

**ОЦЕНКА ЗА БЕЗОПАСНОСТ
НА АЗО-ОЦВЕТИТЕЛИТЕ, РАЗРЕШЕНИ
ЗА ВЛАГАНЕ В ХРАНИ В ЕС**

**Изготвил: Ст.н.с. д-р Румяна Вачкова-Петрова, дмн
Член на Експертния съвет по оценката на риска към МЗ**

София, 2009 г.

Съдържание

Резюме	3
Кратка история на използването на оцветители в храните.....	7
Азо-оцветители – определение, физико-химични свойства.....	7
Токсикологични свойства	10
Метаболизъм.....	11
Оксидация	11
Редуктивен метаболизъм	11
Биокинетика.....	12
Ароматни амини	12
Оценка на канцерогенния потенциал.....	3
Преоценка на токсикологичния статус на червения оцветител 2G (128) от EFSA.....	15
Оцветители, използвани незаконно в храната	16
Азо-оцветителите, разрешени за влагане в храни от ЕС	23
Алергии и непоносимост към храни и добавки.....	29
Непоносимост към азо-оцветители.....	29
Хранителни добавки и поведение.....	33
Преоценката на азо-оцветителите като фактори, индуциращи хиперреактивност.....	34
Изчисление на максималния теоретичен дневен прием (МТДП) на азо-оцветителите чрез храната и оценка на риска.....	37
Литература	40

РЕЗЮМЕ

Азо-оцветителите, разрешени за влагане в храни в ЕС, са представители на широката група на азо-оцветителите, използвани в различни клонове на индустрията. Основен токсикологичен проблем, свързан с тази група съединения са евентуалните им канцерогенни свойства. Всъщност много малка част от известните 3000 различни азо-багрила, които са на пазара имат канцерогенен потенциал и те вече не се произвеждат. На базата на метаболизма и структурните особености на азо-оцветителите се прави оценка и на тяхния канцерогенен потенциал. Обсъждат се две групи азо-оцветители: водно-разтворими, носещи сулфонатни групи; разтворими в разтворители с не-полярни заместители. Това деление се обуславя от различните метаболитни пътища на двете групи.

Най-характерните метаболити на редукцията на азо- връзката са ароматните амини, чиито структурни особености влияят върху канцерогенния потенциал на азо-оцветителите.

Ароматните амини, амиди и нитро съединения са клас химически вещества, които имат представители, предизвикващи тумори в широк кръг тъкани на експериментални животни. У човека експозицията на някои ароматни амини е свързана с тумори на пикочния мехур и карциноми на бъбречното легенче. Такива амини могат да се съдържат в търговските азо-продукти като онечиствания, които се ограничават чрез спецификацията за идентичност и чистот на съответния продукт.

Генотоксичната активност на образуваните ароматни амини се редуцира чрез сулфониране, карбоксилиране, деаминиране или заместване на водорода на аминок групата. Сулфонирането на всички съставни пръстени на азо-оцветителя, както в случая с повечето азо-оцветители, разрешени за употреба в ЕС, предотвратява активирането до канцерогенни продукти.

EFSA провежда “ревизия” на добавки, за които са се появили нови научни данни за евентуално въздействие върху организма както по искане на Комисията, така и по предварително разработен план. Такъв е случаят с червеният оцветител 2G (E128), разрешен от европейското и нашето законодателство за влагане в храни. Научният панел по хранителни добавки, ароматизанти, спомагателни вещества и материали за контакт с храната на EFSA направи преоценка на токсикологичния статус на червения оцветител 2G (128). Оценката на Панела се базира на оценката на риска на анилин, проведена от ЕС през 2004 г. Панелът подчертава, че веществото се метаболизира в голяма степен до анилин. Докато данните за генотоксичната и канцерогенна активност на 2G и неговия метаболит анилин са ограничени, то генотоксичен и канцерогенен ефект на анилина е наблюдаван у третирани с анилин гризачи. Заключение е, че анилинът може да бъде разглеждан като канцероген, за който не се изключва генотоксичен механизъм. Панелът отхвърли ДДД на 2G и практически го изключи от употреба като оцветител в храни.

Друг случай, свързан с потенциален канцерогенен риск от азо-оцветителите, е нелегалното използване в храни на представители на тази група, които не са разрешени за тази цел. Те са установявани в чили на прах, къри на прах, обработени продукти, съдържащи чили или къри на прах, смрадлика, куркума и палмово масло. Оцветителите са Судан I, Судан II,

Судан III, Судан IV, Пара ред, Родамин В и Оранжево II. Тези оцветители са от групата на азо-багрилата с изключение на Родамин В. Наличните токсикологични данни не дават възможност за пълна оценка на риска, но експерименталните данни насочват, че Судан I е генотоксичен и канцерогенен и че Родамин В е потенциално генотоксичен и канцерогенен. За следващите оцветители няма дефинитивни доказателства, но структурното сходство с това на Судан I насочва, че те са потенциално генотоксични и възможно канцерогенни: Судан II, Судан III, Судан IV, Пара ред. За Оранжево II генотоксичността не може да бъде изключена и наличните данни за канцерогенност са неадекватни за определено заключение.

Анализът на токсикологичните данни за азо-оцветителите Тартразин, Сънсет жълто FCF, Азурubin, Амарант, Понсо 4 R, Алура червено, Брилянтно черно BN, Кафяво FK, Кафяво HT, Литолрубин BK и оценките на JECFA и SCF показват, че в границите на базираните на здравето ръководни стойности

ДДД веществата са безопасни за здравето на консуматора по отношение на остра, хронична токсичност, канцерогенност, влияние върху репродукцията и развитието. Изключение прави Амарант, с който са свързани противоречиви токсикологични данни. Той обаче има установена временна ДДД. Разрешен е за много ограничен брой хранителни продукти, които не се консумират ежедневно и при което експозицията е много ниска. Тази група оцветители се поставят на преоценка от JECFA, но такава за по-голямата част от тях не е правена в продължение на повече от 15 години. EFSA постави в центъра на вниманието си преоценката на безопасността на оцветителите. През 2009 г. бе извършена преоценка на азо-оцветителите Тартразин, Сънсет жълто, Понсо 4R и Алура червено. Панелът по хранителните добавки и хранителните източници за влагане в храни (ANS) корегира установената ДДД за Сънсет жълто с допълнителен фактор за безопасност от 2.5 и определи ДДД в размер на 1 mg/kg телесно тегло. Определената ДДД е «временна» за период от 2 години като междувременно се очакват резултатите от проучване на ефекта на веществото върху тестисите в съответствие с протокол на OECD. Панелът направи преоценка на ДДД на Понсо 4R на базата на вече известни токсикологични данни. Като взе под внимание NOAEL от 70 mg/kg телесно тегло/ден по отношение на индуцирана у мишки гломерулонефроза и фактор за безопасност 100, Панелът установява ДДД в размер на 0.7 mg/kg телесно тегло/ден.

Съществува разнообразна информация относно честотата на непоносимост към хранителните добавки. Въз основа на няколко проучвания Научния комитет по храните на Европейската комисия направи заключението, че тя е между 0.03 и 0.15% от населението. Научните изследвания са показали, че консумацията на храни, съдържащи Тартразин (а също – Азурubin, Понсо 4 R и Сънсет жълто), може да предизвика изрив по кожата (уртикария), дерматит, астма или възпаление на носната лигавица (ринит) у сравнително малка част от хората. Известна е и така наречената “кръстосана реактивност”. Хора, които са чувствителни към аспирина и нестероидните противовъзпалителни средства, могат да бъдат едновременно чувствителни и към бензоената киселина и Тартразина. Непоносимостта към Тартразина при пациенти с индуцирана от аспирина астма в Централна и Югоизточна Европа се приема за около 2.6% от случаите.

Според съвременната концепция действителните алергии, с намесата на IgE могат да се осъществят при експозиция на ензими и други протеини от растителен и животински

произход, които се използват при обработката на храната и вероятно - сулфитите. Няма доказателства, че други добавки могат да причинят IgE-опосредствена или забавена, несвързана с IgE алергия. Към добавките има непоносимост. Те могат да причинят нежелани реакции по други, неимунологични механизми. В малък процент от населението, специално при чувствителни индивиди, Тартразинът, другите азо-оцветители и бензоената киселина могат да доведат до освобождаването на хистамин и други медиатори, възможно и до други фармакологични реакции, които наподобяват алергичната реакция.

Преоценката на азооцветителите като фактори, индуциращи хиперреактивност е свързана с последното изследване на научен колектив от университета в Саутхемптън, проведено върху малки деца, което дава доказателства за ефект на хиперактивност при приемането с храната на смеси от общо 6 оцветителя, 5 от които са от групата на азосъединенията и натриев бензоат.

В това проучване са изследвани две комбинации от Тартразин, Хиолин жълто, Сънсет жълто, Понсо 4R, Алура червено, Кармоизин и натриев бензоат (E211). Смес А съдържа Сънсет жълто, Кармоизин, Тартразин, Понсо 4R и натриев бензоат (E211).. Смес Б съдържа Сънсет жълто, Кармоизин, Хиолин жълто, Алура червено и натриев бензоат. Смесите са подавани на децата с плодови сокове. Проучването включва 153 деца на възраст 3 г. и 140 деца на възраст от 8 до 9 г. Те са подбрани от общото население, което е един принос на изследването. Авторите заключават, че синтетичните оцветители заедно с натриевия бензоат в храната водят до повишена хиперактивност у изследваните деца. Смес А причинява значително повишение на хиперактивността в групата на 3-годишните деца, а смес Б – в тази на 8-9 годишните деца.

По искане на Европейската Комисия, Панелът по добавки в храната, ароматизанти, спомагателни вещества и материали за контакт с храната на Европейския орган по безопасност на храните (EFSA) извърши научна оценка на резултатите от това проучване и публикува мнение за установените данни при съблюдаване по възможност и на други такива от научната литература.

Панелът установи редица слабости на проучването и направи заключение, че то дава ограничени доказателства, че двете смеси от синтетични оцветители и натриев бензоат имат малък и статистически значим ефект върху активността и вниманието на децата, подбрани от общото население при изключване на децата, които са лекувани за разстройството дефицит на вниманието и хиперактивност (Attention Deficit Hyperactivity Disorder), въпреки че ефектът не е статистически значим за двете смеси и в двете възрастови групи. Липсата на индивидуализиране на добавките пречи да се припишат описаните ефекти на което и да е от изследваните вещества. Клиничното значение на наблюдаваните ефекти остава неясно.

В контекста на общата тежест на доказателствата и предвид значителните неопределености Панелът заключава, че данните от проучването не могат да бъдат база за промени в допустимата дневна доза на съответните оцветители и натриевия бензоат.

Въпреки гореизложеното някои страни от оценката са от особено значение и заслужават внимание:

- контингентът са малки деца, които са в процес на физическо и психическо развитие. С право обществото е особено чувствително към проблемите, свързани с децата;

- отсъствието на хранителна стойност на синтетичните оцветители. Ефектът им е “козметичен” и благоприятства само органолептичните качества на продуктите. Отсъствието им не би довело до риск за здравето, а по-скоро – до обратното. По-сложен е въпросът за натриевия бензоат, който е консервант и може да се среща естествено в някои храни;
- еднопосочността на резултатите от това проучване с тези от предишни проучвания върху деца с хиперактивност;

Тези моменти както и установените слабости на данните от проучването насочват за по-нататъшни интензивни изследвания в тази област. Една евентуална преоценка на риска от проучваните добавки в храните (оцветителите и то предимно азооцветителите и натриевият бензоат) би могла да доведе до промяна на управленските решения като се спазва принципът на предпазване.

Европейската комисия предприе управленско решение по принципа на предпазване и постави допълнителни условия към етикетирването на изследваните оцветители като регламентира това чрез Регламент (ЕС) No 1333/2008 на Европейския парламент и на Съвета за добавките в храните. Допълнителните условия влизат в сила през м.юли 2010 г. Проведено бе изчисление на Теоретичния максимален дневен прием (ТМДП) у българския консуматор на базата на следните основни данни: Данните за потреблението на основни хранителни продукти (средно на лице) на Националния статистически институт за 2008 г.; Данните за максималните нива на употреба на оцветителите,регламентирани от нашето законодателство.

Изчислението се отнася за Тартразин, Сънсет жълто, Азорубин, Понсо 4 R и Алура червено, които се използват в различните клонове на хранителната индустрия.

Резултатите от изчислението на ТМДП показват,че средният дневен прием на азо-оцветителите Тартразин, Сънсет жълто, Азорубин, Понсо 4 R и Алура червено у българския консуматор е **22.04 mg /човек или**

съответно 4.9, 36.7(14.7), 9.2, 47.7 (8.4) и 4.8 % от съответната ДДД.

Резултатите от изчислението на ТМДП на Тартразин, Сънсет жълто, Азорубин, Понсо 4 R и Алура червено у “екстремния” консуматор показват,че той е **66. 15 mg /човек или 14.7, 110.2 (44.1), 27.6, 143.1 (25.1) и 14.3%** от ДДД на съответния оцветител.

ТМДП, изразен на kg телесно тегло за човек със средно телесно тегло 60 kg е $22.04/60 = 0.37$ mg и за 95-и перцентил - съответно $66.12/60 = 1.1$ mg.

ANS изчислява ТМДП в размер на 8.1 mg/ kg телесно тегло. Въз основа на резултатите от изчислението на ТМДП може да се направи заключението, че рискът за здравето на средния български консуматор от поемането на азо-оцветителите с хранителните продукти е практически нулев. Направеното изчисление за частта от населението с висока консумация (95-и перцентил) показва, че ТМДП надвишава ДДД за Сънсет жълто и Понсо 4R. Подобен резултат налага по-нататъшна оценка на дневния прием с по-прецизни методи. (стъпка 2 и 3).

Кратка история на използването на оцветители в храните

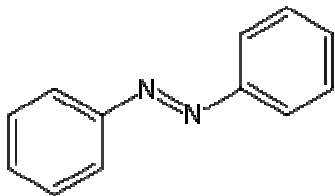
Използването на оцветители в храните датира от дълбока древност. Първите сведения за оцветяване на храни са от Египет и датират 1500 г. преди новата ера. Плиний отбелязва, че виното често е оцветявано с пушек или алое. Плиний също споменава, че към виното се прибавя морска вода, за да се увеличи яркостта на цвета. Това са факти от 200-300 години преди новата ера. През 1396 г. в Париж е издаден декрет със забрана върху оцветяването на маслото.

До средата на деветнадесетия век са използвани оцветители, получавани от натурални източници от растителен, животински и минерален произход. Първият синтез на оцветители е извършен през 1856 г. от Сър Уилям Хенри Перкин при използването на метиланилин, получен от въглищен катран (Beatriz A. Gloria, 2006).

Азо-оцветители - определение и физико-химични свойства

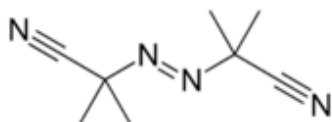
Азо-съединенията са химически вещества, които имат общата формула $R-N=N-R'$, където R и R' могат да бъдат или арилни (ароматни) или алкилни (алифатни) функционални групи. Групата $N=N$ се нарича азо-група, въпреки че изходното вещество $HNNH$ се нарича димид. По-стабилните азо-съединения съдържат две арилни групи (Hunger, 1994).

Арил азо- химически съединения



Арилните азо-съединения са обикновено стабилни, във вид на кристали. Азобензенът е прототип на арилните азо-съединения. Той съществува главно като транс-изомер, но при фотолиза преминава в цис-изомер. Ароматните азо-съединения могат да бъдат синтезирани чрез реакцията на азо-купелуване, която води след себе си реакция на електрофилно заместване, където арилният диазониев катион атакува друг арилов пръстен специално този заместен с електрон-освобождаващи групи. Тъй като диазониевите соли са често нестабилни при стайна температура, реакциите на купелуване се провеждат типично при температури на замръзване. Окислението на хидразините също дава азо-съединения - ($R-NH-NH-R'$)

Алкил азо-химически съединения



Алифатните азо-вещества (R и/или R' =алифатни) са по-малко срещани. Един пример е диетилдиациенът. При повишена температура или при радиация връзките въглерод-азот (C-N) в някои алкил съединения се разцепва със загуба на азотен газ като генерира радикали. На базата на този процес, някои алифатни съединения се използват като радикални инициатори. Представител е азобисизобутилонитрила, използван като инициатор в полимеризацията. Азо-съединенията с алкилни функционални групи са особено нестабилни и с тях трябва да се борави внимателно, за да се предотврати експлодиране.

Арилните азо-съединения има ярки цветове, специално червен, оранжев и жълт. Използват се и се класифицират като азо-оцветители. Наименованието азо идва от азот, френската дума за азот, която е производно на гръцкото *a* (не) + *zoe* (да живея).

Азо-групите не се срещат естествено. Повечето азо-багрила съдържат само една азо-група, но някои съдържат две (диазо), три (триазо) и повече. Азо-багрилата са около 60-70% от всички багрила, които се използват в текстилната и хранителната индустрия. Теоретично, тази група може да покрие пълната дъга от цветове, но жълто-червените багрила са по-чести от синьо-кафявите. Различните, главно ароматни странични групи около азо-връзката спомагат за стабилизирането на N=N групата като я правят част на разширена делокализирана система. Ароматните азо-вещества (R = R' =ароматни) са обикновено стабилни и произвеждат силни, живи цветове.

Азо-оцветителите са много по-стабилни от повечето натурални оцветители. Те са стабилни при всички стойности на рН на храните, стабилни са на загряване и не променят цвета си при излагане на светлина или кислород. Това ги прави приложими за всички видове храни. Единственото им неблагоприятно качество е неразтворимостта им в масла и мазнини. Само в случаите, когато са свързани в мастно разтворими съединения или когато се диспергират до много малки частици, маслата могат да се оцветят (Hunger, 1994).

Съществува погрешното впечатление, че азо-оцветителите общо трябва да се разглеждат като опасни специално по отношение на канцерогенните и мутагенни свойства.

На базата на метаболизма и структурните особености на азо-оцветителите се прави оценка и на техния канцерогенен потенциал. Обсъждат се две групи азо-оцветители:

- водно- разтворими, носещи сулфонатни групи;
- разтворими в разтворители с не-полярни заместители Това деление се обуславя от различните метаболитни пътища на двете групи.

Токсикологични свойства

Острата токсичност на азо-оцветителите, определена от критериите за класификация на опасните вещества на ЕС е ниска. Токсично ниво на азо-оцветител никога не може да бъде достигнато при консумирането на оцветена с него храна. ЛД50 на повечето азо-багрила, предназначени за храна и текстил е между 250-2,000 mg/kg телесно тегло, което означава, че трябва да се поемат еднократно много грамове от азо-багрилата. Тъй като са водноразтворими, те не се натрупват в организма и се метаболизират в черния дроб и екскретират с урината. Те са силни оцветители, поради което се използват в ниски технологични нива в mg /kg храна. За да се достигне леталната доза, средния възрастен човек трябва да поеме

около 100 kg, оцветена с азо-оцветител храна в рамките на един ден. Азо-връзката е най-уязвимата част на молекулата на азо-оцветителя и може лесно да премине през ензимно разграждане у бозайниците, включително човека.

Азо-оцветителите имат нисък токсичен профил и най-големите проблеми са свързани с евентуалните им канцерогенни свойства (Cook, 1947). Всъщност много малка част от известните 3000 различни азо-багрила, които са на пазара имат канцерогенен потенциал и те вече не се произвеждат. Налага се реална възможност за прогнозиране на канцерогенен потенциал на новите продукти и спиране на токсикологичните изследвания на ранен етап без съществени разходи.

Метаболизъм

Ензимите, които катализират метаболитните реакции не могат да отграничат продуктите на разграждане, които са опасни за организма. Най-важните реакции на разграждане на азо-оцветителите са **оксидацията и редукцията** (Hunger, 1994).

Оксидация

Оксидативните процеси се катализират главно от микрозомалната монооксигеназна система, представена от цитохром P-540. Общият механизъм на метаболитната оксидация включва електронна транспортна верига най-напред пренасяйки електрон на P-540-Fe³⁺ комплекса, който чрез редукция, поемане на кислород и последващи стъпки накрая води до продукти на оксидация в организма. За азо-оцветителите са важни три различни оксидативни пътища, които оставят азо-връзката интактна:

C-хидроксилиране, хидроксилиране на пръстена, вероятно чрез механизми на епоксидиране и последващо пренареждане до фенол.

N-хидроксилиране, което става при първичните и вторични амоногрупи или с ацетил аминогрупите в черния дроб. Тази реакция се последва от естерификация с глюкоронат или сулфат. Тези активирани естери могат да доведат до екскреция на вече водноразтворимата субстанция или разцепване на естерна група с формирането на нитрениум-съединение-NH⁺, което може да се свърже ковалентно с нуклеофилна група на ДНК.

Деметилиране е стъпаловиден процес на оксидация на метилните групи на диалкиламиносъединенията. N-хидрокси производното може по-нататък да бъде деметилирано или да реагира до нитрениум съединение

Редуктивен метаболизъм

Несравнимо по-често преобладаващата редуктивна метаболитна реакция на азо-съединенията се случва чрез разделяне на азо-връзката. Тази реакция се случва главно при водноразтворимите съединения. Азо-връзката може да бъде редуцирана и разцепвана, което има за резултат разделяне на молекулата на две части. Тази реакция се извършва от ензима азоредуктаза. Азоредуктазата е представена чрез микрозомалната NADPH- цитохром P-540 система с NADPH като донор на електрон. Системата се среща или в черния дроб или се образува при много видове анаеробни бактерии в дебелите черва. У бозайниците азоредуктазите са с различна активност и се намират в различни органи като черния дроб, бъбреците, белия дроб, сърцето, мозъка, далака

и мускулната тъкан. Най-висока е активността на азоредуктазата в черния дроб, следвана от тази в бъбреците.

Биокинетика

Механизмът на азоредуктазата у бозайниците включва двуелектронен трансфер с междинен свободен радикал. Способността за редукция зависи силно от ензимната система и видът на заместването на азо-оцветителя. Има много доказателства, че водноразтворимите азо-оцветители при орално поемане се метаболизират от интестиналната микрофлора. Допълнително тези сулфонатни оцветители се екскретират по-бързо от по-малко разтворимите съединения

Водно-неразтворимите багрила се абсорбират в чревния тракт без бактериална редукция. Метаболитното глюкорониране се извършва в черния дроб, като се образуват водно-разтворими конюгати, които впоследствие се транспортират чрез жлъчката в червата, където се извършва бактериалната азоредуктаза. При изследване с радиобелязаното багрило Remazol BlackB е установено, че бързата редукция на азо-връзката води до 84% р-базови естери. 99% от радиоактивността се елиминира в рамките на 24 h чрез фекалиите. Екскретираните метаболити са даже по-полярни от изходното съединение. Това подкрепя предположението, че нито оцветителят, нито някои от неговите метаболити има биоаккумуляционен потенциал.

Ароматни амини

Най-характерните метаболити на редукцията на азо връзката са ароматните амини, чиито структурни особености влияят върху канцерогенния потенциал на азо-оцветителите: позицията на NH₂ групата. Свободната р-позиция позволява хидроксилиране на пръстена и последваща детоксикация на молекулата. Сулфонатните групи в молекулата водят до висока разтворимост като редуцират времето на аминосулфоновата киселина. Поради високата полярност асоциацията с хидрофобния регион на протеина е затруднена и съответно-транспортът до клетъчното ядро.

Анализът на връзката структура-активност на азо-съединенията показва, че потенциалът за мутагенност съответства на способността на молекулата да генерира продукти на активни ароматни амини по време на метаболизма чрез разкъсване на азо връзката, последвано от окисление на освободените първични ароматни амини. Разкъсването на азо връзката може да се случи в гастроинтестиналния тракт и в черния дроб. Генотоксичната активност на образуваните ароматни амини се редуцира чрез сулфониране, карбоксилиране, деаминиране или заместване на водорода на amino групата както е установено с р-фенилендиамин и производните му. Тези модификации блокират по-нататъшния метаболизъм на амините и така намаляват токсичната активност. Сулфонирането на части от молекулата също намалява разтворимостта в липиди и така намалява абсорбцията и токсичността. Сулфонирането на всички съставни пръстени на азо-оцветителя какъвто е случаят с повечето азо-оцветители, разрешени за употреба в ЕС, предоствяват активирането до канцерогенни продукти (Opinion, 2007).

Ароматните амини, амиди и нитро съединения са клас химически вещества, които предизвикват тумори в широк кръг тъкани на експериментални животни като черен дроб, пикочен мехур, стомах, тънки черва, Зимбалова жлеза, подкожната тъкан. У човека експозицията на някои ароматни амини е свързана с тумори на пикочния мехур и карциноми на бъбречното легенче.

Тяхната биологична активност като канцерогенни и генотоксични агенти зависи от метаболитната активация *in vivo*, която се извършва по-много пътища. Различията между тях могат да обяснят различията в тъканната и видовата чувствителност. Такива амини могат да се намерят в търговските азо-продукти като онечиствания, които се ограничават чрез спецификацията за идентичност и чистота (Наредба № 21, 2002).

Според Bartsch, 1981 канцерогенната активност на ароматните амини и амиди зависи от тяхното окисление до N-хидроксипроизводни, докато канцерогенната активност на ароматните нитро съединения е свързана с редукцията им до хидроксиламини. По-нататъшното превръщане на N-хидроксиламина или N-хидроксиламида до реактивни метаболити се извършва по няколко начина: 1. естерифициране на N-хидрокси групата 2. не-ензимно протониране на азота на хидроксиламина и 3. окисление до свободен радикал на арилхидрокаминовата киселина. След натрупването на такива електрофилни метаболити в тъканите или клетките, се наблюдава макромолекулно свързване на нуклеиновите киселини и протеините. В много случаи с базите на нуклеиновите киселини се образуват ариламицирани и ариламицирани продукти. В случая с добре проучения 2-ацетиламинофлуорен, нуклеофилните атоми на гуанина са преобладаващото място на реакция. Относително малко се знае за структурата и биологичните последици от адуктите на ДНК, образувани от други ароматни амини, амиди и нитро вещества.

Оценка на канцерогенния потенциал

Първите доказателства за канцерогенната активност на тези съединения са на Yoshida, 1932 който установява индуцирането на малигнени тумори на черния дроб на плъхове под въздействие на о-аминоазотолуен в храната. Kinoshita, 1937 установява индуцирането на рак на черния дроб от пара-диметиламиноазобензола (ДАБ) или масленото жълто, използвано повече от 100 г. за оцветяване на масло.

Азо-съединенията се очертават като специфична група канцерогени, които индуцират рак на черния дроб на плъхове и мишки. Какъвто и да е пътят на въвеждане на веществата, те не предизвикват тумори на мястото на апликацията а в черния дроб. Това прави вероятно причината да е в биологично активните вещества, които се образуват при биохимичната трансформация в черния дроб.

(Соок, 1947).

Като се вземат под внимание различните метаболитни пътища може да се оцени канцерогенния потенциал на азо-съединенията:

Трябва да се обсъдят три групи:

Първо, ако продуктът на реакция с азоредуктазата съдържа карциногенен ароматен амин, формирането на това вещество обяснява канцерогенния потенциал на азо-оцветителя. Пример: бензидин

На второ място, азо-редукцията не води до канцерогенни амини. Канцерогенността на оцветителя, който съдържа amino, алкиламино или ацетиламино групи, но не и сулфонатна група може да се дължи на неговото директно хидроксилиране. Пример: хепатоканцерогенът диметиламиноазобензен

На трето място, двете части, а именно диазо и купелуващият компонент на оцветителя носят сулфонатни групи, доставяйки висока водна разтворимост, която предотвратява абсорбцията в организма и улеснява елиминирането на редуцираните и непроменени в друго отношение части на азо-оцветителя от организма (Miller, J. A. & Baumann, 1945).

Таблица 1

Азо-съединения			
Общи свойства	Разтворимост	Предпочитани метаболитни реакции	Канцерогенен потенциал
Диазо-компонентът е канцерогенен(липсва сулфонатна група)	Разтворими във вода и разтворители	1. редукция на $-N=N-$ 2.N-оксидация на амина	+
Азо-връзката остава интактна (наличие на аминок група)	Разтворими в разтворители	Оксидиране на пръстена N-деалкилиране N-оксидиране	+/-
Двете части носят сулфонатна група	Водноразтворими	Редукция на $-N=N-$ Бързо преминаване през организма	-

Добавките трябва да бъдат предмет на дългосрочно наблюдение и да бъдат преоценявани в светлината на променените условия за употреба или нова научна информация. Веществата, които са генотоксични и канцерогенни не могат да бъдат обсъждани за включване в тази широка група вещества.

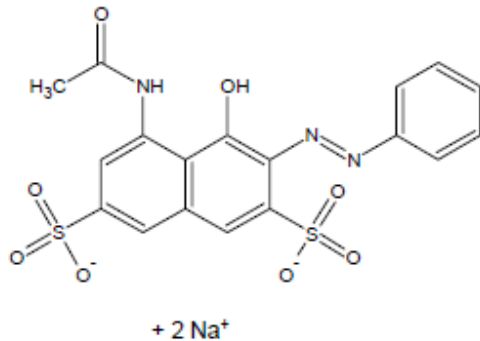
Оценката за безопасност се извършва на европейско ниво от специализиран панел на EFSA, а на глобално ниво – от специализирания комитет на ФАО/СЗО по хранителните добавки и замърсители (JECFA).

EFSA има три главни дейности, свързани с добавките:

1. Провежда оценка за безопасност на новите добавки в храните преди те да бъдат оторизирани за използване в ЕС;
2. Отговаря на **ad-hoc** запитвания и изисквания от Европейската комисия за преразглеждане на някои добавки в светлината на значителна нова научна информация и/или променени условия за употреба;
3. Провежда системно преразглеждане на всички оторизирани добавки в ЕС

Така EFSA провежда “ревизия” на добавки, за които са се появили нови научни данни за евентуално въздействие върху организма както по искане на Комисията, така и по предварително разработен план, какъвто е случаят с оцветителите. Процесът на преценка не преклочва и не е свързан с нов списък на добавките, а по-скоро с промяна на статуса на отделни добавки. Такъв е случаят с червеният оцветител 2G, (E128), разрешен от европейското и нашето законодателство за влагане в храни.

Преценка на токсикологичния статус на червения оцветител 2G (128) от EFSA



Научният панел по хранителни добавки, ароматизанти, спомагателни вещества и материали за контакт с храната на EFSA направи преценка на токсикологичния статус на червения оцветител 2G (128) (**Opinion,2007**). Той е оценяван от JECFA през 1971 и 1982 г. и от Научния комитет по храните на ЕС през 1975 г. Утвърдена е ДДД в размер на 0.1 mg/kg телесно тегло. През 2002 г. той също е оценен от Норвежкия съвет на министрите.

В Европейския съюз той е разрешен за влагане в колбасите за закуска с минимално съдържание на зърнена съставка от 6% и месо за бургери с минимално съдържание на зеленчукова или зърнена съставка от 4%. И в двата продукта е разрешен в количество до 20 mg/kg продукт (Директива 94/36/ЕС).При вземане под внимание на продуктите, за които е разрешен и количеството, в което е разрешен може да се изчисли, че консумацията на 100 g колбаси за закуска или 100 g месо за бургери води до дневно прием от 2 mg Червено 2G.

Панелът подчертава, че веществото се метабелизира в голяма степен до анилин. Докато данните за генотоксичната и канцерогенна активност на 2G и неговия метаболит анилин са ограничени, то генотоксичен и канцерогенен ефект на анилин е наблюдаван у третирани с анилин гризачи, Оценката на Панела се базира на оценката на риска на анилин, проведена от ЕС (EU,2004). Заключение е, че анилинът може да бъде разглеждан като канцероген, за който не се изключва генотоксичен механизъм, на базата на следното:

- анилинът е генотоксичен *in vivo*- у плъхове и мишки;
- има ограничени механистични данни, за да се отхвърли генотоксичния механизъм на канцерогенността у гризачи;
- на базата на сходния метаболизъм на анилина у животни и хора, не може да се изключи канцерогенен риск и за човека.

На базата на гореизложеното Панелът отхвърли ДДД на веществото и практически го изключи от употреба като оцветител в храни.

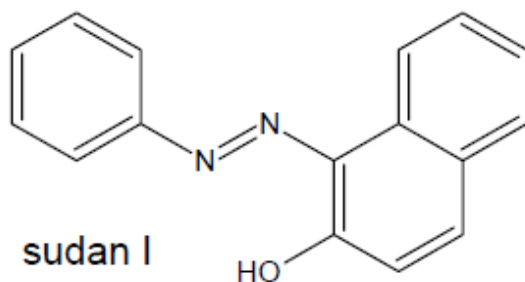
Оцветители, използвани незаконно в храната

Панелът за добавките в храните, ароматизантите, спомагателните вещества и материалите за контакт с храни направи преглед на токсикологичните свойства на редица оцветители, които се срещат нелегално в храната. След първото съобщение от 2003 г. за нелегалното наличие на Судан I в някои храни на ЕС последваха съобщения от страни-членки за наличието на този и други нелегални оцветители в чили на прах, къри на прах, обработени продукти, съдържащи чили или къри на прах, смрадлика, куркума и палмово масло. Оцветителите са Судан I, Судан II,

Судан III, Судан IV, Пара ред, Родамин В и Оранжево II. Тези оцветители са от групата на азо-багрилата с изключение на Родамин В. Наличните токсикологични данни не дават възможност за пълна оценка на риска, но експерименталните данни насочват, че Судан I е генотоксичен и канцерогенен и че Родамин В е потенциално генотоксичен и канцерогенен. За следващите оцветители няма дефинитивни доказателства, но структурното сходство с това на Судан I насочва, че те са потенциално генотоксични и възможно канцерогенни: Судан II, Судан III, Судан IV, Пара ред. За Оранжево II генотоксичността не може да бъде изключена и наличните данни за канцерогенност са неадекватни за определено заключение.

Извън Родамин В, който спада към ксантеновата група багрила, всички нелегално използвани оцветители спадат към азо-групата. Известно е, че те претърпяват азо-редукция до общи метаболити, които имат канцерогенен и мутагенен потенциал. Част от известните канцерогени, които могат да бъдат продукти на азо-редукцията на седемте багрила са 0-толуидин, 4-аминоазобензен, р-фенилендиамин, о-аминоазотолуен както и някои производни на нафтиламина. Тези ефекти са взети под внимание при обсъждането структурното сходство и тяхната връзка с потенциалната канцерогенност.

Сред азо-оцветителите, потенциалът да бъдат метаболизиран до ароматни амини, разтворими в липиди, специално производни на бензидина е предупреждение за генотоксичност и канцерогенност, докато сулфонирането на всички компоненти на пръстена както е случаят с повечето азо-оцветители, разрешени за влагане в храни в ЕС, елиминират генотоксичната и канцерогенната активност. В категорията на азо-оцветителите, анализът на връзката структура-активност показва, че потенциалът за мутагенност кореспондира на способността на молекулата да генерира продукти на активни ароматни амини по време на метаболизма чрез разцепване на азо-връзката последвана от окисление на освободените ароматни амини. Разцепването на азо-връзката може да се извърши в черния дроб или интестиналния тракт. Генотоксичната активност на образуваните ароматни амини се редуцира от сулфониране, карбоксилиране, деаминиране или заместване на водорода на amino групата както е установено в изследвания с р-фенилендиамин и производни. Тези модификации вероятно блокират по-нататъшния метаболизъм на амините и по-този начин намалява токсичната активност. Сулфонирането на част от молекулата също намалява мастната разтворимост и по-този начин намалява абсорбцията и токсичността.



Остра токсичност

Подкожната LD50 у зайци е <500 mg/kg. Други подходящи данни за острата токсичност на веществото липсват.

Алергенност

Работната група на Комисията по класификацията и етикетирането на опасните вещества е обсъдила Судан I през 2001 г. и го е определила като кожен сенситизатор.

Генотоксичност

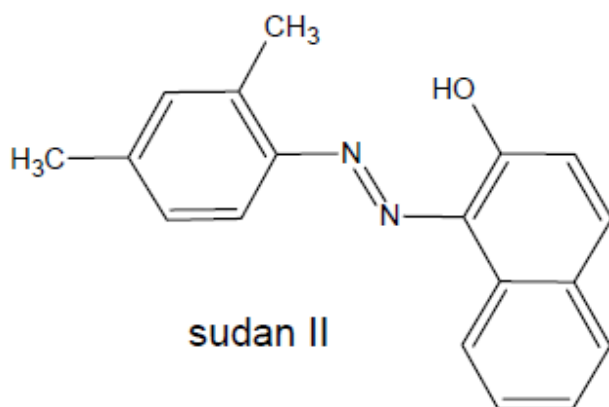
Судан I е показал положителен ефект върху *Salmonella typhimurium* щамове TA97 and TA98 с S9 от плъши черен дроб, но не и от черен дроб на хамстер или без метаболитна активация. Подобен е резултатът с теста върху миша лимфома. Тестът за хромозомни аберации върху овариални клетки от хамстер е отрицателен, докато тестът за СХО в същия тип клетки е леко положителен без метаболитна активация и ясно положителен при метаболитна активация.

Изследванията *in vivo* с микроядрен тест или с теста за хромозомни аберации са или със съмнителен или положителен резултат у плъхове и мишки като у мишки са определени като слабо положителни. Тестът с непланова ДНК синтеза (UDS) *in vitro/in vivo* е отрицателен при плъхове или мишки или съмнително положителен при плъхове. Ефектът на веществото е зависим от метаболизма му до реактивни метаболити като изследванията *in vitro* с плъши и човешки микростоми показват сходен път на метаболизъм и взаимодействие с ДНК.

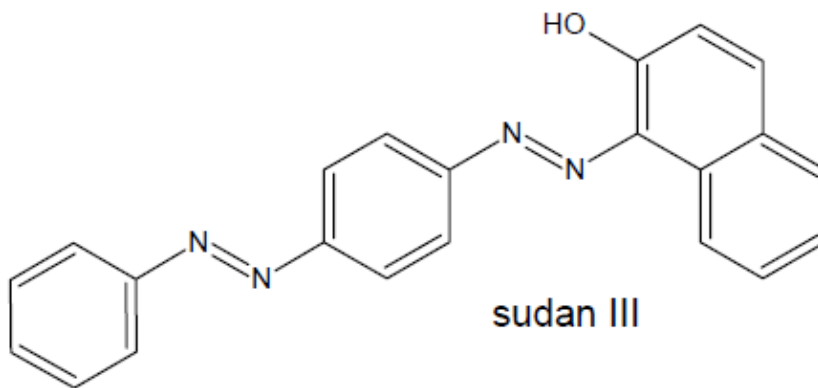
Канцерогенност

Групи от по 50 плъха F344 от двата пола са поставени на диета със съдържание на Судан I в концентрации 0, 250 или 500 500mg/kg храна за период от 103 седмици. Опитните животни имат по ниско средно телесно тегло от 16-та седмица при мъжките и 50-та седмица за женските. Липсва съществена разлика в смъртността в различните групи. Направено е заключението, че не-неопластичните лезии са свързани с третирането. Неопластичните възли в черния дроб, са по-чести в третираните групи.

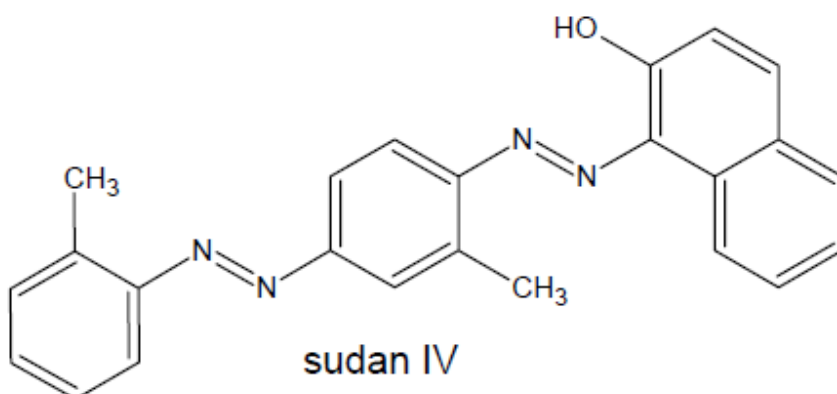
Изследването за канцерогенност върху мишки показва отъствие на положителен ефект. През 1987 г. Международната агенция по изследване на рака (IARC) класифицира Судан I в група 3 (IARC, 1987).



Ограничените данни за генотоксичност в условия *in vitro* дават достатъчно доказателства, че Судан II е мутагенен в бактериални тестове след метаболитна активация. Единственото тестиране *in vitro* върху клетки от бозайници показва отрицателен резултат. Липсват данни за изследвания *in vivo*. Багрилото се разглежда като потенциално генотоксично. Има ограничени данни за канцерогенност след орално или подкожно въвеждане, които не са достатъчни за определени заключения относно канцерогенната активност на Судан II. Индуцирането на тумори на пикочния мехур след имплантирането на пелети импрегнирани със Судан II е достатъчно доказателство за определянето на Судан II като възможен канцероген.

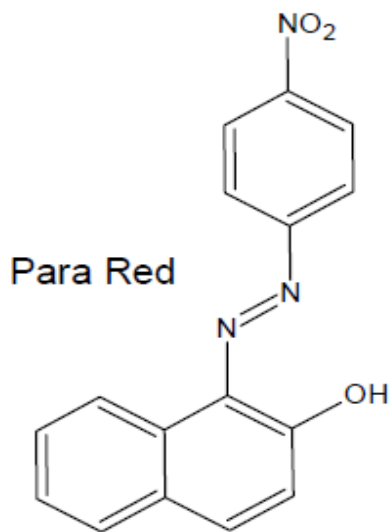


Генотоксичността на Судан III е изследвана в ограничени проучвания, които се приемат за недостатъчни, поради липсата на подходяща активираща система. Изследванията за канцерогенност са ограничени и не дават индикации за канцерогенен потенциал. Има структурна връзка на това багрило със Судан I като се предполага сходен метаболизъм. Ограничени доказателства сочат, че метаболизмът е много по-малък. В отсъствието на достатъчно доказателства, се приема, че Судан III е потенциално генотоксичен и канцерогенен.

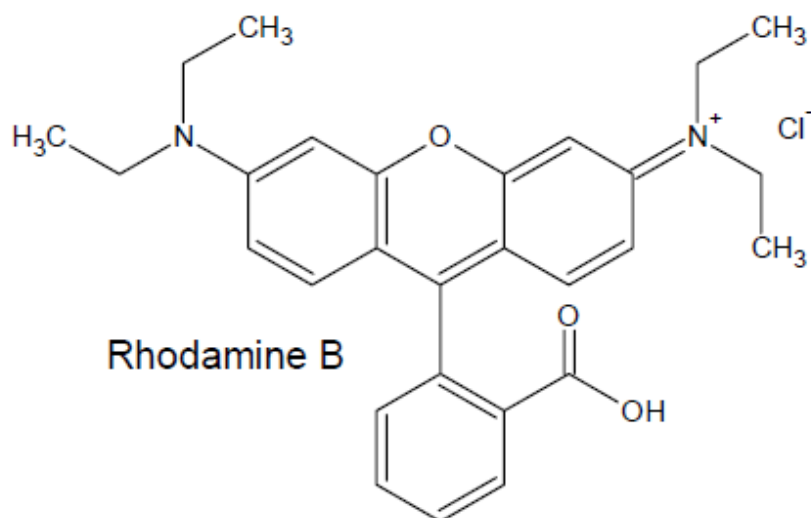


Ограничените данни за мутагенност, моделът на положителните резултати след метаболитна активация е в съгласие с други подобни багрила като презумпцията е, че Судан IV е потенциално генотоксичен.

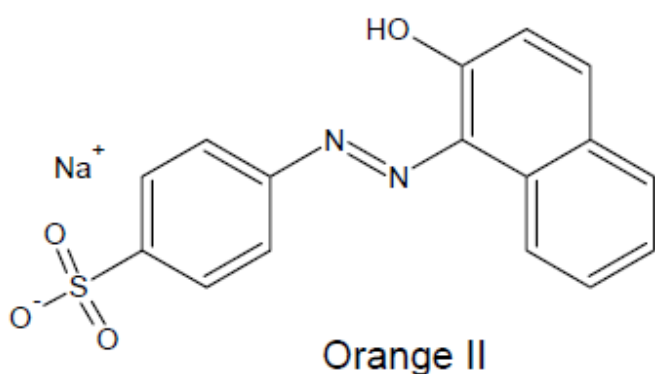
Има недостатъчни данни за проучване на канцерогенната активност на Судан IV. Той е използван като покриващо средство при лекуване на рани, при което индуцира епителната пролиферация. Този ефект в съчетания с данните за структурно близки багрила насочена към извода, че веществото е потенциално генотоксично и възможно канцерогенно.



Токсикологичните данни за багрилото Пара ред са много ограничени. На базата на структурното сходство със Судан I, който е генотоксичен и канцерогенен се предполага, че е потенциално генотоксичен и възможно канцерогенен.



Проучването на мутагенната активност показват, че търговският продукт е мутагенен след метаболитна активация в условия *in vitro*, но се предполага, че тя в значителна степен се дължи на неидентифицирани онечиствания. Резултатите от изследвания върху *Drosophila melanogaster* са положителни. Три опита за канцерогенност показват канцерогенен потенциал на Родамин В, въпреки че се установяват различни типове тумори. На базата на тези данни Родамин В се определя като потенциално генотоксичен и канцерогенен.



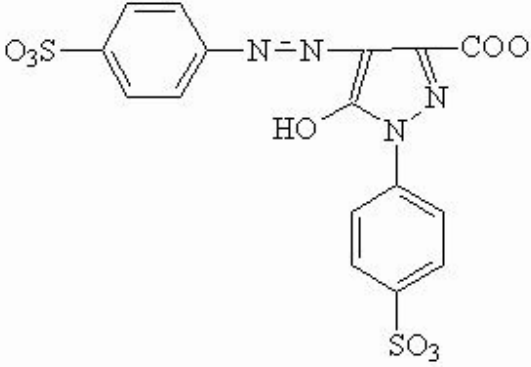
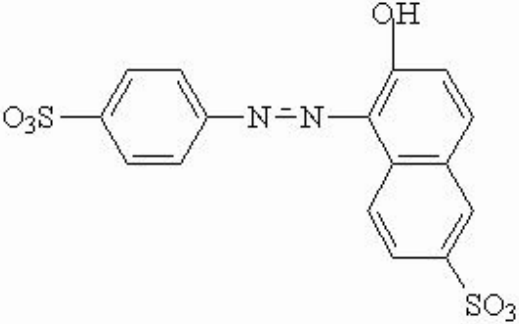
Оранжево II се различава от всички други, защото е йонизиран и по-водноразтворим, въпреки че е азо-багрило. Показва някои данни за генотоксичност, въпреки че тестовете не отговарят на протокола. Тяхната приложимост за оценката на риска не е ясна. Данните за канцерогенност не са адекватни за пряко заключение.

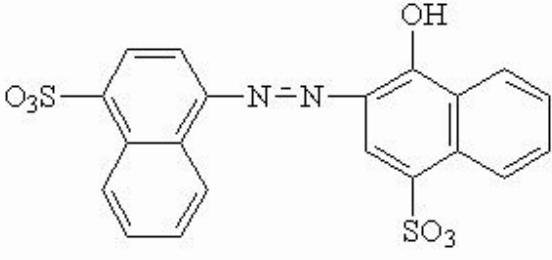
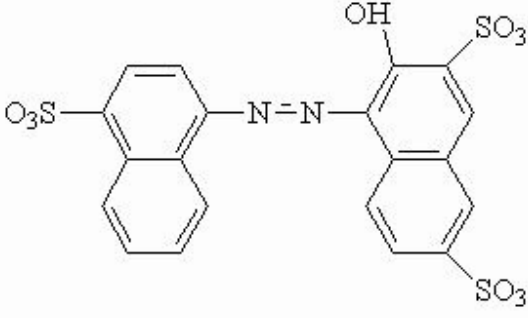
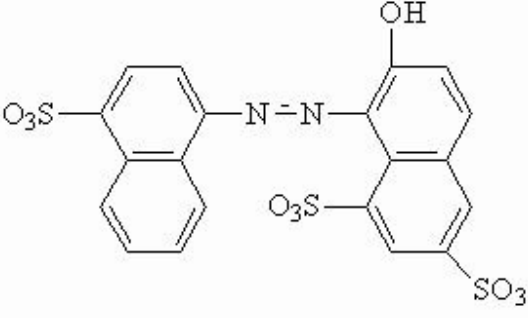
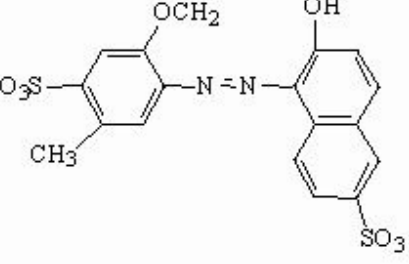
Европейският съюз обявя граница на откриване (с HPLC метод) за Судан I и подобни оцветители от 0.5 до 1 mg/kg. Която и да е храна, съдържаща тези оцветители над тези граници трябва да бъдат отстранявани от пазара. **Агенцията по храните и лекарствата на САЩ не предприема официални действия, тъй като преценява, че нивата са твърде ниски и не носят риск за здравето.**

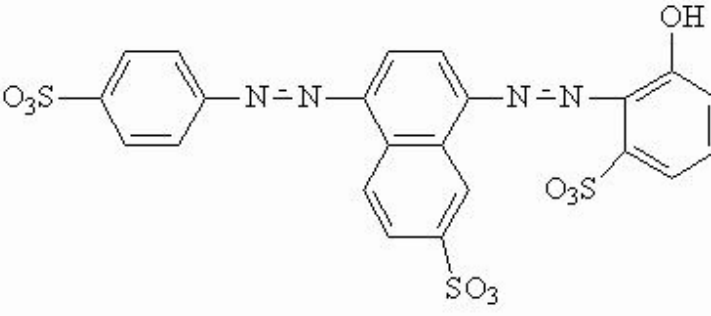
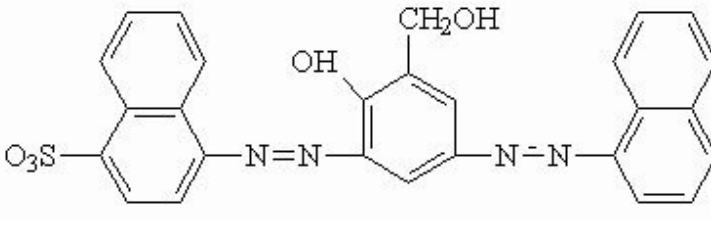
Азо-оцветителите, разрешени за влагане в храни от ЕС

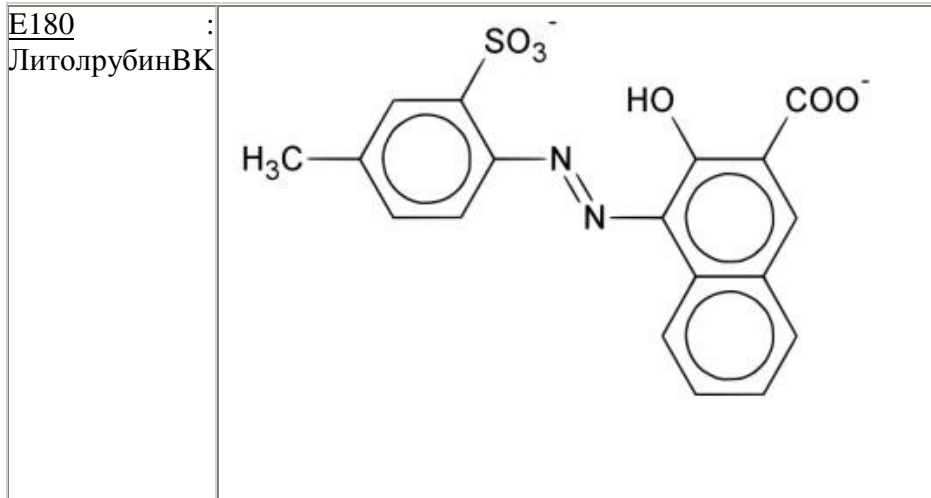
Анализът на токсикологичните данни за азо-оцветителите Тартразин, Сънсет жълто FCF, Азорубин, Амарант, Понсо 4 R, Алура червено, Брилянтно черно BN, Кафяво FK, Кафяво HT, Литолрубин BK показва, че в границите на базираните на здравето ръководни стойности (ДД) веществата са безопасни за здравето по отношение на остра, хронична токсичност, канцерогенност, влияние върху репродукцията и развитието. Изключение прави амарантът, който е с най-неустановения токсикологичен статус. Той обаче, е разрешен за много ограничен брой хранителни продукти, които не се консумират ежедневно. Тази група оцветители се поставят на регулярна преценка от JECFA, но за повечето от тях такава не е правена през последните 15 – 20 години. EFSA постави в центъра на вниманието си преценката на безопасността на азо-оцветителите Тартразин, Сънсет жълто, Азорубин, Понсо 4 R и Алура червено.

Таблица 2

<p><u>E102</u> Тартразин</p>	
<p><u>E110</u> : Сънсет жълто FCF</p>	

<p><u>E122</u> Азорубин</p>	
<p><u>E123</u> : Амарант</p>	
<p><u>E124</u> : Понсо 4R</p>	
<p><u>E129</u> : Алура червено</p>	

<p><u>E151</u> Брилянтно черно BN</p>	<p>:</p> 
<p><u>E154</u> КафявоFK</p>	<p>: Комбинация от: Натриева сол на 4-(2,4- диаминофенолазо(бензенсулфонат) Натриева сол на 4-(4,6сдиамино- m - толилазо)бензенсулфонат Динатриева сол на 4,4'-(2,4-диамино-1,3- фениленбисазо)-ди(бензенсулфонат) Динатриева сол на 4,4'-(4,6-диамино-1,3- фениленбисазо)-ди(бензенсулфонат) Тринатриева сол на 4,4'-4(2,4-диаминобензен-1,3,5- трисазо)-три(бензенсулфонат) Динатриева сол на 4,4'-(2,4-диамино-5- метил-1,3- фениленбисазо)-ди(бензенсулфонат)</p>
<p><u>E155</u> КафявоНТ</p>	<p>:</p> 



Тартразин

Изследвания за генотоксичност и ефект върху репродукцията у плъхове и зайци показват отрицателен резултат. Дългосрочните изследвания с влагане в диетата до ниво 5% показват отсъствие на канцерогенен ефект.

Последната оценка на JECFA е през 1964 г. като е определена ДДД в размер на 0- 7.5 mg/kg телесно тегло (WHO,1964).

През 2009 г. Панелът по хранителните добавки и хранителните източници, прибавяни в храната (ANS) на EFSA преразглежда токсикологичния статус на тартразина като включи в оценката си и последни изследвания върху репродукцията, генотоксичния и канцерогенен ефект на веществото. ANS не установява ефект върху репродукцията и параметрите на невроповеденческите реакции. Тартразин не проявява генотоксичен ефект при изследване с микроядрен тест *in vitro* и *in vivo*, тест за хромозомни аберации, сестрински хроматидни обмени (СХО),тест за непланова ДНК-синтеза (UDS тест), проведен *in vitro* и *ex vivo* върху клетки от бозайници. Има данни и за положителен ефект с теста за хромозомни аберации върху фибробластни клетки от китайски хамстер както и увеличение на СХО и хромозомните аберации в костен мозък на мишки и плъхове след остра и хронична експозиция на тартразин във високи дози,приложени чрез диетата. Разглежда се и положителният ефект с Comet теста с индуциране на увреждане на ДНК на колона на мишки при дози близки до ДДД.Приема се,че преходните изменения в ДНК не се превръщат в трайни такива и е вероятно да се дължат на локалния цитотоксичен ефект на веществото.Обратно на това, последни изследвания са показали отсъствие на ефект с микроядрения тест върху чревния тракт при дози до 2000 mg/kg телесно тегло. ДДД не бе ревизирана (EFSA, 2009).

Сънсет жълто

Веществото не предизвиква канцерогенен ефект при подкожно въвеждане на плъхове. Веществото няма канцерогенен ефект при орално въвеждане на мишки и плъхове. Опитът върху плъхове обаче не е адекватно представен.

Липсват данни за канцерогенен ефект върху хора.

IARC го класифицира в група 3.

Последната оценка на JECFA е през 1982 г. като е определена ДДД в размер на 0-2.5 mg/kg телесно тегло (WHO,1982).

През 2009 г. ANS преразгледа токсикологичния статус на Сънсет жълто. Анализирани бяха експерименти, в които се установява значителен ефект върху теглото на тестисите на плъхове, третирани с веществото в дози 250 и 1500 mg /kg телесно тегло за период от 90 дни. Най-ниското изследвано ниво е определено като «най-ниското ниво с наблюдаван неблагоприятен ефект» (LOAEL). При определянето на ДДД JECFA също е взел под внимание резултатите от 90-дневен опит с ефект върху теглото на тестисите без хистоморфологични изменения, но без изследване на морфологията и мотолитета на сперматозоидите. NOAEL в този експеримент обаче е по-високо от LOAEL - 500 mg/kg телесно тегло. Панелът коригира установената ДДД на Сънсет жълто с допълнителен фактор за безопасност от 2.5 и определи ДДД в размер на 1 mg/kg телесно тегло. Определената ДДД е «временна» за период от 2 години като междувременно се очакват резултатите на проучване на ефекта върху тестисите в съответствие с протокол на OECD. Прецизираната оценка на дневния прием на Сънсет жълто е показала, че нивото на прием е под временната ДДД с изключение на този при децата от 1 до 10 години, при които средния и висок перцентил на експозиция може да бъде по-висок от ДДД при горния край на диапазона (EFSA, 2009).

Амарант

Генотоксичността на Амарант е противоречива като е класифициран като генотоксичен в един преглед (Combes и Haveland-Smith, 1982) и негенотоксичен в друг (Chung and Cerniglia, 1992). Проучван е за канцерогенност чрез поемане по орален път у плъхове, мишки и кучета и по подкожен път у плъхове. Две проучвания по орален път у плъхове показват канцерогенен ефект, но без дефинитивна оценка: в едното изследване веществото е с около 25- 30% неидентифицирани онечиствания, в другото изследване липсват спонтанни тумори в контролните животни след 33 месеца експеримент, което изглежда необикновено. Администрацията по храните и лекарствата на САЩ съобщава през 1972 г. за неблагоприятен ефект на амарант върху репродукцията (Beatriz A. Gloria, 2006).

Анализирано е проучване на канцерогенната активност на Амарант, проведено върху плъхове, третирани *in utero* и в последствие за период от 2 години с подаване в храната в дози 50, 250 и 1250 mg/kg телесно тегло. Не е установен канцерогенен ефект. NOAEL е определено по отношение на индуцирането на бъбречна калцификация и хиперплазия.

IARC го класифицира в група 3 (IARC, 1987)

Последната оценка на JECFA е през 1984 г. (WHO, 1984).

Определена е ДДД в размер на 0.5 mg/kg телесно тегло.

Азорубин

Азорубин не показва генотоксичен ефект при изследване *in vivo* и *in vitro*.

Веществото е изследвано за канцерогенна активност у мишки и плъхове при орално и подкожно въвеждане. Установявани са различни ненеопластични лезии, които не са взети под внимание поради наличието на подобна находка и в историческата контрола. Изследването на канцерогенната активност върху плъхове и мишки проведено през 1982 г. по Националната токсикологична програма не показва положителен ефект. Липсват данни за канцерогенен ефект у хора.

IARC го класифицира в група 3 (IARC, 1987)

ЖЕСФА и ЕС определят допустима дневна доза в размер на 4 мг / кг телесно тегло (WHO,1983; SCF,1984).

През 2009 г. ANS преразглежда оценката за безопасност на Азорубин. Анализът на наличните токсикологични данни не дава основание за промяна на установената от ЖЕСФА и потвърдена от Научния комитет по храните на ЕС (SCF) ДДД - 4 мг / кг телесно тегло. Оценката на теоретичния максимален дневния прием, изчислен чрез бюджетния метод е под ДДД (8.1 мг / кг телесно тегло за възрастни и деца 1-10 години). При прецизираната оценка за децата на възраст 1-10 г. при високия перцентил (95-и) приемът може да бъде по-висок от ДДД в горния край на диапазона (EFSA, 2009).

Понсо 4R

Последната оценка на ЖЕСФА е проведена през 1983 г. Веществото е изследвано в тест за репродукция върху плъхове, третирани *in utero* и последващо третиране на три последователни поколения без изменения в изследваните показатели за репродукция. Веществото не показва мутагенен ефект с тестове *in vitro*. Тестовите за тератогенност са с отрицателен резултат. NOAEL е определена в проучване върху мишки при съдържание на веществото 0.25% (2500 ppm) в храната, еквивалентно на 375 mg/kg телесно тегло. Определена е ДДД в размер на 0-4.0 mg/kg телесно тегло (WHO,1983).

През 2009 г. ANS преразглежда оценката за безопасност на Понсо 4R. Панелът направи преоценка на ДДД на базата на известни към момента на установяването ѝ токсикологични данни:

1. изследване върху прасета от 1969 г., в което се установява NOAEL от 300 mg/kg телесно тегло/ден при слабо намаление на броя на еритроцитите при дозата 900 mg/kg телесно тегло/ден и
2. изследване върху мишки от 1974 г. с NOAEL по отношение на индуцирана гломерулонефроза – 0.05% в диетата, еквивалентно на 70 mg/kg телесно тегло/ден

Като взе под внимание NOAEL от 70 mg/kg телесно тегло/ден и фактор за безопасност 100, Панелът установи ДДД в размер на 0.7 mg/kg телесно тегло/ден. Панелът направи оценка на дневния прием на веществото като използва последователно трите стъпки - от по-грубата към по-прецизната оценка. Теоретичният максимален дневен прием за деца и възрастни е изчислен в размер на 8.1 mg/kg телесно тегло/ден.

Алура червено

Алура червено претърпява частична азоредукция преди абсорбцията. Веществото се абсорбира слабо като главният път за елиминиране е чрез фекалиите. Проучването на репродукцията върху няколко поколения плъхове показва, че поколението на родителите, третирани с доза 51.9 g/ kg храна показва слабо подтискане на растежа. Нивото без ефект е 13.9 g/kg храна. Веществото не показва мутагенен и тератогенен ефект. Провеждани са краткосрочни и дългосрочни проучвания върху мишки и плъхове. В едно изследване върху мишки е наблюдавана по-ранна проява на тумори на лимфната система в сравнение с контролата. Във второ по-разширено проучване не е наблюдаван подобен ефект. Определена е временна ДДД в размер на 0-7 mg/kg телесно тегло в очакване на статистическия анализ на дългосрочния опит върху мишки.

Последната оценка на ЖЕСФА е проведена през 1981, а тази на Научния комитет по храните на ЕС – през 1987 г. (WHO,1981).

През 2009 г. ANS преразглежда токсикологичния статус на веществото. Панелът разгледа резултатите от *in vivo* Comet теста върху мишки, проведен с Алура червено, показващи индуцирането на значително повишение на миграцията на ядрена ДНК както в жлезистия стомах (при доза 100 mg/kg телесно тегло и по-високи), така и в тъканите на дебелото черво (при доза 10 mg/kg телесно тегло и по-високи) при отсъствие на цитотоксичност. Всички тестове върху *Salmonella*, проведени с Алура червено и редица сулфонирани ароматни амини, включително такива, които се образуват от Алура червено при азо-редукцията са отрицателни. Панелът разглежда резултатите от *in vivo* Comet теста върху мишки в светлината на резултатите от дългосрочните опити за канцерогенност, проведени върху мишки от двата пола със значително по-високи дози, при които не се установяват неоплазми в стомаха и дебелото черво. Панелът заключава, че измененията, установени с Comet теста не се очаква да бъдат свързани с канцерогенност.

Анализът на наличните токсикологични данни не дава основание за промяна на установената от JECFA и потвърдена от Научния комитет по храните на ЕС (SCF) ДДД - 7 мг / кг телесно тегло. Панелът изчислява теоретичния максимален дневен прием в размер на 8.1 mg/kg телесно тегло/ден за възрастни и 13.1 mg/kg телесно тегло/ден за типични 3-годишни деца.

Брилянтно черно

Изследванията за тератогенност и репродукцията върху няколко поколения не показват положителен ефект на веществото. В едно от субхроничните изследвания (90-дневно) върху прасета, в 4 от тях се установяват интестинални цисти, пълни с мукус и фибрин при високото ниво в диетата. Това изследване е основата за определянето на NOAEL - 100 mg/kg/.

Определена е ДДД в размер на 0-1.0 mg/kg телесно тегло (WHO, 1982).

Кафяво НТ

Последната оценка на JECFA е от 1978 г (WHO, 1978).

Въз основа на резултатите от дългосрочното изследване е определена NOAEL от опита с мишки – 0.1% от веществото в диетата. Препоръчани са по-нататъшни изследвания за метаболизъм, тератогенност и ефект върху репродукция на веществото.

Определена е временна ДДД в размер на 0-0.25 mg/kg телесно тегло

Литолрубин ВК

Последната оценка на JECFA е от 1986 г.

Поради недостатъчно данни не е определена ДДД (WHO, 1986).

Алергии и непоносимост към храни и добавки

Хранителната алергия и хранителната непоносимост са два типа чувствителност към храната, свързани с неблагоприятни реакции на организма. В случаите на хранителна алергия имунната система реагира към определена храна. В случаите на тежка хранителна алергия могат да се проявят застрашаващи живота реакции наречени анафилаксия. Признаците на анафилаксията се проявяват понякога няколко минути след поемането на определена храна. Хранителната непоносимост не засяга имунната система и в общи линии не застрашава живота. Най-честите симптоми на алергичната реакция са следните: кашлица; сърбеж по кожата или изрив; повдигане, чувство на подутост; диария и/или повръщане; затруднено дишане; подуване на устните и гърлото; хрема или запушен нос; възпалени, зачервени и сърбящи очи.

През 2003 г Европейската комисия прибави към Директивата от 2000 г. за етикетирването на хранителните продукти списък на храни, които трябва задължително да се обявяват върху

етикета като хранителни алергени (Приложение III). Същото изискване у нас бе регламентирано с Наредба за изискванията за етикетирането и представянето на храните от 2000 г. (Приложение 4 към чл.16, ал.7, в сила от 25.11. 2004 г.).

Непоносимост към азо-оцветители

Съществува разнообразна информация относно честотата на непоносимост към хранителните добавки. Въз основа на няколко проучвания Научния комитет по храните на Европейската комисия направи заключението, че тя е между 0.03 и 0.15% от населението (SCF,1981). В едно изследване 156 германци, италианци и поляци, страдащи от индуцирана от аспирина астма са преминали през орална провокация с нарастващи дози тартразин до 25 mg. Всички позитивни провокации са повторени в двойно-слепи условия. Само 4 пациента (всички поляци) са имали позитивна реакция при двойно-слепия тест, доказано със спадането на $FEV_1 > 25\%$ от основната линия и съответните клинични симптоми, 52 пациенти, които са понесли 25 mg Тартразин, са поели 50-3000 mg тартразин без да показват неблагоприятни реакции. В заключение, непоносимостта към тартразина при пациенти с индуцирана от аспирина астма в Централна и Югоизточна Европа се приема за около 2.6% (Virchov, 1988). Във Франция оцененият максимален теоретичен прием на тартразин у децата е 37% от ДДД в размер на 7.5 mg /kg телесна маса. Може да се направи заключението, че използването на тартразина не носи риск за консуматора. По-трудно е да се установи ясната връзка между поемането на тартразин и развитието на непоносимост у пациенти. Тази непоносимост преди всичко се проявява у пациенти, които страдат също и от повтаряща се уртикария или астма. Връзката между приема на тартразин и тези реакции често се надценява и патогенетичният механизъм остава неясен. Оценено е, че непоносимостта към тартразин се среща в 0.12% от населението. Общо взето, рисковото население е със съзнанието за важността на етикетирането с цел избягването на консумацията на Тартразин. Трябва да се отбележи, че продукти като сладолед, десерти, пасти и торти се продават свободно без всякакъв етикет. (Elhkim,2007)

Научните изследвания са показали, че консумацията на храни, съдържащи Тартразин, може да предизвика изрив по кожата (уртикария), дерматит, астма или възпаление на носната лигавица (ринит) у сравнително малка част от хората. Известна е и така наречената “кръстосана реактивност”. Хора, които са чувствителни към аспирина и нестероидните противовъзпалителни средства могат да бъдат едновременно чувствителни и към бензоената киселина и Тартразина (Ghorpade, Dshpande и Salunke,1994).

Първите данни за свръхчувствителност към Тартразин датират от 50-те години на миналия век. През 1959 г. Lockey съобщава, че тартразинът причинява уртикария у трима пациенти. През 1967 г. Chafee и Settirane съобщават, че тартразинът причинява астма. Това съобщение е първото, което подчертава кръстосаната реактивност между чувствителността към тартразина и непоносимостта към аспирина и първото, в което се използва процедурата на двойния слеп кръстосан тест като по този начин недвусмислено показва, че чувствителността към Тартразина съществува. През 70-те години на миналия век са съобщавани много случаи на чувствителност към Тартразина. Най-честите прояви са уртикария и астма. Има случаи на васкулит, пурпура и контактен дерматит. Наблюдава се кръстосана чувствителност у пациентите, чувствителни към аспирина и нестероидните противовъзпалителни средства. Механизмът на реакцията е неясен и се нарича псевдоалергичен (**Dipalma,1990**).

В едно изследване 43 деца с ангио-едема и/или уртикария, които отговарят на свободна от добавки диета са провокирани с изкуствени добавки в двойно-сляпо изследване. 24 деца реагират към 1 или повече добавки. 18 деца не реагират към нито една добавка и остават в добро състояние при въвеждането отново на нормалната диета. Чувствителност към аспирин е установена само в 1 от 24-те деца, които не понасят добавките. Атопията е по малко срещана у тези пациенти, отколкото в общото население. Механизмът на непоносимостта към добавките е неизвестен като единственото средство за диагноза е двойно-сляпото провокиране (Supramaniam G, J.O.Warner, 1986)

Хронична и рекурентна уртикария от химическите вещества, представени на табл. 2 са били предмет на значително изследване. Провокиращият ефект на ацетилсалициловата киселина (АСК) при уртикарията е установен през 50-те години на миналия век. Феноменът не се е ограничавал само до АСК, но и за други салицилати. По-късно се установява, че всички нововъдени инхибитори на циклооксигеназата при метаболизма на арахидоновата киселина (индометацин, ибупрофен, напроксен, диклофенак) могат да влошават симптомите на уртикарията. От 50-те години на миналия век азо-оцветителите и специално Тартразинът, Понсо 4 R и Сънсет жълто са известни като фактори, ускоряващи хроничната уртикария. Уртикариалните реакции от азо-оцветителите, бензоената киселина и други хранителни добавки са установявани при пациенти, чувствителни към АСК по-често отколкото при пациенти нечувствителни към АСК и други инхибитори на простагландиновия синтез. Това е довело до отстраняването на азо-оцветителите от повечето хранителни продукти в западните страни (Hannuksela и Naahtela, 1987).

Таблица 2

Хранителни добавки, които причиняват или влошават уртикарията и ангио едемата

Бензоена киселина, бензоати

Сорбинова киселина, сорбати

Азо-оцветители

Кантаксантин, бета-каротен

Хинолин жълто

Бутилхидрокситолуол (БХТ) и бутилхидроксианизол (БХА)

Нитрити и нитрати

Подправки (напр. канела, карамфишл, бял пипер)

Етанол

Проведено е проучване, насочено към определяне на честотата на непоносимост към Тартразин сред лица, които страдат от остър епизод на уртикария/ангиоедема след поемането на храна, съдържаща това вещество. Касае се за ретроспективно проучване. Подбраните пациенти са подложени на диагностичен тест до обикновени инхалаторни и хранителни алергени както и двойно-сляп контролиран с плацебо тест с провокация с тартразин. В проучването са включени 102 лица, от които 19 (18.6%) показват поне една положителна реакция към IgE тест за хранителна алергия. Само едно лице (1%) е имало реакция след поемането на 5 mg тартразин на 5-ия ден. Същото лице не е имало реакция на плацебо. Резултатът показва, че процентът на индуцираната от тартразин уртикария/ангиоедема е нисък (1%). Авторите препоръчват лицата, които са страдали от непоносимост към Тартразин да бъдат внимателно изследване за възможни други причини (Nettis и съавт., 2003).

Wüthrich, 1993 съобщава за оценена честота на неблагоприятни реакции към хранителните добавки на чувствителните индивиди в размер на 0.03% до 0.23%. Сложният характер на патофизиологичните механизми на алергията или непоносимостта към хранителните добавки

пречи на разбирането на такива състояния. Поради отсъствието на адекватни кожни или *in vitro* тестове, диагностиката се базира на контролирани с плацебо орални провокационни тестове.

Прагови ефекти на алергените

Чувствителността на лицата, страдащи от хранителна алергия към специфични хранителни алергени варира широко – между отделните индивиди и за един и същи индивид в различно време. Някои индивиди имат тежки реакции, други индивиди имат по-леки реакции дори при високи дози. Тази вариабилност прави трудно определянето на най-ниската доза от алергена, която е вероятно да провокира неблагоприятния ефект. Най-добрите резултати за определянето на праговите дози за алергичните реакции се базират на резултатите от експериментални провокирани от храни двойно слъпи изследвания, заедно с резултатите от проучвания на всички сериозни хранителни алергични реакции. Такива изследвания обаче, дават широк кръг прагови дози (Jackson, 2003).

Обществеността и медиите често обвиняват добавките в храните и оцветителите за повишаване честотата на хранителните алергии, но доказателствата в тази насока са много малки. Според съвременната концепция действителните алергии, с намесата на IgE могат да се осъществят при експозиция на ензими и други протеини от растителен и животински произход, които се използват при обработката на храната (напр. папаин, алфа-амилаза и кохинеал) и вероятно сулфитите. Няма доказателства, че други добавки могат да причинят IgE-опосредствена или забавена, несвързана с IgE алергия. Някои добавки могат да доведат до влошаване на предварително съществуващи алергични състояния като уртикария, астма или ринит, но механизъмът на тази реакция не е ясен. Добавките могат да причинят нежелани реакции по други механизми. В малък процент от населението специално при чувствителни индивиди тартразинът, другите азо-оцветители и бензоената киселина могат да доведат до освобождаването на хистамин и други медиатори, възможно и до други фармакологични реакции, които наподобяват алергичната реакция. Серният диоксид и свързаните с него вещества могат да действат като иритант на дихателните пътища и по този начин да ускорят пристъпа на астма у пациент, който вече има хиперреактивни дихателни пътища поради астма (Ghorpade, Deshpande и Salunke, 1994; Jackson, 2003).

Хранителни добавки и поведението

Съществува мнението, че някои добавки в храните, специално оцветителите могат да причинят хиперактивност у децата или да влошат това състояние. Хиперактивността е термин, чрез който се означава затруднения в поведението, които засягат обучението, запаметяването, движенията, речта, емоционалността и съня. Няма единствен тест, чрез който да се диагностицира хиперреактивността. От хиперреактивност например страдат 1 до 5% от децата на Великобритания.

Преоценката на азооцветителите като фактори, индуциращи хиперреактивност

Преоценката е свързана с последното изследване на научен колектив от университета в Саутхемптън, проведено върху малки деца, което дава доказателства за ефект на хиперактивност при приемането с храната на смеси от общо 6 оцветителя, 5 от които са от групата на азосъединенията и натриев бензоат (McCann и съавт., 2007).

Предположението, че синтетичните оцветители и други добавки в храната могат да имат ефект върху поведението датира от 70-те години на миналия век (Feingold, 1975). Някои от провежданите след това изследвания потвърждават наличието на такъв ефект, а други го отхвърлят. Засегнати са малките деца като в резултат те показват свръхактивно, импулсивно и

невнимателно поведение. През 2004 г. бе публикувано изследване, което показва малък но статистически значим ефект на синтетични оцветители върху деца с хиперактивност (Schab и Trinh, 2004). През същата година бе публикувано изследване, което дава някои доказателства за неблагоприятен ефект на смес от 4 оцветители и натриев бензоат върху поведението на 3-годишни деца при наблюдение от страна на родителите (Bateman и съавтори, 2004). През 2007 г. същият екип публикува споменатото по-горе изследване, индуцирано и финансирано от Агенцията по хранителни стандарти на Великобритания (McCann и съвт., 2007). В това проучване са изследвани две комбинации от Тартразин, Хинолин жълто, Сънсет жълто, Понсо 4R, Алура червено, Кармоизин и натриев бензоат (E211). Смес А съдържа Сънсет жълто, Кармоизин, Тартразин, Понсо 4R и натриев бензоат. Смес Б съдържа Сънсет жълто, Кармоизин, Хинолин жълто, Алура червено и натриев бензоат.

Смесите са подавани на децата с плодови сокове. Проучването включва 153 деца на възраст 3 г. и 140 деца на възраст от 8 до 9 г. Те са подбрани от общото население, което е един принос на изследването. Авторите заключават, че синтетичните оцветители заедно с натриевия бензоат в храната водят до повишена хиперактивност у изследваните деца. Смес А причинява значително повишение на хиперактивността в групата на 3-годишните деца, а смес Б – в тази на 8-9 годишните деца.

Авторите отбелязват, че дневната експозиция на различните оцветители в двете смеси е еквивалентна на количеството от оцветяването на 2 торбички от 56 г. бонбони в смес А за децата на възраст 8-9 г. и на 4 торбички от 56 г. – в смес Б за децата на възраст 3 г. Наблюденията, проведени през последните 6-7 г. показват, че изследваните оцветители се използват по-често в бонбони, но и в безалкохолни напитки, а бензоатът се използва предимно в безалкохолните напитки.

По искане на Европейската Комисия, Панелът по добавки в храната, ароматизанти, спомагателни вещества и материали за контакт с храната на Европейския орган по безопасност на храните (EFSA) извърши научна оценка на резултатите от това проучване и публикува мнение за установените данни при съблюдаване по възможност и на други такива от научната литература (**Opinion, 2008**).

За случая са привлечени специалисти от различни области – експерти по поведение, детски психиатри, алерголози, статистици. Анализът е задълбочен, проведена е допълнителна статистическа обработка. проведени са срещи и с авторския колектив. Установено бе, че и при двете смеси приемът у децата е далеч под допустимата дневна доза за веществата. Така напр. при смес А у 3-годишните деца постъпват количества в проценти от допустимата дневна доза: 6.7 - тартразин, 8.25 - Понсо 4R, 13.2- Сънсет жълто, 4.25 - Кармоизин. У 8-9 годишните деца приемът на същите оцветители в проценти от допустимата дневна доза е съответно: 4, 5, 8, 2.5. При смес Б 3-годишните и 8-9 – годишните деца получават количества, изразени в проценти от допустимата дневна доза както следва: Хинолин жълто – 5, Алура червено – 7.1, Кармоизин – 12.5, Сънсет жълто – 20.

Панелът установи редица слабости на проучването, между които са и следните: ограничената съгласуваност на резултатите по отношение на възрастта и пола на децата, ефектите на изследваните смеси и вида на наблюдателя (родител, учител, независим наблюдател); фактът, че изследването не е планирано да идентифицира ефектите на индивидуалните добавки; липсата на информация за зависимост доза-отговор; липсата на биологично правдоподобен механизъм за индуцирането на ефекти върху поведението при консумация на добавки в храната.

Панелът направи заключение, че проучването на McCann и съвт., 2007 г. дава ограничени доказателства, че двете смеси от синтетични оцветители и натриев бензоат имат малък и

статистически значим ефект върху активността и вниманието на децата, подбрани от общото население при изключване на децата, които са лекувани за разстройството дефицит на вниманието и хиперактивност (Attention Deficit Hyperactivity Disorder), въпреки че ефектът не е статистически значим за двете смеси и в двете възрастови групи. Липсата на индивидуализиране на добавките пречи да се припишат описаните ефекти на което и да е от изследваните вещества. Клиничното значение на наблюдаваните ефекти остава неясно.

В контекста на общата тежест на доказателствата и предвид значителните неопределености като липсата на последователност и относителна слабост на ефекта и отсъствието на информация за клиничната значимост на наблюдаваните промени в поведението Панелът заключава, че данните от проучването не могат да бъдат база за промени в допустимата дневна доза на съответните оцветители и натриевия бензоат.

В заключение може да се подчертае, че се касае за едно широко проучване на McCann и съавт., 2007 на ефекта на добавки в храната върху хиперактивността на деца от общото население. Проведеният анализ на това проучване от Панела на EFSA е задълбочен, обективен и разкрива редица недостатъци на това проучване. Панелът приема, че данните са недостатъчни за промяна в допустимата дневна доза на тестваните вещества.

Въпреки гореизложеното някои страни от оценката са от особено значение и заслужават внимание:

- контингентът са малки деца, които са в процес на физическо и психическо развитие. С право обществото е особено чувствително към проблемите, свързани с децата;
- отсъствието на хранителна стойност на синтетичните оцветители. Ефектът им е “козметичен” и благоприятства само органолептичните качества на продуктите. Отсъствието им не би довело до риск за здравето, а по-скоро – до обратното. По-сложен е въпросът за натриевия бензоат, който е консервант и може да се среща естествено в някои храни;
- еднопосочността на резултатите от това проучване с тези от предишни проучвания върху деца с хиперактивност;

Тези моменти както и установените слабости на данните от проучването насочват за по-нататъшни интензивни изследвания в тази област. Една евентуална цялостна преоценка на риска от проучваните добавки в храните (оцветителите и то предимно азооцветителите и натриевият бензоат) би могла да доведе до промяна на управленските решения като се спазва принципът на предпазване.

Европейската комисия предприе управленско решение по принципа на предпазване и постави допълнителни условия към етикетирването на изследваните оцветители като регламентира това чрез Регламент (ЕС) No 1333/2008 на Европейския парламент и на Съвета за добавките в храните (**Regulation (EC), 2008**) – Таблица № 1. Допълнителните условия влизат в сила през м.юли 2010 г.

Списък на оцветителите в храните в съответствие с член 24, за които етикетирването на храните трябва да включва допълнителна информация

Таблица 4

Храни съдържащи един или повече от следните оцветители	Информация
Сънсет жълто (E110)(*)	Наименование или Е номер на оцветителя: може да има неблагоприятен ефект върху активността или вниманието на децата

Хинолин жълто (E104)(*)	
Кармоизин (E122)(*)	
Алура червено (E129)(*)	
Тартразин (E102)(*)	
Понсо 4 R (E124)(*)	

* С изключение на храните, в които оцветителите се използват за целите на здравно или друго маркиране върху месни продукти или за печат или украсяване на яйца.

Изчисление на теоретичния максимален дневен прием (ТМДП) на азо-оцветители чрез храната и оценка на риска

По указанията на Комисията Кодекс Алиментариус ТМДП се изчислява като се умножи средната дневна *per capita* консумация на всеки хранителен продукт или група храни по официалното максимално ниво на употреба на добавката, установено от Кодекс стандартите или националното законодателство и събиране на получените цифри (Codex Alimentarius Commission, 1989). ТМДП е само обща индикация за приема на добавката, защото не взема под съображение приема на специални групи от населението и при следните хипотези:

1. Всички хранителни продукти, за които е регламентирана добавката я съдържат;
2. Хранителната добавка се съдържа в хранителния продукт в максималното регламентирано ниво;
3. Хранителните продукти, които съдържат добавката, се консумират ежедневно през целия живот;
4. Концентрацията на добавката не се намалява при кулинарната обработка;
5. Всички продукти, за които е регламентирана добавката, се консумират без отпадъци.

Изчислението на ТМДП е извършено на базата на следните основни данни:

1. Данните за потреблението на основни хранителни продукти (средно на лице) на Националния статистически институт за 2008 г.;
2. Данните за максималните нива на употреба на оцветителите, регламентирани от Наредба № 8;
3. Изчислението е за български консуматор със средно телесно тегло 60 кг.;
4. За изчислението на ТМДП на екстремния консуматор (95-и перцентил) са използвани препоръките на СЗО, според които екстремните консуматори поемат хранителните продукти в количества, които не надвишават повече от двукратно тези, определени като средни за популацията. Ако замърсителят се съдържа в даден хранителен продукт, включен в общата диета, тогава "екстремният" консуматор на този продукт е невероятно да поеме повече от трикратно количеството, поемано средно от популацията (WHO Guidelines, 1983).
5. Изчислението се отнася за Тартразин, Сънсет жълто, Азорубин, Понсо 4, Алура червено, които се използват в различните клонове на хранителната индустрия и имат еднакви разрешени максимални нива на употреба.

Таблица 5

Потребление на основни хранителни продукти и напитки от домакинствата (Средно на лице) за 2008 г.

Продукти и напитки

Сладкарски изделия

от брашно - кг

6.5

Конфитюри,

сладка, мармалади - кг **0.8**
 Захарни изделия - кг **1.4**
 Безалкохолни напитки - л **55.2**

Таблица 6

Продукти и напитки	Консумация годишно (кг/л)	Консумация дневно (г/мл)	Оцветител максимално ниво (мг/кг продукт)	Консумация на оцветител в мг дневно	Консумция на оцветител в мг дневно (95-и перцентил)
Сладкарски изделия от брашно	6.5	17.8	300	5.34	16.02
Конфитюри, сладка, мармалади	0.8	2.2	200	0.44	1.32
Захарни изделия	1.4	3.8	300	1.14	3.42
Безалкохолни напитки	55.2	151.2	100	15.12	45.36
Общо				22.04	66.12

Таблица 7

Оцветител	ДДД mg/kg т.т.	ДДД mg човек 60 kg	Дневен прием в % от ДДД	Дневен прием в % от ДДД (95-и перцентил)
Тартразин	7.5	450	4.9	14.7
Сънсет жълто	1 (2.5)*	60 (150)*	36.7 (14.7)*	110.2 (44.1)*
Азорубин	4	240	9.2	27.6
Понсо 4R	0.7 (4)*	42 (240)*	47.7 (8.4)*	143.1(25.1)*
Алура червено	7	420	4.8	14.3

*ДДД определена от JECFA

Резултатите от изчислението на ТМДП показват, че средният дневен прием на азо-оцветителите Тартразин, Сънсет жълто, Азорубин, Понсо 4 R и Алура червено у българския консуматор е **22.04 mg /човек**

съответно 4.9, 36.7(14.7*), 9.2, 47.7 (8.4*) и 4.8 % от съответната ДДД.

Резултатите от изчислението на ТМДП на Тартразин, Сънсет жълто, Азорубин, Понсо 4 R и Алура червено у “екстремния” консуматор показват, че той е **66.12 mg /човек или 14.7, 110.2 (44.1*), 27.6, 143.1 (25.1*) и 14.3% от ДДД** на съответния оцветител.

ТМДП, изразен на kg телесно тегло за човек със средно телесно тегло 60 kg е $22.04/60 = 0.37$ mg и за 95-и перцентил - съответно $66.12/60 = 1.1$ mg. ANS изчислява ТМДП на азо-оцветителите в размер на 8.1 mg/ kg телесно тегло (EFSA, 2009).

Въз основа на това изчисление на ТМДП може да се направи заключението, че рискът за здравето на средния български консуматор от поемането на оцветителите с хранителните продукти е практически нулев. Според някои автори оценката чрез ТМДП е “надценена” и по-висока от тази за 97-ия перцентил (J.S. Douglass и съавт.,1997). Въпреки това направихме изчисление за частта от населението с висока консумация (95-и перцентил), което показва, че ТМДП надвишава ДДД за Сънсет жълто и Понсо 4R. Подобен резултат налага по-нататъшна оценка на дневния прием с по-прецизни методи (стъпка 2 и 3) (EU,2009).

Предишно изследване на реалното *per capita* дневно постъпление на

*** по отношение на ДДД, определена от JECFA**

синтетични оцветители у българския консуматор за периода 1986-90 г. показва, че то е в рамките на 8.2 mg/човек като за сметка на сладкарските изделия и безалкохолните напитки то е 8 mg и за сметка на млечните продукти – 0.2 mg (Вачкова и съавт.,1991). Разликата със стойностите на настоящото изчисление вероятно се дължи на два основни фактора: разлики в методичния подход; разлики в начина на хранене и евентуалното повишение на консумацията на хранителни продукти от включените в изчислението групи храни.

Литература

Вачкова Р., Г. Милев, Л.Василева, М. Ставрева. Оценка на реалното постъпление на хранителни добавки у българския консуматор, Проблеми на храненето, Том II, 1991, 3-15

Наредба № 8 от 16.04.2002 г. за изискванията към използване на добавки в храните

Наредба № 21 от 15.10.2002 г. за специфичните критерии и изисквания за чистота на добавките, предназначени за влагане в храни

Bartsch H. Metabolic activation of aromatic amines and azo dyes.

IARC Sci Publ. 1981; : 13-30

Bateman, B., Warner, J.O., Hutchinson, E., Dean, T., Rowlandson, P., Gant, C., Grundy, J., Fitzgerald, C., Stevenson, J., The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. *Archives of Disease in Childhood* 89,2004, 506-511

Beatriz A. Gloria M. Synthetic Colorants. In:Handboock of food sciences, technologies, and engineering, Vol.2, Ed. Y.H.Hui, , CRC Press, Taylor and Frances Group, 2006, 86-1-86-16

CEC Food Science and Techniques. Reports of the Scientific Committee on Foods on the sensitivity of individuals to food components and food additives, Thwelfth Series, 1982

Chafee F. H., and G. A. Settipane. Asthma caused by FC&C approved dyes. *J. Allergy* 40,1967, 65

Chung, K. T., and Cerniglia, C. E. (1992). Mutagenicity of azo dyes: Structure-activity relationships. *Mutat. Res.* 277, 201–22

Codex Alimentarius Commission.Guidlines for simple evaluation of food additive intake, CAC/GL 03-1989

Combes, R.D and R.V Haveland-Smith, A review of the genotoxicity of food, drug and cosmetic colours and other azo, triphenylmethane and xanthene dyes. *Mutat Res.* 1982, Mar; 98(2):101-248

Cook J.W.Azo-dyes and experimental liver tumors, Proceedings of the Nutrition Society,The Preservation, Colouring and Flavoring of Foods, University College, Dundee, April,1947

Deshpande, S.S. Handbook of Food Toxicology , *Idetek, Inc., Sunnyvale, California, U.S.A , 2002,920*

Douglass, J.S., Barraj L.M., Tennant D.R., Long W.R.). Evaluation of the budget method for screening 59 food additive intakes. *Food Additives and Contaminants*, 14, 1997, 791-802.

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) ; Scientific Opinion on the reevaluation

Tartrazine (E 102) on request from the European Commission. *EFSA Journal* 2009; 7(11):1331.

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) ; Scientific Opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive on request from the European Commission. *EFSA Journal* 2009; 7(11):1330.

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) ; Scientific Opinion on the re-evaluation of Azorubine/Carmoisine (E 122) as a food additive on request the European Commission. *EFSA Journal* 2009;7(11):1332

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food; Scientific Opinion on the reevaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food additive on request from the European Commission. Summary: *EFSA Journal* 2009; 7(11):1328

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) ; Scientific Opinion on the reevaluation

of Allura Red AC (E 129) as a food additive on request from the European Commission. *EFSA Journal* 2009;

7(11):1327

Janssen M.M. Food Additives, In: Food Safety and Toxicity, Ed.: Jhon de Vries, 1996, 53-63

Dipalma J.R. Tartrazine sensitivity. *Am Fam Physician*. 42,1990 (5),1347-50

Elhkim MO, Héraud F, Bemrah N, Gauchard F, Lorino T, Lambré C, Frémy JM, Poul JM New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France, *Regul Toxicol Pharmacol*. 47, 2007, 3,308-16

EU.REPORT FROM THE COMMISSION

on Dietary Food Additive Intake in the European Union, 2001

EU, European Chemical Bureau. Institute for Health and Consumer Protection, European Union Risk Assessment Report of Aniline, Volume 50, 2004

Feingold, B.F., Hyperkinesis and learning disabilities linked to artificial food flavours and colours. *Am. J. Nurs.* 75, 1975,797-803.

Ghorpade U.M., S.S. Deshpande and D.K. Salunke. Food Colors in: Food additive toxicology : Edited by J. A. Maga and A. T. Tu. Marcel Dekker, New York, 1994,179-235

Hannuksela M. and T. Haahtela. Hypersensitivity reactions to food additives *Allergy*, 42, 1987, 561-575

Hunger Klaus On the Toxicology and Metabolism of Azo Dyes
Chimia 48 (1994) 520-522

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol.8. Some Aromatic Azo Compounds, Summary and Data Reported and Evaluation

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer, 1975, Lyon, France

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. Supplement 7. IARC International Agency for Research on Cancer, 1987, Lyon, France.

Jackson W. Food Allergy, ILSI Europe, 2003, Brussels

Kinosita, A. Special Report, Studies on the Carcinogenic Chemical Substances, *Tr.Soc.path.jap.*,27,1937,665-727

Lockey, S. D. Allergic reactions due to FD&C Yellow No. 5, tartrazine: an aniline dye used as a coloring and identifying agent in various steroids. *Ann. Allergy* 17,1959,719

McCann, D., Barrett, A., Cooper, C., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., O'Warner, J., Stevenson, J., 2007. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *The Lancet*, Vol. 370,2007, Issue 9598, 1560-1567.

Nettis E, Colanardi MC, Ferrannini A, Tursi A. Suspected tartrazine-induced acute urticaria/angioedema is only rarely reproducible by oral rechallenge, *Clin Exp Allergy*. Dec;33, 2003, 12,1725-9

Miller, J. A. & Baumann, C. A. The Carcinogenicity of Certain Azo Dyes related to p-Dimethylaminoazobenzene. *Cancer Res.* 5, 1945, 227-234.

Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission relating to the evaluation of allergenic foods for labelling purposes, The EFSA Journal 32, 2004,1-197

Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission to Review the toxicology of a number of dyes illegally present in food in the EU, The EFSA Journal 2005, 263,1-71

Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on the red colour Red 2G (E128) based on a request from the Commission related to the re-evaluation of all permitted food additives, the EFSA Journal, 2007,515, 1-28

Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). Assessment of the results of the study by McCann *et al.* (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour, *The EFSA Journal* 660, 2008, 1-54

Regulation (EC), No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives

Schab, D.W., Trinh, N.T., Do artificial food colours promote hyperactivity in children with hyperactivity syndromes? A meta analysis of double-blind placebo-controlled trials. *J Dev Behav Pediatr* 25, 2004, 423-434

SCF. Reports of the Scientific Committee for Food. 13th Series, 1983

Supramaniam G, Warner JO. Artificial food additive intolerance in patients with an angio-oedema and urticaria, *Lancet*, Oct 18,1986,2,907-9

Virchow,Ch.^a, A. Szczeklik^b, S. Bianco^c, M. Schmitz-Schumann^a, E. Juhl^a, M. Robuschi^c, C. Damonte^c, G. Menz^a, M. Serwonska^b Intolerance to Tartrazine in Aspirin-Induced Asthma: Results of a Multicenter Study, *Respiration* 53,1988, 20-23

Wüthrich B. Adverse reactions to food additives. *Ann Allergy*. 71,1993 Oct; (4),379-384

WHO. World Health Organization. WHO Food Additives Series 15,1981

WHO. World Health Organization. WHO Food Additives Series, 16, 1982

WHO. World Health Organization. WHO Food Additives Series, 17. 1982

WHO. World Health Organization. WHO Food Additives Series, 18 1983

WHO Guidelines for the study of dietary intake of chemical contaminants, Geneva,1983

WHO. World Health Organization. Technical Report Series No.309,1964

WHO. World Health Organization. Technical Report Series No. 617,1978

WHO. World Health Organization. Technical Report Series No. 710,1984

WHO. World Health Organization. Technical Report Series No. 733,1986

Yoshida T. Experimentelle Beitrag zur Frage der Epithelmetaphasie, Virchow's Arch.f.path.Anat.,283, 1932,29-40