

## ASPECTS OF FOOD COLOR TESTING

**Alina Valeria IOZSA**

West University of Timisoara, Faculty of Chemistry, Biology, Geography, Department of Biology-Chemistry, Center for Environmental Biology and Biomonitoring, Pestalozzi 16, Timișoara

\*Corresponding author e-mail: [alina.iozsa02@e-uvt.ro](mailto:alina.iozsa02@e-uvt.ro)

Received 22 July 2023; accepted 29 December 2023

### **ABSTRACT**

*The components of the food coloring risk assessment process are hazard identification, hazard characterization, exposure assessment, and risk characterization. The results of bioassays on higher plants are still valuable, given that a chemical capable of inducing chromosome damage in plants may also pose a risk to other groups of living organisms because the damaged material is DNA.*

**KEYWORDS:** food dyes, *Allium* test

### **1. Coloranții alimentari**

### **2. Evaluarea pericolelor prezentate de aditivii din alimente**

### **3. Testul *Allium cepa* și testarea aditivilor alimentari**

În anul 1851, Liebig a fost unul dintre pionierii cercetării alimentelor, care a condus la înțelegerea actuală a compoziției chimice a acestora (Spencer, 1974). Un factor important care stă la baza acestei chestiuni legate de adăugarea de substanțe în alimente este faptul că populațiile din întreaga lume sunt în creștere rapidă. Este necesar să conservăm cât mai multă hrană și să salvăm ceea ce putem de atacurile dăunătorilor, bacteriilor, ciupercilor și de deteriorarea naturală. Organizația Mondială a Sănătății și Organizația pentru Alimentație și Agricultură au estimat că aproximativ 15% din populația lumii este grav subnutrită și că 35% suferă de malnutriție. Orice dezavantaj în utilizarea acestor conservanți este mai mult decât compensat de faptul că sunt puse la dispoziție mai multe alimente în zonele în care foametea și malnutriția sunt frecvente. Alte substanțe adăugate în alimente îmbunătățesc calitatea lor alimentară (Ilanovici și colab, 2008). Prin îmbunătățirea culorii, aromei și texturii alimentelor, se reduce proporția de alimente care altfel ar putea fi respinse. Prin urmare, alimentele devin mai acceptabile și mai apetisante prin utilizarea unor aditivi cum ar fi coloranții, aromele și alți agenți de îmbunătățire a texturii. Fabricarea unor produse alimentare precum înghețata și margarina, gama imensă de produse alimentare congelate, deshidratate și liofilizate, precum și varietatea tot mai mare de alimente și mâncăruri ușor de preparat și gata gătite, sunt toate posibile datorită utilizării aditivilor de diferite tipuri.

Tipurile de aditivi alimentari sunt (Spencer, 1974):

- A. Substanțe adăugate pentru a îmbunătăți calitatea alimentelor
  - 1) Substanțe colorante.
  - 2) Arome în produsele alimentare.
  - 3) Substanțe utilizate pentru a îmbunătăți textura.
  - 4) Agenți de albire și de maturare.
- B. Conservanți
  - 1) Substanțe antimicrobiene.
  - 2) Anti-oxidanți.
- C. Aditivi nutriționali

### 1. Coloranții alimentari

Coloranții alimentelor afectează recunoașterea și acceptarea produsului (avertizând consumatorii împotriva consumului de alimente stricate, care sunt periculoase pentru sănătate), deoarece sunt un fascicul de percepții senzoriale, cum ar fi vederea, mirosul și gustul (Lidon și colab., 2007). Totuși, degradarea pigmentilor naturali existenți poate prevala în timpul procesării alimentelor, care în majoritatea cazurilor necesită adăugarea de coloranți pentru a restabili sau a îmbunătăți culoarea. Astfel, un număr mare de produse alimentare încorporează culori pentru a obține un aspect plăcut sau o caracteristică de colorare. De exemplu, pentru a spori preferințele consumatorilor, coloranții alimentari sunt de obicei aplicați la înghețată comestibilă, deserturi, produse de patiserie și produse de panificație fine, decorațiuni și glazuri de patiserie, produse de cofetărie, sosuri, sucuri de fructe, gustări și băuturi răcoritoare și băuturi alcoolice (Lidon și colab., 2007; Lidon și colab., 2010; Regulamentul UE nr. 1129/2011).

În Uniunea Europeană, utilizarea coloranților alimentari — la fel ca și a altor aditivi alimentari — este reglementată de legi specifice, acestea fiind categoriile de produse alimentare raportate, cantitățile maxime utilizabile, caracterizarea chimică și puritatea (Regulamentul UE nr. 1129/2011; Regulamentul UE nr. 2015/1378). În consecință, coloranții pot fi utilizați numai dacă sunt integrați în trei categorii: având o doză zilnică acceptabilă definită (adică, determinată în prealabil și permisă pentru utilizare) sau li se permite să fie utilizate numai în cazuri speciale sau specifice. Pe lângă aceasta, fiecare aditiv alimentar are un cod în UE, care include litera E (pentru Europa), urmată de trei sau patru cifre. Schema de numerotare urmează cea a Sistemului Internațional de Numerotare (INS), așa cum este stabilit de Comitetul Codex Alimentarius (Silva și colab., 2022).

Coloranții alimentari pot fi sintetici, sintetizati în mod egal cu cei naturali sau derivați în mod natural. Deși majoritatea coloranților alimentari naturali

provin din plante, alții sunt obținuți din animale sau chiar din minereuri (Lidon și colab., 2010). Cei mai mulți dintre coloranții naturali au dezavantaje: reactivitatea față de celelalte ingrediente ale alimentelor sau în prezența mirosurilor, instabilitatea în apă sau la expunerea la lumină și căldură. Mai mult, spre deosebire de coloranții sintetici, consumul de coloranți alimentari naturali poate avea beneficii semnificative; sunt solicitați pentru fiabilitatea, funcționalitatea, potențialul biologic și beneficiile pentru sănătate. Culorile naturale sunt obținute din natură și pot fi izolate prin procese de extracție mai mult sau mai puțin complicate, în timp ce coloranții sintetici sunt sintetizați chimic. Cu toate acestea, uneori nu este ușor să fie clasificați în coloranți sintetici sau naturali, deoarece prelucrarea coloranților alimentari poate deveni foarte complicată, deși pot începe cu substanțe naturale (Silva și colab., 2022).

Coloranții alimentari sintetici nu se găsesc în natură datorită structurilor chimice, dar au avantajul de a predomina sub formă de pulberi, paste sau granule și sunt solubili în apă. Cu toate acestea, unii aditivi coloranți sintetici pot prezenta probleme de sănătate, și anume probleme alergene, care la copii pot provoca hiperactivitate și chiar patologii mutagene și/sau cancerigene așa cum se menționează în Regulamentul UE nr. 2020/77 (Lidon și colab., 2010; Chung, 2016). Prin urmare, unele studii privind siguranța alimentelor au condus la interzicerea unor aditivi alimentari sintetici, cum ar fi E 128 (Regulamentul UE nr. 1129/2011; Regulamentul UE nr. 231/2012; EFSA, 2007; EFSA, 2010). În mod similar, colorantul alimentar E160f nu mai este inclus în lista aditivilor Uniunii Europene (Regulamentul UE nr. 1129/2011; Regulamentul UE nr. 231/2012).

Pentru a depăși efectele secundare asupra sănătății ale coloranților sintetici, înlocuirea lor cu coloranți alimentari naturali este adesea o opțiune. De exemplu, utilizarea colorantului alimentar roșu coșenila (E120), care este preparat dintr-o insectă, a fost intensificată și utilizarea culorii roșii obținute din roșu sfeclă roșie (E162) și a colorantului alimentar verde al clorofilinei (E140) au fost de asemenea crescute. Cu toate acestea, coloranții naturali sunt, de asemenea, o țintă a studiilor de siguranță alimentară, unii aditivi fiind înlocuiți cu alții cu garanții de siguranță mai mari. De exemplu, recent trei aditivi extrași din annatto—(E160b(i), E160b(ii) și E160(iii))—au fost înlocuiți cu noii aditivi E160b(i), E160b(ii) (Regulamentul UE nr. 2020/771).

Producătorii alimentari utilizează din ce în ce mai des coloranții alimentari sintetici comparativ cu cei naturali, deoarece aceștia prezintă beneficii din punct de vedere economic: costul lor scăzut; rezistență la modificări ale pH-ului, la lumină și oxigen, stabilitate ridicată a culorii. Coloranții alimentari sintetici sunt produși prin modificarea mai multor compuși precursori

sau prin sinteza chimică completă. De asemenea, coloranții alimentari sintetici nu se degradează în timpul procesării alimentelor (Silva și colab., 2022).

## 2. Evaluarea pericolelor prezentate de aditivii din alimente

Măsura în care un aditiv alimentar poate prezenta un risc pentru sănătate depinde de toxicitatea acestuia și de expunerea alimentară. Comitetul științific pentru alimente (SCF) și Comitetul mixt FAO/OMS de experți pentru aditivi alimentari (JECFA) stabilesc valorile dozei zilnice acceptabile (DZA) pentru aditivii alimentari. Valorile DZA sunt calculate folosind un factor de siguranță care asigură că, dacă aditivul este consumat zilnic la acel nivel pentru tot restul vieții, nu ar exista „risc apreciabil pentru sănătate” (International Programme on Chemical Safety, 1987; Galli și colab., 2008). Aditivii alimentari trebuie să fie supuși unei proceduri riguroase de evaluare a riscurilor înainte de aprobarea și intrarea lor pe piață. JECFA evaluează siguranța aditivilor alimentari și a contaminanților din alimente (International Programme on Chemical Safety, 1987). Toți aditivii alimentari care sunt utilizați într-un produs alimentar sunt declarați pe ambalaj folosind numărul E dat de Uniunea Europeană (UE) (Haen, 2003) sau printr-un Sistem Internațional de Numerotare (INS-Nr.) care înseamnă aprobarea de către JECFA (WHO, 2009).

Țările membre pot solicita FAO/OMS sau Comitetului Codex pentru Aditivi Alimentari și Contaminanți (CCFAC) să inițieze procesul de evaluare a riscurilor care urmează să fie efectuată de JECFA (FAO/WHO, 2005). Procesul științific de evaluare a riscurilor nu numai că estimează riscul uman asociat cu consumul de aditivi alimentari, dar ajută și la obținerea și stabilirea valorilor DZA pentru aditivii alimentari (FAO, 1998).

Evaluarea riscurilor aditivilor alimentari este un proces pur științific care necesită ca nutriționistul și toxicologul să lucreze împreună (Larsen, 2006).

**Identificarea pericolelor.** În această etapă de identificare a pericolului se reflectă proprietățile intrinseci ale unui aditiv alimentar care pot afecta sănătatea (Huggett și colab., 1998). Acest lucru se realizează prin utilizarea „abordării ponderii probei”. Pentru aceasta, se efectuează revizuirea bazelor de date științifice corespunzătoare publicate pentru căutarea studiilor toxicologice umane și animale legate de aditivul alimentar în cauză. Studiile epidemiologice au preferință față de datele de cercetare bazate pe laborator (FAO/WHO, 1995).

**Caracterizarea pericolului.** În această etapă se evaluează siguranța aditivilor alimentari prin evaluarea datelor de toxicitate. Caracterizarea pericolului implică atât „extrapolarea doză-răspuns” cât și „scalarea dozei”. În extrapolarea doză-răspuns, nivelurile de toxicitate estimate pentru animale

trebuie extrapolate atât calitativ, cât și cantitativ, la doze mult mai mici pentru comparație cu nivelurile de expunere la om. În scalarea dozelor, JECFA utilizează mg/kg greutate corporală pentru scalarea „interspecie”, deoarece echivalența în doze toxice este dificil de stabilit (FAO/WHO, 1995). Riscul trebuie caracterizat folosind mai multe metode și utilizând abordări diferite. Modelarea matematică poate fi utilizată pentru a caracteriza relațiile doză-răspuns (Varzakas și colab., 2010).

**Evaluarea expunerii.** Estimarea consumului de aditivi alimentari nu este simplă și necesită asistența experților în domeniul nutriției. De obicei, înregistrarea dietei pe 24 de ore sau chestionarul de frecvență a alimentelor (FFQ) este instrumentul ales pentru estimarea consumului de alimente susceptibile de a conține aditivi. Alte metode directe și indirecte utilizate pentru colectarea datelor privind consumul de alimente sunt revizuite în altă parte. Concentrația aditivului în diferite alimente este estimată chimic pentru a calcula în cele din urmă expunerea alimentară la aditiv (Jain și Mathur, 2015).

**Caracterizarea riscului.** În această etapă, este evaluată probabilitatea de apariție a efectelor toxice adverse la oameni ca urmare a expunerii la un aditiv alimentar. Acest lucru se face de obicei prin compararea valorilor DZA ale aditivului cu nivelurile de expunere în rândul oamenilor (FAO/WHO, 1995). Riscul poate fi caracterizat folosind diferite scenarii de expunere. Scenariile 1 și 2 oferă cea mai bună estimare a populației în care expunerea este evaluată în rândul părții din populație care consumă numai alimente care conțin aditivul alimentar selectat, iar nivelul de aditiv adăugat este mediu. Scenariile 3 și 4 acoperă partea populației care consumă întotdeauna aceeași marcă (clienți fideli mărcii) și se presupune că sunt loiali mărcii cu cel mai ridicat nivel raportat de aditiv alimentar (Vitenskapskomiteen for Mattrygghet., 2013). Cel mai rău scenariu de aport este în cazul în care conținutul de aditiv din produsele alimentare permise este nivelul maxim admisibil specificat de autoritățile de reglementare și se presupune că toate alimentele consumate, produsele, în care adăugarea de aditiv este permisă, conțin acel aditiv (Jain și Mathur, 2015).

Indicele de pericol (HI) a fost, de asemenea, utilizat pentru caracterizarea riscului și se calculează prin doza zilnică medie (DZM) pentru un aditiv din alimentație exprimată ca procent din DZA. Dacă HI este mai mic de 100%, atunci expunerea la aditivul respectiv nu prezintă niciun pericol (Hsieh și colab., 2012).

Doze mari (>1500 mg/kg greutate corporală/zi) de îndulcitor artificial cum ar fi zaharina au demonstrat efecte toxice cum ar fi umflarea glomerulilor renali, deprimarea creșterii și carcinomul la șobolani (FAO/WHO, 1993). Studiile de toxicitate acută, subacută și cronică efectuate pentru aspartam nu

au arătat efecte adverse (Magnuson și colab., 2007). Cu toate acestea, un studiu a raportat că aportul la jumătate din DZA pentru aspartam poate duce la efecte neurocomportamentale, cum ar fi starea de spirit iritabilă, depresia, performanța mai scăzută în rândul adulților umani (Lindseth și colab., 2014). Datele emergente pentru sucraloză bazate pe studii la oameni și la rozătoare au arătat că aportul ridicat de sucraloză modifică nivelul de glucoză, insulină și peptidă-1 asemănătoare glucagonului. S-a constatat ca fiind mutagenă în unele studii (Schiffman și Rother, 2013).

Doar trei studii privind îndulcitorii artificiali au putut fi identificate. Îndulcitorii artificiali studiați au fost acesulfamul, asparmul, acidul ciclamic, zaharina și sucraloza din băuturi. Expunerea la îndulcitori selectați (Vitenskapskomiteen for Mattrygghet., 2013) a fost evaluată utilizând toate cele patru scenarii de evaluare a expunerii. În două studii, au fost studiați indivizi din toate grupele de vârstă (Vitenskapskomiteen for Mattrygghet, 2013; Husoy și colab., 2008), iar în al treilea studiu a fost studiată expunerea alimentară a copiilor de școală (Centre for Food Safety, 2003). Au fost utilizate analize chimice cu cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC) (Centre for Food Safety, 2003), sau au fost utilizate niveluri de utilizare furnizate de producători (Husoy și colab., 2008) pentru estimarea conținutului de îndulcitori din alimente. Datele privind consumul de alimente au fost colectate folosind un FFQ semicantitativ. În studii, conținutul de îndulcitori din produse alimentare a fost sub MPL. Indicele de pericol atât pentru consumatorii medii, cât și pentru cei mari a fost mai mic de 100% pentru toate grupele de vârstă. Prin urmare, riscul a fost considerat a fi mic, dar mai multe astfel de studii pentru subgrupuri susceptibile, cum ar fi diabeticii, trebuie efectuate acolo unde expunerea alimentară este probabil mai mare (Jain și Mathur, 2015).

În majoritatea studiilor, culorile artificiale studiate au fost carmoisine, eritrozină, indigo carmin, ponceau 4R, galben apus de soare FCF și tartrazină. Alte culori studiate au fost albastru strălucitor FCF, verde rapid FCF, roșu allura, azorubină, negru strălucitor, maro HT, verde S, galben chinolină, annatto, amarant și riboflavină. Prezența unor culori nepermise, cum ar fi auramină, rodamină, portocaliu II, albastru VRS și verde malachit în alimente a fost detectată în țările în curs de dezvoltare, cum ar fi India, unde a fost documentată utilizarea acestor culori ca adulteranți (Mathur și colab., 2014; Dixit și colab., 2013; Tripathi și colab., 2010). În toate studiile, s-a constatat că nivelurile de culori din produse alimentare fabricate de sectorul neorganizat depășesc MPL-urile lor (Jain și Mathur, 2015).

Doze mari (40 mg/kg greutate corporală/zi) de eritrozină administrată la șobolani au demonstrat efecte toxice, cum ar fi adenoamele celulelor foliculare tiroidiene (FAO/WHO, 1991). Dozele între 1500 – 2250 mg/kg greutate

corporală/zi de galben apus de soare FCF atunci când sunt administrate la șobolani au demonstrat efecte toxice precum reducerea greutateii corporale și diaree (FAO/WHO, 1995), iar Ponceau 4R (500 – 1000 mg/kg greutate corporală/zi) a demonstrat efecte toxice precum ciroza hepatică și probleme renale la șobolani (FAO/WHO, 2011). Deși este puțin probabil ca oamenii să fie expuși la valori atât de ridicate ale dozelor utilizate în studiile pe animale, depășirea DZA nu este un scenariu improbabil în acest caz.

De obicei, în majoritatea studiilor, riscul datorat expunerii la aditivi a fost evaluat folosind scenariul 1, care este cea mai bună estimare a consumului real de culoare de către populația țintă. Un singur studiu (FSANZ, 2008) a evaluat riscul utilizând scenariile 1 și 3. Expunerea a fost studiată la indivizi de toate grupele de vârstă. În unele studii, expunerea la culori a fost studiată doar pentru copii, probabil pentru că alimentele susceptibile de a fi colorate sunt consumate mai ales de copii. De asemenea, copiii sunt expuși un risc mai mare de a depăși DZA din cauza greutateii corporale mai mici. Analiza chimică a fost făcută pentru a analiza conținutul de culoare în majoritatea studiilor, cu excepția unuia (Benjapong și colab., 2010) unde s-au folosit niveluri maxime admisibile pentru coloranți (evaluarea scenariului cel mai rău caz) în produsele alimentare. Într-un studiu (Elhkim și colab., 2007) a fost folosit și un jurnal alimentar de 7 zile.

În unele studii indiene (Dixit și colab., 2013; Tripathi și colab., 2010), variația sezonieră a fost luată în considerare și prin efectuarea studiului de două ori într-un an. Acest lucru a fost făcut deoarece consumul de produse alimentare colorate, cum ar fi băuturile și înghețata, tinde să fie mai mare în lunile de vară. În studii au fost raportate adulterare cu culori nepermise, cum ar fi Rhodamine și Orange II (Dixit și colab., 2013; Tripathi și colab., 2010). Copiii păreau să aibă un risc mai mare de a fi un consumator extrem, iar galben apus de soare FCF, tartrazina și eritrozina erau culorile pentru care HI depășea 100% la consumatorii mari. Principalii contributory la consumul de coloranți artificiali au fost deserturile și băuturile. În studiile efectuate în Thailanda, s-au dovedit că biluțele de pește contribuie major la aportul de culoare (Jain și Mathur, 2015).

În ceea ce privește conservanții sintetici, doze mari (280 mg/kg greutate corporală/zi) de sulfite la șobolani au prezentat mai multe efecte toxice, cum ar fi iritarea mucoasei stomacale și intestinale, reflexe de vărsături și hemoragii, în timp ce la om (în doze de 1-50 mg/zi), au fost observate reacții adverse precum urticarie, angioedem și agravarea simptomelor astmatice (FAO/WHO, 1999). Dozele mari (75 mg) de benzoați administrate participanților umani la un studiu au arătat efecte toxice precum urticarie și angioedem (Nettis și colab., 2004). Reacții anafilactice au fost observate la oameni atunci când li s-

a administrat o doză orală de 25 mg azotat de sodiu (Hawkins și Katelaris, 2000).

Conservanții chimici pentru care studiile de evaluare a riscurilor au fost raportate în literatură sunt: acid benzoic, sulfat, acid sorbic, nitrați și nitriți. În anumite studii, expunerea la conservant a fost studiată pentru un produs alimentar specific, adică băuturi (Husoy și colab., 2008), sosuri (Dixit și colab., 2008), pasta de curry roșu (Wongsaprom și colab., 2009) și produse din carne (Sripanaratanakul și colab., 2009) presupunând că expunerea la aditiv a fost în mare parte de la un singur produs alimentar. În majoritatea studiilor, riscul a fost evaluat utilizând scenariul 1 de expunere. În studiul norvegian (Vitenskapskomiteen for Mattrygghet., 2013) expunerea la conservantul selectat a fost evaluată utilizând toate cele patru scenarii de evaluare a expunerii.

În două situații (Hsieh și colab., 2013; Thomson și colab., 2007), a fost efectuat un studiu de dietă totală în care a fost studiat consumul tuturor produselor alimentare. Expunerea a fost evaluată pentru toți indivizii cu vârsta peste 1 an în aproape toate studiile. Doar într-un singur studiu (Husoy T. și colab., 2008) nivelurile de utilizare furnizate de industrie au fost utilizate pentru definirea nivelurilor de conservanți din alimente.

Studiile au arătat că aporturile medii de conservanți studiate au fost mai mici decât DJA pentru toate grupele de vârstă, probabil pentru că a fost evaluat doar un contributor major la aportul de conservanți. HI sa apropiat de 100% pentru benzoat, nitrat/nitrit în cazul copiilor (Husoy T. și colab., 2008; Sripanaratanakul și colab., 2009; Thomson și colab., 2007) și a depășit 100% pentru copii în unele studii (Husoy și colab., 2008; Zhang și colab., 2014; Sripanaratanakul și colab., 2009). Motivul pentru care aportul depășește DZA a fost utilizarea de conservanți la niveluri peste maximumul admis în produsele alimentare, ceea ce este din nou o problemă a producției nereglementate la scară mică în țările în curs de dezvoltare.

### **3. Testul *Allium cepa* și testarea aditivilor alimentari**

Testul *A. cepa* a fost considerat de mulți autori ca fiind un test cu costuri reduse și ușor de manevrat, care prezintă unele avantaje față de alte teste pe termen scurt (Rank, 2003; Rank și Nielsen, 1994; Fatima și Ahmad, 2006). Potrivit lui Rank și Nielsen (1993) unul dintre avantajele testului *A. cepa* este posibilitatea de a expune organismul de testare direct la amestecuri complexe fără tratarea prealabilă a probei de testare. De exemplu, procesele de extracție și concentrare a probelor necesare pentru efectuarea unor bioteste precum testul *Ames*. Un alt avantaj al acestui sistem de testare este prezența unui sistem enzimatic de oxidază, care este esențial pentru evaluările



promutagenice (Fiskesjö, 1988). Astfel, în timp ce alte teste, de exemplu testul Ames, necesită adăugarea amestecului S9 (fracția S9 din ficatul de șobolan), *A. cepa* prezintă capacitatea metabolică de activare a promutagenilor în mutageni fără adăugarea unui sistem metabolic exogen pentru a evalua această clasă de contaminanți (Fatima și Ahmad, 2006). Cu toate acestea, atunci când sistemul enzimatic de oxidază al plantelor superioare este comparat cu enzimele citocromului P-450 al mamiferelor, complexul enzimatic al plantelor prezintă o concentrație scăzută și o limitare în ceea ce privește specificarea substratului (Rank și Nielsen, 1997).

Testul *Allium* permite evaluarea după diferite criterii de evaluare (Ciobanu, 2019; Datcu și colab., 2020; Gheorghe și colab., 2021; Corbu și colab., 2023; Ianovici și Dîrnu, 2023). În continuare, sunt prezentate categoriile genetice care sunt susceptibile de a fi analizate de acest sistem de testare (Leme și Marin-Morales, 2009).

**Indicele mitotic (MI)**, caracterizat prin numărul total de celule care se divid în ciclul celular, a fost utilizat ca parametru pentru a evalua citotoxicitatea mai multor agenți. Nivelurile de citotoxicitate ale unui agent pot fi determinate de creșterea sau scăderea IM (Fernandes și colab., 2007). Potrivit lui Hoshina (2002), IM semnificativ mai mici decât cele ale martorului negativ pot indica alterări, provenite din acțiunea chimică, în creșterea și dezvoltarea organismelor expuse. Pe de altă parte, IM mai mari decât controlul negativ sunt rezultatele unei creșteri a diviziunii celulare, care poate fi dăunătoare pentru celule, ducând la o proliferare celulară dezordonată și chiar la formarea de țesuturi tumorale.

Cu toate acestea, atât reducerea, cât și creșterea MI sunt indicatori importanți în monitorizarea poluării mediului, în special pentru evaluarea contaminanților care prezintă potențial toxic și citotoxic (Hoshina, 2002). Smaka-Kincl și colab. (1996) au arătat că scăderea IM a celulelor meristemice de *A. cepa* poate fi considerată o metodă fiabilă pentru a determina prezența agenților citotoxici în mediu și, astfel, poate fi considerată un test sensibil pentru a estima nivelurile de poluare. Prin urmare, mai multe studii au utilizat evaluarea MI pentru a detecta citotoxicitatea și majoritatea dintre ele au arătat rezultate satisfăcătoare pentru analizele propuse (Leme și Marin-Morales, 2008; Fernandes și colab., 2007; Smaka-Kincl și colab., 1996; Seth și colab., 2008).

**Aberațiile cromozomiale (CA)** se caracterizează prin modificări fie ale structurii cromozomiale, fie ale numărului total de cromozomi, care pot apărea atât în mod spontan, cât și ca urmare a expunerii la agenți fizici sau chimici (Russel, 2002). Modificările cromozomiale structurale pot fi induse de mai mulți factori, cum ar fi rupturile ADN, inhibarea sintezei ADN și replicarea ADN

alterat. CA numerice, de exemplu aneuploidia și poliploidia, sunt consecințe ale segregării anormale a cromozomilor, care pot apărea fie spontan, fie prin acțiunea agenților mutageni (Albertini și colab., 2000). Pentru a evalua anomaliile cromozomiale prin testul *A. cepa*, se iau în considerare mai multe tipuri de CA în diferitele faze ale diviziunii celulare (profază, metafază, anafază și telofaza). Cu toate acestea, această analiză nu este simplă de realizat, deoarece necesită o cunoaștere exactă a fazelor de diviziune celulară și a posibilelor anomalii ale acestora. Din cauza acestei probleme, Rank și Nielsen (1993) au adaptat testul *A. cepa* pentru a facilita analiza CA pentru cercetătorii care nu lucrează în domeniul citologiei. Astfel, acești autori au propus analiza anomaliilor doar în anafază și telofaza. Ulterior, în 2003, Rank (2003) a publicat un alt studiu care descrie testul *Allium*, de asemenea, bazat pe analiza CA în anafaze și telofaze.

Cu toate acestea, analiza diferitelor tipuri de AC, în toate fazele ciclului celular, propusă inițial de Fiskesjö (1988), permite o evaluare mai cuprinzătoare și mai precisă, deoarece favorizează o mai bună investigare a acțiunilor agenților testați, în ceea ce privește efectele lor clastogene și/sau aneugene asupra ADN-ului organismului testat și chiar posibila lor dezvoltare (Leme și colab., 2008; Fernandes și colab., 2007). Într-un mod simplu, CA, cum ar fi punțile și rupturile cromozomiale, sunt indicatori ai unei acțiuni clastogene, în timp ce pierderile de cromozomi, întârzierile, aderența, multipolaritatea și metafazele C, rezultă din efectele aneugene.

Unii autori au inclus recent un alt parametru în analiza CA în celulele meristematice de *A. cepa*. Un astfel de endpoint se referă la anomalii nucleare (AN). AN se caracterizează prin alterări morfologice în nucleele interfazice, ca urmare a acțiunii agentului testat. În general, aceste modificări sunt observate la *A. cepa* testată ca nucleii lobulați, nucleii purtători de muguri nucleari, celule polinucleare, celule mini, printre altele (Leme și colab., 2008; Fernandes și colab., 2007; Migid și colab., 2007; Caritá și Marin-Morales, 2008).

Evaluarea NA, împreună cu CA, s-a dovedit a fi o analiză sensibilă, pentru a face și mai precisă investigarea acțiunilor agenților de testare în ceea ce privește efectele acestora asupra ADN-ului organismelor expuse. Potrivit lui Leme și colab. (2008), prezența nucleelor lobulate și a celulelor polinucleare poate indica un proces de moarte celulară, deoarece aceste anomalii nu sunt observate în celulele F1 ale rădăcinilor de *A. cepa*. Într-un studiu de evaluare a acțiunii erbicidului trifluralin prin testul *A. cepa*, Fernandes și colab. (2007) au arătat că mugurii nucleari pot apărea ca urmare a eliminării materialului genetic excedentar derivat din procesul de poliploidizare.

**Micronucleul (MN)** a fost considerat de mulți autori ca fiind cel mai eficient și mai simplu punct final pentru a analiza efectul mutagen promovat de

substanțele chimice. Acest lucru se datorează faptului că MN rezultă din leziuni, nereparate sau reparate greșit, în celulele parentale (Ribeiro, 2003), fiind ușor de observat în celulele fiice ca o structură similară nucleului principal, dar de dimensiuni reduse. Astfel, MN apar în urma dezvoltării unor AC, de exemplu, rupturi și pierderi de cromozomi. Mai mult, MN mai pot proveni și din alte procese precum poliploidizarea, care își au originea în eliminarea ADN-ului excidentar al nucleului principal, în încercarea de a restabili condițiile normale de ploidie (Fernandes și colab., 2007).

Evaluarea MN în testul *Allium* poate fi realizată atât în celulele meristemice, cât și în celulele rădăcinilor F1 ale acestei specii. Analiza MN în celulele meristemice se efectuează în general cu cea de CA, care necesită mai mult timp pentru a fi efectuată. Cu toate acestea, ambele analize s-au dovedit a fi sensibile pentru a detecta mutageni de mediu (Leme și Marin-Morales, 2008). Pe lângă evaluarea efectelor mutagene, analiza MN permite, de asemenea, o investigație a mecanismelor de acțiune ale agenților chimici. Potrivit lui Leme și colab. (2008), dimensiunea MN poate fi un parametru eficient pentru a evalua efectele clastogene și aneugene la *A. cepa*, deoarece această specie prezintă un cariotip simetric, omogen în raport cu dimensiunea cromozomială, cu cromozomi mari și puțini ( $2n = 16$ ). Prin urmare, un MN mare ar indica un efect aneugenic care rezultă dintr-o pierdere de cromozomi, în timp ce un MN mic ar putea indica o acțiune clastogenă care rezultă din ruperea cromozomilor. Cu toate acestea, ar trebui să se aplice alte tehnici citogenetice, cum ar fi bandingul cromozomial și hibridizarea in situ (FISH), pentru a face analiza mai fiabilă și mai precisă.

Scopul unei cercetări realizate în 2019 a fost să examineze influențele exercitate de îndulcitori artificiali precum aspartamul și sucraloza asupra creșterii în greutate și frecvența anomaliilor mitotice în celulele meristeme apicale din rădăcinile de *Allium cepa*. De asemenea, s-a evaluat un efect de sinergie cauzat de expunerea combinată la ambele substanțe chimice. S-a detectat că aspartamul a provocat o scădere semnificativă a greutății vii a rădăcinii față de control, în timp ce nu au existat efecte toxice cauzate de sucraloză. Toxicitatea maximă a fost detectată atunci când un sistem de testare a fost expus la ambii îndulcitori artificiali împreună și s-a considerat că rezultă din efectul de sinergie menționat mai sus. Frecvența aberațiilor cromozomiale din probele de testat a diferit nesemnificativ de cea de control, dar s-a detectat, de asemenea, modificări autentice în spectrul anomaliilor cromozomiale în celulele meristemice radiculare. Tulburări în disjuncția cromozomală au fost cele mai frecvent înregistrate (Samoilov și colab, 2019).

## REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- Abbey J. 2013. Colorants. Encyclopedia of Food Safety: Hazards and Diseases; Motarjemi Y., Moy G., Todd E.D.C., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA; Volume 2, pp. 459–465. ISBN 9780123786135.
- Ai-Mashhedy L.A.M., Fijer A.N. 2016. Acute toxicity of food additives tartazine and carmosine on white male mice. *Int. J. PharmTech Res.* 9, 364–367.
- Albertini R.J., Anderson D., Douglas G.R., Hagmar L., Hemmink K., Merlo F., Natarajan A.T., Norppa H., Shuker D.E., Tice R., Water M.D., Aitio A. 2000. IPCS guideline for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans, International Programme on Chemical Safety, *Mutat. Res.* 463, 111–172.
- Benjapong W., Srianujata S., Nitithamyong A., Karnpanit W., Visetchat P., Wonglek J., Peeratikorncharoenkul R. 2010. Risk assessment of synthetic food colour exposure in Thai population. *Toxicology Letters*; 196S: S37–S351.
- Caritá R., Marin-Morales M.A. 2008. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes, *Chemosphere* 72,722–725
- Chung K.T. 2016. Azo dyes and human health: A review. *J. Environ. Sci. Health Part C*, 34, 233–261.
- Ciobanu D.G. 2019. A review about phytotoxicity with a focus on the *Allium* test. *BIOSTUDENT*, vol. 2 (2), pp. 65-74
- Corbu VM, Dumbravă AȘ, Marinescu L, Motelica L, Chircov C, Surdu AV, Gheorghe-Barbu I, Pecete I, Balotescu I, Popa M, Marinas IC, Ianovici N, Ciobanu D-G, Dițu LM, Ficăi D, Oprea OC, Ficăi A, Eugenia Șesan T, Chifiriuc MC. 2023. Alternative mitigating solutions based on inorganic nanoparticles for the preservation of cultural heritage. *Front. Mater.* 10:1272869.doi: 10.3389/fmats.2023.1272869
- Datcu A.-D., Ciobanu D.-G., Boros B.-V., Ostafe V., Ianovici N. 2020. A new approach for phytotoxicity testing using *Allium cepa* bulbs, *Romanian Biotechnological Letters*. 25(2): 1488-1494
- Dixit S., Khanna S.K., Das M. 2013. All India Survey for Analyses of Colours in Sweets and Savouries: Exposure Risk in Indian Population. *Journal of Food Science*; 78(4): T642-647.
- Dixit S., Mishra K.K., Khanna S.K., Das M. 2008. Benzoate and synthetic colour risk assessment of fast food sauces served at street food joints of Lucknow, India. *American Journal of Food Technology*; 3(3): 183-191.
- EFSA 2007 . Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on the food colour Red 2G (E128) based on a request from the Commission related to the re-evaluation of all permitted food additives. *EFSA Journal*, 5(7), 515. doi:10.2903/j.efsa.2007.515
- EFSA 2009. Scientific Opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive. *EFSA Journal*, 7(11), 1330. doi:10.2903/j.efsa.2009.1330.
- EFSA 2009. Scientific Opinion on the re-evaluation Tartrazine (E 102). *EFSA Journal*, 7(11), 1331. doi:10.2903/j.efsa.2009.1331
- EFSA 2010. Scientific Opinion on the re-evaluation of Brown FK (E 154) as a food additive. *EFSA Journal*, 8(4), 1535. doi:10.2903/j.efsa.2010.1535 .
- EFSA 2014. Reconsideration of the temporary ADI and refined exposure assessment for Sunset Yellow FCF (E 110). *EFSA Journal*, 12(7), 3765. doi:10.2903/j.efsa.2014.3765 .
- EFSA 2014. Scientific Opinion on the re-evaluation of Indigo Carmine (E 132) as a food additive. *EFSA Journal*, 12(7), 3768. doi:10.2903/j.efsa.2014.3768.
- EFSA 2016 Scientific Opinion on the re-evaluation of gold (E 175) as a food additive. *EFSA Journal*, 14(1), 4362. doi:10.2903/j.efsa.2016.4362
- Elhkim M.O., Heraud F., Bemrah N., Gauchard F., Lorino T., Lambre C., Fremy J.M., Poul J.M. 2007. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine. An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*; 47: 308–316.
- FAO 2008. Sunset Yellow FCF. FAO JECFA Monographs 5 (2008), Superseding Specifications Prepared at the 28th JECFA (1984), Published in Combined Compendium of Food Additive Specifications, FAO JECFA Monographs 1 (2005) 2008. Available online: <http://www.fao.org> (accesat in data 26.05.2023).

- FAO 2016. Quinoline Yellow. Compendium of food additive specifications. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 82nd meeting 2016. FAO JECFA Monographs 19. FAO/WHO 2016. Valabil online: <http://www.fao.org> (accesat în data 26.05.2023).
- FAO 2016. Tartrazine. Compendium of Food Additive Specifications. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 82nd Meeting 2016. FAO JECFA Monographs 19. FAO/WHO 2016. Valabil online : <http://www.fao.org> (accesat în data 26.05.2023).
- FAO 2017. Brilliant Blue FCF. Compendium of Food Additive Specifications. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 84th Meeting 2017. FAO JECFA Monographs 20. FAO/WHO 2017. Valabil online: <http://www.fao.org> (accesat în data 26.05.2023).
- FAO/WHO 1995. Application of risk analysis to food standard issues. Report of the Joint FAO/WHO Expert consultation. WHO/FNU/ FOS/95.3. Geneva, Switzerland.
- FAO/WHO 2005. Codex Alimentarius Commission. 2005. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Procedural Manual. 15th edition. WHO. FAO. Rome. ISBN 92-5-105420-7.
- Fatima R.A., Ahmad M. 2006. Genotoxicity of industrial wastewaters obtained from two different pollution sources in northern India: a comparison of three bioassays, *Mutat. Res.* 609, 81–91.
- Fernandes T.C.C., Mazzeo D.E.C., Marin-Morales M.A. 2007. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide, *Pest. Biochem. Physiol.* 88, 252–259.
- Fiskesjö G. 1988. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas* 102, 99–112.
- Food and Agricultural Organization (FAO) 1998. United Nations (UN). Food quality and point (HACCP) system. Food quality and standards service food and nutrition division. Publishing Management Group, FAO Information Division.
- Galli C.L, Marinovich M, Lotti M. 2008. Is the acceptable daily intake as presently used as an axiom or a dogma. *Toxicology Letters*; 180: 93-99.
- Gheorghe I, Avram I, Corbu VM, Măruțescu L, Popa M, Balotescu I, Blăjan I, Mateescu V, Zaharia D, Dumbravă AS, Zetu OE, Pecete I, Cristea VC, Batalu D, Grigorescu MA, Burdusel M, Aldica GV, Badica P, Datcu AD, Ianovici N, Bleotu C, Lazar V, Dițu LM, Chifiriuc MC. 2021. In vitro evaluation of MgB2 powders as novel tools to fight fungal biodeterioration of heritage buildings and objects. *Frontiers in Materials*. <https://doi.org/10.3389/fmats.2020.601059>
- Haen D. 2003. The paradox of E-numbers: ethical, aesthetic and cultural concerns in the Dutch discourse on food additives. *Journal of Agriculture Environmental Ethics*; 45: 324- 340.
- Hashem M.M., Atta A.H., Arbid M.S., Nada S.A., Asaad G.F. 2010 Immunological studies on amaranth, sunset yellow and curcumin as food colouring agents in albino rats. *Food Chem. Toxicol.* 48, 1581–1586.
- Hawkins C.A., Katelaris C.H. 2000. Nitrate anaphylaxis. *Annals Allergy Asthma Immunology*; 85: 74-76.
- Hoshina M.M. 2002. Avaliação da possível contaminação das águas do Ribeirão Claro - município de Rio Claro, pertencente à bacia do rio Corumbataí, por meio de testes de mutagenicidade em *Allium cepa*, Trabalho de conclusão (Bacharel e Licenciatura - Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP, 52 p.
- Hsieh D.P.H, Huang H.Y, Ling M.P, Chen Y.S, Huang L.L, Wu C.H, Ni S.P, Hung H.C, Chiang C.F. 2012. Total dietary studies and food safety assessment in Taiwan-food preservative as an illustration. *Journal of Food and Drug Analysis*; 20(4): 744-763.
- Huggett A., Petersen B.J., Walker R., Fisher C.E., Noterman S.H.W., Rombouts F.M., Abbott P., Debackere M., Hathaways S.C., Paakkanen J., Smith M.R., Tennant D., Wagstaffe P., Wargo J., Wurtzen G. 1998. Towards internationally acceptable standards for food additives and contaminants based on the use of risk analysis. *Environmental Toxicology and Pharmacology*; 5: 227-236.
- Husoy T., Mangschou B., Fotland T.O., Kolset S.O., Notvik H.J., Tommerberg I., Bergsten C., Alexander J., Frost L.A. 2008. Reducing added sugar intake in Norway by replacing sugar sweetened beverages with beverages containing intense sweeteners – A risk benefit assessment. *Food and Chemical Toxicology*; 46: 3099–3105.
- Ianovici N., Dîrnu D. 2023. Aspects of food additives and health. *BIOSTUDENT*, 2023, 6 (1), pp. 71-86
- Ianovici N., Ionuți A., Zbîrcea S., Crașovan G. 2008. Preliminary contribution to the characterization of commercial unifloral honey samples by melissopalynology analysis, *Annals of West University of Timișoara, ser. Biology*, 11:85-94

- Inetianbor J.E., Ykubu J.M., Ezeonu S.C. 2015. Effects of food additives and preservatives on man—A review. *Asian J. Sci. Tech.*, 6, 1118–1135.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS) 1987. Principles for safety assessment of food additives and contaminants in food. *Environmental Health Criteria*. No. 70. WHO, Geneva.
- Jain A., Mathur P. 2015. Evaluating Hazards Posed by Additives in Food- A Review of Studies Adopting A Risk Assessment Approach. *Curr Res Nutr Food Sci* ;3(3). doi : <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.3.3.08>
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 1991. Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirty-seventh Report of The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Technical Report Series 806. WHO, Geneva.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 1993. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-first Report of The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Technical Report Series 837. WHO, Geneva.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 1999. Safety evaluation of certain food additives. Fifty-first Report of The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Report Series 42. WHO, Geneva.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 2011. Evaluation of certain food additives and contaminants. Seventyfourth Report of The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Technical Report Series 966. WHO, Geneva.
- Larsen J.C. 2006 Risk assessment of chemicals in European traditional foods. *Trends in Food Science & Technology*; 17: 471–481.
- Leme D. M., Marin-Morales M. A. 2009. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 682(1), 71–81. doi:10.1016/j.mrrev.2009.06.002.
- Leme D.M., Angelis D.F., Marin-Morales M.A. 2008. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of Allium cepa root cells, *Aquat. Toxicol.* 88 , 214–219.
- Leme D.M., Marin-Morales M.A. 2008. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in Allium cepa cells exposed to petroleum polluted water—a case study, *Mutat. Res.* 650, 80–86.
- Lidon F.C., Silvestre M.M.A.S. 2007. *Industrias Alimentares—Aditivos e Tecnologias*; Escolar Editora: Lisboa, Portugal; ISBN 9789725922033.
- Lidon F.C., Silvestre M.M.A.S. 2010. *Princípios de Alimentação e Nutrição Humana*; Escolar Editora: Lisboa, Portugal; ISBN 9789725922705.
- Lindseth G.N., Coolahan S.E., Petros T.V., Linseth P.D. 2014. Neurobehavioral effects of aspartame consumption. *Research Nurse Health*; 37: 185-193.
- Lucová M., Hojerová J., Pažoureková S., Klimová Z 2014. Absorption of triphenylmethane dyes Brilliant Blue and Patent Blue through intact skin, shaven skin and lingual mucosa from daily life products. *Food Chem. Toxicol.* 52, 19–27.
- Magnuson B.A., Burdock G.A., Doull J., Kroes R.M., Marsha M., Farzia M.W., Spencer P.S., Waddell W.J., Walker R., Williams G.M. 2007. Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, toxicological and epidemiological studies. *Critical Reviews in Toxicology*; 37(8): 629-727.
- Mathur N.R.A., Chaudhary V., Meththa M, Krishnatrey R. 2005. Effect of Sunset Yellow on testies in rats. *Ecophysiol. Occup. Health*, 5, 1–3.
- Mathur N.R.A., Chaudhary V., Meththa M., Gupta S. 2005. Sunset Yellow induce changes in the lipid profile in male albino rat. *Biochem. Cell. Arch.*, 5, 197–200.
- Mathur P., Sharma S., Bhat R.V. 2014. Estimating the intake of food colours-a risk assessment approach. In: Chanana, B.; Kalra, MB. *New Technologies and Methodologies for Sustainable Development*. Global Book Organization Pvt. Ltd. p 39-50.
- McCann D.; Barrett A., Cooper A., Crumpler D., Dalen L., Grimshaw K., Kitchin E., Lok K., Porteous L., Prince E., et al. 2007. Food additives and hyperactive behavior in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 370, 1560–1567.
- Migid A.H.M., Azab Y.A., Ibrahim W.M. 2007. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66, 57–64

- Moutinho I.L.D., Bertges L.C., Assis R.V.C. 2007. Prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C yellow no. 5) and its effects on the gastric mucosa of wistar rats. *Braz. J. Biol.* 67, 141–145.
- Nettis E., Colonardi M.C., Ferranini A., Tursi A. 2004. Sodium benzoate induced repeated episodes of acute urticaria / angioedema: randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology*; 151: 898-902.
- Rajan J., Simon R., Bosso J. 2014. Prevalence of sensitivity to food and drug additives in patients with chronic idiopathic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2, 168–171.
- Rank J. 2003. The method of Allium anaphase-telophase chromosome aberration assay, *Ekologija*, 38–42.
- Rank J., Nielsen M.H. 1993. A modified Allium test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures, *Hereditas* 18, 49–53.
- Rank J., Nielsen M.H. 1994. Evaluation of the Allium anaphase–telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater, *Mutat. Res.* 312, 17–24.
- Rank J., Nielsen M.H. 1997. Allium cepa anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate, *Mutat. Res.* 390, 121–127.
- Regulamentul (UE) nr. 1129/2011 al Comisiei. de modificare a anexei II la Regulamentul (CE) nr. 1333/2008 al Parlamentului European și al Consiliului prin stabilirea unei liste a Uniunii Europene a aditivilor alimentari. Valabil online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/ALL/?uri=CELEX%3A32011R1129>, L295, 1-177 (accesat în data 11.05.2023).
- Regulamentul (UE) nr. 2015/1378 al Comisiei din 11 august 2015 de modificare a anexei II la Regulamentul (CE) nr. 1333/2008 al Parlamentului European și al Consiliului în ceea ce privește utilizarea riboflavinelor (E 101) și a carotenelor (E 160a) în granulele și fulgii de cartofi uscați. Valabil online : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/TXT/?uri=CELEX%3A32015R1378>, L213, 1-3 (accesat în data 25.05.2023).
- Regulamentul (UE) nr. 2020/771 al Comisiei din 11 iunie 2020 de modificare a anexelor II și III la Regulamentul (CE) nr. 1333/2008 al Parlamentului European și al Consiliului și a anexei la Regulamentul (UE) nr. 231/2012 al Comisiei în ceea ce privește utilizarea de Annatto, Bixin, Norbixin (E 160b). Valabil online : [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/TXT/?uri=uriserv%3AOJ.L\\_.2020.184.01.0025.01.ENG](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/TXT/?uri=uriserv%3AOJ.L_.2020.184.01.0025.01.ENG), L184, 25-42 (accesat în data 25.05.2023).
- Regulamentul (UE) nr. 231/2012 al Comisiei din 22 martie 2012. de stabilire a specificațiilor pentru aditivii alimentari enumerați în anexele II și III la Regulamentul (CE) nr. 1333/2008 al Parlamentului European și al Consiliului. Valabil online : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/TXT/?uri=celex%3A32012R0231>, L83, 1-294 (accesat în data 25.05.2023).
- Ribeiro L.R. 2003. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo, in: L.R. Ribeiro, D.M.F. Salvadori, E.K. Marques (Eds.), *Mutagênese Ambiental, Ulbra, Canoas*, pp. 201–219.
- Russel P.J. 2002. Chromosomal mutation, in: B. Cummings (Ed.), *Genetics*, Pearson Education Inc., San Francisco, pp. 595–621.
- Samoilov A.V., Suraeva N.M., Zaitseva M.V., Kurbanova M.N., Stolbova V.V., 2019. Comparative assessment of artificial sweeteners toxicity via express biotest. *Health Risk Analysis*. no. 2. DOI: 10.21668/health.risk/2019.2.09.eng
- Schiffman S.S., Rother K.I. 2013. Sucralose, a synthetic organochlorine sweetener: overview of biological issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*; 16(7): 399-451.
- Seth C.S., Misra V., Chauhan L.K.S., Singh R.R. 2008. Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of Allium cepa: cytogenetic and Comet assay approach, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1, doi:10.1016/j.jecoenv.2008.02.003.
- Silva M.M., Reboredo F.H., Lidon F.C. 2022 Food Colour Additives: A Synoptical Overview on Their Chemical Properties, Applications in Food Products, and Health Side Effects. *Foods*, 11, 379. <https://doi.org/10.3390/foods11030379>
- Smaka-Kincl V., Stegnar P., Lovka M., Toman M.J. 1996. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure, *Mutat. Res.* 368, 171–179.
- Spencer M. 1974. Food additives. *Postgraduate Medical Journal*, 50(588), 620–624. doi:10.1136/pgmj.50.588.620

- Sripanaratanakul P., Benjapong W., Visetchart P., Phattanakulanan P., Karnpanit W. 2009. Risk Assessment of Exposure to Benzoic Acid and Sorbic Acid from the Consumption of Sausage and Processed Minced Pork (Moo Yor) in Thai People. *Thai Journal of Toxicology*; 24(1): 15-20.
- Thomson B.M., Nokes C.J., Cressey P.J. 2007. Intake and risk assessment of nitrate and nitrite from New Zealand foods and drinking water. *Food Additives and Contaminants*; 24(2): 113-121.
- Tripathi M., Dixit S., Khanna S.K., Das M. 2010. Intake pattern of synthetic colours by different age and socio-economic consumer groups of Lucknow, India. *International Journal of Food Safety, Nutrition and Public Health*; 3(1): 1-19.
- Tuormaa T.E. 1994. The adverse effects of food additives on health: A review of the literature with special emphasis on childhood hyperactivity. *J. Orthomol. Med.*, 9, 225–243.
- Varzakas T.H., Arvanitoyannis I.S., Labropoulos A.E. 2010. Food additives and contaminants. Chapter 13. In: Yildiz F (eds); *Advances in Food Biochemistry*. CRC Press. p. 409-457.
- Vitenskapskomiteen for Mattrygghet (VKM) 2013. Risk assessments of aspartame, acesulfame K, sucralose and benzoic acid from soft drinks, "saft", nectar and flavoured water. Opinion of the panel of food additives, flavourings, processing aids, materials in contact with food and cosmetics of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Norwegian Scientific Committee for Food Safety.
- Voss C. 2011. *Veneno no Seu Prato? Utilidades e Riscos Dos Aditivos Alimentares*, 3rd ed.; EDIDECO—Editores para a Defesa do Consumidor Lda.: Lisboa, Portugal.
- WHO 2009. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Evaluation of certain food additives and contaminants. Sixty-ninth Report of The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Technical Report Series 952.
- Wongsaprom P., Benjapong W., Karnpanit W., Phattanakulanan P. 2009. Risk Assessment of Benzoic Acid and Sorbic Acid Exposures from Red Curry Paste Consumption in Bangkok and Suphanburi. *Thai Health Science Journals*; 24(1): 25-30.
- Zhang J.B., Zhang H., Wang H.L., Zhang J.Y., Luo P.J., Zhu L., Wang Z.T. 2014. Risk analysis of sulfites used as food additives in China. *Biomedical Environmental Sciences*; 27(2): 147-154.