdekle üst üste binmemesi ve MN'nin sınırının ana çekirdeğin sınırından ayırt edilebilmesi, vi) boya alma yoğunluğunun ana çekirdek ile aynı olması (Şekil 1).

Değerlendirme sırasında az sayıda 1, 3 ve 4 çekirdekli hücrelere, apoptotik ve nekrotik hücrelere de rastlandı, ancak MN değerlendirilmesinde bu hücreler dikkate alınmadı.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiki değerlendirmede SPSS 11.0 programı kullanıldı. Sonuçlar Wilcoxon testi ile değerlendirildi. Gruplardan elde edilen veriler ortalama ve standart sapma şeklinde verildi.  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

#### Potasyum sorbat

Türk gıda kodeksine göre gıdalarda kullanılması gereken miktarlar baz alınarak potasyum sorbat, 200 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml'lik konsantrasyonlarda hazırlandı. Kontrol, 200 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml'lik konsantrasyonlar için ortalama MN değerleri sırasıyla %1.20±%0.41, %1.20±%0.86, %1.33±%1.29 ve %1.73±%1.71 olarak saptandı. Her konsantrasyonun kontrolle ve kendi aralarında birbirleriyle MN sıklığı açısından karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak

**Tablo 2. Kontrol ve farklı koruyucu madde konsantrasyonlarında % MN ortalamaları**

Koruyucular	Kontrol (Ort±SS) (%)	Düşük Doz (Ort±SS) (%)	Orta Doz (Ort±SS) (%)	Yüksek Doz (Ort±SS) (%)
Potasyum Sorbat	1.20±0.41	1.20±0.86	1.33±1.29	1.73±1.71
Sodyum Benzoat	1.20±0.41	1.33±0.82	1.40±0.63	1.47±0.74
Sodyum Nitrit	1.20±0.41	1.93±1.10a	2.07±1.33a	2.87±1.92b,c

a kontrole göre  $p < 0.05$ , b kontrole göre  $p < 0.01$ , c düşük doza göre  $p < 0.05$

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma

önemli bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 2 ve Şekil 2).

#### **Sodyum benzoat**

Sodyum benzoatın, 100 µg/ml, 300 µg/ml, 800 µg/ml'lik konsantrasyonları gıdalarda kullanılması gereken miktarlar baz alınarak hazırlandı. Bireylerin kontrol, 100 µg/ml, 300 µg/ml, 800 µg/ml'lik konsantrasyonlar için otalama MN değerleri sırasıyla  $1.20\pm 0.41$ ,  $1.33\pm 0.82$ ,  $1.40\pm 0.63$  ve  $1.47\pm 0.74$  olarak belirlendi. Her konsantrasyonun kontrolle ve kendi aralarında birbirleriyle MN sıklığı açısından karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 2 ve Şekil 2).

#### **Sodyum Nitrit**

Sodyum nitrit, 1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml'lik konsantrasyonlarda hazırlandı. Kontrol, 1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml'lik konsantrasyonlar için gözlenen otalama MN değerleri sırasıyla  $1.20\pm 0.41$ ,  $1.93\pm 1.10$ ,  $2.07\pm 1.33$  ve  $2.87\pm 1.92$  olarak saptandı. 1 µg/ml ve 10 µg/ml'lik konsantrasyonlar kontrolle kıyaslandığı zaman MN sıklığı açısından istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). 100 µg/ml'lik konsantrasyonun ise kontrolden farkının diğer iki konsantrasyona göre çok daha önemli olduğu saptandı ( $p<0.01$ ) (Tablo 2 ve Şekil 2).

### **TARTIŞMA**

Çalışmamızda potasyum sorbat, sodyum benzoat ve sodyum nitritin lenfosit hücreleri üzerindeki genotoksik etkileri incelenmiştir. Sigara içmeyen, ilaç kullanmayan, 20-35 yaş arası 15 sağlıklı bireyin lenfosit kültürlerinde bu gıda katkı maddelerinin etkileri araştırılmıştır. Mutajenite sonucu oluşan sitogenetik harabiyetin hassas göstergelerinden biri olan ve kromozom analizine göre daha az zaman ve emek gerektirmesi gibi avantajlara sahip MN tekniği kullanılmıştır.

MN testi; fiziksel etkenlerin, ilaçların, çevresel kirlenmeler ve gıda katkı maddeleri gibi günlük yaşamda sıklıkla maruz kaldığımız her türlü kimyasal maddenin genotoksik ve klastojenik potansiyellerinin ve güvenilirliklerinin araştırılmasını, kanser riskinin tahmin edilmesini sağlayan oldukça kullanışlı bir tekniktir (19-24).

Gıda katkı maddelerinin koruyucular sınıfı, besinleri bakteri, küf, mayalardan korumak, raf ömrünü

uzatmak, doğal renk ve aromayı korumak amacıyla kullanılmaktadır. Koruyucular içerisinde en çok tartışılan sucuk, salam, pastırma gibi et ürünlerine konulan nitrit ve nitratdır. Nitrit ve nitrat kanserojen nitrozo bileşikleridir. Kanın oksijen taşıma yeteneğini azaltmaktadır (2,25). JECFA tarafından nitritin ADI (Acceptable Daily Intake-günlük tüketilebilir miktar) değeri 0-0.2mg/kg olarak belirlenmiştir. Günlük aldığımız nitrit ve nitratın % 80'i su, sebze ve diğer kaynaklardan, %20'si ise gıda katkı maddelerinden gelmektedir. Et ürünlerindeki kalıntı nitrit miktarı Avrupa Topluluğu standartlarında 15 ppm (15 mg/L), Codex Alimentarius'ta ise 30 ppm'den (30 mg/L) fazla olmaması önerilmiştir (25). Ülkemizde ise Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde et ve et ürünleri için kullanımına müsaade edilen nitrit miktarı ısı işleme görmüş et ürünlerinde 125 mg/kg'dır. Et ürünlerindeki nitrit ve nitrat miktarını belirlemek için ülkemizde yapılan çalışmaların bazılarında nitrit miktarı normal sınıırın üzerinde bulunmuştur (26,27). Graf ve ark. (28) benzoik asit ve sodyum nitriti de içeren 30 kimyasal genotoksik açıdan değerlendirmek için Drosophila üzerinde SMART testi (Somatic Mutation and Recombination Test) yapmışlardır. Sodyum nitritin 72,5 mM'lık konsantrasyonda genotoksik olduğunu bulmuşlardır. Mowafy ve ark. (29) anne ratlar ve onların hayatta kalan yavruları üzerinde sodyum benzoat ve sodyum nitritin etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sodyum nitrit alan yavruların kontrollere kıyasla ortalama ağırlık ve uzunluklarının daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca sodyum nitrit alan hamile ratlardaki yavruların ölüm oranında artış olduğunu rapor etmişlerdir (29). Ohsawa ve ark. (30), dimetilamin, prolin ve morfinle eş zamanlı olarak ayrı ayrı sodyum nitriti farelere ağız yoluyla vermişler ve farelerin organlarında görülen DNA zararlarını Comet testi (The Single Cell Gel Electrophoresis assay, SCGE) ile tespit etmişler. Yapılan bu çalışma sonucunda test edilen organlardan sadece karaciğerde DNA hasarları gözlenmiştir (30). Davis ve ark. (31) sodyum nitrit ilaveli sosislerle besledikleri farelerle yaptıkları çalışmanın sonucunda nitroz bileşiklerinin kolon kanseri riskini artırdığını göstermişlerdir (31). Çalışmamızda sodyum nitritin 1 µg/ml ve 10 µg/ml'lik konsantrasyonlarının lenfosit hücreleri üzerinde genotoksik etki gösterdiği ( $P<0,05$ ), uyguladığımız 100 µg/ml konsantrasyonun ise diğer iki doza göre çok daha yüksek genotoksik etki gösterdiği saptanmıştır ( $p<0,01$ ).

Bir başka gıda koruyucusu olan potasyum sorbatın tok-

sikolojik incelemeleri sonucunda gıda katkı maddesi olarak kullanımının güvenli olduğu gözlenmiştir (32,33). Bununla birlikte son zamanlarda çelişkili sonuçların gösterildiği çalışmalarda potasyum sorbatın mutajenik etkilerinden endişe duyulmaktadır (34). Abe ve Sasaki (35) Çin hamster hücreleri üzerinde yaptıkları in vitro kromozomal aberasyon testinde potasyum sorbatın zayıf mutajenik özelliğe sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Mamur ve ark. (24) potasyum sorbatın lenfosit hücreleri üzerindeki genotoksik etkisini araştırmak için; MN, Comet ve SCE (Single-Chromatid Exchanges) teknikleri kullanarak yaptıkları çalışmalarında potasyum sorbatın 4 farklı konsantrasyonunu (125, 250, 500 ve 1000 µg/ml) uygulamışlar ve sonuç olarak potasyum sorbatın genotoksik etkisini gözlemlemişlerdir. Schlatter ve ark. (36) potasyum sorbat'ın genotoksik etkisini SMART testi ile araştırmışlar ve herhangi bir etki saptamamışlardır. Münzner ve ark. (37) Çin hamster yumurtalık hücrelerine 10-20 mg/kg konsantrasyonlarında potasyum sorbat uygulamışlar ve SCE, Ames ve HPRT (Hypoxanthine-Guanine-Phosphoribosyl Transferase) testlerini kullanarak potasyum sorbatın genotoksik olmadığını göstermişlerdir. Çalışmamızda potasyum sorbatın 200 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml'lik konsantrasyonlarının lenfosit hücreleri üzerinde genotoksik bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (p>0.05).

Çeşitli araştırmacıların gıdalarda kullanılan koruyuculardan bir diğeri olan sodyum benzoat ile yaptıkları genotoksisite testlerinde ise çelişkili sonuçlar rapor edilmiştir. Bu çalışmaların bir kısmında ilişkili (38), diğer kısmında ise ilişkisiz bulunmuştur (39). Kalender (40) ise fare dermal ve ince bağırsak bağ dokusu mast hücrelerinde sodyum benzoatın degranülasyon etkilerini araştırmıştır. Sodyum benzoat ağız ve enjeksiyon yoluyla farelere (*Mus musculus domesticus*) verilmiş ve mast hücrelerindeki degranülasyon geçirimli elektron mikroskopu (TEM) ile incelenmiştir. Sonuç olarak, hem dermal bağ dokusu mast hücrelerinde, hem de ince bağırsak bağ dokusu mast hücrelerinde degranülasyon tespit etmişlerdir (40). Bir diğer çalışmada *Allium cepa* L.'nin kök hüceleri 20-100 ppm konsantrasyonlarında sodyum benzoat ile muamele edilmiştir ve bütün dozların mitotik indeks üzerinde bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur (41). Mpountoukas ve ark. (42) düşük konsantrasyonlardaki (2.0, 0.2 ve 0.02 mM) potasyum sorbat ve sodyum benzoatın genotoksik olmadığını ancak koruyucuların miktarı arttıkça (4 ve 8 mM) genotoksik etki gösterdiğini saptamışlardır. Prival ve ark.'nın

(43) *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* ile yaptıkları bakteriyel mutajenite testlerinde sodyum benzoatın kanserojenik olmadığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda sodyum benzoatın 100 µg/ml, 300 µg/ml, 800 µg/ml'lik konsantrasyonlarının lenfosit hücreleri üzerinde genotoksik bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (p>0.05).

Gıda katkı maddeleri besin değerini artırmak ve korumak için gıdalara ilave edilmektedir. Bu nedenle gıda katkı maddelerinin kullanımları ile ilgili olarak uyulması zorunlu olan bazı temel ilkeler vardır. Potasyum sorbat ve sodyum benzoat yasalara uygun şekilde kullanıldığında risk teşkil etmeyebilir. Ancak sodyum nitritin gıdalarda kullanım oranlarına özen gösterilmeli, bu konuda tüketiciler bilinçlendirilmeli ve denetimler sıklaştırılmalıdır. Besin sanayisi için tüketici istekleri yön verici olduğu için bilinçli tüketici, doğru gıda katkı maddeleri kullanımı konusunda, hem üreticiyi hem de devleti etkin kontrol yapma konusunda daha duyarlı hale getirecektir.

#### KAYNAKLAR

1. Saad B, Bari MF, Saleh MI, Ahmad K, Talib MKM. Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 2005; 1073: 393-7.
2. Bağcı T. Gıda katkı maddeleri ve sağlığımız üzerine etkileri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 1997; 28(1): 18-23.
3. Altuğ T. Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım. İzmir, 2001: 1-137.
4. Barlow S, Pascal G, Larsen JC and Richold M (Editors). *International Life Sciences Institute (ILSI), Europe, Workshop on the significance of excursions of intake above the accepted daily intake (ADI). Regul Toxicol Pharm* 1999; 30 (No:2, Part2).
5. Briggs DR. *Food Additives*. Wahlqvist ML(Ed). *Food and Nutrition*, Allen & Unwin Pty Ltd. Australia, 1997.
6. Sarıkaya R, Solak K. Benzoik Asit'in *Drosophila melanogaster*'de Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi ile Genotoksisitesinin Araştırılması. *GÜ. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi* 2003; 23(3): 19-32.
7. Furia T. E. *Handbook of Food Additives*. 2. Edition. Cleveland, Ohio, 1972.
8. Chichester DF, Taner FW. *Antimicrobial Food Additives*. In: Furia, T.E. (Ed.). *Handbook of Food Additives*. CRC Press. Cheveland, OH, 1972: 115-84.
9. WHO. *Sorbic acid and its calcium. Potassium and sodium salts. Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers*. World Health Organization. Geneva. Series, 1974; 5: 121-9.
10. Jay JM. *Modern food microbiology*. Van Nostrand Reinhold.

- New York, 1992: 701.
11. Çakmaklı S, Çelik İ. Gıda Katkı Maddeleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Erzurum, 1994.
  12. Sofos JN. Antimicrobial agents. In JA Maga & AT Tu (Eds.). *Food Additive Toxicology*. New York: Marcel Dekker, 1995: 501-29.
  13. Binkerd EF, Kolari OE. The history and use of nitrate and nitrite in the curing of meat. *Food Cosmetic Toxicology* 1975; 13: 655-61.
  14. Woods LFJ, Wood JM, Gibbs PA. in Gould GW (Ed). *Mechanisms of action of food preservation procedures*. Elsevier applied science. London, 1990: 225-46.
  15. Cornforth DP. Role of nitric oxide in treatment of foods, in : Lancaster JR (Ed), *Nitric oxide: principles and actions*. Academic Press. San Diego, 1996: 259-87.
  16. Killday BK, Tempesta MS, Bailey ME and Metral CJ. Structural characterization of nitrosylhemochromogen of cooked cured meat: implications in the meat-curing reaction. *J Agric Food Chem* 1988; 36: 909-14.
  17. Pierson MD. Nitrite, nitrite alternatives and the control of *Clostridium botulinum* in cured meats. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1982; 17: 141-87.
  18. Roberts TA, Woods LFJ, Payne MJ, Cammarck R. Nitrite, in: Russell NJ, Gould GW (Eds.). *Food preservatives*. Blackie. Glasgow, 1991: 89-110.
  19. Fenech M. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-blok micronucleus method. *Mutat Res* 1997; 392: 11-8.
  20. Hayashi M, Kishi M, Sofuni T, Ishidate MJr. Micronucleus tests in mice on 39 food additives and eight miscellaneous chemicals. *Food Chem Toxicol* 1988; 26(6): 487-500.
  21. Cheng TJ, Christiani DC, Xu X, Wain JC, Wiencke JK, Kelsey KT. Increased micronucleus frequency in lymphocytes from smokers with lung cancer. *Mutat Res* 1996; 349: 43-50.
  22. Al-Sabti K. Chlorotriazine reactive azo red 120 textile dye induces micronuclei in fish. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000; 47: 149-55.
  23. Simi S, Ballardini M, Casella M, De Marchi D, Hartwig V, Giovannetti G et al. Is the genotoxic effect of magnetic resonance negligible? Low persistence of micronucleus frequency in lymphocytes of individuals after cardiac scan. *Mutat Res* 2008; 645: 39-43.
  24. Mamur S, Yüzbaşıoğlu D, Unal F, Yılmaz S. Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes? *Toxicol In Vitro* 2010; 24(3): 790-4.
  25. Wirth F. Curing: colour formation and colour retention in frankfurter type sausages. *Fleischwirtschaft* 1986; 66(3): 354-8.
  26. Soyutemiz GE, Özenir A. Bursa'da Tüketilen Sucuk, Salam, Sosis ve Pastırmalardaki Kalıntı Nitrat ve Nitrit Miktarlarının Saptanması. *Gıda* 1996; 21(6): 471-6.
  27. Kuyumcu A, Yurttağül M. Ankara piyasasında satılan salam, sucuk ve sosilerin nem, yağ, tuz, kül ve kalıntı nitrit-nitrat miktarlarının tayini üzerine bir araştırma. *Beslenme ve Diyet Dergisi* 2000; 29(2): 14.
  28. Graf U, Frei H, Kagi A, Katz AJ, Würzler FE. Thirty Compounds Tested in The *Drosophila* Wing Spot Test. *Mutat Res* 1989; 22: 359-73.
  29. Mowafy AR, Darwish AM, El-Kholy SA, Abdel-Mohsen SH. Effect of food preservatives on mother rats and survival of their offspring. *J Egypt Public Health Assoc* 2001; 76(3-4): 281-95.
  30. Ohsawa K, Nakagawa SY, Kimura M, et al. Detection of in vivo genotoxicity of endogenously formed N-nitroso compounds and suppression by ascorbic acid, teas and fruit juices. *Mutat Res* 2003; 539(1-2): 65-76.
  31. Davis ME, Lisowyj MP, Zhou L, et al. Induction of colonic aberrant crypts in mice by feeding apparent N-nitroso compounds derived from hot dogs. *Nutr Cancer* 2012; 64(2): 342-9.
  32. Food and Drug Administration Research Laboratories Inc. Teratologic evaluation of FDA 73-4, potassium sorbate, sorbistat, in mice and rats. PB-245520. Springfield. National Technical Information Service. US Department of Commerce, 1975.
  33. Lück E. *Antimicrobial Food Additives, Characteristic-uses-effects*. Springer. Berlin, 1980: 183-99.
  34. Jung R, Cojocel C, Müller W, Böttger D, Lück E. Evaluation of the Genotoxic Potential of Sorbic Acid and Potassium Sorbate. *Food Chem Toxicol* 1992; 30(1): 1-7.
  35. Abe S, Sasaki M. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. *J Natl Cancer I* 1977; 58: 1635.
  36. Schlatter J, Würzler FE, Kranzlin R, Maier P, Hollinger E, Graf U. The Potential Genotoxicity of Sorbates: Effects on Cell In Vitro In V79 Cells and Somatic Mutations in *Drosophila*. *Food Chem Toxicol* 1992; 30(10): 843-51.
  37. Münzner RC, Tilch HW, Renner HW. Reexamination of potassium and sodium sorbate for possible genotoxic potential. *Food Chem Toxicol* 1990; 28: 397-401.
  38. Ishidate M, Odashima S. Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells in vitro - a screening for chemical carcinogens. *Mutat Res* 1977; 48: 337-54.
  39. Ishidate M., Sofuni Jr T, Yoshikawa K, et al. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem Toxicol* 1984; 22: 623-36.
  40. Kalender S. Sodyum Benzoat ve Tartrazin Fare Dermal ve İnce Bağırsak Bağ Dokusu Mast Hücrelerinde Degranülasyon Etkileri. Doktora Tezi. A.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara, 1997.
  41. Turkoglu S. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutat Res* 2007; 626: 4-14.
  42. Mpountoukas P, Vantarakis A, Sivridis E, Lialiaris T. Cytogenetic study in cultured human lymphocytes treated with three commonly used preservatives. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(7): 2390-3.
  43. Prival JM, Simmon FV, Mortelmans EK. Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results. *Mutat Res* 1991; 260: 321-9.