التسمم الوراثى للون الطعام الأخضر الطبيعى والصناعى على كروموسومات خلايا النخاع العظمى فى الجرذان *

حمدى مكاوى ** محمد عثمان ***

يهدف هذا البحث إلى تقييم الدور الذى يلعبه اللون الغذائى الأخضر الطبيعى (الكلوروفيل) واللون الأخضر الصناعى (الأخضر الثابت) فى التأثير على كروموسومات خلايا النخاع العظمى فى الجرذان ، وذلك باستخدام جرعتين عن طريق الفم مقدارهما ٠,٠١١ ، ٠,٠٢٢ ملليجرام/كيلوجرام من وزن الجسم . ولقد أظهرت نتائج البحث زيادة فى تركيز كل من الأحماض النووية والبروتين الكلى فى كل من الكبد والمخ ، وأن هناك نقصا فى معدل الانقسام الميتوزى فى خلايا النخاع العظمى للجرذان يومياً لمدة ٣٠، و٦٠، و٩٠ يوماً . والنتائج تحدد أن اللون الصناعى أقوى تأثيرا من اللون الطبيعى ، وأن الجرعة العالية أكثر تأثيرا من الجرعة الصغيرة .

مقدمة

حظيت الألوان الغذائية بالاهتمام الأكبر[١] عن أية نوعية من المواد المضافة ، حيث إن الألوان التى نتناولها توازى الحد المسموح به يومياً[٢] ، بينما فى الأطفال قد تكون قريبة ، أو تزيد على المقدار المسموح به ، نتيجة لإغراق الأسواق بالمنتجات الغذائية الملونة الجذابة وتأثيراتها التى لا تقاوم من جانب رغبات الأطفال ، وهى مميزات يفضلها أى مصنع منتج للمواد الغذائية ، وإن كانت غير آمنة [٣] .

* ملخص لبحث مضافات الأغذية وأثره على الصحة العامة ، والمدرج بقسم بحوث البيئة بالمركز.

** مستشار ، المركز القومى للبحوث الاجتماعية والجنائية.
*** أستاذ الهندسة الوراثية والأجنة بقسم علم الحيوان ، كلية العلوم ، جامعة الأزهر.

وجدير بالذكر أن هناك اتجاه بالتحول إلى الطبيعى خوفاً من كل ما هو صناعى . ولا شك أن التغير من الألوان الصناعية إلى الألوان الطبيعية يلقى ارتياحا من قبل المستهلك؛ لشعوره بأن ما هو طبيعى آمن[٤] .

وقد أثبتت الدراسات التى أجريت أن المجتمع المصرى يستهلك كميات كبيرة من مكسبات اللون المحضرة كيميائياً فى صناعات الأغذية والأدوية . ومما تجدر الإشارة إليه أن إضافة بعض هذه المواد إلى أنواع الأغذية يشكل خطورة كبيرة على صحة الإنسان ؛ لما لها من آثار جانبية ضارة [٥] .

ولهذا تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم تأثير اللون الأخضر الطبيعى الكلوروفيل واللون الأخضر الصناعى الأخضر الثابت على الكروموسومات فى ذكور الجرذان ، بالإضافة إلى تقدير كميات الأحماض النووية والبروتين الكلى فى المخ ، والكبد لمدة ١٥، و٣٠ ، و٦٠ يوماً.

المواد والطرق المستخدمة

١- الألوان المستخدمة[٦]

اللون الأخضر الطبيعى (الكلوروفيل) واللون الأخضر الصناعى (الأخضر الثابت) المضاف إلى الغذاء طبقاً لتشريعات الألوان لهيئة الأغذية والأدوية الأمريكية ، والتشريع الأوروبى ، ومنظمة الصحة العالمية ، والتشريع المصرى.

أ- اللون الأخضر الطبيعى الكلوروفيل

المـــــــرادف : Lebensmitt; Grum No. 1 , Natural Green 3

الرقم الكــودى : (1925) 75810

الاسم الكيميائى :

Chlorophyll A:Magnesium complex of 1,3,5,8-tetramethyl-4-ethyl-2-vinyl-9-keto-10-carbomethoxyphorbinphytyl-7-propionate.
Chlorophyll B: Magnesium complex of 1,5,8- trimethyl-3, formyl-4-ethyl -3- vinyl-9- keto-10- carbomethoxyphorbinphytyl-7- propionate.

مجموعـــــة : Phorbin (=Dihydrophorbin)

الحد المسموح بتناوله يومياً: لا توجد حدود مسموح بها أعلى مستوى للاستعمال ٢٠٠ ملليجرام/ كجم (منفردا) أو متحداً مع ألوان أخرى[٧] .

ب - اللون الأخضر الصناعى الأخضر الثابت [٨]

المـــــرادف : C.L. Food Green3; FD and Green No3.

الرقم الكودى : C. I. (1975) No: 42053

الاسم الكيميائى :

Disodium salt of 4 -((((4 -(N- ethyl-p -sulfobenzylamino)- phenyl))-(4-hydroxy-2-sulfoniumphenyl)- methylene))) ((1-(N-ethyl-N-P-sulfobenzyl)- delta – 2,5- cyclohexadienimine))

الرمز الكيميائـى : $C_{37} H_{34} N_2 Na_2 O_{10} S_3$

الـوزن الجزئـى : 808,86

مجموعـــــــة : Triariymethane

الوصـــــــــف : بللـورات أو مسحـــوق أحمـــر إلـــى بنفسجى بنى اللون ، والخواص يذوب فى الماء.

الجرعة المسموح بها يومياً : صفر – ١٢ره مجم/كجم من وزن الجسم FAO/WHO [٩] .

وقد تم إحضار هذه الألوان عن طريق شركة أرو مصر – الهرم بالجيزة.

٢- تصميم التجربة

تم إحضار ذكور بالغة من الجرذان من نوع (راتس نورفيجيكس) يتراوح وزنهـا بيـن ١٠٠-١٢٠ جراما لكل منه. وقد تم الاختيار عشوائياً من مزرعة حيوانات التجارب بحلـوان ، القاهرة ، جمهورية مصر العربية، قدمت لها وجبات غذائية قياسية كاملة مع الماء [١٠] .

نفـذت تجـارب البـحث على ثلاثمـائة وعـشـرين من ذكـور الجـرذان، وتم تقسيمها إلى مجموعتين، كل مجموعة تحتوى على مائة وستين جرذاً : إحداهما للون الأخضر الطبيعى (الكلوروفيل) ، والأخرى للون الأخضر الثابت الصناعى، كل مجموعة منهما قسمت إلى مجموعتين : إحداها للدراسات الكروموسومية ، والأخرى لقياسات الكيمياء الحيوية ، وقسمت كل مجموعة إلى ثمانى فئات ، كل فئة تحتوى على عشرة جرذان ، بعضها تم التعامل معها على أنها مجموعة ضابطة ، والأخرى على أنها مجموعات معالجة بالجرعتين.

هذا بالإضـافـة إلى عـشـرة جـرذان من المجـمـوعـة الضـابطة وأخـرى من المجموعة المعالجة تستخدم للقياسات الكيمياء حيوية والدراسات الكروموسومية ، تذبح فى نهاية الست ساعات الأولى من نهاية كل فترة خلال التجربة ، تم إختيار الجرعات المسموح بها وضعف المسموح بها حسب FAO/WHO [١١] ، وتم تحويلها من الإنسان إلى الحيوان حسب طريقة باجت وبارنس [١٢] .

٣- الجرعات المستخدمة

- **اللون الأخضر الطبيعى (الكلوروفيل)**
  * الجرعة الصغيرة Low Dose (٠ر٠١١ ملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم).
  * الجرعة الكبيرة High Dose (٠ر٠٢٢ ملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم).
- **اللون الأخضر الثابت الصناعى**
  * الجرعة الصغيرة Low Dose (المسموح بها ٠ر٠١١ ملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم) .
  * الجرعة الكبيرة High Dose (ضعف المسموح بها ٠ر٠٢٢ ملليجرام لكل كيلوجرام من وزن الجسم) .

٤- مجموعات التجارب

المجموعة الأولى

تستخدم كمجموعة ضابطة تعطى محلولا فسيولوجيا (٩ر٠٪ كلوريد الصوديوم)

المجموعة الثانية

تعطى يومياً عن طريق الفم الجرعة العالية (٠ر٠٢٢ ملليجرام/كيلوجرام من اللون الصناعى الأخضر الثابت واللون الطبيعى الكلوروفيل) كل على انفراد لمدة ٣٠، و٦٠ ، و٩٠ يوماً.

المجموعة الثالثة

تعطى يومياً عن طريق الفم الجرعة الصغيرة (٠٫٠٢٢ ملليجرام/كيلوجرام من اللون الصناعى الأخضر الثابت واللون الطبيعى الكلوروفيل) كل على انفراد لمدة٣٠ ، و٦٠، و٩٠ يوماً.

٥- الطرق المستخدمة

أ – التحليلات الكروموسومية

تم نزع عظم الفخذ لكل جرذ ، ثم جمع منها النخاع العظمى فى أنبوبة معقمة طاردة مركزية[١٣] لإعداد الكروموسومات ، وصبغها بصبغة جمسا[١٤] .

كما تم قياس معدل الدليل الميتوزى (سرعة انقسام الخلية) .

ب – القياسات الكيمياء حيوية

نزع المخ والكبد بسرعة ، وطحنها مع كمية معلومة من المحلول الفسيولوجى ٩٫٠ كلوريد الصوديوم[١٥] وتم استخلاص الأحماض النووية من الكبد، والمخ ، والكلى، بطريقة شنيدر[١٦] ، وتم قياس تركيز حمض الداى أوكس نيوكليك (دنا)[١٧] وقياس تركيز حمض الريبونيوكليك (رنا)[١٨] والبروتين الكلى[١٩].

جـ – التحليلات الإحصائية

النتائج التى تم الحصول عليها تم تحليلها إحصائياً باستخدام اختبار "ت" [٢٠] .

النتائـــــج

تم فى هذا البحث دراسة تأثير جرعتين كل على انفراد مقدارهما ٠,٠١١ر، و٠,٠٢٢ر ملليجرام/كجم وذلك للون الأخضر الطبيعى (الكلوروفيل) وأيضاً اللون الصناعى الأخضر الثابت يومياً ولمدة ٣٠، و٦٠ ، و٩٠ يوماً ، على كروموسومات خلايا النخاع العظمى لذكور الجرذان من نوع "راتس نورفيجيكس" . وأظهر **الجدول رقم (١)** أن نتائج معدل الدليل الميتوزى (عدد الخلايا المنقسمة لكل ١٠٠٠ خلية من نخاع عظم الجرذ الواحد) فى المجموعة المعالجة بالجرعات الصغيرة لكل من اللون الأخضر الطبيعى والصناعى قد نقصت بشكل إحصائى معنوى بالمقارنة بالمجموعة الضابطة ، ولكن قد وجد أن معدل الانقسام المبتوزى فى مجموعة اللون الصناعى الأخضر الثابت أقل منها فى اللون الأخضر الطبيعى الكلوروفيل.

أظهر **الجدولان رقما (٢، و٣) وشكل رقم (١)** أن نتائج التشوهات الكروموسومية تزداد فى اللون الصناعى الأخضر الثابت عنها فى اللون الطبيعى الكلوروفيل نتيجة تعاطى جرعتين مقدارهما ٠,٠١١ر ، و ٠,٠٢٢ر ملليجرام/ كجم من اللون الطبيعى والصناعى كل على انفراد.

أظهر **الجدولان رقما (٤ ، و ٥)** أن محتوى تركيز الحمض النووى د ن أ، ر ن أ والبروتين الكلى فى المخ والكبد قد زاد معنوياً بكمية أكبر نتيجة تأثير اللون الصناعى أخضر الثابت عنها نتيجة تأثير اللون الأخضر الطبيعى الكلوروفيل .

المناقشـــة

يوجد اهتمام كبير – فى السنوات الأخيرة – بدراسة تأثير الألوان الغذائية . ويعتقد أن تلك المواد تسبب تأثيرات ضارة للإنسان ؛ لأنها تساهم فى إحداث طفرات وراثية [٢١]. ويقلل تعاطى اللون الصناعى الأزرق الانديجوكارمين من الانقسام الميتوزى (سرعة انقسام الخلايا لكل ١٠٠٠خلية) فى خلايا النخاع العظمى للفئران . وقد أظهرت نتائج جيرى وآخرين [٢٢] أن تأثير اللون الصناعى الأنديجوكارمين يؤدى إلى وجود زيادة فى تكرار التبادل الكروماتيدى الشقيق SCE .

كما لاحظ جيرى وآخرون [٢٣] أن جميع الألوان الصناعية (انديجوكارمين و ميتانيل الأصفر) تسبب تشوهات كروموسومية .

كذلك أظهرت هذه الدراسة نقصانا فى معدل الانقسام الميتوزى ، وهذا يتفق مع نتائج مكاوى وعلى وجيرى وآخرين [٢٤] عن اللون الصناعى الانديجوكارمين واللون الأخضر الثابت ولون الميتانيل الأصفر.

أظهرت الدراسة الحالية وجود تشوهات كروموسومية نتيجة تناول جرعتين من اللون الصناعى الأخضر الثابت واللون الطبيعى (الكلوروفيل) ، وكانت التشوهات عبارة عن فجوات ، وكسور . وهذه النتائج فى اتفاق مع نتائج جيرى وآخرين[٢٥] عن تأثير اللون البرتقالى ، ومع نتائج عبدالعزيز وآخرين[٢٦] عن تأثير لون أصفر الغروب على تخليق البويضات ، وتسبب تشوهات كروموسومية فى خلايا النخاع العظمى للفئران .

وتتفق الدراسة أيضاً مع جيرى وآخرين [٢٧] عن تأثير الكوركيومين (لون طبيعى) والترترازين (لون صناعى) على خلايا النخاع

العظمى فى الفئران والجرذان وعن أزبيراك وآخرين [٢٨] تأثير ألوان الآزو (بونسيو ٤ ، أمارانت ، أصفر غروب الشمس والترترازين)، حيث وجد أجاروال وآخرون [٢٩] أن لون بونسيو والبيتاكاروتين يسبب زيادة فى التشوهات الكروموسومية.

ووجد دورنى وآخرون [٣٠] زيادة فى التشوهات الكروموسومية لألوان الطعام (الترترازين، انديجو كارمين ، أصفر الغروب ، الكوشينيل والآزوروبين والأزرق اللامع) فى ذكور الفئران ، وهو ما يتفق مع نتائج الدراسة الحالية من أن الألوان الطبيعية والصناعية لها تأثيرات طفرية.

من المعروف أن الطفرات الوراثية تسبب تشوهات موروثة بالتأثير على الخلايا الجرثومية أو التشوهات غير الموروثة بالتأثير على الخلايا الجسدية[٣١] ، وهذه تتفق مع نتائج مكاوى وآخرين [٣٢] عن تأثير اللون الطبيعى لجذور البنجر الأحمر واللون الأحمر الصناعى الكارموازين.

ومن النتائج الحالية اتضح أن اللون الصناعى الأخضر الثابت واللون الطبيعى الكلوروفيل يزيد من تركيز كمية الحمض النووى د ن أ ، رن أ والبروتين الكلى فى المخ والكبد وذلك نتيجة حث تخليق الحمض النووى الريبونيوكليك (ر ن أ)[٣٣] .

وقد برهن براخت [٣٤] على أن تخليق الحمض النووى الريبونيوكليك (رن أ) يعتمد على تخليق عمليات الحمض النووى الدى أوكس نيوكليك (دن أ)[٣٥] . لذلك فإن زيادة كميات الحمض النووى الريبونيوكليك بعد تناول اللون الصناعى الأخضر الثابت واللون الأخضر الطبيعى الكلوروفيل تزيد مع زيادة كميات الحمض النووى الدى أوكس نيوكليك ، وهذا يتفق مع نتائج أحمد ومكاوى وعلى وعبدالرحيم[٣٦] عن تأثير لون الترترازين الأخضر الثابت والأريثروسين (لون صناعى) وكركيومين والانثوسيانين (لون طبيعى).

وفى الدراسة الحالية تناول اللون الصناعى الأخضر الثابت واللون الطبيعى الكلوروفيل يسبب زيادة فى كمية البروتين ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج مكاوى وعلى وآخرين[٣٧] عن تأثير اللون الأزرق الانديجوكارمين ، وهذا يتفق مع يوشيموتو وآخرين [٣٨] الذى يرى أن اللون الصناعى صبغة الآزو أظهرت زيادة معنوية فى وزن محتوى الكبد والحمض النووى (ر ن أ).

من خلال هذه النتائج اقترح أن اللون الأخضر الثابت الصناعى واللون الطبيعى الكلوروفيل يسببان طفرات وراثية ، وأن اللون الصناعى الأخضر الثابت أقوى تأثيراً من اللون الأخضر الطبيعى (الكلوروفيل) ، وأن هذا التأثير يزداد بزيادة مدة تناول اللون وزيادة الجرعة .

LEGEND OF FIGURE NO. 1

1- Metaphase spread from bone marrow of control rat.
(Giemsa' stain, X 1250).

2- Metaphase spread from bone marrow of treated rat showing polyploidy.
(Giemsa' stain, X 1250).

3- Metaphase spread from bone marrow of treated rat showing sticky.
(Giemsa' stain, X 1250).

4- Metaphase spread from bone marrow of treated rat showing Ring-Shaped.
(Giemsa' stain, X 1250).

5- Metaphase spread from bone marrow of treated rat showing centric fusion (a) and centric attenuation.
(Giemsa' stain, X 1250).

6- Metaphase spread from bone marrow of treated rat showing chromatid deletion and end to end chromosomal association.
(Giemsa' stain, X 1250).

FIGURE NO. 1

Table (1)
Effect of Fast Green and Chlorophyll on Mitotic Index of Rat Bone Marrow Cells

Periods (days)	Doses	No. of dividing cells / 1000 cells	
		Fast Green	Chlorophyll
		Mean ± S. E.	Mean ± S. E.
30	Control	46.6 ± 1.29	46.8 ± 1.37
	Limited	44.0 ± 1.41$^{n.s}$	45.8 ± 1.21$^{n.s}$
	High	43.8 ± 1.17*	44.4 ± 1.18$^{n.s}$
60	Control	46.8 ± 0.37	47.6 ± 0.57
	Limited	44.8 ± 1.53$^{n.s}$	46.2 ± 1.64$^{n.s}$
	High	42.8 ± 0.84*	44.2 ± 0.75$^{n.s}$
90	Control	46.4 ± 1.03	47.8 ± 1.04
	Limited	43.4 ± 0.51*	46.2 ± 0.62$^{n.s}$
	High	41.8 ± 1.11*	45.0 ± 1.22$^{n.s}$

Results are expressed as the mean ± Standard error of 5 rats.; n.s = non-significant; * Significant.

المراجـــع

1- غالى، ج . م . م ، *الوضع الراهن للمواد المضافة للأغذية، ندوة المواد المضافة للأغذية وأثرها على الصحة العامة وصحة الطفـــل* . معهـــد الدراسات العليـــا والبحـــوث البيئيـــة ، القـــاهرة ، جامعة عين شمس ، ٥ – ٦ ديسمبر ١٩٨٩، ص ص ٦ – ١٨ .

2- FAO/WHO, *Food Additives Data System*. Evaluations by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1956-1984, Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations,1985, 30/ Rev.1.

3- Gaunt, I.F.; Farmer, M.; Grasso, P. and Gangolli, S.D. , Acute (Mouse and Rat) and Short Term (Rat) Toxicity Studies on Carmoisine, *Food and Cosmetics Toxicology*, 5(2), 1967, pp. 179-185.

And Also:
Gaunt, I.F., Grasso, P.; Kiss, Ida, S. and Gangolli, S.D., Short Term Toxicity Study on Carmoisine in the Miniature Pig, *Food and Cosmetics Toxicology*, 7 (1),1969, pp. 1-7.

Gaunt, I.F., Carpanini, F.M.B., Grasso, P.; Kiss, Idas, S. and Gangolli, S.D., Long Term Feeding Study on Brilliant Black PN in Rats, *Food and Cosmetics Toxicology*, 10(1), 1972, pp. 17-27.

Gibb, C., Glover, V. and Sandler, M., In vitro Inhibition of Phenol Sulphotransferase by Food and Drink Constituents, *Biochemical Pharmacology*, 36, (14), 1987, pp. 2325-2330.

Hayes, A.W., *Principles and Methods of Toxicology*. New York, Raven Press Ltd., 1185, Avenue of the Americans 10036, 3rd Ed.,1994, p. 350.

Newsome, R.L., Food Colours. *Journal of Food Technology*, 40, 1986, p. 49.

4- Khodeir, A.I; Abdelwahab, A, Dewaidar, A., Shoukry, A. and Askar, A, *Natural Colors For the Food Industry.* Ismalia, Suez Canal University, Feb. 16,1993, pp. 1-165.

5 - Bille, N.; Larsen, J. C.; Hansen, E. V. and Wurtzen, G, Sub- chronic Oral Toxicity of Turmeric Olcoresin in Pigs, *Food and Chemical Toxicology*, 23, 1985, p. 967.

And Also:
Abd El-Rahim, E.A; Ahmed, F.A; El-Desoky, G.E and Ramadan, M.F., Biochemical Role of Some Natural and Synthetic Food Colorants on Liver Function of Rats, *Journal of Agriculture Researches and Development*, 9, Minia, 1987, p. 1117.

Abd El-Rahim, E.A, El Desoky, G.E. Shousha, M.A. and Mahrous. T.S., Study of Certain Biochemical Changes Under the Effect of Some Synthetic and Natural Colorants in Rats. *Second National Conference of Physiology, Cairo*, 30-31 Dec.,1987 b.

Abdel Rahim, E.A.; Ashoush Y.A, Afify, A. S and Hewedi, F., Effect of Some Synthetic Food Additive on Blood Hemoglobin and Liver Function of Rats. *Minufiya Journal of Agriculture Researches*, 14 (1), 1989, pp. 557.

Shaker, A.M.H.; Ismail , L.A. and El-Nemr, S. E., Effect of Different Food Stuff Colorants Added to Casin Diet on Biological Evaluation. *Bulletin of Nutrition Installation*, 9 (1),*Cairo*,1989, pp. 77-86.

Ishidate, M. Jr.; Sofuni, T.; Yoshikawa, K; Hayashi, M.; Nohmi, T.; Sawada, M. and Motsuoka, A. , Primary Mutagenicity Screening of Food Additives Currently Used in Japan, *Food and Chemical Toxicology*, 22, (8), 1984, pp. 623-636.

Giri, A.K. and Mukherjee, A., Sister Chormatid Exchange Induced by Secondary and Tertiary Amine Containing Dyes and in Combination With Nitrite in vivo in Mice, *Cancer Letters*, 52(1), 1990, pp. 33-37.

6- Codex Alimentarious Commission, *List of Additives Evaluated forTheir Safety in Use in Food*. 1st Series, Rome, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, CAC/FAL,1973, pp. 16-67

7- Khodier, A.I.,1993, op.cit.

8- JEFA, FNP, 37, 1986.

9 - FAO/WHO,1985, op.cit.

10- Campbell, J. A, *Methodology of Protein Evaluation.* New York, Nutrition Document R101, Add. 37, June Meeting,1961.

And Also:
Hegested, D.M; Mils, R.C; Eluehjem, C.A and Hart, E.B, Choline in the Nutrition of Chicks, *Journal of Biological Chemistry*, 138,1964, pp. 138-349.

11- FAO/WHO, 1985, op. cit

12- Paget, G.E. and Barnes, J.M, *Evaluation of Drug Activities and Pharmacometrics*. London, Academic Press, 1,1941, pp.135-166.

13 - Yosida, T.H. and Amano, K, Autosomal Polymorphism in Laboratory Bred and Wild Norway Rats, Rattus Norvegicus Found in Misima, *Chromosoma*, 16, 1965, pp. 658-776.

14 - Osida, T., Truchiya and Moriwaki, K., Frequency of Chromosome Polymorphism of Rattus Collected in Japan, *Chromosoma*, 33,1971, p. 30.

15- Abdelbaset, S.A; Ali, M.O.; Kamal, A.M. and Zaki, N.G., The Effect of Cypermethrin Insecticide on the Chromosomal Pattern and Chemistry in Rats, *Egyptian Journal of Anatomy*, 9 ,1986, pp. 47-49.

16 - Shneider, W.C, Phosphorus Compounds in Animal Tissues: I. Extraction and Estimation of Desoxypentose Nucleic Acid and of Pentose Nucleic, *Journal of Biological Chemistry*, 161,1945, p. 93.

17 - Dische, Z., Some New Characteristics Colour Test for Thymonucleic Acid and a Microchmical Method for Determing the Same in Animal organs by Means of These Tests, *Mikrochemie*, 8,1930, pp. 4-32 .

18 - Merchant, D.J; Kalhn, R.H and Murph, W. H., *Handbook of Cell and Organ Culture*. Burgess Minneoplis 2nd ed.,1969.

19- Daughaday, W.H; Lowry, O. H; Rosenbrough, N.J. and Fields, W.S., Determination of Cerebrospinal Fluid Protein with Folin Phenol Reagent, *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 39,1952, pp. 663-665.

20- Kurtz, N. R., *Introduction to Social Statistics*. NY, McGraw Hill Book Co. 1983, p. 163.

21- Mekkawy, H.A.; Ali, M.O. and Montaser M.M., Histological and Biochemical Effects of the Food Colour Carmoisine and Fast Green on Rats. *The 24th International Conference on Statistics, Computer, Science and its Applications*, May 8-14, 1999, pp. 491-505.

And Also:
Mekkawy, H.A., Massoud, A.A. and El-Zawahry, A.M., *Mutagenic Effects of the Food Colour Erythrosine in Rat*s. 37th TIAFT Meeting, Cracow, Sept. 5-9, 1999, pp. 98-104.

Mekkawy, H.A. and Ali, M.O., Mutagenic Effects of The Food Colour Indigo-Carmine (Indigotine) on the Bone Marrow Cells of Rats. *The 24th International Conference on Statistics Computer Science and its Application*,May 8-14,1999, pp. 507-522.

Vija Yalaxmi, I., Genetic Effects of Turmeric and Curcumin in Mice and Rats, *Mutation Researches*, 79,1980, pp. 125-132.

22- Giri, A.K.; Das, S.K.; Talukder, G. and Sharma , A., Sister Chromatid Exchange and Chromosome Aberrations Induced by Curcumin and Tartrazine on Mammalian Cells in vivo, *Cytobios*, 62(249) ,1990, p. 111.

And Also:
Giri, A.K., Sivam, S.S., Khan, K.A. and Sethi, N., Sister Chromatid Exchange and Chromosome Aberrations in Mice After in vivo Expire of Green-s a Food Colorant. *Environmental Molecular Mutagen*, 19,1992, pp. 223.

23-Giri, A. K.; Talukder, G. and Sharma, A., Sister Chromatid Exchanges Induced by Metnail Yellow and Nitrite Single and in Combination in vivo in Mice, *Cancer Letters*, 30,1986, p. 299.

24- Mekkawy and Ali, M.O., 1999, op.cit.

And Also:
Giri, A.K., 1986, op.cit.

25- Giri, A.K.; Mukherjee, A.; Talukder, G. and sharma, A., In vivo Cytogenetic Studies on Mice Exposed to Orange G. a Food Colourant, *Toxicological Letters*, 44 (3), 1988, p. 253.

26- Abdel Aziz, K.B; El-Nahass, E., Ali, M.O. and Fahmy, M.T., Cytogenetic Effects of Sunset Yellow (FCF) on the oogensis of Mice, *Egyptian Journal of Anatomy*, 12, 1989, pp. 117.

27- Giri, A.K. et al., 1990, op. cit.

28- Izbirak, A.; Sumer, S. and Diril, N., Mutagenicity Testing of Some Azo Dyes Used as Food Additives, *Mikrobiyoloji Bulteni*, 24 (1), 1991, p.48.

29- Agarwal, K.; Mukherjec, A. and sharma, A.: In vivo Cytogenetic Studies on Male Mice Exposed to Ponceau 4R and Beta-carotene, *Cytobios*, 74 (296), 1993, p. 23.

30- Durne, V.A.; Oreshenko, A.V.; Kulakova, A.V. and Beresten, N.F.: Analysis of Cytogenetic Activity of Food Dyes, *Medical Chemistry*, 41 (5),1995, p.50.

31-Alexander, G.; Miles, B.; G. and Alexander, R., LSD Injection Early in Pregenancy Produce Abnormalities in Rats, *Science*, 157,1967, pp. 459-460.

And Also:
Kalter, H., *Chemical mutagens*. Hollaender,Plenum Press, 1971, pp. 1-57.

32- Mekkawy, et al., 2001, op. cit.

33- Yoshimoto, M.; Okamoto, H.; Gatano, S. and Watanabe, T., The Effects of Tar Dyes Synthesizing Reduction II in Muclei Isolated From Rat Liver and RNA Polymerase Purified From Isolated Rat Liver Nuclei, *Journal of Food and Hygienic Society*, 18, Japan, 1977, p. 154.

And Also:
Yoshimoto, M; Suematsu, S., Hatano, S. and Watanabe,T., The Effects of Tar Dyes on RNA Synthesizing Reaction: III Mechansim of the Simulation of RNA Synthesis in Isolated Rat Liver Nuclei by Tar Dyes, *Journal of Food and Hygienic Society*, 20, Japan,1979, p. 192.

Yoshimoto, M; Yamaguchi, M., Hatano, S. and Watanbe, T., Configurational Changes in Rat Liver Nuclear Chromatin Caused by Azo Dyes, *Food and Chemical Toxicology*, 22 (5), 1984, p. 337.

Yoshimoto, M.; Watanabe, T. and Hatano , S., Effects of Oral Administration of Azo Dyes on Organ Weight, Liver Components and RNA Synthesis in Rats, *Journal of Food and Hygienic Society*, 26 (1) , Japan, 1985, p. 18.

34- Brachet, J., *Handbuch det Histochemie*, Stuttgart. Fischerverlag, 11/2 ,1959, p.1.

35- Gale, G.R.; Smith, A.B.; Atkins, L. M; Walker, F.M and Gadsen, R. H., Pharmacology of Captan Macromolecular, *Toxicological Supplement and Pharmacol*ogy, 18 , 1971, pp. 426-441.

36- Ahmed, M.A., *Cytogenetic Studies on the Effects of Certain Synthetic Food Colours on Mice.* M.Sc. of Science, Zoology Department, Faculty of Science (Girls), Alazhar University , Cairo, Egypt , 2000, pp. 1-88.

And Also:
Mekkawy, and Ali, 1999, op. cit .

Abdel Rahim, G.A., *Biochemical Studies on Some Flavoring or Coloring Matters in Foods. The Effects of Some Synthetic Natural Food Colorants on Rat Metabolism*. M.Sc. of Science, Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, 1990.

37- Mekkawy and Ali, 1999, op.cit.

And Also:
Mekkawy, et al. , 2001, op.cit.

38- Yoshimoto, et al. , 1985, op.cit.

Abstract

GENOTOXIC EFFECTS OF THE CHLOROPHYLL AND
FAST GREEN COLOURS ON THE CHROMOSOMES OF RATS

Mekkawy, H. A. and Ali, M. O.

The genotoxic effects of synthetic food colour (Fast green) and natural food colour (Chlorophyll) were tested in rats. The chromosomal aberrations, nucleic acids and total protein concentrations were significantly elevated.Conversely, mitotic index exhibited significant decreases in both the natural and synthetic dyes. The results indicated that the severity of such alterations are correlated with the duration of treatment and the doses. The synthetic dye fast green induce mutagenic effect higher than the natural food colour chlorophyll.