

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

METKA OPRČKAL

DIPLOMSKA NALOGA
UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

METKA OPRČKAL

**OCENA VARNE UPORABE BARVIL V FARMACEVTSKIH
IZDELKIH, REGISTRIRANIH V REPUBLIKI SLOVENIJI**

**ASSESSMENT OF THE SAFE USE OF COLOURS IN
PHARMACEUTICAL PRODUCTS, REGISTERED IN
REPUBLIC OF SLOVENIA**

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2014

Diplomska naloga je zaključek univerzitetnega študija farmacije na Fakulteti za farmacijo, Univerze v Ljubljani. Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc.

Zahvala

Iskreno se zahvaljujem prof. dr. Mariji Sollner Dolenc, mag. farm., za vso pomoč, strokovne nasvete in potrpežljivost pri izdelavi diplomske naloge.

Zahvaljujem se staršem za podporo v času študija in Marinu, ki mi je vlival energijo v trenutkih, ko sem to najbolj potrebovala. Hvala tudi sestri in prijateljem za podporo in razumevanje na moji študijski poti.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc.

Ljubljana, 2014

Metka Oprčkal

VSEBINA

1.	UVOD	1
1.1.	Od barve do barvila	1
1.2.	Zaznava barv	1
1.3.	Kratka zgodovina naravnih barvil	2
1.4.	Barvilo kot pomožna snov v zdravilih	3
1.4.1.	Poimenovanje barvil.....	5
1.4.2.	Vloga barvil v farmacevtskih izdelkih	5
1.5.	Klasifikacija barvil	7
1.5.1.	Delitev po izvoru.....	7
1.5.2.	Delitev po topnosti	8
1.5.3.	Kemijska delitev.....	8
1.6.	Regulativa za varno uporabo barvil	10
1.6.1.	Zakonodaja v Evropski uniji	10
1.6.2.	Zakonodaja v ZDA.....	11
1.6.3.	Zakonodaja v Sloveniji.....	13
1.7.	Varnost barvil kot pomožnih snovi v zdravilih	14
2.	NAMEN DELA.....	16
3.	METODE IN MATERIALI	18
4.	REZULTATI IN RAZPRAVA	20
4.1.	PREGLED ZDRAVIL, V KATERIH JE SAMO ENO BARVILO (skupina A)	21
4.2.	PREGLED ZDRAVIL, V KATERIH STA DVE ALI VEČ BARVIL (skupina B).....	22
4.3.	NAJPOGOSTEJE ZASTOPANA BARVILA V ZDRAVILIH	27
4.3.1.	TITANOV DIOKSID – E171	27
4.3.2.	ŽELEZOVI OKSIDI – E172.....	32
4.3.3.	INDIGO KARMIN, INDIGOTIN - E132.....	34
4.3.4.	ORANŽNO FCF – E110.....	36

4.3.5. ERITROZIN – E127	42
4.4. OCENA VARNE UPORABE NAJPOGOSTEJE ZASTOPANIH BARVIL V ZDRAVILIH	45
5. SKLEP.....	52
6. LITERATURA.....	54
PRILOGE	60

POVZETEK

Barvila so del našega vsakdana. V živilski industriji jih uporabljajo za barvanje ali povrnitev prvotnega videza hrani, v farmacevtski pa so njihove glavne naloge izboljšanje organoleptičnih lastnosti, povečanje stabilnosti izdelkov, lažje ločevanje zdravil idr. Zaradi teh lastnosti barvila uvrščajo med aditive, njihovo uporabo pa države nadzirajo z zakonodajo, ki ni vsepovsod enaka. Barvila morajo biti netoksična, fiziološko ugodna za človeka, stabilna in ne smejo reagirati z drugimi učinkovinami. Tako naravna kot tudi sintetična barvila danes pridobivajo s sintezo v laboratorijih. Naravna veljajo za bolj varna, njihova barva je manj intenzivna. Sintetična barvila v malih količinah močno obarvajo izdelek, so cenejša, vendar imajo več neželenih učinkov. Slovenska zakonodaja dovoljuje uporabo tistih barvil v zdravilih, ki so dovoljena tudi v živilih, kar narekuje Pravilnik o barvilih, ki se smejo dodajati zdravilom, označuje pa jih z oznako E in pripadajočo številko od 100 do 199. Pravilnik o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini narekuje, da se mora vsebnost kateregakoli azo barvila na ovojnini farmacevtskega izdelka pospremiti z opozorilom »*Lahko povzroči alergijske reakcije*« in »*Lahko ima neželen vpliv na aktivnost in pozornost pri otrocih*«. Da bi lažje nadzirali dnevni vnos pomožnih snovi v telo, je za vsak aditiv določen sprejemljiv dnevni vnos (ADI). To je količina aditiva, ki ga sme zaužiti človek vsak dan vse dni svojega življenja, ne da bi pri tem ogrozil svoje zdravje. V diplomskem delu smo želeli pridobiti nabor barvil, ki se najpogosteje uporabljajo v zdravilih, ki so registrirana v Republiki Sloveniji, in s pomočjo podatkov, ki nam jih ponuja literatura, raziskati njihovo varnost. Pregledali smo 2452 zdravil v obliki tablet, kapsul, peroralnih tekočin, dermalnih krem in mazil. V naboru barvil smo izbrali štiri najpogosteje uporabljena – titanov dioksid, železovi oksidi, indigo karmin, oranžno FCF in zanje zapisali toksikološki profil. Zanimala so nas tudi najbolj sporna barvila z vidika toksičnosti. Za najbolj toksični barvili veljata eritrozin in oranžno FCF, sledi jima indigo karmin. Titanov dioksid in železovi oksidi se najpogosteje pojavljajo v zdravilih. Študije kažejo, da so ti anorganski pigmenti ustrezno varni, imajo pa tudi zaželeno lastnost, da povečujejo stabilnost zdravil na svetlobi. Pregled sestave zdravil nam je pokazal, da eno zdravilo lahko vsebuje eno ali kombinacijo več različnih barvil, največ barvil pa smo našli v tabletah in kapsulah. V peroralnih tekočinah, ki so primerne za otroke, je uporaba barvil za 30 % manjša kot v tabletah in kapsulah. Zdravila z enako zdravilno učinkovino različnih jakosti lahko vsebujejo različna barvila. Večino barvil so odobrili za uporabo pred mnogimi leti. V zadnjih letih so na voljo novi znanstveni podatki, zato se je Evropska agencija za varnost hrane odločila za ponovno ovrednotenje varnosti barvil v živilih. Ponovno oceno naj bi dokončali do leta 2015.

ABSTRACT

Dyes are the part of our everyday lives. In food industry they are used for painting or restoring the original appearance of food, while in pharmaceutical industry their main tasks are to improve the organoleptic properties, increase the stability of products, help separate the medicines etc. These properties classify dyes among additives. Their use is controlled by law, which can be different in various countries. Dyes must be nontoxic, physiologically inactivated, stable and must not react with other substances. Natural, as well as synthetic dyes are synthesized in the chemical laboratory. Natural dyes are safer, their color is less intense. Synthetic dyes provide more intense color, they are cheaper but have more side effects. The Slovenian legislation allows, in pharmaceutical preparations, dyes which are also permitted in food. This is addressed in the document “Rules on colorants, who are allowed to be added to medicines”. Dyes are marked with letter E and numbers 100-199. The document “Rules on labeling and on patient information leaflet of medicinal products for human use” requires that the content of any azo-dyes in pharmaceutical product must be accompanied with the warning “*May cause allergic reaction*” and “*It can have an adverse effect on activity and attention of children*” on the packaging. To control the intake of additives, for each additive is determined acceptable daily intake level (ADI). This is maximum amount of additive, which a person can be exposed to on a daily basis, over a lifetime without an appreciable health risk. In this diploma thesis we wanted to find out which colors are most commonly used in pharmaceutical preparations registered in the Republic of Slovenia and investigated their safety. We reviewed 2452 drugs, including tablets, capsules, oral liquids, topical creams and ointments. Using literary sources we have written a toxicological profile for most commonly used dyes in drugs - titanium dioxide, iron oxides, indigo carmine and sunset yellow FCF. We also wanted to research dyes, with the most toxic effects. The most toxic dyes are considered erythrosine and sunset yellow FCF, followed by indigo carmine. Titanium dioxide and iron oxides are the most frequently used dyes. Studies show that these inorganic pigments are safe. They also increase the stability of the drug exposed to light, which is one of the desirable properties. Our analysis has shown that one drug may contain one or a combination of different dyes, which occurs the most in tablets and capsules. Oral liquids, that are suitable for children, contain 30 % less dyes than tablets and capsules. Drugs with the same active ingredient, but different strengths may also contain different dyes. Many dyes were authorized for use years ago. Since then some new scientific data become available about the safety of those dyes. The European Food Safety Authority has been reassessing all of the permitted food colors. The re-evaluation is scheduled to be completed by 2015.

SEZNAM OKRAJŠAV

ADI - Acceptable Daily Intake, sprejemljiv dnevni vnos

CHMP - Odbor za zdravila za uporabo v humani medicine

CI - Colour Index

EFSA - Evropska agencija za varnost hrane

EGS - Evropska gospodarska skupnost

EMA - Evropska agencija za zdravila

EU - Evropska unija

FAO - Organizacija Združenih narodov za prehrano in kmetijstvo

FDA - Food and Drug Administration, Zvezna agencija za hrano in zdravila

FO - farmacevtska oblika

FSA - Food Standards Agency, Agencija za standardizacijo hrane

GRAS - generally recognized as safe, splošno prepoznano kot varno

HACSG - britanska skupina Hyperactive Children's Support Group

HRG - Public Citizen Health Research Group, Skupina za javno zdravje v ZDA

IARC - Mednarodna agencija za raziskovanje raka

IVZ RS - Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije

JAZMP - Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke

JEFCA - Skupni strokovni odbor FAO/WHO za živilske aditive

LD₅₀ - letalni odmerek snovi, ki pri polovici poskusnih živali povzroči smrt

NIJZ - Nacionalni inštitut za javno zdravje

NOAEL - najvišji testni odmerek, pri katerem niso opazili nobenih negativnih učinkov

SCF - Znanstveni odbor za živila

SCCNFP - Evropska znanstvena komisija za kozmetične in neživilske izdelke

SmPC - Summary of Product Characteristics, povzetek temeljnih značilnosti zdravila

SSKJ - Slovar slovenskega knjižnega jezika

T₃ - trijodtironin

T₄ - tiroksin

TDI - Tolerable Daily Intake, dopustni dnevni vnos

TiO₂ - titanov dioksid

TSH - tiotropin (hormon hipofize)

USDA - Ameriško ministrstvo za kmetijstvo

WHO - World Health Organisation, Svetovna znanstvena organizacija

ZDA - Združene države Amerike

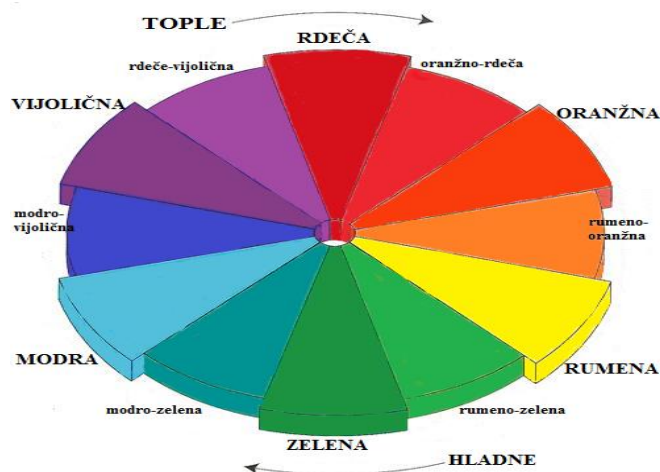
ZU - zdravilna učinkovina

ZZZS - Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije

1. UVOD

1.1. Od barve do barvila

Barva je po definiciji Slovarja slovenskega knjižnega jezika (SSKJ) »*lastnost predmeta, ki jo očesu posreduje svetloba, ki jo telo seva, odbija ali prepušča*«, barvilo pa isti slovar definira kot »*organsko snov za barvanje*«. Barve nas privlačijo, saj v nas vzbujajo različne občutke, pomagajo nam pri prepoznavi okolja, predmetov in hrane. Strokovnjaki so si enotni, da ima barva zdravila lahko močan vpliv na učinkovitost terapije, kar potrjuje univerzalen pomen uporabe barv ne samo v farmacevtski industriji, ampak tudi v kozmetični, prehranski industriji idr (1). Vizualno predstavitev barv nam v sliki 1 prikazuje barvno kolo. Barve v rdečem območju barvnega spektra so znane kot t.i. »*tople*« barve in vanje vključujemo rdeče, oranžne in rumene odtenke. Te barve v ljudeh vzbudijo čustva, ki segajo od občutkov toplote, udobja do občutkov jeze in sovraštva. Barve na modri strani spektra pa so znane kot t.i. »*hladne*« barve in mednje uvrščamo modre, vijolične in zelene odtenke. Slednje opisujemo kot pomirjujoče barvne odtenke, ki dajejo občutek sterilnosti in čistosti. Zaradi teh razlogov jih uporabljajo v bolnišnicah in zdravstvenih ustanovah, vendar pa lahko vzbudijo tudi občutke žalosti (2). Lahko rečemo, da barve svet, v katerem živimo, obogatijo. Prav zato ni nič nenavadnega, da barvila zaradi privlačnosti svojih barv spremljajo človeštvo že iz prazgodovine.



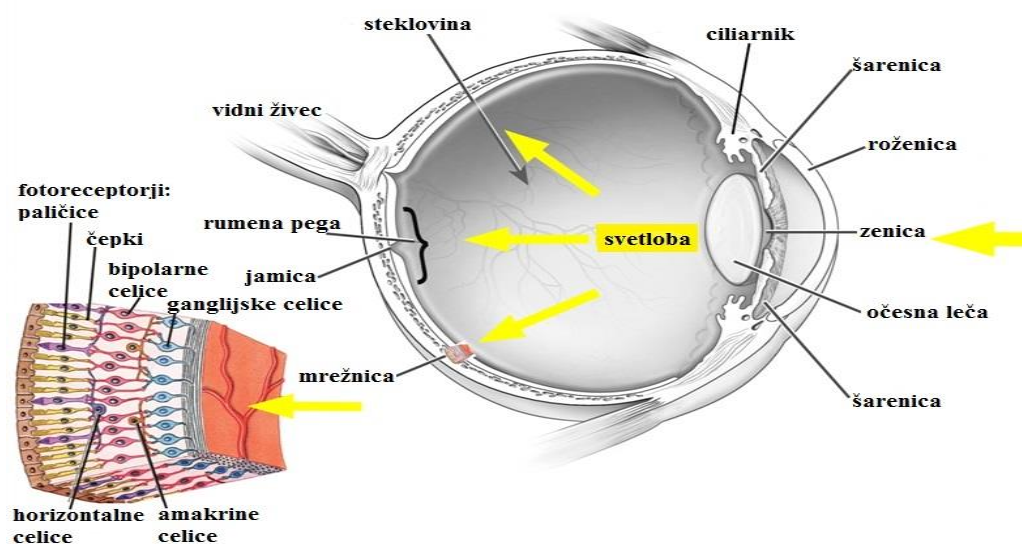
Slika 1: Barvno kolo (2)

1.2. Zaznava barv

Čutilo, ki zaznava barve, je oko. Ocenili so, da človeško oko lahko razlikuje med več kot deset milijoni barvnih odtenkov. V glavnem delu očesa, ki ga imenujemo zrklo, se nahaja mrežnica. Svetloba, ki jo zazna oko, prodre skozi nekaj slojev mrežnice, kjer jo nato

absorbirajo fotoreceptorji. To so specializirane celice v mrežnici, ki ujamejo svetlobo, zaznane svetlobne impulze pa pošljejo v možgane. Poznamo dve vrsti fotoreceptorjev – paličice in čepke. Paličic je v očesu približno deset milijonov in so odgovorne za »črno-belo« gledanje. Ne potrebujejo veliko svetlobe, saj se odzivajo na svetlobo vseh valovnih dolžin in zaradi paličic lahko v temi zaznavamo obrise predmetov v sivo-črnih odtenkih. Čepki pa so celice v mrežnici, ki zaznavajo svetlobo določene valovne dolžine in tako reagirajo na barve. Poznamo tri vrste čepkov, ki imajo spektralno občutljivost za modro, rdečo in zeleno barvo, od stimulacije teh treh vrst čepkov pa je odvisna barva, ki jo vidimo. Kako dokončno vidimo barvo, je odvisno tudi od zunanjih dejavnikov, kot so tekstura barvne površine, svetloba okolice, sosednje barve. Čepki ob vznburjenju, za katerega potrebujejo veliko svetlobe, pošljejo signale do možganov, le-ti pa nato združijo signale vseh vznburjenih celic in to interpretirajo v barvo (3).

Slika 2 prikazuje anatomijo človeškega očesa in natančnejšo sestavo mrežnice v očesu.



Slika 2: Anatomija očesa in mrežnice (1)

1.3. Kratka zgodovina naravnih barvil

Barvila so naši predniki uporabljali že več tisoč let pred našim štetjem. Pridobivali so jih iz rastlin, uporabljali za barvanje tkanin, posode, z njimi so slikali po stenah, kasneje pa so se tudi ličili in si barvali lase. Egipčani so bili znani po trgovanju s kano (*Lawsonia Inermis*), ki so jo poznali tudi v tradicionalni indijski medicini Ayurvedi, poznali pa so jo tudi muslimani, katerim je bila znana kot zdravilna rastlina preroka Mohameda. O kani so bili najdeni zapisi v Svetem pismu in Koranu, uporabljali pa so jo za poslikavo nohtov, las in notranjosti piramid.

Pred več kot tisoč leti pred našim štejetjem so v Indiji našli naravno barvilo rastlinskega izvora indigo, ki so ga pridobivali z ekstrakcijo lesa rastline indigovec (*Indigofera Tinctoria*), uporabljali pa so ga za barvanje bombaža, volne, svile. Še danes to barvilo, ki ga sicer pridobivajo po sintezni poti, uporabljajo za barvanje jeansa in kot dodatek v prehrani. Že stari Rimljani so v hrano dodajali dodatke, in sicer žafran (*Crocus Sativus*), ki je dal zaradi svojega karotenoidnega barvila krokin hrani lepo rumeno barvo, uporabljali pa so ga tudi v zdravstvene namene. Kasneje so tem naravnim rastlinskim barvilom ljudje za intenzivnejšo barvo dodajali rude, minerale, kamnine v prahu in celo zlato in srebro.

Prvo naravno barvilo živalskega izvora so pridobili iz polžev škrlatnikov. Za 1,5 kilograma vijoličasto-rdeče, purpurne barve (dibromindigo), ki so jo poimenovali tudi škrlatna barva, so morali imeti kar 12 tisoč polžev. To barvilo so Feničani uporabljali za barvanje tkanin.

V srednjem veku so uporabljali naravne vire barv, ki so jih našli v glini, rdeči pesi, iz korenčka so pridobili barvilo karoten, poznali so zeleno barvilo s klorofilom. V začetku 19. stoletja se je začela kemija zelo hitro razvijati, zato so za obarvanje živil začeli uporabljati spojine, ki so bile intenzivnejših barv kot tiste, ki so jih do tedaj poznali. Barvila so začela vsebovati svinec, živo srebro in baker, za katere pa se je hitro izkazalo, da so škodljivi. Prvo sintetično barvilo je po naključju leta 1856 odkril William Henry Perkin, ko je iz anilina, p-toluidina in o-toluidina pridobil prvo sintetično barvilo mauvein. Prvi zakon o uporabi barvil v živilih so zapisali leta 1887, ko so uporabo barvil popolnoma prepovedali.

Povsem nova doba barvil pa se je z odkritjem t.i. »azobarvil« začela v drugi polovici 19. stoletja. Azo barvila so zelo močne in živahne barve, ki so jih začeli uporabljati tako za barvanje tkanin kot tudi za dodatek v prehrani (4,5).

1.4. Barvilo kot pomožna snov v zdravilih

Že stari Rimljani so bili tisti, ki so hrani dodajali barvila za lepši videz hrane. Danes je to stalna praksa, barvila pa so tudi sestavni del farmacevtske industrije, kjer nimajo samo funkcije obarvanja. Uvrščamo jih med pomožne snovi, saj imajo poleg obarvanja zdravil tudi lastnosti, kot so povečanje stabilnosti zdravila na svetlobi, povečanje opacitete zdravila idr. Slovenska zakonodaja v Pravilniku o barvilih, ki se smejo dodajati zdravilom, določa, da se za uporabo v zdravilih lahko uporabljajo enaka barvila kot za uporabo v živilih (6). Natančnejšo definicijo barvil nam podaja Pravilnik o aditivih za živila, v katerem barvila uvrščamo med aditive. Aditiv je po tem pravilniku »vsaka snov, ki se običajno ne uporablja oziroma ne uživa kot živilo in ne predstavlja običajne, tipične sestavine živila, ne glede na to, ali ima hranilno

vrednost, se pa namensko dodaja živilu iz tehnoloških razlogov v proizvodnji, predelavi, pripravi, obdelavi, pakiranju, transportu, hrambi in se zato nahaja v živilu ali v stranskem proizvodu živila in s tem posredno ali neposredno postane sestavina živila«. Točno definicijo barvil opisuje deseti odstavek 3. člena tega pravilnika, kjer piše, da so barvila »snovi, pridobljene iz živil in drugih sestavin naravnega izvora s fizikalno in/ali kemično ekstrakcijo, ki ji sledi selektivna ekstrakcija pigmentov glede na njihove hranilne ali aromatične sestavine; barvila živilo obarvajo ali poudarijo njegovo barvo, vsebujejo naravne sestavine živil in sestavine naravnega izvora in se običajno kot take ne zaužijejo kot živilo ter se običajno ne uporabljajo kot tipične sestavine živila«. V to definicijo barvil ne spadajo živila in arome, ki so dodana živilom in hkrati dajo barvo živilu. Takšen primer so paprika, korenček, žafranika. Prav tako pod to definicijo barvil ne spadajo barvila, ki jih uporabljajo za barvanje zunanjih delov živil, ki niso užitni, na primer skorja sira in ovoji za klobase (7). Za uporabo barvil v zdravilih veljajo pogoji in pravila, ki jih ureja zakonodaja in katere mora proizvajalec upoštevati, če želi pridobiti dovoljenje za promet. Ker so barvila ena izmed skupin aditivov, te pogoje podrobno narekuje Pravilnik o aditivih za živila, ki je v skladu z Direktivo Evropskega parlamenta in Sveta 94/36/ES o barvilih za uporabo v živilih. Ta direktiva narekuje izdajo dovoljenja za uporabo aditivov v primerih, ko obstaja dokaz, da je uvedba nove pomožne snovi (v našem primeru barvila) tehnološko potrebna in ko le-te ni mogoče nadomestiti z drugimi sredstvi, ki so na razpolago. Hkrati mora biti zagotovljena njegova zdravstvena neoporečnost, saj uporaba aditiva ne sme predstavljati nevarnosti za zdravje uporabnika. Eden izmed pomembnih pogojev je tudi ta, da se živilu zaradi uporabe aditiva ne sme spremeniti sestava ali kakovost, ki bi potrošnika lahko zavajala. Kljub uporabi aditiva se mora ohraniti hranilna vrednost živila, pomožne snovi pa se ne sme uporabljati za prikrivanje neprimernih vhodnih surovin ali ne higienskih tehnoloških procesov (7,8,9,10). V Sloveniji zakonodaja določa enako označevanje pomožnih snovi v zdravilih, kot ga uporabljamo za označevanje v živilih. Pravilnik o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini natančno določa pravilno označevanje zdravil, prav tako je določena oblika in vsebina navodila za uporabo, ki mora spremljati vsako zdravilo. Pravilnik narekuje posebno označevanje za pomožne snovi na zunanji ovojnini v slovenskem jeziku. Na zunanji ali stični ovojnini je pri farmacevtski obliki (FO) za oko, dermalno ali parenteralno uporabo nujno navesti vse pomožne snovi, medtem ko je pri drugih oblikah potrebno navesti le tiste aditive, ki imajo znano delovanje. V zvezi s pomožnimi snovmi, ki imajo znane neželene učinke, je potrebno dodati posebna opozorila, kar velja tudi za azo barvila. Na ovojni morajo biti ta barvila navedena, dodano pa mora biti opozorilo »Lahko

povzroči alergijske reakcije» in »Lahko ima neželen vpliv na aktivnost in pozornost pri otrocih« (8,11).

1.4.1. Poimenovanje barvil

Barve imajo nešteto odtenkov, zato lahko nastane problem pri iskanju točno določene barve. ZDA je ta problem rešila leta 1938 s pomočjo zakonika »Federal Food, Drug, and Cosmetic Act«, s katerim je določila tri oznake za barvila. FD&C oznaka pripada barvam, ki se lahko uporabljajo v hrani, zdravilih in kozmetiki, oznaka D&C pripada barvilom, ki so varna za uporabo v zdravilih in kozmetiki, oznaka Ext. D&C pa pripada barvilom, ki se lahko uporabljajo v kozmetični in farmacevtski industriji, vendar samo v izdelkih za zunanjo uporabo (2). Bolj uporabno poimenovanje predstavlja klasifikacija Colour Index, saj slednja velja po vsem svetu. To klasifikacijo sta razvili ameriški družbi Society of dyers and colourists in American association of textile chemists and colourists že v začetku prejšnjega stoletja. Pri tem poimenovanju se upošteva predvsem kemijske lastnosti barvil oziroma njihove funkcionalne skupine. Ime barve je sestavljeno iz kratice CI (Colour Index) in petmestne številke od 10000 do 77999, ki pripada določeni kemijski skupini. To poimenovanje je pomembno predvsem v barvni in tekstilni industriji, nam pa je najbližje poimenovanje z oznako E (12).

Števila E so številčni sistem evropskega načina označevanja pomožnih snovi, ki ga je v osemdesetih letih prejšnjega stoletja uveljavila Evropska gospodarska skupnost (EGS). Za ta sistem je znana predpona E, ki predstavlja prvo črko Evropske unije, predponi pa sledi številka. To so naredili, da so poenostavili trgovanje z živili med državami članicami, kar je bilo nujno potrebno. V Veliki Britaniji in Avstraliji uporabljajo enak način označevanja, ki pa ne vsebuje predpone E, medtem ko v ZDA uporabljajo povsem drugačen številčni sistem označevanja. Nas bodo zanimale predvsem oznake E100-E199, saj je ta razred rezerviran za oznako barvil in na ta način morajo biti slednja tudi navedena v povzetku temeljnih značilnosti zdravila in v navodilih za uporabo (8).

1.4.2. Vloga barvil v farmacevtskih izdelkih

Med nalogami pomožnih snovi v farmacevtski tehnologiji so poleg povečanja stabilnosti in biološke uporabnosti zdravilne učinkovine tudi ciljano zdravljenje, izboljšanje farmakokinetičnih in farmakodinamičnih lastnosti, olajšanje izvedbe tehnoloških procesov, preprečitev razpada farmacevtskih oblik in izboljšanje organoleptičnih lastnosti. Pomembno

je, da pomožne snovi ne reagirajo z zdravilno učinkovino (ZU), da so fiziološko sprejemljive za človeka in stabilne za tehnološko uporabo, kar velja tudi za barvila (2).

Poleg vseh teh lastnosti je idealno, če je barvilo kot pomožna snov stabilno na svetlobi, visokih temperaturah (tropske razmere), odporno na hidrolizo, mikroorganizme, oksidante, reducente in spremembe pH. Zaželeno je, da je barvilo kompatibilno z drugimi sestavinami zdravil. Topnost v vodi je zaželena v večini primerov, vendar so pomembna tudi barvila, ki se topijo v olju in alkoholu. Poudariti je treba še visoko barvno moč, ki naj bi jo imela barvila, da pri dodajanju v farmacevtske izdelke niso potrebni visoki odmerki, da so brez okusa in vonja, lahko dostopna in z nizko ceno (13,14).

Barve nekaterih sestavin zdravil niso dovolj stabilne, da bi prenesle tehnološko obdelavo, zato za korigiranje barve v tehnoloških procesih dodajajo barvila ali pa t.i. stabilizatorje barv. Le-ti ohranjajo naravno barvo sestavin ali le poudarijo njihovo barvno moč (8,13,14).

Farmacevtske izdelke proizvajalci barvajo zaradi več razlogov. Naloge barvil so:

- Izboljšanje organoleptičnih lastnosti. Barvila zdravilom dajejo privlačnejši izgled in so zaradi tega sprejemljivejša za bolnike, kar pomembno izboljša komplanco oz. sodelovanje bolnika pri zdravljenju.
- Barvila zdravila obarvajo, kar je zelo uporaben pripomoček za kronične bolnike, ki prejemajo več terapij hkrati. Z različnimi obarvanji zdravil je možno boljše ločevanje farmacevtskih izdelkov, kar omogoča doseganje varnejše uporabe le-teh. To je še posebej pomembno pri izdajanju v bolnišnicah ali domovih za ostarele.
- Povečanje stabilnosti na svetlobo občutljivih zdravilnih učinkovin. Netopna barvila imajo dodatno prednost, kadar se uporabljajo v oblogah tablet ali želatinastih kapsul, saj zagotovijo koristno motnost. Slednja pomembno prispeva k stabilnosti na svetlobo občutljive zdravilne sestavine v tableti ali kapsuli in s tem preprečuje prehiter razpad tablete ali kapsule. V ta namen so primerni železovi oksidi in titanov oksid.
- Uporaba različnih barvil za različne jakosti istega zdravila lahko zmanjša število napak. Veliko farmacevtskih izdelkov izgleda zelo podobno, zato lahko barva skupaj s kombinacijo različnih oblik in logotipa, ki je odtisnjen na tableti, pomaga pri sami identifikaciji. Takšne različne kombinacije so lahko dobra preventiva pri onemogočanju ponarejanja.
- Barvila so pripomoček proizvajalcev zdravil pri identifikaciji produkta v tehnoloških in distribucijskih fazah izdelave zdravila. Barve se lahko uporabijo za identifikacijo izdelkov s podobnimi organoleptičnimi lastnostmi znotraj proizvodne linije ali v primerih, ko izdelke s podobnim videzom izdelujejo različni proizvajalci. Različna

obarvanja lahko zdravniku ali farmacevtu pomagajo pri prepoznavi prejšnje terapije bolnika.

- Barvila lahko izboljšajo izgled zdravila tudi takrat, ko glavna ZU v zdravilu spreminja svoje vizualne karakteristike in bi bila zato vsaka serija zdravil brez uporabe barvil različna (2,14).

Glavne kategorije farmacevtskih oblik, pri izdelavi katerih uporabljajo barvila kot pomožno snov, so:

- tablete: za barvanje jedra in/ali obloge;
- trde ali mehke želatinaste kapsule: za kapsule ali obloge zrnc v kapsulah;
- peroralne tekočine;
- dermalne kreme in mazila.

Posebno nalogo imajo barvila v peroralnih tekočinah, kakršni so sirupi za otroke. Otroci so posebna skupina bolnikov, pri katerih je večkrat težava samo uživanje zdravila. S prijetno barvo zdravilnega sirupa otroka lažje prepričamo v zaužitje farmacevtskega izdelka, ki bo izboljšalo njegovo zdravstveno stanje (14).

1.5. Klasifikacija barvil

1.5.1. Delitev po izvoru

Po izvoru delimo barvila na naravna in sintetična. Nekatera naravna in sintetična barvila so praktično nestabilna na svetlobi, vendar pa so s primernimi tehnološkimi postopki in v kombinaciji z učinkovitim pakiranjem lahko zelo uporabna v FO. Prav zato je za uporabo na voljo precej široka paleta barvil za zdravila (14).

NARAVNA BARVILA

Naravna barvila so prevladovala do konca druge polovice 19. stoletja, nato pa so jih zaradi bolj intenzivne barve zamenjala sintetična. Naravna barvila so lahko rastlinskega, redkeje tudi živalskega izvora. Danes zaradi večjega ozaveščanja o toksičnosti aditivov, ki jih dodajajo v hrano in zdravila, spet narašča njihova uporaba, prav tako so njihove barve zaradi napredka v tehnologiji bolj izrazite. Nekatera naravna barvila lahko prispevajo k okusu samega produkta, saj jih ekstrahirajo iz zelenjave, sadja in različnih zelišč (4,15). Primeri naravnih barvil so kurkumin (pridobivajo ga iz kurkume), klorofili in antociani (pridobivajo iz rastlinskih virov), najmočnejšo barvo pa daje rdeča karminska kislina, ki jo pridobivajo iz insektov (4,15).

SINTETIČNA BARVILA

Prvo sintetično barvilo so dobili z oksidacijo anilina, do danes pa poznamo več kot pol milijona različnih sintetičnih barvil, od katerih jih v tehnoloških postopkih in eksperimentalnih študijah uporabljajo le okoli 1 %. Sinteza teh pomožnih snovi je danes sistematična, strokovnjaki pa ne odkrivajo več toliko novih spojin, ampak je razvoj usmerjen predvsem v predelavo in izboljšavo obstoječih barvil. Barvila, ki jim nekateri pravijo tudi umetna, lahko med seboj mešajo in tako dobijo različne barvne odtenke. Velikokrat so cenejša od naravnih, obstajajo pa v različnih oblikah (v prahu, granulah, raztopinah, lakih, pastah). Primeri sintetičnih barvil so azo barvila (tartrazin), sulfoniran indigotin, ksanteni (eritrozin) (4,15).

1.5.2. Delitev po topnosti

Od mnogih klasifikacij, ki so možne za barvila, je ena izmed najbolj uporabljenih ta, ki barvila preprosto razdeli na barvila topna v vodi (dyes) in netopna v vodi (pigmenti). Za tekoče farmacevtske oblike se tako uporabljajo samo barvila, ki so topna v vodi. Drug primer je barvanje oblog pri tabletah ali kapsulah, takrat so primerna barvila, ki se v vodi ne topijo (netopni pigmenti in laki). Njihove lastnosti so v primerjavi z vodotopnimi večja motnost, večja stabilnost in manjša migracija v notranjost (14).

1.5.3. Kemijska delitev

Barvila so kemijsko zelo raznolika skupina snovi, saj imajo zelo različne lastnosti. Razdelimo jih na anorganska in organska barvila.

ANORGANSKA BARVILA

Anorganska barvila so spojine različnih kovin in jih je v primerjavi z organskimi malo. Zaradi svojega mineralnega izvora se za njihovo poimenovanje pogosto uporablja besedna zveza **mineralni pigmenti**. Njihova prednost je dobra obstojnost na svetlobi, medtem ko imajo organska barvila v primerjavi z njimi slabše stabilnostne lastnosti. Danes se najbolj pogosto v zdravilih uporablja zmes rumenega in rdečega železovega dioksida in titanov dioksid (2,14).

ORGANSKA BARVILA

V strukturi organskih barvil najdemo ogljikove verige ali ogljikove obročje, ki so skupaj z atomi vodika vedno prisotni. Včasih najdemo v njihovih molekulah tudi atome dušika in žvepla, ki so povezani z ogljikovimi atomi. Nekaj naravnih in sintetičnih organskih barvil je praktično nestabilnih na svetlobi, z ustreznimi postopki izdelave in ustrezno embalažo pa jih

lahko uspešno uporabljajo v izdelkih, zato je na trgu na voljo široka izbira organskih barvil. Osnovni kemijski razredi organskih barvil so azo barvila, trifenilmetanska barvila, indigo barvila, ksanteni idr (2,14).

Organska barvila glede na topnost razdelimo na **barve** (dyes), **lake** (lakes) in **pigmente** (pigments). Barve so topne v vodi in netopne v olju, uporabljajo se v zdravilih, pijačah, hrani, pecivu in drugih izdelkih. Pigmenti so netopne oblike organskih barvil, saj niso topni niti v vodi niti v olju. V topilu se najprej dispergirajo, po določenem času pa se posedejo, v primerjavi z barvili pa imajo večjo obstojnost na svetlobi in toploti (2,16).

Laki (lakes) so na meji med organskimi in anorganskimi barvili. Gre za organska barvila, ki jih obarjajo in adsorbirajo na netopen anorganski substrat, kakršen je hidratiziran aluminijev oksid. Kot substrat se lahko uporabljajo še magnezijev silikat, kaolin ali smukec. Temu sledi obdelava s topno aluminijevo soljo. Postopek priprave aluminijevega oksida in pogoji, pod katerimi se barvilo adsorbira, določajo obliko, velikost in druge lastnosti končnega laka, ki navadno nosi oznako soli. Pomembne spremenljivke so še temperatura, koncentracija reaktantov in pH. Uporaba teh netopnih oblik barvil ima prednost pigmentov, zaradi česar so idealna za barvanje izdelkov, ki vsebujejo maščobe in olja, ali izdelkov, kjer ni dovolj vlage (npr. obloge tablet, slaščic, šamponov). Leta 2012 je Evropska agencija za varnost hrane (EFSA), ki so jo ustanovili leta 2002, da bi povečali zaupanje v oskrbo s prehrano v Evropski uniji (EU), znova ocenila uporabo aluminijevih lakov kot barvil. Ugotovili so, da je sprejemljiv tedenski vnos za aluminij, ki znaša 1 mg/kg telesne teže na teden, zlasti pri otrocih, ki zaužijejo velike količine slaščic, večkrat presežen. Ljudje so aluminijevim spojinam izpostavljeni preko hrane, v kateri se aluminij nahaja v naravni obliki ali v obliki aluminijevih spojin, ki jih vsebujejo aditivi za živila. EFSA od 1. avgusta 2014 naprej dovoljuje uporabo aluminijev lakov, ki so pripravljene iz barvil, ki jih določa Uredba 380/2012. Proizvajalci barvil morajo po novem označiti vrednost aluminija v lakih, da proizvajalci živil lažje prilagajajo dovoljeno vsebnost teh lakov v živilih. S tem so želeli znižati raven uporabe aluminija v aditivih in zagotoviti, da ne bi prišlo do presežkov sprejemljivega tedenskega vnosa (17).

Preglednica I prikazuje glavne razlike med anorganskimi in organskimi pigmenti.

Preglednica I: Razlike med anorganskimi in organskimi pigmenti (18).

	ANORGANSKI PIGMENTI	ORGANSKI PIGMENTI
vir, pridobivanje	minerali	rafinirana olja
barva	pogosto medla	svetla
barvna moč	nizka	visoka
motnost	motni, večja prekrivnost	transparentni
obstojnost na svetlobi	zelo dobra	zelo slaba do dobra
topnost	netopni v topilih	slaba topnost
varnost	so lahko toksični	navadno varni
kemična stabilnost	pogosto občutljivi	navadno dobra
cena	zmerna	visoka

1.6. Regulatorna za varno uporabo barvil

Barvila imajo skoraj unikaten status kot pomožna snov v farmaciji po vsem svetu.

Regulatorne ustanove so izdale pozitivne sezname barvil, ki se jih sme uporabljati v zdravilih, se pa te med seboj nekoliko razlikujejo. V živila in zdravila se lahko dodajajo samo barvila s teh pozitivnih seznamov, nekatera pa so strogo prepovedana. Zakonodaja prav tako strogo nadzoruje kriterije čistosti za vsako barvilo posebej. V mnogih regijah po svetu razlikujejo med barvili, ki jih dodajajo živilom in tistimi, ki jih dodajajo zdravilom (14).

1.6.1. Zakonodaja v Evropski uniji

Primarni dokument, ki je urejal zakonodajo glede uporabe barvil v zdravilih v Evropi, je bila direktiva 78/25/EGS. Evropska skupnost se je leta 1977, ko se je pred pogodbo o Evropski uniji imenovala še Evropska gospodarska skupnost, v tej direktivi odločila, da na podlagi izkušenj ni razloga, da ne bi barvila, ki se dodajajo hrani in ki so namenjena uživanju, ne bi uporabljala tudi v zdravilih za humano in veterinarsko uporabo. Ta direktiva je povezala farmacevtske zahteve za uporabo barvil v zdravilih z zahtevami, ki morajo biti izpolnjene za varno uporabo barvil v živilih (14,19).

Evropska skupnost je leta 1994 izdala direktivo Evropskega parlamenta in sveta 94/36/ES o uporabi barvil za uporabo v živilih. Objavila je seznam dovoljenih barvil, ki morajo biti tehnološko potrebna in zdravstveno neoporečna za uporabo v živilih. Prav tako so v direktivi navedli, katerim živilom se ne smejo dajati barvila, katerim se smejo samo pod točno določenimi pogoji in kakšne so mejne vrednosti barvil, ki se smejo dodajati živilom. Poleg tega je Znanstveni odbor za zdravila in medicinske pripomočke podal dodatno mnenje glede

uporabe amaranta, eritrozina, kantaksantina, aluminija in srebra kot barvila za zdravila. Srebro se je izkazalo za neprimerno, zato so ga prepovedali. Direktiva 95/45/ES iz leta 1995 je določila posebna merila čistosti za barvila v živilih in je s svojo uveljavitvijo nadomestila določbe iz leta 1962. To direktivo so nazadnje spremenili leta 2006 (14,20,21).

Komisija evropske skupnosti je decembra 2008 razveljavila direktivo 95/45/ES. Namesto starih določil so sprejeli nove zahteve za čistoto barvil za hrano in sprejeli splošne specifikacije za aluminijeve pigmente. Dve leti kasneje so tudi to direktivo prenovili. Leta 2009 so v direktivi 2009/35/ES obnovili nekaj členov glede uporabe barvil, ki se lahko dodajajo zdravilom za uporabo v humani in veterinarski medicini. To so storili zaradi razlik v zakonodaji med državami članicami EU glede barvanja zdravil, saj so oteževale notranji promet z zdravili. Sprejeli so tudi natančno definirane analizne metode, ki se uporabljajo za preverjanje čistosti barvil. Vsaka država v EU ima svoje regulatorne organe, ki pripravijo seznam dovoljenih barvil v zdravilih. Ena izmed nalog Evropske skupnosti je, da te seznane, ki so med državami članicami EU različni, čim bolj uskladi (22).

Leta 2007 je Evropska agencija za zdravila (EMA) določila smernice za vključitev pomožnih snovi v medicinske pripomočke. V teh smernicah so posebno pozornost namenili barvilom, ki jih uporabljajo v zdravilih za otroke. Barvila, ki imajo dokazana varnostna tveganja (primer so azo barvila), se po mnenju agencije ne bi smela uporabljati v medicinskih pripomočkih za pediatrično uporabo, kadar so izdelki namenjeni le za estetske namene. Te smernice niso zakonsko obvezne, zato se v praksi uporaba sintetičnih barvil v zdravilih za otroke še vedno pojavlja (24).

1.6.2. Zakonodaja v ZDA

Ameriški vladni Urad za prehrano in zdravila (FDA – Food And Drug Administration) je ustanovilo ameriško Ministrstvo za zdravje, poglobljena naloga urada pa je varovanje in promocija javnega zdravja v Združenih državah Amerike (ZDA). Vsako zdravilo, ki ga želijo registrirati na trgu, mora odobriti ta urad, ki hkrati nadzoruje tudi uvoz zdravil v ZDA (25). Skupaj s FDA nadzor nad uporabo aditivov v živilih nadzira tudi Ministrstvo za kmetijstvo (USDA). »Federal Food, Drug, and Cosmetic Act« (FD&C) je niz zakonov, ki jih je leta 1938 sprejel kongres ZDA. S tem zakonikom je kongres Uradu za prehrano in zdravila dal pooblastila za nadzor nad varno uporabo živil, zdravil in kozmetike. Ti zakoni so nadomestili leta 1906 določene zakone glede varnosti živil in zdravil (26).

GRAS

Najbolj znan del tega zakonika je določitev nekaterih barvil, ki so splošno priznana kot varna s strani znanstvenikov (izraz GRAS) in so jih poimenovali certificirana barvila. GRAS je akronim za frazo »Generally Recognized As Safe« - splošno prepoznano kot varno. Ta barvila ne potrebujejo posebne odobritve Urada. Kadar barvilo ni kvalificirano kot varno, potem FDA to barvilo ustrezno preuči, in če ni ustrezno, lahko njegovo distribucijo ustavi. Izraz GRAS na etiketah v Ameriki uporabljajo tudi za druge pomožne snovi in sestavine, ki jih dodajo hrani ali zdravilom (27,28).

Leta 1958 so spremenili niz zakonov, poimenovanih »Federal Food, Drug, and Cosmetic Act«, s klavzulo imenovano »Delaney clause«. Dobila je ime po kongresniku iz New Yorka, Jamesu Delaneyu. Ta klavzula je postavila novo pravilo sekretariata FDA, da se hrani ne sme dodajati noben kemičen aditiv, ki bi izzval morebiten razvoj rakastih celic pri človeku ali živalih (28). FDA zaradi lažje ureditve regulative in označevanja razvršča barvila, ki se smejo dajati živilom in zdravilom, na tista, ki so predmet certifikacije, in na barvila, ki so izvzeta iz certificiranja, oziroma z drugimi besedami – deli jih na certificirana in necertificirana barvila. Za obe skupini barvil so zahtevani strogi varnostni standardi.

CERTIFICIRANA BARVILA

Certificirana barvila so sintetično pridobljena barvila, ki se pogosto uporabljajo, saj živilom in zdravilom dajejo intenzivno barvo, so cenejša in lahko iz njih oblikujejo različne barvne odtenke. Organ FDA jih je razdelil na barvila, ki so v vodi topna (ang. dyes), in na pigmente, ki v vodi niso topni. Certificirana barvila mora pred uporabo odobriti organ FDA in to vsako posamezno serijo posebej. Certificiranje barvil je proces, s katerim FDA ugotovi, ali na novo izdelane serije barvil izpolnjujejo stroge zahteve identitete. Barvila lahko vsebujejo nečistoče, ki zaradi toksikoloških lastnosti lahko povzročijo raka na živalih. Vzorec iz vsake proizvedene serije barvila pregleda laboratorij FDA, ki je zadolžen za certificiranje barvil. Če se izkaže vzorec za skladnega z opisanimi uredbami barvil, potem FDA izda certifikat za posamezno serijo. FDA dodeli tej seriji barvil številko, namen uporabe, ime in naslov lastnika in druge potrebne informacije (29,30).

FDA je med devet certificiranih barvil uvrstila briljantno modro FCF, indigotin, zeleno FCF, eritrozín, alurno rdečo AC, tartrazin, oranžno FCF. Na seznamu sta še dve barvili Orange B in Citrus Red No. 2, ki pa imata omejeno uporabo (26).

Certificirana ali sintetična barvila predstavljajo vir kontroverznosti v ZDA vse od sedemdesetih let prejšnjega stoletja, ko je pediater dr. Benjamin Feingold prvi zatrdil, da

obstaja povezava med otroškim vedenjem in uživanjem sintetičnih barvil. Pri FDA so na podlagi podatkov, ki so bili takrat dostopni, zaključili, da je potrebnih več raziskav. Leta 2007 je prah dvignila tudi raziskava, ki so jo opravili na Univerzi v Southamptonu v Veliki Britaniji. Šest tednov dolga raziskava je pokazala, da določena mešanica barvil povzroča hiperaktivnost pri otrocih, starih 3, 8 in 9 let. FDA je takoj opozorila, da tri individualna barvila iz kritičnega seznama sploh niso dovoljena za uporabo v ZDA, druga pa so dovoljena le, če so njihove posamezne serije certificirane (29).

Necertificirana barvila so barvila, ki izhajajo iz naravnih virov, kot so zelenjava, živali in minerali. Vsebujejo pigmente, ki jih je dala narava, in so navadno dražja od certificiranih barvil. Ta barvila so izvzeta iz postopka certifikacije in jih je veliko več kot certificiranih (26,30).

1.6.3. Zakonodaja v Sloveniji

V Sloveniji ima nadzor nad zdravili Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP). Ta agencija je glavni regulatorni organ, ki izda dovoljenje za promet z zdravilom na podlagi dokazane kakovosti, varnosti in učinkovitosti zdravila, po prihodu na trg pa spremlja poročila o neželenih učinkih. JAZMP lahko trajno ali samo začasno odvzame dovoljenje za promet (31).

JAZMP na podlagi Zakona o zdravilih nadzoruje zakonodajo. Februarja 2014 je državni zbor sprejel nov Zakon o zdravilih (Uradni list RS, št. 17/2014), ki je pričel veljati 22. 3. 2014. Do sprejetja novih podzakonskih predpisov na podlagi novega zakona (to mora minister storiti v roku 18 mesecev) se še naprej uporabljajo predpisi, ki so bili izdani na podlagi prejšnjega zakona, kar velja tudi za Pravilnik o barvilih, ki se smejo dodajati zdravilom (Uradni list RS, št. 86/08) (32). Slednji natančno določa barvila, ki se smejo dodajati zdravilom in predpisuje analizne metode, ki so potrebne za preverjanje čistote omenjenih barvil. Ta pravilnik so kot podrejeni predpis prejšnjega Zakona o zdravilih sprejeli 5. septembra 2008. 3. člen tega pravilnika določa, da se za uporabo v zdravilih lahko uporabljajo enaka barvila kot za uporabo v živilih. Prav zato se za ta barvila uporabljajo enake analizne metode in veljajo enaka merila čistosti kot za barvila v živilih, ki so v skladu z zakonodajo o živilih. Priloga tega pravilnika navaja barvila, ki se smejo uporabljati v zdravilih (6).

Seznam barvil, ki se smejo dodajati zdravilom, je dodan k nalogi kot Priloga 1.

1.7. Varnost barvil kot pomožnih snovi v zdravilih

Toksikološke študije barvil se izvajajo na dnevni bazi pod okriljem organizacij, kakršne sta Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) in FDA. Čeprav barvila ne predstavljajo velike nevarnosti za zdravje ljudi, pa skrb še vedno obstaja zaradi razširjene vsakdanje uporabe v hrani, zdravilih in kozmetičnih izdelkih. Neželeni učinki zdravil so lahko večkrat posledica pomožnih snovi in ne samo zdravilne učinkovine.

Raziskave kažejo, da je večina pomožnih snovi, ki se danes uporabljajo, varnih. Kratica, ki nam označi sprejemljiv dnevni vnos aditiva v organizem, je kratica ADI (Acceptable Daily Intake). Gre za količino aditiva, ki ga človek sme zaužiti vsak dan vse dni svojega življenja, ne da bi pri tem ogrozil svoje zdravje. Učinek aditiva na telo je največkrat odvisen od količine zaužite snovi, vendar pa je pomembna tudi teža osebe, zato izražamo ADI v miligramih na kilogram telesne teže. Medtem ko se kratica ADI uporablja za kemične snovi, ki jih namenoma dajajo v hrano, pa se za ostale kemijske onesnaževalce, ki se v živilih lahko znajdejo kot posledica onesnaževanja okolja, uporablja kratica TDI (Tolerable Daily Intake oz. dopustni dnevni vnos). ADI se določi po pregledu opravljenih poskusov na živalih pod strogim nadzorom regulatornih organov. Najprej v raziskavah na podganah in miših akutno toksičnost določijo glede na količino dodane pomožne snovi, pri kateri je umrlo 50 odstotkov poskusnih živali. Ta odmerek se imenuje smrtni odmerek pri 50 odstotkih ali na kratko LD₅₀. Sledijo trimesečne raziskave, s katerimi si pomagajo pri določitvi še ne popolnoma izraženih učinkov, čemur pravimo subkronična toksičnost. Zadnji del raziskav je najdaljši in traja vsaj dve leti, v tem času pa izmerijo kronično toksičnost. To določijo tako, da skozi daljše časovno obdobje spremljajo neželene učinke (5).

EFSA določi toksikološki parameter ADI. Najprej morajo določiti najvišji testni odmerek, pri katerem niso opazili nobenih negativnih učinkov (NOAEL). Gre za koncentracijo pomožne snovi, ki pri poskusnih živalih ne povzroči nikakršnih okvar kljub vsakdanjemu uživanju celo življenje. Da lahko takšno vrednost prenesemo na človeški organizem, je potrebno NOAEL korigirati še s faktorjem 100, le-ta pa sestoji iz tveganja prenosa raziskav iz živali na človeka (faktor 10) ter iz varnostnega faktorja 10, ki se upošteva zaradi razlik znotraj človeške vrste (5,33,34,35).

$$ADI = \frac{NOAEL}{VF} = \frac{NOAEL}{10 \times 10}$$

ADI = sprejemljiv dnevni vnos (mg/kg telesne teže)

NOAEL = najvišji testni odmerek, pri katerem niso opazili nobenih negativnih učinkov (mg/kg telesne teže)

VF = varnostni faktor

Če se ADI ne preseže, EFSA uporabo aditiva v živilu zagotavlja kot varno. Če se preseže, pa lahko omeji uporabo aditiva ali ga prepove za uporabo. Varnost aditivov, ki so odobreni za uporabo v živilih, je ocenil tudi Znanstveni odbor za živila (SCF). Večino ocen so opravili v zadnjih dveh desetletjih prejšnjega stoletja, zato danes znova preverjajo koncept ADI in izvajajo testiranja toksičnosti. Ponoven pregled naj bi zaključili do leta 2020 (5,33,35).

2. NAMEN DELA

Barvila so v današnjem času nepogrešljivi del živilske in farmacevtske industrije. Dodajajo jih živilom in zdravilom za izboljšanje organoleptičnih lastnosti, biološke uporabnosti, za povečanje compliance idr. Ljudje danes živimo s potrošniško miselnostjo in pri takšni miselnosti je pomembno, da nam je izdelek všeč že na prvi pogled. Barve so tiste, ki nas na izdelkih privlačijo, v nas vzbujajo čustva, barve celo opredeljujemo kot nam ljubše ali manj priljubljene. Prav nič drugače ni pri zdravilih. Barva zdravil je pomembna, saj različne farmacevtske oblike zaužijemo, zato je pomembno, da nas barva zdravila pri tem ne odvrne. Čeprav večina barvil velja za varne, pa jih je nekaj tudi potencialno toksičnih in kancerogenih, če se jih ne uporablja pravilno ali če se preseže njihova dovoljena količina. Takšna barvila lahko povzročajo neželene učinke pri ljudeh; najpogostejši so hiperaktivnost pri otrocih, alergične reakcije, migrena, astma.

Namen diplomskega dela je oceniti varno uporabo barvil v zdravilih, ki so registrirana v Republiki Sloveniji. Naše delo bo obsegalo pregled zakonodaje na področju vsebnosti barvil v zdravilih v Sloveniji, Evropi in Združenih državah Amerike in seznanitev s smernicami za pomožne snovi v zdravilih. Pregledali bomo povzetke glavnih (temeljnih) značilnosti zdravil (SmPC), ki so registrirana v Republiki Sloveniji in so nujna priloga vsakega registriranega zdravila na trgu. Do njih bomo dostopali preko podatkovnih baz Centralna baza zdravil (www.cbz.si) in Draagle (www.draagle.com). Po pregledu teh dokumentov bomo dobili nabor barvil v zdravilih, ki so registrirana v Republiki Sloveniji in med njimi izbrali najpogostejše zastopane. Za slednje bomo v literaturi poiskali podatke in na njihovi osnovi raziskali njihove toksikološke profile. Ti nam bodo dali jasnejši pregled nad varno uporabo barvil v zdravilih, ki so registrirana v Republiki Sloveniji.

Pri raziskovanju bomo preverili tudi naslednje hipoteze:

1. Barvila dodajajo v zdravila, ki so v obliki tablet, kapsul, peroralnih tekočin, dermalnih krem in mazil.
2. Eno zdravilo vsebuje samo eno barvilo.
3. V zdravila pogosto dodajajo netopne pigmente, kakršni so titanov dioksid in železovi oksidi, saj so dobro obstojni na svetlobi.

4. Uporaba barvil v zdravilih za otroke (sirupi, tekoče farmacevtske oblike) je večja kot v zdravilih za odraslo populacijo, saj je pri otroški populaciji sodelovanje pri zdravljenju zelo pomembno za dober končni učinek zdravila.
5. Zdravila z enako zdravilno učinkovino v različnih jakosti se med seboj razlikujejo v dodanem barvilu oz. barvi.
6. V zdravilih je dovoljena samo uporaba barvil, ki ne povzročajo alergij in niso potencialno toksična ali kancerogena.

3. METODE IN MATERIALI

Najprej nas je zanimalo, v kolikšni meri so prisotna barvila v zdravilih, ki so registrirana v Republiki Sloveniji. Zaradi tega nas je delo vodilo do pregleda literature in temeljnih značilnosti zdravil (pregled SmPC-jev). Z iskanjem po literaturi in podatkovnih bazah smo prišli do natančnejših podatkov o prisotnosti barvil v zdravilih. Pri tem smo si pomagali z dvema podatkovnima bazama. Centralna baza zdravil (www.cbz.si) je podatkovna baza, kjer najdemo strokovne podatke o zdravilih (navodilo za uporabo, delovne šifre, proizvajalce, način izdajanja, farmacevtsko obliko, ...). Podatkovno bazo ureja Ministrstvo za zdravje v sodelovanju z Javno agencijo za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP), Zavodom za zdravstveno zavarovanje Slovenije (ZZZS) in Nacionalnim inštitutom za javno zdravje (NIJZ, prejšnji IVZ). Zaradi nepopolnih informacij in nedostopnosti SmPC-jev pri nekaterih zdravilih smo si pomagali tudi s podatkovno bazo Draagle (www.draagle.com), ki podaja splošne medicinske in farmacevtske informacije širši in strokovni javnosti.

S pomočjo omenjenih podatkovnih baz smo pregledali SmPC-je zdravil, pri čemer smo se orientirali predvsem na štiri farmacevtske oblike zdravil, v katerih se barvila pojavljajo: tablete, kapsule, peroralne tekočine in dermalne kreme oziroma mazila. Zaradi lažje obdelave podatkov smo upoštevali le en način pakiranja zdravila z istim odmerkom ZU, saj se v različnih pakiranjih (npr. 2 x 10 tablet v pretisnem omotu, 3 x 10 tablet v pretisnem omotu in 5 x 10 tablet v pretisnem omotu) pojavljajo enake pomožne snovi oziroma enaka barvila. Če je na trgu na voljo eno zdravilo v različnih jakostih, smo pregledali podatke za vsako jakost tega zdravila posebej, saj se lahko v različnih jakostih enakega zdravila pojavljajo ali enaka barvila ali v vsaki jakosti posebej različna barvila. Primer obravnave zdravila je predstavljen v preglednici II.

Preglednica II: Primer obravnave enega zdravila.

	ime zdravila	jakost zdravila	farmacevtska oblika	način pakiranja
1.	Zolrix	2,5 mg	Tableta	Škatla z 28 tabletami
2.	Zolrix	2,5 mg	Tableta	Škatla s 56 tabletami
3.	Zolrix	5 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla z 28 tabletami
4.	Zolrix	5 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla s 56 tabletami
5.	Zolrix	5 mg	Tablete	Škatla z 28 tabletami
6.	Zolrix	5 mg	Tablete	Škatla s 56 tabletami

7.	Zolrix	7,5 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla z 28 tabletami
8.	Zolrix	7,5 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla s 56 tabletami
9.	Zolrix	7,5 mg	Tablete	Škatla z 28 tabletami
10.	Zolrix	7,5 mg	Tablete	Škatla s 56 tabletami
11.	Zolrix	10 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla z 28 tabletami
12.	Zolrix	10 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla s 56 tabletami
13.	Zolrix	10 mg	Tablete	Škatla z 28 tabletami
14.	Zolrix	10 mg	Tablete	Škatla s 56 tabletami
15.	Zolrix	15 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla z 28 tabletami
16.	Zolrix	15 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla s 56 tabletami
17.	Zolrix	15 mg	Tablete	Škatla z 28 tabletami
18.	Zolrix	15 mg	Tablete	Škatla s 56 tabletami
19.	Zolrix	20 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla z 28 tabletami
20.	Zolrix	20 mg	Orodisperzibilne tablete	Škatla s 56 tabletami
21.	Zolrix	20 mg	Tablete	Škatla z 28 tabletami
22.	Zolrix	20 mg	Tablete	Škatla s 56 tabletami

Pri našem eksperimentalnem delu smo se oprli na opisno statistiko. Opisna statistika se uporablja za opis in povzetek podatkov, ki smo jih pridobili v okviru neke študije. Skupaj z grafično analizo in tabelami je ta vrsta statistike osnova skoraj vsake kvantitativne analize podatkov (36).

Podatke, ki smo jih pridobili v okviru našega eksperimentalnega dela, smo v nadaljevanju predstavili procentualno in frekvenčno. Za lažjo predstavbo pa smo jih predstavili tudi grafično v programu Microsoft Office Excel 2010 (Windows). Za največkrat uporabljena barvila v zdravilih smo s pomočjo knjige The Handbook of Pharmaceutical Excipients (2009), spletne baze TOXNET in drugih virov zbrali podatke o njihovi stabilnosti in uporabi. Še posebej veliko pozornost pa smo namenili obdelavi podatkov o varnosti barvil v zdravilih in njihovi izpostavljenosti v populaciji.

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

Da bi ugotovili, katera barvila se v zdravilih največ uporabljajo, smo pregledali sestavo pomožnih snovi 2452 zdravil, registriranih v Sloveniji. Naša prva ugotovitev je bila, da so v navodilih za uporabo in dokumentih SmPC za posamezno zdravilo navedene vse pomožne snovi, ki jih zdravilo vsebuje, niso pa vedno deklarirane količine teh pomožnih snovi v zdravilih. Prišli smo do sklepa, da v pregledanih zdravilih ni presežena z zakonom dovoljena količina barvil, oz. da zaradi uživanja zdravil celokupni dovoljeni dnevni vnos (ADI) ne more biti presežen.

Na slovenskem trgu je prisotnih 22 različnih oblik zdravila Zolrix, mi pa smo jih pregledali 11. Pregledali smo vsako jakost zdravila posebej (2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, ...), vsako različno farmacevtsko obliko enake jakosti enega zdravila (5 mg tablete in 5 mg orodisperzibilne tablete), vendar samo en način pakiranja. Tako smo pregledali 2452 zdravil, od katerih jih 682 ni vsebovalo barvil. Od 1770 zdravil, ki vsebujejo barvila, jih 691 vsebuje 1 barvilo (skupina A), 1079 zdravil pa vsebuje 2 barvili ali več (skupina B).

Na osnovi pregledanih zdravil smo želeli ugotoviti, katera so najpogostejše uporabljena barvila in v katerih farmacevtskih oblikah so v največji meri prisotna. Po uvodnem pregledu literature smo oblikovali hipotezo, da se barvila dodajajo v tablete, kapsule, peroralne tekočine in v dermalne kreme in mazila. V tem obsegu smo si tudi določili eksperimentalni načrt pregleda zdravil. Pregledali smo 72 dermalnih izdelkov in samo v enem našli barvilo titanov dioksid.

Gre za kremo Elocom, ki se uporablja za lokalno zdravljenje nekaterih vnetnih bolezni.

Večina dermalnih izdelkov je bele barve. V primeru Elocoma belino izdelka zagotavlja titanov dioksid, v ostalih kremah in mazilih pa dobre organoleptične lastnosti zagotavljajo druge pomožne snovi v izdelku. Sklepali smo, da zaradi uporabe na koži ni potrebno dodajati barvil, da bi bil izdelek še sprejemljivejši za uporabnika. Neprivlačen izgled večinoma moti pri izdelkih, ki jih zaužijemo peroralno, saj lahko neprivlačna barva zdravila močno poslabša komplanco pri peroralnem vnosu v telo. Pri dermalnih kremah in mazilih ni toliko pomembna možnost ločevanja, saj bolnik pri zdravljenju večinoma na en predel kože nanese le eno zdravilo naenkrat. Prvo postavljeno hipotezo smo z rezultati potrdili, saj barvila dodajajo v zdravila, ki so v obliki tablet, kapsul, peroralnih tekočin in dermalnih krem in mazil. Pri tem pa je potrebno poudariti, da je uporaba barvil v dermalnih kremah in mazilih zelo redka (pojavnost barvila v 1 dermalnem izdelku od 72).

Ovrgli smo drugo hipotezo, ki smo jo na začetku oblikovali in se glasi, da eno zdravilo vsebuje samo eno barvilo. Pregled zdravil nam je pokazal, da eno zdravilo lahko vsebuje eno

barvilo ali kombinacijo dveh ali več barvil, ki skupaj dajejo želeno barvo zdravilu. V slabi tretjini pregledanih zdravil pa barvila sploh niso bila dodana, to je v 682 zdravilih (27,8 %). Od 2452 zdravil jih je 691 vsebovalo samo eno barvilo, 1079 pa dve ali več različnih barvil. Zaradi lažje nadaljnje obravnave smo podatke analizirali v dveh skupinah. Ena skupina zdravil v svoji sestavi vsebuje samo eno barvilo (skupina A), druga skupina zdravil vsebuje dve ali več različnih barvil (skupina B).

4.1. PREGLED ZDRAVIL, V KATERIH JE SAMO ENO BARVILO (skupina A)

691 zdravil (28,2 %) je vsebovalo eno barvilo v svoji sestavi. Daleč najpogosteje uporabljeno barvilo je titanov dioksid, ki se pojavlja v 71,92 % pregledanih zdravilih z enim barvilom. Sledita mu rdeč in rumen železov dioksid. Pogosto uporabljena barvila v zdravilih so tudi indigotin, oranžno FCF in kinolinsko rumeno.

Velika uporaba netopnih pigmentov v zdravilih, kakršni so titanov dioksid in železovi oksidi, je bila po temeljitem pregledu literature pričakovana, saj imajo koristno lastnost, da izboljšajo stabilnost izdelka na svetlobi, zato smo lahko s temi rezultati potrdili predhodno oblikovano hipotezo o pogosti uporabi netopnih pigmentov v zdravilih.

Preglednica III prikazuje najpogostejša barvila, ki so zastopana v zdravilih, registriranih v RS, in ki vsebujejo samo eno barvilo.

Preglednica III: Najpogosteje uporabljena barvila v zdravilih, ki vsebujejo eno barvilo.

barvilo	frekvenca	odstotek
titanov dioksid (E171)	497	71,92%
rdeč železov oksid (E172)	50	7,24%
rumen železov oksid (E172)	42	6,08%
indigotin (E132)	24	3,47%
oranžno FCF (E110)	21	3,04%
kinolinsko rumeno (E104)	12	1,74%
eritrozín (E127)	11	1,59%
kalcijev karbonat (E170)	8	1,16%
železovi oksidi – nedoločeni (E172)	6	0,87%
črn železov oksid (E172)	3	0,43%
rjav železov oksid (E172)	3	0,43%

rdeče 4R (E124)	3	0,43%
bakrovi kompleksi klorofilov in klorofilinov (E141)	3	0,43%
azorubin (E122)	2	0,29%
riboflavin (E101)	1	0,14%
karoteni (E160a)	1	0,14%
karamel (E150)	1	0,14%
tartrazin (E102)	1	0,14%
karminska kislina (E120)	1	0,14%
modro V (E131)	1	0,14%
skupaj	691	100,00%

4.2. PREGLED ZDRAVIL, V KATERIH STA DVE ALI VEČ BARVIL (skupina B)

V dobri tretjini pregledanih zdravil sta bili prisotni najmanj 2 barvili (1079 zdravil oziroma 44,0 %). Pri pregledu slednjih smo zasledili 140 različnih kombinacij barvil, ki smo jih frekvenčno predstavili v preglednici IV.

Najbolj pogosta kombinacija barvil je titanov dioksid/rumen železov oksid/rdeč železov oksid, sledita kombinaciji titanov dioksid/rumen železov oksid in titanov dioksid/rdeč železov oksid. Pogosto se v različnih kombinacijah barvil pojavljata tudi barvili indigotin in črn železov oksid. Slednji je v večini primerov prisoten v tiskarskem črnilu, ki ga uporabljajo za tisk na zdravila.

Preglednica IV: Frekvenčno predstavljene kombinacije različnih barvil v zdravilih.

kombinacije barvil	frekvenca
titanov dioksid/rumen železov oksid/rdeč železov oksid	190
titanov dioksid/rumen železov oksid	151
titanov dioksid/rdeč železov oksid	126
titanov dioksid/indigotin	78
titanov dioksid/rumen železov oksid/rdeč železov oksid/črn železov oksid	70
titanov dioksid/kinolinsko rumeno	46
titanov dioksid/rdeč železov oksid/črn železov oksid	36
titanov dioksid/indigotin/rumen železov oksid	30

titanov dioksid/železov oksid	23
titanov dioksid/črn železov oksid	20
rumen železov oksid/rdeč železov oksid	20
titanov dioksid/rumen železov oksid/ črn železov oksid	14
titanov dioksid/oranžno FCF	13
titanov dioksid/kalcijev karbonat	11
titanov dioksid/modro FCF	10
titanov dioksid/indigotin/kinolinsko rumeno	9
titanov dioksid/indigotin/rdeč železov oksid/rumen železov oksid/črn železov oksid	9
titanov dioksid/karminska kislina	8
titanov dioksid/indigotin/rumen železov oksid/rdeč železov oksid	7
titanov dioksid/indigotin/rdeče AC/oranžno FCF	7
titanov dioksid/rjav železov oksid	6
titanov dioksid/indigotin/črn železov oksid	6
titanov dioksid/indigotin/rumen železov oksid/črn železov oksid	6
titanov dioksid/indigotin/azorubin/rumen železov oksid/rdeč železov oksid	5
titanov dioksid/indigotin/karminska kislina	5
titanov dioksid/modro V/oranžno FCF/kinolinsko rumeno	4
titanov dioksid/indigotin/železov oksid	4
titanov dioksid/indigotin/karminska kislina/rumen železov oksid	4
titanov dioksid/eritrozín	4
indigotin/rumen železov oksid	4
titanov dioksid/modro V	4
titanov dioksid/oranžno FCF/rdeč železov oksid	4
titanov dioksid/oranžno FCF/rumen železov oksid	4
titanov dioksid/rdeče 4R/kinolinsko rumeno/rumen železov oksid/rdeč železov oksid/črn železov oksid	4
titanov dioksid/eritrozín/rumen železov oksid	3
titanov dioksid/oranžno FCF/kinolinsko rumeno	3
titanov dioksid/modro V/azorubin	3
titanov dioksid/kalcijev karbonat/bakrovi kompleksi klorofilov in klorofilinov	3

rumen železov oksid/rdeč železov oksid/črn železov oksid	3
indigotin/kinolinsko rumeno	3
titanov dioksid/kinolinsko rumeno/rumen železov oksid/rdeč železov oksid	3
titanov dioksid/kinolinsko rumeno/rumen železov oksid	3
titanov dioksid/modro V/rdeč železov oksid	2
titanov dioksid/rdeče 4R	2
titanov dioksid/eritrozín/rdeč železov oksid	2
titanov dioksid/črno PN/azorubin/oranžno FCF	2
rdeče 4R/oranžno FCF	2
črno PN/modro V	2
titanov dioksid/bakrovi kompleksi klorofilov in klorofilinov	2
titanov dioksid/indigotin/oranžno FCF/kinolinsko rumeno	2
titanov dioksid/indigotin/modro V/eritrozín	2
titanov dioksid/indigotin/modro V/eritrozín/črn železov oksid	2
titanov dioksid/modro V/črn železov oksid	2
titanov dioksid/tartrazin/rumen železov oksid	2
titanov dioksid/indigotin/oranžno FCF/rdeč železov oksid	2
rdeč železov oksid/črn železov oksid	2
titanov dioksid/modro FCF/kinolinsko rumeno/rumen železov oksid	2
ostale kombinacije (pojavnost po 1 frekvenco)	83
skupaj	1079

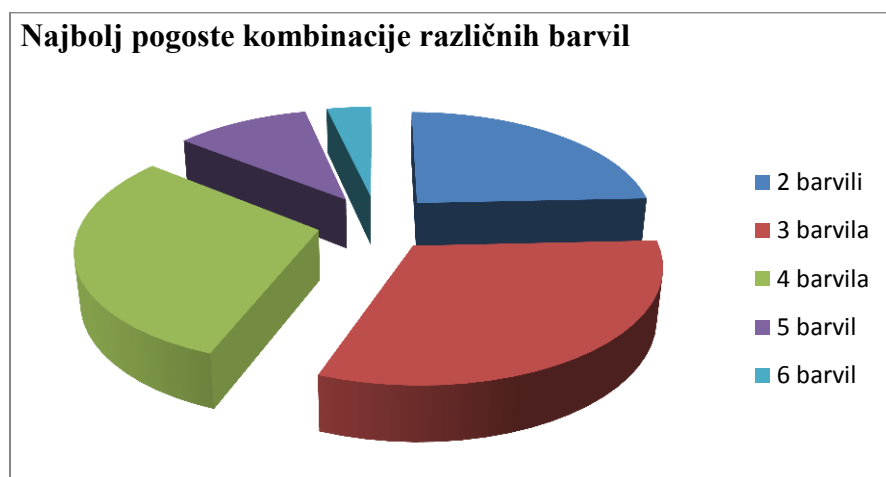
Grafični prikaz najpogostejše uporabljenih kombinacij različnih barvil v zdravilih je dodan k nalogi v Prilogi 2.

V enem zdravilu smo zasledili največ 6 različnih barvil, najbolj pogosta pa je kombinacija 3 ali 4 različnih barvil v enem zdravilu. Preglednica V frekvenčno prikazuje pojavnost različnega števila barvil v enem zdravilu, grafični prikaz pa podaja graf 1.

Preglednica V: Frekvenčni prikaz pojavnosti različnega števila barvil v enem zdravilu.

število barvil v enem zdravilu	frekvenca
2	34
3	44
4	42
5	15
6	5
skupaj	140

Graf 1: Najbolj pogoste številčne kombinacije različnih barvil.



Ugotovili smo že, da barvila večinoma dodajajo v peroralne/oralne FO zdravil. Več različnih barvil dodajo, da pridobijo želeni ton barve, ki izboljša organoleptične lastnosti in posledično izboljša complianco. Eden izmed razlogov za uporabo večih barvil v enem zdravilu je tudi pridobitev idealnih lastnosti zdravila, ki pa jih eno samo barvilo ne more zagotoviti.

Titanov dioksid se v zdravilih lahko nahaja sam ali v kombinaciji z drugimi barvili. Ta beli pigment ima visok refrakcijski indeks in sposobnost povečanja opacitete. Zagotavlja belino in motnost zdravilu, s tem pa zdravilo tudi zaščiti pred svetlobo. Ker poglobi in fiksira tone drugih barvil, se pogosto uporablja v kombinaciji z drugimi barvili, najpogosteje z železovimi oksidi. Slednji so dobro stabilni na svetlobi in odporni na visoke temperature, ki se lahko

pojaviijo skozi tehnološki postopek ali v različnih vremenskih razmerah med distribucijo zdravil po svetu (2,14). Rezultati, do katerih smo prišli pri analizi skupine B, nam tako dodatno potrjujejo tretjo hipotezo o pogosti uporabi netopnih pigmentov v zdravilih.

PERORALNE TEKOČINE

Pri analizi rezultatov smo bili presenečeni nad precej manjšo uporabo barvil v peroralnih tekočinah, kot smo sprva predvidevali. Medtem ko barvila dodajajo v dve tretjini tablet in kapsul, pa je odstotek barvil v tekočih peroralnih FO precej manjši. Slednje uporabljamo, kadar ima bolnik težave s požiranjem. Ciljna skupina bolnikov, katerim so namenjeni ti izdelki, so starejši ljudje in otroci. Peroralne tekočine uporabljamo tudi takrat, kadar mora zdravilo delovati lokalno v ustni votlini, žrelu ali prebavilih. Posebej viskozne peroralne tekočine imajo dobro lastnost, da prekrijejo sluznico in delujejo lokalno.

Pregledali smo 92 različnih peroralnih tekočin, od tega pa jih je samo slaba tretjina (25 peroralnih tekočin) vsebovala eno ali največ dve barvili. To je občutno manj kot pri tabletah in kapsulah, kjer se barvila pojavljajo pri dveh tretjinah zdravil. Veliko peroralnih tekočin je namenjenih prav otrokom, pri katerih pomembno vlogo igrajo izboljšane organoleptične lastnosti. Starši otroke lažje prepričajo v zaužitje zdravila, če je le-ta lepe barve in dobrega okusa. Kljub temu pri otroških sirupih in ostalih peroralnih tekočinah niso barvila tako pogosta, kot smo pričakovali, ko smo oblikovali četrto hipotezo. Slednjo lahko zato ovržemo. Pojavnost barvil v zdravilih za otroke je manjša kot v zdravilih za odraslo populacijo za približno 30 %.

Pri peroralnih tekočih FO smo zasledili v enem izdelku samo eno ali največ dve različni barvili. Razlog za to je v tem, da te FO vsebujejo veliko arom. Arome so po pravilniku o aromah »aromatične snovi, aromatični pripravki, procesne arome, arome dima in njihove mešanice, ki se dodajajo živilom z namenom dodajanja vonja in okusa« (37). Pri proizvodnji teh arom se lahko dodajajo tudi barvila in ostali aditivi in tako imajo dodane arome že svojo specifično barvo, vonj in okus, kar pomembno izboljša organoleptične lastnosti zdravila. Ker so večini peroralnih tekočin dodane arome, dodatna barvila večinoma niso potrebna. V navodilih za uporabo zdravil natančnejše sestave o dodanih aromah nismo našli, ker zakonsko to tudi ni potrebno (37). Ker so arome znane po specifičnih okusih, nas je zanimalo še, kako je z okusom in vonjem pri barvilih. Predvsem naravna barvila so tista, ki lahko poleg barve zdravilom dajo tudi okus in vonj, nekatera celo kalorije. Okus in vonj lahko pripadata barvilu samemu ali pa nečistotam, ki so v barvilih prisotne. Količine dodanih barvil v živilih in zdravilih so zelo majhne, tako da njihovega okusa in vonja ni zaznati. V kozmetični industriji,

kjer v izdelke dodajajo večje količine barvil, lahko lastnosti barvil, kakršna sta vonj in okus, predstavljajo težave (38).

Ker so otroci še posebej občutljiva skupina bolnikov, številni znanstveniki opozarjajo na študije, ki dokazujejo, da azo barvila v živilih in zdravilih lahko povzročijo hiperaktivnost otrok. Ameriška in evropska zakonodaja uporabo azo barvil v zdravilih za otroke ne prepoveduje, leta 2008 je Evropski parlament sprejel le uredbo, ki narekuje, da morata biti na ovojnini živil in zdravil, ki vsebujejo azo barvila, napisani opozorili »*Lahko povzroči alergijske reakcije*« in »*Lahko ima neželen vpliv na aktivnost in pozornost pri otrocih*« (11).

4.3. NAJPOGOSTEJE ZASTOPANA BARVILA V ZDRAVILIH

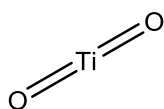
Pri pregledu zdravil smo naleteli na obširno paleto barvil ali kombinacijo barvil, ki se uporabljajo pri izdelavi farmacevtskih izdelkov. Naloga, ki smo si jo zadali na začetku, je, da podrobneje pregledamo varnost barvil, ki se najpogosteje uporabljajo pri izdelavi zdravil, ki so registrirana v Republiki Sloveniji. Pri teh barvilih smo raziskali njihovo stabilnost, vpliv na organizem, varnost in izpostavljenost bolnikov tem barvilom. Želeli smo določiti barvila, ki imajo največ neželenih učinkov na človekov organizem, in barvila, ki so najvarnejša za uporabo v zdravilih, ter nato primerjati njihovo varnost v preiskovanih zdravilih. Odločili smo se za opis štirih najpogosteje zastopanih barvil v zdravilih – titanov dioksid, železovi oksidi, indigo karmin in oranžno FCF. Podrobneje smo želeli raziskati tudi predstavnika barvil z največjim številom neželenih oz. toksičnih učinkov. Izbrali smo eritrozin, ker se je kot samostojno barvilo pojavilo v 11 zdravilih, v kombinaciji z drugimi barvili pa v 26 zdravilih, kar predstavlja bistveno večjo pojavnost od drugih toksičnih barvil. Eritrozin smo našli v skupno 37 zdravilih, kar predstavlja dobra 2 % vseh pregledanih zdravil, ki vsebujejo barvila. Vrstni red toksikoloških profilov izbranih barvil, ki smo jih zapisali v nadaljevanju, ustreza pojavnosti teh barvil v zdravilih (od najpogosteje uporabljenega titanovega dioksida do redko uporabljenega eritrozina).

4.3.1. TITANOV DIOKSID – E171

Osnovni podatki

Bel, amorfen in nehigroskopen (nase ne veže vlage iz okolja) prah brez vonja in okusa. Poznamo ga v več različnih kristaliničnih oblikah: rutil, anataz in brukit. Obliki rutil in anataz sta pomembni za komercialne namene. Medtem ko je oblika rutil termodinamsko bolj stabilna, pa v farmacevtski industriji pogosteje uporabljajo kristalinično obliko anataz (14).

Struktura



Empirična formula: TiO_2

Uporaba

Uporablja se kot barvilo, sredstvo za oblogo, povečevalec motnosti. Je najbolj pogosto uporabljeno barvilo, saj daje filmsko obloženim tabletam in želatinastim kapsulam značilno belo barvo. Uporablja se za povečanje motnosti v izdelkih, kot so papir, hrana, zdravila in zobne paste, ter za zgoščevanje teksture kozmetičnih izdelkov. V obliki belega prahu tem izdelkom zagotavlja belino ali večjo motnost, ki je zaželena. Uporablja se tudi pri pečenju slaščic, v živilski industriji, v industriji plastike. Zaradi svojega visokega lomnega količnika (refrakcijskega indeksa) ima lastnosti, ki lahko vplivajo na sipanje svetlobe. S spreminjanjem velikosti delcev titanovega dioksida lahko spreminjamo obseg razpršene svetlobe.

Absorbiranje širokega spektra UV sevanja je pomembna lastnost titanovega dioksida in zaradi te lastnosti ga uporabljajo v dermatoloških izdelkih v kozmetični industriji. V izdelkih za zaščito pred soncem je ena najpomembnejših sestavin, saj absorbira, odbija in razprši UVA in UVB sončne žarke, pred soncem pa ščiti tudi kot fizična ovira. Titanov dioksid lahko zmešamo z drugimi barvnimi pigmenti, da ustvarimo zelene pastelne odtenke barv ali da barvo fiksiramo. Zaradi njegovih reflektivnih lastnosti ga uporabljajo v industriji zrcal in dragih kamnov, saj ima sposobnost povečanja sijaja. Vgrajujejo ga v prevleke proti megljenju na oknih, gradbene materiale in elektronske naprave. Deluje tudi antibakterijsko, v medicini ga uporabljajo celo za povezavo umetnih kosti in vsadkov (14,39,40).

Izpostavljenost

Titanov dioksid se šteje kot relativno neškodljiv prah, ki pa lahko draži dihala. V Veliki Britaniji je za dolgoročno (8-urna) izpostavljenost na delovnem mestu omejitev 10 mg/m^3 za celokupni inhaliran prah in 4 mg/m^3 za celokupni vdihan prah. Študije so pokazale, da delci titanovega dioksida v velikosti 500 nm prehajajo v vse večje telesne organe podgane po peroralnem zaužitju (14).

Varnost

Titanov dioksid velja kot inertna in varna snov, ki se v različnih proizvodih uporablja že

desetletja. Vendar pa je bil že večkrat predmet polemik, saj je substanca stara skoraj toliko kot Zemlja sama. Spada med najpogostejših petdeset kemikalij, ki jih izdelujejo in uporabljajo po vsem svetu. Prvič so ga v komercialnih proizvodih uporabili leta 1923, danes pa ga letno svetovna industrija porabi slabih pet milijonov ton. Zaradi njegove široke uporabe prihajamo ljudje z njim v stik prav vsak dan.

Titanov dioksid (TiO_2) uporablja industrija v dveh oblikah, ena je pigmentna oblika, drugo pa najdemo v obliki nanodelcev. Veliko dlje časa se uporablja pigmentna oblika, saj so nanodelci postali uporabnejši šele z razvojem modernih tehnologij. Od leta 1923 pa do danes je bilo opravljenih veliko raziskav, v katerih so odkrivali tveganje za obolenje z rakom ali kakršne koli druge škodljive učinke na telo človeka zaradi izpostavljenosti TiO_2 . Tako FDA kot tudi EU sta pigmentni TiO_2 ocenili kot varno sestavino in razglasili, da ni kancerogen in da ne prodira v kožo, kar pa ne velja za nanodelce titanovega dioksida. Z razvojem nanotehnologije so nanodelci TiO_2 pridobili številne nove in uporabne lastnosti, zato se le-ti iz leta v leto vse več proizvajajo in uporabljajo. V prihodnjih letih strokovnjaki pričakujejo vedno večjo izpostavljenost ljudi nanodelcem TiO_2 , še posebej pa je skrb upravičena pri delavcih v obratih, kjer proizvajajo TiO_2 . Delavci vdihavajo prašne delce, zato so v teh industrijskih obratih stroga varnostna pravila in ukrepi. Ker se TiO_2 v strukturo izdelkov močno veže in ker so prahu TiO_2 izpostavljeni le določeni delavci v industrijskih obratih, potencialno toksičen vpliv TiO_2 za širšo javnost naj ne bi predstavljal tveganja za zdravje (14,39,40,41).

Čeprav je TiO_2 dovoljen v prehrani in farmacevtskih izdelkih kot aditiv E171, ni znanih dovolj informacij o njegovi absorpciji, distribuciji, eliminaciji in toksičnosti pri peroralnem vnosu v telo. Tudi če je na izdelku označeno, da vsebuje E171, ni informacije o količini, velikosti delcev in strukturi. V živilski industriji se lahko varno uporablja kot barvilo za barvanje živil v količini do 1 % glede na maso izdelka. Med potrošniki je dobro sprejet, saj velja kot »naravno« barvilo. Na široko se uporablja tudi v zdravilih, informacije o njegovi toksičnosti in distribuciji ob peroralni izpostavljenosti pa so zelo skope.

Gastrointestinalni trakt je kompleksna bariera in najpomembnejša pot skozi katero lahko makromolekule vstopijo v telo. Glavna absorpcija poteka skozi resice in mikroviluse v epiteliju tankega in debelega črevesa, ki imata skupno površino okoli 200 kvadratnih metrov. Že leta 1922 so ugotovili, da se lahko delci absorbirajo iz lumna črevesja preko limfe v limfni ali krvni obtok. Študije na živalih so pokazale, da so se delci TiO_2 zadržali v tkivu jeter, vranice, ledvic in pljuč, kar je bil dokaz, da lahko delci iz prebavnega trakta preidejo v druge organe. Čeprav so bile živali izpostavljene visokim odmerkom, niso opazili akutne

toksičnosti. Absorpcijo so dokazali tudi pri ljudeh, vendar so bili le-ti izpostavljeni visokim in nerealnim koncentracijam.

Ocenili so, da je povprečna izpostavljenost človeka TiO_2 iz hrane, zdravil in zobne paste 5 mg na dan. To je veliko manjši odmerek od tistega, ki je v študijah na živalih pokazal toksične učinke. Trenutno še ni podatkov, kakšen delež se absorbira v odmerkih, katerim smo vsak dan izpostavljeni, prav tako niso znane količine tega pigmenta, ki bi škodile pri doživljenjski peroralni izpostavljenosti (41).

Nanodelci titanovega dioksida

Nanodelci so definirani kot delci, katerih velikost je vsaj za eno dimenzijo manjša od 100 nm, s prostim očesom jih ne vidimo. Čeprav so mikrodenci in nanodelci TiO_2 kemijsko identični, pa lahko nanodelci zaradi svoje večje specifične površine izražajo drugačne fizikalne in kemijske lastnosti in so zato kemijsko bolj reaktivni. To je možno izkoristiti, saj nanodelce TiO_2 zaradi svojih lastnosti uporabljajo kot katalizatorje, v vodo-odbojnih prevlekah, kozmetiki, zdravilih idr. Takšna snov ima lahko zaželeno biološko aktivnost (sposobnost prodiranja skozi celične ovire za dovajanje zdravila), nezaželeno lastnost (indukcijo oksidativnega stresa, celično disfunkcijo) ali mešanico teh lastnosti. Prav zaradi tega so znanstveniki iz celega sveta vzeli pod toksikološki pregled nanodelce in izkazalo se je, da so škodljivi učinki nanodelcev TiO_2 posledica oksidativnega stresa, ki lahko povzroči poškodbo celic, genotoksičnost, vnetje, povečan imunski odziv. **Kot barvilo za hrano in zdravila se nanodelci TiO_2 ne uporabljajo (41).**

V zadnjih desetletjih je kožni rak postal najpogostejša neoplastična bolezen pri belih prebivalcih v Evropi, Severni Ameriki in Avstraliji. Kot posledica opozoril pred nastankom te bolezni je postala zaščita pred soncem in razvoj krem za zaščito pred soncem pravi trend, v katerem se uporabljajo kot zaščita organski in anorganski UV filtri. Ocenjujejo, da se v kozmetiki za zaščito pred soncem po celem svetu na leto porabi okoli 1000 ton nanodelcev TiO_2 . Slednjega v kremah za zaščito pred soncem uporabljajo vse od leta 1952. Ker TiO_2 ne draži, je leta 2000 nekdanja Evropska znanstvena komisija za kozmetične in neživilske izdelke (SCCNFP) analizirala podatke in sklenila, da nanodelci in pigmentni TiO_2 ne prodirajo skozi nepoškodovano in poškodovano kožo, dokler koncentracija v izdelku ne preseže 25 %. Zato je TiO_2 v EU sprejet kot edini anorganski UV filter, ki je dovoljen v koncentracijah do 25 %.

TiO₂ delci v velikosti med 200 in 500 nm so neprozorni in delujejo kot fizična zaščita pred soncem, če jih nanesemo na kožo. Kreme navadno vsebujejo kristalno obliko rutil, ki je manj fotoaktivna kot anataz. Opravili so študije na živalih, na koncu pa so izračunali, da so v dermisu kože opazili nanodelce, ki so predstavljali le 0,00008 % celotne nanesene količine nanodelcev na kožo (41).

Študije *in vitro* na modelu kože so pokazale, da TiO₂ ne prodre skozi zdravo kožo, ne doseže vitalnih kožnih celic in tako ne pride do distribucije v druge organe in tkiva. Vendar pa so podatki o penetraciji po dolgotrajni izpostavljenosti in v prisotnosti UV svetlobe nezadostni za zaključek o toksičnosti. Zato tukaj ni preprostega odgovora na vprašanje o varni uporabi TiO₂ v kremah za zaščito pred soncem. Varnost v kozmetiki večinoma opravičijo z dejstvom, da se uporablja že desetletja brez škodljivih učinkov na zdravje ljudi. S tem se ne bi popolnoma strinjali, ker zdravstvenega nadzora na trgu ni in ker do sedaj niso bile opravljene nobene epidemiološke študije (41). Vsem je znano, da dolgotrajna izpostavljenost soncu izzove kožnega raka. Na trgu podjetja s kremami za zaščito pred soncem dejansko spodbujajo ljudi k izpostavljenosti soncu, namesto da bi jim svetovali, naj izpostavljenost soncu primerno časovno omejijo.

Inhalirani nanodelci TiO₂ lahko vstopijo v alveole pljuč in posledično v krvni obtok, kjer se prenesejo do drugih organov. Nanodelci TiO₂ naj bi povzročili hujše poškodbe in vnetja kot enak odmerek mikrododelcev TiO₂. Večjo toksičnost nanodelcev povezujejo z večjo površino in kristalno strukturo. Pri kronično izpostavljenih podganah naj bi mikrododelci in nanodelci TiO₂ povzročali pljučne tumorje, medtem ko pri kronično izpostavljenih miših in hrčkih povečane pojavnosti pljučnih tumorjev ni bilo. Te očitne razlike med vrstami kažejo na to, da je pojav tumorjev pri podganah lahko specifičen pojav, zato so znanstveniki zaključili, da študije na podganah ne bi smeli popolnoma ekstrapolirati na tveganje za raka pri ljudeh. Več primerov je bilo opisanih, ko so opazili škodljive učinke na zdravje delavcev, ki so na delovnem mestu izpostavljeni prahu TiO₂. Takšnim delavcem se v pljučih zadržujejo delci, katerim so bili izpostavljeni. V večini primerov je bil odgovor blago lokalno vnetje, v enem primeru pa so poročali o papilarnem adenokarcinomu in povezani pnevmokoniozi (poklicni boleznj pljuč) 53-letnega delavca, ki je v službi 13 let pakiral TiO₂, 40 let pa je bil tudi aktiven kadilec. Epidemiološke študije v ZDA in Kanadi pri izpostavljenih delavcih niso pokazale tveganja za pljučnega raka, medtem ko je študija v šestih evropskih državah pokazala majhno, vendar pomembno tveganje za razvoj pljučnega raka pri moških delavcih v industriji TiO₂ v primerjavi s splošno populacijo. Tudi zaradi teh analiz je Mednarodna agencija za

raziskovanje raka (IARC) leta 2006 TiO_2 uvrstila v skupino »2B rakotvornih snovi«, kar pomeni, da je TiO_2 možno rakotvoren za ljudi, ki so izpostavljeni vdihavanju teh delcev. Kancerogena oziroma rakotvorna je tista snov, ki lahko povzroči strukturno in funkcionalno spremembo celic in s tem pospeši nastanek rakavih celic. Slednje so znane kot hitro rastoče celice, ki jih lahko prevzamejo še okoliška tkiva. Delovna skupina te agencije je sicer zaključila, da epidemiološke študije niso zagotovile dovolj dokazov za rakotvornost pri človeku, so pa bili rezultati študij na živalih dovolj za razvrstitev v kategorijo 2B. Vdihavanje TiO_2 skozi nos je torej najbolj nevarno človeškemu organizmu (41).

4.3.2. *ŽELEZOVİ OKSIDİ – E172*

Osnovni podatki

Ljudje so že v prazgodovini barvali svoje obraze, telesa in predmete v okolici. Oker rumena, rjava in rdeča so bile barve, ki so jih ljudje že v prazgodovini dobili iz svoje okolice in kasneje so ugotovili, da so ta naravna barvila večinoma železovi oksidi. Definirani so kot anorganski pigmenti, ki so sestavljeni iz kombinacije sintetično pripravljenih železovih oksidov, vključno s hidratnimi oblikami. Gre za sintetično rjo, ki se pridobiva preko reakcij obarjanja vodne raztopine železovega sulfata. Dobimo fine delce, ki imajo veliko moč obarvanja (41,42).

Železovi oksidi se pojavljajo v obliki rumenega, rdečega, črnega in rjavega prahu. Barva je odvisna od velikosti, oblike in kristalne strukture. Rumeni in oranžni toni železovega (III) oksida se razlikujejo glede na različno vsebnost kristalne vode. Rdeči železov oksid nastane zaradi izhlapevanja vode pri segrevanju rumenega železovega oksida, to pa poteka pri temperaturah od 180 do 800 stopinj Celzija. Črni železov oksid je mešanica železovega (II) in železovega (III) oksida. Barve rjavih železovih oksidov so odvisne od razmerja nanosov železovega (II) in (III) oksida in od nečistot, zlasti manganovega oksida.

Železovi oksidi so po zaužitju v hrani in zdravilih na drugem mestu, takoj za titanovim dioksidom. Izkazujejo odlično stabilnost na vročini in svetlobi. Uporabljajo jih v postopkih, kjer so prisotne visoke temperature, saj so v teh pogojih železovi oksidi dobro stabilni (14,42,43).

Struktura

Poznamo 3 najpomembnejše barve železovih oksidov, ki se med seboj razlikujejo:

- a) Črni železov oksid ali magnetit - Fe_3O_4
- b) Rdeč železov oksid - Fe_2O_3
- c) Rumena železov oksid: monohidrat - $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$
hidrat - $\text{Fe}(\text{OH})_3$

Uporaba

Železovi oksidi se uporabljajo v kozmetični, prehranski in farmacevtski industriji kot barvila in absorberji UV žarkov. Kot anorganska barvila dobivajo vedno večji pomen zaradi omejitev drugih sintetičnih organskih barvil. Kljub temu je uporaba železovih oksidov v nekaterih državah omejena zaradi omejene serije barv in abrazivnosti (14).

Izpostavljenost

V Veliki Britaniji je lahko uslužbenec na delovnem mestu dolgoročno (8 ur) izpostavljen maksimalno 5 mg/m^3 delcem železovega oksida, kratkoročno (4 ure) pa 10 mg/m^3 (14).

Varnost

Železovi oksidi veljajo za varne, kemično in fiziološko inertne snovi. Izpolnjujejo večino kriterijev, s katerimi definiramo **idealno farmacevtsko barvilo**. Splošno so priznani kot netoksični aditivi, ki ne iritirajo (14). Posebnih študij o toksičnosti železovih oksidov, ki se kot aditivi uporabljajo v hrani in zdravilih, ni na voljo. Obstajajo številne raziskave, kjer so raziskovali vpliv železa na telo pri vdihavanju, subkutani ali intramuskularni aplikaciji. Železova ruda v prahu ima kancerogen učinek, kadar smo izpostavljeni njenemu vdihavanju. Toksikoloških preiskav različnih železovih oksidov in hidroksidov, ki se uporabljajo kot barvila, pa na živalih niso opravili. Kljub obsežnemu znanju o fizioloških in farmakoloških učinkih drugih oblik železa pa teh podatkov ni mogoče ekstrapolirati na železove okside, ki se uporabljajo kot barvila. Znano je, da so železovi oksidi strupeni le v zelo velikih količinah, ki pa jih ne moremo zaužiti s hrano ali zdravili (44).

5 mg/m^3 je masa delcev železovega oksida, ki jo delavci pri svoji poklicni izpostavljenosti še lahko vdihnejo na dan. Ta vrednost naj bi zmanjšala možnost za nespecifične vnetne odzive in razvoj sprememb pri dolgotrajni izpostavljenosti vdihavanju železovega oksida. Na prvi pogled nenevarna pnevmokonioza je poklicna bolezen pljuč, ki nastane po kroničnem vdihavanju prahu ali dražljivih plinov. Gre za reakcijo tkiva po izpostavljenosti prahu, tudi železovemu oksidu, v daljšem časovnem obdobju, vendar pa ni dokazov, da je sam železov oksid v zraku dovolj, da povzroči fibrozne spremembe (45).

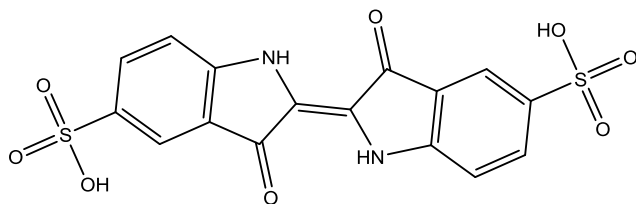
4.3.3. INDIGO KARMIN, INDIGOTIN - E132

Osnovni podatki

Gre za temno moder prah, čigar vodne raztopine so modre ali modro-vijolične barve.

Indigo karmin je barvilo rastlinskega izvora iz vrst dreves iz rodu *Indigofera*. Vsebuje glikozid indikan, danes pa ga večinoma pridobivajo samo še sintezno. Največkrat ga najdemo v pijačah, sladkarijah, pasji hrani in precej pogosto tudi v zdravilih.

Struktura



Empirična formula: $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$

Uporaba

Uporabljajo ga za barvanje jeansa po celem svetu, letno ga v te namene porabijo kar 13 tisoč ton. V farmacevtski industriji ga uporabljajo za barvanje peroralnih in dermalnih farmacevtskih izdelkov. Skupaj z rumenimi barvili daje želeno zeleno barvo. Uporablja se tudi za barvanje najlonskih kirurških šivov, kot 0,8 % injekcijsko raztopino pa ga uporabljajo v diagnostiki, na primer pri cistoskopiji (14).

Varnost

Študije presnove na podganah so pokazale, da se večina barvila in njegovih metabolitov (tudi 5-sulfoantranilska kislina) izloči z blatom, nekaj malega tudi z urinom. Študije metabolizma na ljudeh niso bile opravljene. Študija genotoksičnosti leta 1974 je podala negativne rezultate (14).

Kronična toksičnost / kancerogenost

Med letoma 1984 in 1986 so izvedli vrsto toksikoloških študij za indigotin. V eni izmed njih so preverjali kancerogenost pri podganah, katerim so vsaj 2 meseca pred parjenjem dajali barvilo. Barvilo ni vplivalo na število brejih samic ali sposobnost preživetja mladičev ob rojstvu. Kljub temu je obstajalo nekaj dokazov o rakotvornosti barvila:

- Pri samcih se je povečala incidenca benignih in/ali malignih novotvorb na sečnem mehurju, vendar pojav teh novotvorb ni bil statistično signifikanten glede na kontrolne živali.
- Pri podganjih samcih so zaznali povečano pojavnost malignih tumorjev mlečne žleze in možganskih gliomov. Raziskovalci so na koncu študije sklenili, da njihova pojavnost ni povezana z uživanjem indigotina (45).

Odbor FDA za oceno tveganja rakotvornosti je sklenil, da pojav celičnih novotvorb na mehurju, ki so bile očitno povezane z odmerkom indigotina (pri najvišjih koncentracijah), ni bil povezan z indigotinom, ker zgodovinski podatki kažejo, da je ta oblika raka pogosta pri podganah, ki so bile testirane, da je bil pojav novotvorb številčno majhen in da pojav tumorjev v skupini, ki je bila izpostavljena najvišji koncentraciji, ni bil bistveno višji kot v kontrolni skupini. Kar zadeva maligne tumorje v mlečnih žlezah pri podganjih samcih, ki so bili izpostavljeni najvišjim odmerkom indigotina, pa je odbor zaključil, da pojavnost tumorjev ni bila bistveno večja od pojavnosti v kontrolni skupini.

Leta 1983 je FDA zaključil, da se indigotin ni izkazal za rakotvornega pri podganah in miših obeh spolov, zato ga je uvrstila na seznam stalno dovoljenih barvil. Oglasila se je skupina za javno zdravje HRG (Public Citizen Health Research Group), ki je vložila ugovor zoper FDA z utemeljitvijo, da je povečanje tumorjev v možganih podgan pod vplivom indigotina statistično pomembno in da je FDA z odobritvijo dovoljenja za uporabo barvila kršila Delaney klavzulo. Sodnik upravnega prava je ugotovil, da pomanjkanje nekaterih bioloških dejavnikov, kot so glioma, invazivnost tumorjev, jasno razmerje med odmerkom in odzivom, povečana latenca, odtehtajo povišano incidenco možganskih gliomov pri podganah. Komisar FDA je leta 1987 zaključil, da indigotin ni kancerogen na živalih in da je bila uvrstitev na seznam dovoljenih barvil nekaj let prej pravilna. Čeprav se skupina HRG ni zadovoljila s temi odločitvami in je še naprej izpodbijala raziskavo FDA, je na koncu sodišče odločilo v prid FDA.

Majhno število posameznikov je do sedaj poročalo o negativnih učinkih po peroralnem zaužitju indigotina, večinoma so poročali o zapletih na koži. Indigotin lahko morda povzroči šibko lokalno preobčutljivost, poročali so tudi o primeru poklicne astme. Glavni neželeni učinki pri injiciranem indigo karminu so vključevali kardiovaskularni sistem, pri študijah na kuncih pa je bil kriv za draženje njihovih oči. Pri glodalcih so zaznali nizko akutno oralno toksičnost, pri miših in prašičih pa se je po dolgotrajni oralni izpostavljenosti pojavila anemija. Pri peroralnem zaužitju ni nobenega dokaza za kancerogenost (45,46).

Reprodukтивna toksičnost in teratogenost

V reprodukivni študiji Borzelleca et. al leta 1986 so zajeli 3 generacije podgan. Skupine podganjih samcev in samic so hranili z barvilom, retinojsko kislino, ki deluje teratogeno na podgane, pa so uporabili kot pozitivno kontrolo. Opazovani starši in mladiči so bili normalnega izgleda in obnašanja. Barvilo se je izkazalo za neteratogeno in ni vplivalo na rodnost in sposobnost preživetja (45,47).

Zaradi značilnega pojavljanja tumorjev, zlasti gliomov v možganih podganjih samcev, indigo karmina ni mogoče šteti kot substanco za varno prehrano ljudi. Gre za aditiv, ki nima nobenih koristi za zdravje ljudi, zato bi morda morali o njegovi uporabi v hrani še enkrat presoditi (45).

4.3.4. ORANŽNO FCF – E110

Barvilo oranžno FCF je sulfonirano vodotopno **azo barvilo**.

Splošno o azo barvilih

Azo barvila so sintetična barvila, ki v svoji strukturi vsebujejo azo skupino, $-N=N-$. V naravi jih ni, večina teh barvil pa vsebuje samo eno azo skupino, nekatere dve, tri ali več.

Predstavljajo 60-70 % vseh barvil, ki jih uporabljajo za barvanje hrane in tekstila, mednje spada tudi oranžno FCF, ki je eno najpogostejše uporabljenih barvil v zdravilih. V teoriji lahko azo barvila priskrbijo celo mavrico barv, vendar se najpogostejše uporabljajo rumena in rdeča azo barvila. Različne aromatske skupine okoli azo vezi stabilizirajo funkcionalno skupino $N=N$, ki je del delokaliziranega sistema. To je razlog, zakaj je veliko azo spojin obarvanih, saj delokalizirani ali konjugirani sistemi pogosto absorbirajo vidne frekvence svetlobe. Azo barvila so veliko bolj stabilna kot večina naravnih barvil, prav tako ne obledijo, ko so izpostavljena svetlobi ali kisiku in so zaradi tega uporabna pri barvanju hrane. Slaba lastnost je, da niso topna v olju ali maščobah, poleg tega pa imajo tudi precej neželenih učinkov.

Vzrok za mutagenost nekaterih azo barvil lahko najdemo v odnosu med strukturo in aktivnostjo teh spojin. Tako so za mutagenost azo barvil odgovorne funkcionalne skupine, kot so benzidin, 4-aminobifenil, 2-naftilamin in p-fenilediamin. Znanstveniki jih uvrščajo med kancerogene spojine, saj naj bi bile vzrok za nastanek hepatocelularnega karcinoma. Posebej nevaren naj bi bil tartrazin, ki naj bi povzročal kromosomske poškodbe, astmo, limfome, agresivno vedenje, nespečnost, hiperaktivnost, tiroidne tumorje, alergije. Prepovedali so ga na Norveškem in Švedskem. V Sloveniji je dovoljen, prav tako v ZDA, ob tem pa skrb vzbuja

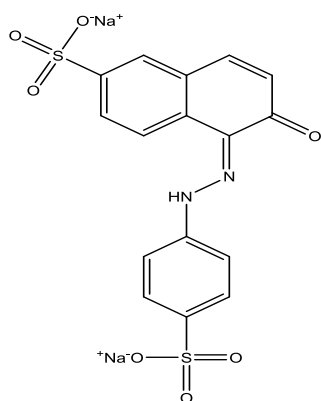
predvsem dejstvo, da ljudje danes pojemo petkrat več barvil v hrani kot leta 1955 (45,48). Pri našem pregledu zdravil smo tartrazin našli le v 3 zdravilih (od 2452 zdravil).

Toksičnost azo barvil je posledica metabolizma v aromatske amine. Akutna toksičnost je precej nizka. Toksičnih odmerkov azo barvil ne moremo doseči z uživanjem hrane, ki je obarvana s temi barvili. Večina azo barvil, ki jih uporabljajo v prehranski in tekstilni industriji, ima LD₅₀ med 250-2000 mg/kg telesne teže, smrtni odmerek pa dosežemo samo, če veliko količino barvila zaužijemo naenkrat v enem samem odmerku. Ker so dobro topne v vodi, se v telesu ne akumulirajo, ampak se metabolizirajo v jetrih in se nato izločijo z urinom. Da bi povprečen človek dosegel smrtni odmerek, bi moral v enem dnevu zaužiti več kot 100 kilogramov hrane, pobarvane z azo barvili. Vseeno so nekatera azo barvila prepovedali za uporabo v hrani zaradi toksičnih učinkov, katere povzročijo degradacijski produkti teh barvil in ne barvila sama. Azo vez je najbolj labilni del strukture azo barvila in posledica tega je lahko razpad strukture na dva dela pod vplivom encimov azo-reduktaze v jetrih. Nespecifičen encim najdemo v različnih mikroorganizmih, ki so del črevesnih bakterij, in v vseh sesalcih. Po cepitvi azo vezi se razpadne komponente, ki vsebujejo aromatske amine, absorbirajo skozi intestinalni trakt in se izločijo z urinom (49).

Osnovni podatki

Barvilo **oranžno FCF** je prah rdečkasto rumene barve, vodne raztopine so svetlo oranžne barve. Uporablja se za barvanje slaščic, žitaric, pijač, kozmetičnih izdelkov in zdravil, pridobivajo pa ga iz premoga. Povprečna proizvodnja barvila na prebivalca je približno 14 mg na dan, kar uvršča barvilo na tretje mesto na seznamu najbolj pogosto uporabljenih barvil na svetu (14,47).

Struktura



Empirična formula: C₁₆H₁₀N₂Na₂O₇S₂

Varnost

Povzročal naj bi neželene učinke, kot so izpuščaji, zamašen nos, alergije, hiperaktivnost, poškodbe kromosomov, tumorji na ledvicah, bolečine v trebuhu, slabost, bruhanje. Znanе so alergijske reakcije in preobčutljivost ljudi, ki so občutljivi na aspirin ali trpijo za astmo.

Društvo Hyperactive Children's Support Group ga je prepovedalo v hrani za otroke.(50)

Več presnovkov tega barvila so našli v urinu zajcev pri študiji metabolizma, slaba 2 % barvila se izloči z blatom. Azo vezi v barvilu se porušijo v črevesju pod vplivom črevesne mikroflore in tako nastanejo metaboliti sulfanilna kislina, 1-amino-2-naftol-6-sulfonska kislina, n-acetilirana oblika sulfanilne kisline in p-acetamidobenzen sulfonska kislina. 50 mg odmerka barvila je v raziskavi leta 1996 privedel do povečanega in pospešenega izločanja cinka pri hiperaktivnih otrocih. Ni znano ali je cink vzrok za hiperaktivnost pri mladostnikih (47).

Leta 2006 so korejski znanstveniki poročali, da kombinacija barvil rdeče AC, tartrazin, oranžno FCF, amarant in modra FCF, ki se pogosto uporablja v proizvodnji živil, povzroča nevrotoksične učinke. Čeprav so barvila individualno kontrolirana s sprejemljivim dnevnim vnosom (ADI), ni informacij o tem, kako bi zgoraj naštetá kombinacija barvil vplivala na varnost hrane. Preverili so vpliv na nevrogenozo miši in prišli do zaključka, da je uporaba teh barvil varna (50,51).

Reprodukтивna toksičnost in teratogenost

V študijah mutagenosti dokazov za mutagen učinek barvila oranžno FCF niso dobili, prav tako ni bilo izkazanih neželenih učinkov na reprodukтивnost različnih vrst živali (51).

Kronična toksičnost / kancerogenost

Študije kancerogeneze so izvedli na podganah in miših. Pri študiji podgan niso našli nobene celične novotvorbe povezane z odmerkom barvila. Pri mišjih samcih so zaznali višjo pojavnost jetrnih karcinomov in adenomov v primerjavi s kontrolno skupino, vendar so raziskovalci v študiji iz leta 1981 vseeno zaključili, da barvilo ni karcinogeno. Leto kasneje so izvedli dve dolgoročni študiji na podganah. V prvi študiji pri samičkah in v drugi študiji pri samcih so opazili povečano smrtnost. Prav tako naj bi se pri nekaterih skupinah podgan povečala teža ledvic in ščitnice, ter pojavnost adenomov nadledvične sredice v primerjavi s kontrolno skupino živali. Prišlo je še do povečanega pojava adenomov v intersticijskih celicah testisov, vendar so raziskovalci sklenili, da niso našli nobenih dokazov rakotvornosti. Po pregledu teh študij je FDA sklenila, da barvilo oranžno FCF ni povezano s pojavnostjo

tumorjev, ker naj bi šlo verjetno za lažno pozitivne rezultate, pomanjkanje predrakavih sprememb, ker so bili tumorji vidni pri skupinah starejših podgan in podobno.

Kasneje so teste kronične toksičnosti in rakotvornosti izvedli tudi na miših. Izvajali so jo 20 mesecev na samcih in 23 mesecev na samicah. Mišji samci so imeli bistveno večjo smrtnost v primerjavi s kontrolno skupino, vendar to po mnenju raziskovalcev ni pomembno za ljudi, ker ljudje v svoji prehrani zaužijejo precej nižje količine barvila (47).

Karcinogeni onesnaževalci

Barvilo oranžno FCF je lahko onesnaženo z več rakotvornimi snovmi, kakršen je na primer benzidin in 4-aminobifenil. FDA je določila, da lahko barvilo kot nečistoto vsebuje samo 1 ppm benzidina (parts per million), vendar pa se je izkazalo, da nekatere serije barvila vsebujejo sto ali celo več tisočkrat toliko benzidina, ki se od barvila najverjetneje loči v debelem črevesju. FDA je na začetku devetdesetih let ocenila tveganje za raka pri uporabi barvila na 3 od 10 milijonov ljudi, vendar pa ta ocena ni upoštevala večje občutljivosti otrok, večje porabe tega barvila pri otrocih, znatno povečane uporabe tega barvila na prebivalca od leta 1990 in možnosti, da nekatere serije barvila vsebujejo vezane oblike benzidina in ostalih kontaminantov. Pomembno je, da so serije barvil testirane na vezane onesnaževalce, ki lahko povečajo rakotvornost (47).

Preobčutljivost

O preobčutljivosti človeka na barvilo oranžno FCF so poročali že leta 1949, od takrat pa do danes pa je znanih kar nekaj primerov preobčutljivosti:

- Leta 1978 je 15-letna noseča deklica doživela anafilaktični šok po prejemu klistirja, ki je vseboval barvilo oranžno FCF in tartrazin. Pacientko so testirali s tehniko za določanje preobčutljivosti na vse topne komponente v klistirju in dobili so pozitivne rezultate za obe barvili.
- 43-letni zdravnik je bil hospitaliziran zaradi želodčnih krčev štirikrat v 2 letih. Testi so potrdili, da so krči nastali zaradi preobčutljivosti na barvilo oranžno FCF.
- 53-letna ženska je obiskala zdravnika zaradi hudih kožnih sprememb. Dva dni po prejemu terapije je bila hospitalizirana zaradi odpora do hrane, prebavnih motenj, bljuvanja in hudih bolečin v trebuhu. Ko so ji odstranili zdravila, ki jih je pred tem peroralno uživala, so simptomi izginili. Ko so ji ponovno predpisali zdravila, so se simptomi ponovno pojavili. Test je potrdil, da je bil povzročitelj simptomov barvilo oranžno FCF; ta se je nahajal v zdravilih, ki jih je prejela (47).

Študija, ki sta jo leta 1974 izvedla Michaelsson in Juhlin, je vključevala 52 bolnikov s ponavljajočo koprivnico in kontrolno skupino 33 bolnikov brez ponavljajoče koprivnice. Vsi preiskovanci so bili na dieti brez barvil in brez antihistaminikov pred administracijo možnega alergena. Raziskovalci so testirali učinke nekaterih barvil za živila (tudi oranžno FCF), konzervansov, aspirina, sulfanilne kisline (metabolit barvila oranžno FCF) in placeba. 0,1 mg odmerek (začetni odmerek za bolnike z astmo) ali 1 mg barvila oranžno FCF so dajali bolnikom z manjšimi simptomi koprivnice in tistim brez simptomov. Če niso opazili reakcije po začetnem odmerku, so dali višji odmerek 2,5 ali 10 mg drugi skupini bolnikov eno uro po vsakem predhodnem odmerku. Med simptome preobčutljivostne reakcije prištevamo koprivnico, angioedem na ustnicah, očeh ali obrazu, pordele oči, potenje, povečano solzenje, zamašen nos, kihanje, izcedek iz nosu (rinitis), hripavost, piskanje. Med 33 bolniki iz kontrolne skupine sta samo dva bolnika, ki sta že imela potrjeno zgodovino rinitisa, pokazala znake rinitisa po zaužitju barvila oranžno FCF in tartrazin. Od 27 bolnikov s ponavljajočo koprivnico jih je po izpostavljenosti oranžnemu FCF deset razvilo koprivnico, šest jih je poročalo o subjektivnih simptomih koprivnice, pri enajstih so bili simptomi negativni. Osem od devetih bolnikov s pozitivnim odzivom na barvilo je doživelo tudi reakcijo na aspirin. Ljudje, ki so občutljivi na aspirin, so pogosto občutljivi tudi na barvilo oranžno FCF. Znanstveniki so preizkus opravili tudi na skupini sedmih bolnikov, ki so trpeli za alergijsko žilno pupuro (vijoličaste lise, ki so posledica krvavitev pod kožo). Po zaužitju barvil tartrazin in oranžno FCF je imel en bolnik močno reakcijo na barvilo. Šlo je za 32-letno žensko, ki je kar 12 let trpela za ponavljajočimi poškodbami, ki jih je povzročila purpura. Ko so pacientko za šest mesecev izpostavili dieti brez barvil in benzoatov (konzervans, ki je bil prav tako povezan z alergijskimi reakcijami), se je njeno zdravstveno stanje izboljšalo (47).

HIPERAKTIVNOST

Umetna barvila lahko sprožijo nekatere vedenjske težave pri mladostnikih, zato so v poznih sedemdesetih letih začeli z raziskovanjem vpliva azo barvil na hiperaktivnost otrok. Večina raziskav ni dala prepričljivih zaključkov, nekatere so si bile celo kontradiktorne. Glavna pomanjkljivost teh študij je bilo pomanjkanje jasnih indikatorjev za hiperaktivnost, v mnogih primerih so uporabili samo starševska poročila. Slednja so pogosto pristranska. V večini raziskav azo barvila sama niso povzročila neželenih učinkov, najmočnejše toksične učinke pa so opazili pri otrocih, ki so prejeli kombinacije azo barvil in benzojske kisline (49).

Ali lahko barvila v hrani povzroči hiperaktivnost?

Sintetična barvila za živila so bila leta 1970 osumljena, da sprožijo vedenjske motnje pri otrocih. Takrat je pediater Ben Feingold začel z zdravljenjem alergij pri otrocih tako, da jih je soočil z dieto, v kateri ni bilo sintetičnih barvil in konzervansov. Zdravnika niso jemali resno, vprašanje o vedenjskih težavah pa se je ponovno pojavilo leta 2007, ko so na Univerzi v Southamptonu poročali o pojavu hiperaktivnosti pri otrocih, ki so pili sladke pijače. Študija, ki jo je leta 2007 izvedla britanska agencija za varnost hrane FSA (Food Standards Agency), je pokazala, da uživanje živil, ki vsebujejo azo barvila, lahko poveča hiperaktivno vedenje pri otrocih. V študijo so zajeli 3-, 8- in 9-letne otroke, katerim so dali tri različne vrste pijač. Nato so njihovo vedenje ocenjevali učitelji in starši. Ena izmed pijač je vsebovala naslednja umetna barvila za živila: **oranžno FCF (E110)**, karmozin (E122), tartrazin (E102), rdeče 4R (E124). Vsebovala je tudi konzervans natrijev benzoat. Zmes druge pijače je vsebovala barvila kinolinsko rumeno (E104), allura rdeče (E129), **oranžno FCF (E110)** in karmozin (E122) in konzervans natrijev benzoat. Tretja pijača je predstavljala placebo in ni vsebovala aditivov. Raziskovalci so ugotovili, da se je hiperaktivno vedenje pri 8- in 9-letnikih povečalo z obema pijačama, ki sta vsebovali aditive. Hiperaktivnost se je pojavila tudi pri 3-letnikih, ki so uživali prvo pijačo in ne nujno pri pitju druge pijače. Rezultati so pokazali neugoden vpliv na obnašanje otrok po zaužitju barvil za živila (52).

Za razliko od prejšnjih raziskav je ta študija ugotovila, da se je hiperaktivnost pojavila pri otrocih iz splošne populacije in ne samo pri tistih, pri katerih so starši posumili, da so občutljivi na barvila v živilih. Pri tej študiji so poleg staršev oceno vedenja otrok podali tudi učitelji, raziskovalci in računalniki. FSA, ki je naročila preiskavo, je takoj predlagala odpravo šestih barvil iz otroških živil. Odbor Evropskega parlamenta je posledično glasoval za prepoved vseh sintetičnih barvil v živilih za dojenčke in majhne otroke. FDA še vedno trdi, da ni dokazov za povezavo med barvili in hiperaktivnostjo otrok. Ena od pomanjkljivosti študije naj bi bila po njihovem mnenju mešanica barvnih aditivov in konzervansa natrijevega benzoata, zaradi česar je nemogoče določiti, kateri aditiv je bil odgovoren za učinek na otrocih (53).

Na pojav hiperaktivnosti pri otrocih lahko vplivajo številni dejavniki, med drugim tudi geni in okolje, v katerem otroci živijo. Tudi nekatere kemikalije, ki so naravno prisotne v jagodah, ananasu ali nekaterih insekticidih, ki se uporabljajo za sadje, lahko povzročijo alergije ali astmo. Nekateri proizvajalci in trgovci na drobno so sintetična barvila v svojih izdelkih že zamenjali z naravnimi alternativami. Mnoga podjetja so preoblikovala svoje izdelke za prilagoditev evropskemu trgu s strožjimi predpisi (53). Raziskave kažejo, da azo barvila

povzročajo hiperaktivnost otrok, kljub temu pa pri nas Pravilnik o barvilih, ki se smejo dodajati zdravilom, še vedno dopušča, da so azo barvila del zdravil, tudi tistih za otroke. Zakonodaja opozarja uporabnike na to nevarnost z zakonsko določenimi opozorili na ovojnini, kar smo zgoraj že omenili (11).

EFSA je leta 2009 ponovno ocenila varnost barvila oranžno FCF. Sprejemljiv dnevni vnos za to barvilo je znašal 0-2,5 mg/kg telesne teže na dan. Nove študije, ki so jih izvedli, so pokazale signifikanten vpliv barvila na teste podgan, ki so bile 90 dni izpostavljene 250 mg in 1200 mg tega barvila, zato so se odločili, da bodo ADI barvila znižali z dodatnim varnostnim faktorjem 2,5. S tem so začasno za 2 leti znižali ADI na 0-1 mg/kg telesne teže na dan, da bi v tem času pridobili nove podatke o varnosti barvila. Ugotovili so, da odrasel človek v povprečju zaužije nižje količine barvila od sprejemljivega dnevnega vnosa, skrb pa se je pojavila pri 1- do 10-letnih otrocih, ki dnevno na račun sladkih pijač in sladkarij zaužijejo večje vrednosti barvila, ki lahko presežejo ADI. Ker so poročali o nekaterih alergičnih reakcijah in hiperaktivnosti, kadar je bilo barvilo oranžno FCF združeno še z drugimi sintetičnimi barvili v enem izdelku, specifičnih dokazov za varnost tega barvila niso dobili (54).

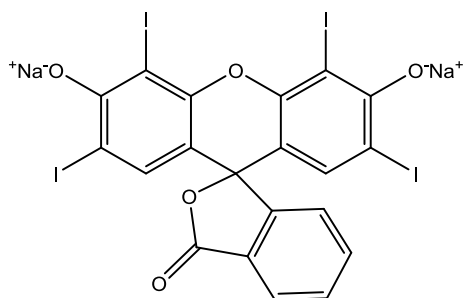
Raziskovalci so mnenja, da barvilo oranžno FCF ni rakotvorno na živalih, čeprav so testirane podgane v dveh najvišjih dozirnih skupinah doživele večjo incidenco adenomov v nadležičnih žlezah. Zaskrbljujoče je, da so serije barvil lahko okužene z rakotvornimi snovmi. Barvilo sicer direktno ne ogroža zdravja ljudi, vendar pa lahko povzroča blage do hude preobčutljivostne reakcije pri majhnem odstotku prebivalstva in hiperaktivnost pri otrocih. Za zdravje ne predstavlja nobene koristi, zato je potrebno premisliti ali ne bi bilo dobro barvilo popolnoma odstraniti iz verige prehranjevanja (47,54,55).

4.3.5. ERITROZIN – E127

Osnovni podatki

Že leta 1907 je ameriško Ministrstvo za kmetijstvo odobrilo eritrozin za uporabo v živilih. Gre za vodotopno barvilo roza-rdeče barve, ki vsebuje okoli 58 % joda. Uporablja se v vloženem sadju, kremah, slaščicah, redko tudi v zdravilih. Leta 1990 so dokazali, da pri podganah povzroča raka. Britanska organizacija Hyperactive Children's Support Group (HACSG) priporoča, da se temu barvilu izogibamo, prepovedali so ga v ZDA in na Norveškem (45,47).

Struktura



Empirična formula: $C_{20}H_6I_4Na_2O_5$

Varnost

Eritrozin se v nespremenjeni obliki izloči iz telesa skupaj z blatom, manj kot 1 % se izloči z urinom. Aktivnost barvila je v krvi in v tkivih zelo nizka, kar kaže na to, da se eritrozin slabo absorbira iz gastrointestinalnega trakta (56).

Študijo biološke razpoložljivosti in metabolizma so opravili na petih prostovoljcih. Štirje moški in ena ženska v starosti od 21 do 35 let so uživali eritrozin v mlečnem napitku v odmerkih 5, 10, 25 mg na dan v tedenskem odmerku za obdobje treh tednov. Študija je pokazala počasno in rahlo povečanje koncentracije celokupnega joda in na beljakovine vezanega joda v serumu, drugi testi seruma so ostali nespremenjeni. Povečanje teh koncentracij v obdobju izpostavljenosti eritrozinu kaže na to, da se majhen del eritrozina le absorbira skozi gastrointestinalni trakt, vendar pa ne vpliva na funkcijo ščitnice, saj se koncentracije ostalih ščitničnih hormonov (T3, T4, TSH) niso spremenile pri vnosu 25 mg eritrozina na dan. Raziskovalci so sklenili, da se eritrozin do neke mere presnovi v tkivih (56). Eritrozin so povezali z minimalnimi možganskimi motnjami pri otrocih, preiskovali so ga tudi zaradi njegove sposobnosti povečanja permeabilnosti za Ca^{2+} ione. Dvoslojna fosfolipidna membrana je postala prepustna za Ca^{2+} , K^+ in Cl^- ione, ko so dodali eritrozin. Nevrološki efekti eritrozina so nastali kot posledica povečane prepustnosti membrane za Ca^{2+} ione (45).

Akutna toksičnost

Akutna toksičnost eritrozina je nizka. Pri visokih peroralnih odmerkih barvila so opazili letargijo in depresijo motorične aktivnosti. Barvilo ne iritira oči (57).

Genotoksičnost

Večina raziskav o genotoksičnosti eritrozina je bilo negativnih, le raziskave iz let 1984 in 2002 so pokazale potencialno genotoksičnost barvila. Posebej skrb vzbujajoči so bili pozitivni

rezultati, ker so jih opravili na sesalskih celicah z *in vivo* metodo, medtem ko je bila večina negativnih študij izvedena na prokariontskih sistemih. Raziskovalci zatrjujejo, da še vedno ni dovolj dokazov, da bi lahko potrdili genotoksičnost in mutagenost barvila (47,57).

Kronična toksičnost / kancerogenost

Skupaj z barvili modro FCF in indigotinom povzroča bronhokonstrikcijo.

V študiji, kjer so dve leti hranili podgane z eritrozinom, so opazili depresijo rasti pri največjih odmerkih eritrozina, med drugim pa so zaznali tudi rahlo napihnenost slepiča in kronični nefritis, vendar slednjega niso mogli z zagotovostjo povezati z uživanjem eritrozina (57).

Pri študiji na podganah, ki so jih za 30 mesecev izpostavili dieti z eritrozinom, so opazili značilno povečano pojavnost adenomov folikularnih celic v ščitnici pri podganjih samcih, ki so bili izpostavljeni najvišjemu odmerku. V tej skupini so zaznali 15 adenomov, medtem ko se je pojavil samo eden v kontrolni skupini. Pri samicah večje pojavnosti adenomov ščitnice ni bilo. Pri obolelih podganah so se pojavile tudi neoplastične proliferacijske spremembe ščitnice, hipertrofija in hiperplazija celic. Pri 94 % podganjih samcev, ki so bili izpostavljeni 4 % odmerku eritrozina, je prišlo do proliferacijskih sprememb na celicah ščitnice (47,57).

Reprodukтивna toksičnost

Pri odraslih miših so raziskali morebitne škodljive učinke eritrozina pri procesu spermatogeneze. Aktivnost tumorskega markerja, izoenzima laktat-dehidrogenaze, ki velja za označevalca toksičnosti na modih, se je po peroralnem uživanju 21 dni v odmerkih 68 in 136 mg/kg občutno znižala na okoli 70 % kontrolne vrednosti. Istočasno se je znižalo število semenčic kot tudi odstotek gibljivih semenčic. Izkazalo se je, da eritrozini moti tudi morfologijo glave semenčic. Po petih dneh peroralne aplikacije eritrozina v koncentraciji 680 in 1360 mg/kg (kar je 10 % in 20 % njegovega letalnega odmerka) se je za več kot 60 % povečala pojavnost semenčic z nenormalno glavo. Povečanje anomalij semenčic bi lahko posledično povzročilo disfunkcijo spermatogeneze in mutagenost zarodnih celic. Ta študija je pokazala, da ima eritrozini potencialno toksičen učinek na spermatogenezo pri miših, kar lahko vpliva na funkcijo testisov in reprodukcijo pri testiranih živalih (57,58).

Izvedli so tudi reprodukivno študijo na treh generacijah podgan. V vsaki generaciji so 25 podgan izpostavili različnim odmerkom barvila. Prišlo je do značilnega zmanjšanja telesne teže staršev in mladičev pri vseh generacijah pri skupinah testnih živali, ki so bile izpostavljene največjim odmerkom. To so raziskovalci pripisali velikim količinam zaužitih hranilno praznih spojin in ne reprodukivni toksičnosti barvila (47).

Preobčutljivost

Pri morskih prašičkih dokazano spodbuja alergijo na jod. Dokazov, da barvilo povzroča hiperaktivnost pri otrocih, ni (57).

EFSA je leta 2011 ponovno ocenila varnost eritrozina, ki se uporablja kot barvilo v živilih in zdravilih. Po pregledu stare dokumentacije in podatkov, ki so jih dale nove študije, so znanstveniki zaključili z oceno, da ni potrebno revidirati ADI, ki znaša 0-0,1 mg/kg telesne teže na dan. Odrasel človek naj bi po njihovi oceni zaužil 0,0031 mg barvila na kg telesne teže na dan, kar ne vzbuja skrbi glede varnosti in izpostavljenosti. Tudi pri študijah genotoksičnosti niso prišli do novih odkritij. Zaradi pomanjkanja dokazov so zaključili, da so tumorogeni učinki eritrozina na ščitnico posledica njegovega vpliva na tiroidno funkcijo s vplivom na hormone. Eritrozini torej nima direktnega genotoksičnega vpliva na ta organ, ampak lahko posredno oziroma sekundarno z vplivom na hormonsko stanje vpliva na nastanek tumorja. Dve študiji sta pokazali, da barvilo nima onkogenega učinka, ampak da so tumorji v ščitnicah preiskovanih podgan nastali po negenotoksičnem mehanizmu (59).

4.4. OCENA VARNE UPORABE NAJPOGOSTEJE ZASTOPANIH BARVIL V ZDRAVILIH

Pregledali smo osnovne karakteristike in varnost najpogosteje zastopanih barvil v zdravilih. Da bi si pridobili še bolj jasno sliko o varni uporabi barvil, pa smo pet najpogosteje uporabljenih barvil oz. njihovih lastnosti primerjali med seboj. V preglednici VI smo naredili primerjavo LD₅₀, učinkov na organizem in iritacijo kože.

Preglednica VI: Primerjava barvil, ki so najpogosteje zastopana v zdravilih, z vidika akutne toksičnosti.

barvila	LD ₅₀ [mg/kg telesne teže]	iritacija	učinki na organizem	reference
titanov dioksid	podgana, oralno: > 10000	Prah draži respiratorni trakt.	Opažena pnevmokonioza, vendar ni dokazana.	14,41,45,62
železovi oksidi	podgana, oralno: > 5000-10000	Prah draži respiratorni trakt in oči.	Opažena pnevmokonioza, vendar ni dokazana.	14,44,45,61
indigotin	miš, oralno: > 2500 podgana, oralno: 2000	Zapleti na koži, draži oči.	•Opažena anemija pri miših in prašičih. •Skupaj z indigotinom in modrim FCF povzroča bronhokonstrikcijo.	14,45,47,60
oranžno FCF	miš, oralno: > 6000 podgana, oralno: > 10000	Težave na koži.	•Izpuščaji, zamašen nos, bolečine v trebuhu, slabost, želodčni krči, bruhanje. •Povečana smrtnost mišk. •Hiperaktivnost!	14,45,47,48,63
eritrozín	miš, oralno: 2560-6800 podgana, oralno: 1840-7100	Kožne razjede.	•Vpliv na aktivnost ščitnice. •Skupaj z indigotinom in modrim FCF povzroča bronhokonstrikcijo. •Opazili minimalne možganske motnje pri otrocih. •Pri podganah opazili depresijo rasti, rahlo napihnjenost slepiča in kronični nefritis. •Disfunkcija spermatogeneze in motena morfologija semenčic pri podganjih samcih.	45,47,57,59

V preglednici VI smo primerjali vrednosti letalnega odmerka (LD₅₀), iritacijo in ostale učinke na organizem. LD₅₀ je odmerek neke snovi, v našem primeru barvila, ki pri polovici testirane populacije povzroči smrt in je pogosto merilo akutne toksičnosti (64). Primerjali smo

vrednosti letalnih odmerkov pri oralnem zaužitju, ker večino barvil v zdravilih zaužijemo peroralno. Titanov dioksid, železovi oksidi in oranžno FCF imajo zelo nizko akutno toksičnost, to je od 5000-10000 mg/kg telesne teže. Indigotin in eritrozín sta akutno bolj toksična, saj so njune vrednosti nižje (okoli 2000 mg/kg telesne teže). Kljub temu pa akutna toksičnost pri najpogostejše uporabljenih barvilih ni skrb vzbujajoča, saj vrednosti niso tako nizke kot pri nekaterih drugih aditivih v prehrani. Iritacija oziroma draženje je lahko problematično pri dermalnem stiku z barvili, kar prav tako ne predstavlja velike nevarnosti, saj v dermalnih FO redko najdemo barvila. Iritacija respiratornega trakta pa je lahko težava predvsem pri izpostavljenosti titanovemu dioksidu in železovim oksidom. Ti anorganski pigmenti v obliki prahu dražijo respiratorni trakt in predstavljajo težavo za majhno populacijo ljudi, ki so kot delavci zaposleni v tovarnah, kjer se srečujejo z anorganskimi pigmenti. Prav pri tej populaciji so opazili nekaj primerov poklicne bolezni pnevmokonioze, ki pa je niso mogli direktno povezati s titanovim dioksidom in železovimi oksidi. Vseeno velja, da je prav inhalacija teh delcev najnevarnejša za človeški organizem, posebna pozornost je potrebna pri TiO_2 . Študije so pokazale, da visoka koncentracija tega pigmenta v zraku povzroča raka na respiratornem traktu pri podganah, ki so bile izpostavljene vdihavanju. Zaradi teh dokazov je leta 2006 IARC titanov dioksid uvrstila v skupino možno rakotvornih snovi 2B za ljudi, ki so izpostavljeni vdihavanju teh prašnih delcev.

Z vidika akutne toksičnosti lahko zaključimo, da je najnevarnejši za človeški organizem eritrozín z relativno nizko vrednostjo LD_{50} in številnimi učinki na organizem. Sledi mu oranžno FCF, ki ima nizko akutno toksičnost, vendar pa ima številne negativne učinke na organizem, med drugim so pri testiranih živali opazili povečano smrtnost, slepoto in sum na hiperaktivnost pri otrocih. Indigotin ima nižjo vrednost LD_{50} od barvila oranžno FCF, vendar pa razen anemije pri nekaterih živalih niso opazili hujših neželenih učinkov na organizem, če ni v kombinaciji s katerim drugim barvilom. Titanov dioksid in železovi oksidi, ki se v zdravilih največkrat uporabljajo, so se izkazali za najvarnejše, vendar pa so v zvezi s temi barvili znanstveniki opravili najmanj študij in testiranj.

Preglednica VII: Primerjava barvil, ki so najpogosteje zastopana v zdravilih, glede na ADI, preobčutljivost in kancerogenost

barvila	ADI [mg/kg telesne teže/dan]	preobčutljivost	kancerogenost	reference
titanov dioksid	Ni določen.	/	Nanodelci TiO ₂ so genotoksični in kancerogeni.	14,41,45,62
železovi oksidi	Ni določen.	/	Strupeni le v zelo velikih količinah.	14,44,45,61
indigotin	0-5 (JEFCA, 1974)	Šibka lokalna preobčutljivost, primeri poklicne astme.	•Povečan pojav benignih in malignih novotvorb na sečnem mehurju podganjih samcev. •Povečan pojav malignih tumorjev mlečne žleze in možganskih gliomov pri podganah.	14,45,46,60
oranžno FCF	0-2,5 (JECFA, 1983) 0-1 (EFSA, 2009)	Alergije, astmatične reakcije, blage do hude preobčutljivostne reakcije.	•Opaženi tumorji na ledvicah na živalih. •Povečan pojav jetrnih karcinomov in adenomov nadledvične sredice pri podganah. •Povečan pojav adenomov v intersticijskih celicah testisov pri podganah.	14,45,48,63
eritrozín	0-0,1 (JEFCA)	Pri morskih prašičkih opažena spodbujena alergija na jod.	•Pri podganah opaženi ščitnični tumorji zaradi hormonskega vpliva (tiroidni tumorji, adenomi folikularnih celic v ščitnici podganjih samcev).	14,45,57,59

V preglednici VII smo primerjali ADI najpogostejših barvil. Nižja kot je vrednost ADI, bolj toksično je barvilo. Pri titanovem dioksidu in železovih oksidih ta vrednost ni opredeljena. Če ADI za določeno snov ni opredeljen, to pomeni, da na podlagi razpoložljivih toksikoloških podatkov, uporabe in skupnega dnevnega vnosa ta snov ne predstavlja nevarnosti za zdravje. Zaradi tega razloga ni potrebno oceniti sprejemljivega dnevnega vnosa za to snov (65). Različne študije na miših, podganah, psih, mačkah, kuncih in drugih živalskih vrstah so pokazale toksičnost pri zelo visokih in nerealnih odmerkih, zato ni bilo razloga za zaskrbljenost in potrebe po določitvi ADI za TiO_2 in železove okside (65).

Titanov dioksid in železovi oksidi ne povzročajo preobčutljivosti. Medtem ko železovi oksidi veljajo za idealno farmacevtsko barvilo in so strupeni le v zelo velikih količinah, pa bi po našem mnenju posebno pozornost morali posvetiti nanodelcem TiO_2 , čeprav se ne uporabljajo kot barvila v živilih in zdravilih. Nanodelci se vedno bolj uporabljajo v različnih panogah industrije, tudi v farmacevtski industriji, in so dokazano genotoksični in kancerogeni. Problematična je predvsem uporaba v kozmetiki in zaščitnih kremah za sonce, kjer njihova uporaba ni strogo nadzorovana.

Indigo karmin je med petimi najpogostejše uporabljenimi barvili po našem mnenju srednje toksičen. Njegov ADI je do 5 mg/kg telesne teže na dan in povzroča šibko lokalno preobčutljivost. Pri študijah na podganah so opazili povečan pojav tumorjev na sečnem mehurju, tumorjev mlečne žleze in možganskih gliomov, vendar pa znanstveniki pojavnosti niso mogli direktno povezati z uporabo indigotina, zato so ga razglasili za nenevarnega. Še več skrbi vzbuja azo barvilo oranžno FCF, ki ima za polovico manjši sprejemljiv dnevni vnos in hujše preobčutljivostne reakcije od indigotina, opazili pa so tudi povečano pojavnost tumorjev na ledvicah, jetrih, nadledvični žlezi in testisih. Kljub številnim raziskavam strokovnjaki nimajo dovolj dokazov, da bi barvilo lahko uvrstili na seznam kancerogenih snovi. Obstaja veliko sumov, da oranžno FCF povzroča tudi hiperaktivnost pri otrocih, vendar tako FDA kot tudi EMA zanikata direktno povezavo uporabe barvila z nenormalnim obnašanjem otrok, zato je barvilo še vedno uvrščeno na seznam dovoljenih barvil.

Sekundarno kancerogenost so dokazali pri eritrozinu, ki ima zelo nizek ADI (do 0,1 mg/kg telesne teže/dan) in velja po našem mnenju za najbolj nevarnega med petimi najpogostejše uporabljenimi barvili. Skrb vzbuja predvsem pojav mutagenosti na zarodnih celicah podgan in njegov vpliv na aktivnost ščitnice. Znanstveniki menijo, da so tumorogeni učinki eritrozina posredni (sekundarni) oziroma posledica drugih njegovih učinkov na delovanje ščitnice in da nastanek tumorjev ni povezan z njegovo genotoksičnostjo.

EFSA je leta 2009 začela s ponovno presojo varnosti barvil, ki so dovoljena v živilih. Številna barvila so za uporabo v živilih odobrili že vrsto let nazaj, do danes pa je znanih kar nekaj novih znanstvenih podatkov. EFSA se je med barvili najprej lotila ovrednotenja sintetično proizvedenih barvil, na koncu pa bodo ocenili še barvila, ki jih pridobivajo iz naravnih virov. S ponovno oceno varnosti barvil bodo zaključili do leta 2015, varnost vseh ostalih aditivov naj bi ocenili do leta 2020 (66,67). Ponovno oceno eritrozina in oranžnega FCF so že podali, medtem ko presojo indigotina EFSA zaradi pomanjkanja podatkov še ni opravila.

Pri ponovni oceni varnosti oranžnega FCF je leta 2009 EFSA ugotovila, da veliki porabniki nekaterih sladkih pijač in aromatiziranih mlečnih izdelkov presegajo vrednost ADI. Zaradi te ugotovitve in drugih znanstvenih spoznanj so upoštevali dodaten varnostni faktor in ADI za barvilo oranžno FCF začasno zmanjšali na 0-1 mg/kg telesne teže na dan. Začasni status so določili zaradi tega, ker se v prihodnosti pričakuje še nekaj novih podatkov, ki jih bodo prinesle nove študije. Nekateri napovedujejo, da bodo barvilo oranžno FCF v prihodnjih letih odstranili iz seznama dovoljenih barvil v hrani in zdravilih (67). Pri ponovni presoji varnosti eritrozina do večjih sprememb ni prišlo (59).

Med najpogosteje uporabljenimi barvili največjo skrb za tveganje zdravja pri ljudeh vzbujajo sintetična barvila indigotin, oranžno FCF in eritrozin. Prav zaradi tega smo podrobneje analizirali njihovo pojavnost v zdravilih, ki smo jih pregledali. Od 2452 zdravil jih je 1770 vsebovalo eno barvilo ali kombinacijo dveh ali več barvil. Indigotin se je pojavil v 236 zdravilih (dobrih 13 %), oranžno FCF v 85 zdravilih (5 %) in eritrozin v 37 zdravilih (2 %). Pridobljene rezultate smo frekvenčno in v odstotkih predstavili v preglednici VIII.

Preglednica VIII: Pojavnost indigotina, oranžnega FCF in eritrozina v pregledanih zdravilih.

pregledana zdravila – pojav barvil	frekvenca	odstotek
indigotin (E132)	236	13%
oranžno FCF (E110)	85	5%
eritrozin (E127)	37	2%
pojav barvil v zdravilih (skupaj)	1770	100%

Če ovrednotimo izpostavljenost barvilom, ki jih ljudje tekom svojega življenja zaužijemo v zdravilih, potem ocenjujemo, da naše zdravje pri uživanju le-teh ni ogroženo. Države s svojo zakonodajo uspešno nadzirajo kvaliteto, učinkovitost in varnost barvil v zdravilih. V zdravilih

so količine barvil tako majhne, da sprejemljivega dnevnega vnosa barvil pri pravilni uporabi posameznik ne preseže. Tudi najbolj toksična barvila, ki jih vsebujejo zdravila, pri pravilnem doziranju ne povzročajo nevarnosti za naše zdravje. Bolniki, ki imajo kronično terapijo, prav tako ne bi smeli biti zaskrbljeni, saj je sama absorpcija barvila v organizem veliko manjša od dejanske količine barvila, ki ga pacient vnese v svoje telo. Tu je potrebno poudariti, da naša ocena temelji izključno na pravilni uporabi zdravil.

Dvom o varni uporabi barvil se pojavi, ko v naš vsakdanjik poleg zdravil vključimo še živila. Brez slednjih ne moremo preživeti in v zadnjih letih so na policah v trgovinah takšna, ki vsebujejo celo vrsto aditivov. Kombinacije le-teh lahko na organizem vplivajo drugače kot en sam aditiv. Ni nam treba iti daleč, da v svoji okolici v vsakdanjem življenju opazimo otroke in mladostnike, ki so telesno bistveno bolj razviti in višji kot so bile generacije pred njimi. Je za to kriva gensko spremenjena hrana in z njo cela vrsta pomožnih snovi v njej? Zadeva je kompleksna, prav tako je na voljo premalo podatkov za oprijemljivejše trditve. Otroci dokazano uživajo večje količine sladkih pijač, bombonov in aromatiziranih izdelkov kot odrasli. V več študijah, ki smo jih omenili, so pri otrocih opazili povečan pojav hiperaktivnosti, v vsakdanjem življenju je opaziti povečano obolevnost za alergijami, celiakijo in drugimi boleznimi. Slednje kaže na to, da so današnje generacije otrok izpostavljene drugačni prehrani in načinu zdravljenja kot njihovi predniki v preteklosti. Prav zato bi po našem mnenju morali popolnoma prepovedati uporabo cele vrste aditivov ali vsaj močno omejiti njihovo uporabo v prehrani in zdravilih, ki so namenjene tako otrokom kot tudi odraslim. Razmisliti bi morali tudi o zmanjšanju količine barvil v izdelkih, v posameznem zdravilu pa bi bila velikokrat zagotovo dovolj prisotnost samo enega barvila in ne kombinacije 5 ali 6 različnih barvil.

V zadnjih letih smo se potrošniki začeli zavedati, da je naravno bolj zdravo in tako so posledično začeli razmišljati tudi proizvajalci živil in zdravil. Mnoga podjetja so v svojih izdelkih že začela uporabljati preverjeno varna naravna barvila namesto sintetičnih, ta trend pa je bolj prisoten v EU kot v ZDA. Dobro je, da se ljudje zavedamo velike količine dodanih barvil in drugih aditivov v izdelkih, ki nas obkrožajo. Prav tako je pravilno, da nad našim potrošniškim načinom življenja počasi začenja prevladovati skrb za zdravje.

5. SKLEP

- Za barvila v zdravilih, ki so registrirana v Republiki Sloveniji, velja enaka zakonodaja kot za barvila v živilih. V zdravilih je dovoljena uporaba samo tistih barvil, ki so dovoljena tudi za uporabo v hrani, natančneje pa določbe opisuje Pravilnik o barvilih, ki se smejo dodajati zdravilom.
- Pregledali smo 2452 zdravil, ki so registrirana Sloveniji, v to raziskavo pa smo zajeli vse štiri farmacevtske oblike zdravil, ki vsebujejo barvila v svoji sestavi, kar smo zapisali tudi v prvi hipotezi. To so tablete, kapsule, peroralne tekočine in dermalne kreme in mazila. Po pregledu SmPC-jev 72 dermalnih zdravil smo barvilo titanov dioksid našli samo v 1 zdravilu (krema Elocom). S tem smo sicer potrdili prvo hipotezo, vendar moramo poudariti, da se barvila v dermalnih izdelkih redko uporabljajo.
- Pregled sestave zdravil je pokazal, da eno zdravilo lahko vsebuje eno barvilo ali kombinacijo dveh ali več barvil. S tem smo ovrgli drugo hipotezo, v kateri smo zapisali, da eno zdravilo vsebuje samo eno barvilo. Maksimalna kombinacija barvil v enem zdravilu je zajemala 6 različnih barvil, najbolj pogosta pa je kombinacija 3 ali 4 barvil v enem zdravilu.
- Najpogostejše uporabljena barvila v zdravilih so titanov dioksid in železovi oksidi, s čimer smo potrdili tretjo hipotezo, ki pravi, da v zdravila pogosto dodajajo netopne pigmente. Hipoteza je predvidevala, da bo v zdravilih pogosta uporaba netopnih anorganskih pigmentov, ki so obstojni na toploto in svetlobo. Ta barvila so se izkazala tudi za najvarnejša barvila. Po pogostosti v zdravilih anorganskim pigmentom sledijo sintetična barvila indigotin, rumena barvila (E110, E104) in eritrozin.
- Najbolj pogosta kombinacija barvil v enem zdravilu je titanov dioksid/rumen železov oksid/rdeč železov oksid. S to ugotovitvijo lahko še enkrat potrdimo tretjo hipotezo, ki narekuje pogosto uporabo anorganskih pigmentov v zdravilih.
- Črn železov oksid se v zdravilih največkrat uporablja v tiskarskem črnilu, katerega proizvajalci uporabljajo za posebno označevanje kapsul ali tablet.
- V četrti hipotezi smo predpostavljali, da se v zdravilih za otroke uporablja več barvil kot v zdravilih za odraslo populacijo, saj je otroke treba večkrat spodbuditi k zaužitju zdravil. Kljub temu je v zdravilih za otroke manjša pojavnost barvil, prav tako smo v enem zdravilu za otroke zaznali kombinacijo največ dveh barvil. Rezultati so našo hipotezo ovrgli, razlog pa smo našli v povečani uporabi arom, ki naredijo zdravilo bolj privlačno za otroke.
- Potrdili smo hipotezo, da se zdravila z enako ZU v različnih jakostih med seboj lahko razlikujejo v dodanem barvilu oz. barvi. Sklepamo, da s tem proizvajalci zdravil zagotovijo

manjšo možnost zamenjave zdravil pri kroničnih bolnikih in medicinskem osebju v zdravstvenih ustanovah ter domovih za ostarele.

- Pigmentni titanov dioksid velja za varen aditiv, medtem ko je učinek nanodelcev TiO_2 drugačen. Čeprav gre za kemijsko isto snov, pa je velikost delcev tista, ki igra ključno vlogo v toksičnosti.
- TiO_2 in železovi oksidi imajo visok letalni odmerek in imajo nizko akutno toksičnost. Strupeni so le v zelo visokih količinah, zato parametra ADI niso določili, ker njihov dnevni vnos ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi. Največje tveganje sicer predstavljajo prašni delci teh aditivov, katerim so izpostavljeni delavci v industrijskih obratih. IARC je prašne delce TiO_2 razglasila za potencialno kancerogene in jih uvrstila v skupino 2B rakotvornih snovi pri ljudeh, ki so izpostavljeni njihovi inhalaciji.
- Najbolj varna barvila za uporabo v zdravilih so titanov dioksid in železovi oksidi. Sledi jim indigotin s srednjo akutno toksičnostjo. Tveganje za zdravje predstavljata barvili oranžno FCF in eritrozin. Barvili sta pri študijah na živalih povzročili povečan pojav številnih tumorjev, vendar jih znanstveniki zaradi različnih vzrokov niso razglasili za kancerogeni in je tako njuna uporaba še naprej dovoljena. Raziskovalci priznavajo le, da eritrozin tumorje na ščitnici povzroča posredno preko vpliva na hormonsko ravnovesje v tem organu.
- Azo barvila (tudi oranžno FCF) povezujejo s pojavom hiperaktivnosti pri otrocih, vendar direktnih dokazov za to trditev še ni. Zakonodaja opozarja na tveganje z opozorili na ovojnini zdravil, ki vsebujejo azo barvila.
- Predvidevali smo, da so za uporabo v zdravilih dovoljena samo barvila, ki niso alergena in toksična, ter ne povzročajo kancerogenosti. S toksikološkimi profili izbranih barvil lahko to hipotezo ovržemo. Čeprav zatrjujejo, da tveganja pri uporabi barvil v živilih in zdravilih za zdravje ljudi ni, bi po našem mnenju morali organi zakona še enkrat razmisliti o smotrni uporabi nekaterih barvil.

6. LITERATURA

1. Inštitut za slovenski jezik Frana Ramovša in avtorji. Slovar slovenskega knjižnega jezika. 2. ponatis. Urednik Bajec A. et al. ZRC SAZU. DZS. Ljubljana, 1997.
2. Allam K. V, Kumar G. P: Colorants – The Cosmetics For The Pharmaceutical Dosage Forms. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 3, Suppl 3, 2011: 13-21
3. Wikipedia, the free encyclopedia. Color. URL:<http://en.wikipedia.org/wiki/Color>, nazadnje dostopano 10.09.2013
4. Jeler S, Golob V: Barvila – barvanje: skripta. Tehniška fakulteta, Oddelek za strojništvo. Maribor, 1991: 1-2
5. Elmadfa I, Muskat E, Fritzsche D: Številca E. Mladinska knjiga Založba, d.d., Ljubljana, 2007: 5-25
6. Pravilnik o barvilih, ki se smejo dodajati zdravilom. URL:<http://www.uradni-list.si/1/content?id=88308>, nazadnje dostopano 30.04.2014
7. Pravilnik o aditivih za živila. URL:<http://www.uradni-list.si/1/content?id=48650>, nazadnje dostopano 07.09.2013
8. Petek N: Številca E v živilih, zdravilih in kozmetičnih izdelkih. Strokovno posvetovanje ob predstavitvi 5. dopolnila Slovenskega dodatka k Evropski farmakopeji. Ljubljana, 2003: 39-50
9. Direktiva Evropskega parlamenta in sveta 94/36/ES o barvilih za uporabo v živilih. URL:http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav08_sl.pdf, nazadnje dostopano 16.09.2013
10. Rogel B, Peterman B: Aditivi za živila. Zveza potrošnikov Slovenije. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije. Ljubljana, 2000: 3-15
11. Pravilnik o označevanju in navodilu za uporabo zdravil za uporabo v humani medicini. URL:<http://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?urlid=201221&stevilka=818>, nazadnje dostopano 18.09.2013
12. Wikipedia, the free encyclopedia. Colour Index International. URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Colour_Index_International, nazadnje dostopano 12.02.2014
13. Kostadinov M: Uporaba aditivov v mesno predelovalni industriji – zlo ali nuja sodobnega časa. Trendi in izzivi v živilstvu, prehrani, gostinstvu in turizmu - Zbornik prispevkov. Biotehnološki izobraževalni center Ljubljana. Ljubljana, 2010: 140-144

14. Rowe R. C, Sheskey P. J, Quinn M. E: Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth edition. Pharmaceutical Press, 2009: 189-196
15. Modic M, Škofic K, Pogačnik Marjan: E-dodatki v bonbonih in čokoladi. E-dodatki v živilstvu in prehrani – strokovni seminar. Živilska šola Maribor, 2007: 33-39
16. Otterstätter G: Coloring of Food, Drugs and Cosmetics. Marcel Dekker, Inc. New York, 1999: 7-8,37-40
17. Uredba komisije (EU) št. 380/2012 o spremembi Priloge II k Uredbi (ES) št. 1333/2008 Evropskega parlamenta in Sveta v zvezi s pogoji in ravnmí uporabe za aditive za živila, ki vsebujejo aluminij. URL:<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:119:0014:0038:SL:PDF>, nazadnje dostopano 3.5.2014
18. Organic vs Inorganic Pigments. URL: <http://dyes-pigments.standardcon.com/organic-inorganic-pigments.html>, nazadnje dostopano 08.09.2013
19. Direktiva 78/25/EGS. URL:http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/dir_1978_25/dir_1978_25_en.pdf, nazadnje dostopano 09.09.2013
20. Direktiva Evropskega parlamenta in sveta 94/36/ES o barvilih za uporabo v živilih. URL:http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav08_sl.pdf, nazadnje dostopano 16.09.2013
21. Direktiva Evropske komisije 95/45/ES o določitvi posebnih meril čistosti v zvezi z barvili za uporabo v živilih. URL:<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1995L0045:20060410:SL:PDF>, nazadnje dostopano 16.09.2013
22. Direktiva Evropskega parlamenta in sveta 2009/35/ES o barvilih, ki se lahko dodajajo zdravilom-prenovitev. URL:http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/dir_2009_35/dir_2009_35_sl.pdf, nazadnje dostopano 09.09.2013
23. Wikipedia, the free encyclopedia. European Medicines Agency. URL:http://en.wikipedia.org/wiki/European_Medicines_Agency, nazadnje dostopano 09.09.2013
24. Guideline on excipients in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use. Doc. Ref. EMEA/CHMP/QWP/396951/2006. London, junij 2007.
25. Wikipedia, the free encyclopedia. Food and drug administration. URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Food_and_Drug_Administration, nazadnje dostopano 12.09.2013

26. Wikipedia, the free encyclopedia. Federal food, drug and cosmetic act.
URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Federal_Food,_Drug,_and_Cosmetic_Act, nazadnje dostopano 12.09.2013
27. Food and Drug Administration. Generally Recognized as Safe (GRAS).
URL:<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/>, nazadnje dostopano 12.09.2013
28. Wikipedia, the free encyclopedia. Delaney Clause.
URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Delaney_clause, nazadnje dostopano 12.09.2013
29. Background Document for the Food Advisory Committee. Certified Color Additives in Food and Possible Association with Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Children. Food and Drug Administration. FDA/CFSAN March 30-31, 2011
30. Food and drug administration. Overview of Food Ingredients, Additives and Colors. April 2010.
URL:<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm094211.htm>, nazadnje dostopano 18.10.2013
31. Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke.
URL:http://www.jazmp.si/zdravila_za_uporabov_humani_medicini/, nazadnje dostopano 29.04.2014
32. Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke. Arhiv obvestil in objav.
URL:http://www.jazmp.si/arhiv_obvestil_in_objav/browse/1/article//a4dc07d76650e8bc228dfc2295c62048/, nazadnje dostopano 29.04.2014
33. Nacionalni inštitut za javno zdravje. EFSA: objave Evropske agencije za varnost hrane.
URL:http://www.ivz.si/Mp.aspx?ni=8&pi=5&_id=1392&_PageIndex=0&_groupId=176&_newsCategory=&_action=ShowNewsFull&pl=8-5.0, nazadnje dostopano 2.01.2014
34. Wikipedia, the free encyclopedia. Acceptable daily intake.
URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Acceptable_daily_intake, nazadnje dostopano 2.01.2014
35. European Commission. Introduction to Risk Assessment.
URL:http://ec.europa.eu/health/ph_projects/2003/action3/docs/2003_3_09_a23_en.pdf, nazadnje dostopano 2.01.2014

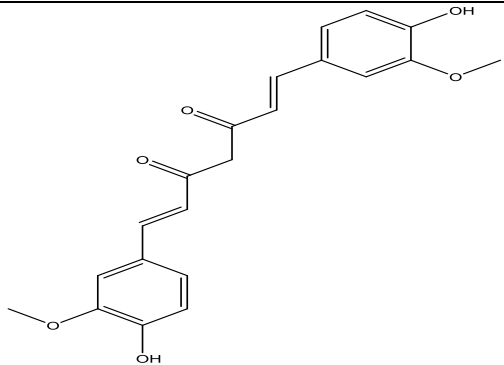
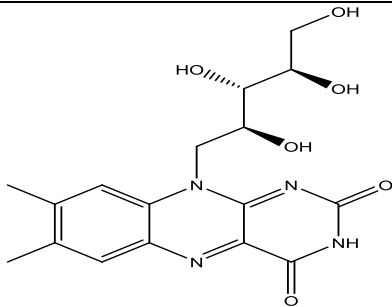
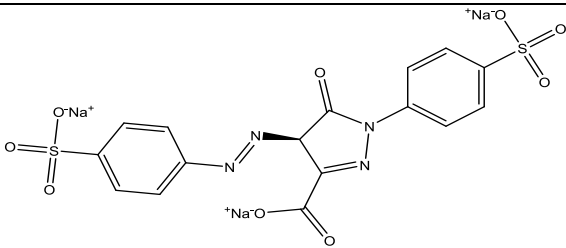
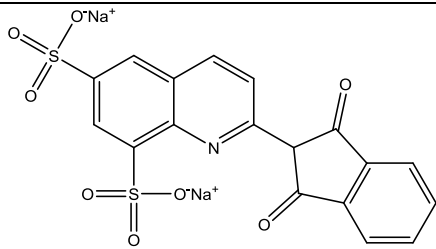
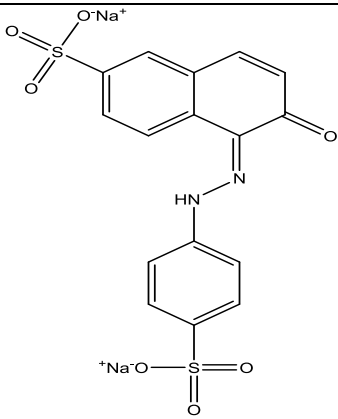
36. Web center for social research methods. Knowledge base. Descriptive Statistics.
URL:<http://www.socialresearchmethods.net/kb/statdesc.php>, nazadnje dostopano 7.01.2014
37. Pravilnik o aromah. URL:<http://www.uradni-list.si/1/content?id=33018>, nazadnje dostopano 3.02.2014
38. Marmion D.M. Handbook of U.S. Colorants: Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices. 3rd edition. John Wiley & Sons, Inc. Canada, 1991: 67
39. Cinkarna Celje. European Chemical Industry Council. Brussels, marec 2012.
URL:http://www.cinkarna.si/si/files/default/tio2/tdma_about_tio2_29032012_prevod_konni.pdf, nazadnje dostopano 18.02.2014
40. Cinkarna Celje. Več o titanovem dioksidu. URL:<http://www.cinkarna.si/si/vec-o-titanovem-dioksidu>, nazadnje dostopano 18.02.2014
41. Skočaj M, Filipič M, Petković J, Novak S: Titanium dioxide in our everyday life; is it safe? Radiology and oncology (Ljubljana). Letnik 45. Številka 4, 2011: 227-247, I.
42. Delgado-Vargas F, Paredes-Lopez O: Natural colorants for food and nutraceutical uses. CRC Press. Florida, 2002: 66-70
43. Gnezdo d.o.o., ekološki gradbeni materiali. Pigmenti.
URL:http://www.gnezdo.si/e107_files/downloads/Pigmenti.pdf, nazadnje dostopano 18.02.2014
44. International programme on chemical safety. World health organization. Iron oxides and hydrated iron oxides. Geneva, 1975.
URL:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v06je23.htm>, nazadnje dostopano 19.02.2014
45. Toxnet - databases on toxicology, hazardous chemicals, environmental health, and toxic releases. URL:<http://toxnet.nlm.nih.gov/>, nazadnje dostopano 20.02.2014
46. Hooson J, Gaunt I.F, Kiss I. S, Grasso P, Butterworth K. R: Long-term toxicity of indigo carmine in mice. Food and Cosmetics Toxicology. Volume 13. Issue 2, 1975: 167-176
47. Center for science in the public interest. Food Dyes – A rainbow of risks: 13-18, 25-28, 38-42. URL:<http://cspinet.org/new/pdf/food-dyes-rainbow-of-risks.pdf>, nazadnje dostopano 10.03.2014
48. Wikipedia, the free encyclopedia. Azo spojina.
URL:http://sl.wikipedia.org/wiki/Azo_spojina#Azo_barvila_in_pigmenti, nazadnje dostopano 11.03.2014

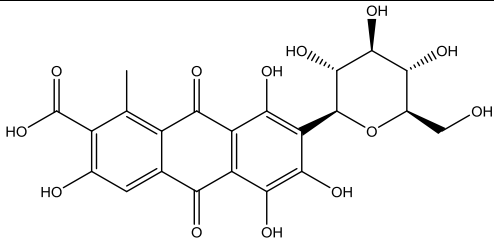
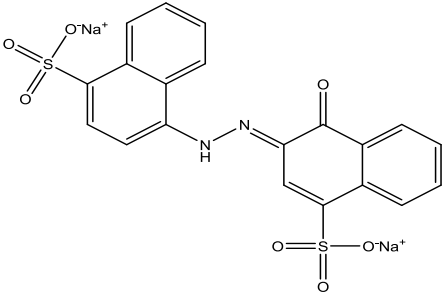
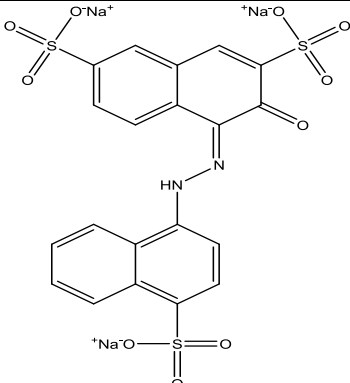
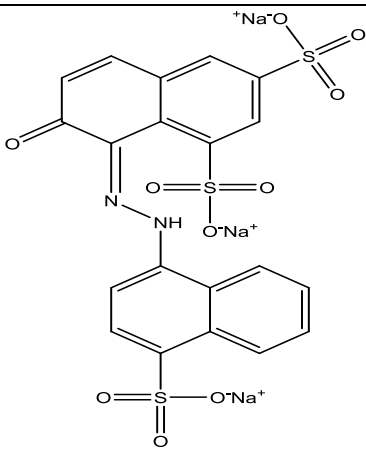
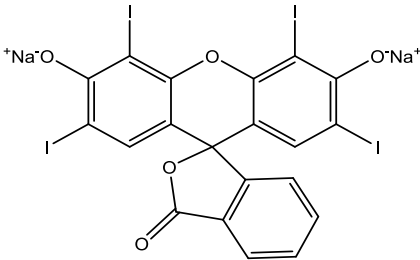
49. Food info. Azo dyes. URL:<http://www.food-info.net/uk/colour/azo.htm>, nazadnje dostopano 13.03.2014
50. National Center for Biotechnology Information. Pubchem compound. Sunset yellow. URL:http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=6850717&loc=ec_rcs, nazadnje dostopano 11.03.2014
51. International programme on chemical safety. World health organization. Sunset yellow FCF. URL:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je29.htm>, nazadnje dostopano 10.03.2014
52. WebMD. Food dye and ADHD. URL:<http://www.webmd.com/add-adhd/childhood-adhd/food-dye-adhd>, nazadnje dostopano 11.03.2014
53. Deardorff J: Do synthetic food colors cause hyperactivity? Chicago Tribune News. Januar 2011.
54. Scientific Opinion on the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E 110) as a food additive. European Food Safety Authority (EFSA). EFSA Journal 2009; 7(11):1330, Parma, Italy.
55. Chung K. T, Cerniglia C. E: Mutagenicity of azo dyes: Structure-activity relationships. Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology. Volume 277. Issue 3, 1992: 201-220
56. National Center for Biotechnology Information. Pubchem compound. Erythrosine. URL:http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=12961638&loc=ec_rcs#x332, nazadnje dostopano 12.03.2014
57. European Commission. Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Opinion on CI 45430 (erythrosine). 7th primary meeting. Junij 2010.
58. Abdel-Aziz A. H, Shouman S. A, Attia A. S, Saad S. F: A study on the reproductive toxicity of erythrosine in male mice. Pharmacological Research. Volume 35. Issue 5, 1997: 457-462
59. Scientific Opinion on the re-evaluation of Erythrosine (E 127) as a food additive. European Food Safety Authority (EFSA). EFSA Journal 2011;9(1):1854, Parma, Italy.
60. World Health Organization. International programme on chemical safety. Indigotine. URL:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v46aje14.htm>, nazadnje dostopano 08.04.2014
61. Nubiola, inorganic pigments. Material safety data sheet. Synthetic iron oxides. URL:http://www.schmeling.com/msds/straight_line_marking_chalk_red.pdf, nazadnje dostopano 08.04.2014

62. Opinion of the Scientific Committee on cosmetic products and non-food products intended for consumers. Titanium dioxide. Adopted by the SCCNFP during the 14th plenary meeting. October 2000.
63. Wikipedia, the free encyclopedia. Median lethal dose.
URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Median_lethal_dose, nazadnje dostopano 09.04.2014
64. Federal Register, The Daily Journal of the United States Government. Titanium Dioxide; Exemption From the Requirement of a Tolerance. Environmental Protection Agency, 2012.
65. Report from the Commission on Dietary Food Additive Intake in the European Union.
URL:http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav15_en.pdf, nazadnje dostopano 09.04.2014
66. European Food Safety Authority. FAQ on colours in food and feed. Why has EFSA been assessing colours in recent years? January 2014.
URL:<http://www.efsa.europa.eu/en/faqs/faqfoodcolours.htm?wtr=01>, nazadnje dostopano 09.04.2014
67. Blaznik U, Hlastan Ribič C, Gregorič M. Spremljanje stanja glede uporabe in uživanja aditivov ter arom v živilih za leto 2012. Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije. Ljubljana, september 2013: 16,22

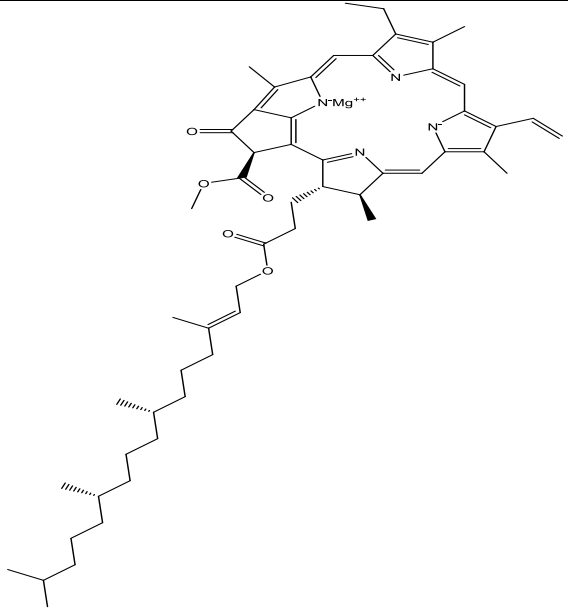
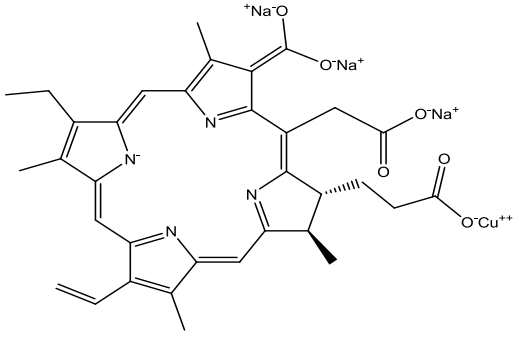
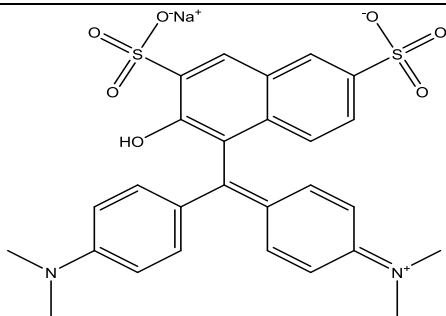
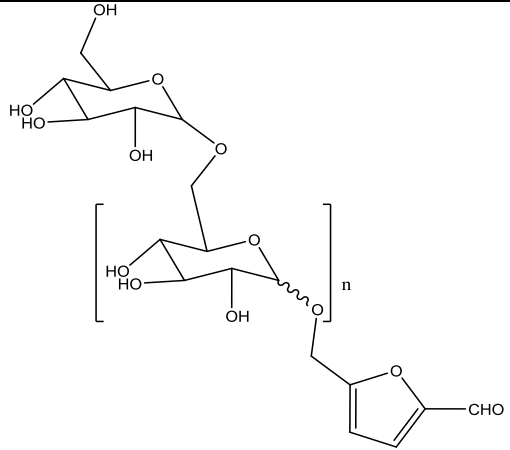
PRILOGE

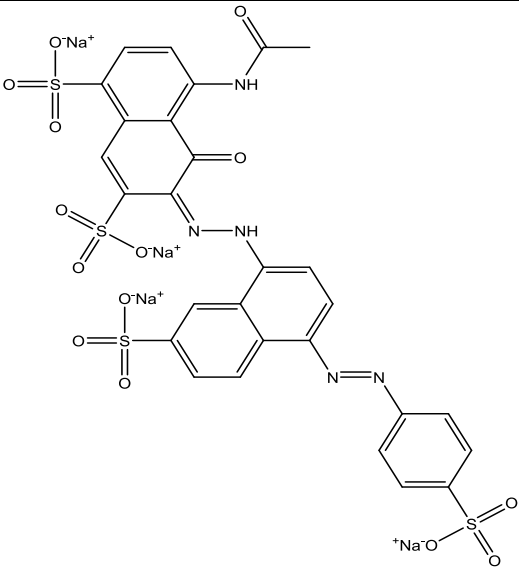
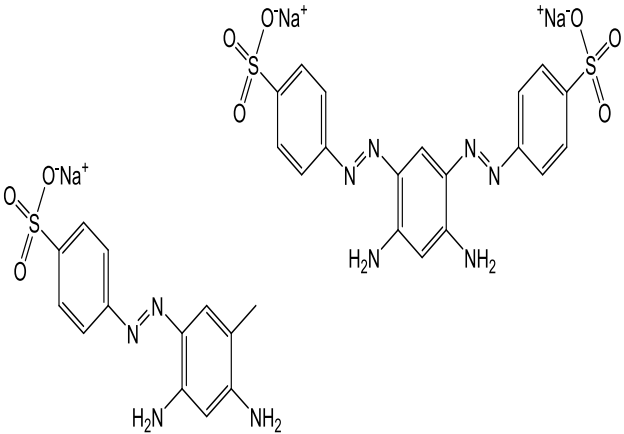
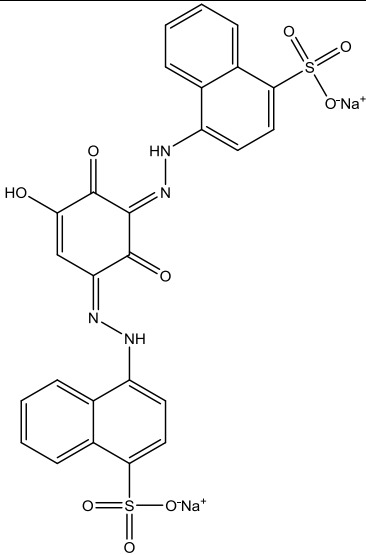
Priloga 1: Seznam barvil, ki se smejo dodajati zdravilom.

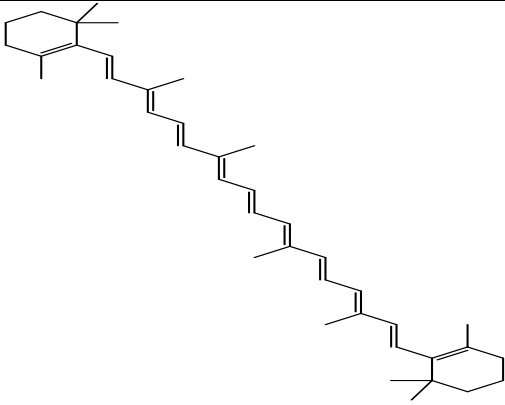
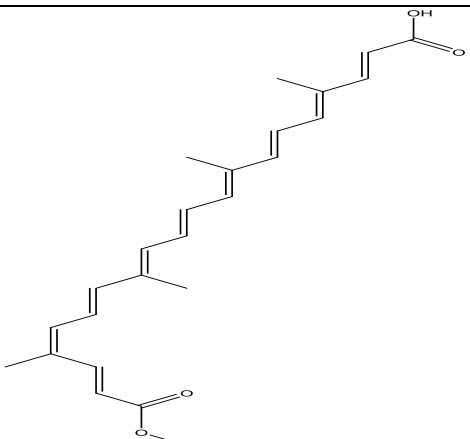
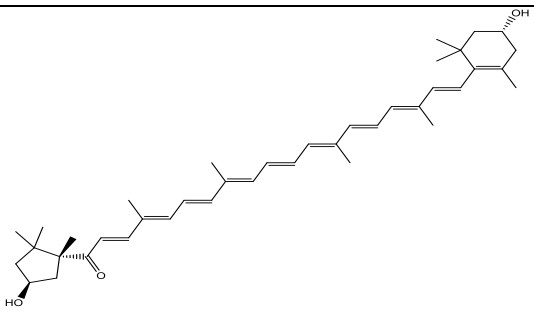
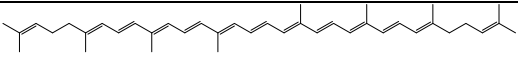
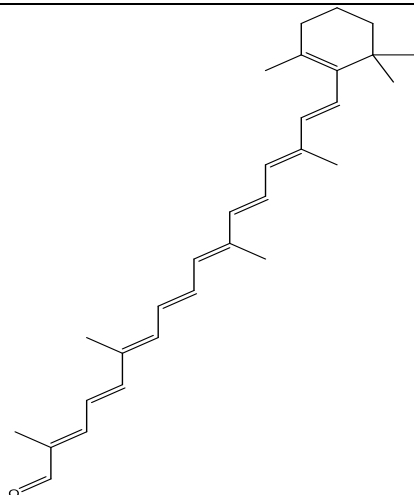
Število E	Specifično ime	CI	Struktura
E 100	kurkumin	75300	
E 101	i)riboflavin ii)riboflavin-5'-fosfat		
E 102	tartrazin	19140	
E 104	kinolinsko rumeno (Quinoline Yellow)	47005	
E 110	oranžno FCF (Sunset Yellow FCF, Orange Yellow S)	15985	

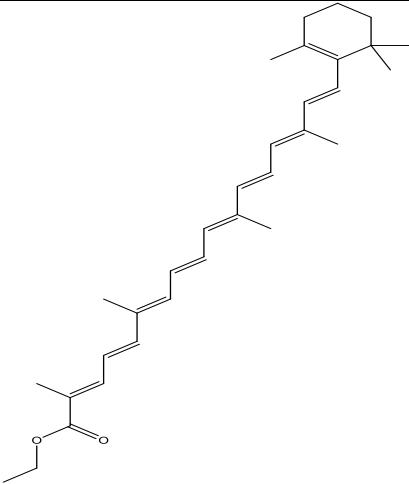
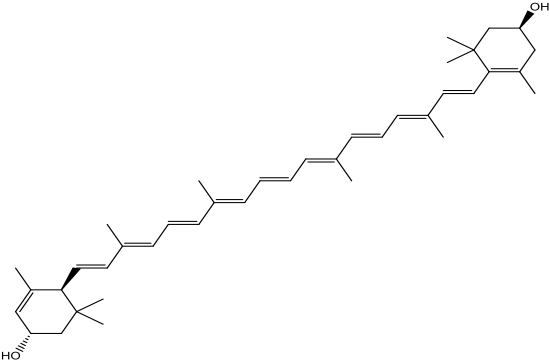
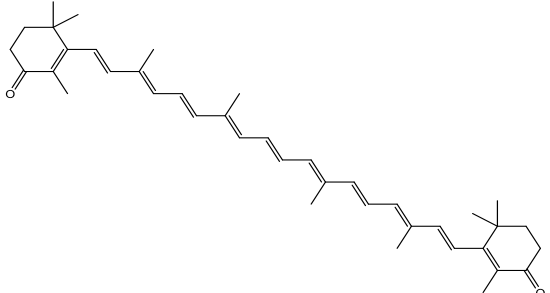
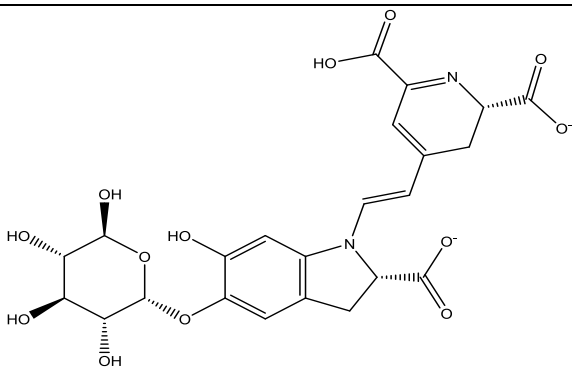
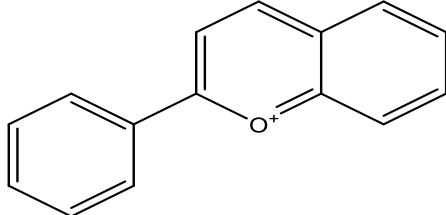
E 120	košenilja, karminska kislina, karmini	75470	
E 122	azorubin (Azorubin, Carmoisine)	14720	
E 123**	amarant (Amaranth)	16185	
E 124	rdeče 4R (Ponceau 4R, Cochineal Red A)	16255	
E 127**	eritrozín (Erythrosine)	45430	

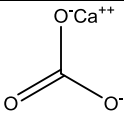
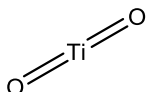
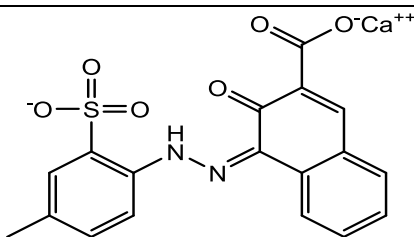
E 129	rdeče AC (Allura Red AC)	16035	
E 131	modro V (Patent Blue V)	42051	
E 132	indigotin (Indigotin, Indigo karmin)	73015	
E 133	modro FCF (Brilliant blue FCF)	42090	

E 140	klorofili in klorofilini i) klorofili ii) klorofilini	75810 75815	
E 141	bakrovi kompleksi klorofilov in klorofilinov i) bakrovi kompleksi klorofilov ii) bakrovi kompleksi klorofilinov	75815	
E 142	zeleno S (Green S)	44090	
E 150a E 150b E 150c E 150d	karamel* (navadni) alkalno sulfitni karamel* amoniakalni karamel* amoniakalno-sulfitni karamel*		

E 151	črno PN (Brilliant Black BN, Black PN)	28440	
E 153	rastlinsko oglje		
E 154**	rjavo FK (Brown FK)		
E 155	rjavo HT	20285	

E 160a	karoteni: i)mešanice karotenov ii)beta karoten	75130 40800	
E 160b**	izvlečki anata, biksin, norbiksin (bixin, norbixin)	75120	
E 160c	izvleček paprike, kapsantin, kapsorubin (Capsantin, Capsorubin)		
E 160d	likopen (Lycopene)		
E 160e	beta-apo-8'-karotenal (C30)	40820	

E 160f	etilni ester (beta-apo- 8'karotenske kisline (C30))	40825	
E 161b	lutein		
E 161g**	kantaksantin (Cantaxanthin)		
E 162	betalain, betanin		
E 163	antocianini (pripravljeni na fizikalen način iz sadja in zelenjave)		

E 170	kalcijev karbonat	77220	
E 171	titanov dioksid	77891	
E 172	železovi oksidi in hidroksidi	77491 77492 77499	- črni: Fe₃O₄ - rdeči: Fe₂O₃ - rumeni: Fe₂O₃·xH₂O
E 173**	aluminij		Al
E 174**	srebro		Ag
E 175**	zlato		Au
E 180**	rubin BK (Litholrubine BK)		

*Imenovanje karamel se dotika izdelkov, ki so izrazito rjave barve. Ne gre za produkt iz sladkorja, ki ga pridobivajo s segrevanjem sladkorja.

**Ta barvila lahko najdemo v zdravilih v posebnih primerih ali v zdravilih, ki že imajo dovoljenje za promet (4).

Priloga 2: Grafični prikaz najpogostejše uporabljenih kombinacij različnih barvil v zdravilih.

